Journal of North Khorasan
University of Medical Sciences
No 42, Volume 11, Issue 2

Research Article

Evaluation of Cell Toxicity Effect and Capacity of Free Radical Inhibitory by Methanol Extract of *Johreniopsis stricticaulis* on MCF-7 Cell Line in Pre and Past Flowering Stages

Peyman Feyzi [1], Ali Haghbin [2], Ali Nazari [2], Jamal Kasaian [3], Hasan Hassani [4,*]

[1] PhD Student of Organic Chemistry, Department of chemistry, Payam Noor university of Mashhad, Mashhad, Iran
[2] Assistant Professor, Natural Products and Medicinal Plants Research Center, North Khorasan University of Medical Sciences, Bojnurd, Iran
[3] Phd of Biotechnology, Natural Products and Medicinal Plants Research Center, Bojnurd, Iran
[4] Assistant Professor, Department of chemistry, Payam Noor University of Tehran, Tehran, Iran
*** Corresponding author:** Hasan Hassani, Assistant Professor, Department of Chemistry, Payam Noor University of Tehran, Tehran, Iran. Email: hassaniir@yahoo.com

DOI: 10.29252/nkjmd-110316

How to Cite this Article:
Feyzi P, Haghbin A, Nazari A, Kasaian J, Hassani H. Evaluation of Cell Toxicity Effect and Capacity of Free Radical Inhibitory by Methanol Extract of *Johreniopsis stricticaulis* on MCF-7 Cell Line in Pre and Past Flowering Stages. *J North Khorasan Univ Med Sci*. 2019;**11**(2):107-112. DOI: 10.29252/nkjmd-110216

Received: 02 Jun 2019
Accepted: 17 Aug 2019

Keywords:
Johreniopsis stricticaulis
Antioxidant
Total Phenolic Content
Cytotoxicity
MCF- 7 Cell Lines

Abstract

Introduction: Plants have a range of phenolic compounds that have antioxidant properties and these natural antioxidants reduce the risk of cancer by protecting cells and increasing the strength of antioxidants in the plasma. The aim of this study was evaluated cytotoxicity effects of methanol extract of *Johreniopsis stricticaulis* on MCF-7 cell line.

Methods: After collection of *Johreniopsis stricticaulis*, the plant was dried and powdered. Methanol extract was obtained by maceration method. Antioxidant activity and total phenolic content were evaluated by DPPH and folin-ciocalteu methods; cytotoxic effect on MCF-7 was evaluated by MTT method.

Results: The methanolic extract of the plant in the pre flowering stage had a higher phenol content and this extract had higher antioxidant activity. Cytotoxicity effect was measured at different times (24, 48, 72 hours); methanol extract in pre-flowering stage possessed no inhibitory effect on cell growth, but in past-flowering stage was effective (IC50 ≥ 300μg/ml, 234.1 ± 6.1, 246.3 ± 5.5).

Conclusion: The results of this study showed that plant collection stage is effective on plant characteristics, this is due to the type of compounds in plant. As the plant passes from the flowering stage, some of the compounds may be destroyed. On the other hand, due to little cytotoxic effect on this cell line; so cytotoxic effect on other cell lines were recommended.

مجله دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی
دوره ۱۱، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۸

مقاله پژوهشی

بررسی اثر سمیت سلولی و ظرفیت مهار کنندگی رادیکال آزاد توسط عصاره متانولی گیاه *Johreniopsis stricticaulis* بر روی رده سلولی MCF-7 در دو مرحله قبل و بعد از گلدهی

پیمان فیضی [۱]، علی حق بین [۲]، علی نظری [۲]، جمال کسائیان [۳]، حسن حسنی [۴،*]

[۱] دانشجوی دکترای شیمی آلی، گروه شیمی، دانشگاه پیام نور مشهد، مشهد، ایران
[۲] استادیار، مرکز تحقیقات فرآورده‌های طبیعی و گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، بجنورد، ایران
[۳] دکترای بیوتکنولوژی، مرکز تحقیقات فرآورده‌های طبیعی و گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، بجنورد، ایران
[۴] استادیار، گروه شیمی، دانشگاه پیام نور تهران، تهران، ایران
* **نویسنده مسئول:** حسن حسنی، استادیار، دانشگاه پیام نور تهران، تهران، ایران. ایمیل: hassaniir@yahoo.com

DOI: 10.21859/nkjms-110316

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۳/۱۲
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۵/۲۶

واژگان کلیدی:
Johreniopsis stricticaulis
آنتی اکسیدان
فنل کل
سمیت سلولی
رده سلولی MCF-7

چکیده

مقدمه: گیاهان دارای گستره‌ای از ترکیبات فنلی هستند که از خواص آنتی اکسیدانی برخوردارند و این آنتی اکسیدانهای طبیعی با حفاظت از سلولها ابتلا به سرطان را کاهش می‌دهند. هدف از این مطالعه بررسی اثرات سمیت سلولی عصاره متانولی گیاه *Johreniopsis stricticaulis* بر روی رده سلولی MCF-7 می‌باشد. پژوهش حاضر، اولین مطالعه بر روی این گونه گیاهی می باشد.

روش کار: گیاه *Johreniopsis stricticaulis* پس از جمع آوری، در مجاورت هوا خشک و پودر گردید. عصاره متانولی به روش خیساندن تهیه شد. فعالیت آنتی اکسیدانی با روش مهار رادیکال آزاد(DPPH) ، محتوای فنل کل با روش فولین-سیوکالتیو و ارزیابی اثر سمیت سلولی بر رده سلولی MCF-7 با روش MTT مورد سنجش قرار گرفت.

یافته‌ها: عصاره متانولی گیاه در مرحله قبل گلدهی از محتوای فنل بیشتری برخوردار بوده و این عصاره خاصیت آنتی اکسیدانی بیشتری را دارا بود. در بررسی خاصیت سمیت سلولی، اثر سمیت سلولی طی زمانهای مختلف ۲۴، ۴۸، ۷۲ ساعته سنجیده شد; عصاره متانولی قبل گلدهی در تغییر روند رشد سلول تاثیری نداشته ولی عصاره گیاه در مرحله بعد از گلدهی با گذر زمان، بر روی رشد سلول تأثیر داشته و باعث عدم رشد آن شد (IC_{50}=۲۳۴ /۱±۶/۱، ۲۴۶/۳ ±۵/۵،>۳۰۰µg/ml).

نتیجه گیری: نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان داد که مرحله جمع آوری گیاه بر روی خصوصیات گیاه مؤثر است که این به دلیل نوع ترکیبات موجود در گیاه می‌باشد، به طوریکه با گذر گیاه از مرحله گلدهی، ممکن است تعدادی از ترکیبات از بین بروند. از طرفی با توجه به اینکه گیاه اثر سمیت سلولی چندانی را بر روی این رده سلولی نداشت، لذا توصیه می‌شود که در بررسی‌های آینده از رده‌های سلولی دیگر استفاده شود.

مقدمه

سرطان یک بیماری است که به رشد غیر قابل کنترل بافت که در نتیجه عدم تعادل بین تقسیم سلولی و پدیده آپوپتوز به خاطر عوامل پیچیده به وجود می‌آید، اطلاق می‌شود [۱]. این بیماری یکی از علل عمده مرگ و میر در سراسر جهان است [۲]. در ایران بعد از بیماری قلبی و عروقی و تصادفات سومین عامل مرگ و میر می‌باشد [۳]. از بین سرطانهای زنان، سرطان پستان با توجه به اینکه شایعترین نوع سرطان و بعد از سرطان ریه دومین عامل مرگ ومیر در بین زنان است مهمترین عامل نگران کننده سلامتی محسوب می‌شود [۴]. سلول‌های MCF-7 بسیاری از ویژگیهای اپی تلیوم پستانداران نظیر توانایی پردازش استرادیول از طریق گیرنده‌های استروژنی سیتوپلاسمی را دارا می‌باشند [۵]. سلول MCF-7 مدلی مقاوم به داروی های شیمی درمانی رایج مانند دوکسوروبیسین می‌باشد و علیرغم تحقیقات بسیار در مورد سرطان و درمان آن، هنوز هم این بیماری به عنوان یکی از بزرگترین مشکلات سلامت جوامع انسانی مطرح می‌باشد. با توجه به این که داروهای شیمیایی مورد استفاده در درمان سرطان، علاوه بر ایجاد مقاومت دارویی، دارای اثرات جانبی نیز می‌باشند، مطالعه و بررسی عواملی با منشاءطبیعی، مانند ترکیبات به دست آمده از گیاهان که اثرات مضر کمتری دارند، یکی از مهمترین اهداف تحقیق در حوزه درمان سرطان است [۶]. مشخص شده است که مصرف برخی فراورده‌های غذایی به دلیل دارا بودن خواص آنتی اکسیدان در جلوگیری از بروز سرطان نقش مؤثری دارند، بنابراین تلاش برای یافتن داروهای مؤثرتر و با

عوارض جـانبی کمتـر در مـورد سرطانها با استفاده از گونه‌های بومی مورد توجه می‌باشد. گیاهان دارای گستره‌ای از ترکیبات فنلی هستند که از خواص آنتی اکسیدانی برخوردارند و این آنتی اکسیدانهای طبیعی از پیشرفت سرطان جلوگیری می‌کنند و عوارض کمتری دارند [۷]. از طرفی دیگر با توجه بـه مصـرف خـوراکی، ارزان بودن و دسترسی آسان عموم به فـراورده گیـاهی، در ایـن تحقیـق بـرآن شـدیم تـا اثربخشـی گونه J. stricticaulis را بر روی سرطان سینه بررسی کنیم. گیاه*Johreniopsis* از تیره جعفریان و بومی ایران می‌باشد این جنس دارای ۴ گونه است که شامل *J. oligactis. J, scopari, J. seseloides* و *Johreniopsis stricticaulis* می‌باشد. در مطالعه‌ای خاصیت آنتی باکتریال عصاره غیر قطبی ریشه *J. stricticaulis* مورد بررسی قرار گرفت که نتیجه حاصل مؤثر بودن این گیاه را بر روی Staphylococcus epidermidis، Escherichia coli و غیر فعال بودن آن بر روی *Pseudomonas aeruginosa* .را نشان داد [۸]. در بررسی دیگر، ترکیبات موجود در اسانس گونه *J. seseloides* جدا شد که نتایج نشان داد ترکیبات عمده اسانس گیاه شامل β-pinene و germacrene D می‌باشد [۹]. با توجه به اینکه ترکیبات فلاونوئیدی، مانیتول، کومارین ها و تری ترپن ها در این جنس موجود می‌باشد، لذا با توجه به امکان وجود این ترکیبات در این گونه گیاهی، مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر سمیت سلولی و مهار کنندگی رادیکال آزاد توسط عصاره متانولی گونه *J. stricticaulis* بر روی رده سلول سرطانی ۷ MCF-انجام شد، از طرفی با توجه به اینکه مرحله جمع آوری گیاه می‌تواند بر روی محتویات مواد مؤثره گیاهان اثر بگذارد، بنابراین در این مطالعه مرحله قبل و بعد از گلدهی را بر روی این رده سلولی بررسی کردیم. تاکنون هیچ گونه‌ای مطالعه‌ای بر روی این گونه دارویی بومی ایران انجام نشده است.

روش کار

جمع آوری گیاه و عصاره گیری

اندام هوایی گونه گیاهی *J. stricticaulis* در دو مرحله قبل و بعد از گلدهی (اردیبهشت و تیر ۱۳۹۷) از گردنه الله اکبر قوچان جمع آوری گردید و توسط هرباریوم دانشگاه فردوسی مشهد شناسایی شد (۴۳۲۶۵) (FUMH شکل ۱). جهت عصاره گیری از روش خیساندن استفاده شد. در این روش مقدار ۳۰۰ گرم پودر گیاه در ۵۰۰ میلی لیترحلال متانول مدت ۴۸ ساعت خیسانده شد. بعد از ۴۸ ساعت محلول‌ها از صافی رد شده و به روتاری منتقل شد و سپس عصاره به دست آمده را در آون ۴۰ درجه خشک گردید. بازده عصاره گیری از گیاه جمع آوری شده در دو مرحله رویشی قبل و بعد از گلدهی به این صورت می‌باشد که در مرحله قبل گلدهی بازده عصاره گیری ۳/۵٪ و در مرحله بعد گلدهی ۴/۰۶٪.

تصویر ۱. گیاه *Johreniopsis stricticaulis*

بررسی سمیت سلولی

رده‌های سلولی سرطانی در شرایط مطلوب کشت داده شده و در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد داخل انکوباتور CO_2 نگهداری شدند. برای انجام تست‌های مختلف، زمانی که حداقل ۷۰٪ سلول‌ها در فلاسک کشت به حالت رشد مناسب رسیدند از ته فلاسک جدا شدند. سلول‌ها به تعداد ۵×۱۰۳ در هر چاهک پلیت ۹۶ خانه‌ای ریخته شدند. و بصورت گروه‌های مختلف تست با غلظت‌های متفاوت عصاره متانولی گیاه (۵ تا ۲۰۰ میکروگرم در میلی لیتر) به مدت ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه و محیط کشت مناسب تیمار شدند. همچنین از سلولهای تیمار نشده با عصاره به عنوان گروه کنترل استفاده شد. اثر سایتوتوکسیسیتی بر سلولهای سرطانی با استفاده از تست (MTT) Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide سنجیده شد. اساس روش MTT، شکستن نمک تترازولیوم

توسط آنزیم سوکسینات دهیدروژناز میتوکندریایی سلول‌های زنده است. نتیجه این فعالیت ایجاد بلورهای فورمازان ارغوانی رنگ می‌باشد که توسط دی متیل سولفوکساید به صورت محلول در می‌آیند. هر چه سلول‌ها فعال‌تر و تعدادشان بیشتر باشد میزان رنگ ایجاد شده بیشتر خواهد بود. بدین منظور غلظت‌های مختلف تهیه می‌شود. ۱۰۴ عدد سلول به صورت گروه‌های مختلف در هر چاهک میکروپلیت ۹۶ خانه‌ای ریخته شده و به مدت ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت با غلظت‌های مختلف عصاره متانولی گیاه و کنترل مثبت تیمار شدند. سپس ۲۵ میکرولیتر از محلول MTT با غلظت ۵ میلی گرم بر میلی لیتر به هر چاهک افزوده شده و به مدت ۳ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه شدند. سپس ۲۰۰ میکرولیتر از Dimethyl sulfoxide (DMSO) به هر چاهک اضافه شد. پلیت به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق قرار داده شده و سپس جذب نمونه‌ها با استفاده از الایزا ریدر در طول موج ۵۴۵ نانومتر در مقابل بلانک DMSO خوانده شد و درصد زیستایی سلولی با استفاده از فرمول زیر به دست آمد:

فرمول (۱) درصد زیستایی سلول = جذب نوری کنترل/ جذب نوری نمونه × ۱۰۰

درصد زیستایی سلول برای تعیین مقادیرIC50 به کار می‌رود که عبارتست از غلظت یک ترکیب که باعث مهار ۵۰ درصدی رشد سلولهای تیمار شده در مقایسه با کنترل می‌شود.

بررسی ظرفیت مهار کنندگی رادیکال آزاد

برای بررسی ظرفیت مهار کنندگی رادیکال آزاد از روش-1 diphenyl-picrylhydrazyl (DPPH)استفاده شد. به این صورت که ابتدا ۰/۱ ml از محلول متانولی نمونه مورد نظر (در غلظت‌های ۲/۵، ۳/۱۲۵، ۵، ۶/۲۵، ۱۲/۵، ۲۵،mg/ml) در یک لوله آزمایش ریخته شد. سپس به آن ۱/۰ ml محلول متانولی DPPH اضافه گردید (۰/۲ میلی مولار که در محیط تاریک نگهداری شود). محتویات هر لوله توسط ورتکس کاملاً مخلوط و پس از گذشت ۳۰ دقیقه، در دمای اتاق و در تاریکی جذب آنها در طول موج 490 nm با استفاده از دستگاه میکروپلیت ریدر (الایزا ریدر) در برابر بلانک حاوی متانول خوانده شد. هر چه قدرت آنتی اکسیدان نمونه بیشتر باشد رنگ محلول حاصل زردتر است. درصد مهار اکسیداسیون هر نمونه به وسیله معادله زیر قابل محاسبه است:

فرمول (۲) $\%AI = (A_{control} - A_{sample}) / A_{control} \times 100$

A control: جذب محلول کنترل در ۵۱۷ نانومتر

A sample: جذب نمونه در ۵۱۷ نانومتر

با رسم منحنی I% در مقابل غلظت‌های مختلف عصاره، مقدار IC_{50}(غلظتی از سوبسترا برحسب میلی‌گرم بر میلی‌لیتر که برای کاهشDPPH به میزان ۵۰٪ مقدار اولیه نیاز است)، برای هر عصاره تعیین گردید. برای محاسبه IC_{50} عصاره‌های مورد نظر از برنامه نرم افزاری Graphpad prism, version 5 استفاده شد [۱۰].

تعیین فنل کل

اندازه‌گیری محتوای فنل کل عصاره‌ها با استفاده از معرف فولین سیو-کالتیو انجام گرفت. دراین سنجش، از گالیک‌اسید به عنوان استاندارد استفاده گردید و منحنی استاندارد آن رسم شد. سپس با استفاده از معادله خط حاصل، محتوای فنل کل عصاره‌ها تعیین گردید. جهت اندازه گیری فنل کل عصاره‌های مورد نظر، مقدار ۱۰ میکرولیتر از عصاره‌های رقیق شده با متانول با غلظت مشخص در لوله‌های آزمایش ریخته شد، به هریک از لوله‌ها ۱۰۰ میکرولیتر معرف فولین ۰/۲ نرمال اضافه شد و سپس بعد از ۳ دقیقه، ۹۰ میکرولیتر از محلول کربنات سدیم ۷۵ گرم بر لیتر به مخلوط اضافه شد، مخلوط حاصل ورتکس و به مدت ۲ ساعت در دمای محیط نگهداری شد. جذب محلول‌ها در طول موج ۶۳۰ نانومتر نسبت به شاهد توسط میکروپلیت ریدر اندازه‌گیری شد. از لوله آزمایش فاقد گالیک‌اسید به عنوان شاهد استفاده شد. منحنی استاندارد بر اساس مقادیر مختلف گالیک‌اسید و مقادیر جذب به دست آمده رسم گردید. با قرار دادن مقدار جذب نمونه‌ها در معادله مربوط به منحنی استاندارد، مقدار فنل کل موجود در عصاره‌ها محاسبه شد. در نهایت، داده‌ها بر اساس معادل میلی‌گرم گالیک‌اسید بر گرم وزن خشک عصاره بیان گردید. میزان فنل های تام موجود در هر عصاره متفاوت بوده و بر حسب گالیک اسید، که یک ترکیب فنلی خاص می‌باشد و از روی منحنی استاندارد آن به روش فولین-سیو کالتیو محاسبه می‌شود [۱۱].

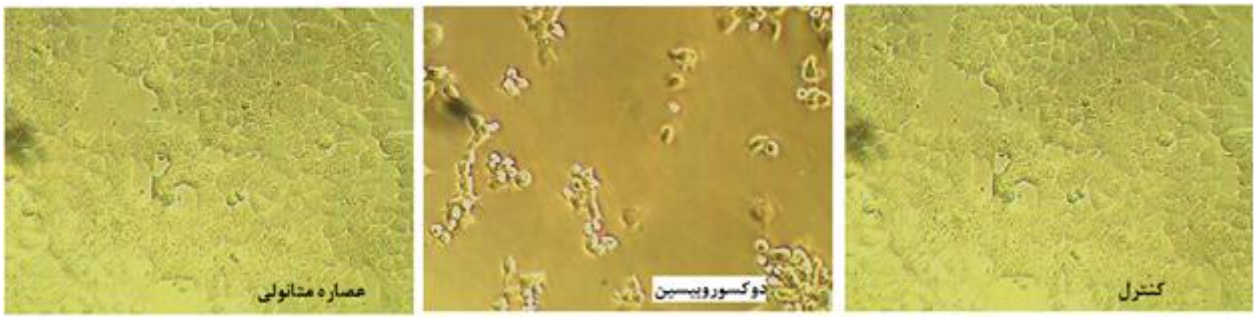
یافته‌ها

نتایج میزان تأثیر عصاره متانولی گیاه *J. stricticaulis* بر روی رده سلولی MCF-7 در جدول ۱ گزارش شده است IC_{50}. هر عصاره بر اساس تست MTT در زمان‌های مختلف ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت اندازی گیری شد. غلظت بر حسب میکروگرم بر میلی لیتر است. دوکسوروبیسین به عنوان کنترل مثبت مورد استفاده قرار گرفت. داده‌های حاصل از ۳ آزمایش جداگانه به صورت میانگین ± انحراف معیار در جدول ۱ گزارش شده است.

جدول ۱. نتایج تست MTT در بررسی سمیت سلولی

عصاره	IC_{50} in MCF7 cells		
	24 h	48 h	72 h
عصاره متانولی قبل گلدهی	μg/ml < ۳۰۰	μg/ml < ۳۰۰	< ۳۰۰ μg/ml
عصاره متانولی بعد گلدهی	μg/ml < ۳۰۰	۲۴۶/۳ ± ۵/۵	۲۳۴/۱ ± ۱/۶
دکستروبیسین	۱/۳۴ ± ۰/۰۳	۰/۲۵ ± ۰/۰۲	۰/۱ ± ۰/۰۳

مقدار غلظت تاثیرگذاری عصاره متانولی جمع آوری شده در مرحله قبل گلدهی بیش از اندازه تعریف شده در سلول است؛ لذا می‌توان گفت که این عصاره در تغییر روند رشد سلول تاثیری ندارد. ولی در مرحله بعد از گلدهی عصاره گیاه بر روی رشد سلول تأثیر داشته و باعث عدم رشد آن شده است ولی نسبت به کنترل مثبت دوکسوروبیسین که کنترل مثبت می‌باشد از قدرت مهار کنندگی پایین‌تری برخوردار است. در شکل ۲، نمای میکروسکوپی سلول‌های تیمار شده با غلظت μg/ml۱۰۰ عصاره‌ها و کنترل و دوکسوروبیسین آمده است.

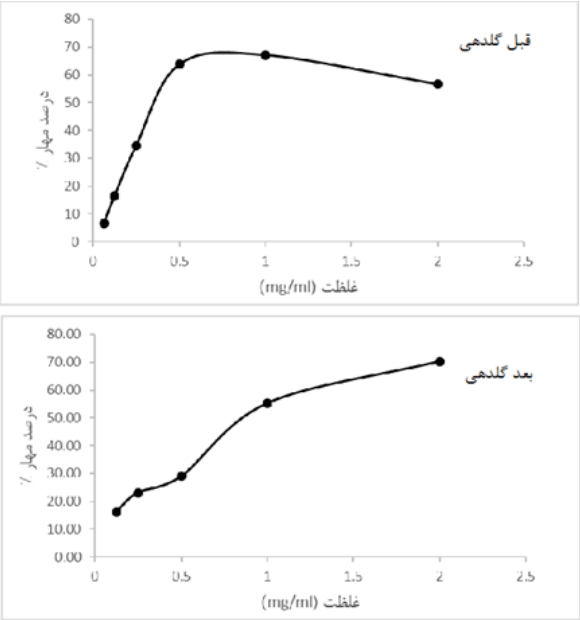


تصویر ۲. سلول‌های MCF-7 پس از اثر عصاره متانولی در غلظت ۱۰۰ µg/ml

فعالیت به دام اندازی رادیکال آزاد DPPH توسط عصاره متانولی گیاه به صورت IC_{50} در مقایسه با Butylated hydroxytoluene (BHT)به عنوان استاندارد محاسبه گردید (جدول ۲). در بررسی خاصیت آنتی اکسیدانی به روش DPPH، نتایج به صورت درصد مهار کنندگی رادیکال آزاد بیان می‌شود، با توجه به نتایج حاصل، با افزایش غلظت بر مهار کنندگی رادیکال افزوده خواهد شد که مقایسه بهتر آن در شکل ۳ آمده است. نتایج حاصل از بررسی تعیین فنل کل در جدول ۲ آمده است. نتایج محتوای فنل کل به صورت گرم عصاره /میکروگرم فنل بیان می‌شود.

جدول ۲. نتایج حاصل از محاسبه IC50 عصاره‌های مختلف با استفاده از روش DPPH

نمونه			IC_{50} (mg/ml)	گرم عصاره/میکروگرم فنل
عصاره متانولی گلدهی	قبل		۰/۵۸ ± ۰/۳	۳۱۴۶۶/۰ ± ۰/۰۵۳
عصاره متانولی گلدهی	بعد		۰/۸۶ ± ۰/۶۸	۱۴۵۹۸/۰۶ ± ۰/۰۱۱
BHT			۰/۵۸ ± ۰/۳	



شکل ۳. مهار کنندگی رادیکال آزاد DPPH توسط عصاره متانولی در دو مرحله قبل و بعد گلدهی در غلظتهای مختلف

بحث

آنتی اکسیدانهای طبیعی که بیشتر در گیاهان موجودند حاوی ترکیبات فنلی هستند. به دلیل وفور ترکیبات آنتی اکسیدانی در گیاهان، شناسایی تک تک آنها کار دشواری است، بنابراین ظرفیت آنتی اکسیدانی عصاره‌ها با سنجشهای متعددی بررسی می‌شود. آزمون DPPHبرای تعیین ظرفیت آنتی اکسیدانی ترکیبات در توانایی آنها به مهار رادیکال آزاد و یا اهداکنندگی هیدروژن مانند فنلها، به وسیله رنگ زدایی آنتی اکسیدانها در حضور DPPH صورت می‌گیرد. (دی فنیل پیکریل هیدرازیل) رادیکال پایداری است که در واکنش‌های اکسیداسیون – احیاء به عنوان یک ماده اکسید کننده عمل می‌کند. این رادیکال بطور گسترده جهت بررسی توانایی روبشگری رادیکال‌های آزاد محصولات گیاهی مختلف مورد استفاده قرار می‌گیرد. رنگ این معرف در حالت اکسید شده بنفش و در حالت احیاء شده زرد می‌باشد. موادی که دارای پتانسیل احیاء بالاتر از DPPH باشند از قبیل برخی مواد آنتی اکسیدان می‌توانند آن را احیاء نموده و باعث تغییر رنگ آن از بنفش به زرد گردند [۱۲]. ترکیبات فنلی یکی از بزرگترین گروه‌های موجود در همه گیاهان هستند که فعالیت آنتی اکسیدان خود را از طریق پیشگیری از تشکیل پیشساز های اولیه و روبش رادیکال‌های تولید شده، اعمال می‌کنند. اکثر پلی-فنلها در بین ترکیبات فیتوشیمیایی آنتی اکسیدان به علت خصوصیت احیایی و عمل به دام انداختن رادیکال آزاد بسیار مهم هستند، آن‌ها همچنین از طریق اندرکنش با سیستمهای آنزیمی مختلف توانایی شلات کنندگی فلزات را دارند، علاوه بر آن، این ترکیبات که در طی رشد و نمو متغیر هستند و به علت شرکت داشتن در بو، رنگ و مزه در گیاهان نیز اهمیت دارند [۱۳].

پژوهش حاضر، اولین مطالعه در زمینه سنجش اثر سمیت سلولی و ظرفیت آنتی اکسیدانی و تعیین فنل کل موجود در عصاره متانولی گیاه *J. stricticaulis* است. نتایج نشان دادند، خاصیت آنتی اکسیدانی و اثر سمیت سلولی عصاره متانولی بر رده سلولی MCF-7 وابسته به غلظت است. بنابراین هر چه غلظت بیشتر گردد خاصیت آنتی اکسیدانی و اثر سمیت سلولی عصاره متانولی گیاه بیشتر می‌شود. با توجه به نتایج حاصل از مطالعه کنونی، ترکیبات فنلی موجود در عصاره متانولی قبل گلدهی بیشتر از ترکیبات فنلی موجود در عصاره متانولی بعد گلدهی می‌باشد، لذا با توجه به خواص آنتی اکسیدان ترکیبات فنلی می‌توان گفت که عصاره متانولی قبل گلدهی خواص آنتی اکسیدانی بهتری از عصاره متانولی بعد گلدهی داشته باشد که این با نتایج حاصل از این

مطالعه مطابقت دارد. نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان داد که مرحله جمع آوری گیاه بر روی خصوصیات گیاه مؤثر است که این به دلیل نوع ترکیبات موجود در گیاه می‌باشد، به طوریکه با گذر گیاه از مرحله گلدهی، ممکن است تعدادی از ترکیبات از بین بروند. از طرفی با توجه به اینکه گیاه از خاصیت آنتی اکسیدانی قابل توجهی برخوردار بود ولی اثر سمیت سلولی چندانی را بر روی این رده سلولی نداشت، لذا توصیه می‌شود که در بررسی‌های دیگر از رده‌های سلولی دیگر استفاده شود. مطالعات اندکی بر روی گونه‌های دیگر این جنس انجام شده، در مطالعه‌ای از عصاره متانولی گونه *J. stricticaulis* ترکیبات فلاونوئیدی، مانیتول، کومارین ها و تری ترپن ها جدا شد [۱۴]. با توجه به وجود این ترکیبات در گونه‌های دیگر، لذا پیشنهاد می‌شود ترکیبات موجود در اسانس و عصاره این گونه گیاهی نیز مطالعه شود.

نتیجه گیری

نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان داد که مرحله جمع آوری گیاه بر روی خصوصیات گیاه مؤثر است که این به دلیل نوع ترکیبات موجود در گیاه می‌باشد، به طوریکه با گذر گیاه از مرحله گلدهی، ممکن است تعدادی از ترکیبات از بین بروند. از طرفی با توجه به اینکه گیاه اثر سمیت سلولی چندانی را بر روی این رده سلولی نداشت، لذا توصیه می‌شود که در بررسی‌های آینده از رده‌های سلولی دیگر استفاده شود.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله نویسندگان مقاله از زحمات معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه پیام نور مشهد و مرکز تحقیقات فرآورده‌های طبیعی و گیاهان دارویی دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی که از این طرح پایان نامه دکترا حمایت نموده‌اند تشکر و قدردانی می‌نمایند.

References

1. Bansal P, Gupta V V, Bansal R, Sapra R. Dietary Phytochemicals in Cell Cycle Arrest and Apoptosis- an Insight. J Drug Deliv Ther. 2012;2(2):8-18. doi: 10.22270/jddt.v2i2.121
2. Wicki A, Hagmann J. Diet and cancer. Swiss Med Wkly. 2011;141:w13250. doi: 10.4414/smw.2011.13250 pmid: 21904992
3. Kosha A, Farahbakhsh M, Hakimi S, Abdollahi L, Golzari M, Seif M. Epidemiology of cancer in west Azarbaijan in 2007. Med J Tabriz Univ Med Sci. 2010;32(4):74-9.
4. Farooq S, Coleman MP. Breast cancer survival in South Asian women in England and Wales. J Epidemiol Community Health. 2005;59(5):402-6. doi: 10.1136/jech.2004.030965 pmid: 15831690
5. Levenson AS, Jordan VC. MCF-7: the first hormone-responsive breast cancer cell line. Cancer Res. 1997;57(15):3071-8. pmid: 9242427
6. Mehta RG, Murillo G, Naithani R, Peng X. Cancer chemoprevention by natural products: how far have we come? Pharm Res. 2010;27(6):950-61. doi: 10.1007/s11095-010-0085-y pmid: 20238150
7. Kumaran A, Joel karunakaran R. Antioxidant and free radical scavenging activity of an aqueous extract of Coleus aromaticus. Food Chem. 2006;97(1):109-14. doi: 10.1016/j.foodchem.2005.03.032
8. Sabri N, Yassa N, Fazeli MR, Alavi SHR, Fouladi F, Salimi L, et al. Antibacterial activity of peucedanum ruthenicum, johreniopsis seseloides and cervaria cervariifolia extracts. Iran J Pharm Sci. 2009;5(1):37-42.
9. Masoudi S, Monfared A, Rustaiyan A, Chalabian F. Composition and Antibacterial Activity of the Essential Oils ofSemenovia dichotoma(Boiss.) Manden.,Johreniopsis seseloides(C.A.Mey) M.Pimen andBunium cylindricum(Boiss. et Hohen.) Drude., Three Umbelliferae Herbs Growing Wild in Iran. J Essen Oil Res. 2005;17(6):691-4. doi: 10.1080/10412905.2005.9699034
10. Kang W, Yang H, Hong HJ, Han CH, Lee YJ. Anti-oxidant activities of kiwi fruit extract on carbon tetrachloride-induced liver injury in mice. Korean J Vet Res. 2012;52(4):270-80.
11. Ku KM, Juvik JA. Environmental Stress and Methyl Jasmonate-mediated Changes in Flavonoid Concentrations and Antioxidant Activity in Broccoli Florets and Kale Leaf Tissues. HortScience. 2013;48(8):996-1002. doi: 10.21273/hortsci.48.8.996
12. Burits M, Bucar F. Antioxidant activity of Nigella sativa essential oil. Phytother Res. 2000;14(5):323-8. pmid: 10925395
13. Deepa N, Kaur C, George B, Singh B, Kapoor HC. Antioxidant constituents in some sweet pepper (Capsicum annuum L.) genotypes during maturity. LWT Food Sci Technol. 2007;40(1):121-9. doi: 10.1016/j.lwt.2005.09.016
14. Vlietinck AJ, Van Hoof L, Totte J, Lasure A, Vanden Berghe D, Rwangabo PC, et al. Screening of hundred Rwandese medicinal plants for antimicrobial and antiviral properties. J Ethnopharmacol. 1995;46(1):31-47. doi: 10.1016/0378-8741(95)01226-4 pmid: 7475121