

سنجش اثر آنتی‌اکسیدانی و ضدسرطانی اسطوخودوس و بادرنجبویه بر روی رده سلولی سرطان‌های پستان، رحم و تخمدان

پریچهر حناچی^۱، نسیم قربانی^۱، حجت صادقی علی‌آبادی^۲، روشنگ زرین‌قلمی^۱ و خدیجه کیارستمی^۳

^۱گروه بیوتکنولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه الزهراء، تهران، ایران؛ ^۲گروه شیمی دارویی، دانشکده داروسازی مرکز تحقیقات علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران؛ ^۳گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه الزهراء، تهران، ایران
مسئول مکاتبات: پریچهر حناچی، p.hanachi@alzahra.ac.ir

چکیده. بشر از دیرباز به گیاهان علاوه بر دید خوراکی با بینش درمانی نیز نگریسته است. گیاهان منبع غنی از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و فنولی هستند. اسطوخودوس و بادرنجبویه از گیاهان دارویی هستند که غنی از ترکیبات آنتی‌اکسیدانت هستند. هدف از این مطالعه، مقایسه میزان ترکیبات آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های دو گیاه اسطوخودوس و بادرنجبویه و بررسی اثر آن‌ها بر روی رده سلولی سرطان‌های پستان، رحم و تخمدان با استفاده از روش عصاره‌گیری و حلال مناسب است. از برگ خشک گیاهان عصاره‌های متانولی، آبی، اتانولی تهیه گردید و سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی با روش DPPH و FRAP صورت گرفت و در نهایت اثر ضدسرطانی عصاره‌ها بر روی رده‌های سلول سرطانی پستان، رحم و تخمدان با روش MTT سنجیده شد. مقایسه نتایج سنجش آنتی‌اکسیدان کل نشان داد بیشترین میزان مربوط به عصاره اتانولی لئوفلیزه بادرنجبویه و عصاره متانولی لیوفلیزه اسطوخودوس است. میزان IC₅₀ عصاره اتانولی بادرنجبویه برابر ۰/۲۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بر رده سلولی OVCAR-3 بوده که بهترین نتیجه را نسبت به سایر حلال‌ها و سایر رده‌های سلولی داشته و در رده سلول‌های MCF-7 نیز عصاره اتانولی اسطوخودوس با میزان IC₅₀ برابر ۲/۰۷ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بهترین نتیجه را داشت. در رده سلولی HeLa نیز عصاره متانولی اسطوخودوس با IC₅₀ برابر ۷/۳۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بهتر از دو حلال دیگر بود. در این پژوهش برای اولین بار تاثیر عصاره‌های مختلف بادرنجبویه و اسطوخودوس بر روی رده سلول‌های سرطان پستان (MCF-7)، تخمدان (OVCAR-3) و دهانه رحم (HeLa) سنجیده شد و نتایج نشان داد که عصاره اتانولی و متانولی حاصله از این گیاهان دارای خاصیت کشندگی بیشتری بر روی رده سلول‌های سرطانی است.

واژه‌های کلیدی. آنتی‌اکسیدان، اسطوخودوس، بادرنجبویه، ضدسرطان، عصاره گیاهی

Evaluation of antioxidant and anticancer effects of *Lavandula angustifolia* and *Melissa officinalis* on HeLa, OVCAR-3 and MCF-7 cancer cell lines

Parichehr Hanachi¹, Nasim Ghorbani¹, Hojjat Sadeghi Ali Abadi², Roshanak Zarringhalami¹ & Khadijeh Kiarostami³

¹Department of Biotechnology, Faculty of Biological Sciences, Alzahra University, Tehran, Iran; ²Department of Medicinal Chemistry, School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Pharmaceutical Sciences Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; ³Department of Plant Sciences, Faculty of Biological Sciences, Alzahra University, Tehran, Iran

Correspondent author: Parichehr Hanachi, p.hanachi@alzahra.ac.ir

Abstract. From ancient times, plants have been regarded as therapeutic agents, in addition to their usage as food. Plants are rich sources of antioxidant and phenolic compounds. *Lavandula angustifolia* and *Melissa officinalis* are medicinal herbs rich in antioxidant compounds. The aim of this study was to compare the antioxidant and anticancer properties of *Lavandula angustifolia* and *Melissa officinalis* extracts using aqueous, ethanol and methanol solvents, to select the best extraction methods and solvents and to evaluate the cytotoxic effect of the extracts on HeLa, OVCAR-3 and MCF-7 cancer cell lines. Methanol, aqueous and ethanol extracts were obtained from the dried leaves of the plants and the antioxidant activities of each extract were

measured by DPPH and FRAP methods. Finally, the anticancer effects of the extracts on HeLa, OVCAR-3 and MCF-7 cancer cell lines were evaluated by MTT assay in order to identify the most efficient extract. Comparing the results of total antioxidant assay showed that the highest amount belonged to the ethanol extract of *Melissa officinalis* and *Lavandula angustifolia* methanol extracts using lyophilization method. The IC_{50} value of ethanol extract of *Melissa officinalis* was equal to 0.028 mg/ml on OVCAR-3 cells, which was the best result obtained in comparison with other solvents, and the ethanol extract of *Lavandula angustifolia* with $IC_{50} = 2.07$ mg/ml on MCF-7 cells was the most effective extract among the others. In HeLa cell-line, methanol extract of *Lavandula angustifolia* with $IC_{50} = 7.36$ mg/ml showed the highest cytotoxicity. In this study, for the first time, the effects of different extracts of *Lavandula angustifolia* and *Melissa officinalis* on MCF-7, OVCAR-3 and HeLa cancer cells were evaluated and the results showed that ethanol and methanol extracts of these plants had better toxic effect on cancer cells.

Key words. anti-cancer, antioxidant, herbal extract, *Lavandula angustifolia*, *Melissa officinalis*

مقدمه

رژیم غذایی افراد نسبت داد. مشخص شده که مصرف مواد غذایی که دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی هستند، در پیشگیری و کاهش ابتلا به سرطان نقش موثری دارد (Elmore, 2007).

رحم عضو بزرگی است که به گردن رحم ختم می‌شود و لایه داخلی آن آندومتر نامیده می‌شود. سرطان آندومتر شایع‌ترین سرطان ژنیولوژیک در زنان آمریکاییست که هر ۳-۲ درصد از آن‌ها دچار این بیماری می‌شوند. با تشخیص اولیه ۹۵ درصد قابل درمان است و در سرطان‌های پیشرفته با برداشتن رحم و تخمدان آن‌ها حداقل ۱۰ درصد از زنان مبتلا می‌توانند به مدت ۵ سال به زندگی ادامه دهند. سرطان دهانه رحم معمولاً آهسته پیشرفت می‌کند. با انجام پاپ اسمیر می‌توان مرحله دیسپلازی را شناسایی کرد. نوع بخصوصی از HPV تناسلی (ویروس پاپیلومای انسانی) در ۹۵ درصد موارد به سرطان گردن رحم می‌انجامد (Momeny et al., 2010).

گیاهان دارای طیف گسترده‌ای از ترکیبات بیوشیمیایی و زیستی فعال هستند. اخیراً از این منابع طبیعی به عنوان مکمل‌های درمانی و همچنین تهیه داروهای جدید برای درمان بدخیمی‌های شایع مانند انواع سرطان استفاده می‌گردد (Zarringhalami et al., 2020).

این تحقیق بررسی‌ها بر دو گیاه اسطوخودوس (*Lavandula angustifolia*) و بادرنجبویه (*Melissa officinalis*) از تیره نعنائیان (Lamiaceae) انجام گرفت. در تیره نعنائیان طبق بررسی‌های جدیدی که به عمل آمده است ۴۰۰۰ گونه وجود دارد که در ۲۰۰ سرده جای داده شده‌اند. این گیاهان دارای پراکنش وسیعی در کره زمین بوده و در غالب نواحی یافت می‌گردند ولی بیشینه انتشار آن‌ها در منطقه مدیترانه است. گیاهانی عموماً علفی یکساله یا پایا و دارای ساقه‌های راست یا خزنده هستند. گیاه اسطوخودوس گیاهی بوته مانند، پرپشت و دارای ساقه‌های متعدد و چهارگوش، به ارتفاع ۳۰ تا ۶۰ سانتی‌متر که در جنگل‌های غیر انبوه، تپه‌های خشک و دامنه‌های کم ارتفاع و سواحل دریاها می‌روید و زمین‌های سیلیسی را نیز بهتر می‌پسندد. از اسانس اسطوخودوس در عطرسازی استفاده به عمل می‌آید. از آن به صورت رقیق شده در پانسمان

رادیکال‌های آزاد ناشی از آلاینده‌های محیطی، سموم، مواد شیمیایی، تابش اشعه و تنش‌های فیزیکی، باعث ایجاد اختلال در عملکرد طبیعی ارگان‌های بدن می‌شوند و این آسیب‌ها منجر به بیماری‌هایی مانند بیماری‌های قلبی و عروقی می‌شوند. فرایند اکسیداسیون یکی از مهم‌ترین عوامل تولید رادیکال آزاد در بدن است. کاتالاز و آنزیم هیدروپراکسیداز نقش تبدیل پراکسید هیدروژن و هیدروپراکسیدها به فرم غیررادیکالی را در بدن انجام می‌دهند و به-عنوان آنتی‌اکسیدان طبیعی در بدن انسان عمل می‌نمایند (Abolfazl, 2009; Hanachi et al., 2018). شواهد نشان داده‌است که پلی‌فنل‌های گیاهی دسته‌ای از آنتی‌اکسیدان‌های دفاعی هستند که این ترکیبات اغلب به مقدار فراوان در گیاهان وجود دارد و شامل، فنل‌ها، اسیدهای فنلی، فلاونوئیدها، تانن‌ها، و لیگنان‌ها است. خاصیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان به میزان ترکیبات پلی‌فنلی بستگی دارد. علاوه-بر ترکیبات فنلی ترکیبات دیگری مانند، اسیداسکوربیک، فیتیک‌اسید، توکوفرول، کارتنوئیدها، و ساپونین‌ها نیز به فعالیت آنتی‌اکسیدانی کمک می‌کنند (Zarringhalami et al., 2020).

امروزه سرطان یکی از مشکلات بزرگ مرتبط با سلامتی در اکثر کشورهای جهان است. در آمریکا از هر چهار مرگ یکی از آن‌ها ناشی از سرطان است. این بیماری توانایی دارد از یک بافت به بافت‌های دیگر بدن مهاجرت کرده و در طی فرایندی که متاستاز نامیده می‌شود باعث ایجاد تومور جدید گردد (Motalleb et al., 2006). تومورهایی که در تخمدان‌ها یافت می‌شوند، ممکن است ناشی از رشد غیرسلولی (کیست تخمدان) یا از نوع سرطانی باشند که امکان دارد به سایر نقاط بدن هم گسترش یابند. سرطان تخمدان در بعضی از موارد می‌تواند با عوامل خطر شناخته شده‌ای مانند سن و سابقه خانوادگی مرتبط باشد. بسیاری از عوامل خطر قابل تغییر است. اگرچه همگی آن‌ها قابل اجتناب نیست (Hashemi et al., 2005). سرطان پستان شایع‌ترین نوع سرطان‌های زنانه است و پس از سرطان ریه بیش‌ترین عامل مرگ‌ومیر ناشی از سرطان است (Elmore, 2007). از جمله علل مرتبط با شیب صعودی ابتلا به این نوع سرطان را می-توان به عوامل محیطی از جمله آلودگی هوا، استرس، الگوی زندگی و

درجه سانتی‌گراد به مدت ۹۰ دقیقه قرار داده، پس از آن نمونه را درون دستگاه سانتریفوژ به مدت ۱۰ دقیقه در ۳۰۰۰ دور گذاشته شد و در آخر محلول رویی حاصل از سانتریفوژ (Hettich مدل EBA 280) از صافی گذرانده شد. عصاره در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد تا زمان آنالیز نگهداری شد (Alizadeh et al., 2013).

روش تهیه پودر لیوفلیزه

در این روش تهیه نمونه، ۱۰ گرم از پودر خشک گیاهان در ۲۵۰ میلی‌لیتر حلال آب، اتانول ۸۰ درصد و متانول ۸۰ درصد ریخته شد و سپس ۹۰ دقیقه در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید و پس از سانتریفوژ (۳۰۰۰ دور و به مدت ۱۰ دقیقه) و پس از گذراندن از صافی محلول حاصل توسط دستگاه روتاری مدل (FD-5005-BT) تغلیظ گردید. پودر حاصل داخل ویال‌های ۵ میلی‌لیتری در بسته و دور از نور و در دمای ۴ درجه تا زمان آنالیز نگهداری شد (Ebrahimzadeh & Azad Bakht, 2006).

بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسطوخودوس و بادرنجبویه سنجش آنتی‌اکسیدانی تام (FRAP Ferric Reducing Antioxidant Power)

با این روش توانایی عصاره‌ها در احیای یون فریک (Fe^{3+}) به یون فرو (Fe^{2+}) در حضور آنتی‌اکسیدان‌ها اندازه‌گیری می‌شود. با احیای یون‌های فریک Fe^{3+} و تبدیل آن به فرو Fe^{2+} کمپلکس $Fe-TPTZ$ تشکیل می‌شود که رنگ آن آبی است. این روش اثر جمعی آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیرآنزیمی را اندازه می‌گیرد و شاخصی برای توانایی ذاتی یک نمونه برای ممانعت از آسیب اکسیداتیو است. تهیه معرف FRAP به این صورت است که ۵ میلی‌لیتر از TPTZ را با پیپت برداشته با ۵ میلی‌لیتر $FeCl_3$ و ۵ میلی‌لیتر بافراسنات مخلوط کرده، نتیجه تشکیل محلول زرد متمایل به قهوه‌ای معرف است. ۱/۵ میلی‌لیتر معرف FRAP را به مدت ۵ دقیقه در دمای ۳۷ درجه حفظ کرده و ۲۵۰ میکرولیتر عصاره گیاهان را به آن اضافه نمود و سپس به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شده و سرانجام شدت رنگ در طول موج ۵۹۳ با دستگاه اسپکتروفوتومتر مدل (UV-2100) خوانش و نتایج ثبت گردید (Mathew & Abraham, 2006).

اندازه‌گیری به روش دی‌فنیل‌پیکریل‌هیدرازیل DPPH در این روش از DPPH (ترکیب رادیکالی پایدار چربی‌دوست) در جذب حداکثر ۵۱۷ نانومتر استفاده گردید. توانایی دادن اتم هیدروژن یا الکترون توسط ترکیبات شیمیایی و عصاره‌های مختلف از روی میزان بی‌رنگ کردن محلول بنفش DPPH

زخم‌ها استفاده می‌شده‌است و همچنین دارای خاصیت ضدآسم است. اثرات گیاه بر بیماری‌های سیستم عصبی، درد و اضطراب، بر سیستم ایمنی، ضدتشنج، درمان بیماری‌های کبد، طحال و مجاری ادرار، عصاره آبی گیاه بر بقای سلول‌های سرطانی بررسی شده و کاربرد دارد (Azadmehr et al., 2011).

از اسانس بادرنجبویه، نخستین بار در قرون وسطی به عنوان مقوی قلب در درمان بیماری‌ها استفاده شده است. این گیاه در طب سنتی ایران به عنوان تسکین دهنده، تب‌بر، ضداسپاسم، ضدتشنج، معرق، خوشبوکننده و ضدنفخ کاربرد دارد. همچنین از این گیاه در درمان بی‌خوابی و اختلالات خواب، اضطراب، افسردگی، بیماری‌های عصبی، میگرن، حالت تهوع، ناراحتی عصبی معده، کم اشتها، کولیک، سرفه، قاعدگی نامنظم، دندان درد و لرزش‌های عصبی استفاده می‌شود (Sharapov et al., 2013).

هدف از این تحقیق، استفاده از برگ بادرنجبویه و اسطوخودوس در استخراج ترکیبات بیوشیمیایی و بررسی اثر آنتی‌اکسیدانی این گیاهان با دو روش سنجش FRAP و DPPH است. امید است که بتوان از گیاهان به‌عنوان جایگزین مناسب و کم خطر و با سمیت حداقل استفاده کرد. هدف از این مطالعه شناسایی بهترین حلال از میان سه حلال (آب، متانول، اتانول) و روش عصاره‌گیری جهت استخراج بیش‌ترین میزان ترکیبات آنتی‌اکسیدانی دو گونه گیاهی بادرنجبویه و اسطوخودوس است و همچنین در این مطالعه خاصیت ضدسرطانی عصاره‌ها بر روی رده سلول سرطان‌های تخمدان، پستان و رحم مورد بررسی قرار گرفت. خاصیت ضدآنتی‌اکسیدانی و ضدسرطانی این دو گیاه برای اولین بار است که مورد مقایسه قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

تهیه نمونه

گیاهان مورد بررسی شامل بادرنجبویه و اسطوخودوس از باغ گیاهان دارویی فیروزه تهران در سال ۱۳۹۷ تهیه گردید. برگ گیاهان در فصل بهار جمع‌آوری و در تاریکی خشک و آسیاب گردید. پودر تهیه شده در دمای اتاق و دور از نور و رطوبت حفظ گردید. تمامی حلال‌های مورد استفاده برای عصاره‌گیری و سنجش‌های بیوشیمیایی از شرکت مرک و سیگما آلدْرِیچ تهیه گردید.

روش‌های عصاره‌گیری

روش عصاره‌گیری در این مطالعه به روش خیساندن انجام گرفت. از سه حلال آب، اتانول ۸۰ درصد و متانول ۸۰ درصد استفاده گردید. مقدار ۲ گرم از نمونه اولیه و لیوفلیزه را در ۲۰ میلی‌لیتر حلال ریخته و آن را درون دستگاه بن‌ماری در دمای ۷۰

پلیت‌های (سه بار تکرار) رده سلولی پستان، رحم و تخمدان اضافه گردید و به مدت ۳ ساعت داخل انکوباتور قرار داده شد. پس از آن چاهک‌ها تخلیه گردید و ۱۵۰ میکرولیتر DMSO به منظور حل کردن بلورهای فورامازان به همه چاهک‌ها اضافه گردید و پس از پیتاژ و اطمینان از شکستن بلورهای فورامازان داخل دستگاه الیزابیدر (Cytation™ Biotek, USA) با جذب ۵۷۰ nm خوانده شد و ثبت گردید (Hugh & Mehmet, 2003).

آنالیزهای آماری

تمام آزمایش‌های انجام شده در این پژوهش بر اساس طرح آماری بلوک‌های تصادفی در سه تکرار طراحی شده است. بعد از انجام هر سنجش داده‌ها با استفاده از بسته نرم افزاری SPSS ۲۱.۷ در سطح احتمال $p < 0.05$ و برنامه اکسل تجزیه و تحلیل شدند. با کمک تجزیه واریانس یک طرفه برای طرح‌های یک عاملی (ANOVA) و تجزیه واریانس دو طرفه برای طرح‌های دو یا چند عاملی میانگین‌ها مقایسه و معنی‌داری اختلاف بین میانگین‌ها تعیین گردید و داده‌ها به کمک آزمون چند دامنه‌ای دانکن گروه‌بندی گردید.

نتایج

مقایسه خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره استخراج شده از دو گیاه بادرنجبویه و اسطوخودوس

روش FRAP:

مقایسه نتایج آنتی‌اکسیدان تام (FRAP) عصاره حاصل از پودر اولیه دو گیاه اسطوخودوس و بادرنجبویه

با توجه به شکل ۱ میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های (آب، اتانول و متانول) حاصل از پودر غیرلئوفیلز اسطوخودوس و بادرنجبویه نشان داد که در روش استفاده از پودر اولیه بیشترین و کمترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی در عصاره حاصل از اسطوخودوس به ترتیب در عصاره آبی (۳/۷ میکرومول بر لیتر)، در عصاره اتانولی (۴/۴۶ میکرومول بر لیتر)، و در عصاره متانولی (۵/۰۸ میکرومول بر لیتر) به‌دست آمد. در عصاره حاصل از پودر اولیه بادرنجبویه نیز به ترتیب در عصاره آبی به میزان ۸/۳۳ میکرومول/لیتر، در عصاره اتانولی گیاه به مقدار ۱۲/۸۳ میکرومول بر لیتر و در عصاره متانولی این گیاه به میزان ۱۰/۳۳ میکرومول بر لیتر به‌دست آمد که بهترین نتیجه در عصاره اتانولی بادرنجبویه ۱۲/۸۳ میکرومول بر لیتر داشته و در عصاره متانولی گیاه اسطوخودوس ۵/۰۸ میکرومول بر لیتر حاصل شده است.

اتانول مطلق سنجیده می‌شود. برای سنجش میزان خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های اتانولی، متانولی و آبی اسطوخودوس و بادرنجبویه مقدار (۵۰ - ۰) میکرولیتر از عصاره‌ها با افزودن اتانول مطلق به حجم ۳ میلی‌لیتر رسانده شد. سپس در شرایط تاریکی ۰/۳ میلی‌لیتر محلول ۰/۵ میلی‌مولار DPPH تهیه شده در اتانول مطلق به آن اضافه گردید و بعد از ۱۰۰ دقیقه نگهداری در تاریکی، جذب آن‌ها با استفاده از اسپکتروفوتومتر در طول موج ۵۱۷ نانومتر خوانده شد. از اسکوربیک‌اسید به عنوان کنترل استاندارد استفاده گردید. سپس مقدار IC50 مربوط به هر نمونه عصاره و اسکوربیک‌اسید با استفاده از نمودار خطی درصد بازدارندگی بر حسب DW mg/ml تعیین گردید. IC50 بیانگر غلظتی از نمونه است که باعث مهار ۵۰ درصد رادیکال‌های آزاد DPPH می‌شود (Chandrasekar et al., 2006).

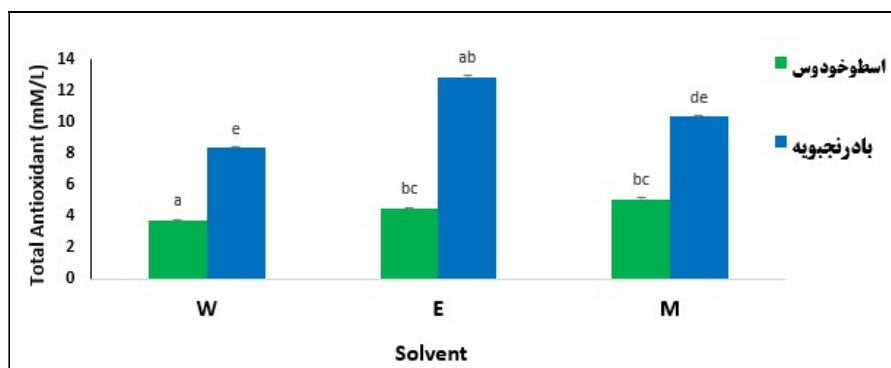
مراحل انجام کشت سلول

تهیه غلظت از ترکیب مورد مطالعه

به میزان ۱۰ میلی‌گرم از پودر لیوفلیزه عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی گیاهان با استفاده از ترازوی دیجیتال حساس وزن گردید و ۱۰۰ میکرولیتر DMSO به پودر لیوفلیزه اضافه گردید و پودر حل شد و بعد از آن ۹۰۰ میکرولیتر بافر فسفات (PBS) به مخلوط حاضر اضافه گردید. سپس ۱۰۰ میکرولیتر از مخلوط استوک برداشته و ۹۰۰ میکرولیتر بافر فسفات مجدداً به آن اضافه نموده و بار دیگر از مخلوط تهیه شده دوم ۱۰۰ میکرولیتر برداشته و ۹۰۰ میکرولیتر بافر فسفات اضافه شد، به این ترتیب عصاره با غلظت‌های ۱، ۰/۱، ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تهیه گردید.

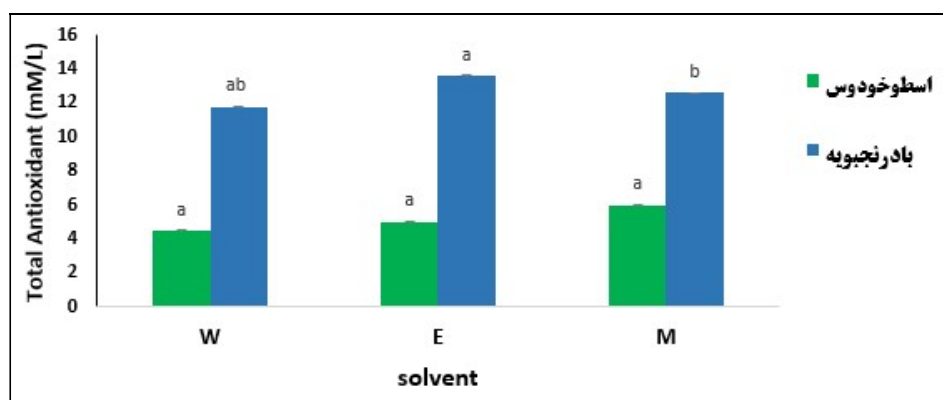
بررسی سمیت سلولی عصاره گیاهان مورد مطالعه با استفاده از روش MTT (3-(4,5-Dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide)

در این تحقیق از سه رده سلولی OVCAR-3، MCF-7، HeLa، به ترتیب رده سلول سرطانی دهانه رحم، رده سلول سرطانی سینه، رده سلول سرطانی اپیتلیال تخمدان خریداری شده از انستیتو پاستور استفاده گردید و سلول‌ها در محیط کشت DMEM حاوی ۱۰٪ FBS و ۱٪ آنتی‌بیوتیک Pen-Strep در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد با میزان ۵٪ CO₂ انکوبه شدند. پس از ۲۴ ساعت رده سلول‌ها از انکوباتور خارج و پس از مشاهده زیر میکروسکوپ، ۲۰ میکرولیتر عصاره گیاهی عبور داده شده از فیلتر ۰/۲۲ میکرون، با غلظت‌های ۰/۱، ۱، ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، داخل هر چاهک اضافه گردید. و سپس به مدت ۴۸ ساعت داخل انکوباتور قرار داده شد. پس از ۴۸ ساعت پلیت‌های حاوی عصاره از انکوباتور خارج گردید و ۲۰ میکرولیتر محلول از قبل آماده شده MTT با غلظت ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به همه



شکل ۱- میزان محتوی آنتی اکسیدانی به روش FRAP (میکرومول بر لیتر) در عصاره حاصل از پودر اولیه، آبی (W)، اتانولی (E)، متانولی (M) به ترتیب در اسطوخودوس و بادرنجبویه. مقادیر بین میانگین‌ها با حروف متفاوت در ستون‌های مشابه نشان دهنده تفاوت معنی دار است. آزمایش با سه بار تکرار انجام شد و نتایج به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار بیان شد که مقادیر هر ستون مشخص شده با حروف مختلف اختلاف معنی داری نشان داد ($P < 0.005$).

Figure 1. FRAP values of *Lavandula angustifolia* and *Melissa officinalis* extracts with different solvents (water, methanol and ethanol) in the Maceration method. The experiment was performed in triplicate and expressed as mean $\pm$ SD. Values in each column marked with different letters showed significant differences ($P < 0.05$).



شکل ۲- میزان محتوی آنتی اکسیدانی به روش FRAP (میکرومول بر لیتر) در عصاره حاصل از پودر لیوفلیزه، آبی (W)، اتانولی (E)، متانولی (M) به ترتیب در اسطوخودوس و بادرنجبویه. آزمایش با سه بار تکرار انجام شد و نتایج به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار بیان شد که مقادیر هر ستون مشخص شده با حروف مختلف اختلاف معنی داری نشان داد ($P < 0.005$).

Figure 2. FRAP values of *Lavandula angustifolia* and *Melissa officinalis* extracts with different solvents (water, methanol and ethanol) in the Lyophilization method. The experiment was performed in triplicate and expressed as mean $\pm$ SD. Values in each column marked with different letters showed significant differences ($P < 0.05$).

لیتر به دست آمد. اثر آنتی اکسیدانی عصاره متانولی پودر لیوفلیزه اسطوخودوس نسبت به دو عصاره دیگر آن نتایج بهتری نشان داده است.

روش دی فنیل پیکریل هیدرازیل DPPH

مقایسه میزان آنتی اکسیدان به روش DPPH حاصل از پودر اولیه دو گیاه اسطوخودوس و بادرنجبویه

میزان فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌های (آب، اتانول و متانول ۸۰ درصد) حاصل از پودر اولیه برگ اسطوخودوس و بادرنجبویه که به روش خیساندن عصاره‌گیری شده بود، نشان داد که IC_{50} عصاره‌های حاصل از اسطوخودوس به ترتیب در عصاره آبی برابر ۰/۸۹ میلی گرم بر میلی لیتر، در عصاره اتانولی ۰/۷۹ میلی گرم بر میلی لیتر و در

مقایسه نتایج آنتی اکسیدان تام (FRAP) عصاره حاصل از پودر لیوفلیزه دو گیاه بادرنجبویه و اسطوخودوس

مقایسه نتایج عصاره لیوفلیزه اسطوخودوس نشان داد (شکل ۲) به ترتیب عصاره آبی ۴/۴۶ میکرومول بر لیتر، عصاره اتانولی ۴/۹۶ میکرومول بر لیتر و عصاره متانولی ۵/۹۶ میکرومول بر لیتر به دست آمد. نتایج حاصل از پودر لیوفلیزه گیاه بادرنجبویه نشان داد عصاره آبی این گیاه ۱۱/۷۱ میکرومول بر لیتر، عصاره اتانولی ۱۳/۵۸ میکرومول بر لیتر و عصاره متانولی ۱۲/۰۲۹۵۸ میکرومول بر لیتر به دست آمد. مقایسه نتایج دو گیاه نشان داد گیاه بادرنجبویه اثر آنتی اکسیدانی بیشتر نسبت به اسطوخودوس دارد. بهترین نتیجه مربوط به عصاره اتانولی بادرنجبویه به میزان ۱۳/۵۸ میکرومول بر

عصاره متانولی ۰/۶۰ میلی گرم بر میلی لیتر بود و در پودر اولیه بادرنجبویه میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی در عصاره آبی حاصل از گیاه IC_{50} برابر ۰/۵۴ میلی گرم بر میلی لیتر، در عصاره اتانولی ۰/۲۷ میلی گرم بر میلی لیتر و در عصاره متانولی ۰/۴۶ میلی گرم بر میلی لیتر به دست آمد. مقایسه نتایج آنتی‌اکسیدان در سه حلال در سطح احتمال $P < 0.05$ اختلاف معنی دار نشان داد. عصاره اتانولی بادرنجبویه و عصاره متانولی اسطوخودوس بهترین خاصیت آنتی-اکسیدانی به روش DPPH را نشان داد.

مقایسه میزان آنتی‌اکسیدان به روش DPPH حاصل از پودر لیوفلیزه دو گیاه اسطوخودوس و بادرنجبویه

میزان فعالیت آنتی‌اکسیدان عصاره‌های (آب، اتانول و متانول ۸۰ درصد) حاصل از پودر لیوفلیزه تهیه شده از برگ اسطوخودوس و بادرنجبویه تعیین شد. در عصاره آبی اسطوخودوس، IC_{50} برابر ۰/۵۰ میلی گرم بر میلی لیتر، در عصاره اتانولی این گیاه ۰/۳۹ میلی گرم بر میلی لیتر و در عصاره متانولی اسطوخودوس ۰/۱۵ میلی گرم بر میلی لیتر به دست آمد. نتایج آنتی‌اکسیدانی بادرنجبویه نیز به ترتیب نشان داد که در عصاره آبی IC_{50} برابر ۰/۱۰ میلی گرم بر میلی لیتر، در عصاره اتانولی ۰/۱۶ میلی گرم بر میلی لیتر و در عصاره متانولی ۰/۱۰ میلی گرم بر میلی لیتر $\mu g/ml$ است. نتایج با استفاده از برنامه SPSS تفسیر و در سطح احتمال $p < 0.05$ اختلاف معنی داری را هم در سطح حلال و هم نوع گیاه و روش عصاره‌گیری نشان داد. نتایج کلی نشان داد عصاره اتانولی بادرنجبویه و عصاره متانولی اسطوخودوس بیشترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی را به روش DPPH داشته‌است.

نتایج حاصل از اثر عصاره حاصل از پودر اولیه و لیوفلیزه بادرنجبویه و اسطوخودوس بر سلول‌های سرطانی

در این تحقیق از سه رده سلول سرطانی دهانه‌رحم (HeLa)، رده سلول سرطانی سینه و رده (MCF-7)، رده سلول سرطانی اپیتلیال تخمدان (OVCAR-3)، جهت بررسی اثر ضدسرطانی عصاره‌ها استفاده شد.

رده سلولی OVCAR-3

طبق شکل‌های ۳ و ۴ اثر عصاره آبی بادرنجبویه به ترتیب با سه غلظت ۱، ۰/۱ و ۱۰ میلی گرم بر میلی لیتر بررسی شد و به ترتیب درصد زنده ماندن سلول ۵۳/۳۳، ۴۹/۰۸ و ۳۱/۳۴ درصد به دست آمد. در عصاره اتانولی به ترتیب با سه غلظت ۱، ۰/۱ و ۱۰ میلی گرم بر میلی لیتر بررسی و درصد سلول زنده به ترتیب ۳۸/۲۱، ۲۰/۲۱ و ۱۱/۱ به دست آمد و در عصاره متانولی درصد زنده ماندن در سه غلظت به ترتیب شامل ۵۰/۳۳، ۳۵/۰۸ و ۲۸/۶۶ درصد به دست آمد. در اسطوخودوس نیز در سه غلظت ۱، ۰/۱ و ۱۰ میلی گرم بر

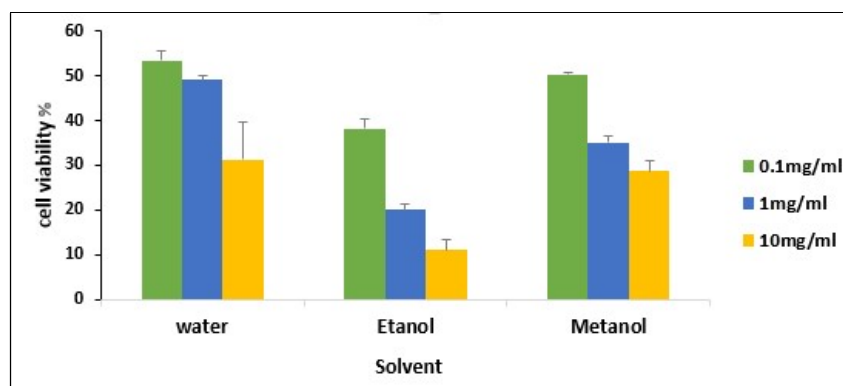
میلی لیتر درصد زنده ماندن سلول بررسی گردید که در عصاره آبی به ترتیب درصد زنده ماندن سلول‌ها ۵۲/۳۳، ۳۸/۱۸ و ۲۳/۳۳، در عصاره اتانولی ۴۷/۳۸، ۲۰/۵۴ و ۱۶/۷۳ و در عصاره متانولی ۴۷/۳، ۳۲/۴۱ و ۱۸/۷۱ درصد به دست آمد.

رده سلولی MCF-7

در این پژوهش عصاره آبی، اتانولی و متانولی پودر لیوفلیزه اسطوخودوس و بادرنجبویه در سه غلظت ۱، ۰/۱ و ۱۰ میلی گرم بر میلی لیتر بررسی گردید و نتایج درصد زنده ماندن سلول‌ها به ترتیب د بادرنجبویه در عصاره آبی به ۵۷/۵۳، ۵۷/۰۳ و ۴۱/۴۷ درصد، در عصاره اتانولی ۵۷/۷۱، ۵۱/۹۲ و ۳۵/۱۲ درصد بود و در عصاره متانولی ۵۹/۸۱، ۵۱/۲۸، ۲۶/۹۷ درصد به دست آمد. در اسطوخودوس در سه غلظت ۱، ۰/۱ و ۱۰ میلی گرم بر میلی لیتر بررسی گردید و درصد زنده ماندن سلول‌ها به ترتیب در عصاره آبی ۵۵/۱۱، ۵۴/۱۸ و ۵۲/۱۷ درصد، در عصاره اتانول ۴۹/۱۶، ۳۳/۸۱ و ۱۲/۷۲ درصد و عصاره متانولی ۴۸/۷۳، ۴۴/۱۸ و ۳۵/۲۱ درصد به دست آمد. بررسی نتایج نشان داد که عصاره اتانولی اثر وابسته به غلظت داشته و عصاره متانولی اثر نسبتاً موثری داشته ولی وابسته به غلظت نیست. در شکل ۵ و ۶ نمودار اثر عصاره‌های آبی، اتانول و متانولی اسطوخودوس و بادرنجبویه بر رده سلول سرطانی MCF-7 نشان داده شده است.

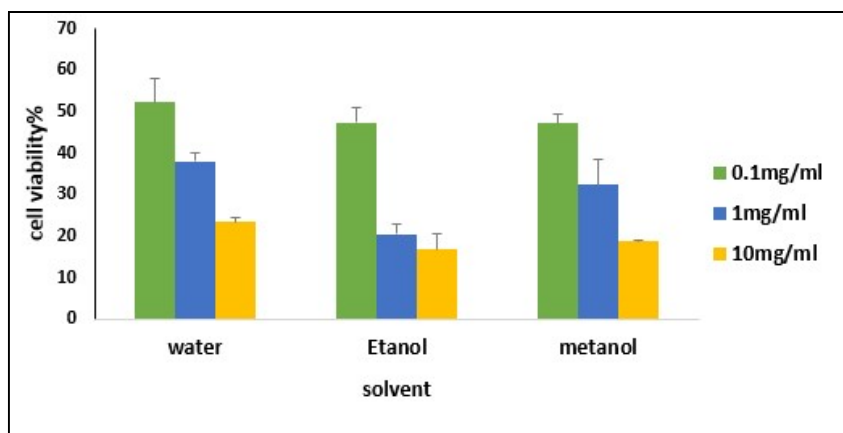
رده سلولی HeLa

در این پژوهش اثر عصاره پودر لیوفلیزه آب، اتانول و متانولی اسطوخودوس و بادرنجبویه در سه غلظت ۱، ۰/۱ و ۱۰ میلی گرم بر میلی لیتر بر این سلول بررسی و نتایج ثبت شد. به ترتیب در بادرنجبویه در عصاره آبی درصد زنده‌مانی به میزان ۴۲/۱۷، ۳۹/۴۸ و ۳۵/۰۸ درصد، در عصاره اتانولی ۴۹/۸۵، ۴۸/۲۹ و ۳۲/۱۹ درصد و در عصاره متانولی ۴۴/۰۸، ۳۶/۴۶ و ۲۰/۲۱ درصد به دست آمد که مقایسه نتایج نشان داد که اثر عصاره این گیاه بر رده سلولی HeLa وابسته به غلظت نیست. در گیاه اسطوخودوس در سه غلظت ۱، ۰/۱ و ۱۰ میلی گرم بر میلی لیتر بررسی گردید و درصد زنده ماندن سلول‌ها به ترتیب در عصاره آبی ۴۲/۶۶، ۳۱/۰۸ و ۲۶/۶۶، اتانول ۳۷/۳۱، ۲۷/۷۸ و ۱۲/۴۴ درصد به دست آمد. نتایج عصاره آبی نشان داد تا حدودی اثر وابسته به غلظت بوده و عصاره اتانولی خیلی خوب اثر داشته و وابسته به غلظت است و عصاره متانولی نیز از دو عصاره دیگر بهتر بوده و وابسته به غلظت است. مقایسه کلی سه رده سلولی نشان داد بعد از رده سلولی تخمدان OVCAR-3، رده سلولی HeLa، و بعد از آن رده سلولی سینه MCF-7، پاسخ نشان دادند و درصد سلول زنده در سلول سرطان سینه بالاتر از سلول‌های دیگر بود.



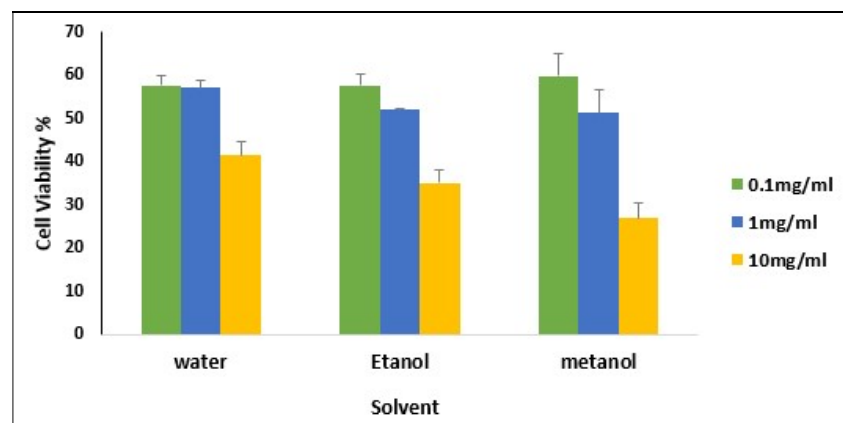
شکل ۳- درصد سلول‌های زنده رده سلولی OVCAR-3 در سه غلظت (۱، ۱۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر) عصاره پودر لیوفلیزه بادرنجبویه (آبی، اتانول و متانول) به مدت ۴۸ ساعت.

Figure 3. Cell viability of OVCAR-3 cancer cells in three concentrations (0.1, 1 and 10 mg / ml) of the *Melissa officinalis* (water, ethanol and methanol) extracts for 48 hours.



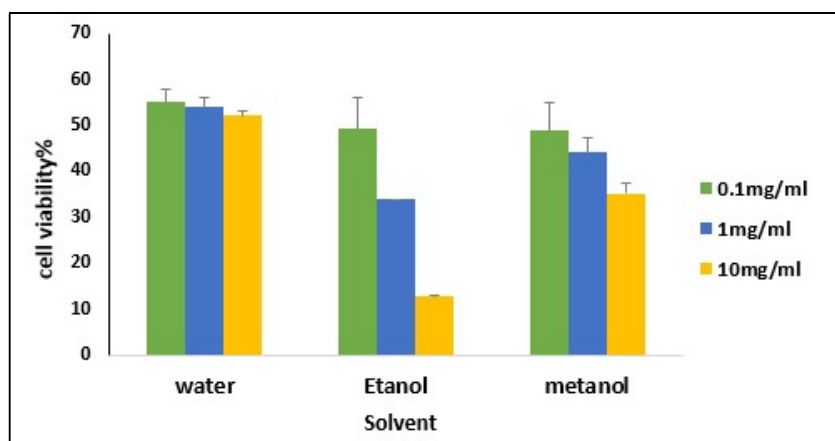
شکل ۴- درصد سلول‌های زنده رده سلولی OVCAR-3 در سه غلظت (۱، ۱۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر) عصاره پودر لیوفلیزه اسطوخودوس (آبی، اتانول و متانول) به مدت ۴۸ ساعت.

Figure 4. Cell viability of OVCAR-3 cancer cells in three concentrations (0.1, 1 and 10 mg / ml) of the *Lavandula angustifolia* (water, ethanol and methanol) extracts for 48 hours.



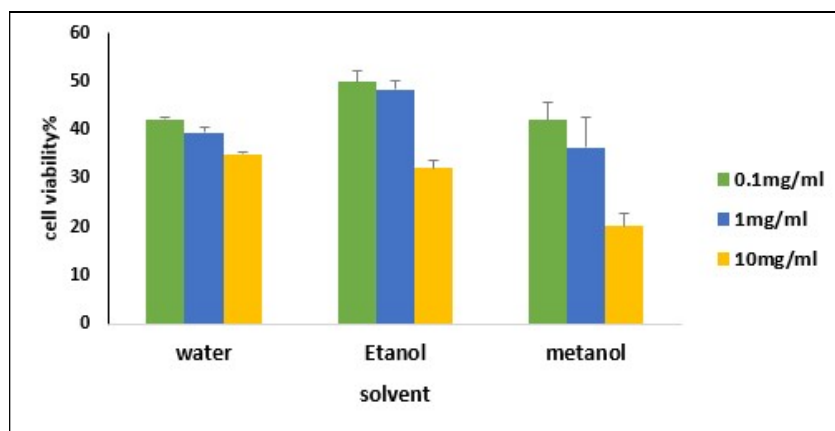
شکل ۵- درصد سلول‌های زنده رده سلولی MCF-7 در سه غلظت (۱، ۱۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر) عصاره پودر لیوفلیزه بادرنجبویه (آبی، اتانول و متانول) به مدت ۴۸ ساعت.

Figure 5. Cell viability of MCF-7 cancer cells in three concentrations (0.1, 1 and 10 mg / ml) of the *Melissa officinalis* (water, ethanol and methanol) extracts for 48 hours.



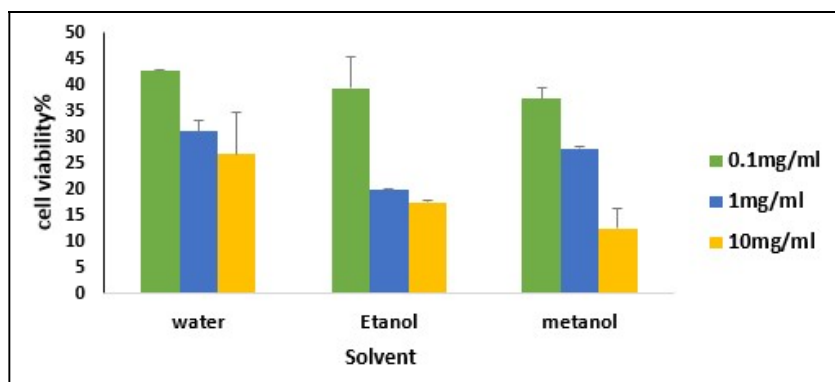
شکل ۶- درصد سلول‌های زنده رده سلولی MCF-7 در سه غلظت (۱، ۱۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) عصاره پودر لیوفلیزه اسطوخودوس (آبی، اتانول و متانول) به مدت ۴۸ ساعت.

Figure 6. Cell viability of MCF-7 cancer cells in three concentrations (0.1, 1 and 10 mg / ml) of the *Lavandula angustifolia* (water, ethanol and methanol) extracts for 48 hours.



شکل ۷- درصد سلول‌های زنده رده سلولی HeLa در سه غلظت (۱، ۱۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) عصاره پودر لیوفلیزه بادنجبویه (آبی، اتانول و متانول) به مدت ۴۸ ساعت.

Figure 7. Cell viability of HeLa cancer cells in three concentrations (0.1, 1 and 10 mg / ml) of the *Melissa officinalis* (water, ethanol and methanol) extracts for 48 hours.



شکل ۸- درصد سلول‌های زنده رده سلولی HeLa در سه غلظت (۱، ۱۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) عصاره پودر لیوفلیزه اسطوخودوس (آبی، اتانول و متانول) به مدت ۴۸ ساعت.

Figure 8. Cell viability of HeLa cancer cells in three concentrations (0.1, 1 and 10 mg / ml) of the *Lavandula angustifolia* (water, ethanol and methanol) extracts for 48 hours.

مقایسه IC₅₀ رده های سلولی سرطانی (MCF-7, HeLa, OVCAR-3) و بررسی معنی داری اختلاف حلال‌ها در سطح P<0.05

میزان IC₅₀ عصاره اتانولی گیاه بادرنجبویه IC₅₀ برابر ۰/۰۲۸ میلی گرم بر میلی لیتر بر رده سلولی OVCAR-3 بوده که بهترین نتیجه را نسبت به سایر حلال‌ها و رده سلول‌ها داشته و در سطح P<0.01 معنی دار است. در عصاره اتانولی گیاه اسطوخودوس IC₅₀ برابر ۱/۳۵ میلی گرم بر میلی لیتر و سطح P>0.05 معنی دار نیست. در رده سلول‌های دیگر MCF-7 نیز در عصاره اتانولی گیاه اسطوخودوس IC₅₀ برابر ۲/۰۷ میلی گرم بر میلی لیتر بهترین نتیجه را داشته و در سطح P<0.01 معنی دار است. در رده سلول MCF-7 عصاره متانولی بادرنجبویه نیز با IC₅₀ برابر ۲/۰۴ میلی گرم بر میلی لیتر بهتر از سایر حلال‌ها عمل نموده است ولی در سطح P>0.05 معنی دار نیست. رده سلول HeLa نیز عصاره متانولی اسطوخودوس IC₅₀ برابر ۷/۳۶ میلی گرم بر میلی لیتر بهتر از دو حلال دیگر بوده و در سطح P>0.05 معنی دار نیست. در این رده سلول عصاره متانولی گیاه بادرنجبویه با IC₅₀ برابر ۴/۶۸ میلی گرم بر میلی لیتر با سطح P<0.05 معنی دار است.

بحث

استخراج این ترکیبات به عوامل متعددی بستگی دارد که مهم‌ترین آن‌ها نوع حلال و روش استخراج هستند. انتخاب روش استخراج و حلال بستگی به قسمت‌های مختلف یک گیاه و نیز مواد متشکله آن دارد. انتخاب حلال مخصوص برای هر دسته از ترکیبات گیاهی بسیار مشکل است. زیرا همراه با این ترکیبات مواد دیگری نیز وجود دارد که بر روی درجه حلالیت آن‌ها تاثیر-گذار هستند. هر گیاه دارای ترکیبات شیمیایی گوناگونی است که مقایسه آن‌ها را از نظر بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی پیچیده می‌سازد. به همین علت فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های حاصل از حلال‌های مختلف و روش‌های مختلف اسطوخودوس و بادرنجبویه با دو روش متفاوت بررسی گردید. سنجش آنتی‌اکسیدانی به روش DPPH نشان داد در عصاره متانولی پودر لیوفلیزه اسطوخودوس بهترین اثر را داشته است. در عصاره لیوفلیزه بادرنجبویه نیز عصاره اتانولی بهترین نتیجه و کمترین IC₅₀ را داشته است. در تمام عصاره‌های حاصل از دو بادرنجبویه و اسطوخودوس با سه حلال مختلف با دو روش استخراج نشان داد بیشترین میزان خاصیت آنتی‌اکسیدانی در روش DPPH استفاده از خیسانده پودر لیوفلیزه می‌باشد. در روش سنجش آنتی‌اکسیدانی به روش FRAP بیشترین میزان خاصیت آنتی‌اکسیدانی در بادرنجبویه در عصاره اتانولی هر دو

پودر اولیه و لیوفلیزه به‌دست آمد. نتیجه کلی سنجش آنتی-اکسیدانی به روش DPPH و FRAP بیانگر این بود که عصاره اتانولی بادرنجبویه و عصاره متانولی اسطوخودوس حاصل از پودر لیوفلیزه خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری نسبت به عصاره حاصل از پودر اولیه و حلال‌های دیگر داشته است و مقایسه دو گیاه نشان داد بادرنجبویه خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالاتر نسبت به اسطوخودوس داشته است.

بهترین گزینه برای درمان روشی است که فقط رده سلول سرطانی را از بین ببرد و به سلول‌های سالم آسیبی نرساند. در حالی که اکثر روش‌های درمانی مورد استفاده امروزی علاوه بر رده سلول‌های سرطانی دارای اثرات جانبی بسیاری هم بر روی سلول‌های سالم هستند. عده‌ای از محققان به این نتیجه رسیده-اند که داروهای گیاهی از این جهت درمان موثرتری برای رده سلول‌های سرطانی هستند (Azadmehr et al., 2011).

از جمله گیاهان مورد توجه در خصوص سرطان گیاه خارمریم است که اخیراً مطالعاتی راجع به اثر ضدسرطانی این گیاه انجام شده است. محققین نشان داده‌اند که سیلیبینین که مهم‌ترین محتوای عصاره گیاه خارمریم است خصوصیات تهاجمی سلول‌های گلیوبلاستوما را از طریق مهار کاتپسین B کاهش می-دهد (Momeny et al., 2010).

در مطالعه انجام شده توسط دیگر محققین، مشخص شد که سیلیبینین رشد سلول‌های سرطان معده SGC-7901 را از طریق کاهش بیان پروتئین P34CDC2 مهار می‌کند (Cozzani et al., 2005). همچنین برخی ترکیبات بیوشیمیایی گیاهی آپوپتوز القاء شده از طریق TRAIL را در آدنوکارسینومای روده تقویت می‌کند (Kauntz et al., 2012).

در مطالعه‌ای دیگر نیز اثرات ضد سرطانی عصاره متانولی پیاز یزدی (*Allium jesdianum* Boiss. & Buhse) و پیاز تابستانه لرستانی (*Nectaroscordum koelzi* Wendelbo) بر رشد سلول‌های HeLa و K562 را مورد بررسی قرار داده و نتیجه نشان داده عصاره متانولی در غلظت‌های به کار رفته بر روی سلول‌های ذکر شده دارای اثر سمی می‌باشد و این اثر به دلیل وجود ترکیب‌های فنلی، تانن‌ها، ساپونین و برخی الکاالوئیدها می‌باشد. و توصیه شده در بدن موجود زنده نیز بررسی گردد (Dorosti et al., 2010). در پژوهش دیگر تاثیر عصاره هیدروالکلی گیاه اسطوخودوس بر روی تکثیر و مهار آپوپتوز در سلول‌های بنیادی عصبی موش صحرایی در شرایط آسیب اکسیداتیو ناشی از اتانول، نشان داده شد که عصاره گیاه اسطوخودوس می‌تواند بر روی افزایش تکثیر و کاهش آپوپتوز در سلول‌های بنیادی عصبی موش صحرایی موثر باشد (Momeny et al., 2010). مطالعه بر روی روغن اسطوخودوس نشان داد که

REFERENCES

- Abolfazl, K.** 2009. Studying antioxidant activity of essential oil and extract of Iranian dendrochemistry. Science horizontal. Quarterly of Gonabad University of Medical Sciences & Health Services 15: 11-17.
- Alizadeh Behbahani, B., Tabatabaei Yazdi, F., Mortazavi, A., Zendeboodi, F., Gholian, M. & Vasiee, A.** 2013. Effect of aqueous and ethanolic extract of *Eucalyptus camaldulensis* L. on food infection and intoxication microorganisms "in vitro". Journal of Paramedical Sciences 4: 89-99.
- Azadmehr, A., Hajiaghache, R., Rezazadeh, S., Afshari, A., Baradaran, B. & Ebrahimi, P.** 2011. Evaluation of *Lavandula officinalis* extract on Lymphocyte proliferation and tumor necrosis factor-alpha production. Journal of Medicinal Plants 2: 142-147.
- Chandrasekar, D., Madhusudhana, K., Ramakrishna, S. & Diwan, P. V.** 2006. Determination of DPPH free radical scavenging activity by reversed-phase HPLC: a sensitive screening method for polyherbal formulations. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 40: 460-464.
- Cozzani, S., Muselli, A., Desjobert, JM., Bernardini, AF. Tomi, F. & Casanova, J.** 2005. Chemical composition of essential oil of *Teucrium polium* subsp. *capitatum* (L.) from Corsica. Flavour and Fragrance Journal 20: 436-441.
- Dorosti N, Zarabi S, Ahmadi S, Rostami R, Rashidi Pour M.** 2017. Evaluation of anticancer activity methanolic extract of *Allium Jesdianum* and *Nectaroscordum koelzi* against HeLa and K562 cell lines. Yafte 19: 31-41.
- Ebrahimzadeh, M. & Azad Bakhat, M.** 2006. Pectin extraction and comparison of efficacy, degree of estrification and percentage of galacturonic acid in some citrus skin. Mazandaran University of Medical Sciences Journal 16: 52-59.
- Elmore, S.** 2007. Apoptosis: a review of programmed cell death. Toxicologic Pathology 35: 495-516.
- Hanachi, P., Zarringhalami, R. & Tamijani, R.R.** 2018. Investigation of antioxidant properties of *Polygonatum orientale* Desf and *Tilia dasystyla* extracts by different methods and solvents. Hormozgan Medical Journal 22: 1-11.
- Hashemi, M., karami-Tehrani, F., Ghavami, S., Maddika, S. & Los, M.** 2005. Adenosine and deoxyadenosine induces apoptosis in oestrogen receptor-positive and-negative human breast cancer cells via the intrinsic pathway. Cell Proliferation 38: 269-85.
- Hosseini, S., Gharachurlou, M., Ghiyasi Tarzi, B., Qavami, B.** 2014. Review of antioxidant capacity determination methods (Reaction Basis, Methods, Strengths and Weaknesses). Food Science and Nutrition, 11 (4): 89-111.
- Hugh, D. & Mehmet, H.** 2003. Cell proliferation and apoptosis. Advanced Methods Oxford: Bios Scientific Publishers Ltd 23:68.
- Kauntz, H., Bousserouel, S., Gossé, F., & Raul, F.** 2012. The flavonolignan silibinin potentiates TRAIL-induced apoptosis in human colon adenocarcinoma and in derived TRAIL-resistant metastatic cells. Apoptosis 17: 797-809.

لینالول و لینالول استات موجود در روغن اسطوخودوس دارای اثر سیتوتوکسیک روی سلولهای پوستی می باشد و این درحالی است که در زمان های گذشته به عنوان ترمیم کننده زخم استفاده می شده است. خواص عصاره آبی گیاه اسطوخودوس بر بقای سلولهای فیبروبلاست انسانی نیز مطالعه شده است (Hosseini et al., 2014).

در مطالعه حاضر نشان داده شد که خاصیت سمیت سلولی بادرنجبویه بر روی OVCAR-3، MCF-7 و HeLa که به ترتیب مربوط به سلول سرطان پستان، سرطان تخمدان و سرطان دهانه رحم است دارای اثرات موفقیت آمیزی بوده است. در این پژوهش عصاره حاصل از سه حلال مختلف از جمله اتانول، متانول و آب بر روی رده سلول های سرطانی تاثیر داده شد که نتایج تفاوت معنی داری میان نوع حلال های استفاده شده را در اثر بخشی نشان داد. در این مطالعه همچنین تاثیر عصاره متانولی و اتانولی از عصاره آبی بهتر بوده است و نیز سمیت و کشندگی عصاره اتانولی این گیاه بر روی رده سلول سرطانی OVCAR-3 در مقایسه با رده سلول های دیگر بیشتر بوده است. در اکثر موارد سمیت سلولی وابسته به غلظت بوده ولی در رابطه با این مطالعه افزایش غلظت تاثیر معناداری را بر روی افزایش خاصیت کشندگی سلول در برخی موارد نداشته است. در کل اگر بخواهیم اثر اسطوخودوس و بادرنجبویه را بر روی سه رده سلول رده بندی نماییم، بهترین اثر و بیشترین کشندگی بر رده سلولی OVCAR-3، بعد از آن HeLa و سپس در آخر MCF-7 بوده است.

نتیجه گیری

در پژوهش انجام شده با توجه به اینکه عصاره های دو گیاه اسطوخودوس و بادرنجبویه به ترتیب بر رده سلولی سرطان تخمدان OVCAR-3 و بعد از آن رده سلول دهانه رحم HeLa و سپس رده سلول سرطانی سینه MCF-7 موثر بوده می توان گفت احتمالاً علاوه بر ترکیبات فنلی، ترکیبات هورمونی مانند ساپونین ها و یا استروئیدی و نیترواستروئیدی ها و کامفر نیز در این گیاهان وجود داشته و با توجه به اینکه یکی از راه های درمانی در این سه نوع سرطان درمان هورمونی است نتایج می تواند بیانگر این باشد که از این دو گیاه می توان برای پیشگیری و درمان (به دلیل ترکیبات آنتی اکسیدانی) استفاده کرد.

سیاسگزاری

بدین وسیله از حمایت مالی دانشگاه الزهرا و دانشگاه علوم پزشکی اصفهان در انجام این تحقیق قدردانی می نمایم.

- Mathew, S., & Abraham, T.E.** 2006. In vitro antioxidant activity and scavenging effects of *Cinnamomum verum* leaf extract assayed by different methodologies. Food and Chemical Toxicology 44: 198-206.
- Momeny, M., Malehmir, M., Zakidizaji, M., Ghasemi, R., Ghadimi, H., Shokrgozar, M.A., Emami, A.H., Nafissi, S., Ghavamzadeh, A. & Ghaffari, S.H.** 2010. Silibinin inhibits invasive properties of human glioblastoma U87MG cells through suppression of cathepsin B and nuclear factor kappa B-mediated induction of matrix metalloproteinase 9. Anti-Cancer Drugs 21: 252-60.
- Motalleb, G., Hanachi, P., Fauziah, O. & Asmah, R.** 2008. Effect of *Berberis vulgaris* fruit extract on alpha-fetoprotein gene expression and chemical carcinogen metabolizing enzymes activities in hepatocarcinogenesis rats. Iranian Journal of Cancer Prevention 1: 33-44.
- Sharopov, F.S., Wink, M., Khalifaev, D.R., Zhang, H., Dosoky, N.S. & Setzer, W.N.** 2013. Composition and bioactivity of the essential oil of *Melissa officinalis* L. growing wild in Tajikistan. International Journal of Traditional and Natural Medicines 2: 86-96.
- Zamanian-Azodi, M., Rezaie-Tavirani, M., Heydari-Kashal, S., Kalantari, S., Dailian, S. & Zali, H.** 2012. Proteomics analysis of MKN45 cell line before and after treatment with Lavender aqueous extract. Gastroenterology and Hepatology from Bed to Bench 5: 35-42.
- Zarringhalami, R., Hanachi, P., Kaya, E., Ağan, A. F., Ağan, K., & Donmez, M.** 2020. Investigation of total phenolic content of *Tilia dasystyla* and *Polygonatum orientale* desf extracts and their cytotoxic effect on the osteogenic sarcoma (Saos-2) cancer cell line. International Journal of Cancer Management 13: e94130.
- Zarringhalami, R., Hanachi, P., & Ramezani Tamijani, R.** 2020. Cytotoxic effect of *Tilia dasystyla* and *Polygonatum orientale* Desf extracts on AGS and SKOV-3 cancer cell lines. Iranian Journal of Pharmaceutical Sciences 16: 9-16.

How to cite this article:

Hanachi, P., Ghorbani, N., Sadeghi Ali Abadi, H. & Zarringhalami, R. 2021. Evaluation of antioxidant and anticancer effects of *Lavandula angustifolia* and *Melissa officinalis* on HeLa, OVCAR-3 and MCF-7 cancer cell lines. Nova Biologica Reperta 8: 20-30. (In Persian).

حناچی، پ.، قربانی، ن.، صادقی علی‌آبادی، ح.، و زرین‌قلمی، ر. ۱۴۰۰. سنجش اثر آنتی‌اکسیدانی و ضد سرطانی اسطوخودوس و بادرنجبویه بر روی رده سلولی سرطان‌های پستان، رحم و تخمدان. یافته‌های نوین در علوم زیستی ۸: ۲۰-۳۰.