

تأثیر عصاره آبی - الکی اندام هوایی گیاه بیلهر (*Dorema aucheri*) در نانوذره لیپوزوم بر روی تکثیر و القاء آپوپتوز در سلول‌های سرطان کلورکتال انسانی رده SW48

فرزانه رضایی نژاد^۱، زهرا قاسمی فرد^۱، مریم تجلی اردکانی^۲، حسن بردانیا^۳، قاسم قلم‌فرسا^{۴*}

^۱ کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یاسوج، ایران، ^۲ مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یاسوج، ایران، ^۳ مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یاسوج، ایران

تاریخ وصول: ۱۳۹۸/۱۱/۲۶ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۴/۱۰

چکیده

زمینه و هدف: امروزه از عصاره‌های گیاهی جهت تحقیق و کاربرد کلینیکی در درمان سرطان‌ها از جمله سرطان کلورکتال استفاده می‌شود. گیاه بیلهر به طور سنتی به عنوان داروی گیاهی مصرف می‌شود و گزارش شده است که عصاره آن حاوی مقدار قابل توجهی از آنتی‌اکسیدان‌ها مانند؛ فلاونوئیدها، آنتوسیانین‌ها و اسید فنولیک است. لذا هدف از این مطالعه تعیین تأثیر عصاره آبی - الکی اندام هوایی گیاه بیلهر (*Dorema aucheri*) در نانوذره لیپوزوم بر روی تکثیر و القاء آپوپتوز در سلول‌های سرطان کلورکتال انسانی رده SW48 بود.

روش بررسی: این یک مطالعه تجربی می‌باشد که در سال ۱۳۹۸ در دانشگاه علوم پزشکی یاسوج انجام شد و در محیط آزمایشگاهی سلول‌های رده SW48 کشت شد، سپس سلول‌ها با غلظت‌های مختلف عصاره هیدروالکی بیلهر، نانولیپوزوم بارگذاری شده با بیلهر، لیپوزوم به تنهایی به مدت ۲۴، ۴۸، و ۷۲ ساعت تحت تیمار قرار گرفتند. اثر سیتوتوکسیک با استفاده از آزمون (MTT) انجام شد. سنتز نانولیپوزوم‌ها به روش آبدهی فیلم نازک لیپیدی فرمول‌بندی شدند. میزان آپوپتوز از طریق رنگ‌آمیزی سلول‌ها با پروپیدیم دید و آنکسین ۷ با استفاده از دستگاه فلوسیتومتری اندازه‌گیری شد، وین‌کریستین به عنوان کنترل مثبت در این مطالعه مورد استفاده قرار گرفت. داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از آزمون‌های آماری آنالیز واریانس دوطرفه و تست تعقیبی توکی تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: نتایج ۵۰ درصد غلظت مهارکنندگی (IC₅₀) نانوذره بیلهر و عصاره گیاه بیلهر در ۲۴ ساعت به ترتیب برابر ۳۲/۴۸ و ۴۴/۶۷ میکروگرم بر میلی‌لیتر و برای وین کریستین ۵۰ نانوگرم بر میلی‌لیتر می‌باشد. نتایج نشان داد میزان زنده‌مانی سلول‌ها به صورت وابسته به دوز و زمان مهار می‌شود. نتایج حاصل از تست آپوپتوز به این صورت است که بیشترین درصد افزایش آپوپتوز در این رده سلولی نسبت به کنترل مربوط به نانولیپوزوم بیلهر (۴۱/۵ درصد) می‌باشد. این در حالی است که عصاره بیلهر به تنهایی افزایش کمتری نسبت به کنترل دارد (۲۸/۴ درصد) ($p < 0.05$).

نتیجه‌گیری: نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد بارگذاری عصاره گیاه بیلهر در نانولیپوزوم اثر سمیت و آپوپتوزی عصاره گیاه بیلهر را در دوزهای پایین، افزایش می‌دهد و می‌تواند کاندید مناسبی جهت پژوهش‌های گسترده‌تر در محیط درون تنی برای مقابله با سلول‌های توموری با عوارض جانبی کمتر باشد.

واژه‌های کلیدی: عصاره بیلهر، آپوپتوز، نانولیپوزوم، رده سلولی SW48

* نویسنده مسئول: قاسم قلم‌فرسا، یاسوج، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی

Email: ghasem_ghalamfarsa@yahoo.com

مقدمه

تهاجم و انتشار سلول از جایگاه اصلی یا مکان اولیه به نقاط دیگر بدن می‌باشد (۱۲). علامت اصلی اکثر سرطان‌ها کسب توانایی ایجاد پیام‌های خودمختار، فرار از پیام‌های مهارى رشد، گریز از مرگ برنامه‌ریزی شده آپوپتوزی، توان همانندسازی نامحدود و رگزایی (تشکیل رگ‌های خونی جدید) می‌باشد (۱۳). سرطان کولورکتال یک سرطان بافت اپی‌تلیالی است، که منشاء آن از کلون یا رکتوم بوده و یک بیماری پیچیده مرتبط با محیط و عوامل ژنتیکی است (۱۴). سرطان کولورکتال سومین سرطان شایع در سراسر جهان و دومین علت مرگ ناشی از سرطان است و ۸۸۰۷۹۲ مرگ ناشی از این سرطان در سال ۲۰۱۸ گزارش شده است (۱۵) و یکی از سرطان‌هایی است که انتظار می‌رود در سال ۲۰۲۰ به صورت شایع در زنان و مردان تشخیص داده شود (۱۶). همچنین این بیماری یکی از شایع‌ترین سرطان‌ها در ایران می‌باشد که در سال‌های اخیر افزایش داشته و پژوهش‌های آماری نشان داده است که سالانه پنج هزار نفر در ایران با سرطان کولورکتال تشخیص داده می‌شوند که این امر نشان دهنده اهمیت برنامه پیشگیری، درمان و کنترل این بیماری می‌باشد (۱۷). در بیشتر سرطان‌ها، آسیب‌های ژنتیکی، به طور عمده در ژن‌هایی ایجاد می‌شوند که در مراحل آپوپتوزی نقش مهمی ایفا می‌کنند (۱۸). بدین صورت با مهار ژن‌های ضد آپوپتوزی و تحریک ژن‌های پیش آپوپتوزی می‌توان جلوی پیشرفت سرطان و تقسیم بی‌رویه سولی را گرفت (۱۹).

تفاوت‌های جغرافیایی در بروز سرطان نشان می‌دهد که رژیم غذایی و عادات سنتی استفاده از گیاهان، نقش مهمی در پیشگیری از سرطان ایفا می‌کند (۱) و به همین دلیل در سال‌های اخیر استفاده از عصاره‌های گیاهی در پژوهش‌های، بررسی اثرات ضدسرطانی، بسیار مورد توجه بوده است (۲). یکی از خانواده‌های غنی از ترکیبات دارویی گیاهان تیره چتریان یا جعفری می‌باشد. بیلهر (*Dorema aucheri*) گیاه علفی پایا متعلق به خانواده چتریان می‌باشد. زیستگاه آن مناطق شرق آسیا می‌باشد دارای ساقه ضخیم با طول بین ۱۰۰ تا ۳۰۰ سانتی‌متر بوده، برگ‌های آن نوک تیز منقسم شانه‌ای با کرک‌های کم است (۳). از مهم‌ترین ترکیبات شیمیایی گیاه بیلهر می‌توان به موادی همچون کادنن و پنتادکونون α -اودسمول، فارنسیین اشاره کرد (۴ و ۵). مضاف بر این، این گیاه دارای ترکیبات فنلی می‌باشد و تنها گونه چتریان می‌باشد که فلاونوئید تولید می‌کند (۶). خاصیت آنتی‌اکسیدانی، ضد میکروبی، افزایش‌دهنده مونوسیت‌ها (۷)، ضد دیابتی (۵)، ضد التهابی، ضد درد و سیتوتوکسیک این گیاه اثبات شده است (۸). مصرف گیاه بیلهر تری‌گلیسیرید و کلسترول خون را پایین می‌آورد (۹) و ضد بیوست است و موجب از بین بردن انگل‌های دستگاه گوارش می‌شود (۱۰) و همچنین اثرات محافظتی در برابر آسیب‌های کبدی دارد (۱۱). سرطان به گروهی از بیماری‌ها گفته می‌شود که مشخصه اصلی آنها رشد سلولی تنظیم نشده،

درمان سرطان کلورکتال بسته به مرحله ایست که سرطان کشف شده است و از راهکارهای درمانی می‌توان به روش‌های جراحی، شیمی‌درمانی و پرتودرمانی اشاره کرد. به دلیل وجود بسیاری از عوارض جانبی و مشکلات مرتبط با درمان‌های ذکر شده یافتن روش‌های درمانی جدید بیش از پیش اهمیت یافته است که در این میان استفاده از گیاهان دارویی به دلیل نداشتن عوارض جدی جانبی برای بیماران مورد توجه قرار گرفته است (۲۰).

نانوذرات بعنوان حامل‌های دارو بسیار با اهمیت هستند؛ زیرا توانایی حمل انواع دارو را به قسمت‌های مختلف بدن در زمان مناسب دارند (۲۲ و ۲۱). گستره وسیعی از پلیمرهای سنتزی و طبیعی می‌توانند به منظور آماده‌سازی نانوذرات زیست تخریب‌پذیر مورد استفاده قرار گیرند (۲۴ و ۲۳). پلیمرهای طبیعی مزیت‌های زیادی را نسبت به پلیمرهای سنتزی دارند، به ویژه این که این پلیمرها عاری از سمیت سلولی، زیست تخریب‌پذیر و زیست سازگارند (۲۶ و ۲۵). لیپوزوم‌ها یک ساختار وزیکولی-کروی نازک دارند که همانند غشاء سلول متشکل از فسفولیپیدهای دولایه در ترکیب با کلسترول هستند و می‌توان آنها را به صورت همسان از نظر اندازه در رنج‌های ۷۰-۵۰ نانومتر با خصوصیات سطحی مخصوص تهیه نماییم. لیپوزوم‌ها ساختارهای بسیار پویایی هستند به همین علت می‌توانند به ساختارهای کوچک تبدیل شوند (۲۷). این سیستم ارسال دارو استراتژی خوبی است که برای اهداف

درمانی به کار گرفته می‌شوند برای مثال این سیستم از تخریب دارو جلوگیری می‌کند. بنابراین نیاز به دوز بیشتر دارو و همچنین تکرار آن را کاهش می‌دهد. نانو ذره‌ها می‌توانند برهمکنش‌های بی‌نظیری با بیومولکول‌های سطحی سلول یا درون سلول داشته باشند به طوری که نانوذره‌ها هزار برابر بیشتر از دارو با سطح سلول می‌توانند برهمکنش ایجاد کنند. همچنین توانایی متمایز کننده لیپوزوم‌ها این است که هم عوامل محلول در آب و هم محلول در چربی را می‌توانند منتقل کنند (۲۹ و ۲۸).

با توجه به خصوصیت‌های آنتی‌اکسیدان و ضدتوموری عصاره گیاه بیلهر و همچنین نقش اکسیدان‌ها در بروز این بیماری، هدف از این مطالعه تعیین تأثیر عصاره آبی - الکی اندام هوایی گیاه بیلهر (*Dorema aucheri*) در نانوذره لیپوزوم بر روی تکثیر و القاء آپوپتوز در سلول‌های سرطان کلورکتال انسانی رده SW48 بود.

روش بررسی

این یک مطالعه تجربی می‌باشد که در سال ۱۳۹۸ دانشگاه علوم پزشکی یاسوج بخش‌های هوایی گیاه بیلهر که مصرف خوراکی دارد در اوایل فصل بهار از کوه‌های اطراف شهر یاسوج مرکز استان کهگیلویه و بویراحمد جمع‌آوری (در فاصله ۲۵ کیلومتری از شهر یاسوج با مختصات جغرافیایی ۴۶۵۸۶۴۰. N: ۳۰ و ۵۱.۶۷۸۳۴۰۰ N: و ارتفاع ۲۴۳۰ متر از سطح دریا) و در شرایط مناسب،

sw48 سرطان کلورکتال با منشا انسانی از انستیتو پاستور ایران خریداری شد. این رده سلولی در محیط کشت RPMI 1640، سرم جنین گاوی ۱۰ درصد و پنی‌سیلین به میزان ۱۰۰ واحد بر میلی‌مول در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و فشار ۵ درصد CO₂ کشت داده شد.

به منظور تعیین اثرات بهینه عصاره از دوزهای مؤثر دارویی (غلظت نزدیک به IC₅₀) در این تحقیق در نظر گرفته شد. همچنین از سلول‌های تیمار نشده به عنوان کنترل منفی و از داروی شیمی درمانی وین کریستین به عنوان کنترل مثبت استفاده گردید. برای این تست ۵۰۰۰ سلول در هر چاهک در پلیت ۹۶ خانه حاوی ۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت RPMI کشت داده شده به مدت ۲۴ ساعت جهت ایجاد اتصال انکوبه شده سپس دوزهای مختلف عصاره گیاه بیلهر، عصاره بارگذاری شده در نانوذره لیپوزوم و نانوذره لیپوزوم به تنهایی به هر چاهک اضافه شد و سلول‌ها به مدت ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت تیمار شدند. ۱۰ میکرولیتر از محلول MTT ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به هر چاهک اضافه شد و در دمای ۳۷ درجه به مدت ۴ ساعت انکوبه گردید. سپس مایع رویی را دور ریخته و مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از دی‌متیل سولفوکسید به آن اضافه کرده، در ادامه پلیت کشت سلولی برای ۳۰ دقیقه در تاریکی قرار داده شده و در نهایت جذب نوری (optical density) کلیه چاهک‌ها در طول موج ۴۹۰ نانومتر در مقایسه با گروه کنترل اندازه‌گیری شد (۳۱).

دور از نور آفتاب خشک و سپس پودر شد. پس از جمع‌آوری نمونه مقدار ۳۰۰ گرم پودر خشک اندام هوایی گیاه بیلهر به نسبت ۷۰/۳۰ در ۱۲۰۰ میلی‌لیتر مخلوط الکل اتانول و آب مقطر حل شده و به مدت ۷۲ ساعت در دمای اتاق قرار داده شد. بعد مخلوط را به وسیله کاغذ واتمن فیلتر کرده و سپس در سرعت rpm ۳۵۰۰ در ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. فاز رویی را جدا نموده و در دمای اتاق خشک کرده و نهایتاً توده نیمه جامدی حاصله به صورت تازه مورد استفاده قرار گرفت (۸).

نانولیپوزوم‌ها به وسیله روش آبدهی فیلم نازک لیپیدی فرمول‌بندی شدند، ابتدا فسفولیپید لیوفیلیزه شده (کلسترول و DSPC) موجود در ۲۰- درجه سانتی‌گراد را به دمای اتاق رسانیده و توزین و سپس در ۱ میلی‌لیتر کلروفرم حل شد. محلول حاصل به بالن ته گرد مناسب جهت اتصال به دستگاه روتاری منتقل شد و تحت خلا در دستگاه روتاری خشک شد. فیلم لیپیدی تشکیل شده در ته بالن به وسیله بافر تریس به تدریج آبدهی شد. برای بارگذاری عصاره گیاه بیلهر در نانولیپوزوم این ترکیب در ابتدای مراحل تهیه لیپوزوم به فسفولیپید اضافه شده و در کلروفرم حل شد. برای تغییر سطح دادن نانو لیپوزوم‌ها، ترکیب پپتید دی‌پالمیتویل ساخته شده همراه با فسفولیپیدها در حلال آلی حل و برای تشکیل فیلم استفاده شد. بعد از تشکیل لیپوزوم زنجیره‌های چربی در لایه لیپیدی و بخش آب دوست روی سطح لیپوزوم قرار داده شد (۳۰). رده سلولی

انکوبه کرده و در خلال ۳۰ دقیقه به وسیله دستگاه فلوسایتومتری آنالیز شدند (۳۲). جهت افزایش دقت و صحت کار کلیه آزمون‌ها با تکرار سه‌تایی انجام گرفت. با استفاده از نرم‌افزار گراف پد پریسم ۸ میانگین ۳ بار تکرار و انحراف معیار آنها محاسبه شد. با استفاده از این نرم‌افزار مقدار IC_{50} نمونه‌ها که بیانگر غلظتی از نمونه است که موجب مرگ ۵۰ درصد سلول‌های سرطانی می‌شود، محاسبه شد.

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار گراف پد پریسم ۸ و آزمون‌های آماری آنالیز واریانس دو طرفه و تست تعقیبی توکی تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها

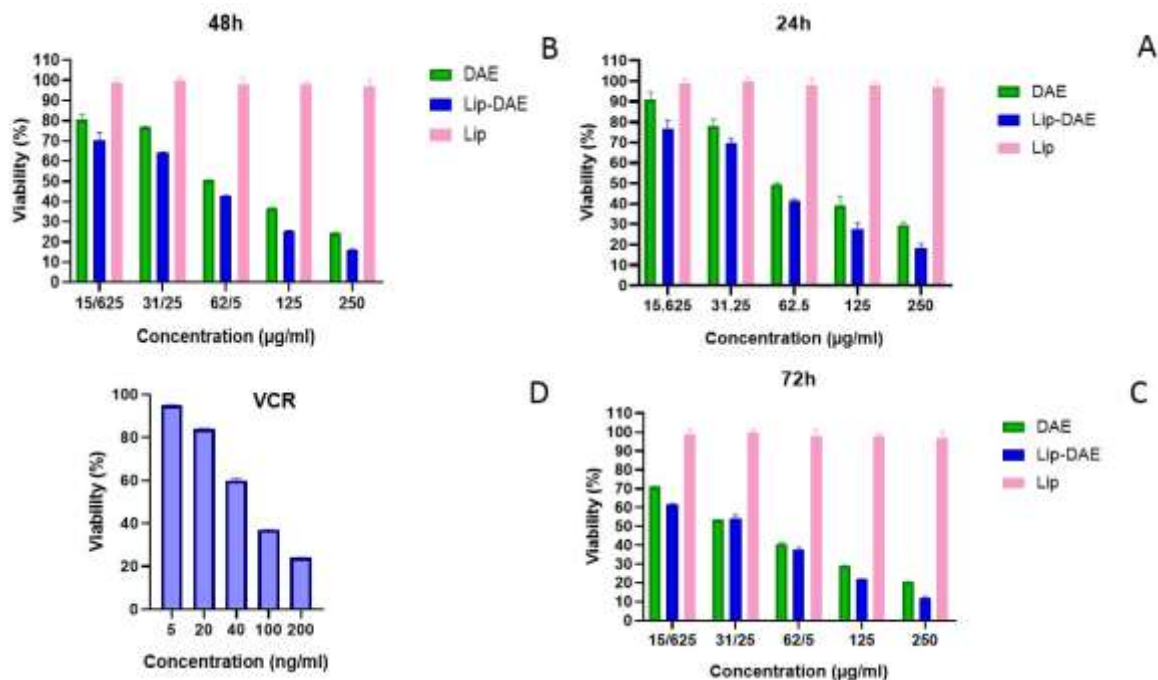
نتایج با استفاده از تست MTT پس از ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت تیمار سلول‌های رده SW48 با غلظت‌های مختلف عصاره و نانولیپوزوم (۲۵۰، ۱۲۵، ۶۲/۵، ۳۱/۲۵ و ۱۵/۶۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر) انجام گرفت. غلظت لیپوزوم‌های تنها، معادل با غلظت لیپوزوم‌های مورد استفاده برای بارگذاری عصاره استفاده شد. نتایج ۵۰ درصد غلظت مهارکنندگی (IC_{50}) در ۲۴ ساعت ۳۳/۴۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر ذره بیلهر، غلظت IC_{50} ۴۴/۶۷ میکروگرم بر میلی‌لیتر عصاره گیاه بیلهر و IC_{50} ۵۰ نانوگرم بر میلی‌لیتر برای وین کریستین می‌باشد. با افزایش غلظت و زمان عصاره و نانولیپوزوم عصاره، جذب نوری (OD) حاصل از تست MTT کاهش یافت. نمودار بقای سلولی نشان می‌دهد

به منظور سنجش میزان آپوپتوز القاء شده به وسیله عصاره گیاه بیلهر، عصاره بارگذاری شده در نانوذره لیپوزوم و نانوذره لیپوزوم به تنهایی در مجاورت رده سلولی SW48 از کیت سنجش آپوپتوز (آنکسین و پروپیدیوم آیداید) استفاده گردید. برای ارزیابی آپوپتوز تعدادی از سلول‌های تیمار شده در یک جمعیت سلولی تیمار شده با عصاره گیاهی و قیاس آن با جمعیتی سلولی از سلول‌های تیمار نشده و رنگ‌آمیزی سلول‌ها با دو رنگ فلوروکروم آنکسین و پروپیدیوم آیداید طبق دستور کار کیت تشخیص آپوپتوز FITC با شماره محصول ۷۴-۸۰۵-۸۸ و با کمک دستگاه فلوسایتومتری انجام گرفت. بدین صورت که سلول‌ها را در پلیت‌های کشت ۶ خانه‌ای با غلظت نزدیک به IC_{50} نانوذره بیلهر و عصاره گیاه بیلهر، نانوذره لیپوزوم و همچنین بدون عصاره گیاه بیلهر و داروی وین کریستین تیمار شدند سپس با استفاده از تریپسین سلول‌ها از کف محیط کشت جداسازی شدند. تعداد $1/000/000$ سلول را با بافر PBS شستشو داده و در یک میلی‌لیتر بافر انکوباسیون شد. سپس ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون سلولی را برداشته به هر کدام میکروتیوب‌ها ۵ میکرولیتر از آنکسین نشان‌دار شده با FITC اضافه کرده مخلوط کردیم و برای مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شد. بعد از طی این مدت سلول‌ها را با بافر مخصوص آنکسین شستشو داده سپس سلول‌ها را در ۲۰۰ میکرولیتر از بافر آنکسین معلق کرده و ۱۰ میکرولیتر PI اضافه کرده و برای مدت زمان ۲۰ دقیقه مجدداً

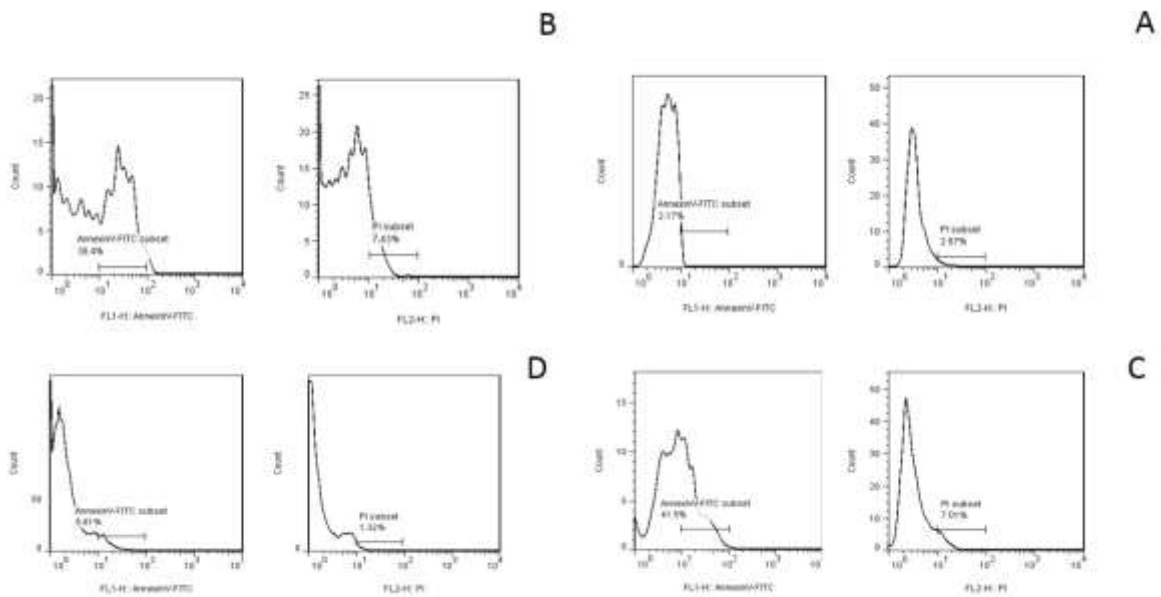
کریستین به عنوان کنترل استفاده شد و نتایج حاصل به این صورت است که جمعیت سلول‌های آپوپتوز شده با غلظت دارویی، به صورت معنی‌دار نسبت به میزان آپوپتوز در سلول‌های تیمار نشده افزایش یافت ($p < 0.01$). با توجه به غلظت نزدیک به IC_{50} مورد استفاده ترکیبات بیشترین درصد افزایش آپوپتوز در این رده سلولی نسبت به کنترل مربوط به نانولیپوزوم بیلهر (۴۱/۵ درصد) می‌باشد. این در حالی است که عصاره بیلهر به تنهایی افزایش کمتری نسبت به کنترل دارد (۳۸/۴ درصد) (نمودار ۲).

که رشد سلول‌ها به صورت وابسته به دوز و زمان مهار می‌شود (نمودار ۱). تمام تست‌ها با سه تکرار انجام شد و آنالیز داده‌ها بر اساس میانگین \pm انحراف معیار گزارش شده است.

به منظور بررسی این‌که مرگ سلولی از طریق القای آپوپتوز روی داده است یا خیر، روش فلوسایتومتری با کمک رنگ آمیزی انکسین و پروپودیوم آیداید انجام گرفت. آنالیز داده‌ها با کمک نرم‌افزار (Flowjo) و دستگاه فلوسایتومتری صورت گرفت. میزان آپوپتوز القاء شده پس از ۲۴ ساعت تیمار سلول‌ها با عصاره و نانولیپوزوم عصاره در غلظت کمتر از IC_{50} محاسبه شد. همچنین داروی وین



نمودار ۱: درصد زنده‌مانی غلظت‌های مختلف عصاره گیاه بیلهر (DAE) و نانوذره متصل به لیپوزوم بیلهر (Lip-DAE) پس از ۲۴ و ۴۸ و ۷۲ ساعت و اثر داروی وین کریستین بر رده سلولی SW48 با روش MTT ($p < 0.05$)



نمودار ۲: نمودارهای فلوسیتومتری حاصل از تیمارهای (A) کنترل بدون تیمار (B) تأثیر عصاره گیاه بیلهر (C) عصاره گیاه بیلهر متصل به نانوذره لیپوزوم (D) نانولیپوزوم

بحث

عوارض جانبی و مشکلات مرتبط با درمان‌های رایج سرطان، یافتن روش‌های درمانی جدید را بیش از پیش مهم ساخته است (۲۰). یکی از روش‌هایی که به طور سنتی برای کنترل پیشرفت بیماری سرطان استفاده می‌شود، استفاده از محصولات طبیعی است (۲۳). بیلهر دارای خواص درمانی از قبیل ضد میکروبی، افزایش دهنده مونوسیت‌ها، ضد دیابتی، ضد التهابی، ضد درد بوده و هم‌چنین دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی و سیتوتوکسیسیته می‌باشد. از سوی دیگر امروزه کارایی نانوذرات در انتقال مؤثرتر دارو و درمان بهتر سرطان، مورد توجه بسیاری قرار گرفته است (۲۹). لذا هدف از این مطالعه تعیین اثر عصاره آبی - الکی اندام

هوایی گیاه بیلهر (*Dorema aucheri*) بارگذاری شده در نانوذره لیپوزوم بر روی تکثیر و القاء آپوپتوز در سلول‌های سرطان کولورکتال انسانی رده SW48 می‌باشد. پژوهش‌های بسیاری اثرات سایتوتوکسیک و ضد توموری گونه‌های مختلف از جنس *Dorema* را نشان داده است. در مطالعه حاضر، اثر ضد تکثیری و آپوپتوزی عصاره گیاه بیلهر و نانولیپوزوم بارگذاری شده با عصاره بیلهر و نانوذره لیپوزوم به تنهایی بر سلول‌های سرطانی کولورکتال رده SW48 مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد عصاره آبی - الکی گیاه بیلهر به تنهایی توانایی مهار تکثیر سلول‌های رده SW48 را دارد و زمانی که این عصاره روی ذرات نانولیپوزوم بارگذاری

که رده‌های سلولی SW480 و MCF-7 در مقایسه با دو رده سلولی طبیعی نسبت به روغن و شا حساس‌تر هستند (۳۱). بیلهر از گیاهان بومی منطقه بوده و به عنوان یک منبع غنی از ترکیبات آنتی‌اکسیداتیو، ضدالتهابی مانند؛ فلاونوئیدها، آنتوسیانین‌ها و اسید فنولیک (مانند؛ گالیک، کافئین، کلروژنیک و اسید پی‌کوماریک) می‌باشد. گونه‌های مختلف بیلهر و همچنین اجزاء مختلف گیاه بیلهر خواص آنتی‌اکسیدانی را نشان می‌دهند (۳۶). ترکیبات فنلی عصاره به دلیل داشتن خواص آنتی‌اکسیدانی فراوان، مهار سلول‌های سرطانی را افزایش می‌دهند و در پیشگیری و درمان سرطان نقش مهمی دارند. اگر چه هنوز مطالعه جامعی غلظت دقیق اجزای ترکیبات موجود در عصاره آبی-الکی گیاه بیلهر متعلق به ارتفاعات استان کهگیلویه و بویراحمد را آنالیز نکرده است از این رو به صورت قطعی نمی‌توان آثار ضدتکثیری این عصاره را به یک گروه خاص از مواد موجود در عصاره آبی - الکی گیاه بیلهر اختصاص داد هر چند پژوهش‌های مشابه عمده این نقش را به ترکیبات فنولی موجود در عصاره اطلاق می‌کنند.

وین کریستین دارو شیمی‌درمانی ضدسرطان است که سیکل سلولی را هدف‌گیری کرده و القاء کننده آپوپتوز در سلول‌های سرطانی می‌باشد. در مقایسه اثر عصاره گیاه بیلهر با وین کریستین، عصاره گیاه بیلهر همانند وین کریستین توانایی مهار تکثیر سلول‌های رده SW480 را دارد، در حالی که وین کریستین در غلظت نانوگرم این عملکرد را دارد و

می‌شوند قدرت ضدتکثیری این عصاره افزایش می‌یابد. مصدق و همکاران فعالیت سیتوتوکسیسیته عصاره متانولی گیاه بیلهر را در برابر رده های سلولی سرطان پستان (MCF7)، کبد (HepG2) و ریه (A549) همچنین سلول‌های اپیتلیال کلیه گاوی (MDBK) از طریق آزمایش MTT در شرایط invitro مورد بررسی قرار دادند. عصاره سمیت با IC_{50} ۲۰،۰۹ و ۶۵،۴۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر در برابر سلول‌های HepG2 و A549 نشان داد. همچنین نتایج این مطالعه امکان عدم سمیت اکثر گونه‌های گیاهی که به طور سنتی به عنوان داروهای طبیعی استفاده می‌شوند را پشتیبانی می‌کند (۳۴). اگر چه در مطالعه فوق رده سلولی سرطانی کولورکتال مورد آزمایش قرار نگرفته است، اما نشان دهنده اثرات ضدتکثیری عصاره گیاه بیلهر روی رده‌های سلولی مشتق از سرطان کبد (HepG2) و سرطان ریه (A549) می‌باشد. رده سلولی SW480 از میزان مهاجرت و قدرت تهاجمی بیشتری نسبت به دیگر رده‌های سلولی جداشده از آدنوکارسینوما روده مثل HT29 و HCT116 برخوردار است. همچنین در این رده سلولی بیان MMP-2 و MMP9 از بسیاری از رده‌های سلولی جداشده از سرطان روده بیشتر است (۳۵). یوسفزاده و همکاران در مطالعه‌ای، فعالیت سمیت سلولی روغن ضروری از گیاه و شا (*orema ammoniacum*) در برابر دو سلول سرطان انسانی MCF-7، SW480 و دو رده سلولی نرمال فیبروبلاست پوست و کبد جنین انسان (HFLP و HFSF) و با روش MTT مورد بررسی قرار داده و نشان دادند

عصاره گیاه بیلهر در غلظت میکروگرم، مشخص شدن ماده مؤثر عصاره گیاه بیلهر در مهار تکثیر سلول‌ها می‌تواند در روشن شدن جنبه‌های مختلف این ماده کمک شایانی نماید و در غلظت‌های پایین‌تر این عملکرد را نشان دهد. همچنین لازم است مسیرهای مولکولی که عصاره گیاه بیلهر از آن طریق اثرات ضدتکثیری خود را القاء می‌کند مورد بررسی و مطالعه قرار گیرند از نکته‌های حایز اهمیت در این مطالعه بهبود قدرت ضدتکثیری عصاره گیاه بیلهر در زمانی بود که روی نانوذره لیپوزم بارگذاری شده است. با شناسایی ماده مؤثره عصاره آبی - الکی گیاه بیلهر و بارگذاری آن روی نانوذره لیپوزوم می‌توان شاهد افزایش قدرت تکثیری این گیاه باشیم.

از جمله راهکارهای درمانی سرطان القاء آپوپتوز می‌باشد از این رو در این مطالعه میزان مرگ سلولی آپوپتوزی با روش فلوسایتومتری مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل از آنالیز آپوپتوز نشان داد که عصاره بیلهر دارای خاصیت قدرمندی در القای آپوپتوز در دوز درمان شده روی رده سلولی SW48 می‌باشد و مرگ سلولی ناشی از این ترکیب با فعال شدن مسیرهای آپوپتوز همراه است. همراهی این عصاره با نانوذره لیپوزوم قدرت القای آپوپتوز را افزایش داده و در مقایسه با کنترل مثبت معنی‌دار می‌باشد.

در مطالعه همسو با پژوهش حاضر، بنازاده و همکاران اثرات آپوپتوزی عصاره متانولی

دانه *Dorema glabrum* بر رده سلولی سرطانی فیروسارکوم (WEHI-164) در مقایسه با L929 رده سلولی فیروبلاست نرمال و مقایسه آن با اثرات سمیت سلولی تاکسول را بررسی کردند. مقدار IC_{50} عصاره گیاه در رده سلولی فیروسارکوم (WEHI-164) حدود ۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر در مدت تیمار ۳۶ ساعت در مقابل، IC_{50} عصاره برای سلول‌های طبیعی L929 از مقدار بالاتر (حدود ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر در مدت تیمار ۳۶ ساعت) گزارش شد. در این مطالعه القاء آپوپتوز به وسیله عصاره گیاه با کاهش پروتئین‌های پیش کاسپاز ۲ و bcl2 و افزایش بیان ژن کاسپاز ۳ و کاهش در میزان bcl2 همراه بوده است. داده‌های آنها به خوبی اثر ضد تکثیری عصاره متانولی دانه *Dorema glabrum* را نشان داده است (۳۷).

همچنین نشان داده شده است که عصاره ریشه *Dorema glabrum* بر روی سلول‌های سرطانی معده AGS موجب افزایش آپوپتوز، کاهش زنده ماندن سلولی و توقف چرخه سلولی می‌شود که با نتایج مطالعه حاضر همخوانی دارد (۳۸).

اگر چه هنوز ترکیبات مؤثره عصاره آبی - الکی گیاه بیلهر متعلق به استان کهگیلویه و بویراحمد به روشنی مشخص نشده، اما پژوهش‌های مشابه نشان داده‌اند که عصاره‌های مختلف و کل ترکیبات گیاه بیلهر فعالیت آنتی‌اکسیدانی خوبی بر اساس مهار روش اکسیداسیون اسیدچرب دارند (۳۹). از این رو اثرات ضدسرطانی و ضدتکثیری گیاه بیلهر

حاکی از اثرات بیشتر عصاره در زمان اتصال به نانوذره بود.

نتایج مطالعه‌ای که برای تحت تأثیر قرار دادن سلول‌های توموری روده بزرگ انسان طراحی شده بود نشان داده است که فرمولاسیون لیپوزومی اسکلاریول در برابر فرم غیرلیپوزومی آن اثردهی بالاتری داشته و حتی منجر به مهار تومور با عوارض جانبی بسیار ناچیز می‌شود (۴۳). همچنین استفاده از فرم نانولیپوزومی عصاره گیاه علف چنگ (*A. githago*) نشان داد که اثر سمیت سلولی لیپوزوم‌ها بر روی رده سلولی AGS که با روش MTT، Neutral Red و Frame تعیین شده است به طور معنی‌داری بیشتر از عصاره به تنهایی بود (۴۴).

در مطالعه حاضر بدلیل محدودیت‌های مالی امکان بررسی دقیق مکانیسم‌های آپوپتوز و جداسازی ماده مؤثره گیاه فراهم نبود بنابراین پیشنهاد می‌شود از تست‌های تکمیلی آپوپتوز و ترکیب خالص گیاه بیلهر استفاده گردد و همچنین مسیرهای مولکولی که موجب مهار تکثیر و القاء آپوپتوز می‌شوند مورد ارزیابی قرار گیرند.

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد بارگذاری عصاره گیاه بیلهر در نانولیپوزوم اثر سمیت و آپوپتوزی عصاره گیاه بیلهر را در دوزهای پایین، افزایش می‌دهد و می‌تواند کاندید مناسبی جهت

را می‌توان به ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی موجود در این گیاه و خواص آنتی‌اکسیدانی گیاه بیلهر نسبت داد. α -اودسمول و β -اودسمول از ترکیبات مؤثره در اسانس بیلهر بوده که پژوهش‌های پیشین حاکی از فعالیت ضدتکثیری این ترکیب از طریق فعال‌سازی کاسپاز ۳ و القاء آپوپتوز است (۴۰). در استفاده از عصاره گیاه بیلهر باید مراقب اثرات توکسیک آن بود به صورتی که مهدوی و همکاران در مطالعه‌ای که روی سرطان پستان القاء شده در رت انجام گرفت نشان دادند که عصاره گیاه بیلهر در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم موجب نکروز سلول‌های توموری می‌شود در حالی که غلظت ۴۰۰ میلی‌گرم این عصاره خاصیت تومورزایی را افزایش می‌دهد (۴۱).

افزایش قدرت حلالیت، جذب، نفوذپذیری، زیست‌سازگاری و تخریب‌پذیری نانوذره‌ها آنها را به عنوان حامل‌های فوق‌العاده‌ای برای داروها ساخته است. نانوذرات می‌توانند حلالیت و پایداری فیتوشیمیایی‌ها را افزایش دهند، جذب آنها را تقویت کنند، آنها را از تخریب زودرس در بدن محافظت کنند و زمان گردش خون را طولانی‌تر کنند. علاوه بر این نانوذرات موجب جذب بالای دارو در بافت هدف شده که این امر موجب کاهش سمیت سلولی می‌شود (۴۲). در مطالعه حاضر از نانوذره لیپوزوم استفاده شد که موجب افزایش قدرت ضد تکثیری و همچنین افزایش قدرت آپوپتوزی عصاره بیلهر در همان غلظت شد. اگر چه این مطالعه در محیط آزمایشگاه انجام گرفت، اما

پژوهش‌های گسترده‌تر در محیط درون‌تنی و شناسایی ترکیبات فعال ضدسرطانی آن باشد.

تقدیر و تشکر

این مقاله برگرفته از پایان‌نامه دوره دکتری عمومی با کد اخلاق IR.YUMS.REC.1397.102 دانشگاه علوم پزشکی یاسوج می‌باشد، که با حمایت مالی این دانشگاه انجام شد، لذا از مرکز تحقیقات گیاهان دارویی و مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی که ما را در انجام این طرح یاری کردند، قدردانی می‌شود.

REFERENCES

1. Kamangar F, Dores GM, Anderson WF. Patterns of cancer incidence, mortality, and prevalence across five continents: defining priorities to reduce cancer disparities in different geographic regions of the world. *Journal of Clinical Oncology* 2006; 24(14): 2137-50.
2. Blowman K, Magalhães M, Lemos M, Cabral C, Pires I. Anticancer properties of essential oils and other natural products. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 2018; 149362:12.
3. Masoudi S, Esmaeili A, Ali khalilzadeh M, Rustaiyan A, Moazami N, Akhgar MR, et al. Volatile constituents of *Dorema aucheri* Boiss, *Seseli libanotis* (L.) WD Koch var *armeniicum* Bordz and *Conium maculatum* L. *Flavour and Fragrance Journal* 2006; 21(5): 801-4.
4. Khanahmadi M, Miraghaee S, Karimi I. Evaluation of the Antioxidant and antimicrobial Properties of *Dorema aucheri* plant. *Iranian Red Crescent Medical Journal* 2012; 14(10): 684-5.
5. Khalilzadeh H, Lotfi MH. The Hypoglycemic Effect of *Dorema aucheri* (Bilhar) (Extract in Diabetic Type 2 Patients. A First Clinical Trial *International Journal of Pharmaceutical and Clinical Research* 2015; 7(5): 343-347.
6. Wollenweber E, Dörr M, Rustiyan A. *Dorema aucheri*, the first umbelliferous plant found to produce exudate flavonoids. *Phytochemistry* 1995; 38(6): 1417.
7. Mokhtari M, Sharifi S, Parang A. Effect of alcoholic extract of *Dorema aucheri* on homogram in adult male rats. *J Adv Med Biomed Res* 2008; 16(62): 37-44.
8. Ahangarpour A, Zamaneh HT, Jabari A, Nia HM, Heidari H. Antidiabetic and hypolipidemic effects of *Dorema aucheri* hydroalcoholic leave extract in streptozotocin-nicotinamide induced type 2 diabetes in male rats. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences* 2014; 17(10): 808.
9. Sadeghi H, Mirzaee A, Delaviz H. Antihyperlipidaemic and antihypercholesterolaemic effects of *Dorema aucheri*. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research* 2010; 3(2): 59.
10. Mosaddegh M, Naghibi F, Moazzeni H, Pirani A, Esmaeili S. Ethnobotanical survey of herbal remedies traditionally used in Kohghiluyeh va Boyer Ahmad province of Iran. *Journal of Ethnopharmacology* 2012; 141(1): 80-95.
11. Sadeghi H, Ghaitasi I, Mazrooghi N, Sabzali S. The hepatoprotective effects of *Dorema aucheri* on carbon tetrachloride induced liver damage in rats. *Journal of Shahrekord University of Medical Sciences* 2007; 9(1): 38-43.
12. Kabel AM, Abd Elmaaboud M. Cancer: Role of nutrition, pathogenesis, diagnosis and management. *World Journal of Nutrition and Health* 2014; 2(4): 48-51.
13. Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *cell* 2000; 100(1): 57-70.
14. Kołos M, Wasążnik-Jędras A, Nasierowska-Guttmejer A. Can the histological type of colorectal cancer determine the carcinogenesis pathway? *Polish Journal of Pathology* 2015; 66(2): 109-20.
15. El Kinany K, Huybrechts I, Kampman E, Boudouaya HA, Hatime Z, Mint Sidi Deoula M, et al. Concordance with the World cancer research fund/american institute for cancer research recommendations for cancer prevention and colorectal cancer risk in morocco: a large, population-based case-control study. *International Journal of Cancer* 2019; 145(7): 1829-37.
16. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics 2020. *CA: A Cancer Journal for Clinicians* 2020; 70(1): 7-30.
17. Khashij S, Jalilian F, Vaezi M, Jalilian M, Gharibnavaz H, Ahmadi-Jouybari T, et al. Measuring beliefs related to colorectal cancer screening behavior among Iranian middle-aged and elderly: A psychometric study. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention: APJCP* 2018; 19(8): 2211.
18. Kaina B. DNA damage-triggered apoptosis: critical role of DNA repair, double-strand breaks, cell proliferation and signaling. *Biochemical Pharmacology* 2003; 66(8): 1547-54.
19. Khan N, Adhami VM, Mukhtar H. Apoptosis by dietary agents for prevention and treatment of prostate cancer. *Endocrine-Related Cancer* 2010; 17(1): R39-52.
20. Tripathi P, Singh A. Natural resources from plants in the treatment of cancer: an update. *Asian J Pharm Clin Res* 2017; 10(7): 13-22.
21. Hans ML, Lowman AM. Biodegradable nanoparticles for drug delivery and targeting. *Current Opinion in Solid State and Materials Science* 2002; 6(4): 319-27.
22. Khanmohammadi M, Elmizadeh H, Hassanzadeh G, Nassiri-Asl M. Preparation and optimization of chitosan nanoparticles as carrier of anti-Alzheimer tacrine drug and size estimation of nanoparticles by chemometrics. *The Journal of Qazvin University of Medical Sciences* 2013; 17(5): 6-10.

24. Panyam J, Labhasetwar V. Biodegradable nanoparticles for drug and gene delivery to cells and tissue. *Advanced Drug Delivery Reviews* 2003; 55(3): 329-47.
24. Jawahar N, Meyyanathan S. Polymeric nanoparticles for drug delivery and targeting: A comprehensive review. *International Journal of Health & Allied Sciences* 2012; 1(4): 217.
25. Azadi A, Hamidi M, Rouini M-R. Methotrexate-loaded chitosan nanogels as 'Trojan Horses' for drug delivery to brain: preparation and in vitro/in vivo characterization. *International Journal of Biological Macromolecules* 2013; 62: 523-30.
26. Islam S, Bhuiyan MR, Islam M. Chitin and chitosan: structure, properties and applications in biomedical engineering. *Journal of Polymers and the Environment* 2017; 25(3): 54-66.
27. Varshochian R, Hosseinzadeh H, Gandomi N, Tavassolian F, Atyabi F, Dinarvand R. Utilizing liposomes and lipid nanoparticles to overcome challenges in breast cancer treatment. *Clinical Lipidology* 2014; 9(5): 571-85.
28. Laroui H, Rakhya P, Xiao B, Viennois E, Merlin D. Nanotechnology in diagnostics and therapeutics for gastrointestinal disorders. *Digestive and Liver Disease* 2013; 45(12): 995-1002.
29. Ud Din F, Aman W, Ullah I, Qureshi OS, Mustapha O, Shafique S, et al. Effective use of nanocarriers as drug delivery systems for the treatment of selected tumors. *International Journal of Nanomedicine* 2017; 12: 7291.
30. Bardania H, Shojaosadati SA, Kobarfard F, Dorkoosh F. Optimization of RGD-modified nano-liposomes encapsulating epifibatide. *Iranian Journal of Biotechnology* 2016; 14(2): 33.
31. Yousefzadi M, Heidari M, Akbarpour M, Mirjalili MH, Zeinali A, Parsa M. In vitro cytotoxic activity of the essential oil of *Dorema ammoniacum* D. Don. *Middle-East J Sci Res* 2011; 7(4): 511-4.
32. Süloğlu Ak, Selmanoğlu G, Yılmaz Ş, Canpınar H. Comparison of phototoxic effects of hypericin-mediated photodynamic therapy in HT-29 and Caco-2 colon cancer cells. *Turkish Journal of Biology* 2016; 40(6): 1202-18.
33. Nobili S, Lippi D, Witort E, Donnini M, Bausi L, Mini E, et al. Natural compounds for cancer treatment and prevention. *Pharmacological Research* 2009; 59(6): 365-78.
34. Mosaddegh M, Esmaeili S, Naghibi F, Hamzeloo Moghadam M, Haeri A, Pirani A, et al. Ethnomedical survey and cytotoxic activity of medicinal plant extracts used in Kohgiluyeh and Boyer-Ahmad Province in Iran. *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants* 2012; 18(3): 211-21.
35. Golestan A, Mojtahedi Z, Ghalamfarsa G, Hamidinia M, Takhshid MA. The effects of NDRG2 overexpression on cell proliferation and invasiveness of SW48 colorectal cancer cell line. *Iranian Journal of Medical Sciences* 2015; 40(5): 430.
36. Mianabadi M, Hoshani M, Salmanian S. Antimicrobial and Anti-oxidative Effects of Methanolic Extract of *Dorema aucheri* Boiss. *Journal of Agricultural Science and Technology* 2015; 17(3): 623-34.
37. Bannazadeh Amirkhiz M, Rashtchizadeh N, Nazemiyeh H, Abdolalizadeh J, Mohammadnejad L, Baradaran B. Investigating apoptotic effects of methanolic extract of *Dorema glabrum* seed on WEHI-164 Cells. *ISRN Pharmacology* 2013; 949871: 9.
38. Jafari N, Zargar SJ, Yassa N, Delnavazi MR. Induction of apoptosis and cell cycle arrest by *dorema glabrum* root extracts in a gastric adenocarcinoma (AGS) cell line. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention: APJCP* 2016; 17(12): 5189-93.
39. Rasouli Vani J, Taghi Mohammadi M, Sarami Foroshani M, Rezazade E. Evaluation of the neuroprotective and antioxidant effects of *Dorema aucheri* extract on cerebral ischaemia-reperfusion injury in rats. *Pharmaceutical Biology* 2019; 57(1): 255-6.
40. Bomfim DS, Ferraz RP, Carvalho NC, Soares MB, Pinheiro ML, Costa EV, et al. Eudesmol isomers induce caspase-mediated apoptosis in human hepatocellular carcinoma H ep G 2 Cells. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology* 2013; 113(5): 300-6.
41. Gourabi AM, Rahimi AO, Sadeghi H, Afshoon T, Mahdavi R, Afshoon E. Los tumores mamaros Anti-Efecto de *Dorema aucheri* planta (planta Bilhar), Extracto de los márgenes de las montañas de Zagros en Irán. *Vitae, Revista De La Facultad De Química Farmacéutica* 2014; 21(1): 278-84.
42. Wang S, Su R, Nie S, Sun M, Zhang J, Wu D, et al. Application of nanotechnology in improving bioavailability and bioactivity of diet-derived phytochemicals. *The Journal of Nutritional Biochemistry* 2014; 25(4): 363-76.
43. Hatziantoniou S, Dimas K, Georgopoulos A, Sotiriadou N, Demetzos C. Cytotoxic and antitumor activity of liposome-incorporated sclareol against cancer cell lines and human colon cancer xenografts. *Pharmacological Research* 2006; 53(1): 80-7.
44. Bohlooli S, Fathi P. Nanoliposomal formulation of *Agrostemma githago* aqueous extract shows enhanced cytotoxic effect on gastric cancer cell line. *Nanomedicine Journal* 2015; 2(1): 21-8.

The Effect of Aqueous-Alcoholic Aerial Parts Extract of *Dorema aucheri* on Liposome Nanoparticles on Proliferation and Induction of Apoptosis in Human Colorectal Cancer Cells of SW48 Class

Rezaeinejad F¹, Ghasemifard Z¹, Tajali Ardakani M², Bardania H², Ghalamfarsa GH^{3*}

¹Student Research Committee, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran, ²Cellular and Molecular Research Centers, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran, ³Medicinal Plants Research Center, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran

Received: 16 Jan 2019 Accepted: 30 Des 2020

Abstract

Background & aim: Nowadays, plant extracts are used for research and clinical application in the treatment of cancers including colorectal cancer. *Dorema aucheri* plant has been conventionally used as an herbal medicine and its extract has been reported to contain significant amounts of antioxidants such as; Flavonoids, anthocyanins and phenolic acid. Therefore, the aim of the present study was to determine the effect of aqueous-alcoholic **aerial parts** extract of *Dorema aucheri* shoot on liposome nanoparticles on proliferation and induction of apoptosis in SW48 human colorectal cancer cell line.

Methods: The present experimental study was conducted in 2019 at Yasuj University of Medical Sciences. SW48 cells were cultured in vitro, and then treated with different concentrations of *Dorema aucheri* hydroalcoholic extract, *Dorema aucheri*-loaded nanoliposomes, liposomes alone for 24, 48, and 72 hours. The cytotoxic effect was assessed using MTT assay. Synthesis of nanoliposomes was formulated by lipid thin film filtration method. Apoptosis was measured by staining cells with propidium iodide and annexin V using flow cytometry. Vincristine was used as a positive control in the study. The collected data were analyzed using two-way ANOVA and Tukey's post hoc test. b

Results: The results of 50% inhibitory concentration (IC₅₀) of *Dorema aucheri* nanoparticles and *Dorema aucheri* plant extract in 24 hours were 33.48 and 44.67 µg / ml, respectively, and for vincristine 50 ng / ml. The results indicated that the survival rate of cells was inhibited in a dose and time-dependent manner. The results of apoptosis test displayed that the highest percentage of increase in apoptosis in this cell line compared to the control was related to *Dorema aucheri* nanoliposomes (41.5%). On the other hand, *Dorema aucheri* extract alone had less increase than the control (p <0.05).

Conclusion: The results of the present study revealed that loading *Dorema aucheri* extract in nanoliposomes increased the toxicity and apoptosis effect of *Dorema aucheri* extract at low doses and could be a worthy candidate with less side effects for more extensive in vitro research.

Keywords: *Dorema aucheri*, Apoptosis, Nanoliposome, SW48

*Corresponding author: Ghalamfarsa GH, Medicinal Plants Research Center, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran

Email:ghasem_ghalamfarsa@yahoo.com

Please cite this article as follows:

Rezaeinejad F, Ghasemifard Z, Tajali Ardakani M, Bardania H, Ghalamfarsa GH. The Effect of Aqueous-Alcoholic Aerial Parts Extract of *Dorema aucheri* on Liposome Nanoparticles on Proliferation and Induction of Apoptosis in Human Colorectal Cancer Cells of SW48 Class. Armaghane-danesh 2020; 25(3): 318- 331.