

بررسی خواص آنتی اکسیدانی و ضد سرطانی گیاه مامیران کبیر^۱

بر روی لاین سلول های سرطانی کلورکتال

سایه جعفری مرندی^{۱*}، شبنم آروین^۲

۱. دانشیار سلولی تکوینی گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد واحد تهران شمال

۲. دانشجوی دکترای زیست شناسی سلولی مولکولی، دانشکده علوم زیستی، واحد تهران شمال

چکیده

سابقه و هدف: گیاه مامیران کبیر از خانواده خشخاش (*Papaveracea*) است و از زمان باستان به علت کاربردهای دارویی بر اثر حضور تعداد زیادی اجزای فعال زیستی از جمله آلکالوئیدها در پزشکی استفاده شده است. شیرابه ی خشک شده این گیاه به عنوان داروی گیاهی تجارت می شود و محصولات آن در داروخانه ها برای استفاده های داخلی و خارجی استفاده می شود. این پژوهش به بررسی آنتی اکسیدان های موجود در گیاه و اثرات ضدسرطانی آن بر روی لاین سلولی سرطان کلورکتال پرداخته است.

مواد و روش ها: غلظت های مختلفی از عصاره متانولی برگ و ساقه و عصاره متانولی ریشه گیاه مامیران کبیر تهیه شد و با استفاده از محلول DPPH فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره ها سنجش گردید. همچنین از کشت سلولی استفاده شد و از روش MTT برای محاسبه درصد زنده مانی سلول های سرطانی و سمیت سلولی گیاه بهره گرفته شد.

یافته ها: در هر ۳ تکرار از سنجش اثرات ضدسرطانی گیاه مامیران کبیر با افزایش مقدار عصاره درصد زنده مانی سلول ها کمتر و درصد سمیت آن بیشتر بود. همچنین در سنجش فعالیت آنتی اکسیدانی گیاه مامیران کبیر هر چه غلظت عصاره های موجود در لوله ها بیشتر شد. به علت فعالیت آنتی اکسیدانی گیاه جذب کمتری از آن مشاهده شد و در نتیجه آن لوله فعالیت آنتی اکسیدانی بیشتری را دارا بود.

نتیجه گیری: عصاره اندام هوایی و زمینی گیاه مامیران کبیر باعث کاهش رشد و تکثیر سلول های سرطانی کلورکتال شد و هر چه غلظت این عصاره بیشتر این کاهش در رشد سلول های سرطانی چشمگیرتر و سمیت سلولی عصاره بیشتر بود.

کلمات کلیدی: مامیران کبیر، سرطان کلورکتال، فعالیت آنتی اکسیدانی، سلول های سرطانی، خاصیت ضد سرطانی

^۱ *chelidonium majus*

The investigation of the antioxidant and anticancer properties of the plant *Chelidonium majus* on colorectal cancer cell lines

Sayeh Jafari marandi^{1*}, Shabnam Arvin²

1. Associate Professor of Plant developmental cell, Faculty of Biological Sciences, Islamic Azad University, North Tehran Branch

2. Ph.D student in Cellular Molecular Biology, Faculty of Biological Sciences, Islamic Azad University, North Tehran Branch

Abstract

Introduction: *Chelidonium majus*, the greater celandine, belongs to the poppy family (Papaveraceae) and has had medical applications since ancient times due to many bioactive components, including alkaloids. The dried sap of this plant is traded as herbal medicine, and its products are found in pharmacies for internal and external use. This study investigated the antioxidants of this plant and its anticancer effects on colorectal cancer cell lines.

Methods: Different concentrations of methanolic extract from plants' leaves, stems, and roots were prepared, and the antioxidant activity of the extracts was measured using DPPH solution. Cell culture was also used, and the MTT method was used to calculate the percentage of cancer cell viability and plant cytotoxicity.

Results: In every three repetitions of measuring the anticancer effects of the plant, the higher the amount of extract, the lower the percentage of cell viability, and the higher the percentage of toxicity. Also, in measuring the antioxidant activity of the greater celandine, the higher the concentration of extracts in the tubes, the less the plant showed absorption, and, as a result, the antioxidant activity of the tube increased.

Conclusion: The extract of the aerial and terrestrial parts of the greater celandine reduced the growth and proliferation of colorectal cancer cells, and the higher the concentration of this extract, the more significant the reduction in cancer cell growth and the greater the cytotoxicity of the extract.

Keywords: *Chelidonium majus*, Colorectal cancer, Antioxidant activity, Cancer cells, Anticancer propertie

مقدمه

ذاتی در بیوسنتز یک محدوده ی وسیعی از آنتی اکسیدان ها را دارد که آسیب های ناشی از فعالیت اکسیداتیو ROS را کاهش می دهد. آنتی اکسیدان ها ROS را جمع آوری می کنند و یک تعادل بین رادیکال های طبیعی تولید شده و وضعیت آنتی اکسیدان ها برقرار می کنند. آنتی اکسیدان های طبیعی آپاپتوز را در سلول های سرطانی برمی انگیزانند و موجب از بین رفتن سلول های سرطانی می شوند. تحقیقات محققانی از جمله Pantano و همکاران (۸) و خداینده و همکاران (۶)، به بررسی اثرات آنتی اکسیدانی این گیاه و همچنین ایجاد سمیت ها می پردازد و Krizhanovska و همکاران (۷) و Granica و همکاران (۹) به بررسی فعالیت سیتوتوکسیک و اثرات آلکالوئید های موجود در گیاه مامیران کبیر بر روی سلول های سرطانی پرداخته اند.

مواد و روش ها

در روز ۱۴ تیرماه سال ۱۴۰۱ از جنگل النگدره گرگان مقدار زیادی گیاه مامیران کبیرتهیه شد و سپس این گیاهان تازه به مدت ۲ هفته در سایه و در هوای آزاد خشک شده و در نهایت بخش هوایی و زیرزمینی به طور جداگانه آسیاب شد. سپس فرایند عصاره گیری انجام شد. ۱۰۰ میلی لیتر متانول را در ارلن ریخته و سپس با HCL ۱نرمال و توسط سمپلر قطره قطره متانول را اسیدی کرده و با کاغذ تورنسل pH آن سنجیده شد تا به ۲/۵ pH رسید. ۱ گرم از پودر ریشه و برگ گیاه مامیران کبیر به صورت جداگانه در دو ارلن جداریخته شد و ۳۰ می لیتر از متانول اسیدی به هر ارلن اضافه شد. سپس دو ارلن به مدت ۱۵ دقیقه در بن ماری با دمای ۳۰ درجه سانتی گراد قرار داده شد. محلول ها در فالكون های ۵۰ میلی لیتر ریخته شد و به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۶۰۰ rpm سانتریفیوژ شد. روشناور را که کاملاً شفاف است از فالكون جدا کرده و در یک ظرف تمیز آب مقطر زده خشک شده ریخته شد. مجدداً به ته مانده های پودر گیاه ۳۰ میلی لیتر متانول اسیدی اضافه شد و به مدت ۱۵ دقیقه در بن ماری با دمای ۳۰ درجه سانتی گراد قرار داده شد و پس از آن سانتریفیوژ

سرطان دستگاه گوارش چهارمین سرطان شایع در ایران و سومین سرطان شایع در دنیا است. در کشورمان ایران سالانه ۳۸۰۰ تا ۴۰۰۰ مورد جدید از سرطان کلورکتال تشخیص داده می شود که بیانگر روند روبه رشد این بیماری در ایران است (۱). مشکلات فعلی در استفاده از شیمی درمانی و پرتودرمانی و عوارض جانبی متعدد که دلائل استفاده از آن ها برای بیمار ایجاد می شود و همچنین مقاومت سلول های سرطانی به درمان های رایج باعث شده است که محققین رو به سمت داروهای جدید با اثر بیشتر و سمیت کمتر بیاورند (۲). یک مسئله ی مهم دیگر اینکه در بعضی بیماری ها داروهای گیاهی دارای اثرات بهتری هستند و همچنین برای برخی از بیماری ها در حال حاضر فقط داروهای گیاهی وجود دارند (۳)، گیاه *Chelidonium majus* از خانواده ی خشخاش (Papaveraceae) است (۴). و در بسیاری از مناطق جهان از جمله شمال آمریکا، اروپا و آسیا رشد می کند (۵)، مامیران کبیر یک گیاه چندساله قائم است. زمانی که گیاه آسیب می بیند یک شیرابه زرد یا نارنجی از آن خارج می شود (۶) شیرابه ی تازه گیاهان برای درمان زگیل، میخچه، عفونت های قارچی، اگزما و تومورهای پوست کارایی دارند (۷). از این گیاه به طور گسترده درمان زخم، سرطان، عفونت دهان، مشکلات کبدی، برونشیت مزمن و آسم استفاده می شود. همچنین این گیاه یک توانایی

نویسنده مسئول: دانشیار سلولی تکوینی

گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد

واحد تهران شمال

آدرس الکترونیک :

jafarisayeh@gmail.com

تاریخ دریافت مقاله: ۱۴۰۳/۰۷/۰۷

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۲/۰۱

در تاریکی و دردمای اتاق گذاشته شد. بعد از پایان زمان مشخص شده هر کدام از نمونه ها به صورت جداگانه در کووت شیشه ای ریخته شد و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر جذب نوری هر کدام از لوله ها در طول موج ۵۷۰ نانومتر اندازه گرفته شد. از متانول خالص نیز به عنوان کنترل منفی استفاده شد. در نهایت با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل Philter Scientific) جذب نوری گیاه بررسی شد. رده ی سلولی نیز با کد BRCC101 از مرکز ملی ذخایر زیستی و ژنتیکی ایران تهیه شد. سلول مورد استفاده شامل سلول های سرطانی کلورکتال رده ی سلولی HT29 بود. این رده در محیط کشت (DMEM (Dulbeccos Modified Eagle Medium) همراه با سرم جنین گاوی ۱۰٪ (FBS) و در حضور پنی سیلین - استرپتومایسین با غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر دردمای ۳۷ درجه سانتی گراد و ۵٪ CO₂ داخل انکوباتور قرار داده شد. پس از تیمار با عصاره هم ریشه و هم برگ و ساقه گیاه و برای هر کدام از عصاره ها در سه تکرار در زمان های مختلف ۷۲، ۴۸، ۲۴ (ساعت) با تست MTT زنده مانی سلول های سرطانی بررسی شد.

یافته ها

نتایج حاصل از بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره ریشه و عصاره برگ و ساقه گیاه مامیران کبیردر غلظت های مختلف و با تست DPPH در سه تکرار در جدول ۱ و ۲ به شرح زیر است: DPPH به تنهایی در دستگاه اسپکتروفتومتر به عنوان نمونه ی شاهد بیشترین جذب را نشان داد، چون در ترکیب با هیچ غلظتی از عصاره گیاه قرار نداشت. هر چه غلظت عصاره در لوله های حاوی نمونه به تدریج بیشتر شد به علت فعالیت آنتی اکسیدانی گیاه، جذب کمتر و DPPH در ترکیب با عصاره ی گیاه زرد رنگ شد و به حالت احیا در آمد. در نهایت با توجه به اینکه نمونه ی شاهد ما (DPPH)، در حالت پلیدار بنفش رنگ بود پس هر چه نمونه ی ما از بنفش پررنگ به سمت زرد پررنگ رفت جذب نوری آن کمتر شد و در نتیجه فعالیت آنتی اکسیدانی آن بیشتر بود. لوله هایی باطیف بنفش رنگ نشان دهنده ی این

کرده و روشناور به ظرف تمیز انتقال داده شد و این کار تا ۳ مرتبه انجام گرفت ۹۰ میلی لیتر عصاره ی شفاف از هر دو اندام زیرزمینی و هوایی گیاه جمع آوری شد و در دستگاه evaporator (مدل DLAB) قرار گرفت و کاملاً تبخیر شد. ته مانده به صورت یک لایه ی کدر و چرب در ته ظرف باقی ماند که این همان عصاره ی گیاه بود. همچنین بر روی ۹۰ میلی لیتر از هر کدام از عصاره های متانولی به دست آمده از اندام هوایی و زیرزمینی گیاه مامیران کبیر ۱۰ میلی لیتر متانول اسیدی اضافه شد. در یک ارلن نیز به صورت جداگانه ۱۰۰ میلی لیتر متانول ساده اضافه شد و ۰/۰۴ گرم پودر DPPH به آن اضافه شد و در یخچال و در تاریکی قرار داده شد. سپس دوسری ۴ تایی لوله ی آزمایش برای هر کدام از عصاره های متانولی اندام هوایی و زیرزمینی عصاره گیاه با آب مقطر شستشو داده شد و بعد از اینکه کاملاً خشک شد شماره گذاری شد. در اولین لوله ی سری اول ۱ میلی لیتر محلول DPPH از قبل آماده شده ریخته شد و ۳ میلی لیتر متانول خالص نیز به آن اضافه شد. در سه لوله دیگر سری اول آزمایش به ترتیب ۱۰۰ میکرولیتر ۳۰۰، میکرولیتر و ۷۰۰ میکرولیتر از عصاره ی متانولی ریشه گیاه با سمپلر اضافه شد. در لوله ی اول با عصاره ۱۰۰ میکرولیتر، ۲/۹ میلی لیتر متانول خالص، در لوله ی دوم با عصاره ۳۰۰ میکرولیتر ۲/۷، میلی لیتر متانول خالص و در لوله سوم با عصاره ۷۰۰ میکرولیتر، ۲/۳ میلی لیتر متانول خالص اضافه شد و به هر کدام از سه لوله آزمایش ۱ میلی لیتر DPPH نیز اضافه شد و سپس لوله ها به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی و دردمای اتاق نگهداری شد. در سری دوم لوله های آزمایش نیز مانند سری اول عمل شد. در لوله ی اول ۳ میلی لیتر محلول DPPH ۱ میلی لیتر متانول خالص اضافه شد. در سه لوله ی دیگر به ترتیب ۲۵۰ میکرولیتر، ۵۰۰ میکرولیتر و ۱۰۰۰ میکرولیتر از عصاره ی متانولی اندام هوایی گیاه اضافه شد. در لوله اول با عصاره ۲۵۰ میکرولیتر، ۲/۷۵ میلی لیتر متانول خالص، در لوله دوم با عصاره ۵۰۰ میکرولیتر، ۲/۵ میلی لیتر متانول خالص و در لوله سوم با عصاره ۱۰۰۰ میکرولیتر، ۲ میلی لیتر متانول خالص اضافه شد و در نهایت به هر کدام از سه لوله آزمایش ۱ میلی لیتر، محلول DPPH اضافه شد و سپس به مدت ۳۰ دقیقه لوله ها

نتایج تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل با استفاده از نرم افزار Graphpad Prism و انجام تست آنالیز واریانس ANOVA و آزمون تعقیبی نشان داد که بین میزان مهار رادیکال‌های آزاد در گروه‌های تیمار شده با مقادیر متفاوت عصاره ریشه و برگ اختلاف معنی داری وجود دارد ($pvalue < 0.05$). در واقع هر چه مقدار عصاره ریشه بیشتر بود درصد مهار رادیکال‌های آزاد و همچنین اثر ضد سرطانی و فعالیت آنتی اکسیدانی نیز بیشتر بود. درباره عصاره برگ گیاه نیز این نتیجه گیری صدق می‌کند.

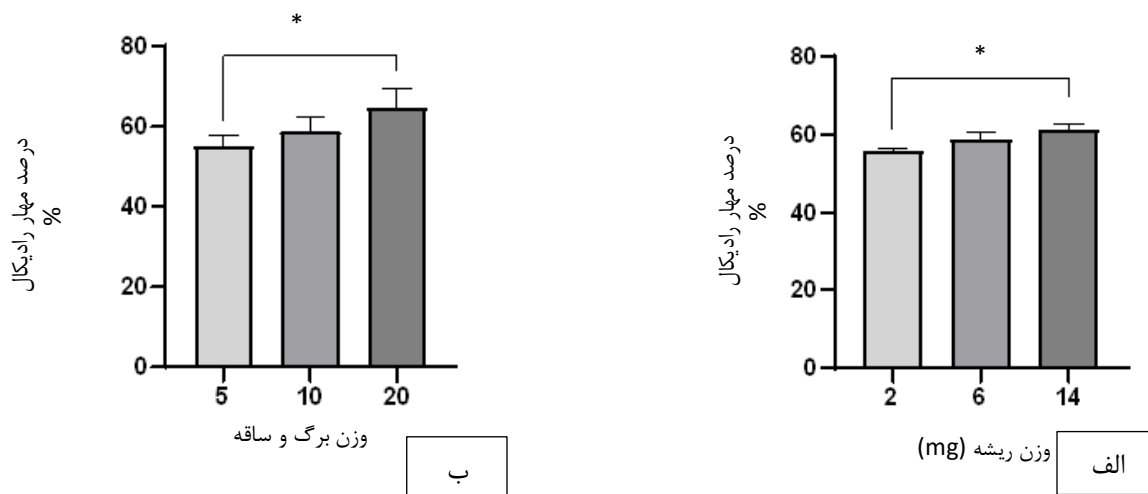
بودند که به علت کمتر بودن غلظت عصاره‌ی گیاه در آن‌ها درگیری DPPH با عصاره کمتر و در نتیجه DPPH حالت پایدار خود را حفظ کرده و احیا شدگی کمتر و جذب بیشتری از خود نشان داد. برعکس آن لوله‌هایی با طیف زرد رنگ به علت بالاتر بودن غلظت عصاره‌های گیاه و فعالیت آنتی اکسیدانی آن و درگیری بیشتر DPPH با عصاره به حالت احیا در آمد و زرد رنگ شد و در نتیجه جذب کمتری را نشان داد. همچنین با توجه به نمودارهای ۱ و ۲ با افزایش وزن ریشه و وزن برگ و ساقه در هر عصاره به صورت جداگانه فعالیت آنتی اکسیدانی بیشتر شد.

جدول ۱. سنجش فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره ریشه گیاه مامیران کبیر

جذب در تکرار سوم	جذب در تکرار دوم	جذب در تکرار اول	وزن ریشه در عصاره	حجم های استفاده شده عصاره در ۳ تکرار
۰/۱۱۹	۰/۱۲۷	۰/۱۳۰	۲ میلی گرم	۰/۱ میلی لیتر
۰/۱۰۱	۰/۱۲۲	۰/۱۲۶	۶ میلی گرم	۰/۳ میلی لیتر
۰/۰۹۵	۰/۱۱۴	۰/۱۲۰	۱۴ میلی گرم	۰/۷ میلی لیتر
۰/۲۵۹	۰/۲۸۸	۰/۳۰۰	-	۱ میلی لیتر DPPH (شاهد)

جدول ۲. سنجش فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره برگ و ساقه گیاه مامیران کبیر

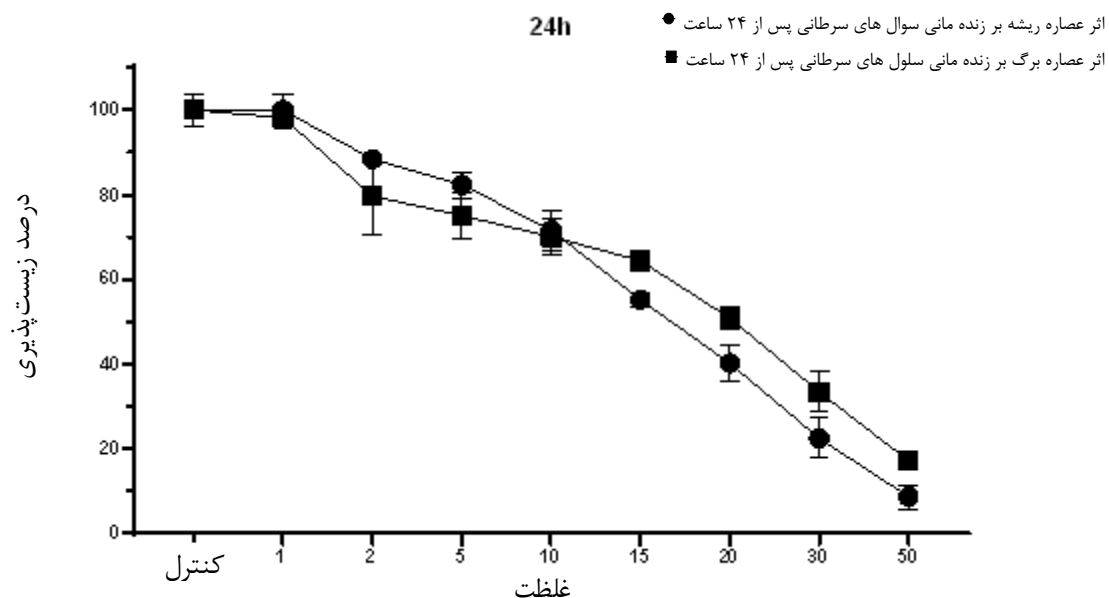
جذب در تکرار سوم	جذب در تکرار دوم	جذب در تکرار اول	وزن برگ و ساقه در عصاره	حجم های استفاده شده عصاره در ۳ تکرار
۰/۱۲۴	۰/۱۲۸	۰/۱۲۵	۵ میلی گرم	۰/۲۵ میلی لیتر
۰/۱۱۶	۰/۱۱۸	۰/۱۱۴	۱۰ میلی گرم	۰/۵ میلی لیتر
۰/۰۹۹	۰/۱۰۹	۰/۰۹۱	۲۰ میلی گرم	۱ میلی لیتر
۰/۲۵۹	۰/۲۸۸	۰/۳۰۰	-	۱ میلی لیتر DPPH (شاهد)



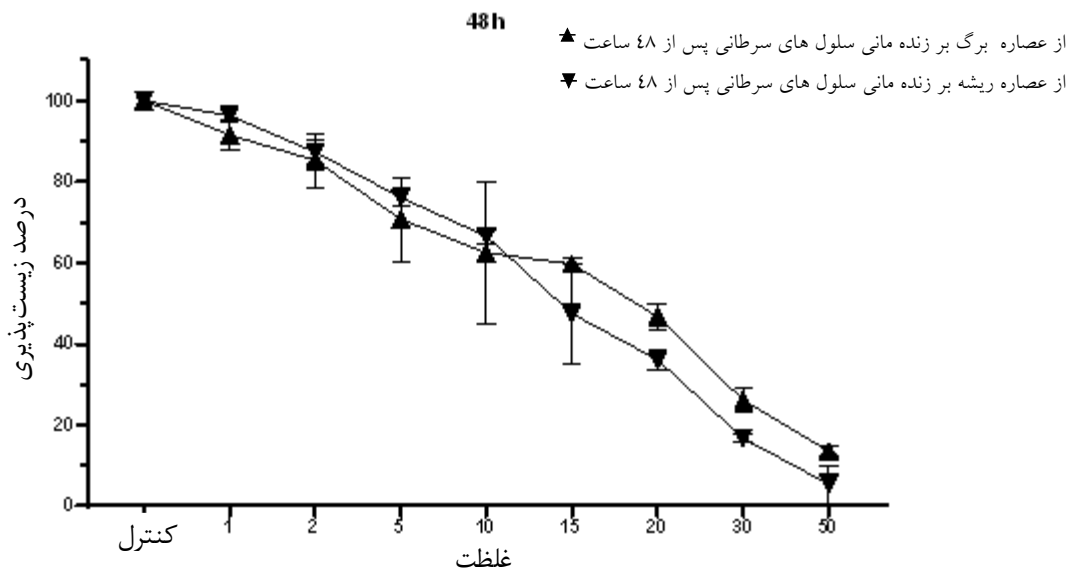
شکل الف. اثر عصاره ی ریشه ی گیاه *Chelidonium majus* بر مهار رادیکال های آزاد / **شکل ب.** اثر عصاره ی برگ گیاه *Chelidonium majus* بر مهار رادیکال های آزاد

تیمار شده با عصاره برگ نسبت به گروه کنترل دارای اختلاف معنی دار بودند و این غلظت ها منجر به کاهش معنی دار زنده مانی سلول های سرطانی کلورکتال کشت داده شده گردید. ($p \text{ value} < 0.05$) در هر سه زمان تعیین شده از عصاره برگ و ساقه بیشتر بود که این نشان دهنده فعالیت آنتی اکسیدانی بالادر ریشه گیاه نسبت به برگ و ساقه آن است اما به منظور بررسی اختلاف مشاهده شده بین دو گروه عصاره ریشه و برگ، تجزیه وتحلیل داده از طریق آزمون آنالیز واریانس ANOVA انجام شد. از آنجایی که مقدار Sig بیشتر از ۰/۰۵ محاسبه گردید، بین سمیت گروه های تیمار با عصاره برگ و ریشه گیاه *Chelidonium majus* پس از تیمار، ۷۲،۴۸،۲۴ ساعت، اختلاف معنی دار وجود نداشت و این به این معنی است که قرارگیری مدت زمان بیشتر در معرض عصاره های هم ریشه و هم برگ و ساقه گیاه نتوانسته اثرات سمیت عصاره بخش هوایی و زمینی گیاه مامیران کبیر را از هم متمایز کند و سمیت هر دو بخش با گذر زمان تفاوت قابل توجهی با هم نداشته اند.

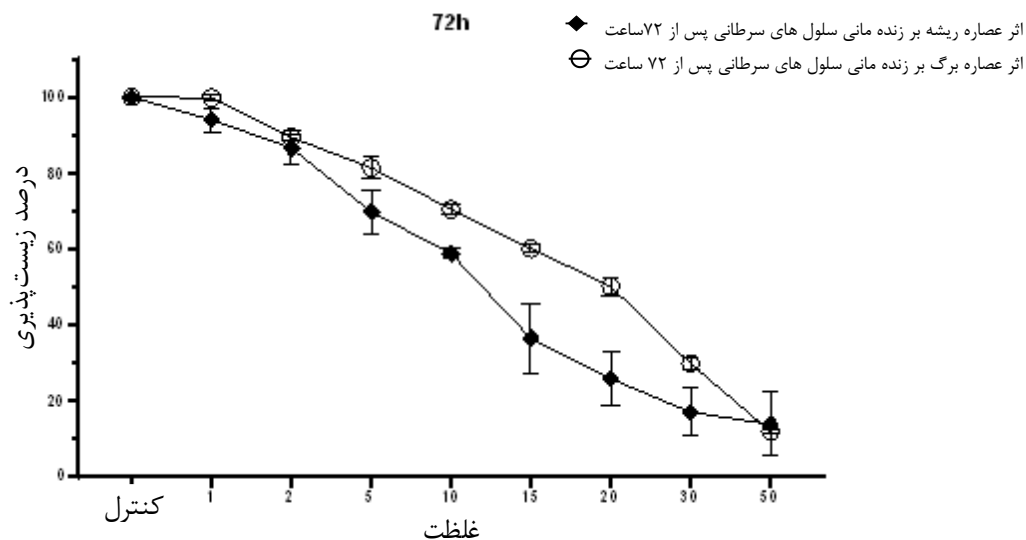
بررسی نتایج اثر عصاره گیاه مامیران کبیر در رشد سلول های سرطانی به این صورت است: با توجه به اینکه لاین سلول های سرطانی HT29 کلورکتال در کشت دوبعدی ۸ دوز ۵، ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۵۰ میلی گرم از عصاره گیاه در فواصل زمانی ۷۲،۴۸،۲۴ ساعت روی آن ها اثر داده شد و این عمل ۳ بار تکرار شد دیده شد که به صورت کلی در هر سه نمودار، عصاره ریشه و عصاره برگ و ساقه گیاه مامیران کبیر بر روی سلول های سرطانی کلورکتال در زمان های تعیین شده ۷۲،۴۸،۲۴ ساعت اثرکشنده گی داشت و هر چه غلظت دوز عصاره بیشتر شد درصد زنده مانی سلول های سرطانی کمتر و درصد سمیت عصاره بیشتر است و این نتایج در هر سه تکرار قابل مشاهده بود. درباره عصاره برگ و ساقه گیاه مامیران کبیر نیز همین نتایج حاصل آمد. همچنین این نتایج با استفاده از نرم افزار Graphpad Prism و تست آنالیز واریانس ANOVA و آزمون تعقیبی آن نیز به دست آمد. باتوجه به نتایج تست پس از آنکوباسیون ۷۲،۴۸،۲۴ ساعت، غلظت ۵ میلی گرم و بیشتر در گروه های تیمار شده با عصاره ریشه و غلظت ۲ میلی گرم و بیشتر در گروه های



شکل ۱. اثر سمیت عصاره برگ و ریشه گیاه *Chelidonium majus* بر سلول های سرطانی کلورکتال کشت داده شده پس از انکوباسیون ۲۴ ساعت



شکل ۲. اثر سمیت عصاره برگ و ریشه گیاه *Chelidonium majus* بر سلول های سرطانی کلورکتال کشت داده شده پس از انکوباسیون ۴۸ ساعت



شکل ۳. اثر سمیت عصاره برگ و ریشه گیاه *Chelidonium majus* بر سلول های سرطانی کلورکتال کشت داده شده پس از انکوباسیون ۷۲ ساعت

جدول ۳. اثر سمیت غلظت های مختلف عصاره ریشه نسبت به کنترل متانول خالص پس از انکوباسیون ۲۴ ساعته

مقدار P تعدیل شده	خلاصه	کمتر از حد آستانه؟	۹۵٪ اختلاف فاصله اطمینان (CI)	اختلاف میانگین	آزمون مقایسه های چندگانه Tukey
۰/۹۹۹۹<	ns	خیر	۱۲/۶۸ - تا ۱۲/۸۳	۰/۰۷۷۸۸	Control vs. 1
۰/۱۰۲۸	ns	خیر	۱/۱۱۲ - تا ۲۴/۴۰	۱۱/۶۴	Control vs. 2
۰/۹۹۹۹	***	بله	۴/۹۲۴ تا ۳۰/۴۳	۱۷/۶۸	Control vs. 5
۰/۰۰۰۱>	****	بله	۴۱/۱۴ تا ۱۵/۶۳	۲۸/۳۹	Control vs. 10
۰/۰۰۰۱>	****	بله	۳۲/۰۳ تا ۵۷/۵۴	۴۴/۷۸	Control vs. 15
۰/۰۰۰۱>	****	بله	۴۷/۰۲ تا ۷۲/۵۳	۵۹/۷۷	Control vs. 20
۰/۰۰۰۱>	****	بله	۶۴/۷۸ تا ۹۰/۲۹	۷۷/۵۳	Control vs. 30
۰/۰۰۰۱>	****	بله	۷۸/۵۶ تا ۱۰۴/۱	۹۱/۳۲	Control vs. 50

جدول ۴. اثر سمیت غلظت های مختلف عصاره ریشه نسبت به کنترل متانول خالص پس از انکوباسیون ۴۸ ساعته

مقدار P تعدیل شده	خلاصه	کمتر از حد آستانه؟	۹۵٪ اختلاف فاصله اطمینان (CI)	اختلاف میانگین	آزمون مقایسه های چندگانه Tukey
۰/۴۸۹۱	ns	خیر	۲۱/۱۶ تا ۴/۳۵۵	۸/۴	Control vs. 1
۰/۰۱۱۳	*	بله	۲۷/۵۱ تا ۱/۹۹۵	۱۴/۷۵	Control vs. 2
۰/۰۰۰۱<	****	بله	۴۲/۰۱ تا ۱۶/۴۹	۲۹/۲۵	Control vs. 5
۰/۰۰۰۱<	****	بله	۵۰/۳۱ تا ۲۴/۷۹	۳۷/۵۵	Control vs. 10
۰/۰۰۰۱<	****	بله	۵۲/۹۷ تا ۲۷/۴۵	۴۰/۲۱	Control vs. 15
۰/۰۰۰۱<	****	بله	۶۶/۰۴ تا ۴۰/۵۲	۵۳/۲۸	Control vs. 20
۰/۰۰۰۱<	****	بله	۸۶/۵۹ تا ۶۱/۰۷	۷۳/۸۳	Control vs. 30
۰/۰۰۰۱<	****	بله	۹۹/۱۸ تا ۷۳/۶۶	۸۶/۴۲	Control vs. 50

جدول ۵. اثر سمیت غلظت های مختلف عصاره ریشه نسبت به کنترل متانول خالص پس از انکوباسیون ۷۲ ساعته

مقدار P تعدیل شده	خلاصه	کمتر از حد آستانه؟	۹۵.۰۰٪ اختلاف فاصله اطمینان (CI)	اختلاف میانگین	آزمون مقایسه های چندگانه Tukey
۰/۸۵۹۴	ns	خیر	۱۸/۷۵ تا ۶/۷۶۵	۵/۹۹	Control vs. 1
۰/۰۳۱۵	*	بله	۲۶/۱۷ تا ۰/۶۵۴۵	۱۳/۴۱	Control vs. 2
۰/۰۰۰۱<	****	بله	۴۲/۹۶ تا ۱۷/۴۴	۳۰/۲	Control vs. 5
۰/۰۰۰۱<	****	بله	۵۴/۰۴ تا ۲۸/۵۲	۴۱/۲۸	Control vs. 10
۰/۰۰۰۱<	****	بله	۷۶/۲۳ تا ۵۰/۸۱	۶۳/۵۷	Control vs. 15
۰/۰۰۰۱<	****	بله	۸۶/۹۷ تا ۶۱/۴۵	۷۴/۲۱	Control vs. 20
۰/۰۰۰۱<	****	بله	۹۵/۸۲ تا ۷۰/۳۰	۸۳/۰۶	Control vs. 30
۰/۰۰۰۱<	****	بله	۹۹/۰۱ تا ۷۳/۴۹	۸۶/۲۵	Control vs. 50

جدول ۶. اثر سمیت غلظت های مختلف عصاره برگ نسبت به کنترل متانول خالص پس از انکوباسیون ۲۴ ساعته

مقدار P تعدیل شده	خلاصه	کمتر از حد آستانه؟	۹۵٪ اختلاف فاصله اطمینان (CI)	اختلاف میانگین	آزمون مقایسه های چندگانه Tukey
۰/۹۹۹۹<	ns	خیر	۱۴/۶۳ تا ۱۰/۸۹	۱/۸۷	Control vs. 1
۰/۰۰۰۱>	****	خیر	۳۳/۰۵ تا ۷/۵۳۵	۲۰/۲۹	Control vs. 2
۰/۰۰۰۱>	****	بله	۳۷/۷۶ تا ۱۲/۲۴	۲۵	Control vs. 5
۰/۰۰۰۱>	****	بله	۴۲/۷۱ تا ۱۷/۱۹	۲۹/۹۵	Control vs. 10
۰/۰۰۰۱>	****	بله	۴۸/۳۶ تا ۲۲/۸۴	۳۵/۶	Control vs. 15
۰/۰۰۰۱>	****	بله	۶۱/۹۱ تا ۳۶/۳۹	۴۹/۱۵	Control vs. 20
۰/۰۰۰۱>	****	بله	۷۹/۳۱ تا ۵۳/۷۹	۶۶/۵۵	Control vs. 30
۰/۰۰۰۱>	****	بله	۹۵/۵۹ تا ۷۰/۰۷	۸۲/۸۳	Control vs. 50

جدول ۷. اثر سمیت غلظت های مختلف عصاره برگ نسبت به کنترل متانول خالص پس از انکوباسیون ۴۸ ساعته

مقدار P تعدیل شده	خلاصه	کمتر از حد آستانه؟	۹۵/۰۰٪ اختلاف فاصله اطمینان (CI)	اختلاف میانگین	آزمون مقایسه های چندگانه Tukey
۰/۹۹۲۱	ns	خیر	۱۶/۴۲ تا ۹/۰۹۵	۳/۶۶	Control vs. 1
۰/۰۵۱۹	ns	خیر	۲۵/۴۶ تا ۰/۰۵۵۴۵	۱۲/۷	Control vs. 2
۰/۰۰۰۱>	****	بله	۳۶/۶۲ تا ۱۱/۱۰	۲۳/۸۶	Control vs. 5
۰/۰۰۰۱>	****	بله	۴۶/۱۸ تا ۲۰/۶۶	۳۳/۴۲	Control vs. 10
۰/۰۰۰۱>	****	بله	۶۵/۲۶ تا ۳۹/۷۴	۵۲/۵	Control vs. 15
۰/۰۰۰۱>	****	بله	۷۶/۶۶ تا ۵۱/۱۴	۶۳/۹	Control vs. 20
۰/۰۰۰۱>	****	بله	۹۶/۰۱ تا ۷۰/۴۹	۸۳/۲۵	Control vs. 30
۰/۰۰۰۱>	****	بله	۱۰۷/۳ تا ۸۱/۸۲	۹۴/۵۸	Control vs. 50

جدول ۸. اثر سمیت غلظت های مختلف عصاره برگ نسبت به کنترل متانول خالص پس از انکوباسیون ۷۲ ساعته

مقدار P تعدیل شده	خلاصه	کمتر از حد آستانه؟	% ۹۵.۰۰ اختلاف فاصله اطمینان (CI)	اختلاف میانگین	آزمون مقایسه های چندگانه Tukey
۰/۹۹۹۹<	ns	خیر	۱۲/۵۶ - تا ۱۲/۹۶	۰/۲	Control vs. 1
۰/۱۹۱۴	ns	خیر	۲۳/۳۱ - تا ۲/۲۰۵	۱۰/۵۵	Control vs. 2
۰/۰۰۰۳	***	بله	۳۱/۴۰ تا ۵/۸۸۵	۱۸/۶۴	Control vs. 5
۰/۰۰۰۱>	****	بله	۴۲/۳۵ تا ۱۶/۸۳	۲۹/۵۹	Control vs. 10
۰/۰۰۰۱>	****	بله	۵۲/۶۷ تا ۲۷/۱۵	۳۹/۹۱	Control vs. 15
۰/۰۰۰۱>	****	بله	۶۲/۶۴ تا ۳۷/۱۲	۴۹/۸۸	Control vs. 20
۰/۰۰۰۱>	****	بله	۸۲/۹۲ تا ۵۷/۴۰	۷۰/۱۶	Control vs. 30
۰/۰۰۰۱>	****	بله	۱۰۰/۹ تا ۷۵/۳۷	۸۸/۱۳	Control vs. 50

نتیجه گیری

اما این تفاوت چشمگیر نبود. همچنین از لحاظ رنگ ظاهری عصاره های حاوی ریشه گیاه نارنجی رنگ بودند و با افزایش مقدار و غلظت، شدت رنگ نارنجی این عصاره ها بیشتر شد و پررنگ تر شدند. در مورد عصاره های برگ و ساقه گیاه مامیران کبیر نیز این افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی و بیشتر شدن شدت رنگ با افزایش غلظت و مقدار عصاره دیده شد. همچنین در مطالعه دیگری که بر روی خاصیت ضدسرطانی عصاره های اندام هوایی و زیر زمینی گیاه مامیران کبیر بر روی رده های سلول های سرطانی کشت داده شده (HT29) در زمان های مختلف و با غلظت های مختلف انجام شد. نتایج حاکی از این بود که عصاره های این گیاه خاصیت ضد سرطانی دارند و بر زنده مانی سلول های سرطانی و همچنین در فعالیت

در پژوهش حاضر با هدف استفاده از گیاهان دارویی در مطالعات بالینی و اثر گذاری این گیاهان بر رده سلول های سرطانی کلورکتال انجام شد. در این مطالعه سنجش آلکالوئیدهای کل گیاه مامیران کبیر در عصاره های متانولی حاصل از اندام هوایی و زیرزمینی گیاه مامیران کبیر شامل برگ و ساقه و ریشه در غلظت های مختلف جهت بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی و اثر ضد سرطانی بر روی لاین سلولی سرطان کلورکتال (HT29) انجام پذیرفت. مطابق با نتایج حاصل شده فعالیت آنتی اکسیدانی در عصاره ریشه گیاه مامیران کبیر اندکی از فعالیت آنتی اکسیدانی در عصاره برگ و ساقه آن بیشتر بود که این میتواند دلیلی بر تجمع بیشتر آلکالوئیدها و بیشتر بودن ماده موثره در ریشه این گیاه باشد

که یکی دیگر از اعضای خانواده تیره Papaveracea است صورت گرفت که اولین مطالعه آلکالوئیدهای این گیاه بر روی رده ی سلولی سرطانی روده بزرگ انسان (SW480) بود. این مطالعه نشان داد که برخی از آلکالوئیدهای این گیاه به شدت از تکثیر سلولی در سلول های سرطانی روده بزرگ انسان جلوگیری میکنند و ممکن است به عنوان یک داروی شیمی درمانی قوی در آینده مورد استفاده قرار گیرند (۱۴). پژوهش دیگری نیز توسط Stefanowski و همکاران در سال ۲۰۲۱ با محوریت سنجش فعالیت آنتی اکسیدانی گیاه مامیران کبیر انجام شد. در این پژوهش همچنین بیان شد که آنتی اکسیدان ها موادی هستند که می توانند مانع اکسیداسیون ترکیبات دیگر شوند. آنزیم های آنتی اکسیدانی شامل سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز هستند. آنزیم های آنتی اکسیدانی در برابر حملات اکسیداتیو فعال و بزرگ به علت توانایی تجزیه ROS ها اثرات محافظتی موثری دارند. این مجموعه از آنتی اکسیدان ها نقش مهمی در جلوگیری از بیماری ها دارند. کاتالاز مهم ترین آنزیم آنتی اکسیدانی در برابر پراکسید هیدروژن است. در این مطالعه که گیاه مامیران کبیر از دو منطقه شهری و روستایی جمع آوری شده بود مشخص شد که عصاره های ساقه جمع آوری شده گیاه مامیران کبیر (*chelidonium majus*) از مناطق شهری اثر بیشتری در افزایش فعالیت کاتالاز داشتند. عصاره های ریشه گیاه مامیران کبیر (*chelidonium majus*) نیز که از نواحی روستایی جمع آوری شده بودند به طور قابل توجهی سطح کاتالاز را افزایش دادند (۶۵٪) افزایش فعالیت کاتالاز باعث افزایش سطح (TAC ظرفیت آنتی اکسیدانی تام) شد (۱۲). در سال ۲۰۱۲ Lee و همکاران مطالعه ای درباره ی اثر آپوپتوزی sanguinarine گیاه *Sanguinari Canadensis* از خانواده Papaveracea بر روی رده ی سلولی سرطانی روده بزرگ انسان (HT29) انجام دادند. نتایج حاکی از این بود که sanguinarine باعث کاهش تکثیر و آپاپتوز در سلول های سرطانی روده بزرگ شد (۱۳). در سال ۲۰۲۲ پژوهش دیگری درباره اثرات عصاره گیاه *majus*

آپاپتوزی نقش بسیار موثری دارند و با افزایش دوز این اثر بیشتر است. محققین و پژوهشگران زیادی درباره اثرات گیاه مامیران کبیر (*chelidonium majus*) و دیگر گیاهان خانواده خشخاش *Papaveracea* بر روی لاین سلول های سرطانی مختلف پژوهش و مطالعه کرده اند. مطالعه ای توسط Dejanin و همکارانش در سال ۲۰۱۶ درباره اثرات ضد سرطانی گیاه مامیران کبیر (*chelidonium majus*) بر روی پنج رده سلول های سرطانی HCT116، A549، H460، MDAMB231 و SW480 و از نظر تکثیر و زنده مانی سلول های سرطانی، چرخه سلولی و مهاجرت سلول ها انجام شد. نتایج حاکی از آن بود که هر پنج رده سلولی افزایش فعالیت سیتوتوکسیک را وابسته به زمان و غلظت نشان دادند. همچنین عصاره باعث توقف چرخه سلولی و آپاپتوز القایی شد (۹). VN و همکارانش نیز در سال ۲۰۱۱ اثرات عصاره آبی گیاه مامیران کبیر (*chelidonium majus*) را بر روی رده سلولی سرطانی MCF-7 بررسی کردند. نتایج، اثر مستقیم ذرات آلکالوئیدی عصاره را بر تکثیر سلول های سرطانی نشان داد *berberine* و *chelerythrine* بیشترین فعالیت ضد تکثیری را علیه رده سلول های سرطانی MCF-7 نشان دادند (۱۰). Park و همکاران در سال ۲۰۱۴ اثر عصاره گیاه مامیران کبیر را بر رده ی سلول های سرطانی A431 بررسی کردند. این عصاره تکثیر را در رده سلولی A431 در فاز G1 کاهش داد. همچنین تیمار با عصاره گیاه باعث افزایش درصد آپاپتوز سلول های A431 در چرخه ی سلولی شد (۴). طبق مطالعات Khiao و همکاران در سال ۲۰۱۱ عصاره گیاه مامیران کبیر (*chelidonium majus*) حاوی اجزای مختلفی است که این اجزا برای فعالیت های ضد سرطانی ضروری هستند. در بررسی فعالیت ضد نئوپلاستیک این تحقیق، نشان داده شد که آلکالوئید sanguinarine که یک عامل ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی در گیاه مامیران کبیر است در رده های سلولی سرطانی، فعالیت آپاپتوزی و ضد تکثیری را اعمال کرد (۵). در مطالعه ی دیگری در این زمینه توسط Sarita و همکارانش در سال ۲۰۱۶ بر روی *Mexicana argemone*

سیگنالینگ مهم بیولوژیکی در آپتوز سلول های سرطانی تخمدان نقش دارد و باعث بهبود سرطان می شود (۱۵).

هر دو عصاره اندام هوایی و اندام زیرزمینی افزایش یافت. عصاره های این گیاه خاصیت ضد سرطانی دارند و بر زنده ماندن سلول های سرطانی و همچنین در فعالیت آپتوزی نقش بسیار موثری دارند. مطالعات دیگری توسط دانشمندان در ارتباط با این گیاه و سایر اعضای این خانواده و بررسی اثر آن ها بر سایر لاین های سلول های سرطانی نیز انجام پذیرفته که حاکی از اثربخشی این تیره در درمان سرطان بوده است هرچند که مطالعات بیشتر در این زمینه ادامه دارد و نیازمند بررسی های بیشتر است.

Chelidonium بر روی لاین سلولی سرطان تخمدان توسط Shen و همکارانش انجام شد. گیاه مامیران کبیر (*chelidonium majus*) با تنظیم مسیرهای در پژوهش حاضر با هدف استفاده از گیاهان دارویی در مطالعات بالینی و اثر گذاری این گیاهان بر رده سلول های سرطانی کلورکتال انجام شد. مشکلات فعلی در استفاده از شیمی درمانی و پرتودرمانی و عوارض جانبی متعدد که در اثر استفاده از آن ها برای بیمار ایجاد می شود و همچنین مقاومت سلول های سرطانی به درمان های رایج باعث شده است که محققین روبه سمت داروهای جدید با اثربخشترو سمیت کمتر بیاورند. عصاره های این گیاه در تمام غلظت ها و با هر بار تکرار فعالیت آنتی اکسیدانی بالایی را از خود نشان دادند و با افزایش غلظت این عصاره ها میزان فعالیت آنتی اکسیدانی در

منابع

1. Mohtareh Noei, Rostam Rezaiyan, Jalal Mohammadikhou Sharaj, Samaneh Sarafzadeh (2018). "Epidemiological Study of Colorectal Cancer in Iran and Worldwide."
2. Maliheh Abdollahi, Fatemeh Alimirzaei, Farzaneh Danakhah (2017). "The Effect of Medicinal Plants on Cancers in Iran."
3. Mohammadreza Heydari, Reza Noorazzadeh, Mohammad Abasi (2013). "Application of Herbal Medicines in Cardiovascular Diseases."
4. Daniel I. Hădărugă, Nicoleta G. Hădărugă-Antioxidant activity of Chelidonium majus L. extracts from the Banat county(2009)
5. S. Ioana cojocar et al -Studies regarding the chromatographic separation of some Chelidonium majus L. alkaloids using different solvent system(2010)
6. Z.khodabande V.Jafarian ,R.sariri - Antioxidant activity of Chelidonium majus extract at phenological stages(2017)
7. V. krizhanovska, I. Sile ,A. Kronberga ,I. Nakurte ,L. Mezaka ,M. Dambrova ,O. Pugovics ,S.Grinberga-The cultivation of Chelidonium majus L. increased the total alkaloid content and cytotoxic activity compared whit those of wild-grown plants (2021)
8. F. Pantano¹, G. Mannocchi¹, E. Marinelli¹, S. Gentili², S. Grazian², F.P. Busardo¹, N.M. Diluca³- Hepatotoxicity induced by greater celandine (Chelidonium majus L.) a review of the literature(2017)
9. M. Deljanin , M. Nikolic , D. Baskic , D. Todorovic , P.Djurdjevic , M. Zaric , M. Stankovic , M.Todorovic , D. Avramovic ,S. Popovic - Chelidonium majus crude extract inhibits migration and induces cell cycle arrest and apoptosis in tumor cell lines(2016)

10. D. Vn ,M. Ry ,C. Vo ,A.Rebriev ,L. Ev ,L.Garmanchuk ,P. Ov-Influence of Chelidonium majus water extract on to cancer cells and platelets-(2018)
11. A.Warowicka ,T.Popenda , G.Bartkowiak ,O.Musidlak , J.Litowczenko-Cybulska ,D.Kuzma ,R.Nawrot ,S.Jurga - Protoberberine compounds extracted from Chelidonium majus L. as novel natural photosensitizers for cancer therapy(2021)
12. Nataniel Stefanowski, Halyna Tkachenko, Natalia Kurhaluk- Effects of extracts derived from roots and stems of Chelidonium majus L. on oxidative stress biomarkers in the model of equine plasma(2021)
13. J.Lee ,W. Kyo Jung ,M.Ho Jeong , T. Rim Yoon ,H. Keyun Kim- Sanguinarine induces apoptosis of HT-29 human colon cancer cells via the regulation of Bax/Bcl-2 ratio and caspase-9-dependent pathway
14. Cytotoxicity of alkaloids isolated from Argemone mexicana on SW411 human colon cancer cell line Sarita Singh, Mradul Verma , Meenakshi Malhotra, Satya Prakash, Tryambak Deo Singh(2015)
15. L.Shen ,S.Lee ,J.Cheon Joo ,E. Hong ,Z.Yang Cui ,E.Jo ,S. Jang Park ,H. Jin Jang-Chelidonium majus Induces Apoptosis of Human Ovarian Cancer Cells via ATF3-Mediated Regulation of Foxo3a by Tip60(2022)
16. Hendrik Rudolf,Anett Ullrich,Kaja Ludwig(2009), Toxicity caused by Chelidonium majus in primary human, canine, monkey, and rat hepatocytes
17. 41. Radim Haveleka, Martina Seifrtovaa, Karel Kralovecb, Klara Habartovaa, Lucie Cahlikovac and Martina Rezacovaa (2017) Chelidonine and Homochelidonine Induce Cell Death through Cell Cycle Checkpoints and MAP Kinase Pathways
18. Xinzhe Xiao, Zehui Chen, Zengrui Wu, Tianduanyi Wang, Weihua Li, Guixia Liu, Guixia Liu, Bo Zhang ,Yun Tang(2019) Insights into the antineoplastic mechanism of Chelidonium majus via systems pharmacology approach
19. Y. H. Aljuraissy, N. Kh. Mahdi and M. N. J. Al-Darraji(2012) Cytotoxic effect of Chelidonium majus on cancer cell lines
20. Z. Dragana Jakovljevic, S. Milan Stankovic, and D. Marina Topuzovic (2013) Seasonal variability of Chelidonium majus L. secondary metabolites content and antioxidant activity