Antioxidant activity and Cytotoxicity Effect of Various Extracts of *Sclerorhachis platyrachis* on the Human breast adenocarcinoma Cells

Hasan Rezaei Seresht[1], Hamid Cheshomi[2], Leila Sadat Aldaghi[3], Arezou Kaskani[4]

1. MSc of Phytochemistry, Traditional Complementary Medicine Reasearch Center, Sabzevar University of Medicinal Science, Sabzevar, Iran. (Corresponding Author), Tel: 051-44018319, E-mail: h.rezaeiseresht@gmail.com. ORCID ID 0000-0003-1303-5635
2. MSc, Cellular and Molecular Biology Reasearch Center, Sabzevar University of Medicinal Science, Sabzevar, Iran. ORCID ID: 0000-0001-7925-7797
3. MSc of Developmental Cell Biology, Cellular and Molecular Biology Reasearch Center, Sabzevar University of Medicinal Science, Sabzevar, Iran.
4. MSc of Pharmaceutical Chemistry, Department of Chemistry, Faculty of Science, Islamic Azad University of Sabzevar, Sabzevar, Iran.

ABSTRACT

Background and Aim: One of the spices of compositae is the *Sclerorhachis platyrachis* that is Iranian native. This aromatic plant has been known as bacterial growth inhibitor. This study have been attempted to investigate antioxidant activity and cytotoxicity effect of *Sclerorhachis platyrachis* extractson the MCF-7 cell line.

Materials and Methods: The Hexane (HE), Chloroform (CE), Ethyl acetate (EE), Methanolic extracts (ME) of *Sclerorhachis platyrachis* leaves prepared by usingmaceration method. The DPPH assay was used for determination of antioxidant activity. Also, total phenolic content measured. The cytotoxicity of the extracts on MCF-7 and HEK-293 cells evaluated using MTT assay in both 48h and 72h.

Results: evaluation of antioxidant activity indicated that radical scavenging ability was as ascorbic acid> ME > EE > CE > HE, While, total phenolic content was as CE>ME>EE>HE. The highest and the lowest cytotoxicity against MCF-7 cells were related to CE and ME respectively. Except for ethyl acetate extract, all extract were non toxic on the HEK-293 cells.

Conclusion: Our findings showed that the chloroform extract of aerial part of *Sclerorhachis platyrachis* had the strongest effect against breast cancer carcinoma (MCF-7). Whereas, the extracts of this plant had no cytotoxicity on the normal cells.

Keywords: *Sclerorhachis platyrachis*, Extract, HEK293 cell line, 1,1-DPPH

Received: July 5, 2018 **Accepted:** Oct 21, 2019

How to cite the article: Hasan Rezaei Seresht, Hamid Cheshomi, Leila Sadat Aldaghi, Arezou Kaskani . Antioxidant activity and Cytotoxicity Effect of Various Extracts of *Sclerorhachis platyrachis* on the Human breast adenocarcinoma Cells. SJKU 2020; 25(1): 33-42

Copyright © 2018 the Author (s). Published by Kurdistan University of Medical Sciences. This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-Non Commercial License 4.0 (CCBYNC), where it is permissible to download, share, remix, transform, and buildup the work provided it is properly cited. The work cannot be used commercially without permission from the journal

خاصیت آنتی‌اکسیدانی و اثر سایتوتوکسیک عصاره‌های مختلف گیاه مینای نیشابوری (*Sclerorhachis platyrachis*) بر روی سلول‌های سرطان پستان

حسن رضایی سرشت[۱]، حمید چشمی[۲]، لیلا سادات الداغی[۳]، آرزو کسکنی[۴]

۱. کارشناسی ارشد فیتوشیمی، مرکز تحقیقات طب سنتی و جامع نگر، دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، سبزوار، ایران (نویسنده مسئول)، تلفن: ۴۴۰۱۸۳۹۵-۵۱، پست الکترونیک: h.rezaeiseresht@gmail.com ، کد ارکید: ۰۰۰۰-۰۰۰۳-۱۳۰۳-۵۶۳۵

۲. کارشناسی ارشد، مرکز تحقیقات سلولی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، سبزوار، ایران. کد ارکید: ۰۰۰۰-۰۰۰۱-۷۹۲۵-۷۷۹۷

۳. کارشناسی ارشد زیست شناسی سلولی تکوینی، مرکز تحقیقات سلولی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، سبزوار، ایران.

۴. کارشناسی ارشد شیمی دارویی، گروه شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی سبزوار، سبزوار، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: گیاه مینای نیشابوری یکی از گونه‌های تیره کاسنی (*Compositae*) است که گونه بومی ایران است. این گیاه معطر به عنوان مهارکننده رشد باکتری معرفی شده است. در این مطالعه سعی شده‌است تا اثر آنتی‌اکسیدانی و سمیت سلولی عصاره این گیاه بر روی رده‌سلولی MCF-7 و HEK-293 مورد ارزیابی شود.

مواد و روش‌ها: عصاره‌های هگزانی، کلروفرمی، اتیل استاتی و متانولی اندام هوایی گیاه مینای نیشابوری به روش خیساندن تهیه شد. به‌منظور تعیین خاصیت آنتی اکسیدانی از آزمون DPPH استفاده و همچنین محتوی فنولی کل اندازه‌گیری شد. سمیت سلولی عصاره‌ها بر روی رده‌های سلولی MCF-7 و HEK-293 در دو زمان ۴۸ ساعت و ۷۲ ساعت با استفاده از آزمون MTT مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها: ارزیابی خاصیت آنتی‌اکسیدانی نشان داد که توانایی مهار به صورت اسکوربیک اسید>متانولی>اتیل استاتی>کلروفرمی>هگزانی بوده است. در حالی که محتوی فنولی کل به‌صورت: کلروفرم>متانول>اتیل استات>هگزان بود و بالاترین و کمترین سمیت سلولی به‌ترتیب مربوط به عصاره کلروفرمی و متانولی در مقابل رده‌سلولی MCF-7 بود. تمامی عصاره-ها به جز عصاره اتیل استاتی برروی سلولی HEK-293 فاقد سمیت بودند.

نتیجه‌گیری: یافته‌های ما حاکی از آن است که عصاره کلروفرمی اندام هوایی گیاه مینای نیشابوری، بهترین اثر را در برابر رده-سلولی سرطان پستان (MCF-7) را دارا است. این در حالی است که عصاره‌های گیاه مورد نظر در برابر سلول‌های نرمال HEK-293 سمیتی ندارد.

کلمات کلیدی: *Sclerorhachis platyrachis*، عصاره، رده سلولی HEK293 و 1,1-DPPH

وصول مقاله: ۹۷/۱۱/۱۴ اصلاحیه نهایی: ۹۸/۷/۲۷ پذیرش: ۹۸/۷/۲۹

مقدمه

آنتی اکسیدانت‌ها با فرآیندهای فیزیولوژیکی و پاتولوژیکی که مخصوصاً در آن رادیکال‌های آزاد و گونه‌های فعال تولید می‌شوند مرتبط‌اند. تولید بیش از حد این گونه‌ها در شرایط بیماری باعث ایجاد استرس اکسیداتیو در سلول می‌شود و این در حالی است که سیستم آنتی‌اکسیدانی درون سلول قادر به مقابله با اثرات مخرب ROS همانند آنیون سوپر اکسید ($O_2^{\cdot-}$)، پراکسید هیدروژن (H_2O_2)، رادیکال هیدروکسیل ($OH^{\cdot}$) و اکسیژن یکتایی ($^1O_2$) نیست(۱). استرس اکسیداتیو شامل آسیب به مولکول‌های زیستی نظیر DNA، لیپیدهای غشایی، آنزیم‌ها است که در نهایت منجر به بروز بیماری‌هایی نظیر سرطان و بیماری‌های عصبی وابسته به سن می‌گردد(۳-۲).

اثرات سودمند ترکیبات پلی‌فنولی برروی سلامت انسان در درجه اول از طریق کاهش استرس اکسیداتیو بیان می‌شود. برخی از پلی‌فنول‌های قادر به اعمال اثر ضدآپوپتوتیک، ضد پیری، علاوه بر آن اثر ضد سرطان زایی و یا به طور کلی مهار فرآیندهای تکثیر سلولی می‌باشند(۵-۴).

در سال ۲۰۱۲ سرطان پستان به‌عنوان یکی از علل اصلی مرگ‌ومیر ناشی از سرطان در زنان در سرتاسر جهان، با ۱/۷ میلیون مورد و نیز در حدود نیم‌میلیون مرگ‌ومیر شناخته شده است(۶). این نوع از سرطان با تغییر تدریجی سلول‌های نرمال به سلول‌های سرطانی رخ می‌دهد. استروژن نقش اصلی را در رشد سلول‌های اپی تلیوم پستان و در نتیجه سرطان پستان بازی می‌کند(۷).

جنس *Sclerorhachis* متعلق به خانواده کاسنی چهار گونه بوده که پراکندگی آن‌ها محدود به ایران و افغانستان است(۸). در فلور ایران دو گونه از آن آورده شده است که عمدتاً در شمال شرق کشور یافت می‌شوند(۱۰-۹). *Sclerorhachis platyrachis* یکی از دو گونه انحصاری ایران است که در خراسان رضوی گسترده شده است(۱۴-۱۱). این گونه که روستاهای نزدیک سبزوار یافت می‌شود خواصی نظیر تسکین درد را دارا است(۱۵). با توجه به انحصاری‌بودن و همچنین غنی‌بودن این گیاه از متابولیت-های ثانویه، در این مطالعه بنیادی اثر عصاره‌های هگزانی، کلروفرمی، اتیل استاتی و متانولی برگ و ساقه گیاه مینای نیشابوری *Sclerorhachis platyrachis* بر روی رده-سلولی MCF-7 و HEK293 مورد بررسی قرار گرفت. در تحقیقی که بر روی مواد معطر گیاه صورت گرفته، مشخص شده است که حاوی ترکیبات آلفا پینن، کامفر و بتا پینن است(۱۶). در تحقیقی دیگر که با هدف ارزیابی فیتوشیمایی گونه‌های خراسان صورت گرفت پس از آنالیز وجود آلکالوئید و فلاونوئید و نیز ساپونین وتانن تائید شده است(۱۷). مشخص شده است که گیاه *Sclerorhachis platyrachis* دارای ترکیبات سسکوئی ترپنی و فلاونوئیدی می‌باشد(۱۸). همچنین در پژوهشی دیگر تعیین شده است که *Sclerorhachis platyrachis* فاقد سمیت حاد برروی موش رت است(۱۹). باتوجه به وجود مواد مؤثره جدید و نیز عدم سمیت این گیاه، این پژوهش با هدف ردیابی مواد مؤثره و همچنین تعیین میزان اثر سیتوتوکسیسیتی و آنتی اکسیدانی هر عصاره صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

گیاه مینای نیشابوری از کوه طبس شهر سبزوار جمع‌آوری گردید و عصاره‌گیری شدند. به‌منظور انجام آزمون سمیت سلولی، رده‌های سلولیMCF-7 و HEK293 از بانک سلولی انستیتو پاستور ایران خریداری شد. حلال‌های مورد استفاده در این مطالعه از شرکت مرک خریداری گردید. معرف‌های DPPH و نیز استاندارد های نظیر گالیک اسید و اسکوربیک اسید از شرکت سیگما خریداری شد.

جمع‌آوری گیاه

گیاه مینای نیشابوری *Sclerorhachis platyrachis* در اردیبهشت‌ماه از کوه طبس در شمال شهر سبزوار جمع‌آوری شد. گیاه بدون آسیب خوردگی (به منظور حفظ اسانس گیاه) خشک گردید. سپس عصاره‌گیری توسط روش

خیساندن انجام پذیرفت. به منظور عصاره‌گیری ۳۰ گرم از برگ گیاه مورد نظر، پودر شده و سپس به مدت ۴۸ ساعت سه مرتبه در مجاورت هر بار ۵۰ میلی‌لیتر از حلال‌های هگزان، کلروفرم، اتیل استات و متانول به ترتیب برای تهیه عصاره‌های هگزانی، کلروفرمی، اتیل استاتی و متانولی (در دمای اتاق) قرار گرفت. عصاره‌های به‌دست آمده تحت شرایط خلاء در دستگاه روتاری تغلیظ شد. در نهایت، عصاره خشک به‌دست آمده تا زمان آغاز آزمایش‌های مربوط به کشت سلولی به دور از گرما و نور، در ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد(۲۰).

سنجش MTT

تست تشخیصی MTT، یکی از روش‌های بررسی اثرات سمیت سلولی مواد گوناگون است که پایه و اساس آن، صورت گرفتن واکنش‌های متابولیک خاص در میتوکندری سلول‌های زنده است. در میتوکندری پس از متابولیزه‌شدن ماده MTT تبدیل بلورهای جامد و بنفش رنگ فورمازان می‌شود. با انحلال مقادیر متفاوت از فورمازان در حلال هایی؛ مانند DMSO، محلول‌هایی با درجات طیف وسیعی از رنگ بنفش ایجاد می‌گردد. جذب نوری هر خانه به تعداد سلول‌های زنده متابولیزه کننده MTT مربوط بوده که می‌توان آن را با اندازه گیری جذب نوری این محلول‌ها در طول موج ۵۴۵ نانومتر محاسبه نمود(۲۱).

در مطالعه حاضر، سمیت عصاره‌های مختلف برگ و ساقه گیاه *Sclerorhachis platyrachis* با غلظت‌های ۵،۱۰،۲۰،۳۰،۴۰،۵۰،۷۵،۱۰۰ (غلظت صفر به عنوان کنترل) بر روی سلول‌های سرطانی MCF-7، با استفاده از سنجش MTT مورد ارزیابی قرار گرفت. دو رده سلولی MCF-7 و HEK293 (به‌عنوان سلول نرمال) در محیط RPMI1640 توأم با سرم جنین گاوی ۱۰٪ (FBS)، ۱۰۰ mg/mL استرپتومایسین و ۱۰۰units/ml پنی‌سیلین G کشت داده شد. سلول‌ها در محیط کشت ۳۷ درجه سانتی‌گراد در انکوباتور ۵٪ از گاز CO_2 کشت داده شد. سپس لایه‌سلولی توسط روش آنزیمی تریپسین جدا گردید. در ادامه سلول‌ها پس از شمارش در هر چاهک پلیت ۹۶ خانه با غلظت ۱۰۰۰۰ سلول در هر سانتی‌متر مربع جای گرفتند (۲۰۰ میکرولیتر در هر چاهک). به‌منظور تعیین سمیت عصاره‌ها، سلول‌ها با غلظت‌های بین ۵ تا ۱۰۰ µg/ml از عصاره‌ها تیمار شدند. سپس ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از تیمار، میزان مرگ‌ومیر سلول‌ها با استفاده از دستگاه الیزا ریدر از طریق سنجش مقدار بلور فورمازان تشکیل شده مورد ارزیابی قرار گرفت.

سنجش فعالیت به دام اندازی رادیکال DPPH

به‌منظور تعیین میزان اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های گیاه مینای نیشابوری از عصاره متانولی، غلظت‌های ۱۰، ۲۰، ۴۰، ۸۰، ۱۶۰ و ۳۲۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از هر عصاره تهیه شد. سپس ۱/۵ میلی‌لیتر از عصاره با ۱ میلی‌لیتر محلول متانولی ۰/۰۰۴ درصد DPPH مخلوط گردید. محلول کنترل شامل ۱ میلی‌لیتر DPPH و ۱/۵ میلی‌لیتر متانول است. محلول‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی و در دمای اتاق انکوبه شدند(۲۲). جذب نمونه‌ها در ۵۱۷ نانومتر در مقابل شاهد متانول به کمک دستگاه اسپکتروفوتومتر خوانده شد و در نهایت درصد مهار رادیکال آزاد (I%) هر عصاره به کمک فرمول زیر مورد محاسبه قرار گرفت:

$$\%I = (A_{control} - A_{sample}) / A_{control} \times 100$$

بر اساس اطلاعات حاصل، IC_{50} عصاره (غلظتی از سوبسترا بر حسب میلی‌گرم بر میلی‌لیتر که برای احیای رادیکال DPPH به میزان ۵۰٪ اولیه نیاز است)، از نمودار درصد مهار در مقابل غلظت‌های مختلف عصاره به‌دست آمد. در آزمون فوق از اسکوربیک اسید به عنوان کنترل مثبت استفاده شد.

تعیین محتوای فنولی کل (TPC)

محتوای فنولی کل عصاره‌ها با استفاده از معرف فولین-سیوکالتیو بر طبق روش بیان شده توسط منابع زیر انجام گرفت(۲۴-۲۳). به‌صورت مختصر، ۰/۵ میلی لیتر از FCR

(۱۰ درصد در آب مقطر) به ویالی که شامل ۰/۵ میلی‌لیتر از هر عصاره (۸۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) بود اضافه گردید و سپس به مخلوط ۱/۵ میلی لیتر آب مقطر اضافه شد. مخلوط به شدت هم زده شد. بعد از ۵ دقیقه، ۲ میلی‌لیتر از محلول کربنات سدیم ۱۰ درصد اضافه گردید و مخلوط تکان داده شد. مخلوط در تاریکی به مدت ۲ ساعت در دمای اتاق قرار داده شد. جذب در طول موج ۷۶۰ نانومتر با اسپکتروفوتومتر UV-VIS اندازه گیری شد. آنالیز با سه تکرار صورت گرفت. با استفاده از همین روش منحنی استفاده گالیک اسید در محدوده غلظتی ۵ تا ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر گالیک اسید رسم شد و مقدار کل ترکیبات فنولی عصاره‌های هگزانی، کلروفرمی، اتیل استاتی و متانولی بر حسب میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم عصاره‌ها محاسبه گردید.

تجزیه و تحلیل آماری

نتایج به‌دست آمده در این تحقیق با نرم افزار Excel نسخه ۲۰۱۳ و نرم افزار Graphpad prism نسخه ۶ انجام شد و با استفاده از آزمون آماری one-way ANOVA نتایج آنالیز شد. تمامی اندازه‌گیری‌ها در ۴ تکرار و تمامی اطلاعات به صورت میانگین ± انحراف استاندارد از میانگین گزارش شد.

یافته‌ها

فعالیت مهار DPPH

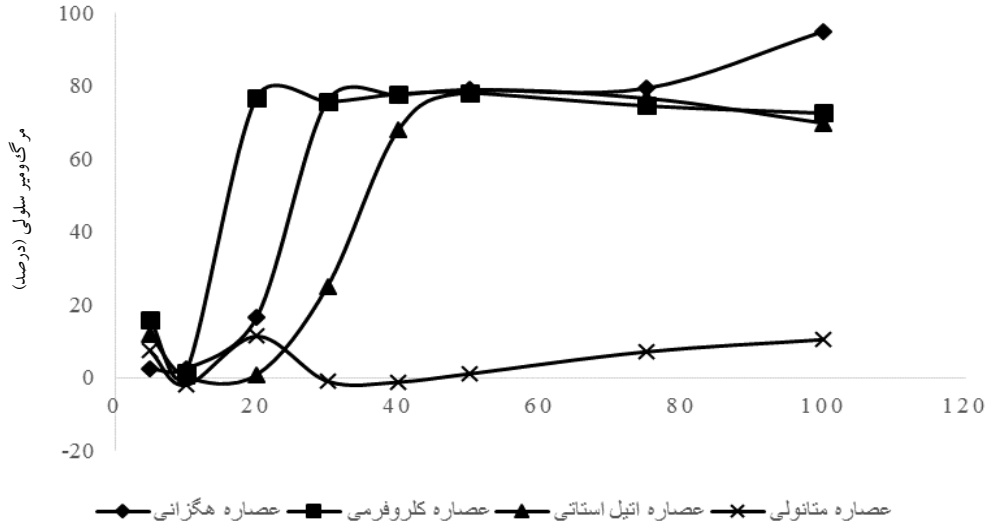
از این روش به‌خاطر اینکه مدت زمان انجام آن نسبتاً کوتاه است، به‌طور گسترده به‌منظور پیش‌بینی فعالیت آنتی‌اکسیدانی استفاده می‌شود. روش مذکور بر مبنای کاهش محلول DPPH الکلی در حضور آنتی‌اکسیدان‌های با قابلیت دهندگی هیدروژن و تشکیل DPPH-H غیر رادیکالی است(۲۵). نتایج حاصل از آزمون DPPH بر روی عصاره‌های هگزانی، کلروفرمی، اتیل استاتی و متانولی اندام هوایی مینای نیشابوری (*Sclerorhachis platyrachis*) نشان می‌دهد که این عصاره‌ها قابلیت مهار رادیکال‌های آزاد ناشی از DPPH را دارند (جدول ۱).

جدول ۱. میزان مهار رادیکال‌های آزاد عصاره‌های هگزانی، کلروفرمی، اتیل استاتی و متانولی با استفاده از روش مهار DPPH

عصاره	درصد مهار نیمی از رادیکال‌های آزاد DPPH (IC_{50})
هگزانی	----
کلروفرمی	----
اتیل استاتی	۲۵۵/۳۱±۷/۷۲
متانولی	۱۲۴/۰۷±۳/۳۹
اسکوربیک اسید	۲/۲۶±۰/۰۷

*اسید اسکوربیک به عنوان کنترل مثبت استفاده گردید.

شکل ۱. درصد مرگ‌ومیر سلولی پس از اثر ۴۸ ساعت عصاره‌های هگزانی، کلروفرمی، اتیل استاتی و متانولی اندام هوایی مینای نیشابوری (*S. platyrachis*) بر روی رده‌سلولی MCF-7



شکل ۲. درصد مرگ‌ومیر سلولی پس از اثر ۷۲ ساعت عصاره‌های هگزانی، کلروفرمی، اتیل استاتی و متانولی اندام هوایی مینای نیشابوری (*S. platyrachis*) بر روی رده‌سلولی MCF-7

محتوای کل فنولی

محتوای کل فنولی در عصاره‌های تعیین و بر مبنای گالیک اسید معادل بیان شد. مقادیر محاسبه شده ترکیبات فنولی موجود در عصاره‌های هگزانی، کلروفرمی، اتیل استاتی و متانولی اندام هوایی مینای نیشابوری (*S. platyrachis*) به ترتیب ۱/۱۱±۲۶/۸۴، ۵/۲۱±۵۹/۰۹، ۶/۰۵±۳۹/۴۸ و ۵/۲۸±۴۰/۴۱ محاسبه گردید.

سمیت سلولی

نمودار ۱ و ۲ نتایج حاصل از سنجش رنگ MTT با اندازه گیری جذب نوری (OD) بر اساس غلظت عصاره در مقایسه با میزان تکثیر مولکولی می‌دهد. درصد سلول‌های زنده تحت تأثیر عصاره نسبت به سلول‌هایی که عصارهای دریافت نکرده بودند با استفاده از فرمول ذیل محاسبه گردید(۲۶).

$$\text{Cell Viability (\%)} = \frac{\text{جذب نوری نمونه}}{\text{جذب نوری کنترل}} \times 100$$

بالاترین اثر سمیت سلولی بر روی رده سلولی MCF7 در ۴۸ و ۷۲ ساعت مربوط عصاره کلروفرمی به ترتیب با IC50 برابر با ۰/۵۲±۱۰/۹۶ و ۱/۶۷±۱۶/۰۳ میکروگرم بر میلی‌لیتر تعیین شد. عصاره متانولی با کمترین اثر سمیت سلولی در هر دو زمان ۴۸ و ۷۲ فاقد سمیت بود (شکل۱). همچنین بالاترین سمیت عصاره بر روی رده سلولی نرمال HEK293 در ۴۸ ساعت مربوط عصاره کلروفرمی ۰/۸۹±۵۴/۲۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر به‌دست آمد. عصاره‌های متانولی و هگزانی با کمترین اثر سمیت سلولی فاقد IC_{50} ارزیابی شد. با تأثیر عصاره‌ها بر روی رده‌سلولی نرمال HEK293 در ۷۲ ساعت عصاره اتیل استاتی بالاترین سمیت را با IC_{50} =۴/۱۳±۶۲/۷۱ دارا بود.

بحث

نقش ترکیبات فنولی به عنوان مهارکننده‌های رادیکال آزاد به‌طور گسترده گزارش شده است. ترکیبات فنولی نقش اساسی در فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان ایفا می‌کنند(۲۸و۲۷). این پیشنهاد مطرح شده است که در انسان، هنگامی که ترکیبات فنولی به‌صورت روزانه مصرف شوند، اثرات مهاری بر جهش‌زایی و سرطان‌زایی دارند. به نظر می‌رسد که ترکیبات فنولی نقش مهمی در پایدارسازی اکسیداسیون لیپیدها دارند(۲۹). نتایج نشان می‌دهد از میان عصاره‌ها عصاره متانولی قدرت مهارکنندگی بیشتری در مقابل رادیکال‌های آزاد DPPH از خود نشان داد. همچنین محتوای فنولی کل عصاره کلروفرمی از تمامی عصاره‌های دیگر بیشتر است و در این بین عصاره هگزانی کمترین مقدار را به‌خود اختصاص داده است. این نتایج می‌تواند با حضور ترکیبات مؤثره‌ای همچون ترکیبات فنولی که اثرات بیولوژیکی گوناگونی از جمله توانایی مهار جهش‌زایی در سلول‌های انسان را دارند، مرتبط باشد. نتایج تستMTT برروی سلول‌های پستان MCF-7 نشان می‌دهد که عصاره کلروفرمی دارای قدرت مهار کنندگی بالاتری است(۳۰). نکته‌ای که در داده‌ها مشهود است این است که IC_{50} به‌دست آمده در ۷۲ ساعت اثر عصاره‌ها بالاتر از ۴۸ ساعت است که می‌تواند ناشی از این موضوع باشد که عصاره در ساعت‌های آغازی تاثیر، کشندگی بیشتری در برابر سلول‌های سرطانی را داشته؛ اما به خاطر نداشتن اثر کافی بر روی فرآیند رشد، توانایی ممانعت از رشد و تکثیر سلول‌های سرطانی باقی‌مانده را نداشته است. همچنین در بین عصاره‌ها، پس از ۴۸ ساعت فقط عصاره کلروفرمی و اتیل استاتی از خود اثر سمیت برروی سلول‌های نرمال HEK293 نشان دادند، در حالی‌که پس از ۷۲ ساعت، اثر کشندگی فقط برای عصاره اتیل استاتی مشاهده شد. با توجه به نتایج سمیت عصاره‌های گیاه از میان عصاره‌های گیاه *S. platyrachis* می‌توان این‌طور نتیجه گرفت که عصاره کلروفرمی از سمیت بالایی در مقابل سلول‌های سرطان دارد و این در حالی است که این گیاه هیچ سمیتی بر روی سلول نرمال HEK293 ندارد. در مطالعه پیشین نشان داده شده است که اندام هوایی گیاه *S. platyrachis* دارای اسانس

بوده که عمدتاً بتا-پینن، گاما-ترپینن، پارا سیمن و لیمونن می‌باشند(۱۵). مطالعه‌ای که Sonboli و همکاران (۲۰۱۴) بر روی اسانس گونه *S.leptoclada* انجام دادند ترکیبات نرولیدول، ترپینن-۴-اول، کامفر، ۸ و ۱-سینئول و پارا سیمن در اسانس این گیاه شناسایی شد. اسانس *S.leptoclada* اثر سایتوتوکسیک کمی بر روی رده‌های سلولی Vero، SW480، MCF-7، JET 3 داشته است(۳۱). همچنین مشخص شده است که پارا-سیمن و گاما-ترپینن سمیت سلولی قابل ملاحظه‌ای در برابر سلول‌های سرطان پستان MCF-7 از خود نشان می‌دهند. همچنین ترکیبات فلانوئیدی نظیر پندولتین و اوندلتین در عصاره کلروفرمی *S. platyrachis* یافت شده است که در این میان پندولتین اثر متوسطی را از خود بر روی رده سلولی MCF-7 نشان داده است(۳۲).

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج به‌دست آمده می‌توان گفت عصاره متانولی گیاه مینای نیشابوری از پتانسیل بالایی برای مهار رادیکال‌های آزاد و پیشگیری از سرطان پستان را داراست. در حالی‌که عصاره کلروفرمی احتمالاً به خاطر حضور ترکیبات پلی فنولی و همچنین ترکیبات معطر اثر سمیت بالایی بر روی رده‌های سرطان پستان دارد. نکته قابل توجه این است که عصاره کلروفرمی فاقد سمیت بر روی سلول-های نرمال است. از این‌رو با مطالعات بیشتر در خصوص ترکیبات مؤثره این گیاه و مکانیسم اثر آن، از این گیاه برای درمان سرطان بهره برد.

تشکر و قدردانی

تحقیق حاضر در قالب طرح تحقیقاتی و با کد طرح ۹۲۰۲۳ در تاریخ ۱۳۹۲ در دانشگاه علوم پزشکی سبزوار و مرکز تحقیقات سلولی مولکولی صورت گرفت. بدین‌وسیله از معاونت محترم تحقیقات و فناوری و کلیه همکارانی که در انجام این تحقیق یاری رساندند، تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

منابع

1. Halliwell B, Gutteridge J. M. C. Free Radicals in Biology and Medicine. 4th. Oxford, UK: Clarendon Press; 2007.
2. Gandhi S, Abramov AY. Mechanism of oxidative stress in neurodegeneration. Oxid Med Cell Longev. 2012; 3:11-22
3.Thanan R, Oikawa S, Hiraku Y, Ohnishi S, Ma N, Pinlaor S, Yongvanit P, Kawanishi S, Murata M. Oxidative stress and its significant roles in neurodegenerative diseases and cancer. Int J Mol Sci. 2014; 16(1):193-217.
4. Cardador-Martinez A, Albores A, Bah M, Calderon-Salinas V, Castano-Tostado E, Guevara-Gonzalez R, Shimada-Miyasaka A, Loarca-Pina G. Relationship among antimutagenic, antioxidant and enzymatic activities of methanolic extract from common beans (Phaseolus vulgaris L). Plant Foods Hum Nutr. 2006; 61(4):161-8.
5.Kalogeropoulos N, Chiou A, Ioannou M, Karathanos VT, Hassapidou M, Andrikopoulos NK. Nutritional evaluation and bioactive microconstituents (phytosterols, tocopherols, polyphenols, triterpenic acids) in cooked dry legumes usually consumed in the Mediterranean countries. Food Chem. 2010; 121(3):682-90.
6.Torre LA, Bray F, Siegel RL, Ferlay J, Lortet-Tieulent J, Jemal A. Global cancer statistics, 2012. CA Cancer J Clin. 2015; 65(2):87-108.
7. May FE. Novel drugs that target the estrogen-related receptor alpha: their therapeutic potential in breast cancer. Cancer Manag Res. 2014; 6:225-52.

8. Oberprieler C, Vogt R and Watson LE. In: Kadereit JW and Jeffrey C. (eds.). The families and genera of vasicular plants, Flowering Plants, Eudicots Asterales Germany, Springer, 2006: 8: 342-74.
9. Podlech D. In: Rechinger KH (eds.) Flora Iranica Graz Austria: Akademische Druck u. Verlagsanstalt, 1986: 158: 88-148.
10Mozaffarian V. Sclerorhachis. In: Assadi M, Maassoumi AA and Mozaffarian V (eds.), Flora of Iran, Compositae: Anthemideae and Echinopeae Tehran Iran: Reasearch Institute of Forests and Rangelands, 2008: 59: 63-66.
11. Iranshahr, M. Sclerorhachis rechingeri (Asteraceae-Anthemideae), a new species from N. Khorasan. Plant Syst. Evol. 1979; 132: 149–52.
12. Mozaffarian, V. Dictionary of Iranian Plant Names. Farhang Moaser Publishers, Tehran, Iran, 1996: 491.
13. Rechinger, K.H. Sclerorhachis. In: Rechinger, K.H., Hedge, I.C. (Eds.), Flora Iranica, Compositae, Akademische Druck and Verlagsanstalt, Graz, Austria, 1986: 158.
14. Rechinger KH. Sclerorhachis leptoclada (Asteraceae-Anthemideae), eine neue Art aus dem südlichen Khorasan/Sclerorhachis leptoclada (Asteraceae-Anthemideae), a New Species from Southern Khorasan. Plant Syst. Evol. 1981; 138: 297–9.
15. Akhlaghi H, Mahdavi B, Rezaei H. Sclerorhachis platyrachis (Boiss.) Podlech Ex Rech. F.: an Indigenous Medicinal Plant from Northeastern Iran; Essential Oil Composition, Total Flavonoid Content and Antioxidant Activity. Journal of Chemical Health Risks. 2015; 5(2).
16. Aghajani Z, Masoudi S, Rustaiyan A. Volatile oils of Anthemis talyshensis A. Fedor. and Sclerorhachis platyrachis (Boiss.) Podlech ex Rech. f. from Iran. Journal of Essential Oil Research. 2005; 17(4):355-7.
17. Fazly Bazzaz BS, Haririzadeh G, Imami SA, Rashed MH. Survey of Iranian plants for alkaloids, flavonoids, saponins, and tannins [Khorasan Province]. International journal of pharmacognosy. 1997; 35(1):17-30.
18. Habibi Z, Kheyrabadi R, Ghasemi S, Yousefi M, Ng SW. A new sesquiterpenoid from Sclerorhachis platyrachis (Boiss.) Podlech ex Rech. f. Phytochem Lett. 2012; 5(4):705-7.
19. Rezaei Seresht H, Cheshomi H, Hossein Zadeh Hesari M, Azarshab A, Landarani M. Evaluation of Intraperitoneal LD50 of Methanolic Extract of Aerial Parts of Sclerorhachis platyrachis in Rats. New Cellular and Molecular Biotechnology Journal. 2017; 7(26):35-42.
20. Moloudi MR, Hassanzadeh K, Rouhani S, Zandi F, Ahmadi A, Khalwatian P, et al. Effect of chloroformic extract of Cichorium intybus on liver function tests and serum level of TNF-α in obstructive cholestasis in rat. Scientific Journal of Kurdistan University of Medical Sciences. 2014; 19(4): 10-19
21. Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. J. Immunol. Methods. 1983; 65(1-2):55-63.
22. Yen G-C, Chen H-Y. Antioxidant activity of various tea extracts in relation to their antimutagenicity. J Agr Food Chem. 1995; 43(1):27-32.
23.Liu X, Ardo S, Bunning M, Parry J, Zhou K, Stushnoff C, et al. Total phenolic content and DPPH radical scavenging activity of lettuce (Lactuca sativa L.) grown in Colorado. LWT-Food Sci Technol. 2007; 40(3):552-7.
24. Zhao JJ, Yan XJ, Chai XL, Martella V, Luo GL, Zhang HL, Gao H, Liu YX, Bai X, Zhang L, Chen T. Phylogenetic analysis of the haemagglutinin gene of canine distemper virus strains detected from breeding foxes, raccoon dogs and minks in China. Vet Microbiol. 2010;140(1-2):34-42.

25. Gülçin İ. Antioxidant and antiradical activities of L-carnitine. Life Sci. 2006; 78(8):803-11.
26. Carmichael J, DeGraff WG, Gazdar AF, Minna JD, Mitchell JB. Evaluation of a tetrazolium-based semiautomated colorimetric assay:assessment of chemosensitivity testing. Cancer Res. 1987; 47(4): 936-42.
27. Komali AS, Zheng Z, Shetty K. A mathematical model for the growth kinetics and synthesis of phenolics in oregano (Origanum vulgare) shoot cultures inoculated with Pseudomonas species. Proc. Biochem. 1999; 35(3-4): 227-35.
28. Møller JK, Madsen HL, Aaltonen T, Skibsted LH. Dittany (Origanum dictamnus) as a source of water-extractable antioxidants. Food Chem. 1999; 64(2):215-9.
29. Tanaka M, Kuei CW, Nagashima Y, Taguchi T. Application of antioxidative maillrad reaction products from histidine and glucose to sardine products. Nippon Suisan Gakk. 1998; 54(8):1409-14.
30.Husein AI, Ali-Shtayeh MS, Jondi WJ, Zatar NA-A, Abu-Reidah IM, Jamous RM. In vitro antioxidant and antitumor activities of six selected plants used in the Traditional Arabic Palestinian herbal medicine. Pharm. Biol. 2014;52(10):1249-55.
31. Sonboli A, Mirjalili MH, Hadian J, Yousefzadi M. The biological activity and composition of the essential oil of Sclerorhachis leptoclada (Asteraceae-Anthemideae) from Iran. Iran J Pharm Res. 2014;13(3):1097.
32. Bai N, He K, Zhou Z, Lai CS, Zhang L, Quan Z, et al. Flavonoids from Rabdosia rubescens exert anti-inflammatory and growth inhibitory effect against human leukemia HL-60 cells. Food Chem. 2010; 122(3):831-5.