



بررسی اثر سمیت سلولی عصاره گیاه *Ammi visnaga* بر رده‌های سلول‌های سرطانی MCF7 و Hela

هدیه پاک‌فطرت^۱، فرخنده نعمتی^{۲*}، عبدالحسین شیروی^۱

۱- گروه زیست‌شناسی، واحد دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی، دامغان، ایران

۲- مرکز تحقیقات سلولی - مولکولی، گروه زیست‌شناسی، واحد قائم‌شهر، دانشگاه آزاد اسلامی، قائم‌شهر، ایران

*نویسنده مسئول مکاتبات: farkhondehnemati@gmail.com

تاریخ پذیرش: ۹۱/۱۱/۲۹

تاریخ دریافت: ۹۱/۱۰/۲۵

چکیده

کشف مواد جدید نظیر مواد ضد میکروبی، ضد ویروسی و ضد سرطانی در میان گیاهان شناخته شده و یا آنهایی که به تازگی کشف شده‌اند، می‌تواند کمک شایانی به درمان بیماری‌ها نماید. بدین منظور در این مطالعه اثر سمیت سلولی عصاره گیاه *Ammi visnaga* بر روی رده سلول‌های سرطانی Hela و MCF7 مورد بررسی قرار گرفت. غلظت‌های مختلف عصاره اتانولی گیاه *A. visnaga* بر روی سلول‌های سرطانی و خونی کشت داده شده به مدت ۷۲ ساعت اثر داده شد و میزان سمیت سلولی توسط آزمون MTT بررسی گردید. نتایج به صورت IC50 گزارش شده‌اند. مطالعه حاضر نشان می‌دهد عصاره گیاه *A. visnaga* در غلظت‌های مختلف دارای اثر سمیت سلولی بر روی رده سلول‌های سرطانی Hela و MCF7 بوده است. درصد مهار رشد سلول‌های سرطانی Hela و MCF7 با افزایش غلظت عصاره افزایش یافته است. میزان IC50 عصاره *A. visnaga* برای Hela، ۰/۵۷ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و برای MCF7 ۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر اندازه‌گیری شده است. نتایج پیشنهاد می‌کند عصاره اتانولی *A. visnaga* دارای اثر مهاری بر روی رشد سلولی رده‌های سلولی Hela و MCF7 می‌باشد.

کلمات کلیدی: سلول‌های سرطانی، عصاره *Ammi visnaga*، اثر مهاری، سمیت سلولی

مقدمه

فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی هستند که در جلوگیری یا درمان بسیاری از بیماری‌ها از جمله سرطان استفاده می‌شود [۲]. *Ammi visnaga* گیاهی از خانواده Umbelliferae می‌باشد که در کتب طب سنتی آن را نوعی هویج به نام (جزر شیطانی) می‌خوانند. این گیاه منبع غنی از متابولیت‌های ثانویه از جمله فورانوکرومون‌ها (شامل خلین، ویسناژین و گلوکوزیدهای آنها) فورانوکومارین‌ها (گزان‌توتوکسین، آمیدین، ایمپراتورین و برگ‌آپتین)، فلاونوئیدها (شامل کوئرستین و ایزورامنتین) و ترپن‌ها (terpinen_4_ol، terpineol و اکسیدهای لینالول) است [۳]. از آنجایی که مواد موثره در گیاه *A. visnaga* توجه بسیاری به خود

سرطان شامل گروهی از بیماری‌هاست که ناشی از، از دست دادن کنترل چرخه سلولی است که باعث رشد کنترل نشده غیرطبیعی سلول‌ها می‌شود [۲]. در حال حاضر سرطان یکی از علل عمده مرگ و میر در جهان است که در اثر عوامل مختلفی از جمله مواد جهش‌زا و مواد شیمیایی سرطان‌زا در محیط به وجود می‌آید [۷، ۱۱]. محصولات طبیعی خصوصاً گیاهان برای هزاران سال برای درمان بیماری‌های مختلف به کار رفته‌اند [۱۰]. گیاهان دارویی حاوی فیتوکمیکال‌های مختلف از جمله ویتامین‌ها، کارتنوئیدها، ترپنوئیدها، فلاونوئیدها، پلی‌فنول‌ها، آلکالوئیدها، تانن‌ها، ساپونین‌ها، آنزیم‌ها، مواد معدنی و غیره هستند. این فیتوکمیکال‌ها دارای



جلب کرده است و تاکنون نیز هیچ گزارشی در مورد اثرات احتمالی ضدسرطانی گیاه *A. visnaga* انجام نشده است بر آن شدید تا در مطالعه حاضر، فعالیت سمیت سلولی عصاره اتانولی *A. visnaga* را بر روی رده‌های سلولی *Hela* و *MCF7* مورد بررسی قرار دهیم.

مواد و روش کار

جمع‌آوری گیاه: گیاه *Ammi visnaga* در اواخر بهمن ماه ۱۳۹۰ از منطقه دزفول در استان خوزستان جمع‌آوری و سپس مورد شناسایی واقع گردید. بخش‌های مختلف گیاه در سایه در مجاورت هوا خشک، سپس پودر گردیده و برای تهیه عصاره مورد استفاده قرار گرفت.

استخراج عصاره اتانولی: جهت عصاره‌گیری ابتدا گیاه مورد نظر را به صورت پودر درآورده و به همراه حلال (اتانول ۸۰٪) در یک ظرف در بسته برای یک دوره حداقل سه روزه همراه با تحریک مکرر به منظور حل شدن ماده حل‌شونده در دمای اتاق نگهداری کردیم. حلال اتانول با استفاده از روتاری و با روش تقطیر در خلاء خارج گردید. این عصاره به عنوان عصاره خالص در نظر گرفته شد و غلظت‌های مختلف از آن تهیه شد.

جداسازی سلول‌های خونی: جهت جداسازی سلول‌های خونی ۲ سی‌سی فایکول را به یک لوله فالكون ۱۵ سی‌سی منتقل می‌کنیم. سپس ۳ سی‌سی از خون محیطی گرفته شده را قطره قطره و به آرامی به فایکول درون لوله فالكون اضافه می‌کنیم. با دور ۱۵۰۰ به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ می‌کنیم. لایه ابری شکل متشکل از سلول‌های تک هسته ای را از بین ۲ لایه سلول‌های خونی در پایین و پلاسما در بالا جدا و به یک لوله فالكون جدید منتقل می‌کنیم. با محیط کشت RPMI با دور ۱۵۰۰ و به مدت ۷ دقیقه شستشو می‌دهیم. بعد از شسته شدن سلول‌ها، آنها به تعداد ۱۰۰۰۰ سلول در هر چاهک پلیت ۹۶ خانه کشت داده و با غلظت ۱۰ میلی-گرم بر میلی‌لیتر از عصاره به مدت ۷۲ ساعت تیمار شده‌اند.

آزمون سمیت سلولی: رده‌های سلولی: سلول‌های *Hela* و *MCF7* از بانک سلولی انستیتو پاستور ایران خریداری شده و در محیط RPMI ۱۶۴۰ حاوی ۱۰ درصد سرم جنین گاو *FBS*، پنی‌سیلین و استرپتومایسین در انکوباتور ۳۷ درجه و اتمسفر حاوی ۵ درصد CO_2 و ۹۵ درصد رطوبت در فلاسک‌های استریل کشت داده شدند.

آزمون سمیت سلولی: برای اندازه‌گیری اثرات سمیت سلولی عصاره اتانولی گیاه *A. visnaga* از آزمون *MTT* استفاده شد. در این روش نمک متیل تiazولیل تترازولیوم بروماید و یا به اختصار *MTT* که زرد رنگ است، توسط آنزیم‌های دهیدورژناز میتوکندری سلول‌های فعال، به ترکیب غیرمحلول و ارغوانی فورمازان تبدیل می‌شود، جذب نوری این ترکیب پس از حل شدن در *DMSO*، با کمک دستگاه الایزا و در طول موج ۴۹۲ نانومتر قابل اندازه‌گیری شده-است.

بررسی سمیت سلولی عصاره اتانولی *Ammi visnaga*

با استفاده از آزمون *MTT*: بعد از چندین بار پاساژ پی در پی، سلول‌ها شمارش شده و به تعداد ۱۰۰۰۰ سلول در هر چاهک پلیت ۹۶ خانه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد همراه با ۵٪ CO_2 و ۹۵٪ رطوبت به مدت ۲۴ ساعت کشت داده شدند. عصاره گیاهی مورد نظر توسط ترازوی حساس دیجیتالی توزین گردید. آنگاه در ۱۰۰ میکرولیتر *DMSO* به صورت محلول در آورده شد. سپس در محیط کشت سلولی رقت‌های مختلف شامل ۰/۱۵۶، ۰/۳۱۲، ۰/۶۲۵، ۱/۲۵، ۲/۵، ۵، ۷/۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تهیه شد. سپس سلول‌ها با غلظت‌های مختلف از عصاره به مدت ۷۲ ساعت تیمار شدند. سپس به هر چاهک ۲۰ میکرولیتر محلول (۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) *MTT* اضافه گشت. پلیت‌ها به مدت ۴ ساعت در انکوباتور انکوبه شدند. بعد از گذشت ۴ ساعت محیط رویی آن‌ها دور ریخته شده به هر چاهک ۱۰۰ میکرولیتر از حلال *DMSO* اضافه شد تا



بر میلی‌لیتر بر سلول‌های MCF7 دارای اختلاف معنی‌داری ($P < 0.05^*$, $P < 0.02^{**}$) با گروه کنترل می‌باشند (جدول ۱). بالاترین درصد مهار رشد (۹۶/۵۶) در غلظت ۲/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در رده سلول‌های سرطانی *Hela* (نمودار ۱) و (۹۰/۱۶) در غلظت ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در رده سلول‌های سرطانی MCF7 بوده است (نمودار ۲). میزان IC_{50} بدست‌آمده ۰/۵۷ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در *Hela* و ۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در MCF7 است (جدول ۱) که نشانگر آن است که این غلظت از عصاره گیاه *A. visnaga* توانایی اثر سمیت سلولی بر روی ۵۰٪ از رده سلول‌های سرطانی *Hela* و MCF7 را داراست. عصاره *A. visnaga* در غلظت‌های ۰/۳۱۲، ۰/۶۲۵، ۱/۲۵، ۵، ۷/۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بر سلول‌های سرطانی *Hela* توانسته است باعث مهار رشد سلول‌ها به ترتیب به میزان ۱۲/۲۶٪، ۶۱/۴٪، ۹۳/۵۳٪، ۸۸/۰۶٪، ۸۲/۷٪ و ۷۳/۵٪ و هم‌چنین در غلظت‌های ۰/۶۲۵، ۱/۲۵، ۲/۵، ۷/۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بر سلول‌های MCF7 باعث مهار رشد سلول‌ها به میزان ۱۴/۲۷٪، ۶۸/۲۷٪، ۷۵/۵۱٪، ۸۷/۳٪ و ۸۲/۵۷٪ گردد (جدول ۱). مقایسه اثر عصاره *A. visnaga* بر روی رده سلول‌های سرطانی *Hela* و MCF7 (نمودار ۳) نشان می‌دهد که درصد مهار رشد سلول‌های *Hela* بیشتر از سلول‌های MCF7 بوده و عصاره اثر بهتری بر سلول‌های *Hela* در مقایسه با سلول‌های MCF7 داشته است. بررسی اثر عصاره گیاه (۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) *A. visnaga* بر روی سلول‌های سالم (سلول خونی) نشان می‌دهد که غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره اثر سمیت به میزان ۱۶/۱۳٪ در مقایسه با رده سلول‌های سرطانی *Hela* (۷۳/۵٪) و MCF7 (۸۲/۵۴٪) داشته است (جدول ۲). از آنجایی که از DMSO به عنوان حلال استفاده شده است از آن به عنوان کنترل منفی بر روی سلول‌های *Hela* و MCF7 اثر داده

فورمازون حاصل حل گردد. سپس پلیت‌ها به مدت ۱۰ دقیقه بر روی دستگاه تکان دهنده قرار داده شده‌است. جذب نوری فورمازون در ۴۹۲ نانومتر با دستگاه خوانش‌گر پلیت خوانده شد. درصد حیات سلولی با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید:

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

در فرمول فوق OD بلانک، چگالی نوری چاهک‌های بدون سلول و تنها حاوی DMSO است و OD شاهد چگالی چاهک‌های حاوی سلول است که فاقد ترکیبات مورد آزمایش می‌باشد. غلظتی از ترکیب مورد بررسی که درصد حیات سلولی را به نصف کاهش می‌دهد به عنوان IC_{50} در نظر گرفته می‌شود.

نتایج

اثر سمیت سلولی غلظت‌های مختلف عصاره متانولی *Ammi visnaga* بر روی رده سلول‌های سرطانی MCF7 و *Hela*: برای بررسی نقش سمیت سلولی عصاره فوق، غلظت‌های مختلفی از عصاره تهیه شده، اثرات سمیت سلولی هر ترکیب با کمک روش MTT بر روی رده سلول‌های سرطانی *Hela* مورد بررسی قرار گرفت. این نتایج به صورت جدول (جدول ۱) و به صورت نمودار (نمودار ۱ و ۲) نشان داده شده است. لازم به ذکر است که اثر هر غلظت از عصاره بر روی رده سلولی *Hela* و MCF7 در ۳ آزمایش مستقل از یکدیگر مورد بررسی قرار گرفت.

اثر عصاره گیاه *A. visnaga* بر سلول‌های سرطانی *Hela* و MCF7: نتایج نشان می‌دهد بعد از ۷۲ ساعت تیمار با غلظت‌های مختلف این گیاه، غلظت‌های ۰/۶۲۵، ۱/۲۵، ۲/۵، ۵ و ۷/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بر سلول‌های *Hela* و همچنین در غلظت‌های ۰/۶۲۵، ۱/۲۵، ۲/۵ و ۷/۵ میلی‌گرم



شده است. پس از بررسی مشخص شده است که DMSO اثر معنی‌دار بر روی رده‌های سلولی ذکر شده نداشته است.

جدول ۱- اثر غلظت‌های عصاره *A.visnaga* بر روی رده سلول‌های سرطانی *Hela* و *MCF7*

غلظت عصاره <i>A.visnaga</i> (mg/ml)	Absorbance		%inhibition		IC50 (mg/ml)	
	<i>Hela</i>	<i>MCF7</i>	<i>Hela</i>	<i>MCF7</i>	<i>Hela</i>	<i>MCF7</i>
۰/۱۵۶	۱/۳۵ ± ۰/۵۶۳	۰/۹۴ ± ۰/۰۱	-۱/۳۳	-۲۶/۹۸		
۰/۳۱۲	۱/۱۸ ± ۰/۶۵۳	۰/۸۱۹ ± ۰/۰۲۴	۱۲/۲۶	-۱۰/۰۲		
۰/۶۲۵	۰/۸۳ ± ۰/۳۳۹*	۰/۶۴۲ ± ۰/۰۰۹	۶۱/۴	۱۴/۲۷	۰/۵۷	
۱/۲۵	۰/۱۴ ± ۰/۱۵۹*	۰/۲۶۶ ± ۰/۰۲۴	۹۳/۵۳	۶۸/۲۷		
۲/۵	۰/۱۱ ± ۱۱۳**	۰/۲۱ ± ۰/۳۱*	۹۶/۵۶	۷۵/۵۱		۲
۵	۰/۲۱۴ ± ۰/۱۱۵*	۰/۰۹۶ ± ۰/۰۰۴**	۸۸/۰۶	۹۰/۱۶		
۷/۵	۰/۲۸ ± ۰/۳۸*	۰/۱۲ ± ۰/۰۲**	۸۲/۷	۸۷/۳۰		
۱۰	۰/۸ ± ۰/۴۹۶	۰/۱۵۳ ± ۰/۰۱۴**	۷۳/۵	۸۲/۵۴		
Control	۱/۲۵ ± ۱/۳۴۷	۰/۷۵۶ ± ۰/۰۶۹				

عصاره بر روی رشد رده‌های سلولی *Hela* و *MCF7* بدست آمده و بیانگر غلظتی از عصاره است که موجب جلوگیری از رشد سلول‌ها به میزان ۵۰٪ می‌گردد. غلظت‌های ۰/۶۲۵، ۱/۲۵، ۲/۵، ۵ و ۷/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بر سلول‌های *Hela* و همچنین در غلظت‌های ۲/۵، ۵، ۷/۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بر سلول‌های *MCF7* دارای اختلاف معنی‌داری ($P < 0.05^*$, $P < 0.02^{**}$) با گروه کنترل می‌باشند.

اثر غلظت‌های مختلف عصاره گیاه *Ammi visnaga* (ستون اول از چپ) بر روی میزان جذب نوری سلول‌های سرطانی *Hela* و *MCF7* (ستون دوم از چپ) بر اساس روش MTT در مقایسه با گروه کنترل. هر عدد بیانگر میانگین رشد به دست آمده بعلاوه منهای خطای معیار مربوط به سه آزمایش مستقل می‌باشد. میزان درصد مهار رشد (ستون سوم از چپ). میزان IC50 (ستون چهارم از چپ) با کمک روش MTT و بر اساس اثرات مهار

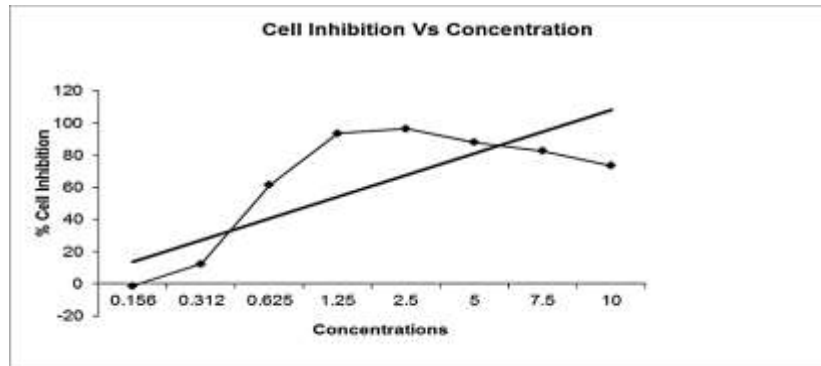
جدول ۲- اثر عصاره *A.visnaga* بر روی سلول‌های خونی (لنفوسیت‌ها و مونوسیت‌ها)

غلظت عصاره <i>A.visnaga</i> (mg/ml)	Absorbance Lymphocyte & monocyte	Cytotoxicity (%)
۱۰ mg/ml	۰/۲۳ ± ۰/۵۷۷	۱۶/۱۳
Control	۱/۰۰۳ ± ۰/۲۰۸	

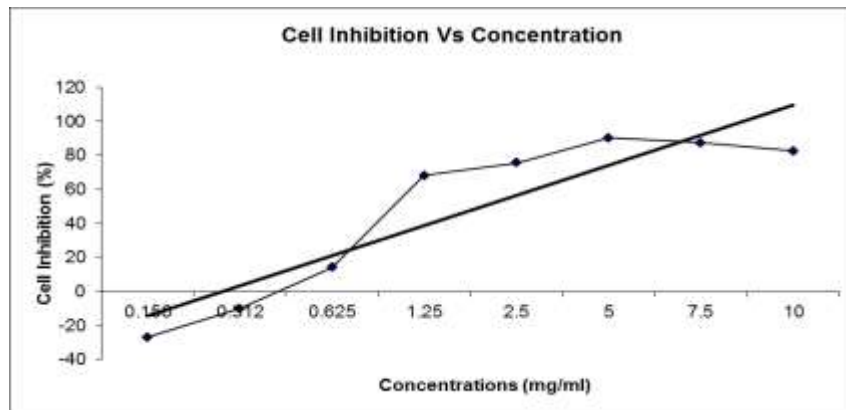


مستقل می‌باشد. میزان درصد سمیت عصاره بر سلول‌های خونی (ستون سوم از چپ). اثر عصاره بر روی سلول‌های خونی نشان می‌دهد که عصاره اثر سمیت معنی‌داری بر روی سلول‌های خونی در مقایسه با گروه کنترل نداشته است.

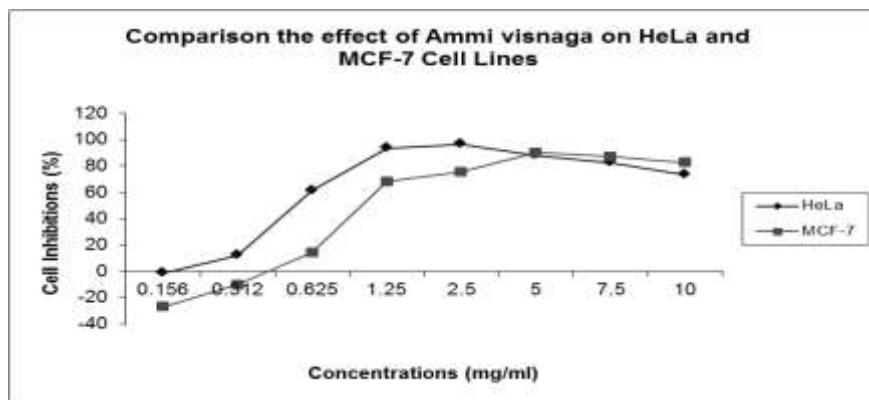
اثر غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره گیاه *A. visnaga* (ستون اول از چپ) بر روی میزان جذب نوری سلول‌های خونی (ستون دوم از چپ) بر اساس روش MTT در مقایسه با گروه کنترل. هر عدد بیانگر میانگین رشد به دست آمده بعلاوه منهای خطای معیار مربوط به سه آزمایش



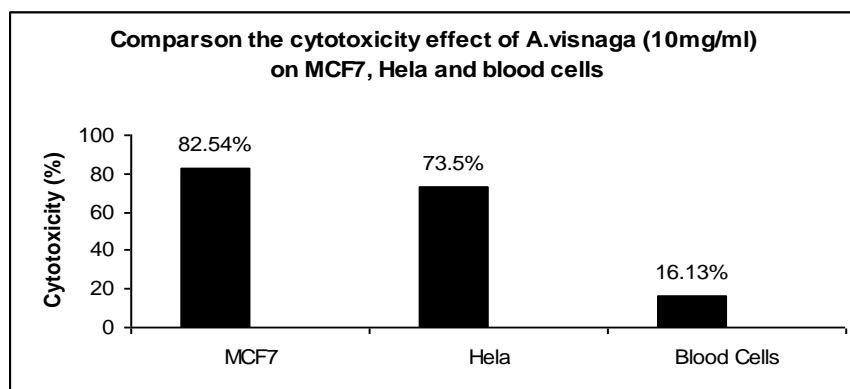
نمودار ۱- سمیت سلولی عصاره گیاه *A. visnaga* بر روی سلول‌های سرطانی *Helo* به وسیله آزمون MTT با افزایش غلظت عصاره میزان مهار رشد افزایش می‌یابد.



نمودار ۲- سمیت سلولی عصاره گیاه *A. visnaga* بر روی سلول‌های سرطانی *MCF7* به وسیله آزمون MTT با افزایش غلظت عصاره میزان مهار رشد افزایش می‌یابد.



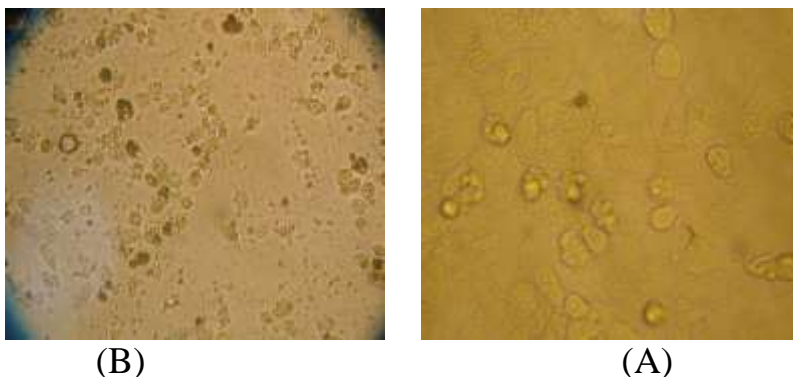
نمودار ۳- بررسی مقایسه‌ای اثر عصاره *A. visnaga* بر رده‌های سلول‌های سرطانی HeLa و MCF7. نتایج حاکی از آن است که عصاره اثر بهتری در مهار رشد سلول‌های سرطانی HeLa در مقابل سلول‌های سرطانی MCF7 داشته است.



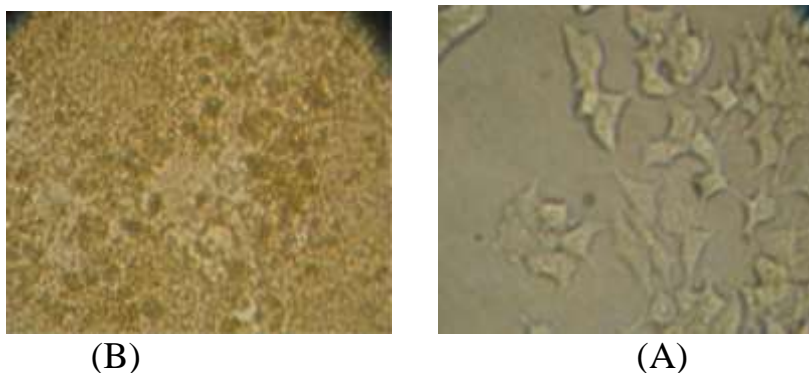
نمودار ۴- مقایسه اثر سمیت سلولی عصاره *A. visnaga* (10mg/ml) بر روی سلول‌های خونی و رده سلول‌های سرطانی HeLa و MCF7 نشان می‌دهد عصاره اثر سمیت کمتری بر سلول‌های خونی در مقایسه با رده سلول‌های سرطانی HeLa و MCF7 داشته است.

مهار شده است نشان می‌دهد. کاهش تعداد سلول و ظاهر حباب‌مانند غشا سلول‌ها نشان‌دهنده وقوع آپوپتوز در این سلول‌ها می‌باشد.

شکل زیر سلول‌های HeLa و MCF7 را بعد از ۷۲ ساعت تیمار با عصاره *A. visnaga* (شکل A) در مقابل گروه کنترل (بدون تیمار با عصاره *A. visnaga*) (شکل B)



شکل ۱ - A: سلول‌های HeLa در گروه کنترل (بدون تیمار با عصاره *A. visnaga*)، شکل B: سلول‌های HeLa بعد از ۷۲ ساعت



شکل ۲ - A: سلول‌های MCF7 در گروه کنترل (بدون تیمار با عصاره *A. visnaga*) (شکل B: سلول‌های MCF7 بعد از ۷۲ ساعت تیمار با عصاره *A. visnaga* (5mg/ml))

بحث

بوده است. همچنین عصاره گیاه *A. visnaga* در غلظت-های مختلف دارای اثر سمیت سلولی بر روی رده سلول-های سرطانی MCF7 بوده است. این عصاره در غلظت‌های ۲/۵ ($p \leq 0.05^*$) و ۵، ۷/۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر ($p \leq 0.02^{**}$) اختلاف معنی‌داری با گروه کنترل داشته است. (نمودار ۳) درصد مهار رشد با افزایش غلظت رابطه مستقیم داشته و با افزایش آن افزایش می‌یابد. میزان IC_{50} بدست آمده ۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بوده است. بررسی اثر عصاره گیاه (۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) *A. visnaga* بر روی سلول‌های سالم (سلول خونی) نشان می‌دهد عصاره اثر معنی‌داری بر روی سلول‌های خونی در مقایسه با گروه کنترل نداشته است (جدول ۲). مقایسه اثر سمیت سلولی عصاره (۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) *A. visnaga* بر روی سلول‌های

در این مطالعه اثرات سمیت سلولی عصاره گیاه *Ammi visnaga*، در غلظت‌های ۰/۱۵۶، ۰/۳۱۲، ۰/۶۲۵، ۱/۲۵، ۲/۵، ۵، ۷/۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بر روی رده سلول‌های سرطانی HeLa و MCF7 مورد بررسی قرار گرفت. نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد عصاره گیاه *A. visnaga* دارای اثر سمیت سلولی بر روی رده سلول‌های سرطانی HeLa بوده است. این عصاره در غلظت‌های ۲/۵ ($p \leq 0.02^{**}$) و ۵، ۷/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر ($p \leq 0.05^*$) اختلاف معنی‌داری با گروه کنترل داشته است. (نمودار ۱) درصد مهار رشد سلول‌های سرطانی HeLa با افزایش غلظت عصاره رابطه مستقیم داشته است به این معنی که با افزایش غلظت درصد مهار رشد نیز افزایش می‌یابد. میزان IC_{50} بدست آمده ۰/۵۷ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر



A. visnaga ترپن‌ها و مشتقات آن را شناسایی نمود که شامل مونوترپن‌ها از جمله لینالول است [۳]. *Hongji zhan* و همکارانش لینالول را جزء دسته مونوترپن‌ها و ترپنوئیدها از مشتقات ترپن‌ها دانسته و این مواد در گیاهان اثر آنتی‌اکسیدان داشته و هم‌چنین از سرطان سینه، ریه و کبد جلوگیری می‌کند [۱۲]. *Dewick* در سال ۲۰۰۹ ترکیبات فلاونول از عصاره متانولی *A. visnaga* را با استفاده از تکنیک اسپکتروسکوپی شناسایی کرده و ۵۵ نوع فلاونول از جمله ایزورامیتین، کوئرستین، رامیتین و مونوگلیکوزیدهای آن‌ها را از این گیاه نام بردند و در نهایت نشان دادند که عصاره متانولی *A. visnaga* دارای اثر آنتی-اکسیدانی بالایی است [۱].

بنابراین وجود متابولیت‌های ثانویه‌ای از قبیل فورانو کومارین‌ها، فورانوکوروم‌ها، فلاونوئیدها و ترپن‌ها در این گیاه می‌توانند مسئول اثرات ضد سرطانی دیده شده در این تحقیق باشد.

نتیجه‌گیری

با توجه به فعالیت ضد تکثیر گیاه *A. visnaga* مشاهده شده در این تحقیق بر روی سلول‌های *Hela* و *MCF7* به نظر می‌رسد این گیاه توانایی بالقوه‌ای در مهار رشد سلول‌های سرطانی دارا است. این مطالعه به عنوان یک مطالعه مقدماتی، نشان‌دهنده فعالیت بیولوژیکی و فارماکولوژیکی گیاه *A. visnaga* است. بنابراین از جمله مواردی که نیاز است در تحقیقات بعدی جهت دستیابی به اثرات ضد سرطانی این گیاه مورد بررسی قرار گیرد، جداسازی و خلص‌سازی جزء موثره عصاره و تعیین ساختار و مکانیسم فعالیت ضد سرطانی آن می‌باشد.

خونی و رده سلول‌های سرطانی *Hela* و *MCF7* نشان می‌دهد که عصاره اثر سمیت کمتری بر روی سلول‌های خونی در مقایسه با رده سلول‌های سرطانی *Hela* و *MCF7* داشته است (نمودار ۴). از آنجایی که از *DMSO* به عنوان حلال استفاده شده است از آن به عنوان کنترل منفی بر روی سلول‌های *Hela* و *MCF7* اثر داده شده است. پس از بررسی مشخص شده است که *DMSO* اثر معنی‌دار بر روی سلول‌های سرطانی *Hela* و *MCF7* در مقابل گروه کنترل نداشته است. برای اولین بار *Durate* در سال ۱۹۷۷ ترکیبات شیمیایی گیاه *A. visnaga* را شناسایی نمود و نشان داد که عصاره این گیاه شامل فورانو کومارین‌ها مانند گزانتوتوکسین، آمیدین، ایمپراتورین و برگاپتن است [۳]. کومارین‌ها از مشتقات سنتز شده *x-pyrane*ها و از خانواده فنول‌ها است و به عنوان متابولیت‌های ثانویه در گیاهان یافت می‌شوند [۱]. *Lee Chen* در سال ۲۰۰۷ نشان داده است که کومارین جدا شده از عصاره اتانولی گیاه *Pructus cnidi* باعث مهار رشد سلول‌های توموری شده است [۶]. مطالعات فارماکولوژیک نشان داده‌اند که کومارین‌ها از جمله ایمپراتورین و برگاپتن دارای فعالیت ضد التهاب، ضد درد، ضد سرطان و ضد انعقاد است [۹]. *Lee Chen* همچنین نشان داده است که برگاپتن جدا شده از عصاره گیاه *Cnidium mannieri* L. اثر سمیت بر سلول‌های تومور پوست، همچنین اثر سمیت بر سلول‌های لوسمی انسانی و نیز فعالیت ضد التهابی دارد [۶]. ایمپراتورین نیز رده سلول‌های سرطانی *HL60* را وادار به آپوپتوز کرده است [۸]. گزانتوتوکسین و ایمپراتورین موجب مهار تقسیم سلول‌های سرطانی *Hela* گشته‌اند که اثر گزانتوتوکسین بیشتر از ایمپراتورین بر سمیت سلول‌های *Hela* بوده است [۵]. فعالیت ضد سرطانی گزانتوتوکسین در برابر خطوط سلولی *MK1* و *B16F70* گزارش شده است [۴]. *Durate* در سال ۱۹۷۷ با جداسازی عصاره گیاه



منابع

- Masanori F, Takushi D., Hidetoshi Y. (2012), Tri-Modality therapy with I-125 brachytherapy, external beam radiation therapy, and short- or long-term hormone therapy for high-risk localized prostate cancer. *BMC Cancer*, 12: 110.
- 8- Pae H., Oh H., Yun Y.G., Oh G.S., Chung H.T. (2002), Imperatorin, a furanocoumarin from *Angelica* (Umbelliferae), induces cytochrome Anti- pendent apoptosis in human promyelocytic leukaeproliferative HL-60 cells, *Pharmacology and Toxicology*, 91: 40-48.
- 9- Qian X., Ara G., Evan M., William J., Henri S., Michael J. (2008), Activity of the histone deacetylase inhibitor belinostat (PXD101) in preclinical models of prostate cancer. *International Journal of Cancer*, 122: 1400-1410.
- 10- Roland M., Mieszkowski M.S. (2004), Cancer - Biophysicist Point of View, www.digital-recordings.com
- 11- Wallin H., Camilla F., Skjelbred M., Bjorn A., Lise H., Ulla V., Elin H. (2006), Effects of polymorphisms in ERCC1, ASE-1 and RAI on the risk of colorectal carcinomas and adenomas. *BMC Cancer*, 175(6): 1471-2407-6-175.
- 12- Zhang H., Xu Y., Zhang Y. (2008), Combining Biocontrol Strains against Soybean Root Rot. *Soybean Science*, 27(2): 270-274.
- 1- Dewick P.M. (2009), Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach. 3rd Edition, John Willey and Sons, Ltd. United Kingdom, 163-165.
- 2- Dixit S., Ali H. (2010), Antioxidant Potential Some Medicinal Plants of Central India. *Journal of Cancer Therapy*, 2: 87-90.
- 3- Durate J., Vallejo I., Perez-Vizcaino F., Jimenez R., Zarzuelo A., Tamarjo J. (1997), Effects of Visnadin on rat isolated vascular smooth muscles. *Planta Medica*, 63(3): 233-236.
- 4- Fujioka T., Furumi K., Fujii H., Okabe H., Mihashi K., Nakano Y., Matsunaga H., Katano M., Mori M. (1999), Antiproliferative constituents from Umbelliferae plants: A new furanocoumarin and falcarindiol furanocoumarin ethers from the root of *Angelica japonica*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 47: 96-100.
- 5- Głowniak K. (1988), Investigation and isolation of coumarin derivatives from polish plant material. Dissertation Medical University, Lublin, Poland.
- 6- Lee C.H., Fan G., Zhang Q., Wu H., Wu Y. (2007), Fingerprint analysis of the fruits of *Cnidium monnieri* extract by high-performance liquid chromatography-diode array detection-electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Journal of Pharmacology and Biomedical Analysis*, 43: 926-936.
- 7- Namiki M., Hiroyuki K., Shin E., Shiro S., Atsunori Y., Hiroyuki T., Keiko M.,

