



اولین کنگره ملی رویکردهای نوآورانه در سیستم بیولوژی و داروسازی و صنایع غذایی

تهران، دی ۱۴۰۰

## Anti-Proliferative, Anti-Oxidant and Pro-apoptotic Effect of Alcoholic Extract of lavender in HepG2 cell lines

Zahra Salehi-Shafa<sup>1</sup>, Elham Rajabbeigi \*<sup>2</sup>, Leila Youseftabar-Miri<sup>3</sup>

1. Student, Department of Biochemistry-Biophysics, Faculty of Advanced Sciences and Technology, Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University, Tehran. 1916893813, Iran
2. Assistant professor, Department of Developmental Biology, Faculty of Advanced Sciences and Technology, Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University, Tehran. 1916893813, Iran.
3. Assistant Professor, Department of Organic Chemistry, Faculty of Pharmaceutical Chemistry, Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University, Tehran. 1916893813, Iran

**Background:** Liver cancer is the second leading cause of cancer deaths in the world and is therefore a major public health challenge. In recent years, many of the drugs used in the treatment of many malignancies and cancers have been of plant origin. Lavender extract has been shown to have therapeutic effects in various cancers. Therefore, the biological effects of ethanolic extract of lavender on liver cancer cells were investigated

**Methods:** In this experimental study, HepG2 cell line was selected for treatment with lavender extract (5, 10, 20, 30, 40 and 50 mg/ml). Cell proliferation in the presence of different concentrations of lavender extract was studied by trypan blue staining. Also, the effects of lavender on apoptosis and necrosis were investigated using flow cytometry method. Finally, the antioxidant activity was evaluated using the DPPH method.

**Results:** The results of cell proliferation studies showed that with increased time and concentration of the extract, the rate of cell proliferation decreases. Flow cytometry findings showed that lavender extract had an apoptotic effect on cancer cells. In addition, the DPPH test showed that increasing the concentration of lavender plant extract reduced free radical control and increased antioxidant activity.

**Conclusion:** According to the results of this study, it can be stated that lavender extract can have significant inhibitory effects on the proliferation of HepG2 cancer cells. Hence, the use of safer therapies with less side effects, such as the use of lavender, is important in inhibiting cancer cells, particularly liver cancer

**Keywords:** Apoptosis, Antioxidant, Free Radical, Lavender, Liver Cancer

\*Correspondence to: Elham Rajabbeigi ,

Tel: +98 21 2200666

Email: [rajabbeigi@iautmu.ac.ir](mailto:rajabbeigi@iautmu.ac.ir)

ORCID ID: [0000-0002-8489-8975](https://orcid.org/0000-0002-8489-8975)

اثرات ضد تکثیر، آنتی اکسیدانی و القاکننده آپوپتوز عصاره الکلی گیاه اسطوخودوس در رده سلولی Hep-G2

زهرا صالحی شفا<sup>1</sup>، الهام رجب‌بیگی<sup>2\*</sup>، لیلا یوسف تبار میری<sup>3</sup>

<sup>1</sup> دانشجوی، گروه بیوشیمی، دانشکده علوم و فناوریهای نوین، دانشگاه علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

<sup>2</sup> دکتری تخصصی، استادیار گروه تکوین، دانشکده علوم و فناوریهای نوین، دانشگاه علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

<sup>3</sup> دکتری تخصصی، استادیار گروه شیمی آلی، دانشکده شیمی دارویی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

آدرس نویسنده مسئول: تهران - خیابان شریعتی - خیابان خاقانی - دانشگاه علوم پزشکی آزاد اسلامی تهران صندوق پستی 193951495. ایمیل [rajabbeigi@iautmu.ac.ir](mailto:rajabbeigi@iautmu.ac.ir) تلفن 021-22006660، شماره همراه 09190028439 :نمبر : 22006660-021

[email: rajabbeigi@iautmu.ac.ir](mailto:rajabbeigi@iautmu.ac.ir)

## خلاصه

سابقه و هدف: با شیوع بسیار زیاد سرطان در ایران و جهان نیاز به داروهایی با عوارض جانبی کمتر و اثرات درمانی بهتر مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته است. گیاه اسطوخودوس (*Lavandula angustifolia* Mill) متعلق به خانواده نعنائیان، است دارای خواص درمانی گسترده همچون پیشگیری از سرطان، ممانعت از تشکیل تومور، درمان زخم و عفونت ها می باشد. بنابراین، در این تحقیق اثرات بیولوژیکی عصاره اتانولی اسطوخودوس بر سلول های سرطانی کبد مورد بررسی قرار گرفت.

روش بررسی: در این مطالعه، لاین سلولی HepG2 تحت تأثیر عصاره الکلی گیاه اسطوخودوس قرار گرفت تکثیر سلولی در حضور غلظت های مختلف عصاره اسطوخودوس (10، 100، 1000 و 10000 میکروگرم/میلی لیتر) با رنگ آمیزی تریپان بلو مورد مطالعه قرار گرفت. همچنین اثرات عصاره اسطوخودوس بر آپوپتوزیس و نکروز با استفاده از روش فلوسایتومتری بررسی شد. در نهایت، فعالیت آنتی اکسیدانی با استفاده از روش DPPH مورد بررسی قرار گرفت.

یافته ها: نتایج حاصل نشان داد با افزایش زمان و غلظت، نرخ تکثیر سلول ها کاهش می یابد. یافته های فلوسایتومتری بیانگر اثر پرو آپوپتوزی عصاره اسطوخودوس بر سلول های سرطانی لاین HepG2 بود. همچنین، آزمون DPPH نشان داد با افزایش غلظت عصاره گیاه اسطوخودوس، میزان رادیکال های آزاد به واسطه افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی کاهش یافت.

نتیجه گیری: براساس نتایج حاصل از این مطالعه به نظر می رسد عصاره اسطوخودوس می تواند اثرات مهاری قابل توجهی بر تکثیر سلول های سرطانی HepG2 داشته باشد. از این رو استفاده از راهکار درمانی امن تر با عوارض جانبی کمتر همچون استفاده از گیاه اسطوخودوس در مهار سلول های سرطانی بالاخص سرطان کبد حائز اهمیت می باشد

واژگان کلیدی: آپوپتوز، آنتی اکسیدان، اسطوخودوس، رادیکال آزاد، سرطان کبد

#### مقدمه

سلول واحد اساسی و ساختمانی حیات است که قابلیت رشد، تکثیر و همانندسازی دارد. ساختار ژنتیکی هر سلول، سرعت رشد، تقسیم و زمان مرگ آن را تعیین می کند. در حالت طبیعی، جایگزینی سلول های فرسوده با سلول های جوان از یک برنامه منظم تبعیت می کنند و فرآیند رشد و تجدید سلولی به طور ثابت در بدن اتفاق می افتد. اگر سلولی به صورت غیر قابل کنترل رشد و تکثیر یابد، ایجاد مشکلات بسیاری برای خود و سایرین خواهد کرد. سرطان در واقع رشد غیر قابل کنترل است (۱).

در سرطان رشد سلول و چرخه تقسیم سلولی غیر قابل کنترل می شود و سلول ها بی امان رشد می کنند اما به زودی ذخایر مواد غذایی آن ها تمام می شود و سلول ها تحت اتوفازای یا موارد دیگر می میرند (۲). همچنین، غشاء سلول های سرطانی واجد مولکول های تغییر یافته سطح سلولی است که تحرک این سلول ها را در مقایسه با سلول های طبیعی، تغییر می دهد. به علاوه، سلول های سرطانی به مراتب سریعتر از سلول های طبیعی مواد غذایی را جذب می کنند (۳). برای ریشه کن کردن یک تومور تنها لازم است سلول ها به مفهومی کشته شوند که قادر به تقسیم و رشد بیشتر و توسعه بدخیمی نباشند (۴). سلول ها با مکانیسم های مختلفی مانند مرگ میتوزی، مرگ سلولی برنامه ریزی شده یا آپوپتوز و نکروز دچار مرگ می شوند. با وجود هر تعداد مکانیسم، نتیجه یکی است: سلول توانایی تقسیم نامحدود یعنی قابلیت تولیدمثل خود را از دست می دهد (۵). در آپوپتوز، هسته به صورت پیکنوتیک بوده و شکستگی هسته دیده می شود، ولی در نکروز هسته لیز شده و به صورت کلامپ دیده می شود. از نظر مورفولوژیک، سیتوپلاسم در آپوپتوز دست نخورده باقی مانده ولی در نکروز پاره می شود. در آپوپتوز، در سطح غشای سلول حباب هایی ظاهر می گردد که در نهایت منجر به تشکیل اجسام آپپتوتیک می شوند ولی در نکروز اجسام حباب مانند کمتر به

چشم می خورد. در آپوپتوز سلول چروکیده شده ولی در نکروز سلول دچار تورم می شود. در نکروز سلولها به صورت توده ای دیده می شوند ولی در آپوپتوز به صورت تکی هستند. در نکروز التهاب بافت مشاهده می گردد، در حالی که در آپوپتوز چنین حالتی وجود ندارد زیرا محتویات سلولی به خارج از آن ریخته نمی شود (۶).

سرطان کبد پنجمین سرطان در مردان و ششمین سرطان در زنان است. این بدخیمی معمولا در مردان ۲ تا ۴ برابر بیشتر است (۷). سالانه ۶۶۲۰۰۰ مرگ به علت ابتلا به سرطان کبد در جهان گزارش می شود (۸). نظر به اهمیت این سرطان کشنده در دنیا، مطالعات گوناگونی برای برآورد بار حاصل از این بیماری و هزینه های تحمیل شده آن بر جامعه در کشورهای توسعه یافته انجام شده است. امروزه در این روش از داروهای خاصی به منظور انهدام سلول های سرطانی استفاده می شود. روش های مختلفی برای درمان سرطان وجود دارد که از جمله آنها می توان به شیمی درمانی، رادیوتراپی، جراحی و گیاه درمانی اشاره کرد. در حال حاضر محققین به دنبال ترکیباتی هستند که عوارض جانبی کمتر و اثر سمیت سلولی بیشتری بر سلول های سرطانی داشته باشند. امروزه ۶۰٪ ترکیبات ضدسرطانی برای درمان بیماران از منابع گیاهی، دریایی و میکروارگانیسمها بدست می آید (۹). بر اساس مطالعات عصاره گیاهانی با خاصیت ضدسرطانی دارای ترکیبات آنتی اکسیدانی است و وجود این ترکیبات موجب تحریک آپوپتوز در رده های سلول های سرطانی می شود (۱۰). گیاه اسطوخودوس با نام علمی *Lavandula angustifolia* از خانواده نعناعیان یا Labiatae می باشد. این گیاه در منطقه وسیعی از نواحی شمالی ایران بین منجیل و پاچنار و رودبار در ارتفاعات ۳۰۰ متری دیده می شود. ترکیبات شیمیایی اسانس روغنی آن حاوی ژرانیول، بورنتول، تانن، لینالول، لینالیل استات، سینئول، کامفور، آلفا ترپینئول، سیس و ترانس بتا اوسیمن، تیمول، ائوژنول، ترپینن ۴-ال، کومارین ها، فلاونوئیدها، فیتواسترول ها، کاپروئیک اسید و پرلیل الکل می باشد. گزارش شده که برخی مونوترپن ها و مشتقات پرلیل الکل های موجود در *L. angustifolia* ویژگی های لازم برای جایگزینی شیمی درمانی را دارند (۱۱-۱۲). رضایی و همکاران (۱۳۹۹) برخی اثرات عصاره هیدروالکلی گیاه اسطوخودوس بر سلول های سرطانی HepG2 را گزارش کردند (۱۳).

تاکنون اثر آنتی اکسیدانی عصاره اتانولی گیاه مذکور بر رده HepG2 مورد بررسی قرار نگرفته است. در تحقیق حاضر اثر سمیت عصاره اسطوخودوس با غلظت های ۱۰۰، ۱۰۰۰، ۱۰۰۰۰، ۱۰۰۰۰۰ (µg/ml) طی دو زمان ۲۴ و ۴۸ ساعت در رده ی سلول های سرطانی کبد HepG2 و اثر آن بر آپوپتوز، نکروز و تخریب لیپیدهای غشایی سلول مورد بررسی قرار گرفت .

مواد و روش ها

تهیه عصاره گیاهی: در ابتدا قسمت هوایی گیاه اسطوخودوس جدا گردید. پس از شستشو و خشک شدن کامل، بخش هوایی گیاه به خوبی ساییده شد تا کاملاً به صورت پودر شده درآمد. در ادامه به ۲۵۰ گرم از پودر خشک یک لیتر اتانول ۷۰٪ (زکریا ایران) اضافه شد و به مدت ۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه قرار گرفت. سپس محتوی ظرف با استفاده از فیلتر، صاف و مایع بدست آمده روی بن ماری (Memmert آلمان) قرار گرفت تا زمانی که آب آن به طور کامل بخار و یک ماده قیر مانند حاصل شد. در پایان عصاره‌های خشک جمع‌آوری و جهت تهیه غلظت‌های موردنظر به فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد منتقل شدند. هنگام تیمار با سلولهای مذکور در غلظت‌های ۱، ۱۰، ۱۰۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر از عصاره‌ها استفاده شد. جهت تعیین غلظتهای فوق از اتانول استفاده شد. برای گروه کنترل هم در حدود ۱۰۰ میکرولیتر از محیط کشت DMEM به آن اضافه شد و مجدداً در انکوباتور قرار گرفت.

#### کشت سلول

رده سلولی HepG2 از انستیتو پاستور ایران خریداری گردید. این رده‌ی سلولی در محیط کشت DMEM (Gipco آمریکا) حاوی ۱۰٪ سرم گاوی (FBS) (Medicago، سوئد) در دمای ۳۷ درجه و میزان ۵٪ CO<sub>2</sub> کشت شدند. محیط کشت روزانه تعویض و هر ۳ تا ۴ روز پاساژ داده شد.

#### سنجش سمیت سلولی

سنجش سمیت سلولی: در این روش نمک MTT (Merk- آلمان) به نمونه‌ها اضافه شده و توسط یک آنزیم میتوکندریایی شکسته می‌شود و تولید فورمازون نامحلول کرده که قابل اندازه‌گیری است. به منظور بهینه‌سازی تعداد سلول‌ها جهت تیمار با عصاره الکلی تهیه شده شمارش سلولی توسط لام هموسایتومتر انجام شد و در ادامه انجام تست MTT در دو سری پلیت ۹۶ خانه در دو زمان ۲۴h و ۴۸h انجام شد و ده هزار سلول (معادل ۱۰۰ میکرولیتر) در هر چاهک قرار گرفت. در ادامه چهار غلظت یک، ده، صد و هزار

( $\mu\text{g/ml}$ ) از عصاره ی الکلی اسطوخودوس تهیه و سلولهای رده HepG<sub>2</sub> با آنها تیمار شد. در این آزمون گروه تیمار شده با عصاره هیدروالکلی اسطوخودوس با گروه کنترل (سلول های فاقد عصاره مقایسه گردیدند. پس از انکوباسیون میزان جذب رنگ تولیدی با دستگاه الیزا ریدر (BioTec آمریکا) در طول موج ۶۰۰-۵۰۰ nm قرائت شد. اعداد بدست آمده به صورت نمودار گزارش شد. بر اساس نتایج بدست آمده غلظتی از عصاره که دارای میزان جذب به اندازه نصف جذب مشاهده شده در کنترل منفی می باشد به عنوان IC<sub>50</sub> در نظر گرفته شد. یعنی غلظتی از عصاره که باعث مرگ سلولی در ۵۰ درصد از جمعیت سلولی تیمار شده می شود.

#### بررسی نرخ تکثیر

برای بدست آوردن میزان نرخ تکثیر تعداد ۵۰۰۰ سلول در هر خانه از پلیت ۹۶ خانه کشت داده شد. سلولها به مدت زمان ۲۴ ساعت در انکوباتور کشت سلولی نگهداری شد و بعد از چسبیدن آنها به کف پلیت با غلظتهای ۱، ۱۰، ۱۰۰، ۱۰۰۰ میکروگرم در میلی لیتر از عصاره تیمار شدند. بعد از گذشت زمان ۲۴ و ۲۸ ساعت از تیمار سلولها با تریپسین ار کف پلیت جدا شده و با تریپان بلو رنگ آمیزی شدند. در ادامه تعداد سلولهای زنده و مرده توسط لام نئوبار شمرده و نسبت به تعداد سلول اولیه در هر خانه میزان نرخ تکثیر محاسبه شد.

#### بررسی نوع مرگ سلولی

برای آماده سازی سلولها بعد از تیمار کردن سلولها را تریپسینه شد سپس آنها را در دورگ ۱۲۰۰ سانتریفیوژ کرده و دوباره این کار را با ۵ ml بافر فسفات انجام شد. بعد از سانتریفیوژ مجدد ۱ ml از بافر مخصوص کیت اضافه نموده و بعد از پیپتاژ شدید ۵  $\mu\text{l}$  از annexin v اضافه نموده و ۱۵ دقیقه در محیط تاریک انکوبه شد. در آخر هم ۴  $\mu\text{l}$  محلول پروپیدیوم یدید اضافه کرده و با دستگاه فلوسایتومتری آنالیز گردید.

#### ارزیابی میزان آنتی اکسیدانهای سلولی

برای انجام ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی با روش دی فنیل پیکریل هیدرازیل (DPPH, Sigma, Germany) از روش شیمادا و همکاران استفاده شد (۱۴). بر این اساس ۱/۵ میلی لیتر از غلظتهای مختلف عصاره (۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰  $\mu\text{g/ml}$ )

میکروگرم در میلی لیتر) با ۱/۵ میلیلیتر محلول ۰/۰۰۴ درصد DPPH مخلوط و در مکانی تاریک و در دمای اتاق به مدت ۱۵ دقیقه قرار گرفت. سپس جذب مخلوط توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر (BD، انگلیس) در ۵۱۷ نانومتر با بلانک متانول قرائت شد. درصد مهار رادیکال DPPH طبق فرمول زیر محاسبه گردید:

$$\text{Scavenging Activity (\%)} = [(A - B)/A] \times 100$$

A: جذب بلانک متانول

B: جذب نمونه

## روش آماری

. با استفاده از نرم افزار Graph pad prism 5 (GraphPad Software, Inc., LA Jolla, CA, USA) ، مقدار IC50 نمونه ها (غلظتی از عصاره است که منجر به مهار رشد ۵۰ درصدی سلول های سرطانی می شود) محاسبه شد. به منظور تجزیه و تحلیل اثر غلظت های مختلف عصاره بر رده سلولی سرطانی از آزمون آماری آنالیز واریانس دو طرفه (Two-way ANOVA) برای مقایسه گروه ها با کنترل از SPSS استفاده گردید. همچنین (p<0.05) معنی دار در نظر گرفته شد.

## نتایج

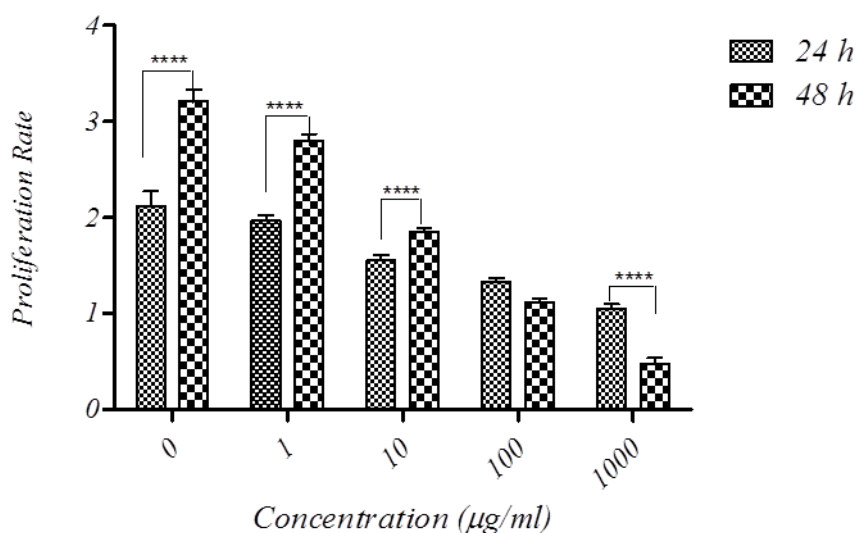
اثر سمیت سلولی عصاره الکلی اسطوخودوس در غلظت ها و زمان های مختلف بر سلول های سرطانی و سلول های سرطانی تحت-تاثیر عصاره بررسی شد. تاثیر عصاره اسطوخودوس به روش MTT بر رده سلول های سرطانی کبد و مقدار IC50 حاصل از تیمار با عصاره اسطوخودوس در زمان های ۲۴ و ۴۸ ساعت در جدول ۱ نشان داده شده است.

### جدول ۱. غلظت (IC50) عصاره اسطوخودوس بر حسب میکروگرم/ میلی لیتر در دو زمان مختلف

رده سلولی	۲۴ ساعت	۴۸ ساعت
HepG <sub>2</sub>	۸۰/۶۲	۲۶/۵۷

تأثیر

غلظت های مختلف عصاره بر نرخ تکثیر سلول های HepG2 تعداد میانگین کل سلول ها به عنوان نرخ تکثیر در نظر گرفته می شوند. در این تحقیق تأثیر غلظت های مختلف عصاره اسطوخوروس (۱، ۱۰، ۱۰۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر) در زمان های ۲۴ و ۴۸ ساعت روی سلول های HepG2 مورد بررسی قرار گرفت. نتایج به دست آمده نشان می دهد که با افزایش زمان و غلظت عصاره، نرخ تکثیر سلول ها کاهش می یابد. در غلظت های ۰، ۱، ۱۰ و ۱۰۰۰ این تغییرات بین زمان های ۲۴ و ۴۸ ساعت در سطح  $P \leq 0.0001$  معنادار است (شکل ۱).

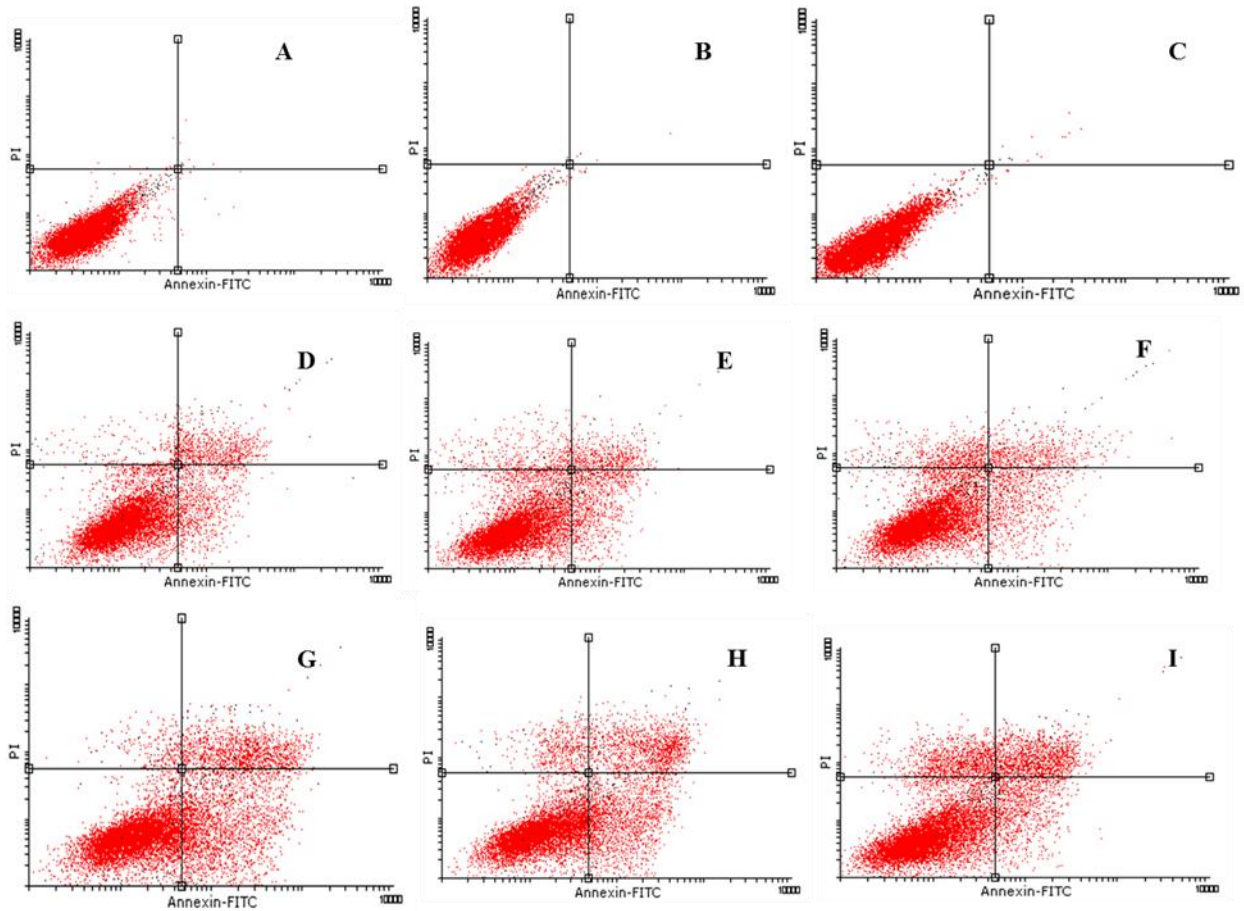


شکل ۱. نرخ تکثیر سلول های HepG2 در زمان ها (۲۴ و ۴۸ ساعت) و غلظت های مختلف عصاره اسطوخودوس (۱، ۱۰، ۱۰۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر). داده ها حاصل میانگین شش تکرار مستقل می باشند. خطوط عمودی نشان دهنده انحراف معیار است (\*\*\*\*:  $P \leq 0.0001$ )

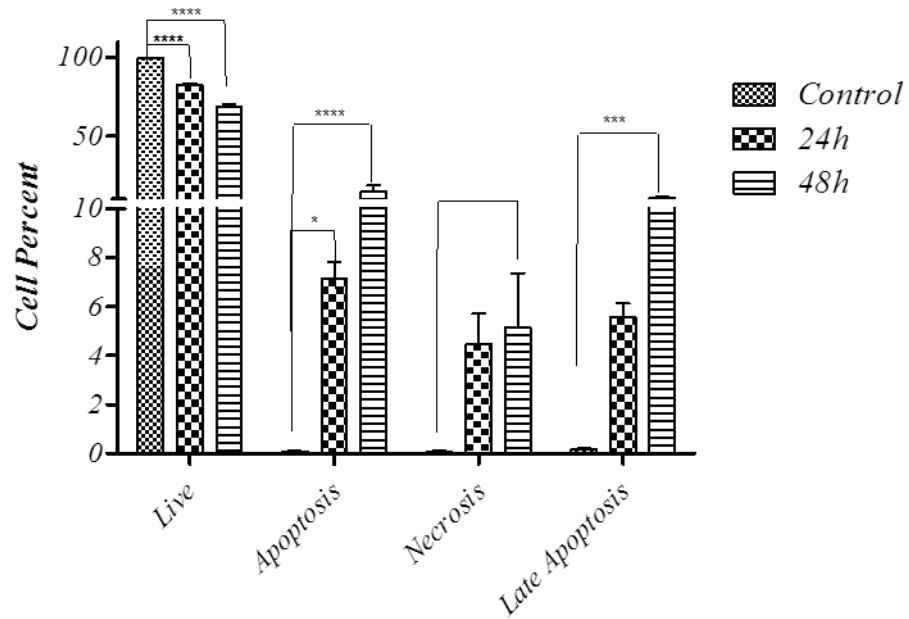
تأثیر غلظت IC50 عصاره بر مرگ سلولی در سلول های HepG2

برای بررسی مرگ سلولی از کیت انکسین استفاده شد که به عنوان یک شناساگر آپاپتوز به کار میرود. بعد از تیمار سلولها با غلظت IC50 عصاره در زمان های ۲۴ (µg/ml 62/80) و ۴۸ ساعت (µg/ml 57/26)، سلولها بوسیله ترکیب انکسین و پروپیدیم یداید رنگ آمیزی شده و با دستگاه فلوسایتمتری مورد آنالیز قرار گرفت (شکل ۲ و ۳).





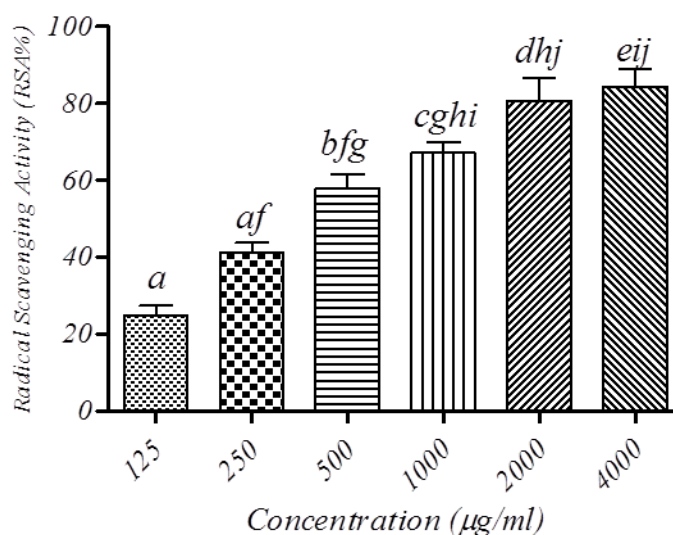
شکل ۲ میزان و نوع مرگ سلولی در سلول های HepG2 در گروه کنترل (A: تکرار ۱، B: تکرار ۲ و C: تکرار ۳)، گروهی که به مدت ۲۴ ساعت با غلظت  $62/80 \mu\text{g/ml}$  (IC50) عصاره ی اتانولی گیاه اسطوخودوس (D: تکرار ۱، E: تکرار ۲ و F: تکرار ۳) و گروهی که به مدت ۴۸ ساعت با غلظت  $57/26 \mu\text{g/ml}$  (IC50) عصاره ی اتانولی گیاه اسطوخودوس تیمار شده است (G: تکرار ۱، H: تکرار ۲ و I: تکرار ۳).



شکل ۳. میزان و نوع مرگ سلولی در سلول های HepG2 در گروه کنترل ، گروهی که به مدت ۲۴ ساعت با غلظت IC50 (۸۰/۶۲  $\mu\text{g/ml}$ ) عصاره ی اتانولی گیاه اسطوخودوس و گروهی که به مدت ۴۸ ساعت با غلظت IC50 (۲۶/۵۷  $\mu\text{g/ml}$ ) عصاره ی اتانولی گیاه اسطوخودوس تیمار شده است. داده ها حاصل میانگین سه تکرار مستقل می باشند. خطوط عمودی نشان دهنده انحراف معیار است (\*\*\*\*:  $P \leq 0.0001$ , \*\*\*:  $P \leq 0.001$ , \*\*:  $P \leq 0.01$ , \*:  $P \leq 0.05$ ).

#### ارزیابی درصد مهار رادیکال DPPH

فعالیت آنتی اکسیدانی با روش مهار رادیکال آزاد (DPPH) برای غلظت های مختلف عصاره (۱۲۵، ۲۵۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۲۰۰۰ و ۴۰۰۰ میکروگرم/میلی لیتر) محاسبه گردید و به صورت %RSA گزارش شد. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت عصاره گیاه اسطوخودوس، درصد مهار رادیکال آزاد و فعالیت آنتی اکسیدانی افزایش می یابد (شکل ۴). عبارت دیگر میزان اثر آنتی اکسیدانی در تست DPPH وابسته به غلظت می باشد.



شکل ۴. فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره اتانولی گیاه اسطوخودوس. داده‌ها حاصل میانگین حداقل سه تکرار مستقل می‌باشند. خطوط عمودی نشان‌دهنده انحراف معیار است. حروف غیر یکسان نماینده معنی‌دار بودن تفاوت در سطح  $P \leq 0.05$  است.

#### بحث

در سال‌های اخیر استفاده از محصولات گیاهی با توجه به محتویات متابولیتی آن‌ها مورد توجه اکثر پژوهشگران قرار گرفته است، به طوری که بر اساس تخمین سازمان بهداشت جهانی نزدیک به ۸۰ درصد جمعیت کشورهای در حال توسعه از درمان‌های سنتی به خصوص داروهای گیاهی برای برطرف کردن نیازهای اولیه درمانی خود استفاده می‌کنند. در این میان گیاه‌های دارویی برای تحقیقات فارماکولوژیکی و توسعه داروها هم به صورت استفاده مستقیم از ترکیبات گیاه و هم به عنوان ترکیبات رهبر جهت سنتز داروها از اهمیت ویژه‌ای برخوردارند به طوری که تقریباً ۷۴ درصد ترکیبات ضد سرطانی منشا طبیعی دارند (۱۵).

در میان دسته بندی وسیع گیاهان دارویی گیاه اسطوخودوس با نام علمی *Lavandula angustifolia* یکی از گیاهان دارویی شناخته شده بسیار قدیمی است که از دیر باز مورد مصرف مردم بوده است (۱۶). ترکیبات فراوانی در عصاره این گیاه شناسایی شده‌اند که

از مهمترین آن‌ها می‌توان به ژرانیول، لینالول، لینالیل استات، سینئول، بورنئول، آلفاپینن، کامفور، اسید بوتیریک، اسید والریانیک، اسید اورسالیک و فلاونوئیدهای لوتئولین اشاره کرد (۱۱-۱۲).

ربیعی و همکاران در سال ۲۰۱۲ نشان داد که مصرف عصاره الکلی گیاه اسطوخودوس توسط موش‌های صحرایی پی از سکنه مغزی موجب کاهش نفوذ پذیری سد خونی-مغزی و در نتیجه بالا رفتن ظرفیت آنتی‌اکسیدانی مغز برای مقابله با آسیب‌های اکسیداتیو می‌گردد، که این تحقیق دلیلی بر اثبات اثرات نوروپروتکتیو بودن این عصاره گیاهی است (۱۷). مطالعه وکیلی و همکاران نشان داد روغن لاواندولا دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضداسترس اکسیداتیو است (۱۸). در سال ۲۰۱۷ مطالعه ایی توسط زائو و همکاران در رابطه با تاثیر اسانس اسطوخودوس بر روی سرطان پروستات انجام گرفت. برای بررسی القاء آپوپتوز و توقف چرخه سلولی، از روش فلوسایتومتری استفاده شد. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که سلول‌های PC-3 عمدتاً در مرحله G2 / M چرخه سلولی متوقف شدند و اسانس این گیاه در سرطان پروستات انسانی دارای اثر ضد توموری با مهار تکثیر سلولی و القاء آپوپتوز می‌باشد (۱۹).

پیشنهاد شده است که عصاره اتانولی اسطوخودوس که وابسته به دوز می‌تواند سلول‌های سرطانی HepG2 را از بین ببرد و پیشنهاد کردند که این گیاه می‌تواند به عنوان یک گیاه دارویی برای درمان سرطان کبد مورد پژوهش قرار گیرد (۱۳).

با توجه به تحقیق حاضر غلظت و زمان به صورت توام روی بقا و تکثیر سلولی تاثیر دارند. در غلظت ۱۰۰ و ۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بعد از گذشت ۴۸ ساعت تکثیر سلولی بیشتر از زمان ۲۴ ساعت می‌باشد. اما با رسیدن به غلظت ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر با کاهش محسوس در تکثیر سلولی میزان تکثیر در زمان ۴۸ ساعت نسبت به ۲۴ ساعت کاهش بیشتری را نشان می‌دهد، که این روند در غلظت‌های بالاتر هم تکرار می‌شود. بنابراین کاهش معناداری در میزان تکثیر سلولی در بازه ۱۰-۱۰۰ مشاهده می‌شود و تاثیر توام غلظت و زمان را بیان می‌کند.

براساس نتایج حاصل از این مطالعه می‌توان چنین بیان نمود که عصاره اسطوخودوس می‌تواند اثرات مهاری قابل توجهی بر تکثیر سلول‌های سرطانی HepG2 داشته باشد. همچنین یافته‌های فلوسایتومتری نشان داد که عصاره اسطوخودوس اثر آپوپتوزی را بر روی سلول‌های سرطانی دارد. علاوه بر این، آزمون DPPH نشان داد که با افزایش غلظت عصاره گیاه اسطوخودوس، درصد مهار رادیکال آزاد کاهش و فعالیت آنتی‌اکسیدانی افزایش می‌یابد. بنابراین، می‌توان این امر را محتمل دانست که اثرات مهاری عصاره اسطوخودوس در مهار سلول‌های سرطانی و مهار رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌تواند با جدیت بیشتری پیگیری شود و ممکن است در آینده در کنار سایر درمان‌ها بتوان از این گیاه بهره برد.

1. Bao G, Suresh S. Cell and molecular mechanics of biological materials. *Nat mater* 2003; 2(11):715-25.
2. Semeenza GL. Defining the Role of Hypoxia-Inducible Factor 1 in Cancer Biology and Therapeutics. *Oncogene* 2010; 29 (5): 625-634.
3. Kamińska K, Szczylik C, Bielecka Z, Bartnik E, Porta C, Lian F, et al. The role of the cell–cell interactions in cancer progression. *J Cell Mol Med.* 2015; 19(2): 283–296
4. Gao S, Yu Y, Ma Z, Sun H, Zhang Y, Wang X, et al. NMDAR-Mediated Hippocampal Neuronal Death is Exacerbated by Activities of ASIC1a. *Neurotox Res* 2015; 122-137.
5. Kerr J, Wyllie A, Currie A. Apoptosis (Cell Suicide). *Br J cancer* 1972; 26:239-57.
6. Politis P, Makri G, Thomaidou D, Geissen M, Rohrer H, Matsas R. BM88/CEND1 coordinates cell cycle exit and differentiation of neuronal precursors. *Proceedings of the National Academi of Sciences of the United States of america*, 2007 Nov 6, Boston, USA. Harvard Medical School.
7. Bosch FX, Ribes J, Díaz M, Cléries R. Primary liver cancer: worldwide incidence and trends. *Gastroenterology.* 2004; 1; 127(5):S5-16.
8. Law MG, Roberts SK, Dore GJ, Kaldor JM. Primary hepatocellular carcinoma in Australia, 1978-1997: increasing incidence and mortality. *Med J Australia.* 2000; 173:403
9. Majd A, Mehrabian S, Jonoobi P, Modaresi A. A comparative study of anti\_mutation and anti\_carcinogenic properties of Rosemary and Lavender during their different developmental stages. *J Med Microbiol.* 2011; 5(3): 61\_67
10. Moalemezadeh Sh, Rajabbeigi E, Montazeri M. Investigation on cytotoxic effect of hydroalcoholic extract of *Artemisia sieberi* on SKBr3 cell line. *J cell Tissue,* 2020. 10(4): 252-260
11. Dalilan S, Rezaei-Tavaniri M, Nabiuni M, Heidari-Keshel S, Azodi M, Zali H. Aqueous Extract of *Lavender angustifolia* Inhibits Lymphocytes Proliferation of Hodgkin's Lymphoma Patients. *Iran J Cancer Prev.* 2013; 6(4): 201–208.
12. Hamzeh S, Safari-Faramani R, Khatony A. Effects of Aromatherapy with Lavender and Peppermint Essential Oils on the Sleep Quality of Cancer Patients: A Randomized Controlled Trial. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2020; 2020: 7480204. doi: 10.1155/2020/7480204
13. Rezaei M, Rajabbeigi E. Effect of hydroalcoholic extract of Lavender on apoptosis of liver cancer cells (HepG2). *Pathobiol Res.* 2020: 23(4)
14. Shimada K., Fujikawa K., Yahara K., Nakamura T. Antioxidative properties of xanthone on the auto oxidation of soybean in cyclodextrin emulsion. *J Agr Food Chem.* 1992;40:945–948
15. Khalighi-Sigaroodi F, Jeddi-Tehrani M, Ahvazi M, Shahnazi S, Bayat A, Mohajer, et al. Cytotoxicity Evaluation of *Taverniera Spartea* on Human Cancer Cell Lines. *J Med Plants.* 2014; 50(5): 114-128.
16. Azadmehr A, Hajiaghaee R, Rezazadeh S, Afshari A, Kiani amin M, Baradaran B et al . Evaluation of *Lavandula officinalis* Extract on Lymphocyte Proliferation and Tumor Necrosis Factor-alpha Production. *J. Med Plants.* 2011; 10 (38) :142-147
17. Rabiei Z, Gholami M, Rafieian Kopaei M. Effect of Lavender on Blood Brain Barrier Permeability in Rats Subjected to Ischemia. *J Mazandaran Univ Med Sci.* 2015; 25(129): 46-56
18. Vakili A, Sharifat S, Akhavan MM, Bandegi AR. Effect of lavender oil (*Lavandula angustifolia*) on cerebral edema and its possible mechanisms in an experimental model of stroke. *Brain Res,* 2014; 1548:56-62.
19. Zhao Y, Chen R, Wang Y, Qing C, Wang W, Yang Y. In Vitro and In Vivo Efficacy Studies of Lavender *angustifolia* Essential Oil and Its Active Constituents on the Proliferation of Human Prostate Cancer. *Integr Cancer Ther.* 2017;16(2):215-226