

بررسی اثر سمیت سلولی عصاره ی متانولی میوه گیاه هنده‌بید بر سلول‌های سرطان پستان

لیلا سادات الداغی^۱، حسن رضائی سرشت^۲، حمید چشمی^{۳*}

^۱ کارشناسی ارشد زیست شناسی سلولی تکوینی، مرکز تحقیقات سلولی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، سبزوار، ایران
^۲ کارشناسی ارشد فیتوشیمی، گروه بیوشیمی تغذیه، مرکز تحقیقات طب سنتی و جامع نگر، دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، سبزوار، ایران
^۳ کارشناسی ارشد علوم سلولی مولکولی، گروه بیوشیمی تغذیه، مرکز تحقیقات سلولی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، سبزوار، ایران

*نشانی نویسنده مسؤل: سبزوار، دانشگاه علوم پزشکی، گروه بیوشیمی تغذیه، مرکز تحقیقات سلولی مولکولی، حمید چشمی
 E-mail: hamid.ch65@gmail.com

وصول: ۹۴/۹/۱۸، اصلاح: ۹۴/۱۱/۲۱، پذیرش: ۹۵/۱/۲۷

چکیده

زمینه و هدف: سرطان پستان دومین سرطان شایع در زنان بعد از سرطان ریه می‌باشد. هنده‌بید گیاهی طبی بوده و مشخص گردیده که گونه‌های متعلق به جنس vitex دارای خواص ضدسرطانی، ضدباکتریایی، ضدقارچ و ضدزخم‌معه می‌باشند. تا کنون تأثیرات آنتی توموری این گونه بر روی رده سلولی سرطان پستان بررسی نشده است. لذا در این مطالعه اثر سمیت سلولی عصاره ی متانولی میوه آن مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها: سلول‌های MCF7 در محیط RPMI 1640 حاوی سرم جنینی گاو و آنتی‌بیوتیک کشت گردیدند. سپس سلول‌ها با رقت‌های مختلف عصاره‌ی متانولی میوه گیاه هنده‌بید به مدت ۴۸ ساعت تیمار گردیده و در نهایت میزان زنده ماندن سلول‌ها به روش MTT تعیین گردید.

یافته‌ها: یافته‌های این مطالعه نشان می‌دهد که عصاره گیاه هنده‌بید بر روی رده سلولی سرطان پستان (MCF7) در اکثر غلظت‌ها دارای اثر سمیت سلولی بوده و بالاترین مهار آن در غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر است.

نتیجه‌گیری: با توجه به یافته‌های این مطالعه می‌توان این گونه نتیجه گرفت که عصاره متانولی میوه گیاه هنده‌بید بر روی سلول‌های سرطانی پستانی دارای اثر سمیت بوده و احتمالاً با بررسی‌های بیشتر در آینده، می‌توان این گیاه را به‌عنوان گیاهی مؤثر در بهبود سرطان معرفی نمود.

واژه‌های کلیدی: سمیت سلولی، هنده‌بید، سرطان پستان، MTT

مقدمه

دست می‌آورد (۱).
 درمان سرطان با روش‌های متنوعی همچون جراحی، پرتو درمانی، شیمی‌درمانی، ژن‌درمانی و ... صورت می‌گیرد که در این بین از شیمی‌درمانی به‌عنوان یکی از پدیده‌های قرن بیستم نام برده می‌شود (۲). در این

سرطان بیماری است که در نتیجه تکثیر و رشد بدون کنترل سلول‌ها ایجاد می‌شود. سلول‌های سرطانی، توده توموری را ایجاد می‌کنند که در برخی موارد قابلیت گسترش و تهاجم به سایر نقاط بدن را به-

می‌شود گیاه هنده‌بید است. این گیاه متعلق به جنس *vitex* از خانواده *Verbenaceae* می‌باشد. خانواده مذکور دارای بیش از ۲۵۰ گونه بوده که گیاه مدنظر این مطالعه در مناطق کوهپایه ای رشد نموده و ارتفاع آن تا ۳ متر می‌رسد. این گیاه با نام های پنج انگشت، بنگله نیگرو گنگ، گناک و هنده بید و با نام علمی *vitex pseudo negundo* شناسایی گردیده و بصورت درختچه هایی با پایه های چوبی مشاهده می شود (۶). گونه مذکور، دامنه رویشگاهی بالایی داشته و در آسیای غربی، سوریه، کردستان، ایران و افغانستان گسترش دارد. از هنده بید در طب سنتی به منظور درمان بسیاری از مشکلات و بیماری های مربوط به زنان همچون آمنوره، دیسمنوره، نارسایی جسم زرد، هیپرپرولاکتینوما، نازایی، آکنه، یائسگی و اختلالات شیر دهی استفاده می گردد. (۷) گزارشات و مطالعات انجام گرفته نشان داده است که برخی گونه های جنس *vitex* به منظور تسکین درد های روماتیسمی و رگ به رگ شدگی کاربرد داشته و برخی نیز دارای خواص ضدسرطانی، مدر و بهبود دهنده عفونت های تنفسی می باشند. بررسی های فیتوشیمیایی نشان داده اند که اعضای این جنس دارای ترکیباتی شامل فلاونوئیدها، تریپنئیدها، اکدی استروئیدها و گلیکوزیدهای ایریدوئید می باشند (۸). از این رو و با توجه به فقدان هرگونه مطالعه بر روی این گونه گیاهی در زمینه سمیت احتمالی عصاره متانولی آن در مقابل سلول های سرطانی، در این مطالعه برای اولین بار به بررسی میزان سمیت سلولی عصاره گیاه مذکور، به عنوان یکی از گیاهان بومی ایران، در مقابل رده سلولی MCF7 پرداخته شده است.

مواد و روش ها

جمع آوری گیاه و عصاره گیری

گیاه هنده‌بید در مرداد ماه سال ۱۳۹۲ از کوه پایه های روستای طبس واقع در شهرستان سبزوار جمع‌آوری گردید. برای انجام این تحقیق میوه‌های خشک این گیاه

روش درمانی از داروهای استفاده می‌شود که باعث مهار یا کاهش سرعت رشد سلول‌های سرطانی که به‌سرعت در حال تقسیم هستند، می‌گردند. داروهای مذکور، علاوه بر سلول‌های سرطانی سبب تخریب سلول‌های سالم نیز می‌شود. بنابراین امروزه تحقیقات زیادی جهت بهینه‌سازی شیمی درمانی و استفاده از داروهای با کمترین اثرات جانبی در حال انجام است. در شیمی درمانی، مقاومت در برابر دارو از اصلی‌ترین مشکلات درمان محسوب می‌شود. بنابراین نیاز به داروها و روش‌های درمانی جدید همواره یکی از چالش‌های این روش درمانی بوده و این امر پژوهشگران را به سمت یکی از بهترین منابع به‌دست آوردن داروهای بهینه جهت استفاده در این روش درمانی یعنی گیاهان، به‌خصوص گیاهان بومی هر کشور که منبع بسیار مناسبی جهت به‌دست آوردن داروهای طبیعی و شیمیایی جهت درمان انواع مختلف بیماری‌ها از جمله سرطان می‌باشند، سوق داده است. البته بر اساس تأکید سازمان بهداشت جهانی، استفاده از طب سنتی ممکن است دارای عوارض منفی و نامطلوب نیز باشد و لازم است در مورد استفاده از هر گیاه و یا ماده‌ای که در طب سنتی استفاده می‌شود تحقیقات جامعی صورت پذیرد (۳). مقاومت سلول‌های سرطانی نسبت به داروهای سیتوتوکسیکی که به‌طور رایج در شیمی‌درمانی تجویز می‌شوند و از نظر ساختاری و عملکردی با یکدیگر متفاوت هستند مقاومت چند دارویی نامیده می‌شود (۴). مقاومت چند دارویی سلول‌های سرطانی اصلی‌ترین عامل ناکارآمدی شیمی‌درمانی محسوب می‌شود؛ به‌همین دلیل پس از شناسایی پروتئین‌های دخیل در مقاومت دارویی، شناخت و بررسی ترکیبات مهارکننده پروتئین‌های مذکور یکی از مهم‌ترین اهداف محققین محسوب می‌شود. در این رابطه تلاش‌های به‌عمل آمده منتهی به شناسایی سه نسل از داروهای مهارکننده مقاومت چند دارویی شده است (۵). یکی از گیاهانی که در طب سنتی ایران استفاده

به کف فلاسک به روش آنزیمی و با استفاده از تریپسین جدا شد و پس از انتقال به لوله‌های آزمایش استریل، به مدت ۸ دقیقه و با شتاب ۱۲۰g سانتریفیوژ گردید. سپس سلول‌ها با محیط کست تازه به حالت معلق درآمده و به چاهک‌های پلیت ۹۶ خانه انتقال داده شدند. یک ردیف از چاهک‌ها فاقد سلول و فقط حاوی محیط کشت (به‌عنوان blank) و یک ردیف نیز حاوی محیط کشت دارای سلول (به‌عنوان شاهد یا گروه کنترل) بوده و سایرین با غلظت‌های مختلف عصاره موردنظر تیمار گردیدند. پلیت‌های مذکور به مدت ۴۸ ساعت در انکوباتور قرار گرفتند و سپس محیط درون چاهک‌ها تخلیه و به هر چاهک ۵۰ میکرولیتر از محلول MTT افزوده شد. پس از گذشت ۴ ساعت، محلول باقیمانده خارج و به هر چاهک ۱۰۰ میکرولیتر DMSO اضافه شد تا فورمازان حاصله حل گردد. در نهایت پلیت‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در تکان دهنده قرار گرفتند و سپس جذب نوری فورمازان در ۵۷۰ نانومتر با استفاده از خوانشگر پلیت ثبت گردید. درصد حیات سلولی با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید:

$$\%OD = \frac{OD \text{ بلانک} - OD \text{ چاهک های تحت تاثیر عصاره}}{OD \text{ بلانک} - OD \text{ کنترل}} \times 100$$

در فرمول فوق، OD بلانک، چگالی نوری چاهک‌های بدون سلول و تنها حاوی DMSO است. OD کنترل، نیز چگالی نوری چاهک‌های حاوی سلول و MTT و فاقد ترکیبات مورد آزمایش است.

یافته‌ها

به‌طور کلی با تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره میوه گیاه هنده‌بید (۵، ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) بر رده سلول‌های سرطان پستان (MCF7) مهارکنندگی رشد سلول‌ها قابل ملاحظه بود بدین‌صورت که پایین‌ترین درصد زنده ماندن سلول‌ها در غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر به ترتیب ۵/۷ و ۵/۴ درصد به‌دست آمد.

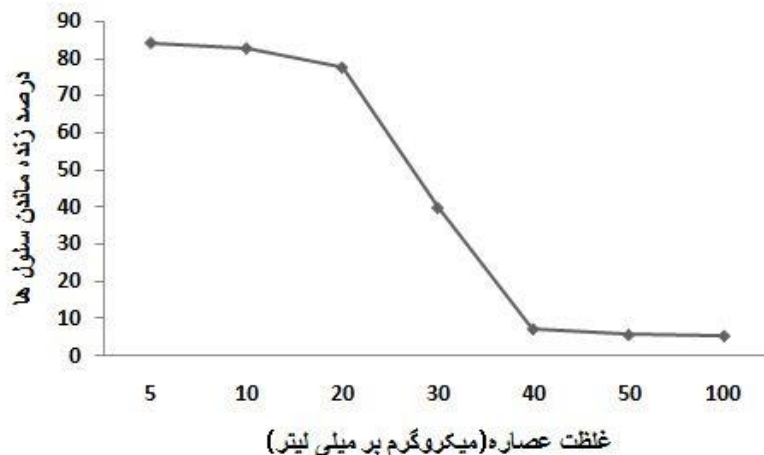
آسیاب گردید و سپس عصاره‌گیری متانولی به روش خیساندن انجام پذیرفت. بدین منظور ۱۰ گرم از میوه گیاه مورد نظر، پودر شده و سپس به مدت ۶ روز در مجاورت ۲×۵۰ml از حلال متانول در دمای اتاق قرار گرفت. در گام بعد به عصاره حاصل اجازه داده شد تا در شرایط دمای اتاق و تاریکی با مکانیسم حلال پرانی تغلیظ و خشک گردد. در نهایت، عصاره خشک بدست آمده توزین گردید (۰/۶۷ گرم) و تا زمان آغاز آزمایشات مربوط به کشت سلولی به دور از گرما و نور، در ظرف شیشه‌ای در بسته و درون یخچال، نگهداری شد.

تهیه رقت‌های مختلف از عصاره گیاه

عصاره گیاهی حاصل از مرحله قبل، به‌وسیله ترازوی حساس دیجیتال توزین گردید. سپس عصاره خشک توزین شده در ۱۰۰ میکرو لیتر DMSO به‌صورت محلول درآورده شد. در گام بعدی، رقت‌های مختلف موردنیاز با افزودن محیط کشت سلولی (RPMI 1640) تهیه شد. رقت‌های مورد استفاده در این تحقیق شامل ۵، ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود. به‌منظور کاهش حداکثری اثر سمیت DMSO بر روی سلول‌های موجود در چاهک‌ها، غلظت این ماده در هر چاهک کمتر از ۱٪ منظور گردید.

بررسی سمیت سلولی مواد با استفاده از آزمون MTT

سمیت سلولی عصاره متانولی میوه گیاه هنده‌بید بر روی رده سلولی سرطان پستان (MCF7) به روش آزمون رنگ سنجی MTT (۳-۵ و ۴-۵ دی متیل تiazول ۲-ایل) -۲،۵- دی فنیل تترازولیوم برماید) تعیین گردید. به این صورت که رده سلولی مورد بررسی، در محیط کشت RPMI 1640 که حاوی پنی‌سیلین (۱۰۰ IU/ML)، استرپتومایسین (۱۰۰ IU/MI)، گلوتامین (۲mmol) و FBS ۱۰ درصد بود در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد و فشار ۵ درصد دی‌اکسیدکربن در فلاسک‌های با مساحت ۷۵ cm² کشت گردید. در مرحله بعد و با گذشت حدود سه روز و پوشیده شدن بستر فلاسک از سلول، لایه سلولی چسبیده



نمودار ۱: درصد زنده ماندن سلول‌های MCF7 در اثر تیمار با غلظت‌های مختلف عصاره متانولی میوه گیاه هنده‌بید

میکروگرم بر میلی‌لیتر می‌باشد. مهارکنندگی رشد سلول-های MCF7 در سایر مطالعات نیز مورد بررسی قرار گرفته اما در مورد عصاره میوه گیاه هنده‌بید، داده‌های این مطالعه اولین گزارش را ارائه می‌نمایند.

در مطالعه‌ای بر روی عصاره هیدروالکلی و اسانس برگ گیاه *Vitis pseudo-negundo* ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی نمونه‌ها با استفاده از روش‌های مختلف مورد ارزیابی قرار گرفت. توان حذف رادیکال‌های آزاد از طریق روش ۲ و ۲ دی فنیل - ۱- پیکریل هیدرازیل (DPPH)، ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی با استفاده از روش فسفومولبیدات و میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی نمونه‌ها با استفاده از روش فولین سیوکالتو و زیشن به- دست آمد. نتایج به‌دست آمده نشان داد که ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی عصاره هیدروالکلی و اسانس برگ گیاه *Vitis pseudo-negundo* به‌ترتیب برابر با $1/76 \pm 0/25$ ؛ $2/12 \pm 0/60$ و میزان فنل عصاره هیدروالکلی و اسانس برگ گیاه مذکور به‌ترتیب برابر با 22 ± 2 ؛ $133/11 \pm 3$ و همچنین میزان فلاونوئید عصاره هیدروالکلی و اسانس برگ گیاه به‌ترتیب برابر با 18 ± 1 ؛ $5/5 \pm 4$ می‌باشد (۹).

از طرف دیگر، براساس تحقیقی که بر روی اسانس برگ گیاه *Vitis pseudo-negundo*، جمع‌آوری شده از حوالی شهر سبزوار انجام گرفت ترکیبات اسانس این گیاه شناسایی گردید که ترکیبات عمده آن ۱،۸-

میانگین جذب نوری در غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر با میانگین جذب نوری با گروه کنترل متفاوت می‌باشد. به‌صورتی که میانگین جذب نوری در غلظت‌های مذکور به‌ترتیب برابر $0/062$ ، $0/056$ است، امری که نشان‌دهنده مرگ سلولی بالا و اثر سمیت سلولی غلظت-های عصاره موردنظر نسبت به گروه کنترل است. ارتباط زنده ماندن سلول‌ها و غلظت‌های مورد استفاده در سلول-های سرطانی در نمودار ۱ قابل مشاهده است. همان‌طور که در نمودار مذکور مشخص است روند زنده ماندن سلول‌ها با افزایش غلظت عصاره موردنظر کاهش می‌یابد. همچنین IC_{50} محاسبه شده برای این عصاره میزان ۲۷ میکروگرم بر میلی‌لیتر به‌دست آمد.

همچنین از بررسی ریخت شناختی سلول‌ها پس از تیمار با عصاره موردنظر مشخص گردید که کاهش تعداد سلول‌ها کاهش یافته و ظاهری گرانوله پیدا کرده‌اند امری که بر مهار رشد سلولی و مرگ سلول‌ها صحه می‌گذارد.

بحث

یافته‌های این مطالعه نشان می‌دهد که عصاره متانولی میوه گیاه *Vitis pseudo-negundo* بر روی رده سلولی سرطانی MCF7 در اکثر غلظت‌ها دارای سمیت سلولی بوده و بالاترین مهار آن در غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰

فلاونوئیدی به نام vitexicarpin از عصاره کلروفومی برگ-های گیاه با استفاده از Bioassay-guided جداسازی گردید و مشخص شد که ترکیب مذکور در مقابل سلول-های سرطانی انسانی دارای اثر سمیت سلولی شدیدی می باشد (۱۴). همچنین مشخص گردیده که دی ترین جداسازی شده از میوه گیاه *V. rotundifolia* به نام ferruginol دارای خاصیت آنتی اکسیدانی قوی می باشد (۱۵). همچنین ترکیب دیگری که از این گیاه استخراج گردیده فلاونوئیدی به نام Casticin می باشد که به طور قابل ملاحظه ای دارای خاصیت بازدارندگی رشد سلول های سرطانی PC-12 و HCT116 می باشد (۱۶).

در مطالعه ای دیگر، عصاره ی آبی-متانولی (AME) گیاه *Vitex trifolia* توسط حلال های کلروفورم و اتیل استات استخراج گردید و سمیت سلولی عصاره کلروفومی (CE) و عصاره ی اتیل استاتی (EE) و محلول باقی مانده (RME) پس از استخراج ارزیابی گشته و میزان سمیت سلولی روی رده سلولی Hep-G2 مورد مطالعه قرار گرفت و نتایج مشابهی حاصل آمد (۱۷).

با توجه به عدم پاسخ مطلوب اکثر انواع سرطان ها به روش های مختلف درمانی و پیشرفت سریع آن ها، تحقیق در زمینه تولید داروهایی با کارایی بیشتر و سمیت کمتر ادامه دارد. ترکیبات گیاهی بسیاری با اثرات بیولوژیکی متنوع وجود دارند که بخشی از داروهای ضد سرطانی را در علم داروسازی نوین شامل می شوند امری که مطالعه بر روی گیاهان بومی مناطق مختلف هر کشور را به منظور توسعه طب سنتی و تولید فرآورده های دارویی گیاهی اجتناب ناپذیر می سازد. لذا با توجه به مطالعات گذشته در مورد این گیاه که در بالا به برخی از آن ها اشاره گردید و با نظر بر یافته های این مطالعه دریافتیم که عصاره ی متانولی تهیه شده از میوه گیاه هنده بید، دارای اثر کشندگی بر سلول های سرطانی پستان بوده و تغییرات مورفولوژی مشاهده شده در سلول های سرطانی تیمار شده با این عصاره، احتمالاً بیانگر القای

سینئول (۱۸/۲۳٪)، آلفا-پینن (۱۶/۲۰ درصد) و ساینین (۵/۶۷ درصد) بود (۱۰). علاوه بر این، در مطالعه دیگری که بر روی قسمت های مختلف گیاه مذکور انجام گرفت مشخص گردید که ترکیبات عمده اسانس برگ آن شامل آلفا-پینن (۳۵/۹ درصد)، بی سیکلو جرماکرن (۹/۵ درصد) و لیمونن (۱۲/۲ درصد) می باشند در حالی که اسانس میوه شامل آلفا-پینن (۳۱/۷ درصد)، بی سیکلو جرماکرن (۱۴/۵ درصد) و لیمونن (۱۱/۵ درصد) و اسانس گل شامل آلفا-پینن (۱۴/۷ درصد)، بی سیکلو جرماکرن (۸/۳ درصد) و لیمونن (۵/۸ درصد) می باشد (۹). همچنین از برگ ها و ساقه های این گیاه ترکیب aucubin و agnuside جداسازی گشته است (۹).

از طرف دیگر، خاصیت ضدپروسلائی این گیاه در مطالعه ای دیگر مورد بررسی قرار گرفته و نشان داده شده است که *vitex pseudo-negundo* دارای اثر ضدباکتریایی می باشد (۱۲). در مطالعه دیگری که بر روی گیاه *Vitex trifolia L.* انجام گرفت، ۵ ترکیب دی ترینی از نوع ساختار لیبیدانی با نام های

rel5S,6R,8R,9R,10S)-6-acetoxy-9-*vitexilactone*، hydroxy-13(14)-labden-16,15-olide، *rotundifuran*، *vitetrifolin D* و *vitetrifolin E* جداسازی گردید و مشخص شد که ترکیبات مذکور دارای اثر بازدارندگی چرخه سلولی بوده و آپوپتوز را القا می نمایند. همچنین مشخص گردید که این ۵ ترکیب به طرز چشمگیری منجر به القای آپوپتوز در رده های سلولی K562 و tsFT210 در غلظت های بالا شده در حالی که در غلظت های کم باعث مهار فرایند چرخه سلولی در فاز G0/G1 می شوند (۱۳). همچنین در بررسی دیگری که روی همین گیاه انجام گرفت، شش فلاونوئید *artemetin*، *persicogenin*، *chrysofenolol*، *penduletin*، *duteolin* و *vitexicarpin* به عنوان مهارکننده های جدید چرخه ی سلولی جداسازی گردیدند (۱۳). در پژوهش دیگری که بر روی برگ های گیاه *Vitex negundo* انجام گرفت، ترکیب

انجام تست‌های بالینی به نتایج مستدلی جهت استفاده از این گیاه یا فراورده‌های آن به‌منظور پیشگیری یا بهبود احتمالی سرطان پستان نائل آمد.

مرگ برنامه‌ریزی شده‌ی سلول (آپتوز) می‌باشد که نیاز به بررسی دقیق‌تر و بیشتری دارد. از این رو و با توجه به نتایج حاصل از این مطالعه می‌توان از طریق بررسی تأثیرات این گیاه بر مدل‌های حیوانی سرطان و در نهایت

References

1. Anand P, Kunnumakkara AB, Sundaram C, Harikumar KB, Tharakan ShT, Lai OS, et al. Cancer is a preventable disease that requires major lifestyle changes. *Pharm Res.* 2008; 25(9): 2097–16.
2. Iradyan MA, Iradyan NS, Arsenyan FG, Stepanyan GM. Imidazole derivatives and their antitumor activity. *Pharmaceutical Chemistry Journal.* 2009; 43: 439-43.
3. Meijerman I, Beijnen JH, Schellens JH. Combined action and regulation of phase II enzymes and multidrug resistance proteins in multidrug resistance in cancer. *Cancer Treat Rev.* 2008; 34(6): 505–20.
4. Gottesman MM. How cancer cells evade chemotherapy. *Cancer Research.* 1993; 53:747-54.
5. Ambudkar SV, Kimchi-sarfaty C, Sauna ZE, Gottesman MM. P-glycoprotein: From geumics to mechanism. *Oncogene.* 2003; 22(47):7468-85.
6. Boroomandfar KH, Kazemiyani A, Safdari FM. Effect of Vitex on hot flash of menopausal women referred to health center of Isfahan. *J Birjand Univ Med Sci.* 2007; 14(3): 9-15. [Persian]
7. Tandon VR, Guota RK. An experimental evaluation of anticonvulsant activity of vitex-negundo. *Indian J Physiol Pharmacol.* 2005; 49(2) : 199–205.
8. Kirtikar JD, Basu BD. *Indian Medicinal Plants* Vol-III, 2nd ed; (1981) NISCOM: New Delhi.
9. HadjMohammadi MR, Afif AA, Rezaee MB. Chemical Composition of Leaf, Flower and Fruit Oil of Vitex pseudo-negundo (Hauskn.) Hand.-Mzt. Fro Iran. *Journal of Essential Oil Research.* 2006;18(3):308-9.
10. Sahaf BZ, Moharrampour S, Meshkatsadat MH. Fumigant toxicity of essential oil from Vitex pseudo-negundo against Tribolium castaneum (Herbst) and Sitophilus oryzae (L). *Journal of Asia-Pacific Entomology.* 2008;11(4):175-9.
11. Rimpler H. Iridoids and ecdysones from Vitex species. *Phytochemistry.* 1972;11(8):2653-4.
12. Motamedi H, Darabpour E, Gholipour M, Seyyed Nejad SM. In vitro assay for the anti-brucella activity of medicinal plants against tetracycline-resistant Brucella melitensis. *J Zhejiang Univ Sci B.* 2010;11(7):506-11.
13. Li W-X, Cui C-B, Cai B, Yao X-S. Labdane-type diterpenes as new cell cycle inhibitors and apoptosis inducers from *Vitex trifolia* L. *J Asian Nat Prod Res.* 2005;7(2):95–105.
14. Díaz F, Chávez D, Lee D, Mi Q, Chai HB, Tan GT, et al. Cytotoxic flavone analogues of vitexicarpin, a constituent of the leaves of *Vitex negundo*. *J Nat Prod.* 2003;66(6):865–7.
15. Hoang VL. Chemical composition of *Vitex trifolia* L. *Tap Chi Duoc Hoc.* 2003:113–4.
16. Ono M, Yanaka T, Yamamoto M, Ito Y, Nohara T. New diterpenes and norditerpenes from the fruits of *Vitex rotundifolia*. *J Nat Prod.* 2002;65(4):537–41.
17. El-Sayed MM, El-Hashash MM, Mohamed MA, Korany TM. Cytotoxic activity of *Vitex trifolia* purpurea extracts. *J Egypt Soc Parasitol.* 2011;41(2):409–16.

The Cytotoxic Effect of *Vitex pseudo negundo* Fruit in Breast Cancer (MCF7) Cell Line

Leila Sadat Aldaghi

M.Sc. of Developmental Cell Biology, Cellular and Molecular Research Center, Sabzevar University of Medical Sciences, Sabzevar, Iran.

Hasan Rezaei Seresht

M.Sc. of Phytochemistry, Biochemistry and Nutrition Department, Traditional and Complementary Medicine Research Center, Sabzevar University of Medical Sciences, Sabzevar, Iran.

***Hamid Cheshomi**

M.Sc. of Cellular and Molecular Sciences, Biochemistry and Nutrition Department, Cellular and Molecular Research Center, Sabzevar University of Medical Sciences, Sabzevar, Iran.

Received:09/12/2015, Revised:10/02/2016, Accepted:15/04/2016

Corresponding author:

Hamid Cheshomi,
Biochemistry and Nutrition
Department, Sabzevar University
of Medical Sciences, Sabzevar,
Iran.
E-mail: hamid.ch65@gmail.com

Abstract

Background & Objectives: Breast cancer is the most common cancer affecting women so that it is the second common cancer (after lung cancer) in women. *Vitex pseudo negundo* is used as a traditional medicine. Recently, the biological activities of *Vitex pseudo negundo* plants have been reported as possessing anticancer, antibacterial, antiulcer and antifungal properties. However, the antitumor effects of this medicine have not been studied in cancer cell lines. The aim of this study was to investigate the antitumor effect of *Vitex pseudo negundo* fruit on breast cancer cell lines.

Materials & Methods: Breast cancer (MCF7) cell lines were cultured in DMEM medium. *Vitex pseudo negundo* fruit was extracted; and different dilutions of *Vitex pseudo negundo* extract (5mg/mL to 100mg/mL) were added to cell culture. Cell viability was quantitated by MTT assay after 72 hours.

Results: The findings indicate that the extract of *Vitex pseudo negundo* fruit on MCF7 cancer cell lines had cytotoxicity in all concentrations and the highest inhibition was 50 and 100 mg/ml concentrations.

Conclusion: Our study shows that *Vitex pseudo negundo* fruit extract has cytotoxic effects on tumor cells, It seems that *Vitex pseudo negundo* fruit could be considered as a promising chemotherapeutic agent in cancer treatment.

Keywords: Cytotoxic effect, *Vitex pseudo negundo*, MTT, Breast cancer.