

## مقاله پژوهشی

# بررسی اثرات ضد تکثیری نانوامولسیون حاوی شیرین بیان و لاواند بر علیه سلول‌های سرطانی و خواص ضد میکروبی آن

زهره کریمی طاهری<sup>۱</sup>، محمدحسین اعرابی<sup>۲</sup>، علی نظری عالم<sup>۳</sup>، مجید نجاتی<sup>۴</sup>، محمد شایسته‌پور<sup>۵</sup>، حمیدرضا گیلاسی<sup>۵</sup>، افشین صالحی<sup>۶</sup>، محمد اسماعیل شهاب‌الدین<sup>۱،۷</sup>

۱. گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران.
۲. گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.
۳. گروه میکروبی‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران.
۴. مرکز تحقیقات علوم تشریح، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران.
۵. گروه آمار زیستی و اپیدمیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران.
۶. گروه علوم آزمایشگاهی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران.
۷. مرکز تحقیقات بیوشیمی و تغذیه در بیماری‌های متابولیک، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران.

### چکیده

**زمینه و هدف:** گیاهان شیرین بیان و لاواند دارای اثرات ضدسرطانی و ضد میکروبی هستند، اما به دلیل فراهمی زیستی پایین و تخریب پذیر بودن، استفاده از آنها به عنوان دارو محدودیت‌هایی دارد. یکی از راه‌های رفع این محدودیت‌ها، استفاده از نانو ذرات است. هدف از مطالعه حاضر، بررسی اثرات ضد تکثیری نانوامولسیون حاوی عصاره شیرین بیان و اسانس لاواند علیه سلول‌های سرطانی و خواص ضد میکروبی آن در محیط برون تنی است.

**مواد و روش‌ها:** در این مطالعه تجربی نانوامولسیون حاوی عصاره شیرین بیان و اسانس لاواند به روش امولسیون سازی خودبه خودی ساخته شد. اثر ضد تکثیری نانوامولسیون با استفاده از روش رنگ سنجی MTT روی دو رده سلولی HepG2 و SK-MEL-3 بررسی شد. برای سنجش اثر ضد میکروبی از چهار سویه باکتری استاندارد استافیلوکوکوس اورئوس، اش‌ریشیا کلی، سودوموناس آئروژینوزا و استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس و روش کمترین غلظت مهارکنندگی (MIC) استفاده شد.

**ملاحظات اخلاقی:** این مطالعه با کد اخلاق IR.KAUMS.MEDNT.REC.1396.106 در مورخ ۹۶/۱۱/۹ به تصویب کمیته اخلاق پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کاشان رسید.

**یافته‌ها:** نتایج حاصل از تست MTT روی سلول‌های HepG2 نشان داد غلظت‌های ۲۵۰۰، ۱۲۵۰ و ۶۳۰ میکروگرم بر میلی لیتر نانوامولسیون برای سلول سمیت ایجاد کرده و موجب مرگ بیش از ۵۰ درصد سلول‌ها شده‌اند (IC50=401µg/ml) (P<۰/۰۵). نتایج حاصل از این ارزیابی روی سلول‌های SK-MEL3 نشان داد که به استثنای غلظت ۷۵ میکروگرم نانوامولسیون، بقیه غلظت‌های آن سبب مرگ بیش از ۵۰ درصد سلول‌ها شده‌اند (IC50=۸۲) (P<۰/۰۵). به علاوه، نانوامولسیون دارای خواص ضد میکروبی در چهار سویه باکتری مورد مطالعه شده و بیشترین خاصیت ضد میکروبی آن در باکتری استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس مشاهده شد.

**نتیجه گیری:** نانوامولسیون حاوی عصاره شیرین بیان و اسانس لاواند دارای اثرات ضد میکروبی و ضد تکثیری علیه دو رده سلولی مورد مطالعه است. نتایج این مطالعه نشان داد که تبدیل عصاره و اسانس به شکل نانوامولسیون می‌تواند اثرات بیولوژیک آنها را افزایش داده و به عنوان یک فرمولاسیون دارویی جدید به کار رود.

### اطلاعات مقاله:

تاریخ دریافت: ۰۱ بهمن ۱۳۹۸

تاریخ پذیرش: ۰۷ مرداد ۱۳۹۹

تاریخ انتشار: ۱۲ فروردین ۱۴۰۰

### کلیدواژه‌ها:

شیرین بیان، لاواند، نانوامولسیون، ضد میکروبی، ضد تکثیری

### \* نویسنده مسئول:

دکتر محمد اسماعیل شهاب‌الدین

نشانی: کاشان، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، مرکز تحقیقات بیوشیمی و تغذیه در بیماری‌های متابولیک.

تلفن: +۹۸ ۵۵۵۴۰۰۲۱ (۳۱)

پست الکترونیکی: shahaboddin@kaums.ac.ir

## مقدمه

کند [۱۴]. در مطالعه دیگری نشان داده شده که اسانس لاواند می‌تواند از رشد شش گونه باکتریایی در محیط کشت جلوگیری کند [۱۵].

با وجود پتانسیل بالای این گیاهان در جلوگیری از رشد سلول‌های سرطانی و میکروبی در محیط برون‌تنی، استفاده از آن‌ها به صورت بالینی با محدودیت‌های بسیاری رو به رو است. برای مثال، ترکیبات گیاهی فزّار و ناپایدار بوده و در صورتی که در برابر عوامل محیطی مانند اکسیداسیون، تبخیر و نور محافظت نشوند، به راحتی تخریب می‌شوند [۱۶].

به علاوه، حلالیت پایین در آب و وزن مولکولی بالا سبب شده تا این ترکیبات فراهمی زیستی پایینی داشته و این امر موجب نیاز به دُز مصرفی بالا و تجویز مکرر دارو شده است [۱۷]. سیستم‌های دارورسانی نوین با افزایش فراهمی زیستی و پایداری فیزیکی توانسته‌اند استفاده از این ترکیبات را کارآمدتر کنند [۱۸].

یکی از این روش‌های نوین، نانومولسیونه کردن ترکیبات گیاهی است. نانومولسیون‌ها قطرات کوچکی به قطر بیست تا دویست نانومتر بوده که حفاظت از ترکیبات بیولوژیک و رهاسازی کنترل شده آنها را تضمین می‌کند. نانومولسیون‌ها غیرسمی بوده و پایداری کینتیکی بالایی دارند [۱۹].

محققان نشان داده‌اند که کارایی بعضی از اسانس‌های گیاهی طبیعی حتی در بعضی موارد بهتر از مواد مصنوعی است، اما مشکل عمده آن‌ها فزّاریت بالا و متعاقب آن ناپایداری است. به منظور مقابله با این مشکل یکی از بهترین راه‌حل‌ها استفاده از فرمولاسیون نانومولسیون است که در واقع با استفاده از فناوری نانو، پایداری و کارایی ترکیب مورد نظر را به نحو چشمگیری افزایش می‌دهد [۱۸]. تحقیقات نشان داده که می‌توان با استفاده از فناوری نانو، مزایای فراوانی را در مواد ضد میکروبی نظیر کاهش مصرف مواد ضد میکروبی، افزایش کارایی، سازگاری بالا با محیط زیست و بهبود کیفیت ایجاد کرد [۱۹].

با توجه اثرات مطلوب دو گیاه شیرین بیان و لاواند و با در نظر گرفتن مزایای نانومولسیون، در مطالعه‌ای که توسط محققین مرکز تحقیقات بیوشیمی و تغذیه دانشگاه علوم پزشکی کاشان انجام گرفت، نانومولسیون حاوی عصاره گیاه شیرین بیان و اسانس لاواند ساخته شد، در این پژوهش بر آن شدیم تا اثرات ضد میکروبی این نانومولسیون و همچنین اثرات ضد تکثیر آن بر دو رده سلول سرطانی را بررسی کنیم.

## مواد و روش‌ها

ساخت نانومولسیون حاوی گیاهان لاواند و شیرین بیان: اسانس لاواند و عصاره شیرین بیان از شرکت داروسازی بارپج اسانس خریداری شد. جهت ساخت نانومولسیون از روش

استفاده از گیاهان برای درمان بیماری‌ها پیشینه تاریخی داشته و گیاهان دارویی پایه و اساس بسیاری از درمان‌ها در طب سنتی بوده‌اند. امروزه گیاهان دارویی به دلیل داشتن عوارض جانبی کم، تنوع در مواد مؤثر، اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی قوی و توانایی پیشگیری از رشد تومورها محل توجه ویژه بسیاری از محققین حوزه سلامت هستند [۱].

در دهه‌های اخیر گیاهان به عنوان یکی از منابع اصلی برای تولید داروهای ضد سرطان و آنتی‌بیوتیک‌های جدید اهمیت جهانی یافته‌اند. شیرین بیان<sup>۱</sup> و اسطوخودوس، از جمله این گیاهان دارویی هستند. شیرین بیان گیاهی است از خانواده باقلا بیان که بومی مناطق آسیای است. ریشه شیرین بیان سرشار از مواد فعالی همچون ترپن‌ها و ترکیبات فنولی است که موجب ایجاد خواصی نظیر اثر ضد میکروبی، ضد سرطان، ضد زخم، ضد التهاب و ضد حساسیت شیرین بیان می‌شوند [۲].

در مطالعات مختلف اثر ضد سرطانی این گیاه بررسی شده است. در مطالعه نامورا و همکاران نشان داده شد که عصاره ریشه شیرین بیان می‌تواند از تکثیر سلول‌های سرطانی در بدن جلوگیری کند [۳]. در مطالعه دیگری نشان داده شد که عصاره شیرین بیان می‌تواند موجب مرگ سلول‌های سرطان کبد (HepG2) در محیط In Vitro شود [۴].

ریشه شیرین بیان اثر ضد باکتری نیز دارد. نیتالیکار و همکاران، اثر عصاره ریشه شیرین بیان را بر چند گونه باکتری گرم مثبت (*Bacillus subtilis* و *Staphylococcus aureus*) و گرم منفی (*Escherichia coli* و *Pseudomonas aeruginosa*) بررسی کرده و نشان دادند که تمامی این باکتری‌ها به عصاره شیرین بیان حساس هستند [۵].

اسطوخودوس یا لاواند<sup>۲</sup>، گیاهی متعلق به خانواده نعناعیان است که با طعم تلخ جهت داشتن بوی مطبوع در عطرسازی استفاده می‌شود [۶]. در گذشته از این گیاه برای درمان بیماری‌های پوستی مانند اگزما و زخم استفاده می‌شده است [۷]. در مطالعات مختلف، اثرات ضد دردی [۸، ۹]، آنتی‌اکسیدانی [۱۰]، آرام‌بخشی [۱۱]، ضد التهابی و تعدیل کننده سیستم ایمنی [۱۲] آن نیز گزارش شده است. در پژوهش دالیلان و همکاران، نشان داده شده که لاواند می‌تواند از رشد سلول‌های سرطانی لنفوم هوچکین جلوگیری کند [۱۳].

اثر ضد میکروبی لاواند نیز به اثبات رسیده است. برای مثال، در مطالعه رولر و همکاران نشان داده شده که اسانس لاواند می‌تواند از رشد باکتری‌های مقاوم به متی‌سیلین (MRSA) جلوگیری

1. Glycyrrhiza Glabra

2. Lavandula Angustifolia

در مرحله بعد، جذب نمونه‌ها با دستگاه میکروپلیت ریدر (Dena، ایران) در طول موج ۵۷۰ نانومتر خوانده شد و درصد سلول‌های زنده نسبت به جذب نوری سلول‌های کنترل محاسبه شد.

تعیین اثر ضد میکروبی: به منظور تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی<sup>۴</sup> از روش رقیق‌سازی میکروداپلوشن و با سه بار تکرار استفاده شد. در این روش، اسانس لاواند در دی متیل سولفو کساید ۱۰ درصد تهیه شد.

همچنین نانوامولسیون با غلظت‌های ۱/۲۵، ۰/۶۲۵ mg/ml، ۵، ۲/۵ و ۱۰ درون چاهک‌هایی با حجم صد میکرولیتر ریخته شد. به همه چاهک‌ها پنج میکرولیتر از کشت باکتری‌های استاندارد استافیلوکوکوس اورئوس، اش‌ریشیا کلی، سودوموناس آئروژینوزا و استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس با غلظت نیم مک فارلند به همراه ۹۵ میکرولیتر محیط مولر هینتون برآث اضافه شد.

از مولر هینتون برآث و سوسپانسیون باکتری به تنهایی به عنوان کنترل منفی و مثبت استفاده شد. پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. آخرین رقتی از نانوامولسیون که در آن هیچ‌گونه رشدی مشاهده نشد، به عنوان MIC در نظر گرفته شد.

آنالیز آماری داده‌ها: به منظور آنالیز داده‌ها از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه استفاده شد. داده‌ها برای هر آزمون حاصل سه بار تکرار بوده و به صورت میانگین  $\pm$  انحراف استاندارد میانگین نمایش داده شدند. تمام آنالیزها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ انجام شد و مقادیر خطای آلفای کمتر از ۰/۰۵ معنادار در نظر گرفته شد.

### یافته‌ها

سمیت سلولی غلظت‌های مختلف نانوامولسیون حاوی عصاره شیرین‌بیان و اسانس لاواند بر سلول‌های کبدی رده HepG2 و سلول‌های سرطانی پوست رده SK-MEL-3 با روش MTT بررسی شده و درصد زنده ماندن سلول‌ها پس از ۲۴ ساعت اندازه‌گیری شد.

نتایج حاصل از این ارزیابی روی سلول‌های HepG2 نشان داد غلظت‌های ۱۲۵۰، ۲۵۰ و ۶۳۰ میکروگرم میلی‌لیتر نانوامولسیون برای سلول سمیت ایجاد کرده و موجب مرگ بیش از ۵۰ درصد سلول‌ها شده‌اند ( $P < 0/05$ ) ( $IC_{50} = 401 \mu g/ml$ ).

عصاره شیرین‌بیان در مقایسه با نانوامولسیون سمیت کمتری داشت، به طوری که تنها ۲۸ درصد سلول‌ها در مواجهه با غلظت ۲۵۰۰ آن دچار مرگ سلولی شده بودند. این در حالی است که اسانس لاواند سمیت بالایی داشته و میزان  $IC_{50}$  آن برابر ۴۵۰ بود (تصویر شماره ۱) ( $P < 0/05$ ).

امولسیون‌سازی خودبه‌خودی<sup>۳</sup> استفاده شد [۱۹]. در مطالعه قبلی انجام گرفته توسط محققین مرکز تحقیقات بیوشیمی و تغذیه دانشگاه علوم پزشکی کاشان به منظور رسیدن به بهترین فرمولاسیون جهت تشکیل یک نانو امولسیون پایدار نسبت‌های مختلفی از امولسیفایرها با اسانس و عصاره ترکیب شدند (نتایج منتشر نشده است).

نتایج حاکی از آن بود که بهترین نسبت برای امولسیفایرها نسبت ۱:۲ به ترتیب برای توئین بیست و توئین هشتاد است. همچنین کمک حلال‌های گلیسرین و پلی‌اتیلن گلیکول با نسبت ۱:۱ استفاده شد.

به منظور تهیه نانوامولسیون، فاز آبی شامل کمک حلال‌ها و آب و فاز روغنی شامل امولسیفایرها، ۲ درصد اسانس لاواند و ۲ درصد عصاره شیرین‌بیان هرکدام به صورت جداگانه تهیه شده و درون بن‌ماری ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند.

در مرحله بعد، فاز آبی به آرامی به فاز روغنی که در حال همگن شدن بود، اضافه شد. فرایند همگن‌سازی به مدت بیست دقیقه و با سرعت بالا ادامه پیدا کرد تا نانوامولسیون تک فاز و شفاف حاصل شد. جهت مقایسه اثر نانوامولسیون با عصاره شیرین‌بیان و اسانس لاواند از عصاره و اسانس ۲ درصد استفاده شد.

تعیین اثر ضد تکثیر نانوامولسیون علیه سلول‌های سرطانی: جهت تعیین سیتوتوکسیسیته نانوامولسیون از رده‌های سلولی سرطان کبد (HepG2) و سلول سرطانی پوست (SK-MEL3) استفاده شد. رده‌های سلولی از بانک سلولی انستیتو پاستور ایران خریداری شد.

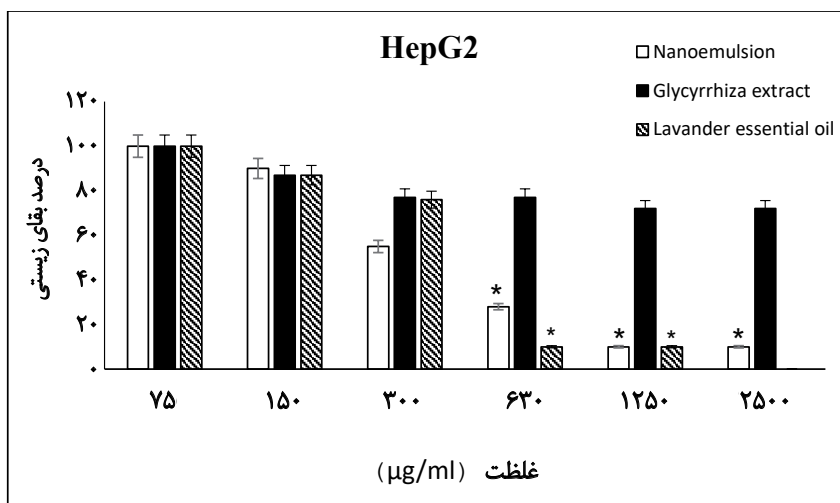
به منظور بررسی سمیت سلولی از روش MTT استفاده شد. سلول‌ها در محیط کشت دارای ۱۰ درصد سرم جنین گاوی و آنتی‌بیوتیک‌های استرپتومایسین (هزار میکروگرم بر میلی‌لیتر) و پنی‌سیلین (صد واحد بر میلی‌لیتر) کشت داده شدند. محیط‌های کشت در دمای ۳۷ درجه و در حضور ۵ درصد  $CO_2$  انکوبه شد.

جهت انجام تست MTT در هر خانه از یک پلیت ۹۶ تایی تعداد پنج هزار سلول قرار داده شد. پس از گذشت ۲۴ ساعت، غلظت‌های از نانوامولسیون، حلال نانوامولسیون، عصاره، اسانس و حلال اسانس تهیه و به مدت ۲۴ ساعت روی رده‌های سلولی تیمار شد.

پس از گذشت زمان فوق، محتوای چاهک‌ها به دقت خارج شده و به آنها دویست میکرولیتر رنگ MTT اضافه شد. میکروپلیت به مدت چهار ساعت درون انکوباتور ۳۷ درجه قرار داده شد و پس از آن محیط رویی تخلیه شده و به هر چاهک دویست میکرولیتر محلول DMSO اضافه شد.

4. Minimum Inhibitory Concentration

3. Spontaneous Emulsification



تصویر ۱. درصد بقای سلول‌های HEPG2 در برابر غلظت‌های مختلف نانوامولسیون \* نشان‌دهنده اختلاف معنادار و بیش از ۵۰ درصد ( $P < 0.05$ ).



تحت غلظت‌های ۵، ۲/۵، ۱/۲۵، ۰/۶۲۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر قرار گرفتند. نتایج نشان داد که نانوامولسیون بر رشد تمام سویه‌های باکتری استفاده شده اثر مهاری داشته است. بیشترین اثر مهاری مربوط به استاف ایپیدرمیدیس با MIC پنج میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. میزان MIC برای سه سویه دیگر برابر ده میلی‌گرم به دست آمد. عصاره شیرین‌بیان روی استافیلوکوکوس اورئوس و اشیریشیا کلای اثری نداشت، اما موجب مهار رشد سودوموناس آئروژینوزا و استافیلوکوکوس ایپیدرمیدیس شد. اسانس لاواند نیز مانع رشد تمامی سویه‌ها به جز سودوموناس آئروژینوزا شد (جدول شماره ۱).

### بحث

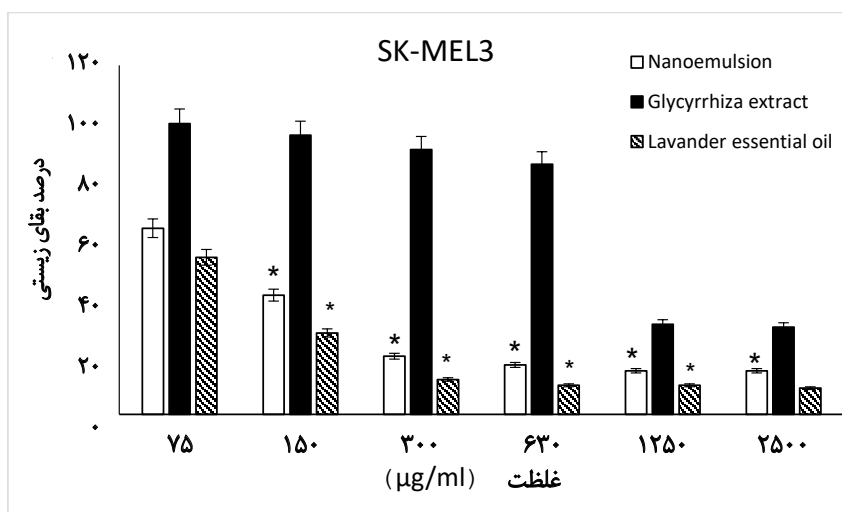
هدف از این مطالعه بررسی اثر ضد میکروبی نانوامولسیون

نتایج حاصل از تست MTT روی سلول‌های SK-MEL3 نشان داد که به استثنای غلظت ۷۵ میکروگرم نانوامولسیون، بقیه غلظت‌های آن سبب مرگ بیش از ۵۰ درصد سلول‌ها شده‌اند ( $P < 0.05$ ) ( $IC_{50} = 82$ ).

اسانس لاواند نیز سمیتی مشابه نانوامولسیون ایجاد کرده بود، این در حالی است که عصاره شیرین‌بیان تنها در غلظت‌های ۱۲۵۰ و ۲۵۰۰ موجب سمیت (مرگ بیش از ۵۰ درصد سلول‌ها) شده بود (تصویر شماره ۲) ( $P < 0.05$ ).

### بررسی اثر ضد میکروبی

در این مطالعه به منظور بررسی اثر ضدباکتریایی نانوامولسیون از روش MIC استفاده شد. در این روش، سویه‌های باکتری مورد نظر



تصویر ۲. درصد بقای سلول‌های SK-MEL3 در برابر غلظت‌های مختلف نانوامولسیون \* نشان‌دهنده اختلاف معنادار و بیش از ۵۰ درصد ( $P < 0.05$ ).



جدول ۱. میزان CIM نانوامولسیون، اسانس لاواند و عصاره شیرین بیان بر چهار سویه باکتری

باکتری	میزان MIC (mg / ml)	
	اسانس	عصاره شیرین بیان
استافیلوکوکوس اورئوس	۱۰	۵
اشریشیا کلای	۱۰	۲/۵
سودوموناس آئروژینوزا	۱۰	۱/۲۵
استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس	۵	۵



(-) نشان دهنده عدم تأثیر بر رشد باکتری است.

مؤثر است [۲۴].

در سلول‌های سرطانی میزان بالای ROS می‌تواند بر اثر فعالیت متابولیک بالا، نقص در عملکرد میتوکندریایی، فعالیت پراکسیزوم، افزایش سیگنالینگ گیرنده سلولی، فعالیت انکوژن، افزایش فعالیت اکسیداز، سیکلواکسیژناز، لیپواکسیژناز در سلول‌های ایمنی باشد. بعد از اینکه سلول‌های سرطانی به شکل بدخیم درآمدند، تولید پایدار ROS را انجام می‌دهند که منجر به رشد و پیشرفت تومور می‌شود [۲۱].

بنابراین استفاده از مواد آنتی‌اکسیدانی همانند اسانس لاواند یا عصاره شیرین بیان یا نانوامولسیون تهیه شده از این ترکیبات، با کاهش میزان ROS می‌تواند در جهت کاهش تولید ROS در جایگاه تومور و بهبود عملکرد عوامل ضدسرطان کمک کند.

با توجه به اثرات و خواص یادشده از گیاه شیرین بیان و لاواند، انتظار می‌رفت فرم نانوامولسیونی عصاره گیاه شیرین بیان و اسانس لاواند به دلیل فراهم‌آوری پایداری فیزیکی و میکروبی پتاسیل بالایی برای تبدیل شدن به یک ماده که دارای خواص ضدتکثیری علیه سلول‌های سرطانی هستند و این امر در مطالعه حاضر بررسی شده و نتایج حاصل نشان داد که نانوامولسیون یادشده دارای چنین خاصیتی است.

همچنین، در مقایسه اثر سمیت سلولی نانوامولسیون با اسانس لاواند و عصاره شیرین بیان نشان داده شد که نانوامولسیون نسبت به عصاره شیرین بیان سمیت بسیار بیشتری داشته است. این در حالی است که سمیت سلولی اسانس لاواند شبیه به نانوامولسیون به دست آمد. اگرچه سمیت سلولی نانوامولسیون و اسانس حدوداً به یک اندازه بوده است، اما با توجه به هیدروفوب و فرار بودن اسانس‌ها می‌توان نتیجه گرفت که تبدیل اسانس به نانوامولسیونی پایدار می‌تواند مفید باشد.

در مطالعه ضیایی و همکاران در بررسی تأثیر اسانس و نانوامولسیون لاواند بر تریکوموناس واژینالیس، نشان داده شد که اثر مهارتی نانوامولسیون یادشده در تمامی غلظت‌ها و ساعات تأثیری مشابه با اسانس این گیاه داشت، اما در مجموع می‌تواند

حاوی عصاره شیرین بیان و اسانس لاواند و همچنین مطالعه خواص ضدتکثیری آن علیه دو رده سلول سرطانی بود. نتایج به‌دست آمده نشان داد که این نانوامولسیون برای سلول‌های رده HepG2 و SK-MEL-3 سمیت داشته و می‌تواند موجب مرگ سلول‌های سرطانی شود.

مطالعات متعددی در زمینه سمیت سلولی و اثر ضدسرطانی عصاره شیرین بیان و اسانس لاواند انجام شده است. به طور مثال، مطالعه خضرای و همکاران نشان داده که عصاره گیاه شیرین بیان بر رده‌های سلولی سرطان‌های معده‌ای و روده‌ای تأثیر معناداری داشته و از طریق القای آپوپتوزیس، موجب از بین رفتن سلول‌های سرطانی شده، درحالی که بر سلول‌های نرمال هیچ‌گونه تأثیر معنادار و منفی ندارد [۲۰]. همچنین در مطالعه فو و همکاران، اثر ضدتوموری فلاونوئید استروژنی Licochalcone استخراج شده از ریشه گیاه شیرین بیان بر سلول‌های سرطانی پروستات (PC3) بررسی شده و نشان داده شده است که غلظت بالای این عصاره برای سلول‌های سرطان پستان سمیت دارد [۲۱].

در پژوهش دیگری بیان شد که غلظت ده میکروگرم شیرین بیان روی سلول‌های سرطانی سمیت نداشته، اما غلظت سی میکروگرم آن موجب مرگ سلول‌های سرطان پستان (رده‌های MCF7، MDA-MB-231، T47D، و MDA-MB-361) می‌شود [۲۲]. همچنین ثابت شده که لاواند موجب مرگ سلول‌های سرطانی کبد در محیط برون تنی می‌شود [۱۰]. نتایج بررسی مهدی‌نژاد و همکاران نیز نشان داد که عصاره اتانولی گیاه لاواند به صورت وابسته به دز قادر به از بین بردن سلول‌های سرطانی رده C8305 است [۲۳]. سیوگی و همکاران نشان دادند که اسانس لاواند می‌تواند هر دو مسیر آپوپتوز و نکروز را در سلول‌های سرطانی فعال کرده و از این طریق از رشد سلول‌های سرطانی جلوگیری کند.

به علاوه، در این پژوهش بیان شده است که اثر مهارتی اسانس لاواند بر رشد سلول توموری به دلیل وجود ترکیبات فعالی همچون α-ocimene، linalool، linalyl acetate، cineole



می‌شوند. از سوی دیگر این ترکیبات می‌توانند موجب اختلال عملکرد در انتقال الکترون، فعالیت آنزیم ATPase و جذب مواد مغذی شوند [۲۶، ۲۷].

بنابراین با توجه به این که آزمون ضد میکروبی انجام شده در محیط مایع و امولسیون صورت گرفته و نتیجه نهایی فعالیت بالای نانوامولسیون را نشان می‌دهد، می‌توان این گونه استنتاج نمود که نانوامولسیون حاوی عصاره گیاه شیرین بیان و اسانس گیاه لاواند به طور مستقیم غشای باکتری را تخریب کرده و باعث از بین بردن آن شده است که این پدیده نشان‌دهنده مؤثر بودن سیستم ضد میکروبی سنتز شده است. ذکر این نکته ضروری است که بررسی مکانسیم دقیق عملکرد ضد میکروبی نانوامولسیون سنتز شده نیاز به تحقیقات گسترده‌تری دارد.

### نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که نانوامولسیون حاوی عصاره گیاه شیرین بیان و اسانس گیاه لاواند در غلظت‌های مورد مطالعه دارای خواص ضد میکروبی بوده و با توجه به میزان قابلیت زیستی مطلوب نانوامولسیون در رده سلول‌های سرطانی HEPG2، SK-3 می‌توان از آنها در مطالعات حیوانی آینده در قالب فرمولاسیون‌های دارویی استفاده کرد.

### ملاحظات اخلاقی

#### پیروی از اصول اخلاق پژوهش

این مطالعه با کد اخلاق IR.KAUMS.MEDNT.REC.1396.106 در مورخ ۹۶/۱/۱۹ به تصویب کمیته اخلاق پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کاشان رسید و تمام کدهای اخلاقی مورد تأیید کمیته نظارت بر حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی کاشان در طول انجام آزمایشات رعایت شد.

#### حامی مالی

نتایج این تحقیق حاصل پایان‌نامه کارشناسی ارشد نویسنده اول در رشته بیوشیمی بالینی دانشگاه علوم پزشکی کاشان است.

#### مشارکت‌نویسندگان

مفهوم‌سازی و روش‌شناسی اعتبارسنجی تحلیل داده‌ها: محمداسماعیل شهاب‌الدین، محمدحسین اعرابی؛ تحقیق، بررسی، تحلیل و منابع: علی نظری عالم، شایسته پور، مجید نجاتی، حمیدرضا گیلاسی و افشین صالحی؛ نگارش پیش‌نویس: زهره کریمی طاهری.

انتخاب مطلوبی به عنوان مهارکننده رشد بر تریکوموناس واژینالیس باشد [۲۵]. در مطالعه ما نیز اسانس و نانوامولسیون نتایج مشابهی را در میزان مهار زیست سلول‌های سرطانی در رده‌های سلولی مورد مطالعه داشتند.

در بخش دوم این پژوهش، اثر ضد میکروبی نانوامولسیون حاوی عصاره شیرین بیان و اسانس لاواند بر سویه‌های باکتریایی استاندارد استافیلوکوکوس اورئوس، استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس، اشریشیا کلائی، سودوموناس آئروژینوزا بررسی شد.

نتایج نشان داد این نانوامولسیون بیشترین میزان مهارکنندگی را بر رشد استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس داشته و اثر مهاری آن روی سایر سویه‌ها یکسان بوده است. اثر ضد باکتریایی اسانس لاواند بر تمام سویه‌ها بیشتر از نانوامولسیون بود، اما عصاره شیرین بیان تنها بر سودوموناس آئروژینوزا و استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس اثر مهاری داشت. اثر ضد میکروبی لاواند روی باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس و استریپتوکوکوس پیوژنز در یک مطالعه بررسی و نشان داده شد که این گیاه خاصیت آنتی‌باکتریال دارد [۲۶].

در مطالعه معصومی و همکاران در بررسی اثرات ضد میکروبی نانوامولسیون اسانس آویشن شیرازی علیه باکتری اشریشاکلی میزان MIC اسانس آویشن شیرازی و نانوامولسیون ۲۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر به دست آمد و تفاوتی بین اسانس خالص و نانوامولسیون مشاهده نشد [۲۷].

نتایج حاصل از این بررسی با مطالعه حاضر یکسان بود، با این تفاوت که در مطالعه ما میزان MIC نانوامولسیون و اسانس با هم تفاوت داشت. وجود برخی تفاوت‌ها در میزان اثرات ضد میکروبی مشاهده شده در این مطالعه و تحقیقات مشابه می‌تواند به دلیل تفاوت مکان‌های رشد گیاهان [۴] و استفاده از روش‌های مختلف برای استخراج اسانس و عصاره باشد [۲۸، ۲۹].

با وجود این، اثرات ضد میکروبی سویه‌های مختلف این گیاهان را به وجود ترکیباتی همچون ترپن‌نوئیدها نسبت داده‌اند. برای مثال، اثر ضد باکتریایی لاواند را به وجود مواد فعالی نظیر لینالول، ترپینال، سینئول، کامفور و تیمول مربوط دانسته‌اند.

ثابت شده است این ترکیبات می‌توانند با مختل کردن کار ساختارهای غشای سلولی باعث اختلال در نفوذپذیری سدهای غشایی شده، با به هم زدن کنترل شیمیواسمزی سلول باعث مرگ باکتری‌ها شود [۲۸، ۲۹].

تحقیقات در مورد مکانسیم عمل ترکیبات اسانس‌های حاوی ترکیبات فنولی نشان‌دهنده تأثیر این ترکیبات بر غشای سلولی است. ترکیبات فنولی به غشای سیتوپلاسمی حمله کرده و موجب تخریب آنها و افزایش قابلیت نفوذپذیری آن شده و باعث آزاد شدن اجزای اصلی داخل سلول (مثل ریبوز و گلوتامات سدیم)

### تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌کنند که هیچ‌گونه تضاد منافی در خصوص پژوهش حاضر وجود ندارد.

### تشکر و قدردانی

از معاونت محترم تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی کاشان صمیمانه تشکر و قدردانی می‌شود.

## Reference

- [1] Bent S. Herbal medicine in the United States: Review of efficacy, safety, and regulation. *J Gen Intern Med.* 2008; 23(6):854-9. [DOI:10.1007/s11606-008-0632-y] [PMID] [PMCID]
- [2] Hosseinzadeh H, Nassiri-Asl M. Pharmacological effects of *Glycyrrhiza* spp. and its bioactive constituents: Update and review. *Phytother Res.* 2015; 29(12):1868-86. [DOI:10.1002/ptr.5487] [PMID]
- [3] Nomura T, Fukai T, Akiyama T. Chemistry of phenolic compounds of licorice (*Glycyrrhiza* species) and their estrogenic and cytotoxic activities. *Pure Appl Chem.* 2002; 74(7):1199-206. [DOI:10.1351/pac200274071199]
- [4] Basar N, Oridupa OA, Ritchie KJ, Nahar L, Osman NMM, Stafford A, et al. Comparative cytotoxicity of *Glycyrrhiza glabra* roots from different geographical origins against immortal human keratinocyte (HaCaT), lung adenocarcinoma (A549) and liver carcinoma (HepG2) cells. *Phytother Res.* 2015; 29(6):944-8. [DOI:10.1002/ptr.5329] [PMID]
- [5] Nitalikar MM, Munde KC, Dhore BV, Shikalgar SN. Studies of antibacterial activities of *Glycyrrhiza glabra* root extract. *Int J Pharm Tech Res.* 2010; 2(1):899-901.
- [6] Ghadiri MK, Gorji A. Lavender for medicine: A brief review of clinical effects. *Avicenna.* 2002; 1:23-7. <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.116.6864&rep=rep1&type=pdf#page=24>
- [7] Shiina Y, Funabashi N, Lee K, Toyoda T, Sekine T, Honjo S, et al. Relaxation effects of lavender aromatherapy improve coronary flow velocity reserve in healthy men evaluated by transthoracic Doppler echocardiography. *Int J Cardiol.* 2008; 129(2):193-7. [DOI:10.1016/j.ijcard.2007.06.064] [PMID]
- [8] Shahnazi M, Nikjoo R, Yavarikia P, Mohammad-Alizadeh-Charandabi S. Inhaled lavender effect on anxiety and pain caused from intrauterine device insertion. *J Caring Sci.* 2012; 1(4):255. [doi: 10.5681/jcs.2012.035]
- [9] SILVA GL, Luft C, Lunardelli A, Amaral RH, MELO DA, Donadio MV, et al. Antioxidant, analgesic and anti-inflammatory effects of lavender essential oil. *An Acad Bras Cienc.* 2015; 87(2 S):1397-408. [DOI:10.1590/0001-3765201520150056] [PMID]
- [10] Kozics K, Srancikova A, Sedlackova E, Horvathova E, Melusova M, Melus V, et al. Antioxidant potential of essential oil from *Lavandula angustifolia* in vitro and ex vivo cultured liver cells. *Neoplasma.* 2017; 64(4):485-93. [DOI:10.4149/neo\_2017\_401] [PMID]
- [11] Prusinowska R, Śmigielski KB. Composition, biological properties and therapeutic effects of lavender (*Lavandula angustifolia* L). A review. *Herba Pol.* 2014; 60(2):56-66. [DOI:10.2478/hepo-2014-0010]
- [12] Imre S, Eşianu S, Miklos A, Tiuca I, Dicher I, Tero-Vescan A, et al. Qualitative assay of essential oils of Lavender and Peppermint in commercial products through spectral and chromatographic methods. *Farmacina.* 2016; 64(6):857-62. [https://farmaciajournal.com/wp-content/uploads/2016-06-art-09-Imre\\_857-862.pdf](https://farmaciajournal.com/wp-content/uploads/2016-06-art-09-Imre_857-862.pdf)
- [13] Dalilan S, Rezaei-Tavirani M, Nabiuni M, Heidari-Keshel S, Azodi MZ, Zali H. Aqueous extract of *Lavender angustifolia* inhibits lymphocytes proliferation of Hodgkin's lymphoma patients. *Iran J Cancer Prev.* 2013; 6(4):201-8. [PMCID]
- [14] Roller S, Ernest N, Buckle J. The antimicrobial activity of high-necrodane and other lavender oils on methicillin-sensitive and-resistant *Staphylococcus aureus* (MSSA and MRSA). *J Altern Complement Med.* 2009; 15(3):275-9. [DOI:10.1089/acm.2008.0268] [PMID]
- [15] Hossain S, Heo H, De Silva B, Wimalasena S, Pathirana H, Heo G-J. Antibacterial activity of essential oil from lavender (*Lavandula angustifolia*) against pet turtle-borne pathogenic bacteria. *Lab Anim Res.* 2017; 33(3):195-201. [DOI:10.5625/lar.2017.33.3.195] [PMID] [PMCID]
- [16] Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M. Biological effects of essential oils-a review. *Food Chem Toxicol.* 2008; 46(2):446-75. [DOI:10.1016/j.fct.2007.09.106] [PMID]
- [17] Raut JS, Karuppayil SM. A status review on the medicinal properties of essential oils. *Ind Crops Prod.* 2014; 62:250-64. [DOI:10.1016/j.indcrop.2014.05.055]
- [18] Thakkar PJ, Madan P, Lin S. Transdermal delivery of diclofenac using water-in-oil microemulsion: Formulation and mechanistic approach of drug skin permeation. *Pharm Dev Technol.* 2014; 19(3):373-84. [DOI:10.3109/10837450.2013.788658] [PMID]
- [19] El Asbahani A, Miladi K, Badri W, Sala M, Addi EA, Casabianca H, et al. Essential oils: From extraction to encapsulation. *Int J Pharm.* 2015; 483(1-2):220-43. [DOI:10.1016/j.ijpharm.2014.12.069] [PMID]
- [20] Khazraei-Moradian S, Ganjalikhani-Hakemi M, Andalib A, Yazdani R, Arasteh J, Kardar GA. The effect of licorice protein fractions on proliferation and apoptosis of gastrointestinal cancer cell lines. *Nutr Cancer.* 2017; 69(2):330-9. [DOI:10.1080/01635581.2017.1263347] [PMID]
- [21] Fu Y, Chen J, Li Y-J, Zheng Y-F, Li P. Antioxidant and anti-inflammatory activities of six flavonoids separated from licorice. *Food Chem.* 2013; 141(2):1063-71. [DOI:10.1016/j.foodchem.2013.03.089] [PMID]
- [22] Vlaisavljević S, Šibul F, Sinka I, Zupko I, Ocvoszki I, Jovanović-Šanta S. Chemical composition, antioxidant and anticancer activity of licorice from Fruska Gora locality. *Ind Crops Prod.* 2018; 112:217-24. [DOI:10.1016/j.indcrop.2017.11.050]
- [23] Mehdinezhad Doghikolayi S, Mohammadi M. [The antioxidant and cytotoxic effects of *lavandula angustifolia* on the 8305C cell line (Persian)]. *New Cell Mol Biotechnol J.* 2018; 8(32):91-8. [https://ncm-bjpiu.ir/browse.php?a\\_id=1146&sid=1&slc\\_lang=en](https://ncm-bjpiu.ir/browse.php?a_id=1146&sid=1&slc_lang=en)
- [24] Gezici S. Promising anticancer activity of lavender (*Lavandula angustifolia* Mill.) essential oil through induction of both apoptosis and necrosis. *Ann Phytomed.* 2018; 7(2):38-45. [DOI:10.21276/ap.2018.7.2.5]
- [25] Ziaei Hezarjaribi H, Nadeali N, Saeedi M, Soosaraei M, Jorjani ON, Momeni Z, et al. [The effect of lavender essential oil and nanoemulsion on *Trichomonas vaginalis* in vitro (Persian)]. *Feyz.* 2017; 21(4):326-34. <http://feyz.kaums.ac.ir/article-1-3154-en.html>
- [26] Giovannini D, Gismondi A, Basso A, Canuti L, Braglia R, Canini A, et al. *Lavandula angustifolia* mll. Essential oil exerts antibacterial and anti-inflammatory effect in macrophage mediated immune response to *staphylococcus aureus*. *Immunol Invest.* 2016; 45(1):11-28. [DOI:10.3109/08820139.2015.1085392] [PMID]
- [27] Masoomi VO, Tajik H, Moradi M, Forough M, Shahabi N. [Antimicrobial effects of *Zataria multiflora* boiss. Essential oil nanoemulsion against *Escherichia coli* O157: H7 (Persian)]. *Stud Med Sci.* 2016; 27(7):608-17. [http://umj.umsu.ac.ir/browse.php?a\\_code=A-10-2520-1&sid=1&slc\\_lang=en](http://umj.umsu.ac.ir/browse.php?a_code=A-10-2520-1&sid=1&slc_lang=en)
- [28] Sabbioni C, Ferranti A, Bugamelli F, Forti GC, Raggi MA. Simultaneous HPLC analysis, with isocratic elution, of glycyrrhizin and glycyrrhetic acid in liquorice roots and confectionery products. *Phytochem Anal.* 2006; 17(1):25-31. [DOI:10.1002/pca.877] [PMID] [PMCID]



- [29] Bradley PR. British herbal compendium: A handbook of scientific information on widely used plant drugs. United Kingdom: British Herbal Medicine Association; 1992. [https://books.google.com/books/about/British\\_Herbal\\_Compndium.html?id=IrUFBAACAAJ](https://books.google.com/books/about/British_Herbal_Compndium.html?id=IrUFBAACAAJ)