مجله پلاسما و نشانگرهای زیستی
شماره پیاپی ۶۴، دوره ۱۶، شماره ۴، پاییز۱۴۰۲، صفحه ۱۱تا ۲۱
Qjaphd.sinaweb.net ISSN: ۹۸۸۰-۱۷۳۵

ارزیابی اثر سمیت سلولی عصاره اتانولی بابونه بر روی رده‌های سلولی سرطان دهانه رحم و پستان

مرتضی ملکی[۱]، فروزان قاسمیان رودسری[۲]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه بیولوژی، دانشکده علوم، دانشگاه زنجان، ایران.
۲- استادیار، گروه بیولوژی، دانشکده علوم، دانشگاه زنجان، ایران. نویسنده مسئول f-ghasemian@znu.ac.ir

تاریخ دریافت:۱۴۰۲/۰۳/۲۱ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۵/۱۸۲

چکیده

زمینه و اهداف: سرطان یکی از مهم‌ترین عوامل مرگ در جهان بوده و سرطان‌های دهانه رحم (Hela) و پستان (MCF-7) از سرطان‌های شایع در زنان است که آمار بالایی از ابتلا را به خود اختصاص داده است. یافتن داروهایی با منشأ طبیعی، ماندگاری بیشتر و عوارض کمتر تحقیقات را به استفاده از گیاهان دارویی برای درمان انواع سرطان سوق داده است. پژوهش حاضر به بررسی اثر عصاره اتانولی گیاه بابونه بر روی قابلیت حیات دو نوع رده سلولی سرطان پستان و سرطان دهانه رحم با استفاده از آزمون متیل تیازول تترازولیوم پرداخته است.

مواد و روش‌ها: رده‌های سلولی با غلظت‌های مختلفی از عصاره اتانولی گیاه بابونه به مدت ۴۸ ساعت تیمار شده و نتایج با در نظر گرفتن غلظت مهارکنندگی ۵۰ درصد رشد سلول‌ها گزارش شد.

نتایج: غلظت مهارکنندگی ۵۰ درصد رشد سلول‌ها برای رده سلولی دهانه رحم، ۱۴۲۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر و برای سلول‌های سرطان پستان، ۱۷۶۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر محاسبه شد. عصاره اتانولی بابونه بقاء سلول‌ها را به روشی وابسته به دوز در هر دو رده سلولی کاهش داد و در صد مهار رشد هر دو رده سلولی با افزایش غلظت عصاره افزایش پیدا کرد.

نتیجه گیری: نتایج نشان داد که سلول‌های سرطان پستان نسبت به رده سلولی دهانه رحم در تیمار با عصاره بابونه مقاوم‌تر هستند و عصاره بابونه به‌عنوان یک کاندید ضد سرطان، در رده سلولی سرطان دهانه رحم مؤثرتر از رده سلولی سرطان پستان عمل می‌کند.

کلمات کلیدی: آزمون متیل تیازول تترازولیوم، سلول‌های سرطانی، عصاره اتانولی بابونه.

مقدمه

سرطان یکی از مشکلات اساسی بهداشت عمومی در جهان و از عوامل اصلی مرگ‌ومیر است که بیش از یک سوم جمعیت جهان را مبتلا و عامل بیش از ۲۰ درصد از کل مرگ‌ومیرها در جهان است. انکوژن‌ها(Oncogene) (ژن-های تومورزا) تنظیم‌کننده ارتباط سلولی با محیط بیرون هستند و از طریق جهش پروتوانکوژن‌ها به دست می‌آیند. انکوژن‌های جهش‌یافته با قرار گرفتن در معرض مواد سرطان‌زای شیمیایی، محیطی، عوامل میکروبی (باکتری و ویروس) تحریک می‌شوند و منجر به تغییرات سلولی شده و پروتئین‌هایی تولید می‌کنند که یا به اشتباه در سلول طبیعی خود بیان می‌شوند یا اینکه در بافت نامناسب بیان و منجر به تکثیر سلولی و در نتیجه ایجاد سرطان می‌شوند (۱). ژن‌های سرکوب‌کننده تومور نیز برای کنترل انکوژن‌ها با توقف رشد کنترل نشده سلولی مقابله کرده و این ژن‌ها در صورت غیرفعال شدن یا ضعیف شدن، سرطان را تقویت می‌کنند (۲). سرطان پستان شایع‌ترین سرطان در زنان تشخیص داده‌شده و ۲۳ درصد از کل موارد سرطان و ۱۴ درصد از مرگ‌ومیر ناشی از سرطان را شامل می‌شود (۳). سرطان دهانه رحم نیز از شایع‌ترین سرطان‌های دستگاه تناسلی زنان و دومین سرطان شایع زنان در دنیا است. در کشورهای درحال‌توسعه، مرگ‌ومیر در اثر سرطان دهانه رحم رایج-ترین مرگ ناشی از سرطان محسوب می‌شود (۴). جراحی، شیمی‌درمانی و رادیوتراپی مهم‌ترین گزینه‌ها برای درمان سرطان است اگرچه این روش‌های درمانی دارای عوارض جانبی خاصی نیز هستند که بسته به نوع داروی مورداستفاده در سرطان خاص، مقاومت به درمان نیز ایجاد خواهد شد (۵). امروزه تحقیقات مختلفی برای کشف داروهای قوی، ایمن و مؤثر برای غلبه بر مقاومت و کاهش عوارض جانبی این روش‌ها ارائه شده است (۶ و ۷).

منابع گیاهی از زمان‌های قدیم به‌عنوان منابع اصلی داروها بوده‌اند، به‌طوری‌که منشأ پنجاه درصد از داروهای امروزی به‌طور عمده از طبیعت گرفته شده است. علاقه روزافزون به محصولات طبیعی به‌عنوان منبع داروهای جدید را می‌توان به عوامل متعددی از جمله نیازهای فوری درمان، طیف وسیع ساختارهای شیمیایی و فعالیت‌های بیولوژیکی متابولیت‌های ثانویه طبیعی و مناسب بودن محصولات طبیعی زیست فعال به‌عنوان شناساگرهای بیوشیمیایی و مولکولی نسبت داد (۵ و ۸). گیاهان دارویی در مقایسه با داروهای مدرن یا آلوپاتیک(Allopathic) به‌راحتی در دسترس، ارزان‌تر و فاقد سمیت هستند و این امکان وجود دارد که کاربرد گیاهان دارویی با تثبیت مجدد تعادل بدن و آماده-سازی بافت‌های بدن، مقاومت میزبان در برابر عفونت را افزایش دهند (۱). نتایج گزارش‌های متعدد نشان می‌دهد که فعالیت ضد سرطانی گیاهان دارویی به دلیل وجود آنتی-اکسیدان‌های طبیعی موجود در آن‌ها است(۹).

شناخت متابولیت‌های ثانویه در گیاهان برای کشف داروهای ضد سرطانی چشم‌انداز جدیدی برای استفاده از این منبع طبیعی ایجاد کرده است. آلکالوئیدها(Alkaloid) ، ترپنوئیدها(Terpenoid) و فلاونوئیدها(Flavonoids) مهم‌ترین متابولیت‌های ثانویه‌ای هستند که دارای اثر ضد سرطانی می‌باشند (۱۰).

بابونه(*Matricaria chamomilla* L) یکی از گیاهان دارویی مهم خانواده کاسنی(Asteraceae) است. بابونه گیاهی علفی، یک‌ساله و بسیار معطر است که حتی در خاک‌های فقیر و شنی نیز توانایی رشد دارد (۱۱). کاپیتول-ها(Capitule)بخش مهم مورداستفاده این گیاه است که در فاصله ماه‌های اردیبهشت تا مهر ماه، آن را از ساقه جدا می‌کنند. بابونه در ایران بیشتر در استان‌های لرستان، کهکیلویه و بویراحمد، خوزستان، فارس، همدان و اطراف

تهران یافت می‌شود (۱۲، ۱۳و ۱۴). بابونه به‌عنوان یک گیاه دارویی شناخته‌شده در جهان برای درمان بیماری‌های مختلف کاربرد فراوانی دارد. عصاره گل بابونه شامل اسید تارتاریک، اسید سیتریک و اسید سوکسینیک (Succinic acid) است و علاوه بر آن دارای ترکیبات میریستین (Myricetin) ، لوتئولین (Luteolin) و مشتقات کومارین (Coumarin) و فلاونوئیدهای مانند فلاون‌ها (Flavones) و فلاونول ها (Flavonols) است. فلاون‌ها (بیشتر آپیژنین(Apigenin)، لوتئولین) و فلاونول‌ها (کوئرستین(Quercetin) ، ایزورامنتین(Isorhamnetin) ، میریستین، پاتولئین(Patuletin)) هستند. گلچه‌های بابونه حاوی روتین(Rutin) ، آپیژنین و کوئرستین آزاد است. مطالعات مختلفی در داخل بدن(*In vivo*) و هم در شرایط آزمایشگاهی(*In vitro*) در خصوص تأثیر جنبه‌های شیمی‌درمانی آپیژنین انجام شده است (۱۵). نتایج مطالعات مختلف نشان داده که خواص ضد سرطانی آپیژنین از طریق تنظیم پاسخ سلولی به استرس اکسیداتیو و آسیب DNA، سرکوب التهاب و رگ‌زایی، تأخیر در تکثیر سلولی، القای اتوفاژی و آپوپتوز رخ می‌دهد. رادیکال‌های آزاد اکسیژن در پاتوفیزیولوژی بسیاری از بیماری‌ها از جمله سرطان و التهاب نقش دارند. عصاره‌های متانولی و آبی بابونه کمترین اثر ضد تکثیری را بر روی سلول‌های طبیعی داشته درعین‌حال بر توانایی بیولوژیکی سلول‌های سرطانی مختلف تأثیر قابل‌توجهی دارند (۱۶، ۱۷، ۱۸ و ۱۹). بررسی منابع نشان داده است که عصاره بابونه بر روی بسیاری از رده‌های سلولی مختلف تأثیر داشته اما تاکنون مطالعه‌ای در خصوص تأثیر عصاره این گیاه بر روی رده‌های سلولی سرطان پستان و دهانه رحم گزارش نشده است؛ بنابراین هدف از انجام این تحقیق بررسی اثرات ضد سرطانی ترکیب عصاره هیدروالکلی بابونه بر روی دو نوع رده سلولی سرطان دهانه رحم و پستان در شرایط آزمایشگاهی است.

مواد و روش‌ها

تهیه گیاه بابونه و استخراج عصاره

گیاه بابونه در اواسط خرداد ۱۳۹۹ از بخش‌هایی از استان فارس جمع‌آوری، شستشو و با قرار دادن در سایه هوا خشک و برای تهیه عصاره مورداستفاده قرار گرفتند. حلال‌ها یکی از عوامل مهم جداسازی هستند؛ که در فرآیند استخراج حلال برای جداسازی ماده موردنظر یا خارج کردن ناخالصی‌ها ضروری است (۲۰). حلال‌های قطبی مناسب ترکیبات قطبی و حلال‌های غیرقطبی برای ترکیبات غیر قطبی انتخاب بهتری هستند (۲۱). خاصیت آنتی‌اکسیدانی به قطبیت حلال بستگی دارد. عصاره به‌دست‌آمده از حلال‌های غیر قطبی نظیر هگزان و اتیل استات فعالیت آنتی‌اکسیدانی پایین‌تری نسبت به عصاره حاصل از حلال‌هایی قطبی دارند. حلال اتانول به دلیل داشتن خاصیت قطبی می‌تواند استخراج ترکیبات آنتی‌اکسیدانی را افزایش دهد (۲۲ و ۲۳). برای تهیه عصاره، بخش گل بابونه خشک‌شده ابتدا به همراه حلال هگزان در یک ظرف درب بسته به مدت ۴۸ ساعت در دمای محیط نگه‌داری و پس از گذشت زمان موردنظر مایعات حاصل از آن به‌وسیله فیلتراسیون جدا شد. در مرحله بعد بر روی گیاه جداشده محلول اتیل استات اضافه شد و به مدت ۷۲ ساعت در ظروف شیشه‌ای درب‌دار در دمای محیط تیمار شد، سپس گیاه موردنظر از مراحل قبل در الکل اتانول ۹۶ درصد به مدت هفت روز قرار داده شد و عصاره به‌دست‌آمده طی دو مرحله با استفاده از کاغذ صافی واتمن ۴۲ فیلتر شد. حلال اضافی عصاره با استفاده از دستگاه تبخیر روتاری(Rotary Evaporator) مدل Buchi B-490h تبخیر و تغلیظ شد. در ادامه جهت خارج کردن

مقادیر کم باقی‌مانده احتمالی حلال، عصاره به مدت ۴۸ ساعت در ظروف بدون درب زیر هود قرار داده شد تا باقی‌مانده محلول به‌طور کامل تبخیر و فقط عصاره خشک استخراج شود. عصاره خشک‌شده در ظروف شیشه‌ای در بسته در یخچال نگه‌داری شد (۲۴). برای شناسایی محتویات فیتوشیمیایی در ابتدا عصاره با الکل رقیق و سپس با استفاده از دستگاه گاز کروماتوگراف – طیف‌سنج جرمی(Gas Chromatograph - Mass Spectrometer, GC-MS) مورد بررسی قرار گرفت.

تهیه عصاره دی متیل سولفوکساید

عصاره دی متیل سولفوکساید(Dimethyl Sulfoxide, DMSO) یک حلال آلی است که آزادانه می‌تواند با آب، لیپیدها و عوامل آلی حل شود این ویژگی‌ها اجازه نفوذ استثنایی دی متیل سولفوکساید به غشا را می‌دهد. به همین دلیل به‌عنوان ناقلی برای حمل عوامل دارویی به سیستم‌های بیولوژیکی استفاده می‌شود. به دلیل این‌که عصاره گیاه بابونه مستقیماً در محیط کشت حل نمی‌شود و حلال عصاره گیاهی دی متیل سولفوکساید دارای اثرات سمیت سلولی است، جهت حذف اثر آن بر روی سلول‌های تیمارشده، میزان آن را در محلول نهایی کمتر از یک در صد در نظر می‌گیرند. دی متیل سولفوکساید تا غلظت کمتر از یک در صد فاقد سمیت است بنابراین برای محلول کردن عصاره از دی متیل سولفوکساید استفاده شد. بعد از حل شدن کامل عصاره استخراج‌شده در دی متیل سولفوکساید با توجه به وزن عصاره خشک و حجم نهایی محلول رقت‌های ۲۰۰، ۶۰۰، ۱۰۰۰، ۱۵۰۰ و ۲۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر تهیه شد (۲۵، ۲۶ و ۲۷).

تهیه، تکثیر و ذخیره سلول‌های سرطانی دهانه رحم و پستان

سلول‌های سرطان دهانه رحم و پستان استفاده‌شده از انستیتو پاستور ایران خریداری شدند. سلول‌ها در محیط کشت DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium)حاوی ده درصد سرم جنین گاوی(Fetal Bovine Serum) کشت داده‌شده و جهت تکثیر در انکوباتور سلولی قرار داده شدند تا به تراکم مناسب برسند. تعویض محیط سلول‌ها هر سه روز یک بار انجام شد.

جهت تکثیر سلولی ابتدا محیط قبلی سلول‌ها کاملاً تخلیه‌شده و سلول‌ها با یک میلی‌لیتر بافر فسفات سالین(Phosphate bufferde saline, PBS) شستشو داده شدند تا کل سرم موجود تخلیه شود. سپس یک میلی‌لیتر از محلول تریپسین ۰/۲۵ درصد و محلول EDTA یک میلی‌مولار در هر خانه از پلیت‌های چند خانه ریخته شد و به مدت پنج دقیقه در انکوباتور قرار داده شدند تا سلول‌ها از کف ظرف جدا شوند. محلول تریپسین حاوی سلول‌های جداشده به فالکون ۱۵ میلی‌لیتر منتقل و با اضافه کردن دو میلی‌لیتر محیط کشت حاوی سرم جنین گاوی ۱۰ در صد تریپسین آن مهار و به مدت پنج دقیقه در ۳۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ شد. رسوب سلولی حاصل از سانتریفیوژ در یک میلی‌لیتر محیط کشت، سوسپانس و سوسپانس سلولی در فلاسک T۷۵ کشت داده شدند (۲۸).

جهت تهیه ذخیره سلولی از سلول‌های موردمطالعه پس از تکثیر سلولی، سلول‌ها از کف ظرف جداشده و بعد از انجام سانتریفیوژ، رسوب سلولی به‌دست‌آمده از یک فلاسک در دو میلی‌لیتر محیط فریز حاوی ۹۰ در صد سرم جنین گاوی و ۱۰ در صد دی متیل سولفوکساید سوسپانس و پس از توزیع در کرایوویال‌های مخصوص فریز به تانک ازت مایع منتقل گردید.

شمارش و کشت سلولی و آزمون بررسی سمیت سلولی

به‌منظور بررسی میزان سمیت عصاره اتانولی بابونه پس از تریپسینه(Trypsin) کردن سلول‌ها و سانتریفیوژ و سوسپانس کردن رسوب سلولی در یک میلی‌لیتر از محیط کشت، شمارش سلولی انجام شد. برای این منظور مقدار ۱۰ میکرولیتر از سوسپانسیون سلولی یکنواخت شده در یک میکروتیوب ۱/۵ میلی‌لیتر حاوی ۸۰ میکرولیتر محیط کشت ریخته و مقدار ۱۰ میکرولیتر رنگ تریپان بلو به آن اضافه شد و پس از پیپتاژ ۱۰ میکرولیتر از آن روی لام نئوبار برده شد. تعداد سلول‌های زنده موجود در چهار مربع ۱۶ خانه‌ای لام در زیر میکروسکوپ نوری مدل LABOMED شمرده‌شده و با استفاده از رابطه ۱ تعداد سلول‌ها در یک میلی‌لیتر محاسبه شد (۲۹).

رابطه ۱ (10^4×عکس ضریب رقت×(٤ :مجموع سلول‌های چهار مربع)=ml/تعداد سلول‌ها)

به‌منظور بررسی آزمون سمیت سلولی(MTT3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) متیل تیازول تترازولیوم با غلظت پنج میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در بافر فسفات سالین تهیه شد. سلول‌ها به تعداد حدود ۵۰۰۰ سلول در هر چاهک با سه تکرار کاشته شدند و به‌منظور چسبیدن سلول‌ها به کف چاهک‌های پلیت، سلول‌ها به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور قرار داده شدند و سپس محیط رویی را خارج و سلول‌های سرطان دهانه رحم و پستان به‌طور جداگانه در غلظت‌های ۲۰۰، ۶۰۰، ۱۰۰۰، ۱۵۰۰ و ۲۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از عصاره اتانولی بابونه تیمار و پس از ۴۸ ساعت سلول‌ها برای بررسی آزمون سمیت سلولی آماده شدند. برای انجام این آزمون ۱۰۰ میکرولیتر محلول متیل تیازول تترازولیوم با رقت یک به ده از استوک اولیه به هر خانه اضافه گردید. سپس پلیت‌ها به مدت چهار ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس انکوبه شدند. بعد از اضافه کردن این محلول رنگ محیط به علت تولید فورمازان به رنگ آبی ارغوانی در آمده و پس از گذشت این زمان محلول رویی سلول‌ها خارج و در ادامه به هر خانه ۱۰۰ میکرولیتر دی متیل سولفوکساید اضافه شد تا کریستال‌های تولیدشده حل شوند و سپس به مدت ۱۵ دقیقه در انکوباتور انکوبه و بعد از گذشت این مدت تمام خانه-های پلیت پیپتاژ و میزان جذب نوری در طول‌موج ۵۷۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر مدل بیوتک اندازه‌گیری شد. آزمون سمیت سلول برای هر رقت با سه بار تکرار و برای هر رقت سه چگالی نوری قرائت و درصد بقای سلول‌ها با استفاده از رابطه ۲ محاسبه شد (۳۰، ۳۱ و ۳۲).

رابطه ۲ (۱۰۰ × جذب نمونه کنترل / جذب نمونه تیماری = درصد بقای هر نمونه تیماری)

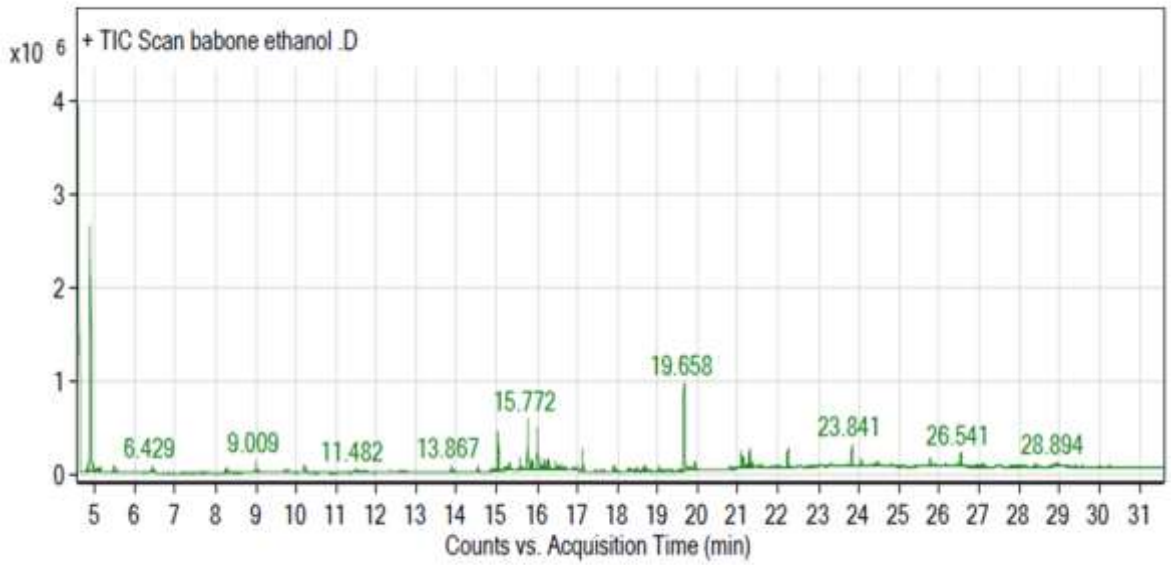
تجزیه‌وتحلیل داده‌ها

تجزیه واریانس یک‌طرفه(One way ANOVA) و مقایسه میانگین‌های بین تیمارهای آزمایشی با استفاده از آزمون معنی‌داری توکی(*Tukey's* test) انجام شد. برای محاسبه مقدار نیمه حداکثر غلظت بازدارندگی(The half-maximal inhibitory concentration, IC_{50}) که بیانگر غلظتی از عصاره که باعث ۵۰ در صد مهار رشد سلول‌های سرطانی می‌شود از روش رگرسیون خطی محاسبه انجام شد. تجزیه‌وتحلیل آماری با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۲۲ انجام شد.

نتایج

ترکیبات عصاره اتانولی بابونه

نتایج مطالعه طیف‌سنج جرمی عصاره اتانولی بابونه در سه تکرار ۶۷ فراز را که نشان‌دهنده انواع ترکیبات موجود در عصاره بود را نشان داد. ده فراز ارتفاع بیشتری نسبت به سایر فرازها داشتند؛ که نشان‌دهنده ۱۰ ماده اصلی تشکیل‌شده در عصاره است (شکل ۱). بر اساس نتایج به‌دست‌آمده سه فراز شامل ترکیباتی هستند که خواص ضد سرطانی آن‌ها در مطالعات گذشته نیز بر روی رده‌های دیگر سلول‌های سرطانی و یا در مطالعات فیتوشیمیایی به اثبات رسیده و شامل ترکیبات هنتریاکونتان، ان-هگزادکانوئیک اسید و ۱۲،۹- اکتادکادینوئیک اسید است.



شکل ۱- کروماتوگرام عصاره اتانولی بابونه با استفاده از طیف‌سنج جرمی.

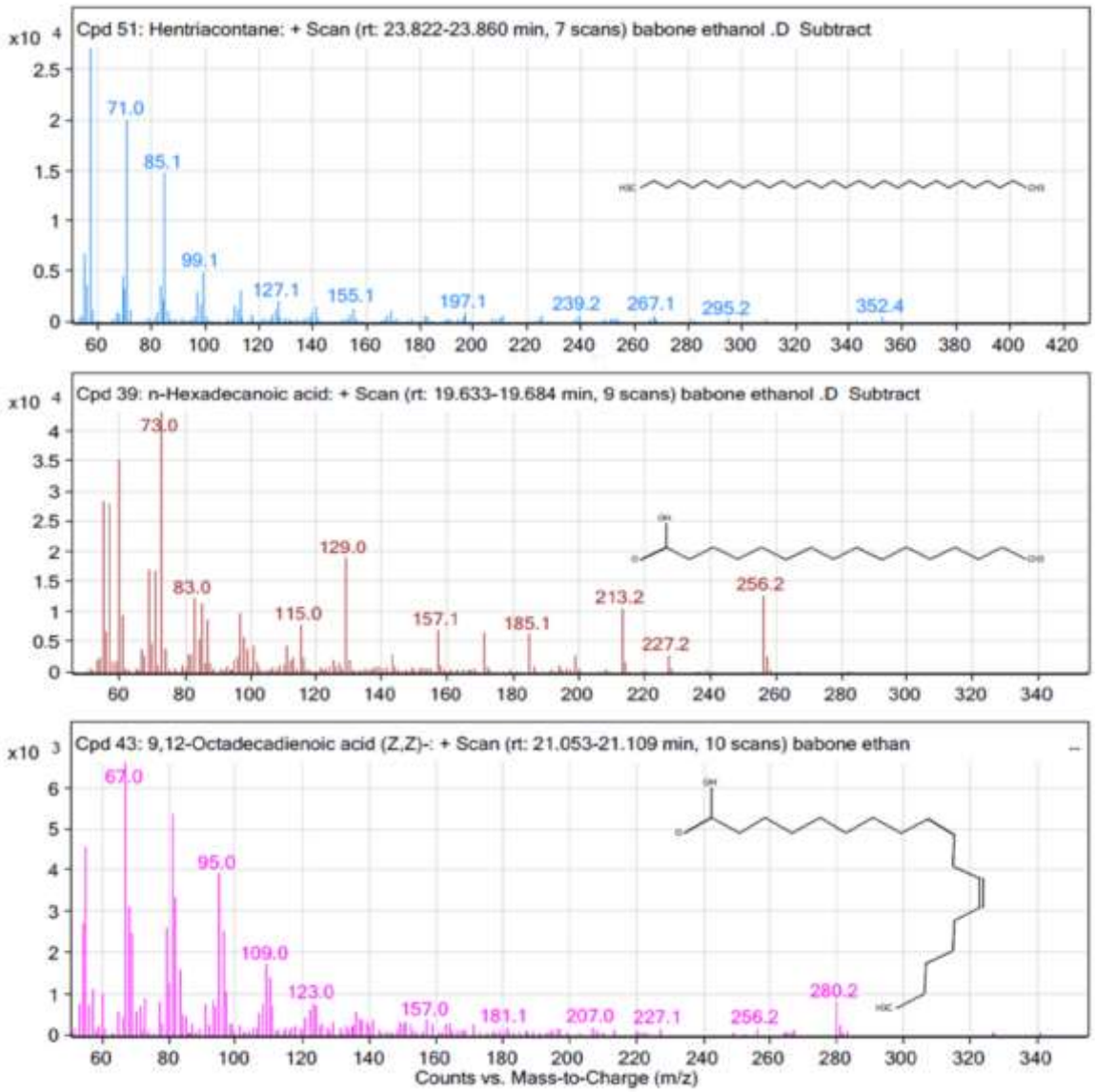
هنتریاکونتان (شکل ۲ بالا) دارای اثرات دارویی مختلفی ازجمله فعالیت‌های ضدالتهابی، ضد توموری و ضدمیکروبی است. پتانسیل ضدالتهابی این ترکیب در ماکروفاژهای صفاقی نشان داده شده است (۳۳). ان-هگزادکانوئیک اسید (شکل ۲ وسط) بر اساس مطالعات انجام‌شده مشخص شد که فعالیت سیتوتوکسیک در این ترکیب به‌واسطه تعامل آن با DNA توپوایزومراز I است و ازاین‌رو آن را می‌توان یک سیتوتوکسیک ضد سرطانی دانست (۳۴). اکتادکادینوئیک اسید (شکل ۲ پایین) یک اصطلاح کلی است که برای توصیف مخلوطی از اسیدهای اکتادکادینوئیک استفاده می‌شود؛ و شامل یک سری ایزومرهای دی انوئیک مزدوج اسید لینولئیک است که دارای خواص آنتی اکسیدانی و ضد سرطانی هستند (۳۵ و ۳۶). نتایج نشان داد که هر سه ترکیب فوق با اثرات ضد سرطانی و التهابی در ترکیب عصاره الکلی بابونه مطالعه شده این تحقیق وجود دارند.

سمیت سلولی عصاره اتانولی گیاه بابونه بر رده سلول‌های سرطانی دهانه رحم و پستان

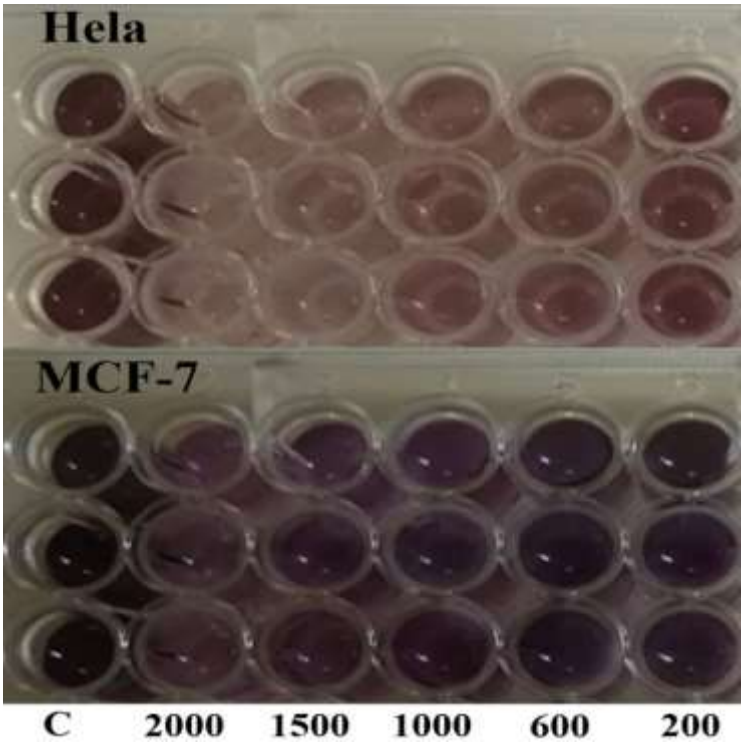
بررسی‌های ماکروسکوپی و میکروسکوپی

نتایج آزمون متیل تیازول تترازولیوم بر اساس احیای آنزیمی نمک تترازولیوم کم‌رنگ به فورمازان ارغوانی رنگ است که این واکنش توسط آنزیم‌های دهیدروژنازی میتوکندری انجام می‌گیرد. بر این اساس سلول زنده دارای آنزیم‌های هیدروژنازی میتوکندری است که توانایی تغییر

رنگ محلول از بی‌رنگ به ارغوانی را دارد و اگر سلول مرده باشد به دلیل عدم وجود آنزیم‌ها واکنش شکل نگرفته و محلول بی‌رنگ باقی می‌ماند (۳۷). تغییر رنگ محلول در شرایط بهینه می‌تواند با بررسی چشمی نشان‌دهنده تأثیر عصاره بر سلول‌ها باشد. شکل ۳ تأثیر مثبت عصاره بر روی رده‌های سلولی سرطانی دهانه رحم و پستان را نشان می دهد. مقایسه ماکروسکوپی نشان‌دهنده کم‌رنگ شدن بیشتر محیط در غلظت‌های مختلف عصاره در رده سلولی دهانه رحم نسبت به رده سلولی پستان است.



شکل ۲- طیف‌سنجی جرمی هنتریاکونتان (بالا)، ان-هگزادکانوئیک اسید (وسط) و اکتادکادینوئیک اسید (پایین) عصاره بابونه.



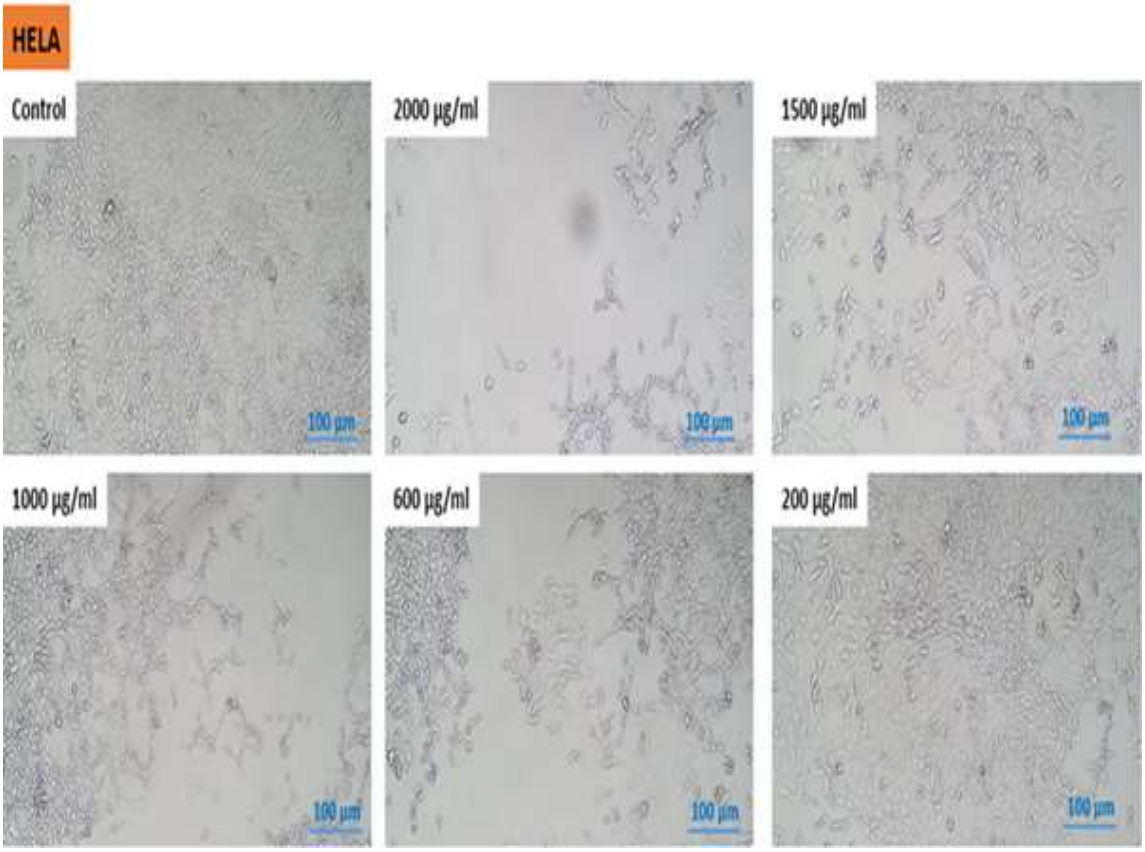
شکل ۳- شواهد ماکروسکوپی تأثیر غلظت‌های عصاره بابونه (µg/ml) در آزمون متیل تیازول تترازولیوم.

برای بررسی‌های میکروسکوپی پس از تیمار کردن سلول‌ها با عصاره اتانولی بابونه از هر نمونه با استفاده از میکروسکوپ نوری فاز کنتراست تصاویری برای هر دو نوع رده سلولی تهیه شد. نتایج نشان دادند که در هردو رده سلولی دهانه رحم (شکل ۴) و پستان (شکل ۵) با افزایش رقت عصاره استفاده‌شده مرگ سلولی که به‌صورت کاهش در تعداد سلول‌ها در هر دو رده نشان داده شده افزایش‌یافته است.

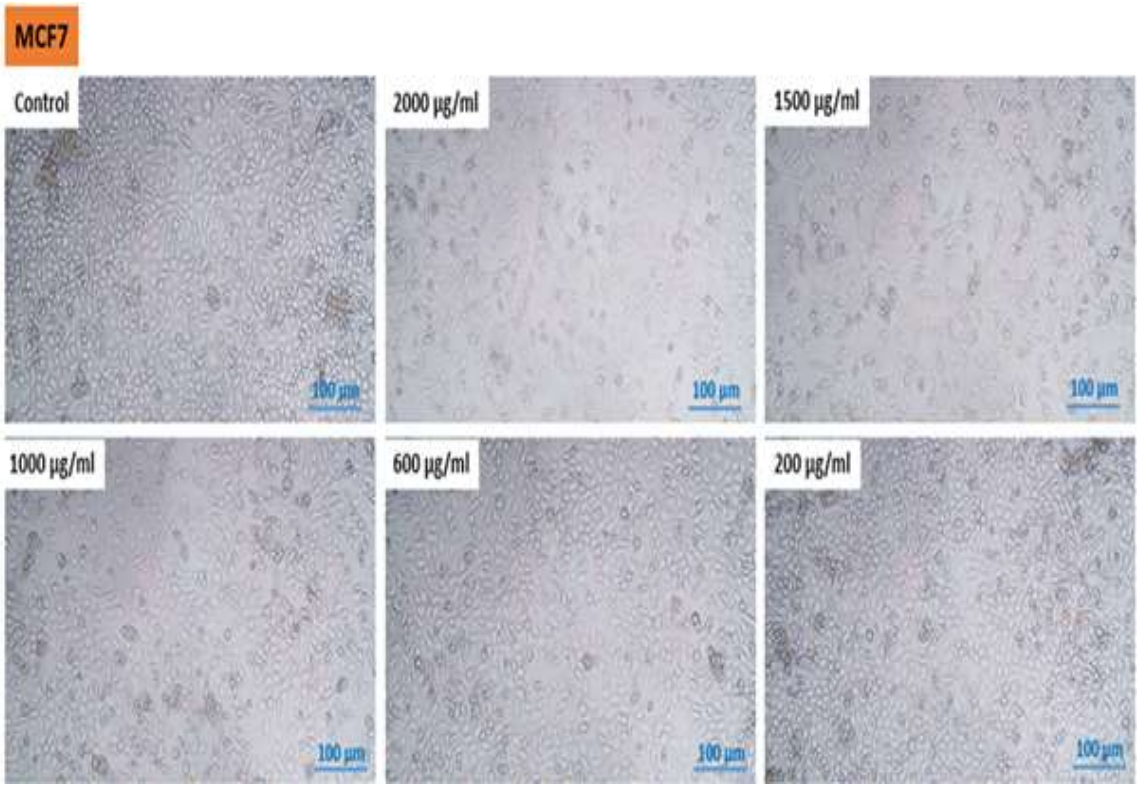
تحلیل داده‌های اسپکتروفتومتری و تعیین بقای سلول رده سلولی سرطانی دهانه رحم و پستان

رده سلولی دهانه رحم

رده سلولی سرطان دهانه رحم با پنج غلظت ۲۰۰، ۶۰۰، ۱۰۰۰، ۱۵۰۰ و ۲۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از عصاره اتانولی بابونه تیمار و سمیت سلولی غلظت‌های مختلف با کمک آزمون متیل تیازول تترازولیوم بررسی شد (جدول ۱). همان‌طور که در جدول ۱ نشان داده شده است با افزایش غلظت عصاره اتانولی تأثیر چشم‌گیری در کاهش رشد سلول‌های سرطانی و مرگ‌ومیر سلول‌ها مشاهده می‌شود، به‌طوری‌که درصد بقا در غلظت‌های ۲۰۰، ۶۰۰، ۱۰۰۰، ۱۵۰۰ و ۲۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر به ترتیب برابر ۸۸، ۷۴، ۶۰، ۴۸ و ۳۰ در صد بود. کاهش مقادیر در صد بقا مؤید اثر سمیت سلولی و مهار رشد سلول‌ها با افزایش غلظت عصاره به‌کاربرده شده است. بالاترین درصد ممانعت کنندگی از رشد، عصاره اتانولی بابونه بر روی رده سلولی سرطان دهانه رحم در غلظت ۲۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر به میزان ۳۰ درصد بود و مقدار نیمه حداکثر غلظت بازدارندگی برای این رده سلولی ۱۴۲۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر محاسبه شد (شکل ۶).



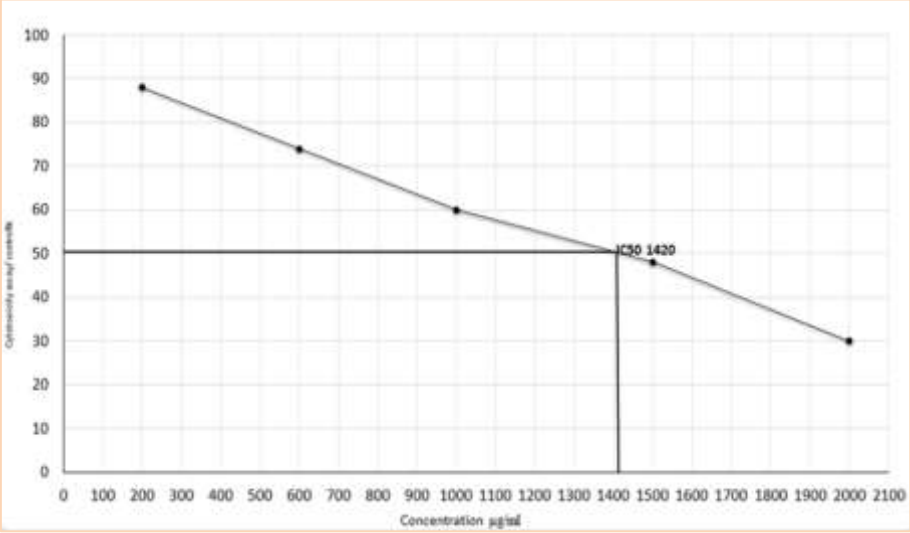
شکل ٤ – مقایسه سلول‌های دهانه رحم در گروه کنترل با سلول‌های تیمار شده در رقت‌های متفاوت عصاره بابونه.



شکل ٥ – مقایسه سلول‌های پستان در گروه کنترل با سلول‌های تیمار شده در رقت‌های متفاوت عصاره بابونه.

جدول ۱- اثر غلظت‌های مختلف عصاره بابونه بر روی میزان جذب نوری سلول سرطان دهانه رحم با روش متیل تیازول تترازولیوم.

نیمه حداکثر غلظت بازدارندگی (میکروگرم بر میلی‌لیتر)	مرگ‌ومیر (در صد)	بقا (در صد)	میانگین جذب نوری سه تکرار در ۵۷۰ (نانومتر)	غلظت عصاره بابونه (میکروگرم بر میلی‌لیتر)
	۰	۱۰۰	۰/۷۷۵	کنترل
	۱۲	۸۸	۰/۶۸۶	۲۰۰
	۲۶	۷۴	۰/۵۷۶	۶۰۰
۱۴۲۰	۴۰	۶۰	۰/۴۶۹	۱۰۰۰
	۵۲	۴۸	۰/۳۷۹	۱۵۰۰
	۷۰	۳۰	۰/۲۳۸	۲۰۰۰



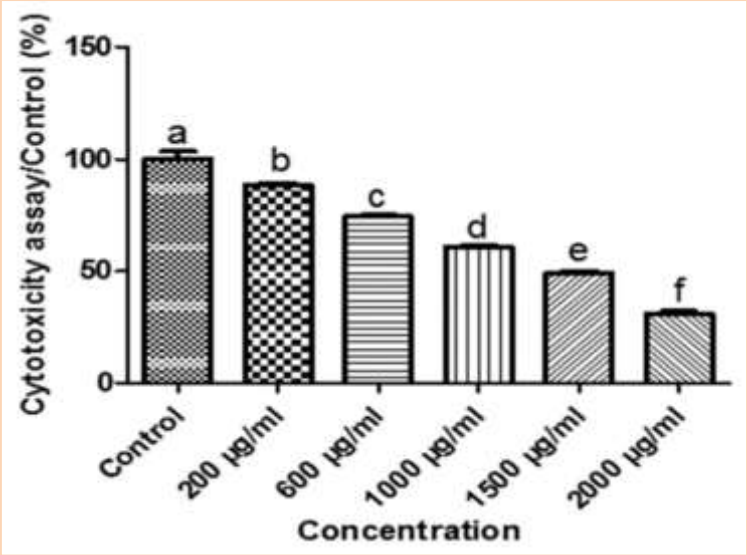
شکل ٦ - نمودار درصد بقا رده سلولی سرطان دهانه رحم پس از تأثیر ٤٨ ساعت عصاره اتانولی بابونه.

همان‌طور که در شکل ۷ مشاهده می‌شود، درصد زنده‌مانی سلول‌های دودمانی سرطان دهانه رحم بعد از ۴۸ ساعت با کاربرد تمامی مقادیر عصاره گیاهی بابونه سمیت سلولی را نشان داد و کاهش تکثیر رده سلولی در سطح معنی‌دار پنج در صد نسبت به گروه کنترل اختلاف معنی‌دار داشت.

رده سلولی سرطان پستان

رده سلولی سرطان پستان با پنج غلظت ۲۰۰، ۶۰۰، ۱۰۰۰، ۱۵۰۰ و ۲۰۰۰ میکروگرم میلی‌لیتر از عصاره اتانولی بابونه تیمار و سمیت سلولی غلظت‌های مختلف با آزمون متیل تیازول تترازولیوم بررسی شد. جدول ۲ میانگین درصد نتایج به‌دست‌آمده در مهار رشد سلول برای سه بار تکرار مستقل را نشان می‌دهد. همان‌طور که در جدول ۲ نشان داده‌شده با افزایش غلظت عصاره اتانولی بابونه تأثیر محسوسی در کاهش رشد سلول‌های سرطانی و مرگ آن‌ها مشاهده می‌شود به‌طوری‌که در صد میزان بقاء سلول‌ها در غلظت‌های ۲۰۰، ۱۰۰۰، ۶۰۰، ۱۵۰۰ و ۲۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر به ترتیب برابر ۸۸، ۷۵، ۷۰، ۵۹ و ۴۲ در صد کاهش است. بالاترین درصد ممانعت کنندگی از رشد عصاره اتانولی بابونه بر روی رده سلولی سرطان پستان در

غلظت ۲۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر ۴۲ در صد بود و مقدار نیمه حداکثر غلظت بازدارندگی برای این رده سلولی، ۱۷۶۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر محاسبه شد (شکل ۸).



شکل ۷- اثر غلظت‌های متفاوت عصاره اتانولی بابونه بر روی رده سلولی سرطان دهانه رحم نتایج به‌صورت درصد بقاء در مقایسه با نمونه کنترل و سطح معنی‌داری پنج درصد در نظر گرفته شده است.

جدول ۲ - اثر غلظت‌های مختلف عصاره بابونه بر میزان جذب نوری سلول سرطان پستان با روش متیل تیازول تترازولیوم.

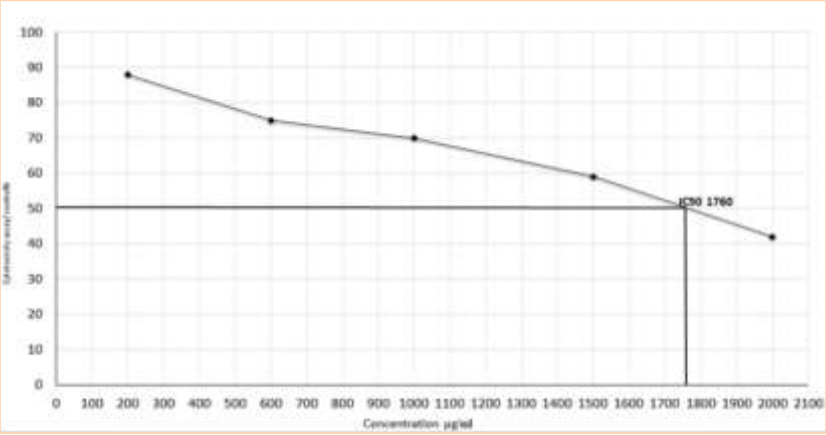
نیمه حداکثر غلظت بازدارندگی (میکروگرم بر میلی‌لیتر)	مرگ‌ومیر (در صد)	بقا (در صد)	میانگین جذب نوری سه تکرار در ۵۷۰ (نانومتر)	غلظت عصاره بابونه (میکروگرم بر میلی‌لیتر)
	۰	۱۰۰	۰/۷۷۵	کنترل
	۱۲	۸۸	۰/۶۸۶	۲۰۰
	۲۵	۷۵	۰/۵۸۸	۶۰۰
	۳۰	۷۰	۰/۵۴۷	۱۰۰۰
۱۷۶۰	۴۱	۵۹	۰/۴۶۰	۱۵۰۰
	۵۸	۴۲	۰/۳۳۳	۲۰۰۰

همان‌طور که در شکل ۹ مشاهده می‌شود درصد زنده‌مانی سلول‌های دودمانی سرطان پستان بعد از ۴۸ ساعت در تمامی مقادیر استفاده‌شده عصاره گیاهی بابونه سمیت سلولی نشان داده و کاهش تکثیر رده سلولی در سطح آماری پنج در صد نسبت به گروه کنترل اختلاف معنی‌دار نشان داد.

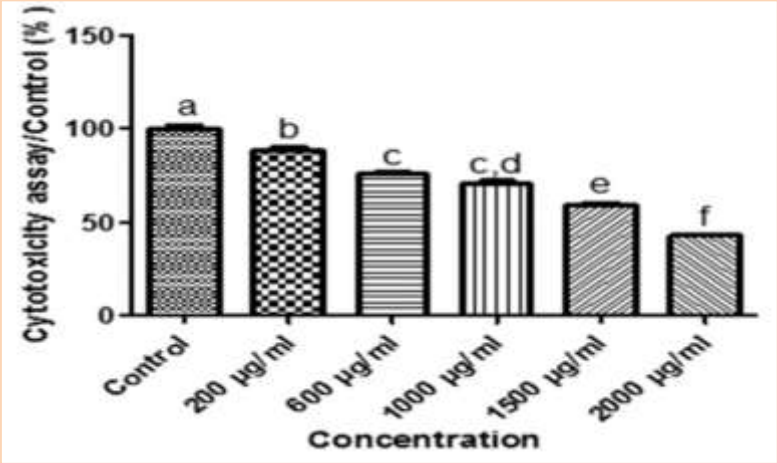
بحث

گیاهان دارویی با قدمت طولانی، غنی‌ترین منبع زیستی داروهای طب سنتی پزشکی، داروهای مدرن، مواد مغذی، مکمل‌های غذایی، داروهای مورداستفاده توسط اقشار مختلف، واسطه‌های دارویی و منبع زیست - شیمیایی برای ساخت داروهای مصنوعی هستند تلاش برای جداسازی

بخش های فعال بافت‌های گیاهی از اجزای بی اثر با استفاده از حلال‌های انتخابی در حال انجام است تا اثربخشی داروهـای ضـد سرطان گیاهی بیشتر گردد (۱ و ۲۴).



شکل ۸- نمودار درصد بقا رده سلولی سرطان پستان پس از تأثیر ٤٨ ساعته عصاره اتانولی بابونه.



شکل ۹ - اثر غلظت‌های متفاوت عصاره اتانولی بابونه بر روی سمیت رده سلولی سرطان پستان نتایج به‌صورت درصد بقاء در مقایسه با نمونه کنترل و سطح معنی‌داری پنج درصد در نظر گرفته شده است.

داروهـای گیاهی سرطان از طریق مهار تکثیر سلولی، القا آپوپتـوز و تنظیم مسیرهای سیگنالینگ سلولی و همچنین تعدیل مکانیسم استرس اکسیداتیو اثرات خود را بروز می‌دهند با توجه به این‌که هدف اصلی از درمان سرطان توسـط مـواد طبیعـی و شـیمیایی کنـد کـردن یـا مهـار فراینـد سرطان‌زایی است، لذا استفاده از گیاهان دارویی با داشتن عوارض کمتر که بتوانند از روند تکثیر سلول‌های سرطانی جلوگیری کنند گام بزرگی در روند درمانی به شمار می‌رود (۳۸ و ۳۹). خواص دارویی گیاه بابونه بـه اثبات رسیده و نظر به اهمیت موضوع اسـتفاده از گیاهـان دارویـی جهـت درمـان سـرطان و بـه دلیـل شناخت و بررسی اثرات ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی این گیـاه، نقـش آن در کنترل رشد و یا مرگ سلول‌های سرطانی دو نوع از شایع‌ترین و کشنده‌ترین سرطان‌ها در زنان هدف تحقیق حاضـر بـود. مطالعات گسترده‌ای بر روی رده‌های سـلولی انتخاب‌شده در محیط آزمایشگاهی و در خـارج از بـدن

موجود زنده انجام شده است. اثر سمیت عصاره گیاه مورد(*Myrtus communis* L) بر روی دو رده سلول‌های سرطانی سرطان پستان و سرطان دهانه رحم بررسی و نتیجه گرفته شد بعد از ۷۲ ساعت تیمار با رقت‌های مختلف عصاره اتانولی موردنظر بر روی رده سلولی سرطان دهانه رحم بالاترین درصد مهار رشد در غلظت ۰/۶۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به میزان ۸۲/۳۳ درصد و بر روی سلول‌های سرطان پستان بالاترین درصد مهار رشد در غلظت ۱/۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و به میزان ۷۰/۶۴ درصد بود (۴۰). نتایج بررسی‌ها بر روی اثر سمیت سلولی عصاره گل‌سفید(*Antirrhinum majus* L) نشان داد، تیمار عصاره اتانولی گیاه گل‌سفید بر روی رده سلولی دهانه رحم و سرطان پستان بعد از ۷۲ ساعت رشد سلول‌ها را به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل کاهش داده و مقدار نیمه حداکثر غلظت بازدارندگی برای این رده‌های سلولی به ترتیب ۱/۹۲۲ و ۰/۴۸۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر محاسبه شد (۴۱). نتایج مطالعات اثر سمیت عصاره گیاه خلال‌دندان(*Ammi visnaga* L) بر روی رده سلول‌های سرطانی دهانه رحم و سرطان پستان نشان داد این عصاره در غلظت‌های مختلف دارای اثر سمیت سلولی بر این سلول‌ها بوده و درصد مهار رشد سلول‌های سرطانی با افزایش غلظت عصاره افزایش‌یافته است. مقدار نیمه حداکثر غلظت بازدارندگی عصاره برای سلول سرطان دهانه رحم، ۰/۵۷ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و برای سلول سرطان پستان، دو میلی‌گرم بر میلی‌لیتر اندازه‌گیری شد. نتایج نشان دهنده تاثیر مهاری عصاره اتانولی گیاه خلال دندان بر روی رشد سلولی رده‌های سلولی سرطانی دهانه رحم و سرطان پستان است (۴۲). نتایج اثر سیتوتوکسیک عصاره اتانولی برگ گیاه پسته وحشی(*Pistacia Khinjuk* L) بر روی دو رده سلول سرطانی دهانه رحم و پستان نشان داد که عصاره اتانولی برگ گیاه پسته وحشی در غلظت‌های مختلف، رشد سلول‌های سرطان دهانه رحم و سرطان پستان را به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل بعد از ۷۲ ساعت، کاهش داده و بالاترین درصد مهار رشد برای هر دو رده سلولی غلظت ۰/۱۵۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به میزان ۸۱/۳۳ و ۷۶/۷۶ درصد بود. مقدار نیمه حداکثر غلظت بازدارندگی به میزان ۲/۴۱ و ۲/۴۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به ترتیب برای سلول‌های سرطان دهانه رحم و سرطان پستان محاسبه شد. نتایج این بررسی‌ها نشان داد عصاره اتانولی برگ گیاه پسته وحشی دارای اثر مهاری بر روی این دو رده سلولی است و با افزایش غلظت عصاره اثر مهار رشد سلول‌های سرطانی کاهش پیدا کرد (۴۳). مطالعه تاثیر سمیت سلولی عصاره اتانولی جوانه برگ و گل گیاه سیاه ولیک(*Crataegus Oxycantha* L) بر روی رده‌های سلولی سرطان دهانه رحم و سرطان پستان نشان داد بعد از ۴۸ ساعت انکوبه کردن عصاره اتانولی گیاه سیاه ولیک در غلظت‌های ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر تکثیر سلول‌های سرطانی پستان را به‌طور معنی‌داری نسبت به سلول‌های کنترل کاهش داده و بیشترین اثر ممانعت کنندگی در غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر ۸۶/۱۴ درصد به دست آمد اما آثار سمیت سلولی عصاره اتانولی بر رده سلولی سرطان دهانه رحم بسیار پایین و با غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره بیشترین اثر ممانعت کنندگی ۲۳/۱۴ درصد گزارش شد (۴۴).

همان‌طور که در بررسی منابع مشاهده شد پژوهش‌های انجام شده اثربخشی کاربرد عصاره‌های مختلف اتانولی گیاهان مختلف را بر روی دو رده سلولی سرطان پستان و سرطان دهانه رحم نشان داده است و بر این اساس تمامی عصاره‌های گیاهی مورداستفاده توانایی ممانعت‌کنندگی رشد رده‌های سلولی سرطان پستان و سرطان دهانه رحم را با غلظت‌های متفاوت و در بازه زمانی مختلف نشان داده است.

نتایج این پژوهش تأثیر عصاره اتانولی بابونه بر بقاء سلول‌های رده سرطانی دهانه رحم و پستان را به روشی وابسته به دوز کاهش داد و در صد مهار رشد در هردو رده سلولی با افزایش غلظت عصاره افزایش پیدا کرد. نتایج همچنین نشان داد که سرطان پستان نسبت به رده سلولی سرطان دهانه رحم در تیمار با عصاره بابونه مقاوم‌تر است.

مطالعات انجام شده بر روی اثرات درمانی بابونه در طب سنتی و مدرن نشان داده که طیف وسیعی از اثرات مختلف شامل رفع اختلال در خواب، ترمیم زخم‌ها به‌خصوص زخم‌های سوختگی، فعالیت ضد باکتریایی، درمان افسردگی و اضطراب، فعالیت آنژیوژنز، اثرات ضد دیابت، رفع اختلال شب‌ادراری، رفع مشکلات گوارشی، اثر ضداسپاستیک، اثر بر نوروپاتی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، فعالیت ضدالتهابی و اثر ضد سرطانی در عصاره بابونه وجود دارد. تحقیقات انجام شده بر روی اثر ضد سرطانی گیاه بابونه نشان داده که عصاره‌های متانولی و آبی بابونه کمترین اثر ضد پرولیفراتیو را روی سلول‌های طبیعی نشان داده است و این درحالی است که به‌طور قابل‌توجهی بر توانایی بیولوژیکی سلول‌های مختلف سرطانی تأثیرگذار بوده است. . یافته‌های فوق دلالت بر اثرات مهارکنندگی رشد سلول‌های سرطانی گیاه بابونه داشت (۴۵). نتایج تحقیق در خصوص تاثیر اکسید بیزابولول ترکیبی از بابونه همراه با فلوروراسیل بر روی اثر ضدتکثیری بر رده سلولی لوسمی میلوئید مزمن K562 سرطان خون نیز گزارش شده است (۴۶).

نتیجه‌گیری

مطالعه حاضر جز اولین پژوهش‌هایی است که به خاصیت ضد سرطانی گیاه بابونه بر روی رده‌های سلولی دهانه رحم و پستان پرداخته است. در این تحقیق به منظور باقی ماندن مواد قطبی در عصاره و خارج کردن مواد غیر قطبی و ناخالصی های دیگر ابتدا از حلال‌های غیر قطبی هگزان و اتیل استات استفاده شد تا با خروج مواد غیر قطبی ترکیبات قطبی که خاصیت ضد سرطانی بیشتری دارند در عصاره گیاه بابونه باقی بماند. عصاره اتانولی گیاه بابونه اثر مهارکنندگی محسوسی بر روی رده‌های سلولی سرطان پستان و سرطان دهانه رحم داشت به‌طوری‌که می‌توان آن را به دلیل وجود موادی مانند هنتریاکونتان، ان-هگزادکانوئیک اسید و اکتادکادینوئیک اسید نسبت داد. این پژوهش یکی از مطالعات مقدماتی انجام‌گرفته در زمینه خواص ضد سرطانی عصاره گیاهی بابونه است و نیازمند جداسازی و خالص‌سازی اجزاء مؤثر عصاره و همچنین بررسی ساختار آن‌ها و فعالیت ضد سرطانی این اجزاء در گیاه بابونه است.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله نویسندگان از دانشگاه زنجان برای به ثمر رسیدن این پژوهش تشکر و قدردانی می نمایند.

تعارض منافع

نویسندگان این مقاله تعارضی در منافع ندارند.

فهرست منابع

1. Agarwal N, Majee C, Chakraborthy GS. Natural herbs as anticancer drugs. Int J PharmTech Res. 2012 Jul;4(3):1142-53.

2. Hausman DM. What is cancer?. Perspectives in biology and medicine. 2019;62(4):778-84.

3. Comşa Ş, Cimpean AM, Raica M. The story of MCF-7 breast cancer cell line: 40 years of experience in research. Anticancer research. 2015 Jun 1;35(6):3147-54.

4. Vaisy A, Lotfinejad S, 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 Sciences. 2013 Sep 10;13(3):327-36.

5. Rezakhani, L., Mirzapour, P., Alizadeh, A., Khazaei, M R., Alizadeh, M., Khazaei, M. 2018. An Overview on Plants and Natural Products with Anticancer Effects. Pathobiology Research. 21(3): 163-171.

6. Zhou H, Zou P, Chen ZC, You Y. A novel vicious cycle cascade in tumor chemotherapy. Medical hypotheses. 2007 Jan 1;69(6):1230-3.

7. Mazlan MS, Ichwan SJ, Rosli N. Effects of chondroitin sulfate (CS) on (HeLa) cervical cancer and breast cancer (MCF-7) cell lines. Journal of International Dental and Medical Research. 2019;12(1):38-41.

8. .El Sayed KA. Natural products as antiviral agents. Studies in natural products chemistry. 2000 Jan 1;24:473-572.

9. Ali EM. Phytochemical composition, antifungal, antiaflatoxigenic, antioxidant, and anticancer activities of Glycyrrhiza glabra L. and Matricaria chamomilla L. essential oils. J Med Plants Res. 2013;7(29):2197-207.

10. Kawashty SA, Mosharrafa SA, El-Gibali M, Saleh NA. The flavonoids of four Pistacia species in Egypt. Biochemical Systematics and Ecology. 2000;28(9):915-7.

11. Rabiei Z, Rafieian M. A review on the pharmacological effects of Matricaria chamomilla. Iranian Journal of Physiology and Pharmacology. 2018 Dec 10;2(4):248-0.

12. Alibabaei Z, Rabiei Z, Rahnama S, Mokhtari S, Rafieian-kopaei M. Matricaria Chamomilla extract demonstrates antioxidant properties against elevated rat brain oxidative status induced by amnestic dose of scopolamine. Biomedicine & Aging Pathology. 2014 Oct 1;4(4):355-60.

13. Danaei N, Panahi Kokhdan E, Manzouri L, Nikseresht M. TheEffect of bevacizumab and hydroalcohlic Extract of Matricaria chamomilla on cell viability and nitric oxide production of the colorectal cancer cell line (HT-29). Armaghane Danesh. 2016 Mar 10;20(12):1107-18.

14. Al-Dabbagh B, Elhaty IA, Elhaw M, Murali C, Al Mansoori A, Awad B, Amin A. Antioxidant and anticancer activities of chamomile (Matricaria recutita L.). BMC research notes. 2019 Dec;12(1):1-8.

15. Thalluri GS, Srinu P. Role of Chamomile in Cancer Treat-ment. J Pathol Clin Med Res. 2018;1(001).

16. Jahan M, Koocheki A. Organic production of German Chamomile (Matricaria chamomilla L.) intercropped with Pot Marigold (Calendula officinalis L.). In6th IFAOM-Asia Scientific Conference 2004 (p. 484).

17. McKay DL, Blumberg JB. A review of the bioactivity and potential health benefits of chamomile tea (Matricaria recutita L.). Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives. 2006 Jul;20(7):519-30.

18. Srivastava JK, Pandey M, Gupta S. Chamomile, a novel and selective COX-2 inhibitor with anti-inflammatory activity. Life sciences. 2009 Nov 4;85(19-20):663-9.

19. Jagtap AG, Shirke SS, Phadke AS. Effect of polyherbal formulation on experimental models of inflammatory bowel diseases. Journal of

ethnopharmacology. 2004 Feb 1;90(2-3):195-204.

20. Pandey V, Agrawal V. Bioprospecting of Spilanthes species–Micropropagation and bioassay guided isolation of larvicidal compounds against malaria and filarial vectors [Ph. D. thesis]. Delhi: Department of Botany, University of Delhi. 2009.

21. Guo J, Wu H, Weng X, Yan J, Bi K. Studies on extraction and isolation of active constituents from Psoralen corylifolia L. and the antitumor effect of the constituents in vitro. Journal of Chinese Medicinal Materials. 2003 Mar 1;26(3):185-7.

22. Valizadeh E, Zonouz NF, Zand A, Shahbazi S, Malekian A. Evaluation of antioxidant potentials of extracts of cotton thistle ('Onopordum leptolepis' DC.) obtained by various solvents. Australian Journal of Crop Science. 2011 Jan 1;5(10):1163-6.

23. Davarynejad G, Taghizadeh SF, Asili J. Effect of different solvents on total phenolic contents and antioxidant activity of Zizyphus jujube Miller fruits. Journal of Horticultural Science. 2017 May 22;31(1):158-66.

24. Tiwari P, Kumar B, Kaur M, Kaur G, Kaur H. Phytochemical screening and extraction: a review. Internationale pharmaceutica sciencia. 2011 Mar;1(1):98-106.

25. Da Violante G, Zerrouk N, Richard I, Provot G, Chaumeil JC, Arnaud P. Evaluation of the cytotoxicity effect of dimethyl sulfoxide (DMSO) on Caco2/TC7 colon tumor cell cultures. Biological and pharmaceutical bulletin. 2002;25(12):1600-3.

26. Rawls WF, Cox L, Rovner ES. Dimethyl sulfoxide (DMSO) as intravesical therapy for interstitial cystitis/bladder pain syndrome: a review. Neurourology and Urodynamics. 2017 Sep;36(7):1677-84.

27. Kanimozhi D. In-Vitro Anticancer Activity of Ethanolic Extract of Cynodon dactylon Against HEP-2, HELA and MCF-7 Cell Lines. International Journal of Scientific Research and Reviews. 2012;1(1):10-23.

28. Hanachi P, Hosseinpour M, Zarringhalami R. Anticancer Effect of Fumaria vaillanti extracts on BT-474 and MDA-MB_123 breast cancer cells. Journal of food science and technology (Iran). 2020 May 10;17(100):57-66.

29. Freidberg R. An investigation into the antimicrobial and anticancer activities of Geranium incanum, Artemisia afra and Artemisia absinthium (Doctoral dissertation).

30. Carmichael J, DeGraff WG, Gazdar AF, Minna JD, Mitchell JB. Evaluation of a tetrazolium-based semiautomated colorimetric assay: assessment of chemosensitivity testing. Cancer research. 1987 Feb 15;47(4):936-42.

31. Iselt M, Holtei W, Hilgard P. The tetrazolium dye assay for rapid in vitro assessment of cytotoxicity. Arzneimittel-forschung. 1989 Jul 1;39(7):747-9.

32. Kupcsik L. Estimation of cell number based on metabolic activity: the MTT reduction assay. Mammalian cell viability: methods and protocols. 2011:13-9.

33. Ravi L, Krishnan K. Research article cytotoxic potential of N-hexadecanoic acid extracted from Kigelia pinnata leaves. Asian J. Cell Biol. 2017;12:20-7.

34. Khajuria V, Gupta S, Sharma N, Kumar A, Lone NA, Khullar M, Dutt P, Sharma PR, Bhagat A, Ahmed Z. Anti-

inflammatory potential of hentriacontane in LPS stimulated RAW 264.7 cells and mice model. Biomedicine & Pharmacotherapy. 2017 Aug 1;92:175-86.

35. Kumar PP, Kumaravel S, Lalitha C. Screening of antioxidant activity, total phenolics and GC-MS study of Vitex negundo. African Journal of Biochemistry Research. 2010 Jul 31;4(7):191-5.

36. Wei LS, Wee W, Siong JY, Syamsumir DF. Characterization of anticancer, antimicrobial, antioxidant properties and chemical compositions of Peperomia pellucida leaf extract. Acta Medica Iranica. 2011:670-4.

37. Zamanian M, Noormohammadi Z, Akbarzadeh T, Bineshian F, Sharifi Z. Comparison of MTT and Trypan Blue

41. Nemati, F., Islami Jadidi, B., Talebi Darabi, M.. Cytotoxicity Effects of Bishops Flower (Ammi majus) extract on the Cancer Cell Lines Hela and MCF-7. Journal of Animal Biology. 2013 Apr 21;5(3).

42. Pakfetrat, H., Nemati, F., Shiravi, A.H. Cytotoxicity Effects of Ammi visnaga extract on Hela and MCF7 Cancer Cell Line. Journal of Animal Biology. 2015. 7(2): 25-33.

43. Seyedalipour B, Pourakbar E, Taravati A. The cytotoxic effect of ethanolic extract of pistacia khinjuk leaf onhela and mcf-7 cancerous cell lines. Journal of Rafsanjan University of Medical Sciences. 2016 Feb 10;14(11):939-52.

methods in determining the survival of Vero cell line in HSV-1 infection. Scientific Journal of Iran Blood Transfus Organ. 2021 Mar 10;18(1):18-26.

38. El Sayed KA. Natural products as antiviral agents. Studies in natural products chemistry. 2000 Jan 1;24:473-572.

39. Dolati S. A Review of the Therapeutic Effects of Chamomile (Matricaria Chamomile) in Traditional and Modern Medicine. Researches in Sport Sciences and Medical Plants. 2021 Feb 19;1(2):1-2.

40. Habibzadeh Khamene, S., Nemati, F., Shiravi, A.H. Cytotoxic Effects of Myrtus communis Extract on Hela and MCF7 Cancer Cells. Journal of Animal Biology. 2014 Jan 21;6(2):21-8.

44. Alipour M, Nemati F. The Cytotoxic Effects of Ethanolic Extract of Leaf and Flower Buds of Crataegus melanocarpa on Human Breast (MCF-7) and Cervical (HeLa) Cancer Cell Line. Journal of Sabzevar University of Medical Sciences. 2019 Mar 21;26(1):145-52.

45. Srivastava JK, Gupta S. Antiproliferative and apoptotic effects of chamomile extract in various human cancer cells. Journal of agricultural and food chemistry. 2007 Nov 14;55(23):9470-8.

46. Ogata-Ikeda I, Seo H, Kawanai T, Hashimoto E, Oyama Y. Cytotoxic action of bisabololoxide A of German chamomile on human leukemia K562 cells in combination with 5-fluorouracil. Phytomedicine. 2011 Mar 15;18(5):362-5.

Journal of Plasma & Biomarkers
Volume 16, Issue 4, Number 64, Pages 11-28
Qjaphd.sinaweb.net ISSN: 9880-1735

Evaluation of the cytotoxic effect of chamomile ethanol extract on Hela and MCF-7 cancer cell lines

Morteza Maleky[1], **Forouzan Ghasemian Rodsari**[2]

1- M.Sc. Student, Department of Biology, Faculty of Science, University of Zanjan, Zanjan, Iran.
2-Assistant of Professor, Department of Biology, Faculty of Science, University of Zanjan, Zanjan, Iran.Corresponding Author: f-ghasemian@znu.ac.ir

Received: 2023.06. 11 **Accepted: 2023.08.09**

Abstract

Background & Aims: Cancer remains a leading cause of mortality worldwide and breast (MCF-7) and cervical (Hela) cancers rank among the most prevalent malignancies in women. The search for natural compounds with extended shelf life and reduced side effects has prompted plants for cancer investigations into the potential use of medicinal pretreatment. This study aimed to evaluate the impact of chamomile ethanol extract on the viability of MCF-7 and Hela cancer cell lines using the methyl thiazole tetrazolium test.

Materials & Methods: The cell lines were exposed to chamomile ethanol extract for 48 hours, to varying concentrations of chamomile the results were analyzed based on the inhibitory concentration (IC50) for cell growth.

Results: The IC50 value was calculated as 1420 µg/ml for the Hela cell line and 1760 µg/ml for MCF-7 cancer cells. Chamomile ethanolic extract decreased cell survival in a dose-dependent manner in both cell lines and the growth inhibition percentage of both cell lines increased with increasing extract concentration. Notably, the findings revealed that MCF-7 cancer cells are more resistant to treatment with chamomile extract than cervical cell lines.

Conclusion: Moreover, the chamomile extract demonstrated a more candidate anticancer effect on Hela cancer than on the MCF-7 cancer cell line.

Keywords: Methylthia zole tetrazolium test, Cancer cells, Chamomile ethanolic extract.