ارمغان دانش، مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج
دوره ۲۷، شماره٤، مهر و آبان ١٤٠١(شماره پی در پی ١٥٣)

مقاله پژوهشی

بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضدتکثیری اسانس بذر رازیانه بر رده سلولی MCF-7 سرطان پستان و رده سلولیA2780 سرطان تخمدان

مهلا نادریفر[۱]، نرگس نیکونهاد لطف آبادی[۲*]، بی بی فاطمه حقیرالسادات[۳]

[۱]گروه سلولی و مولکولی، دانشگاه علم و هنر، یزد، ایران، ۲گروه زیست شناسی، دانشگاه علم و هنر، یزد، ایران، [۳] گروه علوم و فنون نوین پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات درمانی شهید صدوقی یزد، ایران

تاریخ وصول: ١٤٠٠/٠٦/٢٦ تاریخ پذیرش: ١٤٠١/٠٥/٠٤

چکیده

زمینه و هدف: با توجه به وجود مقادیر بالایی از ترکیباتی با خاصیت آنتی‌اکسیدانی و سیتوتوکسیک در اسانس بذر رازیانه، هدف از این پژوهش تعیین و بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضدتکثیری اسانس بذر رازیانه بر رده سلولی MCF-7 سرطان پستان و رده سلولیA2780 سرطان تخمدان بود.

روش بررسی: این یک مطالعه تجربی که در سال ۱۳۹۸ انجام شد، ابتدا اسانس بذر رازیانه با روش تقطیر در آب و با استفاده از کلونجر استخراج گردید. سپس سلول‌های سرطانی MCF-7 و A2780 کشت و تکثیر داده شد و سمیت سلولی اسانس در غلظت‌های ۱۰، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۱۲۵، ۲۵۰ و ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر به مدت ٢٤ و ٤٨ ساعت بر اساس تست رنگ سنجی(MTT) سنجیده شد. هم‌چنین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس در غلظت‌های ۱، ۰/۷، ۰/۵، ۰/۲ و ۰/۰۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر با استفاده از تست به دام اندازی رادیکال آزاد(DPPH) بررسی گردید. داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از آزمون آماری آنالیز واریانس دوطرفه و با استفاده از نرم افزار آماری گراف پد پریسم تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: نتایج این پژوهش نشان داد که اسانس بذر رازیانه طی ٢٤ و ٤٨ ساعت در بسیاری از غلظت‌های مورد استفاده (به ویژه غلظت‌های بالا) به طور معنی‌داری رشد سلول‌های سرطانیMCF-7 و A2780 را نسبت به گروه کنترل کاهش داده است. میزان سمیت اسانس طی ٢٤ ساعت در تمامی غلظت‌ها به جز ۱۰ میکروگرم برای میلی‌لیتر بر رده سلولی MCF-7 بیشتر بوده و در طی ٤٨ ساعت اسانس در تمامی غلظت‌ها، برای رده سلولی MCF-7 سمیت بالاتری داشته است. میزان IC50 اسانس طی ٢٤ و ٤٨ ساعت برای MCF-7 به ترتیب ٩٤/٣ و ٦١/٧ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود در حالی که اسانس برای رده سلولی A2780، IC50 نداشت. هم‌چنین مشخص گردید که اسانس بذر رازیانه در تمامی غلظت‌های مورد استفاده به صورت وابسته به غلظت دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشد.

نتیجه‌گیری: نتایج پژوهش حاضر نشان می‌دهد که اسانس رازیانه در غلظت‌های مختلف می‌تواند ، اثرات ضد تکثیری قابل توجهی بر رده‌های سلولی MCF-7 سرطان پستان و A2780، سرطان تخمدان داشته باشد.

واژه‌های کلیدی: اسانس رازیانه، ضد تکثیری، آنتی اکسیدان، رده سلولی A2780، رده سلولی MCF-7

* **نویسنده مسئول: نرگس نیکونهاد لطف آبادی**، یزد، دانشگاه علم و هنر، یزد، گروه زیست شناسی

Email: nikounahad_1976@yahoo.com

مقدمه

سرطان نامی است که به گروهی از بیماری‌ها اطلاق می‌شود که مشخصه همه آنها رشد بی‌رویه و غیر معمول سلول‌ها است(۲ و۱). این بیماری کشنده که هر ساله بخشی از جامعه را درگیر می‌کند و در نهایت منجر به مرگ تعداد قابل توجهی از آنها می‌شود، دومین عامل مرگ و میر در کشورهای توسعه یافته و سومین عامل مرگ و میر در کشورهای در حال توسعه است(٤و٣، ١). پژوهش‌ها نشان می‌دهد که در سال ۲۰۲۰، ۳/۱۹ میلیون مورد جدید ابتلاء به سرطان و مرگ حدود ۱۰ میلیون نفر بر اثر این بیماری گزارش شده است(٥).

در این بین، گروهی از سرطان‌ها از جمله تخمدان صرفاً در زنان و برخی از سرطان‌ها نظیر؛ پستان به مقدار بیشتری در این جنس قابل مشاهده هستند. سرطان تخمدان کشنده‌ترین سرطان باروری در زنان به شمار می‌آید و چون تا به مرحله پیشرفته نرسد، قابل تشخیص نیست، از آن به قاتل خاموش یاد می‌شود. این بدخیمی کشنده در میان زنان ایرانی رتبه هشتم را به خود اختصاص داده است و سالیانه در جهان منجر به شناسایی حدود ۲۳۰ هزار مورد جدید و مرگ حدود ۱۵۲ هزار نفر زن می‌شود(۸ـ٥). سرطان پستان نیز یکی از بدخیمی‌های کشنده است که معمولاً در میان زنان دیده می‌شود. این بدخیمی ناهمگن، در سال ۲۰۱۸، ۱۱ درصد مرگ و میر ناشی از سرطان را به خود اختصاص داده است(۱۰ و۹) و گزارش‌ها در سال ۲۰۱۹ نشان می‌دهد که ۳۱٦۷۰۰ مورد جدید ابتلا به این بیماری در ایالات متحده شناسایی شده و پیش‌بینی می‌شود که تا سال ۲۰۵۰ میلادی با توجه با افزایش جمعیت، حدود ۳/۲ میلیون مورد جدید مبتلا به سرطان پستان شناسایی خواهد شد(۱۱). در ایران نیز هماهنگ با دنیا، روند ابتلا به این سرطان کشنده طی ۳۰ سال گذشته افزایش یافته است. پژوهش‌ها نشان می‌دهد که میانگین سن ابتلای زنان ایرانی به سرطان پستان حدود ٤٨ تا ٤٩ سال می‌باشد(۱۰ و۹).

با پیشرفت‌های زیادی که در حوزه درمان سرطان طی سال‌های اخیر انجام شده است، به منظور درمان این بیماری از روش‌های متعددی نظیر جراحی، شیمی درمانی و رادیو تراپی استفاده می‌شود که هر یک از آنها عوارض جانبی زیادی را به دنبال دارد. به عنوان نمونه در فرآیند شیمی درمانی به دلیل غیرهدفمند بودن این درمان، داروهای مورد استفاده علاوه بر سلول‌های سرطانی به بافت‌های سالم بدن نیز آسیب‌های جدی و گاه جبران ناپذیری وارد می‌کنند(۱۳و۱۲). بنابر این با توجه به هزینه بالای درمان‌های استاندارد سرطان و شکست اکثر درمان‌های معمول، حرکت به سمت پیشگیری و درمان‌هایی با عوارض جانبی کم و مقرون به صرفه از جمله؛ ترکیبات ضد توموری استخراج شده از گیاهان، جهت مقابله با بیماری سرطان، ضرورتی انکار ناپذیر است(۱۵ و ١٤، ١٢).

گیاهان دارویی منابعی ارزشمند هستند که با برخورداری از مقدار معینی ماده مؤثره، از گذشته‌های

دور تا به امروز به منظور پیشگیری، درمان و حفظ بهداشت بدن مورد استفاده قرار گرفته است(۱۸ــ۱٦). رازیانه با نام علمی *Foeniculum vulgare* یکی از مهم‌ترین و پرکاربردترین گیاهان دارویی است که به سبب برخورداری از ویژگی‌هایی نظیر نیاز آبی اندک و مقاومت به خشکی، پراکندگی گسترده‌ای در سرتاسر جهان دارد، ولی در ایران فقط گونه *Foeniculum vulgare mill* به صورت وحشی و زراعی یافت می‌شود. این گیاه دو ساله(زراعی) یا چند ساله(وحشی) که متعلق به تیره *Apiaceae* و راسته *Apiales* است، علاوه بر این که در طب قدیمی از آن به عنوان مقوی معده، مسکن سرفه، افزایش ترشح شیر و غیره استفاده می‌شود، امروزه پژوهش‌ها نشان می‌دهد که با برخورداری از ترکیبات زیستی متنوع، دارای ویژگی‌های گسترده آنتی‌اکسیدانی، ضد توموری و ضد باکتری است(۲۰ و ۱۹، ۱٦). به عنوان مثال آنتول که بیشترین ماده تشکیل دهنده اسانس بذر رازیانه است، از طریق القای اتوفاژی، کاهش گونه‌های فعال اکسیژن(Reactive Oxygen Species) و جلوگیری از بیان آنکوژن و مهار کننده‌های کیناز وابسته به سیکلین نقش ضد توموری دارد(۲۱). هم‌چنین وجود ترکیب لیمونن در اسانس رازیانه، با بازسازی عملکرد مختل شده از دستگاه ایمنی و ویژگی‌های آنتی اکسیدانی، ترکیب فنچون با جلوگیری از پیشرفت چرخه سلولی، ترکیبات پنین، سابنین، استراگول و فلاندرن با برخورداری از ویژگی‌های آنتی اکسیدانی و ضد توموری، می‌توانند نقش مهمی در القای خاصیت ضد تکثیری اسانس رازیانه داشته باشند(۲۱-۲۸).

با توجه به کاهش کیفیت زندگی بیماران مبتلا به سرطان طی شیمی درمانی به دلیل عوارض جانبی داروها هنگام درمان و لزوم ارایه ترکیبات ضد سرطان با عوارض جانبی کم و از سوی دیگر برخورداری اسانس بذر رازیانه از ترکیبات ضد توموری و آنتی‌اکسیدانت، لذا هدف از این پژوهش تعیین و بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس بذر رازیانه و مطالعه و مقایسه سمیت این اسانس بر رده-های سلولی MCF-7 سرطان پستان و A2780 سرطان تخمدان بود.

روش بررسی

این یک مطالعه تجربی می‌باشد که در سال ۱۳۹۸ به مدت ٤ ماه در دانشگاه علم و هنر یزد و پردیس بین‌الملل دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد انجام شد. محیط کشت RPMI متعلق به شرکت Inoclon ایران، سرم جنینی گاو (Fetal bovine serum(FBS)) متعلق به شر کت GIBCO ایالات متحده، محلول MTT وDMSO متعلق به شرکت Biotech ایران تهیه و خریداری شد. هم‌چنین بذر گیاه رازیانه از خراسان رضوی، شهرستان خواف، تهیه گردید.

در پژوهش حاضر به منظور عمل اسانس‌گیری از روش تقطیر در آب به وسیله دستگاه کلونجر استفاده شد. برای این منظور ابتدا نمونه بذر جمع‌آوری شده گیاه رازیانه بومی یزد به وسیله متخصص گیاه‌شناسی در دانشگاه علم و هنر یزد تأیید شد. در هر مرتبه حدود ۱۰۰ گرم بذر را خورد

کرده تا تبدیل به پودر شود، سپس پودر حاصل به همراه ۲۵۰ میلی‌لیتر آب را درون بالون ۵۰۰ میلی‌لیتری ریخته شد و مجموعه حاصل را به دستگاه کلونجر متصل کرده و به مدت ٤ ساعت اسانس‌گیری انجام شد، در پایان اسانس تولید شده از دستگاه کلونجر خارج و برای انجام مراحل بعدی جمع‌آوری گردید(۱۸و۱۷).

این مطالعه در محیط in vitro و بر روی سلول‌های MCF-7 سرطانی پستان و A2780 تخمدان انجام گرفته است. رده‌های سلولی یاد شده به صورت ویال از بانک سلولی انستیتو پاستور ایران تهیه گردید و در محیط کشت RPMI ١٦٤٠ حاوی FBS، آمفوتریپسین B، آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین و استرپتومایسین در انکوباتور در شرایط دمایی ۳۷ درجه سانتی‌گراد و ۲۵ درصد کربن دی‌اکسید و ۹۵ درصد بخار آب تکثیر داده شد.

در پژوهش حاضر به منظور اندازه‌گیری سمیت سلولی از تست MTT استفاده شده است. ابتدا رده سلولی MCF-7 پستان و A2780 تخمدان را به صورت جداگانه با غلظت 10^4 در هر چاهک در پلیت ۹٦ تایی به مدت ٢٤ ساعت کشت داده شد. سپس هریک از رده‌های سلولی به صورت جدگانه به ترتیب با ۱۰، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۱۲۵، ۲۵۰ و ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از اسانس رازیانه برای ٢٤ و ٤٨ ساعت تیمار شد. پس از گذشت زمان تیمارهای مورد نظر ۲۰ میکرولیتر محلول MTT با غلظت ٥ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به هر چاهک اضافه شد و به مدت ٤ ساعت انکوبه شدند. بعد از آن مایع رویی خارج و به منظور حل شدن کریستال‌های فورمازون ۱۵۰ میکرولیتر DMSO اضافه گردید. جذب در طول موج ٥٧٠ نانومتر با استفاده از الایزا ریدر(مدلBioTek_ELx800) ثبت و در نهایت با توجه به رابطه ۱ درصد زنده مانی سلول‌ها محاسبه شد(۲۹). در انتها میزان IC50 اسانس طی ٢٤ و ٤٨ ساعت برای MCF-7 و A2780 محاسبه شد.

$$\frac{\text{میانگین جذب نوری در محیط کشت} - \text{میانگین جذب نوری در گروه آزمون}}{\text{میانگین جذب نوری در محیط کشت} - \text{میانگین جذب نوری در گروه کنترل}} \times ۱۰۰$$

۱ میلی‌لیتر از محلول ۰/۱ میلی‌مولار DPPH به ۱ میلی‌لیتر از اسانس رازیانه در رقت‌های ۱و ۰/۷ و ۰/۵ و۰/۲ و ۰/۰۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر اضافه و به خوبی تکان داده و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق و مکان تاریک قرار داده شد. سپس جذب محلول در طول موج ٥١٧ نانومتر با بلانک متانول و محلول DPPH اندازه‌گیری شد و مهار رادیکال‌های آزاد با استفاده از رابطه ۲ محاسبه شد.

$$\text{درصد مهار رادیکال آزاد} = \frac{\text{جذب نمونه} - \text{جذب کنترل}}{\text{جذب کنترل}} \times 100$$

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزر گراف پد پریسم و آزمون آماری آنالیز واریانس دو طرفه تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها

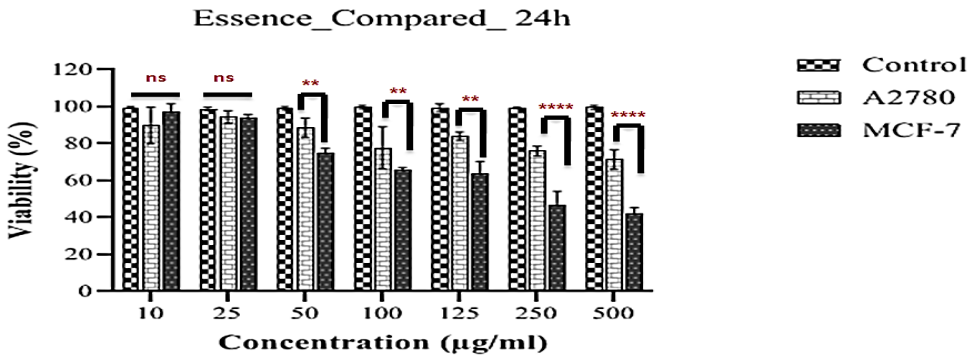
نتایج سمیت سلولی به روش MTT در نمودارهای ۱ و ۲ نشان داده شده است که بر اساس آن، مشخص می‌شود که اسانس بذر رازیانه دارای اثرات بازدارندگی بر رشد و تکثیر رده‌های سلولی MCF-7 سرطان پستان و A2780 سرطان تخمدان طی ٢٤ و ٤٨ ساعت است. نمودار ۱ نشان می‌دهد که، اسانس رازیانه در تمامی غلظت‌ها به صورت وابسته

به غلظت باعث کاهش زنده‌مانی سلول‌های رده سلولی MCF-7، طی ۲٤ ساعت شده است. از سوی دیگر این نمودار نشان می‌دهد که تأثیر اسانس رازیانه بر زنده مانی سلول‌های رده A2780 طی ۲٤ ساعت وابسته به غلظت نیست. هم‌چنین مشخص می‌شود که در همه غلظت‌ها به جز غلظت ۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، اثر ضد سرطانی اسانس رازیانه، بر رده‌ی سلولی MCF-7 سرطان پستان نسبت به رده‌ی سلولی A2780 سرطان تخمدان بیشتر می‌باشد. هم‌چنین این نمودار نشان می‌دهد که در غلظت‌های کم(۱۰ و ۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر)، با وجود اثرت ضدتکثیری برای اسانس، ولی این تأثیرات نسبت به کنترل منفی(سلول‌های رده سلولیMCF-7 و A2780، بدون اضافه نمودن اسانس) معنی‌دار نمی‌باشد.

نمودار ۲ نشان می‌دهد که، اسانس رازیانه در تمامی غلظت‌ها به صورت وابسته به غلظت باعث کاهش زنده‌مانی سلول‌های هر دو رده‌ی سلولی شده طی ٤۸ ساعت شده است. این نمودار مشخص می‌کند که در همه غلظت‌ها اثر ضد سرطانی اسانس رازیانه، بر رده سلولی MCF-7 سرطان پستان نسبت به رده سلولی A2780 سرطان تخمدان بیشتر می‌باشد. هم‌چنین این نمودار نشان می‌دهد که در تمامی غلظت‌های مورد استفاده، اثرات ضدتکثیری اسانس، بر هر دو رده‌ی سلولی قابل توجه و نسبت به کنترل منفی(سلول‌های رده سلولیMCF-7 وA2780، بدون اضافه نمودن اسانس) معنی‌دار می‌باشد(p<۰/۰۱****)(عدم اختلاف معنی‌دار=ns)

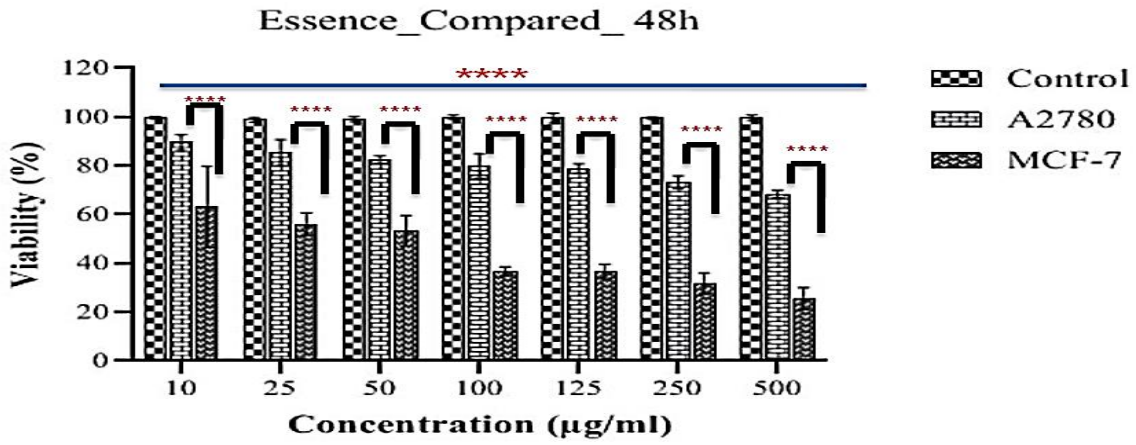
هم‌چنین نتایج پژوهش حاضر، میزان IC50 اسانس طی ۲٤ و ٤۸ ساعت برای MCF-7 به ترتیب ۹٤/۳ و ٦۱/۷ میکروگرم بر میلی‌لیتر نشان می‌دهد در حالی که اسانس برای رده سلولی A2780، IC50 نداشت.

نتیجه فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس بذر رازیانه در غلظت‌های مختلف، در نمودار ۳ گزارش شده است. بر اساس این نمودار، اسانس رازیانه به صورت وابسته به غلظت در تمامی رقت‌های مورد استفاده، فعالیت آنتی‌اکسیدانی داشته و این ویژگی با افزایش غلظت اسانس، افزایش می‌یابد.

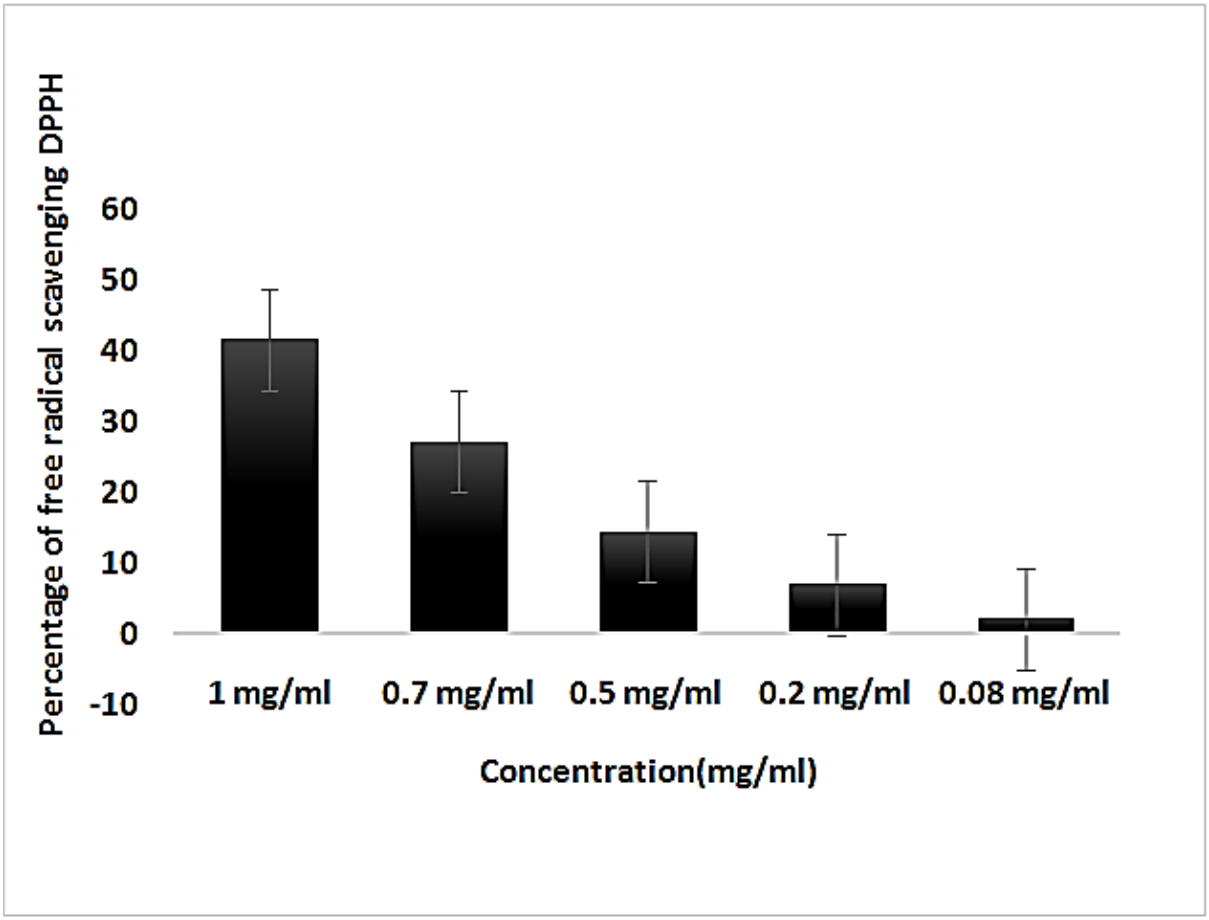


نمودار ۱: درصد زنده مانی رده سلولی MCF-7 و A2780 در مواجه با اسانس رازیانه در مدت زمان ۲٤ ساعت با بررسی معنی‌دار بودن سمیت سلولی در غلظت‌های مختلف بر اساس تست آنالیز واریانس دو طرفه

(**p<۰/۰۵، ****p<۰/۰۱، عدم اختلاف معنی‌دار=ns)۰



نمودار ۲: درصد زنده مانی رده سلولی MCF-7 و A2780 در مواجه با اسانس رازیانه در مدت زمان ٤٨ ساعت با بررسی معنی‌دار بودن سمیت سلولی در غلظت‌های مختلف بر اساس تست آنالیز واریانس دو طرفه



نمودار ۳: مقایسه فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس رازیانه در غلظت‌های مختلف با بررسی معنی‌دار بودن در غلظت‌های مختلف بر اساس تست آنالیز واریانس دو طرفه انجام شد و با توجه به شاخص$p<۰/۰۵$ در تمامی غلظت‌ها معنی‌دار می‌باشد.

بحث

با توجه به نقش امیدوارکننده داروهای گیاهی در پیشگیری و مبارزه با سرطان و از سوی دیگر، ترس و نگرانی انسان‌ها از عوارض جانبی داروهای رایج برای درمان سرطان، اقبال عمومی به سمت استفاده از گیاهان دارویی افزایش یافته است(۲۲). لذا هدف از این پژوهش تعیین و بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضدتکثیری اسانس بذر رازیانه بر رده سلولی MCF-7 سرطان پستان و رده سلولیA2780 سرطان تخمدان بود.

نتیجه پژوهش، نشان داد، اسانس بذر رازیانه در ۲٤ و ٤۸ ساعت، در تمامی غلظت‌ها اثرات ضد توموری بر هر دو رده‌ی سلولی داشته است و با افزایش غلظت اسانس، این اثرات ضدسرطانی افزایش چشمگیری یافته است. پژوهش‌ها نشان می‌دهد که در اسانس گیاه رازیانه ترکیبات زیست فعالی نظیر فنول‌ها و فلاوونوئیدها وجود دارد که می‌تواند وجود فعالیت ضدسرطانی آن را توجیه نماید. به عنوان مثال ترکیب شیمیایی آنتول که بیشترین درصد اسانس رازیانه را تشکیل می‌دهد، در برخی از بررسی‌ها به عنوان اصلی‌ترین جز ضد سرطان اسانس رازیانه معرفی شده است. از سوی دیگر بررسی‌های مولکولی نشان می‌دهد که اسانس‌های گیاهی از طریق واکنش با غشای سلول و ایجاد تغییر در غلظت سلول سرطانی، می‌تواند در تغییر متابولیسم سلول سرطانی نقش مهمی ایفا نماید. هم‌چنین این پژوهش‌ها نشان می‌دهد که اسانس‌های گیاهی از جمله اسانس رازیانه با ایجاد اختلال در کانال‌های یونی و تخریب پمپ‌های غشایی، منجر به نشت کلسیم و پروتئین شده که در نهایت با بر هم زدن هم ایستایی سلول سرطانی، مرگ آن سلول را رقم خواهد زد(۲۵ـ۲۳). در پژوهش حاضر اثر ضد سرطانی اسانس وابسته به غلظت بوده، یعنی با افزایش غلظت اسانس، خواص ضدسرطانی آن افزایش می‌یابد که این نتیجه را می‌توان با توجه به این که با افزایش غلظت اسانس، میزان ترکیبات ضد سرطانی آن از جمله آنتول افزایش یافته، قابل توجیه دانست. پژوهشگرانی نظیر کریمی مقدم، پرنیان، طالعی اردکانی، طائب‌پور هر کدام به صورت جداگانه، اثرات ضد سرطانی ترکیبات گیاهی استفاده شده در پژوهش خود را، بر رده‌های مختلف سلولی، همانند پژوهش حاضر وابسته به غلظت گزارش نموده‌اند(۲۹ و ۳۷ـ۳٤). این در حالی است که موسایی و همکاران، طی پژوهشی نشان دادند که عصاره رازیانه در غلظت‌های بالا عامل محرک تقسیم سلولی و در غلظت‌های پایین عامل بازدارنده تقسیم سلولی در رده سلولی HepG2 سرطانی کبد و TuBO سرطان پستان است. اثر دوگانه عصاره رازیانه در پژوهش موسایی، در پژوهش حاضر که از اسانس رازیانه استفاده شده است، مشاهده نشد. این امر می‌تواند به دلیل تفاوت در ترکیبات تشکیل دهنده اسانس با عصاره باشد(۳۸).

از دیگر نتایج پژوهش حاضر، بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس رازیانه بود که بر اساس آن مشخص گردید که اسانس رازیانه در تمامی

غلظت‌های مورد استفاده، دارای فعالیت آنتی‌اکسیدان می‌باشد. این خاصیت زیستی، مربوط به ترکیبات فنولی موجود در اسانس رازیانه از جمله، آنتول و استراگول می‌باشد(۳۹). این ترکیبات با دادن گروه‌های هیدروکسیل خود به رادیکال‌های آزاد، منجر به ایجاد خاصیت آنتی‌اکسیدانی در اسانس رازیانه می‌شوند. رادیکال‌های آزاد ترکیباتی هستند که به دلیل کمبود الکترون به شدت واکنش پذیر بوده و همواره از محصولات ناخواسته زنجیره انتقال الکترون در میتکندری محسوب می‌شوند که اگر در سلول به وسیله ترکیبات آنتی‌اکسیدان، مهار نشوند، می‌توانند با اجزا و مولکول‌های زیستی واکنش‌های نابجا داده و منجر به صدمات جبران ناپذیری در سلول‌ها گردند(۴۳-۴۰).

در مطالعه‌ای صمدی و همکاران در رابطه با بررسی سمیت عصاره رازیانه بر رده سلولی HepG2، گزارش نمودند که این عصاره در غلظت‌های بالا، طی زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت، می‌تواند تقسیم سلولی سلول‌های سرطانی کبد را کاهش دهد(۴۴). کاظمی و همکاران اثر فراکسیون بوتانولی اسانس *Allium affine* Ledeb را بر سلول‌های سرطانی پستان و تخمدان بررسی نموده و به این نتیجه رسیدند که فراکسیون بوتانولی گیاه *A. affine* دارای اثرات سایتوتوکسیک بر روی سلول‌های سرطانی مورد بررسی به ویژه رده سلولی سرطان تخمدان است(۴۵). در مطالعه‌ای الهه امینی و همکاران نیز ضمن بررسی اثر عصاره *Lippia citriodora* بر رده سلولی A2780 سرطان تخمدان به این نتیجه رسیدند که عصاره الکلی برگ *Lippia citriodora* با دارا بودن ظرفیت القای آپوپتوزیس و بازیابی بیان E-کادهرین در سلول‌های سرطانی A2780 قادر به مهار پتانسیل تهاجمی سلول‌های سرطان تخمدان است(۴۶). تمامی نتایج ذکر شده همانند پژوهش حاضر، دلیلی بر ویژگی‌های ضد توموری ترکیبات استخراج شده از گیاهان است. پرنیان و همکاران در پژوهشی نشان دادند که عصاره عشقه به صورت وابسته به غلظت می‌تواند تکثیر سلول‌های سرطانی HT29 کولون را کنترل کند(۳۵). هم‌چنین در مطالعه‌ای طائب پور و همکاران گزارش نمودند که عصاره هیدروالکلی *Artemisia absintyhuim*، می‌تواند به صورت وابسته به غلظت منجر به کاهش زنده مانی سلول‌های MCF-7 سرطان پستان شود(۳۷). نتایج پژوهش پرنیان و پژوهش طائب پور، همانند نتایج پژوهش حاضر تأییدی بر ویژگی‌های ضد توموری ترکیبات استخراج شده از گیاهان می‌باشد. سعیده خدنگ نیک فرجام و همکاران، سمیت عصاره *Artemisia absinthium* را بررسی کرده و به این نتیجه رسیده‌اند که این عصاره به صورت وابسته به غلظت، رشد سلول‌های سرطانی A2780 را مهار می‌کند(۵). در مطالعه‌ای اسماعیلی و همکاران نیز گزارش نمودند که عصاره متانولی اندام‌های هوایی گیاه *Centaurea albonitens* Turrill به صورت وابسته به غلظت زندمانی سلول‌های سرطانی MCF-7 پستان را کاهش می‌دهد(۴۷). همان‌گونه که در بالا مشخص شد، اکثر

پژوهش‌های انجام شده در راستای نتایج حاصل از پژوهش حاضر می‌باشد که تأییدی بر پتانسیل ضد توموری بالای ترکیبات گیاهی است.

کشور ایران با برخورداری از شرایط اقلیمی و جغرافیایی متنوع، دارای فلور غنی از گیاهان دارویی است که می‌تواند ماده اولیه بسیاری از داروها را فراهم نماید(٤٨). از سوی دیگر با توجه به این که بخشی از ترکیبات گیاهی دارای اثرات ضد توموری قابل توجهی هستند و در بسیاری از موارد دارای اثرات جانبی کمتری نسبت به داروهای رایج درمان سرطان می‌باشند، رویکرد جوامع بشری نسبت به گیاهان دارویی تغییر کرده است، بنابراین به نظر می‌رسد که محققان حوزه دارو باید در پژوهش‌های خود، توجه ویژه‌ای به این منابع ارزشمند خدادادی داشته باشند. پژوهش حاضر اگرچه منتهی به نتایج ارزشمندی در حوزه ترکیبات ضد توموری گیاهان شد، اما همانند بسیاری از پژوهش‌ها دارای نواقص و کاستی‌هایی می‌باشد. عدم شناسایی ترکیبات اسانس گیاه رازیانه مورد استفاده در پژوهش، عدم بررسی مکانیسم سلولی ضد توموری اسانس و عدم مقایسه میزان فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس رازیانه در مقایسه با آنتی اکسیدان‌های صنعتی از جمله کاستی‌های پژوهش حاضر است که انجام و برطرف کردن آنها را به سایر پژوهشگران این حوزه توصیه می‌شود.

نتیجه‌گیری

در پژوهش حاضر، ضمن بررسی اسانس بذر رازیانه بر رده‌های سلولی MCF-7 سرطان پستان و A2780 سرطان تخمدان، مشخص گردید که این اسانس به ویژه در غلظت‌های بالا اثرات ضد توموری مناسبی بر سلول‌های سرطانی تخمدان و به ویژه پستان دارد. هم‌چنین معین شد که اسانس رازیانه به صورت وابسته به غلظت از فعالیت آنتی اکسیدانی نیز برخوردار است. بنابراین، با توجه به نتایج حاصل از پژوهش حاضر، اسانس بذر رازیانه می‌تواند، کاندیدای مناسبی برای پژوهش‌های بیشتر در زمینه ترکیبات ضد سرطانی باشد.

تقدیر و تشکر

پژوهش حاضر حاصل پایان نامه کارشناسی ارشد رشته زیست شناسی با کد اخلاق IR.SSU.RSI.REC.1398.038 دانشگاه علم و هنر یزد می‌باشد. بدین وسیله مراتب قدردانی خود را از همکاری علمی شرکت دانش بنیان زیست فناوران فردانگر و پژوهشگر ارشد آن شرکت محمد مجدی‌زاده اعلام می‌داریم.

REFERENCES:

1.Sasani E, Shahi Malmir H, Daneshmand F, Majdizadeh M, Haghiralsadat BF. Synthesis and physiochemical characterizing of Liponiosomal hybrid nano-carriers as carriers for Doxorubicin HCl anti-cancer drug. Journal of Sabzevar University of Medical Sciences. 2020; 27(1): 35-47.
2.Pecorino L. Molecular biology of cancer: mechanisms, targets, and therapeutics. Ed[2], USA: Oxford University Press; 2016; 168.
3.Cancer Control: a Global Snapshot in 2015 Summary of Results From the 2015 Who Ncd Country Capacity Survey. Geneva, Switzerland: WHO, 2015: 1-6.
4.Bahrami-Banan F, Sheikhha MH, Ghasemi N, Majdizadeh M, Haghiralsadat BF. Preparation and study of nano-niosomes containing doxorubicin and evaluation of its toxicity on acute myeloblastic leukemia cell line KG-1. Payavard 2018; 12(4): 309-23.
5.Khang nikfarjam S, Baharara J, Nejad shahrokhabady K. Cytotoxic effects of Artemisia absinthium extract on A2780 cell line(Ovarian cancer) and alteration of apoptotic genes expression levels. Studies in Medical Sciences 2021; 32(5): 317-28. 6.Reid BM, Permuth JB, Sellers TA. Epidemiology of ovarian cancer: a review. Cancer Biology & Medicine 2017; 14(1): 9-32.
7.Javdan P, Rejisi S, MohammadiNejad P. Overexpression of TRAF4 gene in ovarian cancer samples and association with metastasis and poor prognosis in patients. Journal of Arak University of Medical Sciences 2018; 21(1): 21-30. Stewart C, 8.Ralyea C, Lockwood S. Ovarian cancer: an integrated review. InSeminars in Oncology Nursing 2019; 35(2): 151-6. Tao Z, 9.Shi A, Lu C, Song T, Zhang Z, Zhao J. Breast cancer: epidemiology and etiology. Cell Biochemistry and Biophysics 2015; 72(2): 333-8.
10.Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. CA: A Cancer Journal for Clinicians 2018; 68(6): 394-24.
11.He Z, Chen Z, Tan M, Elingarami S, Liu Y, Li T, et al. A review on methods for diagnosis of breast cancer cells and tissues. Cell Proliferation 2020; 53(7): 1-16
12.Sasani E, Shahi Malmir H, Daneshmand F, Majdizadeh M, Haghiralsadat BF. A new study on synthesize and optimization of PEGylated LipoNiosomal nanocarriers containing curcumin for use in cancer chemotherapy. SSU_Journals 2018; 26(6): 528-41..
13.Shahi Malmir H, Kalantar SM, Sasani E, Asgari M, Majdizadeh M, Haghiralsadat BF. Synthesis and optimization of niosomal carriers containing doxorubicin in order to achieve a final formulation with high potential in cancer cells temperature and acidity. SSU_Journals 2019; 26(10): 879-94.
14.Ezzati M, Yousefi B, Velaei K, Safa A. A review on anti-cancer properties of Quercetin in breast cancer. Life Sciences 2020; 248: 117463.
15.Anand P, Sundaram C, Jhurani S, Kunnumakkara AB, Aggarwal BB. Curcumin and cancer: an "old-age" disease with an "age-old" solution. Cancer Letters 2008; 267(1): 133-64.
16.Khalaj H, MR LHA, Hasan Abadi T, Shaghaghi J, Hajiaghaee R. A review on the botanical, ecological, agronomical and pharmacological properties of the fennel (foeniculum vulgare mill). J Med Plants 2019; 18(69) :1-15.
17.Majdizadeh M, Rezaei Zarchi S, Movahedpour AA, Shahi Malmir H, Sasani E, Haghiralsadat BF. A new strategy in improving therapeutic indexes of medicinal herbs: preparation and characterization of nano-liposomes containing Mentha piperita essential oil. SSU_Journals 2018; 25(11): 853-64.
18.Mirzaei F, Majdizadeh M, Fatahi-Bafghi A, Ehsani R, Haghiralsadat BF. Fabrication and characterization of liposomal nano-carriers containing essential oils of Trachyspermum ammi to counteract Trichomonas vaginalis. Koomesh 2021; 23(2): 283-90.
19.Khan M, Musharaf S. Foeniculum vulgare Mill. A medicinal herb. Medicinal Plant Research 2014; 4(6): 46-54.
20.Rather MA, Dar BA, Sofi SN, Bhat BA, Qurishi MA. Foeniculum vulgare: A comprehensive review of its traditional use, phytochemistry, pharmacology, and safety. Arabian Journal of Chemistry 2016; 9(1): 1574-83.
21.Contant C, Rouabhia M, Loubaki L, Chandad F, Semlali A. Anethole induces anti-oral cancer activity by triggering apoptosis, autophagy and oxidative stress and by modulation of multiple signaling pathways. Scientific Reports 2021; 11(1): 1-4.
22.Ghasemian A, Al-Marzoqi AH, Mostafavi SK, Alghanimi YK, Teimouri M. Chemical composition and antimicrobial and cytotoxic activities of Foeniculum vulgare Mill essential oils. Journal of Gastrointestinal Cancer 2020; 51(1): 260-6.
23.Zhou J, Azrad M, Kong L. Effect of limonene on cancer development in rodent models: a systematic review. Frontiers in Sustainable Food Systems 2021; 1(1): 1-11
24.Rolim TL, Meireles DR, Batista TM, De Sousa TK, Manqueira VM, De Abrantes RA, et al. Toxicity and antitumor potential of Mesosphaerum sidifolium (Lamiaceae) oil and fenchone, its major component. BMC Complementary and Alternative Medicine 2017; 17(1): 1-2.
25.Aydin E, Türkez H, Geyikoğlu F. Antioxidative, anticancer and genotoxic properties of α-pinene on N2a neuroblastoma cells. Biologia 2013; 68(5): 1004-9.

26.Quiroga PR, Asensio CM, Nepote V. Antioxidant effects of the monoterpenes carvacrol, thymol and sabinene hydrate on chemical and sensory stability of roasted sunflower seeds. Journal of the Science of Food and Agriculture 2015; 95(3): 471-9.
27.Lashkari A, Najafi F, Kavoosi G, Niazi S. Evaluating the In vitro anti-cancer potential of estragole from the essential oil of Agastache foeniculum [Pursh.] Kuntze. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology 2020; 27: 101727.
28.de Christo Scherer MM, Marques FM, Figueira MM, Peisino MC, Schmitt EF, Kondratyuk TP, et al. Wound healing activity of terpinolene and α-phellandrene by attenuating inflammation and oxidative stress in vitro. Journal of Tissue Viability 2019; 28(2): 94-9.
29.Taebpour M, Majdizadeh M, Haghiralsadat BF. Fabrication and characterization of liposomal nanoparticles containing hydroalcoholic extract of Artemisia absintium and its toxicity on MCF-7 breast cancer cell line. Iranian Quarterly Journal of Breast Disease 2021; 14(1): 64-77.
30.Agarwal N, Majee C, Chakraborthy GS. Natural herbs as anticancer drugs. International Journal of Pharm Tech Research 2012; 4(3): 1142-53.
31.Alizadeh behbahani B, Noshad M, Falah F. Study the chemical composition of essential oil of Foeniculum vulgare and antioxidant activity and its cell toxicity. FSCT 2020; 17(104) :124-33.
32.Muthukumari D, Padma PR, Sumathi S. In vitro analysis of anethole as an anticancerous agent for triple negative breast cancer. Int J Pharm Sci Rev Res 2013; 23(2): 314-8.
33.Nakagawa Y, Suzuki T. Cytotoxic and xenoestrogenic effects via biotransformation of trans-anethole on isolated rat hepatocytes and cultured MCF-7 human breast cancer cells. Biochemical Pharmacology 2003; 66(1): 63-73.
34.Karimi-Moghddam A, Nikounahad-Lotfabadi N, Haghiralsadat BF, Majdizadeh M. Investigating the effect of lipid nanoparticles containing silibinin anti-cancer drug on the growth of breast cancer MCF-7 cell line. Journal of Torbat Heydariyeh University of Medical Sciences 2019; 6(4): 1-12.
35.Parnian F, Hekmati-Moghadam SH, Majdizadeh M, Jebali A, Haghiralsadat BF. Fabrication of niosomal nano-carriers containing aqueous extract of hedera helix and comparison of toxicity of free extract and niosome extract on HT29 colorectal cancer cell line. Journal of Knowledge & Health in Basic Medical Sciences 2020; 15(3): 31-45.
36.Talei-Ardakani N, Daneshmand F, Mirhoseini M, Majdizadeh M, Haghiralsadat BF. Fabrication and characterization of physicochemical niosomal nanocarriers containing quercetin flavonoids for therapeutic purposes. Journal of Knowledge & Health in Basic Medical Sciences 2020; 15(1): 32-40.
37.Taebpour M, Majdizadeh M, Haghiralsadat BF, Akhlaghi M. Fabrication and evaluation of liposomal nanoparticles containing Silybum marianum extract and its toxicity on osteosarcoma cancer cell line (SAOS-2) and healthy fibroblast cell (HFF). Knowledge and Health in Basic Medical Sciences 2021; 16(1): 61-73.
38.Mousaee Z, Shahrokhabadi K, Entezary M. Evaluation of the effect of Fennel extract on TERT gene expression changes in mouse liver tumors induced with cancer . Feyz 2017; 21(6): 543-52.
39.Dawidar AM, Moqib MA, El-Ghorab AH, Mahfouz M, Elsaid FG, Hussien K. Chemical composition and effect of photo-oxygenation on biological activities of Egyptian commercial anise and fennel essential oils. Journal of Essential Oil Bearing Plants 2008; 11(2): 124-36.
40.Foti MC. Antioxidant properties of phenols. J Pharm Pharmacol 2007; 59(12): 1673-85.
41.Cadenas E, Davies KJ. Mitochondrial free radical generation, oxidative stress, and aging. Free Radical Biology and Medicine 2000; 29(3-4): 222-30.
42.Sanz A, Stefanatos RK. The mitochondrial free radical theory of aging: a critical view. Current Aging Science 2008; 1(1): 10-21.
43.Naito Y, Suematsu M, Yoshikawa T. Free radical biology in digestive diseases. ed 1th. Switzerland: Karger Medical and Scientific Publishers 2010; 176.
44.Samadi Andzaqi G, Yaghoubi H, Fardin M. Investigation of compositions and effects of local herbal silybum marianum and foeniculum vulgare extractions on hospital acquired infections (hai) and cell line of liver cancer (hepg2) by mtt assays. Journal of Medicinal Herbs 2016; 7(4): 275-82.
45.Kazemi M, Zolfaghari B, Keyvanlo Shahrestanaki M, Sadeghi Dinani M. Cytotoxic effects of Allium affine Ledeb butanolic fraction on breast and ovary cancer cell lines. Journal of Medicinal Plants 2017; 16(64): 83-90.
46.Amini E, Nabiuni M, Baharara J, Behzad SB, Seyfi D, Salek F. Investigating the anticancer effect of Lippia citriodora leaf alcoholic extract: in suppression of A2780 ovarian cancer cell metastasis via restoration of E-cadherin expression. Journal of Cell & Tissue 2019; 10(1): 24-33.
47.Esmaeili S, Asadi M, Mosaddegh M, Mohammadi Motamed S, Hamzeloo-Moghadam M. Cytotoxic activity of centaurea albonitens Turrill aerial parts in colon and breast cancer cell lines. Journal of Medicinal Plants 2021; 20(78): 59-67.
48.Vafadar M, Toghranegar Z. Ethnobotanical study of some medicinal plants of Abhar county, Zanjan province. Journal of Medicinal Plants 2020; 19(75): 30-54.

Armaghane-danesh, Yasuj University of Medical Sciences Journal (YUMSJ)

Original Article

Investigating the Antioxidant and Anti-Proliferative Activity of *Foeniculum vulgare* Seed Essential Oil on MCF-7 Breast Cancer Cell Line and A2780 Ovarian Cancer Cell Line

Naderifar M[1], Nikounahad-Lotfabadi N[2*], Haghiralsadat BF[3]

[1]Department of Cell and molecular, Science and Arts University, Yazd, Iran, [2]Department of Biology, Science and Arts University, Yazd, Iran, [3]Department of Advanced Medical Sciences and Technologies, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran.

Received: 17 Sep 2021 Accepted: 26 Jul 2022

Abstract

Background & aim: Due to the presence of high amounts of compounds with antioxidant and cytotoxic properties in *Foeniculum vulgare mill* seed essential oil, the aim of the present study was to determine and investigate the antioxidant and antiproliferative activity of fennel seed essential oil on MCF-7 breast cancer cell line and A2780 ovarian cancer cell line.

Methods: The present experimental study was conducted in 2018. First, *Foeniculum vulgare* mill seed essential oil was extracted by distillation in water and using a Clevenger. At that point, MCF-7 and A2780 cancer cells were cultured and propagated, and the cytotoxicity of the essential oil in concentrations of 10, 25, 50, 100, 125, 250 and 500 µg / ml for 24 and 48 hours based on colorimetric test (MTT). Furthermore, the antioxidant activity of the essential oil at concentrations of 1, 0.7, 0.5, 0.2 and 0.08 mg/ml was investigated using the free radical scavenging test (DPPH). Collected data were analyzed using the statistical test of two-way analysis of variance and using Graph Pad Prism statistical software.

Results: The results of the present study indicated that *Foeniculum vulgare* mill seed essential oil significantly reduced the growth of MCF-7 and A2780 cancer cells compared to the control group in many concentrations used (especially high concentrations) within 24 and 48 hours. The toxicity of the essential oil was higher for MCF-7 cell line in all concentrations except 10 µg / ml within 24 hours, and in 48 hours, the essential oil was more toxic for MCF-7 cell line in all concentrations. The IC50 of the essential oil during 24 and 48 hours for MCF-7 was 94.3 and 61.7 µg/ml, respectively, while the essential oil had no IC50 for the A2780 cell line. It was as well found that fennel seed essential oil had antioxidant activity in all concentrations used in a concentration-dependent manner.

Conclusion: The results of the present study indicated that *Foeniculum vulgare* essential oil in different concentrations can have significant anti-proliferative effects on MCF-7 breast cancer and A2780 ovarian cancer cell lines.

Keywords: *Foeniculum vulgare mill* essential oil, Anti-proliferative, Antioxidant, A2780 cell line, MCF-7 cell line

[*]**Corresponding author: Nikounahad-Lotfabadi N**, Department of Biology, Science and Arts University, Yazd, Iran

Email: nikounahad_1976@yahoo.com

Please cite this article as follows: Naderifar M, Nikounahad-Lotfabadi N, Haghiralsadat BF. Investigating the Antioxidant and Anti-Proliferative Activity of *Foeniculum vulgare* Seed Essential Oil on MCF-7 Breast Cancer Cell Line and A2780 Ovarian Cancer Cell Line.Armaghane-danesh 2022; 27(4): 418- 429.