

## بررسی اثر سمیت سلولی ترکیب عصاره هیدروالکلی کلوس ( *Kelussia odoratissima Mozaff*) و مرزه بختیاری (*Satureja bachtiarica Bunge*) بر روی رده سلول های سرطانی *Hela*

آناهیتا بهداروند شوشتر<sup>۱</sup>، حسین سازگار<sup>۲</sup>، عبدالله قاسمی پیربلوطی<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup> کارشناسی ارشد فیزیولوژی جانوری، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران

<sup>۲</sup> دکتری فیزیولوژی جانوری، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران

<sup>۳</sup> دکتری گیاهان دارویی و معطر، گروه گیاهان دارویی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران

### چکیده

**سابقه و هدف:** سرطان دهانه رحم شایع‌ترین سرطان دستگاه تناسلی زنان و دومین سرطان شایع زنان در دنیاست. با توجه به این که ترکیبات گیاهی قرن‌هاست که برای درمان سرطان استفاده می‌شود، هدف از این مطالعه پژوهشی بررسی اثر سمیت سلولی ترکیب عصاره هیدروالکلی کلوس و مرزه بختیاری بر روی رده سلول های سرطانی *Hela* بود.

**روش بررسی:** رده سلول‌های سرطانی *Hela* و رده سلول های طبیعی فیبروبلاست به ترتیب در محیط کشت RPMI 1640 و DMEM حاوی سرم جنین گاو و آنتی بیوتیک کشت شدند. این سلول‌ها در مجاورت دوزهای مختلف ترکیب عصاره هیدروالکلی کلوس و مرزه بختیاری (۰/۱۵۶، ۰/۳۱۲، ۰/۶۲۵، ۱/۲۵ و ۲/۵ میلی گرم بر میلی لیتر) قرار گرفتند و به مدت ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت انکوبه شدند. پس از پایان مدت انکوباسیون، از روش تغییر یافته آزمون رنگ‌سنجی MTT جهت تعیین سمیت سلولی عصاره استفاده شد.

**یافته‌ها:** نتایج حاصل از تست MTT نشان داد که ترکیب عصاره هیدروالکلی کلوس و مرزه بختیاری اثر ضد سرطانی وابسته به دوز و زمان بر سلول های *Hela* دارد، به طوری که با افزایش غلظت عصاره و انکوباسیون ۷۲ ساعت بیشترین درصد مرگ سلولی مشاهده شد ( $p < 0/05$ ). عصاره سمیت قابل توجهی بر روی رده سلول‌های طبیعی فیبروبلاست نشان نداد.

**نتیجه‌گیری:** ترکیب عصاره هیدروالکلی کلوس و مرزه بختیاری اثر سمیت سلولی بر روی رده سلول‌های سرطانی *Hela* داشته در حالی که این عصاره اثر سمیت سلولی بر روی رده سلول‌های طبیعی فیبروبلاست ندارد. لذا به نظر می‌رسد با تحقیقات بیشتر در آینده می‌توان از ترکیبات آنها در درمان سرطان بهره جست.

**واژگان کلیدی:** کلوس، مرزه بختیاری، تست MTT *Hela*

### مقدمه

سرطان یکی از شایع‌ترین علل مرگ و میر در جوامع بشری است و بر اساس گزارش سازمان جهانی بهداشت، مسؤول ۱۳ درصد از کل مرگ و میر در سراسر جهان محسوب می‌شود. در این میان،

سرطان دهانه رحم ششمین سرطان شایع در بین انواع سرطان‌ها است (۱). سرطان دهانه رحم شایع‌ترین سرطان دستگاه تناسلی زنان (۲) و دومین علت مرگ ناشی از سرطان در زنان به شمار می‌آید (۳)، که اکثر این بیماران در کشورهای در حال توسعه زندگی می‌کنند (۴). سرطان دهانه رحم از رشد فزاینده و نامنظم سلول‌های اپی‌تلیالی دهانه رحم و ریزش مداوم سلول‌ها حاصل می‌شود. شناخته‌ترین علت ایجاد این سرطان ویروس پاپیلوماوی انسانی است. درمان سرطان با استفاده از جراحی، شیمی درمانی،

آدرس نویسنده مسئول: گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد،

شهرکرد، ایران، حسین سازگار (email: hoseinsazgar@yahoo.com)

تاریخ دریافت مقاله: ۹۵/۱۰/۶

تاریخ پذیرش مقاله: ۹۵/۱۲/۱۶

بختیاری با نام علمی *Satureja bachtiarica* دارای پراکندگی به نسبت وسیع در ایران است و در مناطق مختلف کشور مانند استانهای چهارمحال و بختیاری، لرستان، خوزستان، ایلام، کرمانشاه، اصفهان، گیلان و بعضی نقاط دیگر می‌روید. این گونه دارای برگ‌هایی است که در طول تاخوردگی دارد و به شکل مستطیلی خطی بوده و به صورت مجتمع در طول ساقه قرار گرفته است (۱۰). مرزه بختیاری از نظر پزشکی در طب سنتی طبیعت نسبتاً گرم و خشک، ضد نفخ و اشتها آور و برای تقویت نیروی جنسی مؤثر می‌باشد. همچنین برای درد دندان از آن استفاده می‌شود و اگر با آب انجیر خورده شود برای سرفه و تنگی نفس اثر مفید دارد (۱۱).

در مطالعات صورت گرفته بر گیاه مرزه بختیاری نشان داده شده است که تانن، مواد چرب از جمله ترکیبات ترپنوئیدی و ترکیبات فنولیک، ترکیبات مؤثره اصلی و زیست فعال در عصاره آن هستند. همچنین با بررسی‌های صورت گرفته بر روی گیاه مرزه بختیاری مشخص شد که ترکیبات پاراسیمن، کارواکرول و تیمول مهم‌ترین ترکیبات تشکیل دهنده این گیاه هستند (۱۲).

کشت سلول یکی از روش‌های نوین مطالعه و تحقیق است و تقریباً در همه رشته‌های علمی نشانه‌هایی از آن یافت می‌شود. یکی از اهداف کشت سلول مطالعه سلول‌ها از نظر نحوه رشد، نیازهای غذایی و علل توقف رشد آنها است. بنابراین، برای مطالعه چرخه سلولی، توسعه روش‌های کنترل رشد سلول‌های سرطانی و تعدیل بیان ژن‌ها نیاز به کشت این سلول‌ها در محیط خارج بدن است (۱۳).

سلول‌های Hela رده‌ای از سلول‌های سرطانی انسانی است که در سال ۱۹۵۱ از سرطان دهانه رحم جدا شد و اکنون در بسیاری از مطالعات بر روی سلول‌های سرطانی مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱۴). مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر ضد سرطانی ترکیب عصاره هیدروالکلی کلوس و مرزه بختیاری بر روی سلول‌های سرطان دهانه رحم (Hela) انجام شد.

## مواد و روشها

### استخراج ترکیب عصاره هیدروالکلی کلوس و مرزه بختیاری

اندام هوایی شامل برگ و ساقه کلوس و مرزه بختیاری از استان چهارمحال و بختیاری جمع‌آوری و استخراج عصاره هیدروالکلی آن‌ها به روش روتاری انجام شد. برای عصاره گیری ابتدا برگ و ساقه گیاهان در سایه خشک شد و توسط آسیاب مکانیکی به صورت پودر در آمد، و آنگاه پودر گیاهان مورد نظر به طور

هورمون درمانی، پرتو درمانی و ایموتراپی انجام می‌شود. اغلب درمان‌های شیمیایی عوارض جانبی متعددی از جمله کاهش اشتها، تغییر وزن، سوزش دهان و گلو، مشکلات دندان‌دانی و لته، تهوع و استفراغ، افسردگی و خستگی را ایجاد می‌کنند. شیوع بالای سرطان و مؤثر نبودن درمان‌های شیمیایی، لزوم دستیابی به ترکیبات دارویی جدید و طبیعی که عوارض جانبی کمتری داشته باشند را نشان می‌دهد (۵). مطالعات نشان می‌دهند گیاهان، سبزیجات و ادویه‌ها می‌توانند به عنوان یک منبع برای جلوگیری از سرطان مؤثر باشند. مواد غذایی نیز نقش مهمی در کاهش پیشرفت انواع سرطان‌ها دارند. استفاده از گیاهان دارویی در طب سنتی در بسیاری از کشورها از جمله ایران قدمت طولانی داشته و امروزه استفاده از گیاهان دارویی به علت تطابق بهتر با فیزیولوژیک بدن، داشتن عوارض جانبی کمتر، در درمان بیماری‌های مختلف رو به افزایش است (۶). بسیاری از گیاهان و ادویه‌ها حاوی عواملی برای جلوگیری از سرطان هستند که می‌توانند اثرات خود را در مراحل مختلف شروع رشد سلول‌های سرطانی اعمال کنند (۷). هدف اصلی در پیشگیری از سرطان توسط مواد طبیعی یا شیمیایی کند کردن و یا مهار فرآیند سرطان‌زایی است. این نگرش به طور هدفمند روی مسیرهای داخل سلولی غیر طبیعی که موجب عملکرد غیر طبیعی سلولی شده‌اند، متمرکز است (۸).

گیاه معطر و دارویی کرفس بختیاری (کلوس) با نام علمی *Kelussia odoratissima* Mozaff گیاهی علفی، چند ساله، از خانواده چتریان دارای ساقه منشعب تو خالی شیاردار به ارتفاع ۲۰ تا ۶۰ سانتی‌متر که ارتفاع گل آن گاهی تا ۲۰۰ سانتی‌متر می‌رسد. مهم‌ترین رویشگاه‌های این گیاه جنوب‌غربی ایران و ارتفاعات زاگرس بختیاری می‌باشد. این گیاه با دارا بودن ترکیباتی چون فلاونوئید دارای اثرات ضد التهابی، ضد ویروس، ضد دیابت، ضد سرطان و ضد مسمومیت است که به طور عمده در ساقه و گل‌آذین تجمع می‌یابند. فتالیدها گروه دیگری از ترکیبات مؤثر این گیاه هستند که آن را به صورت مکمل غذایی و عامل پیشگیری کننده شیمیایی از سرطان و زخم معده و محافظ کبد مطرح می‌کنند. نتایج آزمایش‌ها نشان داده است که این مواد در مهار کردن تومور معده و کاهش ازدیاد آن به میزان ۶۷ تا ۸۳ درصد تأثیر مثبت داشته است. جوامع محلی و بومی از ریشه گیاه به صورت جوشانده برای سرماخوردگی و سرفه‌های شدید و از اندام‌های گیاه برای رفع دل درد، درد روماتیسم و تصفیه خون استفاده می‌کنند (۹).

مرزه (*Satureja*) از جنس‌های خانواده نعنا (*Lamiaceae*) است که حدود ۱۴ گونه از آن در ایران گزارش شده است. گونه مرزه

دور rpm ۱۲۰۰ سانتریفیوژ شد. سپس سلول‌ها با کمک پمپ پاستور در محیط کشت تازه معلق و از آن‌ها سوسپانسیون سلولی تهیه شد، و پس از شمارش، سلول‌ها در پلیت‌های ۹۶ خانه‌ای کف‌صاف (ویژه کشت سلول)، به تعداد  $10^4$  سلول در هر تکرار آزمایش درون چاهک‌های پلیت ریخته شد و پلیت‌ها در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفتند. پس از طی مدت زمان لازم به آرامی و با دقت محیط رویی برداشته شد و به همه چاهک‌ها محیط جدید و ترکیب عصاره هیدروالکلی کلوس و مرزه بختیاری با غلظت‌های ۰/۱۵۶، ۰/۳۱۲، ۰/۶۲۵، ۱/۲۵ و ۲/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر اضافه گردید و به چاهک‌های گروه کنترل محیط دارای سرم و فاقد عصاره اضافه شد، پلیت‌ها به مدت ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت در انکوباتور قرار گرفتند. پس از طی مدت زمان انکوباسیون، پلیت‌ها را از داخل انکوباتور بیرون آورده، محیط رویی هر چاهک به طور کامل به وسیله سمپلر برداشته شد و سلول‌ها با ۱۰۰ میکرولیتر PBS (Phosphate-buffered saline) شسته شدند و سپس به هر چاهک ۸۰ میکرولیتر محیط کشت و ۲۰ میکرولیتر محلول زرد رنگ MTT اضافه شد و پلیت‌ها به مدت ۳ ساعت در انکوباتور قرار داده شد پس از طی مدت زمان لازم ابتدا محیط رویی به طور کامل برداشته شد و هر چاهک با ۱۰۰ میکرولیتر PBS شسته شده و به هر چاهک ۱۰۰ میکرولیتر DMSO اضافه شد تا کریستال‌های فورمازان حل شوند، سپس تغییر رنگ حاصل توسط دستگاه Eliza reader در طول موج ۶۳۰-۴۹۲ نانومتر قرائت شد.

#### روش‌های آماری

داده‌ها با استفاده از روش ANOVA و تست تعقیبی Tukey تحلیل شدند و  $p < 0/05$  معنی‌دار تلقی شد.

#### یافته‌ها

**بررسی میزان سمیت ترکیب عصاره هیدروالکلی کلوس و مرزه بختیاری بر سلول‌های سرطانی Hela به روش MTT**  
سلول‌های سرطانی Hela با غلظت‌های مختلف ترکیب عصاره هیدروالکلی کلوس و مرزه بختیاری (۰/۱۵۶، ۰/۳۱۲، ۰/۶۲۵، ۱/۲۵، ۲/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) به مدت ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت تیمار شدند. نتایج حاصل از تست MTT نشان داد ترکیب عصاره هیدروالکلی کلوس و مرزه بختیاری در تمامی غلظت‌ها، بعد از ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت رشد سلول‌های Hela را به طور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل کاهش می‌دهد ( $p < 0/05$ )؛ همچنین مشخص شد که ترکیب عصاره هیدروالکلی کلوس و

جداگانه داخل استوانه ریخته و سپس حلال روی آن ریخته شد. حلال استفاده شده الکل اتانول ۹۰ درصد بود که همراه آب مخلوط شده بود. این حلال هیدروالکلی به اندازه‌ای استفاده شد که روی پودر گیاهان را کاملاً پوشاند. سپس محلول حاصل در دستگاه آون که روی ۵۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شده بود، قرار داده شد. پس از ۷۲ ساعت که محلول در دستگاه آون ماند، محلول را از دستگاه خارج کرده و از کاغذ صافی عبور داده شد، سپس محلول صاف شده کم‌کم و در چند نوبت در دستگاه روتاری استریک قرار داده شد تا تغلیظ شود. در نهایت عصاره گیاهان را با یکدیگر ترکیب کرده و از عصاره حاصل برای تهیه دوزهای مختلف استفاده شد.

#### کشت سلول

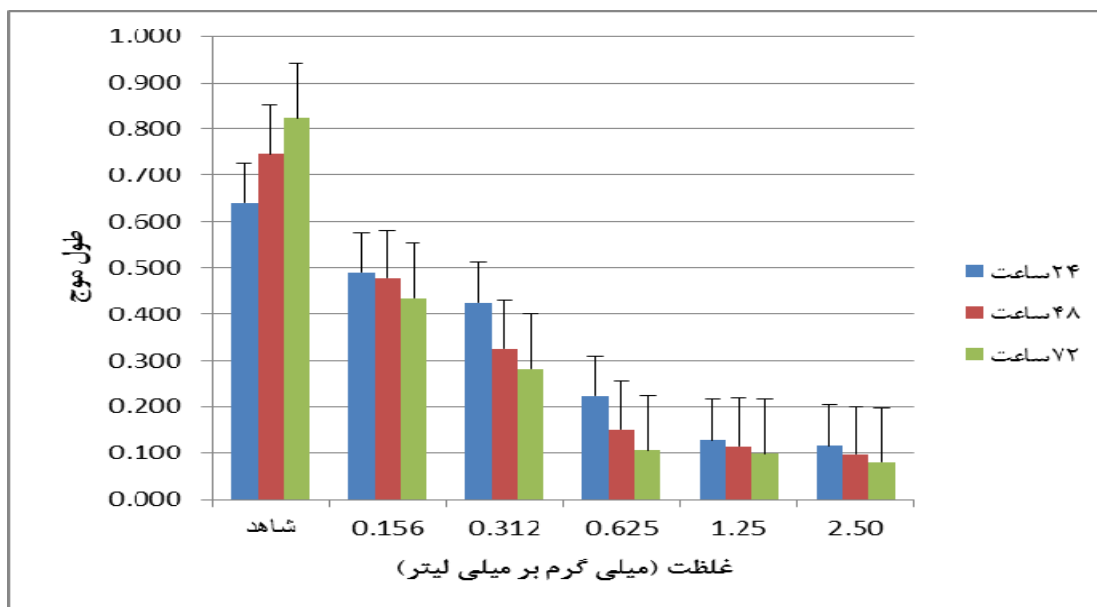
رده سلولی Hela سرطان دهانه رحم و رده سلولی فیروبللاست، سلول طبیعی از مرکز ملی ذخایر ژنتیک ایران تهیه شد. برای کشت سلول‌های Hela از محیط کشت Roswell Park (Roswell Park Memorial Institute 1640 RPMI 1640) و برای کشت سلول‌های فیروبللاست از محیط کشت DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) حاوی ۱۰٪ FBS (Fetal bovin serum) و ۱٪ Penicillin-Streptomycin استفاده شد و تحت شرایط استاندارد انکوباتور (دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و ۵ درصد  $CO_2$  و رطوبت ۹۵ درصد) کشت داده شدند. بعد از سه بار پاساژ، از سلول‌ها برای انجام مراحل بعد استفاده شد. شمارش سلولی و تعداد سلول‌های زنده با لام هموستیومتر با استفاده از تریپان‌بلو انجام شد.

#### آزمون MTT (Methyl Tetrazolum)

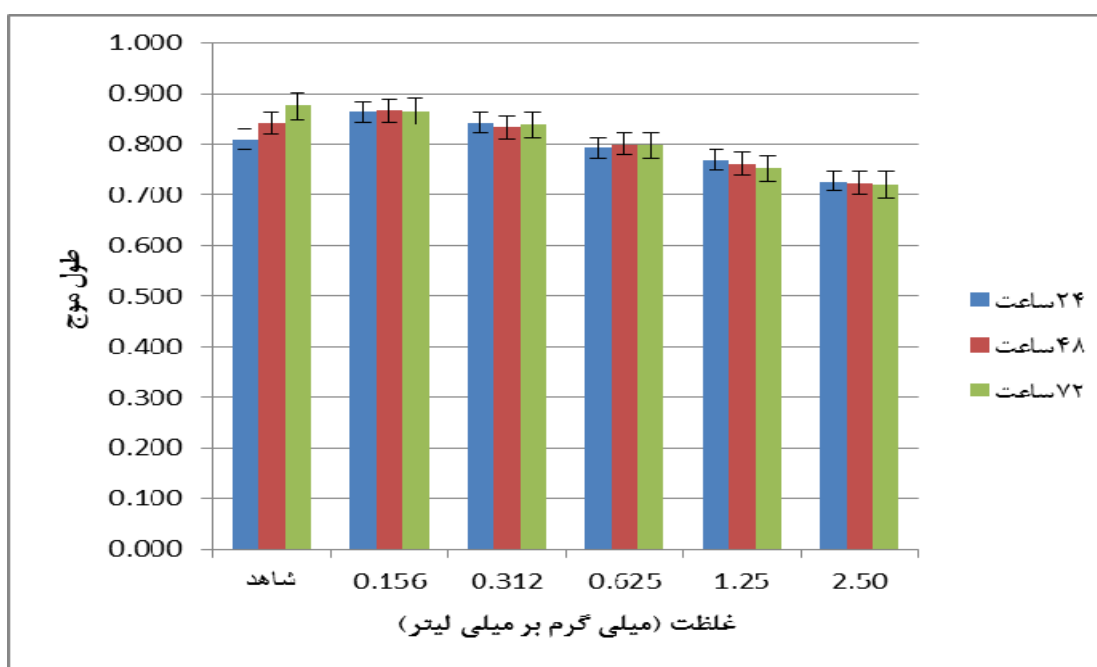
برای اندازه‌گیری اثر سمیت سلولی ترکیب عصاره هیدروالکلی کلوس و مرزه بختیاری از آزمون MTT استفاده شد. در این روش نمک متیل‌تترازولیل‌تترازولیم‌بروماید و یا به اختصار MTT که زرد رنگ است، توسط آنزیم‌های دهیدروژناز میتوکندری سلول‌های فعال، به ترکیب غیر محلول و ارغوانی فورمازان تبدیل می‌شود، جذب نوری این ترکیب پس از حل شدن در DMSO (Dimethyl Sulfoxide)، با کمک دستگاه Eliza reader و در طول موج ۶۳۰-۴۹۲ نانومتر قابل اندازه‌گیری است. (۱۵)

#### بررسی سمیت ترکیب عصاره هیدروالکلی کلوس و مرزه بختیاری با استفاده از آزمون MTT

پس از پوشیده شدن بستر فلاسک از سلول، لایه سلول چسبنده به کف فلاسک به روش آنزیمی و با استفاده از تریپسین جدا شد و پس از انتقال به لوله‌های آزمایش استریل به مدت ۵ دقیقه با



نمودار ۱. اثر غلظت‌های مختلف ترکیب عصاره هیدروالکلی کلوس و مرزه بختیاری بر میزان جذب نوری سلول‌های سرطانی Hela در زمان‌های مختلف با استفاده روش MTT



نمودار ۲. اثر غلظت‌های مختلف ترکیب عصاره هیدروالکلی کلوس و مرزه بختیاری بر میزان جذب نوری سلول‌های طبیعی فیبروبلاست در زمان‌های مختلف با استفاده روش MTT

رده سلولی نشان داد ( $p < 0.05$ ). بیشترین اثر سمیت در غلظت ۲/۵ میلی گرم بر میلی لیتر و آنکوباسیون ۷۲ ساعت مشاهده شد. بررسی میزان سمیت ترکیب عصاره هیدروالکلی کلوس و مرزه بختیاری بر سلول‌های طبیعی فیبروبلاست به روش MTT

مرزه بختیاری دارای اثر ضد سرطانی است که با اثر وابسته به دوز و زمان بر سلول‌های سرطانی Hela می‌تواند باعث مهار رشد این سلول‌ها شود (نمودار ۱).  
آنالیز آماری نتایج با استفاده از تست ANOVA و Tukey اختلاف معنی‌داری در تمام غلظت‌ها و در هر سه زمان در این

## سمیت کلوس و مرزه بختیاری بر رده سلول های سرطانی

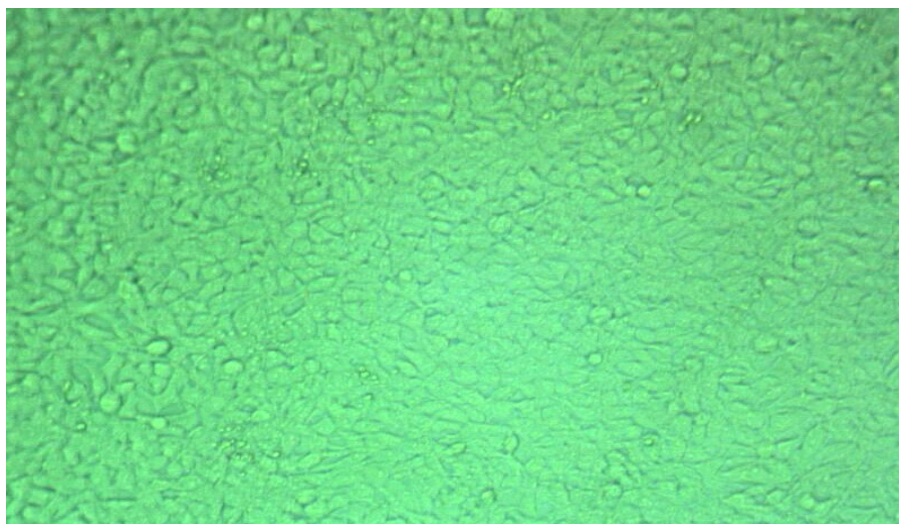
میلی گرم بر میلی لیتر ترکیب عصاره هیدروالکلی کلوس و مرزه بختیاری از حالت طبیعی خارج شدند و مرفولوژی آنها تغییر یافت که نشان دهنده اثر سمیت ترکیب عصاره هیدروالکلی کلوس و مرزه بختیاری بر روی این سلول ها است.

## بحث

در تحقیق حاضر اثر سمیت ترکیب عصاره هیدروالکلی کلوس و مرزه بختیاری بر روی رده سلول های سرطانی Hela و سلول های طبیعی فیبروبلاست مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل از پژوهش نشان می دهد که ترکیب عصاره هیدروالکلی کلوس و مرزه بختیاری دارای خاصیت سیتوتوکسیک بر

سلول های طبیعی فیبروبلاست نیز با غلظت های مختلف ترکیب عصاره هیدروالکلی کلوس و مرزه بختیاری (۰/۱۵۶، ۰/۳۱۲، ۰/۶۲۵، ۱/۲۵، ۲/۵ میلی گرم بر میلی لیتر) به مدت ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت تیمار شدند. نتایج حاصل از تست MTT نشان داد که ترکیب عصاره هیدروالکلی کلوس و مرزه بختیاری در سلول های طبیعی فیبروبلاست تأثیر چندانی ندارد (نمودار ۲).

رشد سلول های سرطانی Hela بعد از ۷۲ ساعت تیمار با ترکیب عصاره هیدروالکلی کلوس و مرزه بختیاری در غلظت ۲/۵ میلی گرم بر میلی لیتر (شکل ۱B) در مقابل گروه کنترل (بدون تیمار با ترکیب عصاره هیدروالکلی کلوس و مرزه بختیاری) (شکل ۱A) مهار شد. سلول ها پس از مجاورت با غلظت ۲/۵



شکل A



شکل B

شکل ۱. شکل (A) سلول های سرطانی Hela در گروه کنترل بدون تیمار با ترکیب عصاره هیدروالکلی کلوس و مرزه بختیاری؛ شکل (B) سلول های سرطانی Hela بعد از ۷۲ ساعت تیمار با ترکیب عصاره هیدروالکلی کلوس و مرزه بختیاری در غلظت ۲/۵ میلی گرم بر میلی لیتر (×۱۰)

و خاصیت ضد التهاب هستند؛ هم‌چنین باعث جلوگیری یا به تأخیر انداختن آسیب‌های اکسیداتیو در چربی‌ها و دیگر مولکول‌های مهم شده (۲۵)، با توجه به این که پیشرفت سرطان ارتباط بسیار نزدیکی با التهاب و استرس اکسیداتیو دارد، ترکیبی که خواص ضد التهابی یا آنتی‌اکسیدانی داشته باشد، می‌تواند یک عامل ضد بدخیمی سلولی باشد (۲۶).

بررسی‌ها نشان داده است که عصاره‌های گیاهان غنی از فلاونوئیدها و ترکیبات فنلی، با کاهش استرس اکسیداتیو باعث آثار حفاظتی سلول‌ها می‌شود. فعالیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنولیک در گیاهان عمدتاً ناشی از قدرت احیاء کنندگی و ساختار شیمیایی آن‌هاست که آن‌ها را قادر به خنثی کردن رادیکال‌های آزاد، تشکیل کمپلکس و یون‌های فلزی و خاموش کردن مولکول‌های اکسیژن یگانه و سه گانه از طریق تغییر مکان یا تجزیه پراکسیدها دارند. ترکیبات فنلی از طریق اهداء الکترون به رادیکال‌های آزاد واکنش‌های اکسیداسیون را مهار می‌کنند (۲۸،۲۷). بنابراین این احتمال وجود دارد که ترکیبات فنلی و فلاونوئیدهای موجود در ترکیب عصاره هیدروالکلی کلوس و مرزه بختیاری از طریق مهار رادیکال‌های آزاد باعث کاهش استرس اکسیداتیو می‌شوند.

تیمول و کارواکرول از جمله ترکیبات مهم موجود در گیاه مرزه بختیاری هستند (۲۹) که اثرات بیولوژیکی مختلفی را می‌توان به آن‌ها نسبت داد. مطالعات نشان داده‌اند که ترکیبات مذکور در مهار آنزیم‌های سیکلواکسیژناز ایفای نقش می‌نمایند (۳۱،۳۰). از طرف دیگر سیکلواکسیژنازها در سرطان‌های مختلف افزایش می‌یابند و احتمالاً به عنوان یک عامل اصلی جهت افزایش رشد و متاستاز عمل می‌کنند (۳۲). آنزیم‌های سیکلواکسیژناز از طریق تولید پروستاگلندین نوع E2 منجر به افزایش آنزیمی به نام آروماتاز می‌گردد. این آنزیم قادر است آندروژن‌ها را به استروژن تبدیل کند. از آنجایی که استروژن موجب افزایش رشد تومور می‌شود (۳۳)، احتمالاً با مهار آروماتاز توسط مهار کننده‌های آنزیم‌های سیکلواکسیژناز میزان استروژن کاهش یافته و رشد تومور کم‌تر خواهد شد (۳۴).

این احتمال وجود دارد که تیمول و کارواکرول موجود در عصاره هیدروالکلی مرزه بختیاری باعث مهار آنزیم‌های سیکلواکسیژناز شود. به طوری که با افزایش دوز عصاره و افزایش زمان، رشد سلول‌های سرطانی، بیشتر مهار شد.

Angel و همکارانش در سال ۲۰۰۹ ترکیبات آنتی‌اکسیدانی از جمله پلی‌فنل‌ها و فلاونوئیدها را از عوامل مؤثر در توان سیتوتوکسیتی *Artemisia Campesteris* دانسته‌اند؛ پلی‌فنل‌ها

سلول‌های سرطانی Hela است، در حالی که ترکیب عصاره هیدروالکلی کلوس و مرزه بختیاری هیچ گونه اثر سمی بر روی سلول‌های طبیعی فیروبلاست ندارد.

در سال‌های اخیر به دلایل مربوط به سلامتی، توجه زیادی به آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی به ویژه در منابع گیاهی معطوف گردیده است. به کارگیری اسیدهای فنولیک طبیعی به عنوان ترکیبی که رادیکال‌های آزاد را تحت تأثیر قرار می‌دهند به شدت مورد توجه محققان قرار گرفته است (۱۶).

بسیاری از گیاهان و ادویه‌جات دارای خاصیت فارماکولوژیک و بیوشیمیایی شامل خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی بوده که به نظر می‌رسد در فعالیت‌های ضد بدخیمی و جهش‌زایی سلولی دخالت دارند (۱۷).

متابولیت‌های ثانویه مشتق از گیاهان مانند فنل و فلاونوئید، دارای پتانسیل قوی برای پاک‌سازی رادیکال‌های آزاد هستند که در تمام قسمت‌های مختلف گیاهی مانند برگ، میوه، دانه، ریشه و پوست وجود دارند (۱۸).

طی تحقیقات سعیدی و همکارانش و هم‌چنین سجادی و همکارانش، کلوس حاوی ترکیباتی مانند فلاونوئید (لیمونن، میرسن، کامفن، کامفور، 3-0-متیل اتر و ...)، فرولیک اسید، فتالید (Z-لیگوستتید، E-3-بوتیلیدن فتالید، E-لیگوستتید و ...)، کافئیک اسید، ترپنوئید ( $\alpha$ -تریپین آل،  $\alpha$ -پنین،  $\beta$ -پنین و ...) و ... است (۱۹، ۲۰).

سلیمی و همکارانش در سال ۱۳۸۹ بیان کردند که مهم‌ترین ترکیبات شناسایی شده در عصاره کلوس از گروه فتالیدها به ویژه Z-لیگوستتید است و کافئیک اسید موجود در این گیاه دارای خواص آنتی‌اکسیدانی است. هم‌چنین فتالیدهای یافت شده در عصاره برگ گیاه مهار کننده قوی تومورهای سرطانی به ویژه در معده، درمان کننده اپی‌لپسی و اختلالات کبدی است (۲۱). به علاوه، گیاه کلوس به دلیل دارا بودن ترکیبات فنلی و فلاونوئیدها، دارای خاصیت مهار رادیکال‌های آزاد و اثرات آنتی‌اکسیدانی است (۲۲).

مرزه بختیاری حاوی ترکیباتی مانند کارواکرول، تیمول، گاماترپنین، پارا-سیمن، لینالول و بورنول می‌باشد. این گیاه سرشار از ترکیبات فنلی و فلاونوئیدها، اسیدهای فنلی و دی‌ترپن‌های فنلی است که این ترکیبات دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی بسیار بالایی هستند (۲۳). سفید کن و همکاران بیان داشتند این گیاه می‌تواند به عنوان یکی از منابع آنتی‌اکسیدانی در نظر گرفته شود (۲۴).

ترکیبات فنلی و فلاونوئیدها دارای خواص بیولوژیکی متعدد مانند خاصیت آنتی‌اکسیدانی، به دام انداختن رادیکال‌های آزاد

در پژوهشی در سال ۲۰۱۴، KrishnaVeni و همکارانش سمیت سلولی عصاره *Enicostemma axillare* بر روی رده سلول های Hela مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج حاصل از این مطالعه با استفاده از تست MTT نشان داد که عصاره این گیاه اثر سایتوتوکسیک قابل توجهی بر روی سلول های سرطانی Hela دارد (۳۹)، که با یافته های تحقیق حاضر مطابقت دارد. همچنین در سال ۲۰۰۹، Patel و همکارانش فعالیت سمیت سلولی عصاره *Solanum nigrum* بر روی رده سلول های سرطانی Hela مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که عصاره *Solanum nigrum* اثر سمیت قابل توجهی بر روی رده سلول های سرطانی Hela دارد (۴۰)، که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد.

نتایج این مطالعه، بستری باز برای انجام مطالعات بعدی در خصوص اثر ضد سرطانی انواع مختلف گیاهان دارویی را فراهم کرد؛ لذا پیشنهاد می شود در آینده مطالعات دیگری به منظور شناسایی مواد مؤثره موجود در انواع گیاهان دارویی انجام شود تا امکان استفاده بالینی و علمی از این فرآورده های طبیعی و در دسترس فراهم شود.

با نگاه کلی به یافته های موجود در این مطالعه می توان چنین بیان کرد که ترکیب عصاره هیدروالکلی کلوس و مرزه بختیاری دارای اثر ضد سرطانی است که با اثر وابسته به دوز و زمان بر سلول های سرطانی Hela می تواند باعث مهار رشد این سلول ها شود. ترکیب عصاره هیدروالکلی کلوس و مرزه بختیاری بر روی سلول های طبیعی فیبروبلاست تأثیر چندانی نداشت.

باعث محافظت سلول ها در مقابل اکسیژن فعال (ROS) می شوند (۳۵).

اثرات سلامتی بخش و مفید گیاهان تا حدودی به حضور مواد فنلی مانند فلاونوئیدها نسبت داده می شود. مطالعات فراوانی انجام شده در این زمینه از جمله مطالعات جمشیدی و همکاران در سال ۱۳۸۹ نشان داده است که ارتباط مناسبی بین فعالیت آنتی اکسیدانی و ترکیبات پلی فنلی گیاه وجود دارد. به طور مثال عصاره های نعناع و رزماری دارای فعالیت آنتی اکسیدانی بوده و این فعالیت با محتوی فنلی گیاه رابطه مستقیم دارد (۳۶).

همچنین نتایج حاصل از پژوهش حاضر نشان می دهد که ترکیب عصاره هیدروالکلی کلوس و مرزه بختیاری به صورت وابسته به دوز و زمان سبب مهار رشد سلول های سرطانی Hela می شود، به طوری که با افزایش زمان و دوز عصاره، رشد سلول های سرطانی بیشتر مهار شد و تفاوت معنی داری بین سه زمان تیمار یعنی ۴۸،۲۴ و ۷۲ ساعت نیز مشاهده شد که مشابه یافته های فروزنده و همکارانش است که اثر ضد سرطانی عصاره هیدروالکلی دانه گیاه اسپند را بر روی سلول های سرطانی Hela مورد بررسی قرار دادند. نتایج این تحقیق نشان داد که عصاره اسپند با اثر وابسته به دوز و زمان بر سلول های سرطانی Hela می تواند باعث مهار رشد این سلول ها شود (۳۷). همچنین این یافته ها با نتایج به دست آمده از تحقیق دیگر فروزنده و همکارانش، که اثر سمیت عصاره هیدروالکلی کندر را بر روی رده سلول های سرطانی Hela بررسی کردند، و به این نتیجه رسیدند که عصاره کندر با اثر وابسته به دوز و زمان بر سلول های توموری Hela می تواند باعث مهار رشد این سلول ها شود، مطابقت دارد (۳۸).

## REFERENCES

1. Mortazavian M, Ghorbani A, Ghorbani Hesari T. Effect of Hydro-Alcoholic Extracts of Viola Tricolor and its Fractions on Proliferation of Cervix Carcinoma Cells . IJOG 2012; 15:9-16.[In Persian]
2. Vaisy A, Lotfinejad Sh, Zhian F. Risk Factors for Cervical Cancer among Women Referred to Health Services Centers of Tehran University of Medical Sciences. Journal of Ardabil University of Medical Science 2013;13:332-41.[In Persian]
3. Giusepe G, Abate R, Liguori G, Albano L, Angelilo F. Human papillomavirus and vaccination, knowledge, attitudes, and behavioural intention in adolescents and young women in Italy. Br J Cancer 2008;9:25-9.
4. Castellsague X, Arbyn M, Bruni L, Saraiya M, Bray F, Ferlay J. Worldwide burden of cervical cancer in 2008. Anu Oncol 2011;22:2675-86.
5. DeVita VT, Rosenberg SA. Two hundred years of cancer research. N Engl J Med 2012;366:2207-14.
6. Che CT. Plants as a source of apotential anti viralagents. Economic and Medicinal Plant Research Academic Press London 1991;167-251.
7. Abdullaev F. Plant-derived agents cancer. J Pharmacol 2001;15:345-54.
8. Aggarwal BB, Sundaram C, Malani N, Ichikawa H. Curcumin: the Indian solid gold. Adv Exp Med Biol 2007;595:1-75.

9. Shakerian A, Sohrabi M, Ghasemi Pirbalouti A. Effect of Bakhtiari celery (*Kelussia odoratissima* Mozaff) on sensory properties and shelf life of set yogurt. *JHD* 2012;3:41-8.[In Persian]
10. Sefidkon F, Abbasi K, Jamzad Z, Ahmadi S. The effect of distillation methods and stage of plant growth on the essential oil content and composition of *Satureja rechingeri* Jamzad. *Food Chem* 2007;100:1054-8.[In Persian]
11. Sefidkon F, Jamzad Z. Chemical composition of the essential oil of three Iranian *Satureja* species (*S. mutica*, *S. macrantha* and *S. intermedia*). *Food Chem* 2005;91:1-4.[In Persian]
12. Dadfar Sh, Mirlohi M, Ghasemi Pirbalouti A. Antimicrobial effect of *Saturejaba chtiarica* essential oil in ground beef contaminated with *pseudomonas aeruginosa* during refrigerated period. *J Health Syst Res* 2013;Nutrition supplement:1630-37.[In Persian]
13. Khorrami zadeh M, Falak R. Principles of basic principles of cell culture techniques. 4th ed. Tehran: Tehran University of Medical Sciences Pub 2009.[In Persian]
14. Scherer WF, Syverton JT, Gey GO. Studies on the propagation in vitro of poliomyelitis viruses. IV. Viral multiplication in a stable strain of human malignant epithelial cells (strain HeLa) derived from an epidermoid carcinoma of the cervix. *J Exp Med* 1953;97:695-710.
15. Galati G, Brien, P. Toxicity of flavonoids and other dietary phenolics: significance for their chemo preventive and anticancer properties, free radical. *BLM* 2004;17:287-303.
16. Ozben T, Balkan E, Balkan S, Serteser M, Gümüslü S. Effects of MK 801 on nitrite and cGMP levels during focal cerebral ischemia in rats. *Nitric Oxide* 2005;13:210-5.
17. Shukla Y, Singh M. Cancer preventive properties of ginger: a brief review. *Food Chem Toxicol* 2007;45:683-90.
18. Durukan A, Tatlisumak T. Acute ischemic stroke: overview of major experimental rodent models, pathophysiology, and therapy of focal cerebral ischemia. *Pharmacol Biochem Behav* 2007;87:179-97.
19. Sajjadi SE, Shokoohinia Y, Moayedi NS. Isolation and identification of ferulic acid from aerial parts of *Kelussia odoratissima* Mozaff. *Jundishapur J Nat Pharm Prod* 2012;7:159-62.[In Persian]
20. Saeedi KA, Omidbaigi R. Chemical characteristics of the seed of Iranian endemic plant *Kelussia odoratissima* Mozaff. *CHEM NAT COMPD+* 2009;4:547-913.[In Persian]
21. Salimi M, Ebrahimi A, Saei-Dehkordi SS, Shojaei Z. Extraction and identification of chemical composition of *Klussia odoritissima* Mozaff. *Iranian J of Med and Arom Plants* 2010;6:147-56.[In Persian]
22. Etebari M, Ebrahim Sajjadi S, Jafarian-Dehkordi A, Panahi M. Antigenotoxic Effects of Methanolic and Aqueous Extracts of *Kelussia Odoratissima* Mozaffarian against Damage Induced by Methyl Methanesulfonate. *Journal of Isfahan Medical School* 2013;30:2062-71.[In Persian]
23. Buchanan RL, Shepherd AJ. Inhibition of *Aspergillus parasiticus* by thymol. *J. Food Sci* 1981;46:976-77.
24. Sefidkon F, Jamzad Z. Chemical composition of the essential oil of three Iranian *Satureja* species (*S. mutica*, *S. macrantha* and *S. intermedia*). *FOOD CHEM* 2004;91:1-4.[In Persian]
25. Kris-Etherton PM, Hecker KD, Bonanome A, Coval SM, Binkoski AE, Hilpert KF. Bioactive compounds in foods: their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. *AM J MED* 2002;113:71-88.
26. Moheghi N, Tavakkol Afshari J, Brook A. The Cytotoxic Effect of *Zingiber Afficinale* in Breast Cancer (MCF7) Cell Line. *J. Gonabad Univ. Med* 2011;17:28-33.[In Persian]
27. Kumaran A, Karunakaran RJ. Antioxidant and free radical scavenging activity of an aqueous extract of *Coleus aromaticus*. *Food Chem* 2006;97:109-114.
28. Pokorny J. Are Natural Antioxidants better and Safer Than Synthetic Antioxidant Components. *Eur J Lipid Sci Technol* 2007;109:629-42.
29. Buchanan RL. and Shepherd A. J. 1981. Inhibition of *Aspergillus parasiticus* by thymol. *J. Food Sci* 46:976-77.
30. Hotta M, Nakata R, Katsukawa M, Hori K, Takahashi S, Hiroyasu I. Carvacrol, a component of thyme oil, activates PPAR $\alpha$  and  $\gamma$  and suppresses cox-2 expression. *J Lipid Res* 2010;51:132.
31. Undeğer U, Başaran A, Degen GH, Başaran N. Antioxidant activities of major thyme ingredients and lack of (oxidative) DNA damage in V79 Chinese hamster lung fibroblast cells at low levels of carvacrol and thymol. *Food Chem Toxicol* 2009;47:2037-43.
32. Teri LL, Marche N, Shailesh S. Inhibition of cyclooxygenase-2 decreases breast cancer cell motility, invasion and matrix metalloproteinase expression. *BMC Cancer* 2006;6:179-81.



33. Dixon MJ. Role of ErbB2 in selection for adjuvant tamoxifen or aromatase inhibitors. *Womens Health (Lond)* 2008;14:229-31.
34. Kern MA, Haugg AM, Koch AF, Schilling T, Breuhahn K, Walczak H, et al. Cyclooxygenase-2 inhibition induces apoptosis signaling via death receptors and mitochondria in hepatocellular carcinoma. *Cancer Res* 2006;66:7059-66.
35. D'Angel S, Morana A, Salvatore A, Zappia V, Galletti P. Protective effect of polyphenols from *Glycyrrhiza glabra* against oxidative stress in Caco-2 cells. *J Med Food*. 2009; 12; 1326-33.
36. Jamshidi M, Ahmadi-Ashtiani H, Rezazadeh S, Fathiazad F, Mazandarani M, Khaki A. Study on Phenolics and Antioxidant Activity of some Selected Plant of Mazandaran Province. *JMP* 2010;2:177-82.[In Persian]
37. Forouzandeh F, Salimi S, Naghsh N, Zamani N, Jahani S. Evaluation of anti-cancer effect of *Peganum harmala* L hydroalcoholic extract on human cervical carcinoma epithelial cell line. *Journal of Shahrekord University of Medical Sciences* 2014;16:1-8.[In Persian].
38. Forouzandeh S, Naghsh N, Salimi S, Jahantigh D. Cytotoxic Effect of *Boswellia Serrata* Hydroalcoholic Extract on Human Cervical Carcinoma Epithelial Cell Line. *MLJ* 2014;8:6-12.[In Persian]
39. Krishna Veni A, Mohandass S. In-vitro Cytotoxic Activity of *Enicostemma axillare* Extract against Hela Cell Line. *Pharmacognosy Res* 2014;6:320-23.
40. Patel S, Gheewala N, Suthar N, Shah A. in-vitro cytotoxicity activity of *Solanum nigrum* extract against hela cell line and vero cell line. *Pharmacognosy Res* 2009;1:38-46.