

سمیت سلولی بیلهر، بومادران و درمنه کوهی با استفاده از آزمون کشندگی آرمیا اورمیا میگوی آب شور

مهدی قوامی زاده^۱، جمشید محمدی^۲، علی میرزایی^۳، هیبت اله صادقی^۴، مهدی اکبرتبار طوری^۳

^۱کمپته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یاسوج، ایران، ^۲مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یاسوج، ایران، ^۳مرکز تحقیقات عوامل اجتماعی مؤثر بر سلامت، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یاسوج، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۱۱/۱۶

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۹/۳۰

چکیده

زمینه و هدف: امروزه از ترکیبات سمی مشتق شده از گیاهان علیه میکروپها و سلولهای سرطانی استفاده می‌شود. هدف این مطالعه ارزیابی سمیت سلولی بیلهر، بومادران و درمنه کوهی با استفاده از آزمون کشندگی آرمیا اورمیا میگوی آب شور بود.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی، ابتدا گیاهان مورد مطالعه از استان کهگیلویه و بویراحمد جمع‌آوری و شناسایی شدند. قسمت‌های هوایی گیاهان تمیز و در هوای آزاد خشک شده و عصاره‌گیری به وسیله دستگاه سوکسله با حلال‌های مناسب انجام شد. تفریح لارو با استفاده از سیستم خریداری شده از ارومیه برای ارزیابی سمیت سلولی انجام گرفت. لاروهای زنده در مجاورت غلظت‌های مختلف عصاره‌ها قرار گرفتند و تعداد لاروهای زنده و مرده پس از ۲۴ ساعت شمارش شدند. ۵۰ درصد میزان کشندگی هر عصاره از طریق میانگین لاروهای زنده کنترل و مواجهه یافته ارزیابی شدند. داده‌ها با آزمون آماری پروبیت آنالیز، تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: ۵۰ درصد میزان کشندگی برای عصاره‌های کلروفومی بومادران ($67/8 \pm 0/53$ میکروگرم بر میلی‌لیتر) هیدروالکی بیلهر ($76/5 \pm 0/6$ میکروگرم بر میلی‌لیتر) و کلروفومی درمنه ($92/7 \pm 6/05$ میکروگرم بر میلی‌لیتر) بود. بیشترین سمیت به ترتیب مربوط به عصاره کلروفومی بومادران بود. میزان کشندگی رابطه مستقیمی با غلظت عصاره‌ها داشت.

نتیجه‌گیری: طبق نتایج حاصل از آزمون کشندگی میگوی آب شور برای عصاره‌های مختلف گیاهان مورد مطالعه، بومادران، بیلهر و درمنه کوهی به ترتیب به عنوان سمی‌ترین گیاهان معرفی شدند. بنابراین این گیاهان ممکن است منبعی برای استخراج ترکیبات جدید با خواص بیولوژیکی باشند.

واژه‌های کلیدی: آرمیا اورمیا، بیلهر، بومادران، درمنه کوهی، سمیت سلولی

* نویسنده مسئول: دکتر علی میرزایی، یاسوج، دانشگاه علوم پزشکی، دانشکده پزشکی، گروه بیوشیمی

مقدمه

ایجاد سلامتی و جلوگیری از رشد بعضی تومورها و

سلول‌های سرطانی می‌شوند (۹ و ۱۰).

به منظور دستیابی و یافتن داروهای جدید ضد سرطانی از منابع گیاهی نیاز به انجام آزمایش‌های غربالگری با استفاده از عصاره‌های خام گیاهی می‌باشد. یکی از معتبرترین روش غربالگری آزمون سمیت میگوی آب شور می‌باشد که در آن گونه‌ای آبری از سخت‌پوستان متعلق به خانواده آرتمیده به نام آرتمیا اورمیاننا استفاده شده است (۱۱). بررسی‌های سال‌های اخیر در مورد داروهای ضد سرطان باعث کشف بسیاری از مواد به طور مصنوعی یا طبیعی شده است. به وضوح می‌توان گفت که بهترین داروهای ضد سرطان، از گیاهان به دست آمده و اکثراً شامل موادی با مولکول‌های درشت و پیچیده است که سنتز قریب به اتفاق آن‌ها را مشکل می‌سازد. از سال ۱۹۵۷ تحقیقات گسترده‌ای برای تعیین فرآورده‌های گیاهی که از نظر فعالیت ضد توموری فعال هستند به وسیله انستیتو ملی سرطان ایالات متحده امریکا^(۱) آغاز شده است. روش‌های بررسی سمیت سلولی پر هزینه است و نیاز به نظم، تجهیزات ویژه، پرسنل تمام وقت و سرم حیوانی دارد. در حالی که آزمون میگوی آب شور با داشتن مزایایی از جمله؛ شباهت آرتمیا با سلول‌های پستانداران، سریع، ساده و ارزان بودن، استفاده از مقادیر کم مواد جهت انجام آزمایش‌ها، نتایج آماری به دلیل تعداد زیاد

انسان از زمان‌های بسیار دور از گیاهان در درمان بیماری‌های مختلف استفاده نموده است. در سال‌های اخیر داروهای گیاهی به دلیل ضریب اطمینان و تأثیرگذاری زیاد و همچنین ارزان بودن مورد توجه قرار گرفته اند (۱). داروهای موجود برای درمان بیماری‌ها دارای اثرات جانبی بوده و به این جهت استفاده از داروهای گیاهی به میزان زیادی گسترش جهانی پیدا کرده‌اند. علی‌رغم فواید و جنبه‌های درمانی که برخی از گیاهان دارویی دارند، تعدادی از اجزا و ترکیبات تشکیل دهنده این گیاهان که فیتوکمیکال نامیده می‌شوند پتانسیل توکسیسیتی و سرطان‌زایی دارند (۲). فیتوکمیکال‌ها ترکیبات شیمیایی گیاهی را گویند که بعضی از آنها مانند؛ ویتامین‌ها، پلی‌فنل‌ها، آلکالوئیدها، تانن‌ها، ساپونین‌ها، رنگیزه‌های گیاهی، آنزیم‌ها و مواد معدنی دارای خواص آنتی‌اکسیدانی می‌باشند (۳ و ۴). غالب فلاونوئیدها، کارتنوئیدها و ترپنوئیدهای استخراج شده از گیاهان دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی بوده که باعث جلوگیری از هورمون‌ها و توقف مسیرهای متابولیکی رشد سرطان می‌شوند (۵ و ۶). خاصیت ضد توموری کوئرستین استخراج شده از عصاره‌های گیاهی گزارش شده است (۷). بسیاری از فرآورده‌های گیاهی فعالیت قوی ضد سرطانی در برابر سلول‌های سرطانی دارند (۸) و مصرف غذاهای غنی از فیتوکمیکال‌ها باعث جلوگیری از وقوع بعضی سرطان‌ها و سایر بیماری‌های شده و در نهایت باعث

1-National Cancer Institute (NCI).

بیلهر تری گلیسرید و کلسترول خون را پایین می‌آورد (۱۶). در بیلهر ترکیبات فلاونوئیدی و آلکالوئیدی گزارش شده که دارای خواص آنتی‌اکسیدانی می‌باشند و یکی از مواد مؤثره موجود در بیلهر سنوسیونین و مشتقات آن می‌باشد (۱۷ و ۱۸). هدف این مطالعه ارزیابی سمیت سلولی بیلهر، بومادران و درمنه کوهی با استفاده از آزمون کشندگی آرمیا اورمیا میگوی آب شور بود.

روش بررسی

در این مطالعه تجربی، گیاهان مورد مطالعه شامل؛ بومادران، درمنه و بیلهر پس از جمع‌آوری از رویشگاه طبیعی در فصل گل دهی، از شهر یاسوج جمع‌آوری و به وسیله گیاه‌شناس شناسایی و در سایه خشک شدند. نمونه هر بار یومی در پژوهشکده گیاهان دارویی نگهداری شد.

عصاره‌گیری به روش ماسراسیون با سه حلال آب، کلروفرم و مخلوط آب و اتانول به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد انجام شد و عصاره‌های حاصل با کاغذ صافی واتمن شماره ۱ فیلتر شد و به کمک دستگاه تقطیر در خلاء و حرارت عمل تغلیظ بر روی عصاره‌ها انجام گردید و پس از تغلیظ و توزین هر یک از عصاره‌ها، درصد عصاره حاصل از هر گیاه محاسبه شد.

آرمیا سخت پوستی است که به طور وسیع در مطالعات سم شناسی آزمایشگاهی و آزمون‌های زیست‌سنجی استفاده می‌شود. اندازه کوچک آرمیا و

لارو ها، به واقعیت نزدیک‌تر است. به این دلایل انستیتو ملی سرطان تست آرمیا را نسبت به روش‌های دیگر برای غربال‌گری اولیه ترکیبات سیتوتوکسیک ترجیح می‌دهد. بر این اساس در این پژوهش به مقایسه اثر سمیت سلولی عصاره‌های کلروفرمی، هیدروالکلی و آبی استخراج شده از درمنه کوهی، بومادران و بیلهر بر روی لارو آرمیا اورمیا پرداخته شد.

درمنه کوهی با نام علمی *Artemisia aucheri*

که متعلق به خانواده کمپوزیته می‌باشد، گیاهی بوته‌ای است که در نواحی معتدل شمالی دامنه‌های زاگرس یافت می‌شود (۱۲). در طب قدیم به عنوان داروی تب بُر، ضد انگل، ضد هیپاتیت و ضد سرطان، ضد التهاب و ضد مالاریا مورد استفاده قرار گرفته است (۱۳). ترکیبات اصلی این گیاه شامل؛ گلیکوزیدها، سانتونین‌ها، کومارین‌ها، تریپنوئیدها، استرول‌ها، پلی‌استیلین‌ها و انواع فلاونوئیدها مثل کوئرستین و روتونید می‌باشد که دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی هستند (۱۴).

بومادران با نام علمی *Achillea millefolium*

متعلق به خانواده کمپوزیته می‌باشد. در طب قدیم به عنوان داروی تب بُر، ضد انگل، ضد هیپاتیت، ضد سرطان، ضد التهاب و ضد مالاریا مورد استفاده قرار گرفته است و حاوی ترکیبات آلکالوئیدی فلاونوئیدی، استرول، تانن، ساپونین، روتنن و غیره می‌باشد (۱۵).

بیلهر با نام علمی *Dorema aucheri* عضوی

از خانواده آپیاسه یا چتریان می‌باشد. مصرف گیاه

تکثیر سریع و همچنین قابلیت استفاده از سیستم‌های خشک آرتمیا؛ این موجود را برای مطالعات آزمایشگاهی مناسب ساخته است (۱۹).

یکی از این مطالعات آزمایشگاهی آزمون سمیت میگوی آب شور است که روشی بسیار مفید برای تشخیص ترکیبات فعال زیستی از عصاره‌های خام گیاهی می‌باشد. این آزمون همچنین برای غربالگری سمیت انواعی از عصاره‌های گیاهی، فلزات سنگین، حشره‌کش‌ها، افزودنی‌های مواد غذایی و یا ترکیبات دارویی به کار می‌رود (۲۱ و ۲۰). در این آزمون توانایی مهار رشد سلول یا کشته شدن آن اندازه‌گیری می‌شود. این روش با توجه به صرف هزینه‌های کمتر و حساسیت بیشتر جهت تشخیص ترکیبات سینتوتوکسیک و حجم کمتر نمونه مورد استفاده نسبت به سایر روش‌های مشابه مورد استقبال بیشتری قرار گرفته است (۲۲).

سیستم‌های آرتمیا از مرکز تحقیقات آرتمیا در ارومیه، خریداری شد و در آزمایشگاه تفریح سیستم‌ها با استفاده از بشرهای با حجم ۱۰۰۰-۵۰۰ میلی‌لیتر انجام شد. در طی انجام آزمایش نور مناسب، PH قلیایی ۸/۵، آب با شوری ۳ درصد و در دمای ۲۸-۳۰ درجه سانتی‌گراد استفاده شد (۲۳ و ۱۴). برای تعیین ۵۰ درصد میزان کشندگی (LC_{50}) در ۲۴ ساعت با آرتمیا اورمیا، از هر یک از عصاره‌های گیاهی پنج رقت ۲۵۰، ۵۰۰، ۷۵۰، ۱۰۰۰ و ۱۵۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر در لوله آزمایش تهیه شد و ۰/۵ میلی‌لیتر از هر رقت به پلیت‌های ۶ سانتی‌متری اضافه شد و

سپس حجم آن با آب مصنوعی دریا به ۵ میلی‌لیتر رسانیده و به هر پلیت ۱۰ لارو آرتمیا اضافه شد. در پلیت‌های کنترل منفی، فقط آب دریای مصنوعی و برای کنترل مثبت از تیمول ۲ درصد استفاده گردید. بعد از ۲۴ ساعت تعداد لاروهای مرده در پلیت‌ها بررسی شده و با شمارش لاروهای زنده مانده، میزان سمیت عصاره‌های مورد آزمایش تعیین شدند.

درصد مرگ و میر به کمک فرمول مربوطه محاسبه شد (۲۴). داده‌ها با استفاده از نرم‌افزارهای SPSS نسخه ۱۹ و مینی تب نسخه ۱۶ و روش آماری پروبیت آنالیز^(۱) تجزیه و تحلیل شدند.

لازم به ذکر است که هر آزمایش در ۳ تکرار انجام گرفت و در طول مدت بررسی در صورتی که در گروه شاهد مرگ و میر بیش از ۱۰ درصد رخ می‌داد، آزمایش تکرار می‌شد (۲۴).

یافته‌ها

بر اساس نتایج حاصله، میانگین و انحراف معیار ۵۰ درصد میزان کشندگی عصاره‌های آبی، کلروفومی و هیدروالکی گیاهان بیلهر، درمنه کوهی و بومادران با استاندارد تیمول تفاوت معنی‌داری را نشان داد ($p < 0/05$). بیشترین سمیت به ترتیب مربوط به عصاره‌های کلروفومی بومادران ($67/8 \pm 1/96$)، هیدروالکی بیلهر ($76/56 \pm 2/02$) و کلروفومی درمنه ($92/66 \pm 10/36$) بود، در حالی که ایمن‌ترین

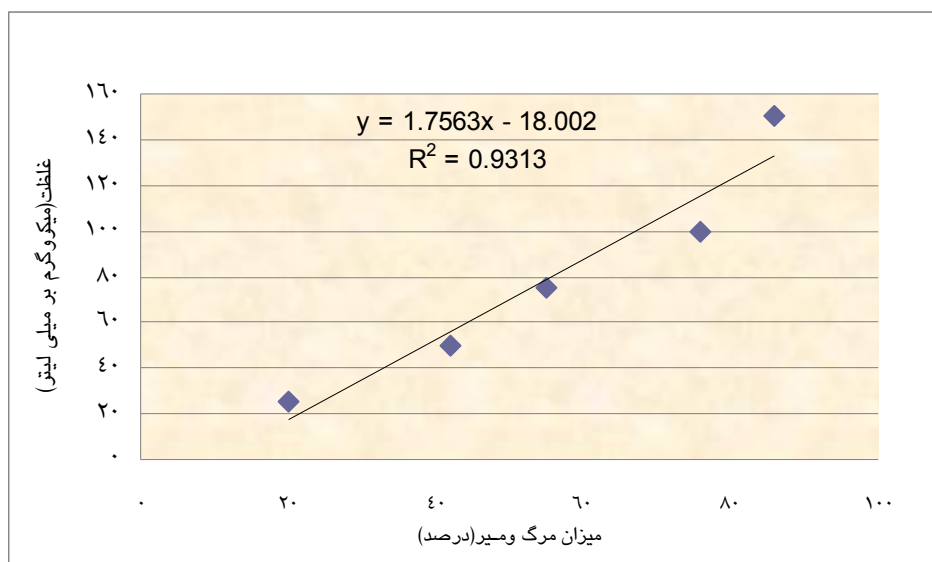
1- Probit analysis

میزان کشندگی و غلظت عصاره‌های مختلف گیاهان بیلهر، درمنه کوهی و بومادران رابطه مستقیمی وجود داشت (نمودارهای ۱-۳).

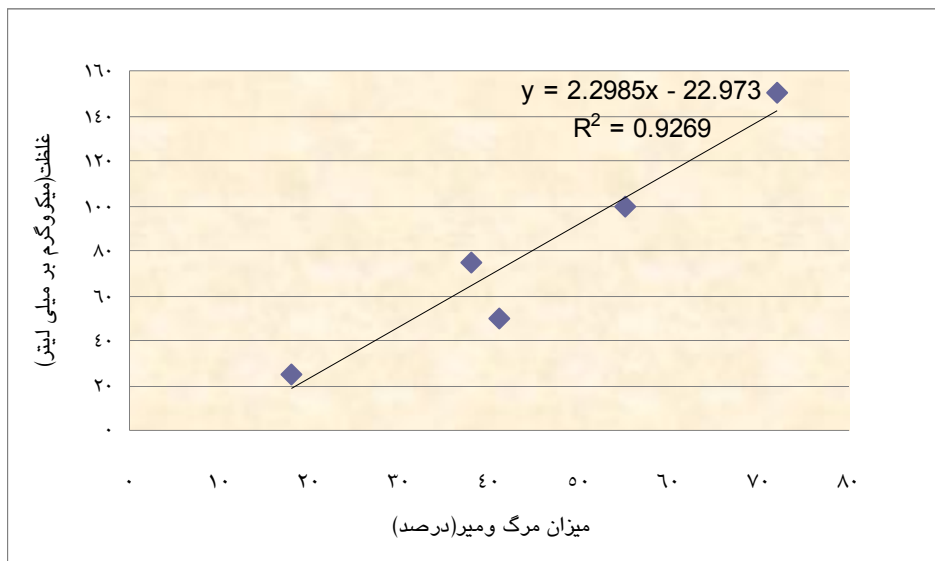
عصاره، عصاره هیدروالکی درمنه کوهی با سمیت $188/56 \pm 8/97$ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود (جدول ۱). هم‌چنین نتایج مطالعه نشان داد که بین

جدول ۱: مقایسه میانگین و انحراف معیار ۵۰ درصد میزان کشندگی عصاره‌های مختلف گیاهان مورد مطالعه با استاندارد تیمول

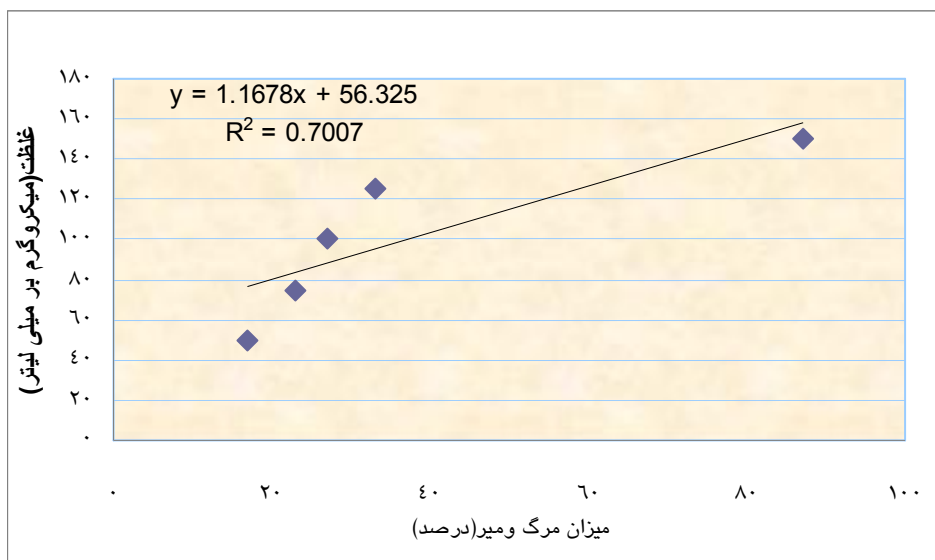
عصاره	متغیر	انحراف معیار \pm میانگین	خطای استاندارد
آبی بیلهر		$100/57 \pm 1/53$	۰/۸۶
آبی درمنه کوهی		$103/56 \pm 4/54$	۱/۱۷
آبی بومادران		$130/56 \pm 4$	۱/۹۵
کلروفرمی بیلهر		$115/22 \pm 6$	۱/۸۶
کلروفرمی درمنه کوهی		$92/66 \pm 10/36$	۶/۰۵
کلروفرمی بومادران		$67/8 \pm 1/906$	۰/۵۲
هیدروالکی بیلهر		$76/56 \pm 2/02$	۰/۵۶
هیدروالکی درمنه کوهی		$188/56 \pm 8/97$	۱/۵۲
هیدروالکی بومادران		$152/16 \pm 7/18$	۱/۲۶
استاندارد تیمول		۷/۲	-----



نمودار ۱: LC_{50} عصاره کلروفرمی قسمت‌های هوایی بومادران



نمودار ۲: LC_{50} عصاره کلروفرمی سرشاخه های گلدار درمنه کوهی



نمودار ۳: LC_{50} عصاره هیدروالکلی برگ بیلهر

بحث

غذایی و یا ترکیبات دارویی به کار رفته است که به خاطر سادگی، حساسیت بالا و ارزان بودن مواد مصرفی مورد توجه بسیاری از محققین قرار گرفته است (۲۰ و ۲۱). یکی دیگر از کاربردهای آزمون آرمینا اورمینا بررسی پتانسیل گیاهانی است که می‌توان از آنها در درمان بیماری‌های مختلف بهره جست. آزمون غربالگری سمیت

آزمون سمیت میگوی آب شور یکی از معتبرترین آزمون‌ها و روشی بسیار مفید برای شناسایی ترکیبات فعال زیستی از عصاره‌های خام گیاهی می‌باشد، این آزمون برای غربالگری سمیت انواعی از عصاره‌های گیاهی، فلزات سنگین، حشره‌کش‌ها، افزودنی‌های مواد

سمی می‌دانند (۲۶)، ولی بسیاری از دیگر محققان LC_{50} کمتر از ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر را سمی می‌دانند (۲۷). در این تحقیق و برخی تحقیقات مشابه دیگر ترکیبات با LC_{50} کمتر از ۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر دارای سمیت سلولی محسوب می‌شوند. مطابق این نظریه کلیه گیاهان مورد مطالعه دارای سمیت سلولی می‌باشند. بنابراین در این تحقیق عصاره‌های کلروفرمی بومادران، درمنه و عصاره هیدروالکی بیلهر دارای بیشترین توکسیسیتی بودند که می‌توانند دارای بیشترین فعالیت بیولوژیکی باشند و از آن‌ها می‌توان جهت استخراج ترکیبات سمی با خاصیت بیولوژیک بهره جست، به طوری که در بومادران وجود فلاونوئیدهایی از قبیل کوئرستین گزارش شده است (۲۷). این اثرات سیتوتوکسیک به تری ترپنوئیدها و ترکیبات فنلی و فلاونوئیدهای موجود در آن‌ها به خصوص کوئرستین و روتنوئید نسبت داده می‌شود. اثرات سمیت سلولی مشخص شده در این تحقیق با استفاده از این گیاهان در طب سنتی به عنوان ضد سرطان، ضد ویروس، ضد انگل و ضد روماتیسم و همچنین با نتایج دیگر محققین که به بررسی آثار سیتوتوکسیک گیاهان دارویی پرداخته‌اند هم‌خوانی دارد (۲۹ و ۲۸، ۸). مطالعات دیگری در مورد خاصیت سمیت سلولی و خواص بیولوژیکی گیاه بیلهر گزارش شده است که تأیید کننده نتایج این تحقیق می‌باشد. اثرات سیتوتوکسیک این گیاه می‌تواند مربوط به ترکیبات فلاونوئیدی موجود در گیاه بیلهر باشد. با توجه به نتایج این تحقیق گیاه بیلهر و

سلولی علاوه بر تشخیص سمیت گیاهان، برای شناسایی ترکیبات فیتوکمیکال با پتانسیل‌های درمانی مفید می‌باشند. معمولاً گیاهانی که دارای ترکیبات مختلف فیتوکمیکال می‌باشند، می‌توانند کاندیدای خوبی برای درمان بیماری‌های مختلف باشند. اگر چه غالب گیاهان از منابع مهم آنتی‌اکسیدان‌ها می‌باشند، ولی سمیت بسیاری از گیاهان بخاطر وجود ترکیبات فیتوشیمیایی گزارش شد (۲۵). هدف این مطالعه ارزیابی سمیت سلولی بیلهر، بومادران و درمنه کوهی با استفاده از آزمون کشندگی آرتمیا اورمیانا میگوی آب شور بود.

در این مطالعه LC_{50} عصاره‌های هیدروالکی بیلهر و کلروفرمی بومادران و درمنه کوهی کمترین مقدار را از خود نشان دادند (سمیت بیشتر) و از آنجایی که LC_{50} کمتر از ۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر بود سمیت متوسط برای آنها در نظر گرفته شد. LC_{50} بقیه عصاره‌ها با هم متفاوت بوده و سمیت کمی از خود نشان دادند. در این تحقیق برای تعیین سمیت گیاهان دارویی از آرتمیا اورمیانا استفاده شده است، در صورتی که غالباً آرتمیا سالینا مورد بهره‌برداری قرار گرفته است. با توجه به نتایج این تحقیق ترکیبات غیر قطبی که غالباً با حلال‌های کلروفرمی و هیدروالکی از گیاهان مورد مطالعه استخراج شده‌اند دارای سمیت بیشتری نسبت به ترکیبات قطبی و آب دوستی هستند که به وسیله حلال آب استخراج می‌شوند. عصاره کلروفرمی گیاه بومادران دارای بیشترین سمیت سلولی در بین عصاره‌ها بود. اگرچه عده‌ای از محققین ترکیبات با LC_{50} کمتر از ۳۰ میکروگرم در میلی‌لیتر را

سمیت سلولی می‌باشد. بنابراین پیشنهاد می‌شود که آزمایش‌های تکمیلی بررسی اثرات سیتوتوکسیک با استفاده از رده‌های سلولی سرطانی و یا آزمون ایمز بر روی بخش‌های مختلف گیاهان بیلهر، بومادران و درمنه برای رسیدن به این منظور انجام شود.

نتیجه‌گیری

با توجه به اطلاعات حاصل از این بررسی و با در نظر گرفتن این که عصاره هیدروالکی گیاه بیلهر و عصاره کلروفرمی بومادران و درمنه کوهی دارای LC_{50} پایین‌تری بودند؛ یعنی این که توکسیسیته بیشتری دارند، احتمالاً می‌توان از این گیاهان به عنوان منابعی برای تهیه ترکیب‌های با خواص بیولوژیکی جدید استفاده نمود. علی‌رغم کاربرد وسیع گیاهان دارویی، استفاده بدون تجویز پزشک از گیاهان بیلهر، بومادران و درمنه کوهی توانایی ایجاد آسیب بر روی سلول‌های سالم را دارند.

تقدیر و تشکر

این مطالعه حاصل پایان نامه کارشناسی ارشد بیوشیمی بالینی مصوب دانشگاه علوم پزشکی یاسوج بود که با حمایت مالی معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه انجام شد.

بومادران علی‌رغم داشتن پتانسیل بیولوژیکی زیاد مصرف آن‌ها باید با احتیاط کامل و تحت نسخه پزشک باشد. سانتونین یکی از سزکوئی‌ترین‌ها و از ترکیبات مهم گیاه درمنه است که از گیاه درمنه استخراج شده و برای درمان آسکاریس به کار می‌رود (۳۰). خاصیت ضد آسکاریسی این دارو به خاطر اثرات سیتوتوکسیک گیاه درمنه بوده که هم‌خوانی با نتایج این تحقیق دارد (۳۱). استفاده زیاد از این گیاه باید تحت نظر پزشک باشد، زیرا با توجه به سمیت ذکر شده در این تحقیق می‌تواند عوارض جانبی ایجاد کند. اگرچه ترکیبات فیتوکمیکال موجود در این گیاه استفاده وسیع از آن را در طب سنتی توجیه می‌نماید. تمام گیاهان مورد مطالعه در این تحقیق دارای اثرات کشنده لارو آرمیا اورمیاننا به درجات مختلفی بودند.

بر اساس نتایج حاصل از این مطالعه، هرچند که عصاره‌های مختلف گیاهان مورد مطالعه در مقایسه با تیمول دارای اثرات سیتوتوکسیک بسیار کمی بودند، ولی مصرف آن‌ها با توجه به نتیجه آزمون سمیت آرمیا اورمیاننا باید با احتیاط باشد. با توجه به این که این آزمون اخیراً برای غربالگری سمیت گیاهان دارویی به کار می‌رود، برای اطمینان بهتر نیاز به تکرار آزمایش با سیستم‌های دیگر ارزیابی‌کننده

REFERENCES

1. Mohamed Saleem TS, Madhusudhana Chetty C, Ramkanth S, Rajan VST, Mahesh Kumar K, Gauthaman K. Hepatoprotective Herbs – A Review. *Pharm Sci* 2010; 1; 1-5.
2. Akinboro A, Bakare AA. Cytotoxic and genotoxic effects of aqueous extracts of five medicinal plants on *Allium cepa* Linn. *Journal of Ethno Pharmacology* 2007; 112; 470-5.
3. Heber D. Vegetables, fruits and phytoestrogens in the prevention of diseases. *J Postgrad Med* 2004; 50; 145–9.
4. Kaur C, Kapoor HC. Antioxidants activity and total phenolic content of some Asian vegetables. *Int J Food Sci Technol* 2002; 37; 153-61.
5. Caragay AB. Cancer preventative foods and ingredients. *Technol* 1992; 46; 65-8.
6. Steinmetz KA, Potter JD. Vegetables, fruits and cancer. I Epidemiology. *Cancer Causes Control* 1991; 2; 325–57.
7. Craig WJ. Phytochemicals, guardians of our health. *J Am Diet Assoc* 2006; 97; 199–S204.
8. Lin YL, Juan IM, Chen YL, Liang YC, Lin JK. Composition of polyphenols in fresh tea leaves and associations of their oxygen-radial absorbing capacity with antiproliferative actions in fibroblast cells. *J Agric Food Chem* 1996; 44; 1387–94.
9. American Cancer Society. A biotechnology company dedicated to cancer treatment, [viewed on 25 January 2006]. Available at: <[http:// www.cancervax. com/info/index.htm](http://www.cancervax.com/info/index.htm)>.
10. Vecchia CL, Tavani A. Fruits, vegetables, and human cancer. *Eur J Cancer* 1998; 7; 3–8.
11. Mirzaei N, Mirzaei A. Comparison of the *Artemia urmiana* bioassays form toxicity of 4 Iranian medicinal plants. *Int Res J Biological Sci* 201; 2(3); 49-54.
12. Rechinger KH, Hedge IC. *Flora Iranica: Compositae*. Graz: Akademische Druck and Verlagsansalt 1986; 158: 214.
13. Farzaneh M, Ahmadzadeh M, Hadian J, Tehrani A, Craig WJ. Phytochemicals: Guardians of our health. Chemical composition and antifungal activity of the essential oils of three species of *Artemisia* on some soil-born phytopathogens. *Commun Agric Biol Sci* 2006; 71; 1327-33.
14. Khorsand-Mohammadpoor S, Yari M, Rustaiyan A, Masoudi S. Chemical constituents of the essential oil of *Artemisia aucheri* Boiss. a species endemic to Iran. *J Essent Oil Res* 2002; 14; 122–3.
15. Nemeth E, Bernath J. Biological activities of yarrow species (*Achillea* spp). *Current Pharmaceutical Design* 2008; 14(29); 3151-67.
16. Hsiao G, Shen MY, Lin KH, Lan MH, Wu LY, Chou DS. Antioxidant and hepatoprotective effect of *Andropogon camphorata* extract. *J Agric Food Chem* 2003; 51; 3302-8.
17. Wollenweber E, Dorr M, Rustayan A. *Dorema aucheri*, the first umbelliferous plant found to produce exudates flavonoids. *Phytochem* 1995; 38; 1417-27.
18. Mirzaee A, Hakimi MH, Sadeghi H. Total antioxidant activity and phenolic content of *Dorema aucheri*. *Iranian J Biochem Mol Biol* 2005; 1: 116.
19. Sarabia R, Varo I, Amat F, Pastor A, Del Ramo J, Diaz-Mayans J, et al. Comparative toxicokinetics of cadmium in *Artemia*. *Archive of Environmental Contamination and Toxicology* 2006; 50; 111-20.
20. Rezaeipoor-Kardost R. Cytokines and therapy. *Fatemieh University of Medical Sciences*. Iran 1996: 61- 95.
21. Meyer BN, Ferrigni NR, Putnam JE, Jacobsen LB, Nicholas DE, Mclaughlin JL. Brine shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Med* 1982; 45; 31– 4.
22. Alluri K, Tayi VNR, Dodda S, Mulabagal V, Hsin-Sheng T, Gottumukkala S. Biological screening of medicinal plants collected from eastern ghats of india using *artemia salina* (brine shrimp test). *International Journal of Applied Science and Engineering* 2006; 4(2); 115-25.

23. Lavens P, Sorgeloos P. Manual on production and use of live food for aquaculture. FAO 1996; 79-250.
24. Hadjispyrou S, Kungolos A, Anagnostopoulos A. Toxicity, bioaccumulation, and interactive effects of organotin, cadmium, and chromium on *Artemia franciscana*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 2001; 49; 179-86.
25. Rice-Evans C. Flavonoids and isoflavones: absorption, metabolism and bioactivity. *Free Rad Biol Med* 2004; 36; 827-38.
26. Wanyoike GN, Chhabra CC, Lang'at- Thoruwa CC, Omar SA. Brine shrimp toxicity and antiplasmodial activity of five Kenyan medicinal plants. *J Ethnopharmacol* 2004; 90; 129 –33.
27. Nakayoma J, Yamada M. Suppression of active oxygen-induced cytotoxicity by flavonoids. *Biochem Pharmacol* 1995; 45; 265-77.
28. Soliman MI. Genotoxicity testing of neem plant (*Azadirachta indica* A. Juss.) using the *Allium cepa* chromosome aberration assay. *Journal of Biological Sciences* 2001; 1(11); 1021–7.
29. Bidau CJ, Amat AG, Yajia M, Marti DA, Riglos AG, Silvestroni A. Evaluation of the genotoxicity of aqueous extracts of *Ilex paraguariensis* St. Hil (Aquifoliaceae) using the *Allium* test. *Cytologia* 2004; 69(2); 109–17.
30. Mohsenzadeh S. Allelopathic effects of *Artemisia* on seed germination and seedling growth of *Agropyron*. *Research and Development* 1997; 37; 62-7.
31. Shafizadeh F. Popular medicinal plants of Lorestan. *Flora of Lorestan* 2002; 1; 82.

Cytotoxicity of *Dorema auchri*, *Achillea millefolium* and *Artemisia aucheri* by *Artemia urmiana* Brine Shrimp Lethality Test(BSLT).

Ghavamizadeh M¹, Mohammadi J², Mirzaei A^{2*}, Sadegh H², Akbartabar M³

¹Student Committee Research center, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran, ² Medicinal Plant Research Center, Yasuj University of Medical sciences, Yasuj, Iran, ³Social Determinant of Health Research Center, Yasuj University of Medical sciences, Yasuj, Iran

Received: 05 Feb 2013

Accepted: 21 Dec 2013

Abstract

Background & aim: Nowadays, toxic compounds derived from plants used against microbes and cancer cells. The aim of this study was to evaluate cytotoxicity of *Dorema aucheri*, *Achillea millefolium* and *Artemisia aucheri* using brine shrimp, *Artemia urmiana*, lethality test.

Methods: In this experimental study, the plants were collected from the Kohgiluyeh and Boyer-Ahmad Province, then identified by a botanist. Clean and air-dried aerial parts of plants were extracted with suitable solvents. Cytotoxicity evaluation was performed using larvae hatched cysts were purchased from Urmia. Live larvae were exposed to different concentrations of extract and the numbers of live and dead larvae were counted after 24 hours. Mean of LC₅₀ of any extracts from control and exposed live larvae were examined. The data were analyzed using the Finney's Probit analysis.

Results: Hydro ethanol and chloroform extracts of *Achillea millefolium*, *Dorema aucheri* and *Artemisia aucheri* exhibited potent brine shrimp lethality with LC₅₀ 67.8±0.53µg.ml⁻¹, 76.50±0.60µg.ml⁻¹, 92.70±6.05µg.ml⁻¹ respectively. The degree of lethality was found to be directly proportional to the concentration of extracts.

Conclusion: According to BSLT, LC₅₀ of *D. aucheri*, *A. millefolium* and *A. aucheri*, they were considered as toxic. So these plants could be a source of new compounds with biological activity.

Key words: *Artemia urmiana*, *Dorema auchri*, *Achillea millefolium*, *Artemisia aucheri*, Cytotoxicity

*Corresponding Author: Mirzaei A, Medicinal Plant Research Center, Yasuj University of Medical sciences, Yasuj, Iran
Email: Mirzaei3a2003@yahoo.com