IranJPP
Iranian Journal of
Physiology and Pharmacology

مجله فیزیولوژی و فارماکولوژی ایران

سال ۱۳۹۹، دوره ٤، شماره ۱ و ۲، پیاپی ۱۳، صفحه ۳۸-۲۸

مقاله پژوهشی

بررسی اثر سمیت سلولی عصاره برگ تیمارشده بادرشبی *Dracocephalum moldavica* (L.) با استفاده از القاءکننده‌های مختلف بر روی چهار رده سلول سرطانی

فاطمه مهسا کارآموزیان[۱]، غلامرضا شریفی‌سیرچی[۱*]، مونا سلیمی[۲*]، عزیز فومن اجیرلو[۳]

۱. بخش بیوتکنولوژی و ژنتیک مولکولی باغبانی، دانشـــکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران
۲. بخش فیزیولوژی و فارماکولوژی، انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران
۳. سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران

دریافت: ۱۳ مهر ۱۳۹۹ پذیرش: ۲۶ آبان ۱۳۹۹

چکیده

زمینه و هدف: از آنجا که فرآورده‌های استخراج شده از گیاهان دارویی نقش مهمی در درمان سرطان دارند، این مطالعه بـا هـدف بررسـی اثـر سـمیت عصاره‌های برگ تیمار شده بادرشبی با القاءکننده‌های مختلف بر روی چهار رده سلول سرطانی انجام شد.

روش‌ها: پس از دو سال کشت بادرشبی در کرمان، محلول‌پاشی برگی با اسید سالیسیلیک و اسید بتا آمینوبوتیریک یک ماه قبل از برداشت در غلظت ۰، ۰/۵و ۱ میلی‌مولار انجام شد. سپس اثر سمیت سلولی هر عصاره در دو غلظت ۰/۲۵ و ۰/۱۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بر روی ۴ رده سلول سرطانی در ۵ تکرار با روش MTT ارزیابی شد. $۳-۵ \times ۱۰^{۳}$ سلول در پلیت‌های ۹۶ خانه‌ای کشت شدند و درصد سمیت سلولی پس از ۷۲ ساعت محاسبه گردید.

یافته‌ها: از میان چهار رده سلول سرطانی انسانی، سلول‌های سرطان کبد و پستان بیشترین حساسیت را نسبت به عصـاره‌هـای تـام بـرگ تیمـار شـده بادرشبی بسته به تیمار انجام شده با مقادیر مختلف القاءکننده‌های اسید سالیسیلیک و اسید بتا آمینوبوتیریک در هر دو غلظـت ۰/۲۵ و ۰/۱۲۵ میلـی‌گـرم بـر میلی‌لیتر پس از گذشت ۷۲ ساعت نشان دادند. نتایج نشان داد که کمترین حساسیت در برابر عصاره‌ها در هر دو غلظت، متعلق به سلول‌های سـرطان کولـون می‌باشد. کاربرد هر دو القاءکننده اسید سالیسیلیک و اسید بتا آمینوبوتیریک در شرایط رشد گیاه باعث افزایش درصد سمیت سلولی بر روی رده Hep-G2 شد، در حالی‌که بر روی رده HT-29 اثر قابل ملاحظه‌ای نداشت.

نتیجه‌گیری: عصاره‌های تیمار شده بادرشبی در غلظت بالا، سمیت سلولی قابل‌توجهی بر روی سلول‌های سرطانی کبد و پستان از خـود نشـان دادنـد. البته، مطالعات بیشتری نیاز است تا اجزای تشکیل‌دهنده عصاره جدا و اثرات آن‌ها مشخص شوند.

واژه‌های کلیدی: القاءکننده، بادرشبی، سرطان، سمیت سلولی

مقدمه

سرطان دومین عامل مرگ و میر بعد از سکته قلبی در ۱۳۴ کشور از ۱۸۳ کشـور در جهـان اسـت و سـالانه موجـب فـوت میلیون‌ها انسان می‌شود. طبق آمارهـای رسـمی سـازمان ملـی ثبت سرطان ایران، سومین عامل مـرگ و میـر بعـد از بیمـاری قلبی و تصـادفات در ایـران سـرطان محسـوب مـی‌شـود [۱]. سرطان، علاوه بر خانواده‌ها، سیستم بهداشت و درمـان جوامـع مختلف را نیز درگیر کرده است. طی دهه گذشته، تقریباً در همه کشـورها شـاهد افـزایش مـوارد ابـتلا بـه سـرطان بـوده‌ایـم، به طوری‌که پیش‌بینی مـی‌شـود طـی ۲۰ سـال آینـده میـزان سرطان حداقل ۶۰ درصد افزایش یابـد. طبـق آمارهـا در سـال ۲۰۱۸، ۱۸۰۷۸۹۵۸ نفـر در سراسـر جهـان مبـتلا بـه بیمـاری سرطان بودند که ۹۵۵۵۰۲۷ مورد منجـر بـه فـوت بیمـار شـد.

* نویسندگان مسئول مکاتبات: sharifisirchi@yahoo.com (ORCID ID: 0000-0001-8485-1651), salimi_mona@yahoo.com (ORCID ID: 0000-0002-3997-7009)

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-05-17]

متأسفانه، پیش‌بینی شده است که این آمار تا سال ۲۰۴۰ دو برابر خواهد شد. در سال ۲۰۱۸ حدود ۲۰۸۸۸۴۹ زن مبتلا به سرطان پستان، ۲۴۴۵۰۶ زن و ۵۹۶۵۷۴ مرد مبتلا به سرطان کبد و ۸۲۳۳۰۳ زن و ۱۰۲۶۲۱۵ مرد مبتلا به سرطان کولون بودند. بیشترین آمار ابتلاء به سرطان در جهان در ارتباط با سرطان پستان در زنان ۱۱/۶ درصد، سرطان کولون حدود ۱۰/۲ درصد و سرطان کبد حدود ۴/۷ درصد گزارش شده که منجر به فوت ۶/۶ درصد از موارد ابتلا به سرطان پستان، ۹/۲ درصد سرطان کولون و ۲/۸ درصد سرطان کبد گردیده است [۲]. در ایران حدود ۷۶ درصد از انواع سرطان‌های شایع در میان زنان مربوط به سرطان پستان است، به طوری‌که این نوع سرطان ششمین عامل مرگ و میر زنان ایرانی است و هر ساله موجب ۱۲۰۰ مورد فوت می‌شود [۳]. سرطان کبد، رشد کنترل نشده سلول‌های کبدی است که به شکل توده در بخش فوقانی سمت راست شکم و با علائمی چون زردی و ضعف خود را نشان می‌دهد. از جمله موارد مهم در درمان سرطان کبد، پاسخ ناکافی به شیمی درمانی است. سرطان کولون، سومین نوع سرطان شایع در جهان است و با رشد غیر طبیعی سلول‌های روده بزرگ اتفاق می‌افتد و می‌تواند به سایر بافت‌های بدن متاستاز دهد. شیوع سرطان کولون در مردان بیش از زنان است [۲].

امروزه یکی از مشکلات در ارتباط با بیماری سرطان، درمان آن است. با توجه به پیشرفت‌های گسترده در درمان سرطان، دانشمندان هنوز به دنبال کشف مولکول‌های جدید با پتانسیل بالا و عوارض جانبی پایین هستند. شایان ذکر است که استفاده از گیاهان دارویی هنوز هم سهم مهمی در بهداشت و درمان جوامع مختلف دارد. کاربرد گیاهان دارویی به دلایل مختلف از جمله عوارض جانبی فراوان داروهای صنعتی، سوءاستفاده از داروهای صنعتی، عدم دسترسی درصد بالایی از جمعیت جهان به دارو، و همچنین، وجود باور و فرهنگ عمومی مبنی بر بی‌ضرر بودن محصولات طبیعی در کنار ارزان بودن آن‌ها در حال افزایش است. این گیاهان دارای ترکیبات ثانویه متنوعی هستند که با استفاده از فن‌آوری عصاره‌گیری از گیاه استخراج شده و مورد ارزیابی قرار می‌گیرند. ادغام بهینه تکنیک‌های علمی مدرن و سنتی برای استانداردسازی عصاره گیاهی و تبدیل مواد مؤثره آن‌ها به دارو جایگاه ویژه‌ای در صنعت داروسازی دارد. عقیده بر این است که اثرات ضد سرطانی گیاهان دارویی از طریق مهار آنزیم‌های محرک سرطان، کمک به ترمیم DNA، تحریک تولید آنزیم‌های ضدتوموری در سلول، افزایش ایمنی بدن و القای اثرات آنتی‌اکسیدانی ایجاد می‌شوند [۴]. از آن‌جا که گیاهان دارویی منبعی غنی از ترکیبات شیمیایی مانند فیتواسترول‌ها، فلاونوئیدها، کاروتنوئیدها، ترپنوئیدها، آلکالوئیدها و لیگنان‌ها هستند که آنتی‌اکسیدان قوی محسوب می‌شوند، می‌توانند رادیکال‌های آزاد را حذف کنند و موجب مرگ سلول‌های سرطانی شوند. همچنین، پیوند ایجاد شده DNA با کارسینوژن‌ها را مانع شده و مسیرهای متابولیک که موجب گسترش سرطان می‌شوند را مهار می‌کنند و می‌توانند اثر درمانی برای بیماری سرطان داشته باشند [۵]. با توجه به عوارض جانبی کمتر و اثرات درمانی بهتر گیاهان دارویی، این گیاهان به عنوان منبع مهمی برای تولید داروهای ضد سرطان مطرح می‌باشند که از این میان باید به داروی تاکسول، کامپتوتسین، وین‌کریستین و وین‌بلاستین اشاره کرد [۶]. در واقع، اگر بتوان گیاهی پیدا کرد که از طریق مکانیسم توقف چرخه سلولی موجب مرگ سلول‌های سرطانی شود، این گیاه دارویی می‌تواند به عنوان گزینه‌ای مناسب در درمان بیماری سرطان مطرح باشد [۷].

گیاه دارویی بادرشبی از جنس Dracocephalum، گونه moldavica، خانواده نعناعیان، نام علمی *D*racocephalum *moldavica* (L.) و نام انگلیسی Moldavian balm، بومی آسیای مرکزی و اهلی شده مرکز و شرق اروپاست. در ایران دو گونه بومی بادرشبی وجود دارد که یکی بومی کوهستان سورمند در استان اصفهان و دیگری بومی کوهستان‌های استان کرمان است. خانواده گیاهی نعناعیان دارای بیشترین گونه گیاه دارویی است. در طب سنتی گیاه دارویی بادرشبی به عنوان داروی بادشکن، معرق، ضد اسپاسم، ضد میکروب، مدر، قابض، تب بر، التیام‌دهنده زخم و همچنین، در مقابله با مخمرهای فاسدکننده غذا کاربرد دارد. این گیاه هم به صورت سبزی و هم به صورت عرقیات گیاهی مصرف می‌شود [۸].

نکته حائز اهمیت آن است که اگرچه اثرات ضد سرطانی در مورد جنس گیاه باردشبی گزارش شده است [۱۰، ۹]، اما تاکنون مطالعه‌ای مبنی بر اثر ضد سرطان این گونه از این گیاه گزارش نشده و معدود مطالعات موجود نشان از اثرات القائی آپوپتوز بر روی رده سلولی نرمال می‌باشد [۹]. بنابراین، به دلیل

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-05-17]

عدم وجود تحقیقات کافی در زمینه اثرات ضد سرطانی گیاه دارویی بادرشبی، در این پژوهش اثرات سمیت سلولی عصاره تام برگ تیمار شده گیاه دارویی بادرشبی بر روی ۴ رده سلول سرطانی شامل سلول‌های سرطان پستان رده‌های MDA-MB-231[1] و MCF-7[2]، سرطان کولون رده HT-29[3] و سرطان کبد رده Hep-G2[4] برای اولین بار آزمایش شد تا به اثرات جدید دارویی از این گونه گیاهی دست یافت. همچنین، به منظور تغییر در غلظت مواد مؤثره در جهت افزایش کارایی اثرات گیاه از القاءکننده‌های اسید سالیسیلیک و اسید بتا آمینوبوتیریک استفاده شد، با این هدف که این دو القاءکننده می‌توانند میزان متابولیت‌های ثانویه در گیاه دارویی بادرشبی را افزایش دهند.

مواد و روش‌ها

آماده‌سازی نمونه‌های گیاهی

کشت گیاه دارویی بادرشبی[5] در مرکز تحقیقات کشاورزی استان کرمان (مزرعه آموزشی–پژوهشی جوپار) طی سال‌های ۱۳۹۷ تا ۱۳۹۸ انجام شد. بذر استفاده شده از اکوتیپ بومی بود. این گیاه با شماره شناسه هرباریومی ۴۸۳۹۳ در آزمایشگاه گیاه‌شناسی دانشگاه تهران توسط آقای دکتر شاهین زارع شناسایی و به ثبت رسیده است. آزمایش به صورت فاکتوریل و بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی در ۴ تکرار انجام شد. تیمارها شامل القاءکننده‌های سالیسیلیک اسید (A) و بتاآمینوبوتیریک اسید (B) بودند که هر کدام با مقادیر ۰، ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار استفاده شدند، به طوری‌که تیمار A1B1 (شاهد) مقدار صفر از هر دو القاءکننده اسید سالیسیلیک و اسید بتاآمینوبوتیریک ، تیمار A1B2 مقدار صفر از القاءکننده اسید سالیسیلیک و مقدار ۰/۵ میلی‌مولار از القاءکننده اسید بتاآمینوبوتیریک ، تیمار A1B3 مقدار صفر از القاءکننده اسید سالیسیلیک و مقدار ۱ میلی‌مولار از القاءکننده اسید بتاآمینوبوتیریک ، تیمار A2B1 مقدار ۰/۵ میلی‌مولار از القاءکننده اسید سالیسیلیک و مقدار صفر از القاءکننده اسید بتاآمینوبوتیریک ، تیمار A2B2 مقدار ۰/۵ میلی‌مولار از هر دو القاءکننده، تیمار A2B3 مقدار ۰/۵ میلی‌مولار از القاءکننده اسید سالیسیلیک و مقدار ۱ میلی‌مولار از القاءکننده اسید بتا آمینوبوتیریک ، تیمار A3B1 مقدار ۱ میلی‌مولار از القاءکننده اسید سالیسیلیک و مقدار صفر از القاءکننده اسید بتا آمینوبوتیریک ، تیمار A3B2 مقدار ۱ میلی‌مولار از القاءکننده اسید سالیسیلیک و مقدار ۰/۵ میلی‌مولار از القاءکننده اسید بتا آمینوبوتیریک ، و تیمار A3B3 مقدار ۱ میلی‌مولار از هر دو القاءکننده اسید سالیسیلیک و اسید بتا آمینوبوتیریک بود. کاشت در ۲۰ اردیبهشت به طور دستپاش و به شکل ردیفی انجام شد. در این آزمایش از برگ بادرشبی استفاده گردید. محلول‌پاشی برگی با القاءکننده‌های اسید سالیسیلیک و اسید بتا آمینوبوتیریک یک ماه قبل از برداشت انجام شد [۱۱]. برگ‌های بادرشبی قبل از خشک‌کردن با آب مقطر شستشو داده شدند تا عاری از هرگونه ماده خارجی باشند. نمونه‌ها بلافاصله در آون و در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد به مدت ۲۴ ساعت، در آزمایشگاه بخش گیاهان دارویی مرکز تحقیقات کشاورزی کرمان خشک شدند؛ سپس برگ‌ها آسیاب شده و به شکل پودر درآمدند. ۲۰۰ گرم از هر نمونه درون پاکت ریخته شد و با هدف انجام آزمایشات بیولوژیکی به آزمایشگاه فیزیولوژی و فارماکولوژی انستیتو پاستور تهران منتقل شد.

عصاره‌گیری و استخراج عصاره تام

به منظور استخراج عصاره برگ تیمار شده گیاه دارویی بادرشبی از روش ماسراسیون (خیساندن) و از ترکیب آب و اتانول ساخت کشور ایران به نسبت (حجمی:حجمی) ۸۰:۲۰ استفاده شد. مقدار ۱۵ گرم از پودر گیاه توسط حلال در بشر خیسانده شده و روی شیکر قرار گرفت. بعد از گذشت ۲۴ ساعت با کاغذ صافی واتمن آلمانی؛ محلول حاوی عصاره صاف شد و این عمل طی ۳ مرحله متوالی به مدت ۷۲ ساعت تکرار گردید. سپس حلال از عصاره صاف شده در شرایط خلاء و در دمای ۳۵ درجه سانتیگراد توسط دستگاه روتاری هایدولف آلمان جدا و رطوبت عصاره با دستگاه خشک کن انجمادی خشک شد. نمونه‌ها در یخچال و در دمای ۴ درجه سانتیگراد نگهداری شدند [۱۲].

تعیین بازدهی عصاره تام

تعیین بازدهی عصاره‌های تام برگ تیمار شده بادرشبی به دست آمده از روش ماسراسیون توسط حلال اتانولی– آبی با

[1] Triple negative human breast adenocarcinoma
[2] Triple positive human breast adenocarcinoma
[3] Human colorectal adenocarcinoma
[4] Human liver hepatocellular carcinoma
[5] *Dracocephalum moldavica*

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-05-17]

تـوزین پلیت‌های خالی و پس از خشـک شـدن عصـاره تعیـین گردیـد، سپس بر اساس فرمول زیر محاسبه شد [۱۳].

درصد بازدهی عصاره‌گیری با حلال اتانول–آب = (وزن عصاره (میلی‌گرم) / وزن پودر (میلی‌گرم)) ×۱۰۰

آماده‌سازی نمونه‌های آزمایشگاهی

اثر سمیت عصاره‌های تیمار شـده بـرگ بادرشـبی بـر روی ۴ رده سلول سرطانی مورد آزمایش قرار گرفت که سـلول‌هـای سـرطان پسـتان رده‌هـای MDA-MB-231 و MCF-7، سلول‌های سرطان کولون رده HT-29 از بانک سلولی انسـتیتو پاستور ایران تهیه شدند. سلول‌های سرطان کبد رده Hep-G2 از مرکز ذخایر ژنتیکی ایران تهیه شد. برای آماده‌سازی نمونه‌ها مقدار ۱۰۰ میلی‌گرم با ترازوی دیجیتال Acculab آلمان از هـر یـک از عصـاره‌هـای تـام بـرگ تیمـار شـده بادرشـبی در دی‌متیل‌سولفوکساید حل و به حجم ۱ میلی‌لیتر رسـانده شـد و استوکی با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تهیه شـد. سـپس غلظت به نحوی تنظیم شد تا با برداشتن ۱ میکرولیتر از محلول استوک و اضافه‌کردن آن بـه چاهـک‌هـای پلیـت ۹۶ خانـه‌ای غلظت نهایی ۰/۱۲۵ و ۰/۲۵ میلی‌گرم بـر میلـی‌لیتـر حاصـل گردد [۱۰].

آزمون سمیت سلولی

یکی از جنبه‌های کلیدی بیولوژی سلول، تعیین میزان تکثیر و بقای سلولی است. از جمله آزمایش‌های بقـای سـلولی کـه از اهمیت خاصی برخوردار است، سـنجش فعالیـت متـابولیکی بـه روش MTT (۳،۴،۵ دی متیل تیازول ۲–ایـل ۵، ۲ دی فینیـل تترازولیوم) اسـت. نمـک تتـرازولیم بروماید خریـداری شـده از شرکت سیگما–آلدریچ، پودر زرد رنگی است که نسبت به نـور و گرما حساس می‌باشد؛ لذا محلول ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از آن در بافر فسفات‌سالین در هر بار مصرف به صورت تازه تهیه شد. در آزمون سمیت سلولی، سوبسترای تترازولیم بروماید زرد رنگ به کریستال‌های فورمازان بنفش تبدیل می‌شود که ایـن تغییـر توسط آنزیم سوکسینات دهیدروژناز میتوکندریایی و یا با واسطه فاکتورهای NADH و NADPH در سلول‌هایی اتفاق می‌افتـد که از نظر متابولیکی فعال باشند. هـرچـه میـزان تشـکیل ایـن کریستال‌ها بیشتر باشد، نشان‌دهنده تعداد بیشتری از سلول‌های زنده است. بدین منظور تعداد $۳-۵ \times ۱۰^{۳}$ سلول از ۴ رده سلولی در پلیت‌های ۹۶ خانه‌ای ریختـه و پـس از گذشـت ۲۴ سـاعت و چسبیدن سلول‌ها، محیط کشت با محیط تازه‌ای که حاوی دو غلظت از عصـاره‌هـای تـام بـرگ تیمـار شـده بادرشـبی بـود، جایگزین و تیمار به مدت ۷۲ ساعت انجام شـد. محـیط کشـت مورد استفاده در این آزمایش DMEM[1] بود کـه همـراه بـا ۱۰ درصد سرم جنین گاوی[2] و ۱ درصد پنی‌سیلین/استرپتومایسـین استفاده گردید که همگـی از شـرکت Gibco BRL خریـداری شده بودند. عصـاره‌هـای تـام بـرگ تیمـار شـده گیـاه دارویـی بادرشبی در حلال دی‌متیل‌سولفوکساید به مقداری حـل شـدند که غلظت نهـایی هـر عصـاره در هـر چاهـک ۰/۲۵ و ۰/۱۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر باشد. درصد نهایی حلال در هـر چاهـک ۰/۵ درصد بود که درصد سمیت ایـن میـزان بـه عنـوان گـروه کنترل–حلال نیـز سـنجیده شـد. پـس از گذشـت ۷۲ سـاعت، محلول تترازولیم بروماید به میزان ۲۰ میکرولیتر اضـافه گردیـد و بـرای ۴ سـاعت دیگـر انکوبـه شـد. پـس از حـل کـردن کریسـتال‌هـای فورمـازان تشـکیل شـده، در حـلال، دی‌متیل‌سولفوکساید خریداری شـده از شـارلو اسـپانیا، محلـول ارغـوانی رنگـی ایجـاد گردیـد کـه ایـن رنـگ بـا روش اسپکتروفتومتری در طول موج ۵۴۵ نانومتر اندازه‌گیری گردیـد. طول موج ۶۳۰ نانومتر نیز به عنوان طول موج رفرانس در نظـر گرفته شد [۱۴].

تعیین درصد سمیت سلولی

با توجه به مقادیر جذب نوری بـه دسـت آمـده بـه وسـیله دستگاه خوانش الایزا درصد سمیت سلولی مربوط به هر غلظت در عصاره‌های تام برگ تیمار شـده گیـاه دارویـی بادرشـبی بـا به‌کارگیری فرمول زیر محاسبه شد [۱۵].

درصد سمیت سلولی = (۱- (جذب نمونه / جذب کنترل)) × ۱۰۰

آنالیز آماری

جهـت تجزیـه و تحلیـل داده‌هـا از روش آنـالیز واریـانس یک‌طرفه و به دنبال آن روش آزمون تعقیبـی تـوکی[3] اسـتفاده شد. نتـایج بـه صـورت انحـراف معیـار ± میـانگین گـزارش و $p < ۰/۰۵$ به عنوان اختلاف معنی‌دار در مقایسـه بـا کنتـرل در نظر گرفته شد.

[1] Eagle's medium dulbecco's modified
[2] Fetal bovine serum (FBS)
[3] Tukey's post test

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-05-17]

یافته‌ها

تعیین درصد بازدهی عصاره‌های تام برگ تیمار شده گیاه بادرشبی

عصاره‌گیری از برگ تیمار شده گیاه بادرشبی بومی شهرستان کرمان با روش ذکر شده در قسمت مواد و روش‌ها انجام شد. در نهایت، بازدهی عصاره‌های تام محاسبه گردید که در جدول ۱، آورده شده است. همان‌گونه که در جدول شماره ۱ ملاحظه می‌شود، بیشترین درصد بازدهی در عصاره A3B3 برابر با ۵۵/۹ درصد حاصل از تیمار با هر دو القاءکننده اسید سالیسیلیک و اسید بتا آمینوبوتیریک به مقدار ۱ میلی‌مولار و کمترین درصد بازدهی در عصاره A1B1 (شاهد) در مقدار صفر از هر دو القاءکننده برابر با ۲۹/۱ درصد به دست آمد.

نتایج بررسی اثر سمیت سلولی مربوط به عصاره‌های تام برگ تیمار شده گیاه بادرشبی بر روی ٤ رده سلول سرطان انسانی در مدت زمان ۷۲ ساعت

سلول‌های سرطان کارسینومای پستان انسان رده‌های MDA-MB-231 و MCF-7، سلول‌های سرطان کولون انسان رده HT-29 و سلول‌های سرطان کبد انسان رده Hep-G2 در پلیت‌های ۹۶ خانه‌ای کشت شدند. در این تحقیق درصد سمیت سلولی عصاره‌های تام برگ تیمار شده گیاه بادرشبی تهیه شده در دو غلظت ۰/۱۲۵ و ۰/۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر پس از گذشت ۷۲ ساعت مورد بررسی قرار گرفتند (جدول ۲). همان‌گونه که در جدول شماره ۲ ملاحظه می‌شود، از میان ۴ رده سلول سرطانی، سلول‌های سرطان کبد رده Hep-G2 و سلول‌های سرطان پستان رده MCF-7 و بعد از آن رده MDA-MB-231 بیشترین حساسیت را در برابر

جدول ۱– درصد بازدهی عصاره‌های تام برگ تیمار شده گیاه دارویی بادرشبی با مقادیر مختلف اسید سالیسیلیک و اسید بتا آمینو بوتیریک

بازدهی (٪)	عصاره‌های تام برگ تیمارشده بادرشبی
۲۹/۱	A1B1
۳۷/۲	A1B2
۴۲/۸	A1B3
۳۵/۶	A2B1
۴۴/۷	A2B2
۴۵/۳	A2B3
۳۶/۹	A3B1
۴۹/۱	A3B2
۵۵/۹	A3B3

جدول ۲– درصد سمیت سلولی عصاره‌های تام برگ تیمار شده گیاه بادرشبی در غلظت ۰/۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بر روی ۴ رده سلول سرطان انسان در مدت زمان ۷۲ ساعت

عصاره‌های تام برگ تیمار شده بادرشبی	سمیت سلولی (٪)			
	MDA-MB-231	MCF-7	HT–29	Hep-G2
A1B1	۶۶/۵ ± ۲/۵	۷۰/۷ ± ۰/۲	۵۲/۹ ± ۲/۴	۳۹/۲ ± ۴/۱
A1B2	۳۶/۷ ± ۲/۱	۷۴/۱ ± ۳/۵	۱۲/۳ ± ۷/۲	۵۴/۲ ± ۴/۱
A1B3	۳۷/۸ ± ۲/۵	۷۴/۷ ± ۵/۲	۲/۱ ± ۱/۳	۶۸/۹ ± ۳/۱
A2B1	۶۶/۴ ± ۲/۶	۸۲/۱ ± ۱/۷	۵۷/۷ ± ۱/۵	۶۸/۴ ± ۳/۲
A2B2	۳۳/۲ ± ۱/۳	۵۱/۲ ± ۱/۴	۹/۵ ± ۸/۶	۴۶/۸ ± ۲/۸
A2B3	۳۹/۶ ± ۳/۰	۴۶/۱ ± ۲/۳	۴/۴ ± ۰/۰	۴۸/۷ ± ۲/۴
A3B1	۶۶/۶ ± ۲/۰	۸۷/۶ ± ۱/۳	۱۳/۴ ± ۴/۲	۸۸/۴ ± ۱/۸
A3B2	۳۸/۰± ۲/۷	۵۰/۹ ± ۱/۷	۲۸ /۴ ± ۱/۲	۴۶/۴ ± ۰/۹
A3B3	۴۱/۹ ± ۲/۳	۵۵/۵ ± ۵/۲	۲۵/۳ ± ۲/۷	۳۹/۹ ± ۱/۹
حلال (DMSO)	۲۱/۴۱ ± ۰/۸	۷/۱ ± ۰/۸	۲/۹ ± ۰/۷	۲/۹ ± ۱/۹

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-05-17]

عصاره‌های تام برگ تیمار شده گیاه دارویی بادرشبی، بسته به تیمار انجام شده در مقادیر مختلف از هر دو القاءکننده سالیسیلیک و اسید بتا آمینوبوتیریک در غلظت ۰/۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر داشتند. در رده Hep-G2، بیشترین درصد سمیت سلولی در عصاره‌های تام A3B1، A2B1 و A1B3 مشاهده شد، این در حالیست که در رده MCF-7، بیشترین درصد سمیت سلولی متعلق به عصاره‌های تام A1B1 (شاهد)، A1B2، A1B3، A2B1 و A3B1 می‌باشد. علاوه بر آن، درصد سمیت سلولی بالا در رده MDA-MB-231 مربوط به عصاره‌های تام A1B1 (شاهد)، A2B1 و A3B1 می‌باشد. در رده HT-29 نیز بیشترین درصد سمیت سلولی در عصاره‌های تام A1B1 (شاهد) و A2B1 دیده شد.

به منظور بررسی درصد سمیت سلولی در غلظت کمتر و احتمال وابستگی سمیت سلولی به غلظت، در غلظت ۰/۱۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر نیز این درصد محاسبه گردید (جدول ۳). همان‌گونه که در جدول شماره ۳ ملاحظه می‌شود، در این غلظت هم از میان ۴ رده سلول سرطانی، سلول سرطان کبد رده Hep-G2 و دو رده سلولی سرطان پستان، MDA-MB-231 و MCF-7 بیشترین حساسیت را در برابر عصاره‌های تام برگ تیمار شده گیاه بادرشبی، بسته به تیمار انجام شده در مقادیر مختلف از القاءکننده‌ها داشتند. در رده Hep-G2، بیشترین درصد سمیت سلولی در عصاره‌های تام A1B1 (شاهد) و A2B1 مشاهده شد. در رده MDA-MB-231، بیشترین درصد سمیت سلولی متعلق به عصاره تام A1B1 (شاهد) بود، در حالیکه در رده MCF-7، بیشترین درصد سمیت سلولی در عصاره تام A1B1 (شاهد)، A2B1 و A3B1 مشاهده شد. در رده HT-29، هیچ اثر قابل ملاحظه‌ای از سمیت سلولی عصاره‌های تام برگ تیمار شده گیاه دارویی بادرشبی ملاحظه نگردید.

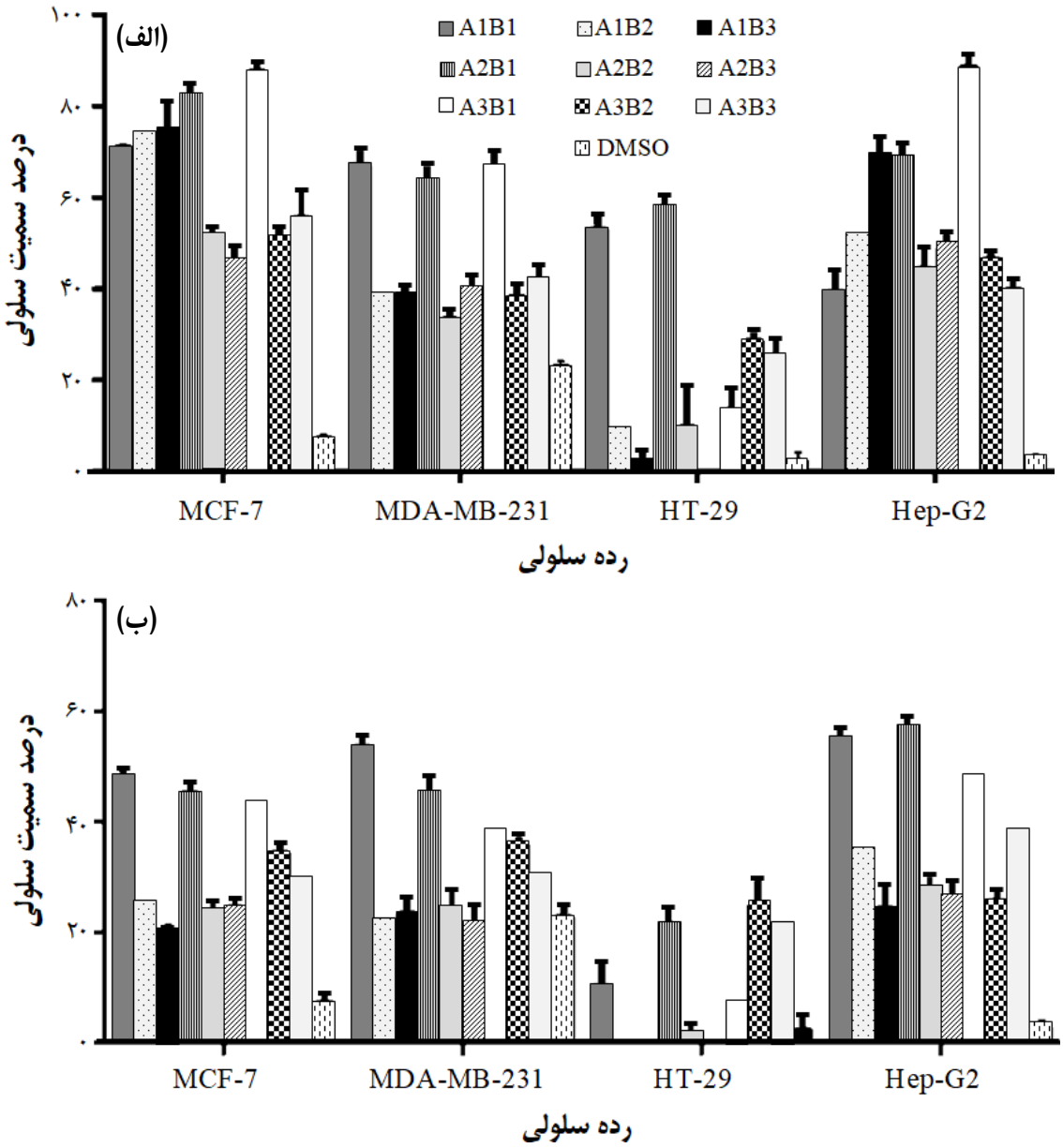
جهت مقایسه بهتر سمیت سلولی عصاره‌های مختلف در سلول‌های متفاوت نمودار ۱ رسم شد. همانگونه که در نمودار ۱ (الف)، مشاهده می‌شود، عصاره A3B1 در غلظت ۰/۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر؛ دارای بیشترین اثر سمیت سلولی بر روی دو رده سلولی MCF-7 و Hep-G2 می‌باشد. طبق نمودار ۱ (ب)، عصاره‌های A1B1 (شاهد) و A2B1 در غلظت ۰/۱۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در هر رده سلولی بیشترین اثر را داشتند؛ هرچند که در سلول‌های MDA-MB-231، MCF-7 و Hep-G2 عصاره A3B1 نیز اثر سمیت سلولی قابل ملاحظه‌ای داشته است.

جدول ۳- درصد سمیت سلولی عصاره‌های تام برگ تیمار شده گیاه بادرشبی در غلظت ۰/۱۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بر روی ۴ رده سلول سرطان انسان در مدت زمان ۷۲ ساعت

عصاره‌های تام برگ تیمارشده بادرشبی	سمیت سلولی (٪)			
	MDA-MB-231	MCF-7	HT-29	Hep-G2
A1B1	۵۳/۵ ± ۱/۸	۴۸/۰ ± ۰/۷	۱۰/۲ ± ۳/۶	۵۴/۵ ± ۱/۵
A1B2	۲۲/۰ ± ۱/۷	۲۴/۸ ± ۱/۹	†	۳۴/۸ ± ۱/۷
A1B3	۲۳/۸ ± ۲/۵	۲۰/۲ ± ۰/۷	†	۲۴/۳ ± ۳/۵
A2B1	۴۵/۱ ± ۲/۴	۴۷/۲ ± ۱/۱	۲۱/۵ ± ۲/۲	۵۶/۹ ± ۱/۴
A2B2	۲۳/۴ ± ۲/۶	۲۴/۰± ۰/۶	۱/۵ ± ۱/۱	۲۸/۰ ± ۱/۵
A2B3	۲۲/۵ ± ۲/۶	۲۴/۴ ± ۰/۹	†	۲۶/۲ ± ۲/۱
A3B1	۳۸/۳ ± ۱/۱	۴۶/۵ ± ۲/۰	۷/۷ ± ۳/۳	۴۸/۱ ± ۲/۲
A3B2	۳۵/۸ ± ۰/۷	۳۴/۴ ± ۰/۹	۲۴/۹ ± ۳/۸	۲۵/۶ ± ۱/۶
A3B3	۳۰/۵± ۱/۲	۳۰/۰ ± ۱/۱	۲۱/۴ ± ۱/۸	۳۸/۳ ± ۲/۰
حلال (DMSO)	۲۱/۴۱ ± ۰/۸	۷/۱ ± ۰/۸	۲/۹ ± ۰/۷	۲/۹ ± ۱/۹

هر داده بیانگر میانگین ± انحراف معیار حاصل از حداقل ۵ تکرار می‌باشد. †: تعیین نشده است.

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-05-17]



نمودار ۱– مقایسه اثر سمیت سلولی عصاره‌های تام برگ تیمار شده بادرشبی در غلظت (**الف**) ۰/۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و (**ب**) ۰/۱۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بر روی ۴ رده سلول سرطان انسان در مدت زمان ۷۲ ساعت.

بحث

مشکلات فعلی در استفاده از شیمی درمانی و پرتو درمانی و عوارض جانبی متعددی که در اثر استفاده از این روش‌های درمانی برای بیمار ایجاد می‌شود و همچنین، مقاومت سلول‌های سرطانی به درمان‌های رایج، سبب شده است تا محققین رو به تولید داروهای جدید با اثر بخشی بیشتر و سمیت کمتر بیاورند. مراکز تحقیقاتی در سرتاسر جهان برای دستیابی به داروهای مؤثر با اثر انتخابی بر روی سلول‌های سرطانی و اثر کمتر بر روی سلول‌های سالم در حال تلاش هستند و از آنجا که گیاهان دارویی منبع بسیار غنی و امیدبخشی جهت کشف داروهای جدید می‌باشند، بیش از گذشته مورد توجه قرار گرفته‌اند. بنابراین، می‌توان گفت که داروهای گیاهی با خاصیت ضد سرطانی می‌توانند به عنوان جانشین یا مکمل داروهای شیمیایی در درمان انواع سرطان مورد استفاده قرار گیرند. در ایران گونه‌های منحصر به فرد فراوانی از گیاهان دارویی وجود دارند که نیاز است تا برای شناسایی ترکیبات ضد سرطانی آن‌ها مطالعات بیشتری انجام شود. در این تحقیق با توجه به گزارشاتی مبنی بر وجود خواص آنتی‌اکسیدانی در گونه بادرشبی

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-05-17]

از خانواده نعنائیان [۱۶] و مشاهده اثرات ضد سرطانی در گیاهان دارویی هم‌جنس بادرشبی [۱۹-۱۷]، انجام آزمایش بر روی این گیاه مورد توجه قرار گرفت. از آنجا که مسئول اثرات ضد سرطانی گیاهان دارویی، وجود متابولیت‌های ثانویه در آن‌ها می‌باشند و کاربرد القاءکننده‌ها موجب افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاه می‌شود [۲۰] یکی از اهداف این پژوهش افزایش میزان متابولیت‌های ثانویه در گیاه و بررسی تأثیر آن بر توانایی ضد سرطانی عصاره‌های مختلف این گیاه بود. رده‌های سلول سرطانی استفاده شده در این گیاه به دلیل شیوع سرطان مربوط به آن‌ها و همچنین، افزایش موارد فوت ناشی از این سرطان‌ها انتخاب شده است [۲].

نتایج نشان داد که کاربرد القاءکننده‌های اسید سالیسیلیک و اسید بتا آمینوبوتیریک موجب افزایش درصد بازدهی عصاره‌های تام برگ تیمار شده گیاه دارویی بادرشبی شد. نتایج این آزمایش منطبق بر یافته‌های نصیری و همکاران مبنی بر تأثیر مثبت کاربرد القاءکننده‌ها بر روی عملکرد فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه بادرشبی است که باعث افزایش معنی‌دار میزان اسانس و عصاره هر نمونه نسبت به نمونه شاهد شده بود [۱۱].

به منظور ارزیابی و مقایسه اثرات ضد سرطانی، درصد سمیت سلولی عصاره‌های تام تیمار شده برگ بادرشبی با مقادیر مختلف القاءکننده‌های اسید سالیسیلیک و اسید بتاآمینوبوتیریک در دو غلظت ۰/۲۵ و ۰/۱۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و بر روی ۴ رده سلول سرطانی شامل سلول‌های سرطان پستان رده‌های MDA-MB-231 و MCF-7، سرطان کولون رده HT-29 و سرطان کبد رده Hep-G2 به دست آمد. طبق نتایج ارائه شده، اثر سمیت سلولی عصاره‌ها وابسته به غلظت بود، طوری که در غلظت بالاتر میزان کشندگی سلولی در همه عصاره و تمام رده‌های سلولی مورد آزمایش بیشتر بود. همچنین، حساسیت سلول‌های مختلف سرطانی نسبت به عصاره‌ها نیز متفاوت بود، به طوری‌که از میان ۴ رده سلول سرطانی، دو رده سلول‌های سرطان کبد و سلول‌های سرطان پستان MCF-7 که دارای گیرنده‌های استروژنی و پروژسترونی است [۲۱]، بیشترین حساسیت را نسبت به عصاره‌های تام برگ تیمار شده بادرشبی بسته به تیمار انجام شده با مقادیر مختلف از القاءکننده‌ها داشتند. قابل ذکر است که از لحاظ حساسیت سلولی به عصاره‌های مختلف می‌توان به ترتیب اشاره نمود: Hep-G2>MCF-7>MDA-MB-231>HT-29. علاوه بر آن در هر دو غلظت به‌کار رفته، عصاره‌ای که از گیاه بادرشبی با تیمار غلظت‌های بالای اسید سالیسیلیک به دست آمده بیشترین اثر را از لحاظ سمیت سلولی بر روی سلول های Hep-G2 و MCF-7 داشته است که این مسئله در مورد سلول‌های سرطانی MDA-MB-231 نیز صدق می‌کند که خود احتمال اثر القائی سالیسیلیک در افزایش میزان متابلیت‌های مؤثر در ایجاد سمیت سلولی را مطرح می نماید.

نکته جالب آن است که افزودن القاءکننده بتاآمینوبوتیریک به شرایط رشد گیاه باعث کاهش اثرات سمیت سلولی عصاره‌های حاصل از آن بر روی رده‌های سلولی مؤثر همچون رده سلولی سرطان کبد و رده‌های سلولی سرطان پستان شده است که خود بیانگر تولید احتمالی متابولیت‌هایی در گیاه بر اثر این ماده می‌شود که قابلیت کشندگی سلول‌های سرطانی را نداشته است.

با توجه به این مهم که تاکنون در خصوص گیاه دارویی بادرشبی هیچ تحقیقی مبنی بر بررسی اثر سمیت سلولی بر روی سلول‌های سرطانی انجام نشده است، لذا نتایج این آزمایش با آزمایشات انجام شده بر روی گیاه دارویی بادرنجبویه[1] که با بادرشبی از یک خانواده و یک جنس هستند، مقایسه شد. نتایج به دست آمده، هم‌سو با یافته‌های سوتو و همکاران بود که گزارش کردند عصاره گیاه بادرنجبویه توانایی مهار تکثیر سلول‌های سرطان مغز استخوان انسان را دارد [۲۲]. مقدم و همکاران، نیز گزارش کردند که عصاره گیاه دارویی بادرنجبویه اثر مهارکنندگی بر روی تکثیر سلول‌های بدخیم سرطان روده بزرگ و لوسمی پیشرفته در انسان را دارد [۱۹]. تالاری و همکاران، هم گزارش کردند که عصاره گیاه دارویی بادرنجبویه اثر مهارکنندگی بر روی تکثیر سلول‌های سرطان کبد انسان رده Hep-G2 را دارا می‌باشد [۱۸]. اسماعیلی و همکاران، ترکیب کالیکوپترین یک فلاونوئید استخراج شده از پیکر رویشی بادرنجبویه را شناسایی کردند که این ترکیب موجب افزایش ایمنی بدن شده و توانایی کشندگی سلول‌های سرطانی کبد رده Hep-G2 را دارد [۱۷] و همین‌طور، جهانی و همکاران گزارش کردند گیاه بادرنجبویه می‌تواند از تکثیر سلول‌های سرطانی بدخیم پروستات در انسان جلوگیری کند [۱۰].

[1] *Dracocephalum kotschyi*

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-05-17]

تحریک ریشه‌های موئین گیاه دارویی بادرنجبویه با القاءکننده نانو ذرات اکسیدآهن باعث افزایش تجمع متابولیت‌های ثانویه مانند اسید رزمارینیک ، گزانتومیکرول و همچنین، افزایش ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی در گیاه می‌شود که با وجود خواص آنتی‌اکسیدانی بالا می‌توانند موجب مهار تکثیر انواع سلول‌های سرطانی شوند [۲۰]. از آنجا که ترکیباتی چون فیتواسترول‌ها، فلاونوئیدها، اسید کافئیک و اسید فرولیک ، اسید رزمارینیک ، فنل‌ها، ترپنوئیدها، آلکالوئیدها، لیگنین‌ها و غیره که دارای بیشترین اثر سمیت سلولی در طبیعت هستند، در این گیاه موجود می‌باشند؛ می‌توانند موجب مرگ سلول‌های سرطانی شوند [۵]. عصاره گیاه بادرشبی دارای طیف وسیعی از خواص آنتی‌اکسیدانی بوده و ترکیبات پلی‌فنلی موجود در گیاه اعم از مشتقات اسید فنولیک و فلاونوئیدها اجزایی با خاصیت آنتی‌اکسیدانی هستند [۲۳]. ترکیبات اصلی اسانس بادرشبی شامل ژرانیل استات، ژرانیل، نرول، نریل استات، نرال و لینالول است و اختلاف در ترکیب فرآورده‌های فرار گیاهان را می‌توان به ژنتیک (جنس، گونه و اکوتیپ)، شرایط محیطی و اقلیم متمایز، دوره نمونه برداری فصلی، ریشه‌های جغرافیایی، جمعیت گیاهان و روش‌های استخراج و اندازه‌گیری عصاره، نسبت داد [۲۴].

نتیجه‌گیری

در مجموع از میان چهار رده سلول سرطانی، سلول‌های سرطان کبد و سلول‌های سرطان پستان بیشترین حساسیت را در برابر عصاره‌های تام برگ تیمار شده گیاه دارویی بادرشبی داشتند که شاید اثرات ضد سرطانی این گیاه مربوط به حضور متابولیت‌های ثانویه از جمله فیتواسترول‌ها، فلاونوئیدها، ترپنوئیدها، آلکالوئیدها و غیره در این گیاه باشد [۲۴، ۵]. امید است که با مطالعات فارماکولوژی بیشتر در آینده بتوان از ترکیبات مؤثره این گیاه به عنوان یک ترکیب ضد سرطان استفاده نمود.

سپاسگزاری

از خانم‌ها راحله طهماسوند مسئول اتاق کشت و سمیرا چوپانی مسئول آزمایشگاه فارماکولوژی و فیزیولوژی انستیتو پاستور تهران به خاطر همکاری و حمایت در مراحل انجام آزمایش تشکر می‌شود.

ملاحظات مالی

پژوهش حاضر هیچ‌گونه حمایت مالی دریافت نکرده است.

تعارض در منافع

نویسندگان این مقاله تعارض در منافع ندارند.

نقش نویسندگان

ف.م.ک.: انجام آزمون‌های تحقیقاتی و نگارش مقاله؛ غ.ر.ش.س.: طراحی و نظارت بر بخش کشاورزی؛ م.س.: طراحی، نظارت بر بخش بیولوژیک و ویرایش مقاله؛ ع.ف.ا.: راهنمایی در انجام کشت گیاه.

فهرست منابع

[1] Mousavi SM, Gouya MM, Ramazani R, Davanlou M, Hajsadeghi N, Seddighi Z, Cancer incidence and mortality in Iran. ***Ann Oncol*** 20 (2009) 556-63.

[2] WHO report on cancer: setting priorities, investing wisely and providing care for all. 1th edn. ***World Health Organization Press,*** 2020: 1-48.

[3] Akbari ME, Khayamzadeh M, Khoshnevis S, Nafisi N, Akbari A, Five and ten years survival in breast cancer patients mastectomies vs. breast conserving surgeries personal experience. ***Iran J Cancer Prev Prevention*** 1 (2012) 53-56.

[4] Singh P, Raj R, Kumar V, Mahjan MP, Bedi PMS, Kaur T, 1, 2, 3-Triazole tethered b-lactam-chalcone bifunctional hybrids: synthesis and anticancer evaluation. ***Eur J Med Chem*** 47 (2012) 594-600.

[5] Toda S, Polyphenol content and antioxidant effects in herb teas. ***Chinese Medicine*** 2 (2011) 29-31.

[6] Gali-Muhtasib H, Hmadi R, Kareh M, Tohme R, Darwiche N, Cell death mechanisms of plant-derived anticancer drugs: beyond apoptosis. ***Apoptosis*** 20 (2015) 1531-1562.

[7] Heiss EH, Schilder YD, Dirsch VM, Chronic treatment with resveratrol induces redox stress-and ataxia telangiectasia-mutated (ATM)-dependent senescence in p53-positive cancer cells. ***J Biol Chem*** 282 (2007) 26759-26766.

[8] Borghei SF, Azizi A, Assessing Diversity of Landraces of Dracocephalum moldavica from Northwest of Iran Using Agro-morphological and Phytochemical Traits. ***Plant Production Technology*** 18 (2019) 1-16.

[9] Jin M, Yu H, Jin X, Yan L, Wang J, Wang Zh, *Dracocephalum moldavica* (L.) extracts protect H9c2

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-05-17]

cardiomyocytes against H_2O_2-induced apoptosis and oxidative stress. ***Biomed Res Int*** 2020 (2020) 1-12.

[10] Jahani F, Ebrahimi SA, Rahbar-Roshandel N, Mahmoudian M, Xanthomicrol is the main cytotoxic component of *Dracocephalum kotschyii* and a potential anti-cancer agent. ***Phytochemistry*** 66 (2005) 1581–1592.

[11] Nasiri Y, Zandi H, Morshedloo M R, Effect of salicylic acid and ascorbic acid on essential oil content and composition of Dragonhead (*Dracocephalum moldavica* L.) under organic farming. ***J Essential Oil Bearing Plants*** 21 (2018) 362 – 373.

[12] Aslanipour B, Heidari R, Farnad N, Phenolic combination and comparison of antioxidant activity in three different alcoholic extracts of Dracocephalum moldavica L. ***TURJAF*** 5 (2017) 199-206.

[13] Freshney RI, Culture of Animal Cells: A manual of basic technique. 7th edn. ***New York: John Wiley & Sons Press,*** 2016: 483-513.

[14] Mosmann T, Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. ***J Immunol Methods*** 65 (1983) 55-63.

[15] Gordanian B, Behbahani M, Carapetian J, Fazilati M, Evaluation of cytotoxicity of sagebrush plain extract on human breast cancer MCF-7 cells. ***Armaghane danesh*** 18 (2013) 241-251.

[16] Weremczuk-Je-zyna I, Grzegorczyk-Karolak I, Frydrych B, Kro'licka A, Wysokin ska H, Hairy roots of *Dracocephalum moldavica*: rosmarinic acid content and antioxidant potentia. ***Acta Physiol Plant*** 35 (2013) 2095-2103.

[17] Esmaeili MA, Moridi Farimani M, Kiaei M, Anticancer effect of calycopterin via PI3K/Akt and MAPK signaling pathways, ROS-mediated pathway and mitochondrial dysfunction in hepatoblastoma cancer (Hep-G2) cells. ***Mol Cell Biochem*** 397 (2014) 17–31.

[18] Talari M, Seydi E, Salimi A, Mohsenifar Z, Kamalinejad M, Pourahmad J, Dracocephalum: Novel anticancer plant acting on liver cancer cell mitochondria. ***BioMed Res Int*** 2014 (2014) 1-10.

[19] Moghaddam Gh, Ebrahimi SA, Rahbar-Roshandel N, Foroumadi AR, Antiproliferative activity of flavonoids: influence of the sequential methoxylation state of the flavonoid structure. ***Phytother Res*** 26 (2012) 1023–1028.

[20] Nourozi E, Hosseini B**,** Maleki R**,** Abdollahi Mandoulakani B, Iron oxide nanoparticles: a novel elicitor to enhance anticancer flavonoid production and gene expression in *Dracocephalum kotschyi* hairy-root cultures. ***J Sci Food Agric*** 99 (2019) 6418-6430.

[21] Dunphy KA, Blackburn AC, Yan H, O'Connell LR, Estrogen and progesterone induce persistent increases in p53-dependent apoptosis and suppress mammary tumors in BALB/c-Trp53+/- mice. ***Breast Cancer Res*** 10 (2008) 1-15.

[22] Suto Y, Sato M, Fujimori K, Kitabatake S, Okayama M, Ichikawa D, Matsushita M, Yamagiwa N, Iwasaki G, Kiuchi F, Hattori Y, Synthesis and biological evaluation of the natural product komaroviquinone and related compounds aiming at a potential therapeutic lead compound for high-risk multiple myeloma. ***Bioorg Med Chem Lett*** 27 (2017) 4558–4563.

[23] Golparvar AR, Hadipanah A, Gheisari MM, Khaliliazar R, Chemical constituents of essential oil of *Dracocephalum moldavica* (L.) and *Dracocephalum kotschyi* Boiss. from Iran. ***Acta Agric Slovenica*** 107 (2016) 25-31.

[24] Yang L, Xing J, He C, Wu T, The phenolic compounds from *Dracocephalum moldavica* (L.). ***Biochem Syst Ecol*** 54 (2014) 19–22.

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-05-17]

Research paper

Evaluating the cytotoxic effects of the treated leaves of *Dracocephalum moldavica* (L.) using different elicitors on four human cancer cell lines

Fatemeh Mahsa Karamoozian[1], Gholam Reza Sharifi Sirchi[1*], Mona Salimi[2*], Aziz Fouman Ajirlou[3]

1. *Department of Biotechnology and Molecular Genetics in Horticulture, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Hormozgan University, Bandar Abbas, Iran*
2. *Department of Physiology and Pharmacology, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran*
3. *Institute of Seed and Plant Improvement, Karaj, Iran*

Received: 16 September 2020 Accepted: 30 October 2020

Abstract

Background and aims: Since products extracting from medicinal plants play an important role in the treatment of cancer, this study was performed to investigate the cytotoxicity effects of the total extracts obtained from the leaves of *Dracocephalum moldavica* (L.) treated with different elicitors on four human cancer cell lines.

Methods: Following cultivating the *Dracocephalum moldavica* in Kerman for two years, foliar spraying was carried out using salicylic acid and beta-aminobutyric acid at 0, 0.5 and 1 mM concentrations one month before harvesting. Then, the cytotoxic effect of each extract at two concentrations; 0.25 and 0.125 mg/ml was evaluated towards four human cancer cell lines at 5 replications using MTT assay. 3-5 × 10^3 number of the cells were seeded in 96-well plates and the percentage of cytotoxicity was determined after 72 h of incubation.

Results: Among the four cancer cell lines, liver and breast cancer cells demonstrated the most sensitivity against the total extracts obtaining from the treated leaves of *D.moldavica* depending on the type treatment with different amounts of salicylic acid and beta-aminobutyric acid elicitors at two concentrations; 0.25 and 0.125 mg/ml after 72 hours of incubation. Results also showed that the lowest sensitivity to the extracts belonged to the colorectal carcinoma cells at two concentrations. Usage of both salicylic acid and beta-aminobutyric acid as elicitors in the process of plant growth increased the percentage of cytotoxicity on Hep-G2 cell line, while it had no remarkable effect on HT-29 cells.

Conclusion: Total extracts obtaining from the treated leaves of *D. moldavica* at a high concentration displayed a considerable cytotoxicity towards human breast and hepatocellular carcinomas. Indeed, further studies are needed to separate the constituents of the extracts and investigate their effects.

Keywords: Elicitor, *Dracocephalum moldavica*, Cancer, Cytotoxicity

Please cite this article as follows:

Karamoozian FM, Sharifi Sirchi GR, Salimi M, Fouman Ajirlou A, Evaluating the cytotoxic effects of the treated leaves of *Dracocephalum moldavica* (L.) using different elicitors on four human cancer cell lines. ***Iran J Physiol Pharmacol*** 4 (2020) 28-38.

*Corresponding authors: sharifisirchi@yahoo.com (ORCID ID: 0000-0001-8485-1651), salimi_mona@yahoo.com (ORCID ID: 0000-0002-3997-7009)

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-05-17]