Journal of Animal Biology, Winter 2025; 17(2):213-223

ISSN: 1735-9724

Research Article

The Effect of Hydroalcoholic Extract of the Aerial Parts of *Malva Parviflora* Plant on Growth Inhibition and Apoptosis Induction in Lung Cancer Cell Line A549

Farideh Rahimi, Zohreh Valizadeh*

Department of Biology, Dezfoul Branch, Islamic Azad University, Dezfoul, Iran
*Corresponding author: z.valizadeh@iau.ac.ir

Received: 11 August 2024 Accepted: 26 November 2024

DOI: 10.60833/ascij.2025.1128825

Abstract

lung cancer is one of the major cancers in the world that can be caused by the genetic changes in a series of important genes. *Malva parviflora* is a very valuable medicinal plant in traditional medicine. This plant is rich in vitamins A, B and C and is useful in treating respiratory infections. In this study, the effect of *Malva* hydroalcoholic extract on growth inhibition and apoptosis induction on A549 cancer cell line and HFF cell line was investigated. A549 and human HFF cell line were cultured in DMEM culture. Then, concentrations (100, 500 and 1000 µg/ml) of the extract were added to A549 and HFF cells in the culture medium, and after 24 hours, the MTT test was used to check the toxicity of the extract. To investigate the rate of proliferation or induction of apoptosis, the cells were stained with trypan blue. The results of the MTT test showed that the extract significantly decreased cell survival at concentrations of 100 ($p \leq 0.01$), 500 and 1000 µg/ml ($p \leq 0.0001$) in A549 cancer cells compared to the control group. The results of the trypan blue test showed that the extract caused a significant decrease in the growth rate of A549 cells compared to the HFF cell line at concentrations of 100 ($p \leq 0.05$), 500 and 1000 µg/ml ($p \leq 0.0001$). The proliferation rate of A549 cell line was statistically significant compared to HFF cell line at concentrations of 500, 100, 1000 µg/ml ($p \leq 0.05$). results showed that the hydroalcoholic extract of *Malva* inhibited the proliferation of A549 cancer cells by inducing apoptosis. hydroalcoholic extract of *Malva* had a significant effect in reducing the growth rate of A549 cells compared to HFF cell line. hydroalcoholic extract of *Malva* with cytotoxic effects on A549 cancer cells caused the death of these cells through the induction of apoptosis.

Keywords: *Malva parviflora*, Lung cancer, A549 cell line, HFF cell line, Apoptosis.

زیست‌شناسی جانوری، سال هفدهم، شماره دوم، زمستان ۱۴۰۳، صفحات ۲۲۳-۲۱۳

ISSN:۱۷۳۵-۹۷۲۴

مقاله پژوهشی

اثر عصاره هیدروالکلی اندام‌های هوایی گیاه پنیرک (*Malva parviflora*) بر مهار رشد و القای آپوپتوز در رده سلولی سرطان ریه A549

فریده رحیمی، زهره ولی‌زاده*

گروه زیست‌شناسی، واحد دزفول، دانشگاه آزاد اسلامی، دزفول، **ایران**

*مسئول مکاتبات: z.valizadeh@iaud.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۵/۲۱ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۹/۰۶

DOI: 10.60833/ascij.2025.1128825

چکیده

سرطان ریه یکی از عمده‌ترین سرطان‌های دنیا است که می‌تواند در اثر تغییرات ژنتیکی در ژن‌های مهم ایجاد می‌شود. گیاه پنیرک (*Malvalva parviflor*) یک گیاه دارویی ارزشمند در طب سنتی می‌باشد که غنی از ویتامین‌های A، B وC است و در درمان التهابات تنفسی سودمند است. در این مطالعه اثر عصاره هیدروالکلی پنیرک بر مهار رشد و القای آپوپتوز بر رده ی سلولی سرطانی A549 و رده سلولی HFF مورد بررسی قرار گرفت. رده سلولی A549 و HFF انسانی در محیط کشت DMEM کشت داده شدند. سپس غلظت‌های ۱۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم/میلی‌لیتر عصاره بر روی سلول‌های A549 و HFF در محیط کشت اضافه شد و بعد از ۲۴ ساعت جهت بررسی سمیت عصاره از آزمون MTT استفاده شد. برای بررسی نرخ تکثیر و القای آپوپتوز، سلول‌ها با تریپان بلو رنگ‌آمیزی شدند. نتایج آزمون MTT نشان داد که عصاره باعث کاهش معنادار بقای سلولی در غلظت‌های ۱۰۰ ($p \leq ۰/۰۱$)، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ ($p \leq ۰/۰۰۰۱$) در سلول‌های سرطانی A549 در مقایسه با گروه کنترل شد. نتایج آزمون تریپان بلو نشان داد که عصاره باعث کاهش معنادار نرخ رشد سلول‌های A549 نسبت به رده سلولی HFF در غلظت‌های ۱۰۰ ($p \leq ۰/۰۵$)، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ ($p \leq ۰/۰۰۰۱$) شد. نرخ تکثیر رده سلولی سرطانی ریه A549 نسبت به رده سلولی HFF در غلظت‌های ۱۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ ($p \leq ۰/۰۵$) از نظر آماری معنادار بود. نتایج نشان داد عصاره هیدروالکلی گیاه پنیرک با القاء آپوپتوز بر سلول‌های سرطانی A549 مانع تکثیر این سلول‌ها شده و اثر معناداری در کاهش نرخ رشد سلولیA549 نسبت به رده سلولی HFF دارد. عصاره هیدروالکلی گیاه پنیرک با اثرات سایتوتوکسیک بر سلول‌های سرطانی رده A549 باعث مرگ این سلول‌ها از طریق القای آپوپتوز شد.

کلمات کلیدی: سرطان ریه، *Malva parviflora*، رده سلولی A549، رده سلولی HFF، آپوپتوز.

مقدمه

سرطان ریه یکی از عمده‌ترین سرطان‌ها در سرتاسر جهان و یکی از شایع‌ترین دلایل مرگ و میر سرطانی می‌باشد (۱۷). مشخصه اصلی بیماری سرطان ریه، رشد کنترل نشده‌ی سلول در بافت ریه است. اگر این بیماری در مراحل اولیه درمان نشود، سلول‌های سرطانی قادرند طی فرآیند متاستاز به بیرون از ریه گسترش پیدا کرده و به بافت‌ها و اندام‌های دیگر بدن برسند (۱۳). منشأ رده سلولی A549، بافت ریه می‌باشد و به عنوان نماینده پنوموسیت‌های آلوئولار نوع II ریه انسان شناخته شده است. به همین علت، به

مدت تقریبا چهل سال، عنوان اصلی تحقیقات تنفسی را به خود اختصاص داده است (۹). واژه آپوپتوز شامل یکسری از واکنش‌های درون سلولی، برنامه‌ریزی شده است که منجر به مرگ برنامه‌ریزی شده‌ی سلول می‌گردد. این مکانیسم یکی از مهم‌ترین روش‌های حذف سلول‌های ناخواسته در بدن است. فرآیند آپوپتوز شامل تغییر شکل مورفولوژیک سلول، چروکیدگی سلول و هسته، تکه‌تکه شدن کروماتین و از دست دادن چسبندگی که با حمله‌ی ماکروفاژها از بین می‌رود، می‌باشد. آپوپتوز در سطح سلولی به وسیله‌ی پروتئین پروآپوپتوتیک Bax و پروتئین آنتی-آپوپتوتیک Bcl-2 تنظیم می‌شود (۱). استفاده از داروهای شیمی درمانی و افزودنی‌های مصنوعی باعث اختلال در عملکرد سلول‌های سالم شده است. مطالعات انجام شده در مورد سمیت سلولی نشان داده است که این مواد مصنوعی باعث آپوپتوز شدید و شکستگی DNA می‌شوند (٤). پنیرک *Malva parviflora* یک گیاه دارویی بسیار ارزشمند در طب سنتی می‌باشد. این گیاه غنی از ویتامین‌های A، B و C است و در درمان التهابات تنفسی سودمند است. علاوه بر این عصاره پنیرک حاوی موادی مانند ترکیبات فنولی، آنتوسیانین‌ها، کارتنوئیدها و توکوفرول است که به عنوان یک ماده با خاصیت آنتی اکسیدانی طبیعی می‌تواند با رادیکال‌های حاصل از اکسیداسیون لیپیدها واکنش داده و باعث افزایش زمان اکسیداسیون و قطع واکنش‌های زنجیری گردد (۲). گل پنیرک با افزایش تعداد و اندازه غدد موکوسی و فعالیت مژک‌ها و در نتیجه افزایش میزان ترشحات موکوسی و سرعت انتقال آن‌ها، به عنوان یک عامل ضد عفونی کننده عمل می‌کند. این گیاه اثر آنتی باکتریال بالایی در برابر باکتری‌های بیماری زا از جمله استافیلوکوکوس اورئوس و استرپتوکوک آگالاکتیه دارد که می‌توان از آن برای ضد عفونی کردن، استفاده نمود (۱۰). عصاره گیاه پنیرک شامل مقادیر مختلفی از گلوکورونیک اسید، اسید آمینه ضروری سرین و آلانین، هیدروکسی پرولین، کلسیم، منیزیم، گالاکتورونیک اسید، یورونیک اسید، آنتوسیانین، فرولیک اسید و گالاکتوز می‌باشد (۳). با توجه به خواص آنتی‌اکسیدانی این گیاه در این مطالعه اثر عصاره هیدروالکلی پنیرک *Malva parviflora* بر مهار رشد و القای آپوپتوز بر رده‌ی سلولی سرطانی A549 و رده سلولی نرمال HFF مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

روش تهیه عصاره: در این مطالعه گیاه پنیرک از شهر شوش دانیال (ع) تهیه و توسط دپارتمان گیاه شناسی دانشکده کشاورزی دانشگاه چمران اهواز با شماره هرباریوم (*Malva* |Species= 060405-7385 *parviflora:* voucher060405-7378) تایید شد. اندام‌های هوایی گیاه شامل ساقه، برگ و گل، با آب مقطرشستشو و به طور مناسب و علمی خشک شده و با آسیاب برقی به اندازه کافی خورد شد. ۱۰۰ گرم پودر در بشر ریخته و ۲۵۰ میلی لیتراتانول ۷۰ درصد (حلال آب و الکل) به آن افزوده شد. عمل عصاره-گیری در مکانی که از تابش مستقیم خورشید محفوظ بود، انجام و با پوشاندن دهانه بشر توسط کاغذ آلومینیومی از تبخیر حلال جلوگیری شد. عمل عصاره گیری ضمن هم زدن مکرر ۵ روز تمام در حرارت اتاق ادامه داشت. سپس با کاغذ صافی صاف گردید. سپس محلول مورد نظر به مدت ٢٤ ساعت در دستگاه آون با دمای ٤٠ درجه سانتی‌گراد تغلیظ گردید. محلول غلیظ شده پس از ریختن روی سطح شیشه‌ای در محیطی عاری از گرد و غبار نگهداری و خشک شد. سپس، ماده قهوه‌ای تیره حاصل، با کاردک از سطح شیشه برداشته شد و با ترازوی دیجیتال توزین گردید (۱/۲٦گرم پودر عصاره از ۱۰۰ گرم پودر).

سلول‌ها پس از آماده‌سازی با غلظت‌های مختلف عصاره به مدت ۲٤ ساعت تیمار شدند. سپس نرخ تکثیر و درصد سلول‌های زنده محاسبه شد (۱۱).

کشت سلول: رده سلولی A549 و HFF انسانی از انستیتو پاستور ایران خریداری گردید و در پاساژهای سلولی بین ۲٦ تا ۳۱ در محیط کشت DMEM با ۱۰ درصد سرم جنین گاوی (FBS) و یک درصد آنتی بیوتیک پنی سیلین- استرپتومایسین ،در انکوباتوردر دمای ۳۷ درجه و میزان ۵ درصد CO2 و رطوبت ۹۵ درصد و در فلاسک استریل کشت سلول کشت داده شدند و پس از ۲ تا ۳ روز، تعویض محیط صورت گرفت و بعد از یک هفته، سلول‌ها پاساژ داده شدند. زمانی که سلول‌ها حداقل به ۷۰ درصد رشد سلولی رسیدند، توسط تریپسین – اتیلن دی آمین ترا استیک اسید (خریداری شده از شرکت GIBCO) از ته فلاسک جدا شده و در دور rpm ۱۵۰۰ به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند. رسوب سلولی در یک cc محیط کشت به حالت سوسپانسیون تهیه شد و درصد زنده بودن سلول‌ها با مخلوط کردن آن‌ها با نسبت مساوی از تریپان بلو ۰/٤ درصد و شمارش آن با کمک لام نئوبار و میکروسکوپ اینورت تعیین شد. پس از اطمینان از آمادگی سلول‌ها، برای آزمایش از سلول‌های با درصد زنده بودن بالای ۹۰ درصد استفاده شد **(۱۹)**.

آزمون MTT: به منظور سنجش سمیت یک ترکیب شیمیایی یا هر ماده دیگر بر روی سلول از این آزمون استفاده می‌شود. معرف MTT (۳-(٤ و ۵ دی‌متیل-تیازول)-۲ و ۵ دی‌فنیل‌تترازولیوم بروماید) که یک نمک تترازولیوم زرد رنگ است. برای هر نوع سلول با رسم منحنی استاندارد خطی منحنی متناسب از تعداد سلول و رنگ تولید شده بدست می‌آید. شمارش سلول‌ها و سنجش درصد سلول‌های سالم باقی‌مانده با رنگ‌آمیزی تریپان‌بلو، بوسیله لام نئوبار و میکروسکوپ Invert صورت گرفت. از یک پلیت ۹٦ خانه برای رده سلولی A549 و یک پلیت ۹٦ خانه برای رده سلولی HFF استفاده شد. در هر خانه ۱۰۰۰۰ سلول A549 (گروه آزمایش) و ٦۰۰۰ سلول HFF (گروه کنترل)، با حجم نهایی ۱۰ سی‌سی محیط کشت DMEM تزریق شد. سلول‌ها به مدت ۲٤ ساعت در انکوباتور CO2 دار قرارداده شدند. بعد از چسبیدن سلول‌ها به کف پلیت با غلظت‌های مختلف عصاره به مدت ۲٤ ساعت تیمار شدند. مراحل انجام کار طبق پروتکل انجام گردید. جذب نوری هر چاهک با استفاده از دستگاه ELIZA Reader در طول موج ۵۹۰ نانومتر خوانده شد (۱۹).

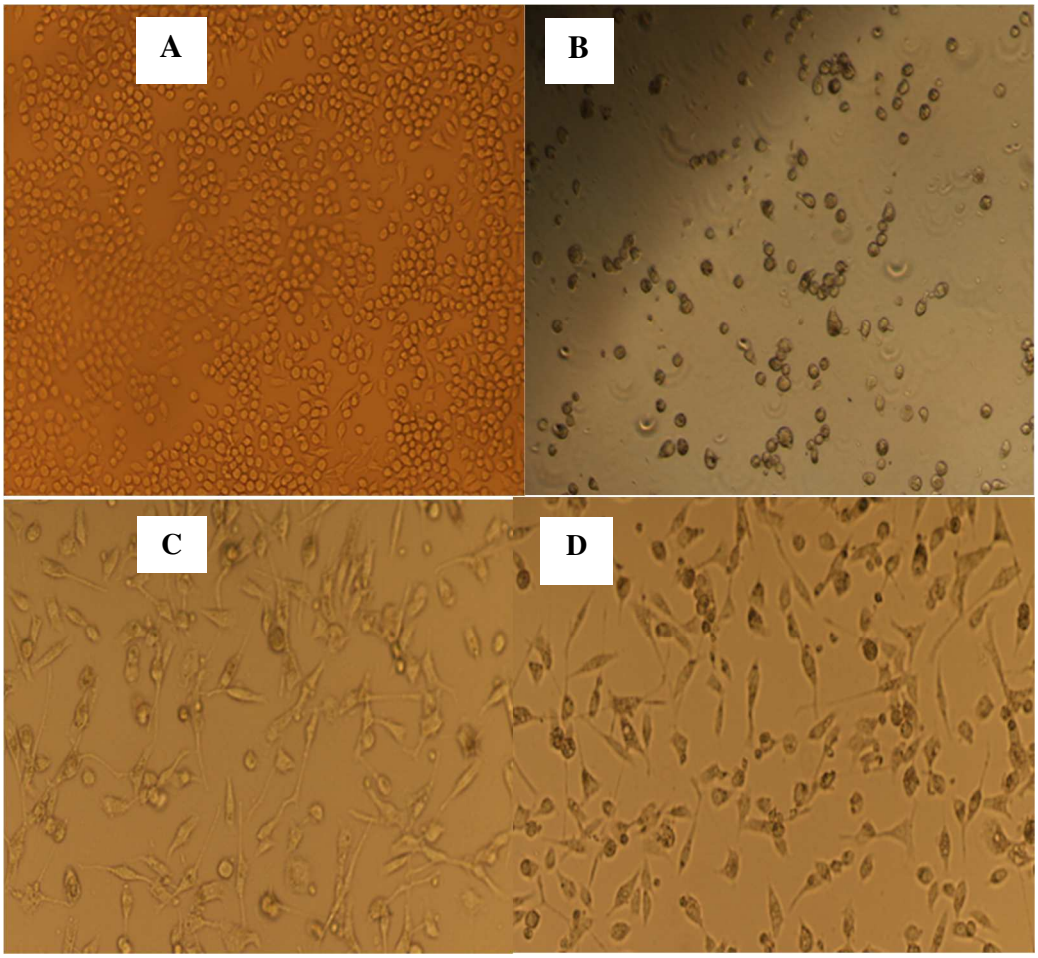
آزمون رنگ‌سنجی تریپان بلو جهت بررسی میزان نرخ تکثیر (القای آپوپتوز): در این تست ازیک پلیت ۹٦ خانه‌ای برای رده سلولی A549 و یک پلیت ۹٦ خانه‌ای برای رده سلولی HFF استفاده شد. در هر چاهک ۱۰۰۰۰ سلول A549 و ٦۰۰۰ سلول HFF و ۱۰ سی‌سی محیط کشت DMEM تزریق شد. سلول‌ها به مدت ۲٤ ساعت در انکوباتور Co دار قرار داده شدند. سپس با غلظت‌های مختلف عصاره به مدت ۲٤ ساعت تیمار شدند. پنج خانه اول هر پلیت را به عنوان شاهد در نظر گرفته شد (شاهد شامل ۱۰ سی-سی محیط کشت خالص و بدون عصاره بود). برای هر غلظت ۵ خانه در نظر گرفته شد. بعد از ۲٤ساعت، توسط سر سمپلر، محیط رویی چاهک‌ها برداشته شد. با اضافه کردن ۵۰ میکرولیتر تریپسین ۰/۲۵ درصد سلول‌ها از کف پلیت جدا شدند و به بالای سطح کشت منتقل شدند. سپس ۱۰ میکرولیتر از محلول درون پلیت را با سمپلر برداشته و گوشه لام نئوبار قرار داده شد و ۱۰میکرولیتر تریپان بلو ۰/٤ درصد به آن اضافه کرده و مخلوط شدند. سپس با توجه به اینکه سلول‌های زنده بی‌رنگ و سلول‌های مرده به دلیل از دست دادن غشای خود به رنگ آبی هستند،

تعداد سلول‌های زنده و مرده را با استفاده از میکروسکوپ اینورت شمارش شدند (۱۹).

تجزیه و تحلیل داده‌ها: با آزمون آنالیز واریانس یک-طرفه و به دنبال آن آزمون Tukey با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۹ انجام شد. نمودارها با برنامه Graphpad prism 5 ترسیم شدند.

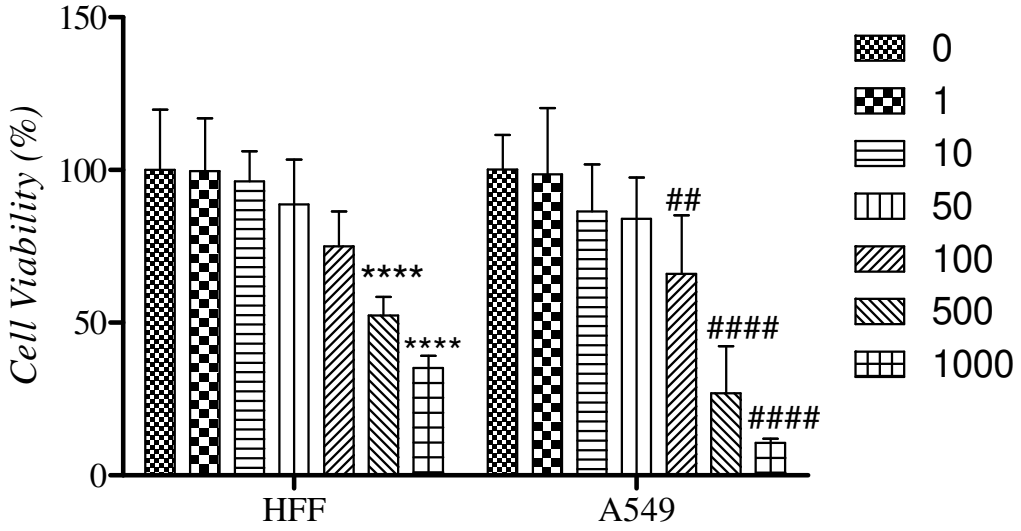
نتایج

کاهش تعداد سلول‌ها و ظاهر حباب مانند غشا سلول‌ها نشان‌دهنده وقوع آپوپتوز در سلول‌های سرطانی رده A549 بود. سلول‌های رده A549 و HFF قبل از تیمار کشیده و چسبنده بودند اما بعد از تیمار سلول‌ها از کف بستر خود کنده شدند و از حالت دوکی شکل به حالت کروی و کوتاه‌تر درآمدند. شکل ظاهری سلول‌ها توسط میکروسکوپ اینورت (×۱۰) مشاهده و عکس‌برداری شد (شکل ۱). نتایج سمیت سلولی غلظت‌های مختلف عصاره هیدروالکلی گیاه پنیرک بر روی رده سلولی سرطانی ریه A549 و رده سلولی نرمال HFF در نمودار ۱ و ۲ نشان داده شده است. اثر هر غلظت از عصاره بر روی رده سلولی A549 و HFF در پنج آزمایش مستقل از یکدیگر مورد بررسی قرار گرفته شد. همان طور که نمودارها نشان می‌دهند به دنبال انکوباسیون ۲٤ ساعته غلظت‌های مختلف عصاره هیدروالکلی گیاه پنیرک گونه parviflora با سلول‌های سرطانی ریه A549 و سلول‌های HFF، بیشترین میزان سمیت سلولی توسط غلظت میکروگرم/میلی‌لیتر۱۰۰۰ از عصاره مشاهده شد ($p \leq$ ۰/۰۰۰۱). میزان بقای سلولی برای غلظت فوق در رده‌ی سلولی A549 ۱۰/۷۲ درصد و در رده‌ی سلولی HFF ۳۵/۱٤ درصد بود. نتایج به دست آمده از آزمون نشان‌دهنده‌ی تاثیر عصاره‌ی هیدروالکلی پنیرک بر کاهش رشد هر دو رده سلولی در مقایسه با گروه کنترل (غلظت صفر) بود. لازم به ذکر است میزان سمیت عصاره وابسته به غلظت است. به طوری که با افزایش غلظت عصاره میزان بیشتری از سلول‌ها از بین رفتند. IC50 غلظتی از عصاره است که باعث زنده ماندن نیمی از سلول‌ها می‌شود. IC50 به دست آمده در رده سلولی A549، ۱۸٦/۱ میکروگرم/میلی‌لیتر و در رده سلولی HFF، ۰/٤۸٦ میکروگرم/میلی‌لیتر بود. نتایج نرخ تکثیر غلظت‌های مختلف عصاره هیدروالکلی گیاه پنیرک بر روی رده سلولی سرطانی ریه A549 و HFF در نمودار ۳ و ٤ نشان داده شده است. به دنبال انکوباسیون ۲٤ ساعته غلظت‌های مختلف عصاره هیدروالکلی گیاه پنیرک با سلول‌های سرطانی A549 و HFF کمترین میزان نرخ تکثیر توسط غلظت ۱۰۰۰ میکروگرم/میلی‌لیتر در رده سلولی A549 ۱/۰۸۹ و در رده سلولی HFF ۱/۵۸٤ مشاهده شد. تحلیل آماری نشان داد میزان نرخ تکثیر با افزایش غلظت عصاره هیدروالکلی در هر دو رده سلولی کاهش پیدا کرده است، به طوری که نرخ تکثیر سلول‌های A549 و HFF از ۲/۲۸۱ و ۲/۳۸٤ در غلظت ۱ به ۱/۰۸۹ و ۱/۵۸٤ میکروگرم/میلی‌لیتر در غلظت ۱۰۰۰ رسید. کاهش نرخ تکثیر سلول‌های رده A549 و HFF در مقایسه با گروه کنترل در غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم/میلی‌لیتر از نظر آماری معنادار بود ($p \leq$ ۰/۰۰۰۱). همچنین در سلول‌های رده A549 در غلظت ۱۰ میکروگرم/میلی‌لیتر نیز کاهش نرخ تکثیر از نظر آماری معنادار بود ($p \leq$ ۰/۰۱).



شکل ۱- (A، C) سلول‌های سرطانی رده A549 و HFF (در گروه کنترل بدون تیمار با عصاره هیدروالکلی گیاه پنیرک). (B، D) سلول‌های سرطانی رده A549 و HFF بعد از ۲۴ ساعت تیمار با عصاره گیاه پنیرک در غلظت (۱۰۰۰ میکروگرم/میلی‌لیتر).

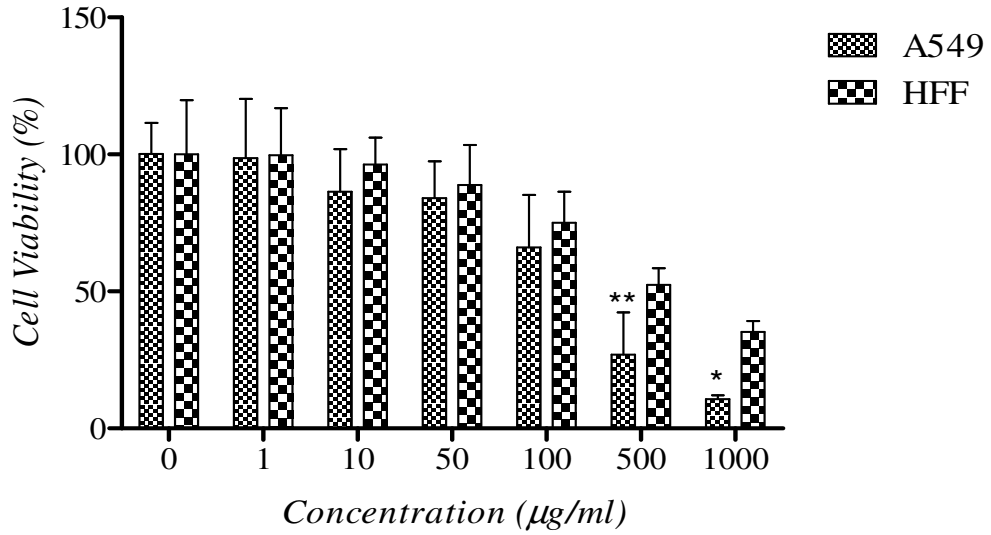
Fig. 1. (A, C) A549 and HFF cancer cells (in the control group without treatment with the hydroalcoholic extract of *Malva*). (B, D) A549 and HFF cancer cells after 24 hours of treatment with the extract of fennel plant at a concentration of (1000 µg/ml).



نمودار ۱- بررسی میزان بقای سلولی (درصد) رده A549 و HFF در غلظت‌های مختلف نسبت به گروه کنترل، طی زمان ۲۴ ساعت تیمار.

****: $p \leq$ ۰/۰۰۰۱، ####: $p \leq$ ۰/۰۰۱، ##: $p \leq$ ۰/۰۱

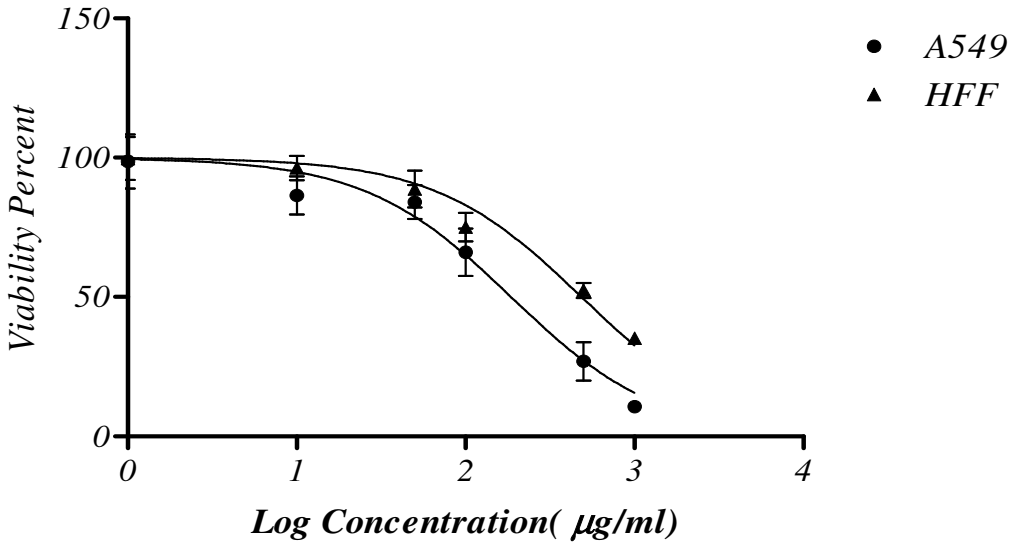
Fig. 2. Examining the cell survival rate (percentage) of A549 and HFF in different concentrations compared to the control group, during 24 hours of treatment. ****:$p \leq 0.00001$, ####: $p \leq 0.0001$, ##: $p \leq 0.01$



نمودار ۲- بررسی مقایسه‌ای اثر عصاره گیاه پنیرک بر روی رده سلول‌های A549 و HFF. نتایج نشان دادند که این عصاره اثر معناداری در کاهش بقای سلولی رده A549 نسبت به رده سلولی HFF در غلظت‌های ۵۰۰ ($p \leq$ ۰/۰۱) و ۱۰۰۰ ($p \leq$ ۰/۰۵) میکروگرم/میلی‌لیتر دارد.

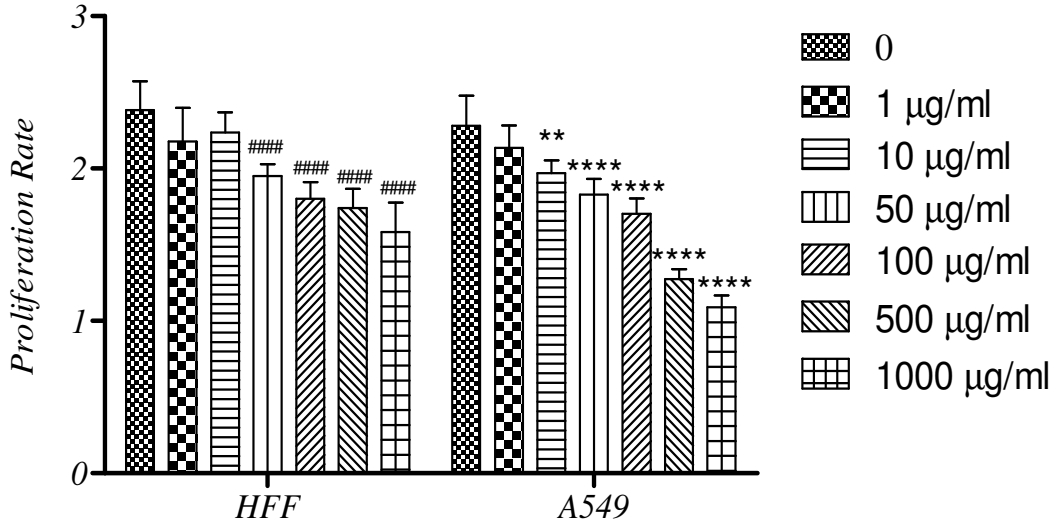
**: $p \leq$ ۰/۰۱، *: $p \leq$ ۰/۰۵

Fig. 3. Comparative investigation of the effect of the extract of the *Malva* on A549 and HFF cell lines. The results showed that this extract has a significant effect in reducing the cell survival of A549 strain compared to HFF cell strain at concentrations of 500 µg/ml ($p \leq 0.01$) and 1000 µg/ml ($p \leq 0.05$). **: $p \leq 0.01$, *: $p \leq 0.05$

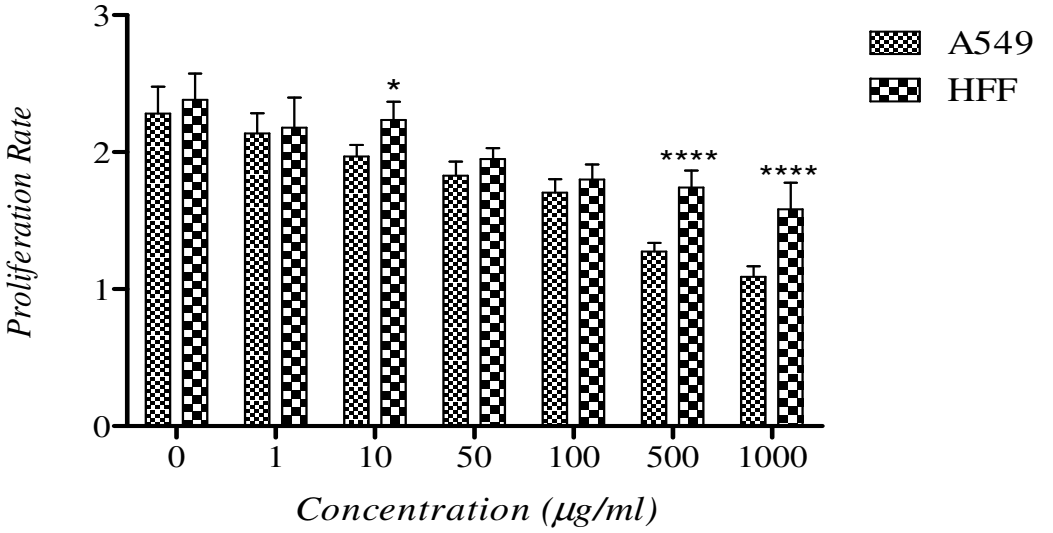


نمودار ۳- درصد بقای سلولی تحت تاثیر لگاریتم غلظت‌های مختلف عصاره پنیرک بر روی سلول‌های رده A549 و HFF به وسیله آزمون MTT. نتایج نشان دادند با افزایش غلظت عصاره درصد بقای سلول کاهش می یابد.

Fig. 4. Percentage of cell survival under the effect of the logarithm of different concentrations of *Malva* extract on A549 and HFF cells by MTT test. The results showed that the percentage of cell survival decreases with the increase in the concentration of the extract.



A



B

نمودار ٤- بررسی نرخ تکثیر. A: نرخ تکثیر رده A549 و HFF در غلظت‌های مختلف نسبت به گروه کنترل، طی زمان ٢٤ ساعت تیمار. ****: $p \leq$ ۰/۰۰۰۱، **: $p \leq$ ۰/۰۱، ####: $p \leq$ ۰/۰۰۰۱ B: بررسی مقایسه‌ای نرخ تکثیر رده سلول‌های A549 و HFF در غلظت‌های مختلف عصاره گیاه پنیرک. نتایج نشان دادند که این عصاره اثر معناداری در کاهش تکثیر رده A549 نسبت به رده سلولی HFF در غلظت‌های ۱۰ ($p \leq$ ۰/۰۵)، ۵۰۰ ($p \leq$ ۰/۰۰۰۱) و ۱۰۰۰ ($p \leq$ ۰/۰۰۰۱) دارد. ****: $p \leq$ ۰/۰۰۰۱، *: $p \leq$ ۰/۰۵

Fig. 5. investigation of the reproduction rate. (A) The proliferation rate of A549 and HFF strains in different concentrations compared to the control group, during 24 hours of treatment. ****: $p \leq 0.0001$, **: $p \leq 0.01$, ####: $p \leq 0.0001$. (B) A comparative study of the proliferation rate of A549 and HFF cell lines in different concentrations of the extract of *Malva*. The results showed that this extract has a significant effect in reducing the proliferation of A549 cell lines compared to HFF cell lines at concentrations of 10 ($p \leq 0.05$), 500 ($p \leq 0.0001$) and1000 µg/ml ($p \leq 0.0001$) ****: $p \leq 0.0001$, *: $p \leq 0.05$.

بحث

سرطان ریه یکی از بزرگ‌ترین مشکلات سلامتی جوامع امروزی است. بسیاری از مبتلایان به سرطان ریه در مراحل پیشرفته بیماری تشخیص داده می‌شوند و بسیاری از بیماران در عرض چند ماه بعد از تشخیص از دنیا خواهند رفت (۱۲). درمان سرطان به جراحی، پرتو درمانی و شیمی درمانی محدود شده است که تمام این روش‌ها باعث تخریب بافت‌های نرمال می‌شود و یا سبب ریشه کنی ناقص سرطان می‌گردد (۱۸). در سال‌های اخیر روی آوردن به استفاده از گیاهان برای مصارف دارویی به میزان قابل توجهی افزایش یافته است. درباره اثرات ضد سرطانی گیاهان دارویی بومی در کشورهای مختلف مطالعات متعددی انجام شده است مثلا در ژاپن گیاه *juzen-taiho-to* در درمان سرطان بسیار مورد استفاده قرار گرفته است (۵، ١٤). در این گیاه اسید گلوکورونیک، فلانوئیدها، مشتقات ترپنوئیدی و فنولی، کلروفیل‌ها، کاروتنوئیدها، آسپارژین، آلتیین، تانن‌ها، روغن‌های فرار، آنتوسیانین‌های مالونات و مقدار کمی مادهٔ رنگی به نام مالوین وجود دارد (١٦). از آنجا که عصاره پنیرک حاوی ترکیبات فنولی، کاروتنوئیدها، توکوفرول و آنتوسیانین‌ها می‌باشد و دارای خاصیت انتی اکسیدانی است، می‌توان نتیجه گرفت که این عصاره به عنوان آنتی اکسیدان طبیعی توانایی واکنش با رادیکال‌های حاصل از اکسیداسیون لیپیدها (L، LOO،

LO، OH، O_2) را دارد (۸). بسیاری از گیاهان دارای خاصیت فارماکولوژیک و بیوشیمیایی شامل خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی هستند که به نظر می‌رسد موجب فعالیت‌های ضد بدخیمی و ضد جهش زایی سلولی می‌شود (٦). در این مطالعه اثر عصاره هیدروالکلی گیاه پنیرک بر روی رده‌ی سلولی سرطانی A549 و رده سلولی HFF مورد بررسی قرار گرفت. نتایج مطالعه حاضر نشان دادند عصاره هیدروالکلی گیاه پنیرک در غلظت‌های ۱۰۰ و ۵۰۰ و ۱۰۰۰ باعث کاهش رشد سلول‌های رده سلولی A549 نسبت به گروه کنترل به طور معنی داری بعد از ٢٤ ساعت تیمار شد. این نتایج نشان داد که عصاره هیدروالکلی گیاه پنیرک با اثرات سایتوتوکسیک بر سلول‌های سرطانی رده A549 باعث مرگ این سلول‌ها شده است. کاهش نرخ تکثیر سلول‌های رده A549 و HFF در مقایسه با گروه کنترل در غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم/میلی‌لیتر از نظر آماری معنادار بود. نرخ تکثیر رده سلولی سرطانی ریه A549 نسبت به رده سلولی HFF در غلظت‌های ۱۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ از نظر آماری معنادار بود. این نتایج نشان داد عصاره هیدروالکلی گیاه پنیرک با القاء آپوپتوز بر سلول‌های سرطانی A549 مانع تکثیر این سلول‌ها شد. Khalaf و همکاران در سال ۲۰۲۱ در پژوهشی به بررسی تاثیر عصاره آویشن بر رده سرطانی *MCF-7* پرداختند که نتایج با یافته‌های پژوهش حاضر همسو و نشان‌دهنده موثر بودن عصاره گیاهی بر درمان سرطان بود (۷). Kis و همکاران در سال ۲۰۲۱ در مطالعه‌ای همسو با نتایج گزارش کردند که عصاره جوانه‌های گیاه *Populus nigra L.* دارای سمیت سلولی روی سلول‌های سرطانی MCF-7 است (۱۵). مطالعات Shadid و همکاران در سال ۲۰۲۱ نشان‌دهنده خواص بازدارنده آنتی‌اکسیدانی این گیاه می‌باشد که با یافته‌های پژوهش حاضر همخوانی دارد. این تحقیق نشان داد که افزایش غلظت عصاره همراه با افزایش میزان مرگ سلولی است. ترکیبات فنلی و فلاونوئیدها خواص بیولوژیکی متعددی مانند خاصیت آنتی‌اکسیدانی، به دام انداختن رادیکال‌های آزاد و خاصیت ضد التهابی دارند. این ترکیبات همچنین باعث جلوگیری یا به تأخیر انداختن آسیب‌های اکسیداتیو در چربی‌ها و دیگر مولکول‌های مهم و مانع به وجود آمدن سرطان و بیماری‌های کرونر قلب می‌شوند (۱۵). نتایج این تحقیقات گامی ابتدایی در بررسی و شناسایی ترکیبات ضد سرطانی است. مطالعات انجام شده نشان می‌دهند که ترکیبات گیاهی و مشتقات آن‌ها می‌توانند بخشی از پروتکل‌های استاندارد درمان سرطان به حساب آیند و سلاح کارایی برای پیشگیری و درمان سرطان باشند . با توجه به گستره و تنوع زیاد گیاهان، محققان راه درازی برای تحقیق در این زمینه در پیش رو دارند.

نتیجه‌گیری

نتایج نشان داد که عصاره هیدروالکلی گیاه پنیرک باعث کاهش رشد سلول‌ها ی سرطانی رده سلولی A549 نسبت به گروه کنترل شد. عصاره هیدروالکلی گیاه پنیرک با اثرات سایتوتوکسیک بر سلول‌های سرطانی رده A549 باعث مرگ این سلول‌ها شده و با القاء آپوپتوز مانع تکثیر این سلول‌ها شد. به این ترتیب ترکیبات گیاهی و مشتقات آن‌ها می‌توانند بخشی از پروتکل های استاندارد درمان سرطان به حساب آیند.

تشکر و قدردانی

تحقیق حاضر حاصل تلاش رساله کارشناسی ارشد رشته زیست شناسی سلولی و مولکولی می‌باشد. مولفان مراتب قدردانی خود را از معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد دزفول که در انجام این طرح ما را یاری فرمودند اعلام می‌دارند.

منابع

1. Czabotar P.E., Lessene G., Strasser A., Adams J.M., 2014. Control of apoptosis by the BCL-2 protein family: implications for physiology and therapy. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 15(1):49-63.

2. Dadeche C.H., Bouzid H., 2021. Les propriétés de *Malva sylvestris* L*. Année Universitaire,* p*:* 4.

3. Elguea A.Í., Serrano M.A., Chrysostomou D., Inziarte H.I., Bøgh S., Arana A.N.,2023, A review on reinforcement learning for contact-rich robotic manipulation tasks. *Robotics and Computer Integrated Manufacturing*, 81:102517.

4. Goto K., Ohtsubo T., Kitazono T., 2018. Endothelium-dependent hyperpolarization (EDH) in hypertension: the role of endothelial ion channels. *International Journal of Molecular Sciences,* 19(1):315.

5. Hassanpour H., 2015. Effect of *Aloe vera* gel coating on antioxidant capacity, antioxidant enzyme activities and decay in raspberry fruit. *LWT-Food Science and Technology*, 60(1):495-501.

6. Khalaf A.N., Abed I.J., 2021. Evaluating the in vitro cytotoxicity of *Thymus vulgaris* essential oil on MCF-7 and HeLa cancer cell lines. *Iraqi Journal of Science*; 62(9):2862-2871.

7. Kis B., Pavel I.Z., Avram S., Moaca E.A., Herrero S.J.M., Schwiebs A., Radeke H.H., Muntean D., Diaconeasa Z., Minda D., Oprean C., Bojin F., Dehelean C.A., Soica C., Danciu C., 2022. Antimicrobial activity, in vitro anticancer effect (MCF-7 breast cancer cell line), antiangiogenic and immunomodulatory potentials of Populus nigra L. buds extract. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 22(1):74.

8. Liu C., Kraja A.T., Smith J.A., Brody J.A., Franceschini N., Bis J.C., Rice K., Morrison A.C., Lu Y., Weiss S., Guo X., Palmas W, Martin LW, Chen YD, Surendran P, Drenos F., Cook J.P., Auer P..L, Chu A.Y., Giri A., Zhao W., Jakobsdottir J., Lin L.A., Stafford J.M., Amin N., Mei H., Yao J., Voorman A. 2016. Meta-analysis identifies common and rare variants influencing blood pressure and overlapping with metabolic trait loci. *Nature Genetics*, 48(10):1162-1170.

9. Nardone L.L., Andrews S.B., 1979.Cell line A549 as a model of the type II pneumocyte: Phospholipid biosynthesis from native and organometallic precursors. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA). Lipids and Lipid Metabolism*, 573(2):276-295.

10. Noohizadeh Z., Parivar K., Hayati R., 2015. The effects of *Malva sylvestris* leaves on sperm and spermatogenesis of the C-57 *Mice-Journal of Animal Biology*, 7(2):81-88.

11. Parto N., Valizadeh Z., Sarkaki A.R., Nasri S., 2018. Evaluation of the effect of *Malva parviflora* hydro-alcoholic extract on pain in male rat. *Jundishapur Scientific Medical Journal*, 17(1):95-105.

12. Qi F., Zhao L., Zhou A., Zhang B., Li A., Wang Z., Han J., 2015.The advantages of using traditional Chinese medicine as an adjunctive therapy in the whole course of cancer treatment instead of only terminal stage of cancer. *Bioscience Trends*, 9(1):16-34.

13. Rosell R., Carcereny E., Gervais R., Vergnenegre A., Massuti B., Felip E., Palmero R., Garcia-Gomez R., Pallares C., Sanchez J.M., Porta R., Cobo M., Garrido P., Longo F., Moran T., Insa A., De Marinis F., Corre R, Bover I, Illiano A, Dansin E, de Castro J., Milella M., Reguart N., Altavilla G., Jimenez U., Provencio M., Moreno M.A., Terrasa J, Muñoz-Langa J, Valdivia J., Isla D., Domine M., Molinier O., Mazieres J., Baize N., Garcia-Campelo R., Robinet G., Rodriguez-Abreu D., Lopez-Vivanco G., Gebbia V., Ferrera-Delgado L., Bombaron P., Bernabe R., Bearz A., Artal A., Cortesi E., Rolfo C., Sanchez-Ronco M., Drozdowskyj A., Queralt C., de Aguirre I., Ramirez J.L.,

Sanchez J.J., Molina M.A., Taron M., Paz-Ares L., 2012. Erlotinib versus standard chemotherapy as first-line treatment for European patients with advanced EGFR mutation-positive non-small-cell lung cancer (EURTAC): a multicentre, open-label, randomised phase 3 trial. *The lancet Oncology*, 13(3):239-246.

14. Saiki I., 2000. A Kampo Medicine Juzen-taiho-to: Prevention of malignant progression and metastasis of tumor cells and the mechanism of action. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*; 23(6):677-88.

15. Shadid K.A., Shakya A.K., Naik R.R., Jaradat N., Farah H.S., Shalan N., et al., 2021. Phenolic content and antioxidant and antimicrobial activities of *Malva sylvestris* L., *Malva oxyloba* Boiss., *Malva parviflora* L., and *Malva aegyptia* L. leaves extract. *Journal of Chemistry*, 2021:1-10.

16. Shokrollahi A., Carnelli D., Fox J., Hofstra K., Holden B., Hormati A., et al., editors., 2016.10.1 A pin-efficient 20.83 Gb/s/wire 0.94 pJ/bit forwarded clock CNRZ-5-coded SerDes up to 12mm for MCM packages in 28nm CMOS. 2016 IEEE International Solid-State Circuits Conference (ISSCC); IEEE.

17. Torre L.A., Bray F., Siegel R.L., Ferlay J., Lortet T.J, Jemal A., 2015. Global cancer statistics, 2012. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 65(2):87-108.

18. Wang H., Luo Y., 2024. Green mediated of nanoparticles by plant extract: Investigation of its performance to treat the human renal cell carcinoma. *Journal of Engineering Research*,12(2):11-16.

19. Zafari J., Zadehmodares Sh., Javani J.F., Bagher H.Z., Najjar N., Asnaashari M., 2020. Investigation into the effect of photodynamic therapy and cisplatin on the cervical cancer cell line (A2780). lasers *Medical Science*, 11(1):85-91