

The Evaluation of Antioxidant Compounds and Antibacterial of Leaf, Flower, and Root Extracts of *Sambucus ebulus* and their Toxicity on Lung Cancer Cells

Amin Tavakoli Yarak¹, Simin Arian^{*2}, Mahdiah Houshani^{*3}

1. Master's student, Department of Microbiology, To.C., Islamic Azad University, Tonekabon, Iran.

Azarzamani24@gmail.com

2. Assistant Professor, Department of Microbiology, To.C., Islamic Azad University, Tonekabon, Iran.

Simin.aryan@yahoo.com

3. Assistant Professor, Department of Plant Physiology, To.C., Islamic Azad University, Tonekabon, Iran.

mhoshani@yahoo.com

Abstract

Aim and Background: Cancer is considered one of the leading causes of mortality worldwide. Components derived from natural plants that induce apoptosis are used for cancer treatment. Also, with the increasing resistance of bacteria to antibiotics and their side effects, the use of medicinal plants in the treatment of bacterial infections is increasing. Therefore, this study aims to evaluate the antioxidant and antibacterial properties of the leaves, flowers, and roots extract of *Sambucus ebulus* and their inhibitory effect on lung cancer cells.

Materials and Methods: Different parts of the *S. ebulus* were collected from Abbas Abad city and extracted by the maceration method. To determine the cytotoxicity of the extracts, the MTT method was used, and the antimicrobial activity of the extracts was determined by disk diffusion methods. Also, total phenol, flavonoid, and anthocyanin contents were measured.

Results: The results showed that the highest content of total phenol was obtained from the leaf extract. The effect of the extracts on cell growth inhibition was concentration and time-dependent; the highest percentage of cell growth inhibition at the concentration of 4000 µg/mL in leaf and flower extracts was 97.47% and 97.87%, respectively, in the duration of 72 hours. Also, the maximum inhibitory effect of leaf and flower extracts on Gram-positive bacteria, *Staphylococcus aureus*, was obtained at a concentration of 1000 mg/mL.

Conclusion: The results of this study suggest that especially the leaf and flower extract of *S. ebulus* plant can be an accessible source of antioxidant compounds and can be used as a medicinal plant against lung cancer, subject to extensive research due to its high anti-cancer properties.

Keywords: *Sambucus ebulus*, Antioxidant compounds, Lung cancer, Antibacterial properties.

*Corresponding author:

Assistant Professor, Department of Plant Physiology, To.C., Islamic Azad University, Tonekabon, Iran.

Assistant Professor, Department of Microbiology, To.C., Islamic Azad University, Tonekabon, Iran.

Email: Simin.aryan@yahoo.com, mhoshani@yahoo.com

بررسی ترکیبات آنتی اکسیدانی و ضد باکتریایی عصاره برگ، گل و ریشه گیاه آقطی (*Sambucus ebulus*) و اثر سمیت آن‌ها بر سلول‌های سرطانی ریه

امین توکلی یرکی^۱، سیمین آراین^{۲*}، مهدیه هوشنی^{۳*}

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه میکروبیولوژی، واحد تنکابن، دانشگاه آزاد اسلامی، تنکابن، ایران.

۲. استادیار، گروه میکروبیولوژی، واحد تنکابن، دانشگاه آزاد اسلامی، تنکابن، ایران.

۳. استادیار، گروه فیزیولوژی گیاهی، واحد تنکابن، دانشگاه آزاد اسلامی، تنکابن، ایران.

چکیده

سابقه و هدف: امروزه سرطان یکی از علل اصلی مرگ و میر در جهان می‌باشد. ترکیبات گیاهان دارویی القاکننده آپوپتوز، از روش‌های درمان سرطان محسوب می‌گردد. همچنین با افزایش روز افزون مقاومت باکتری‌ها به انواع آنتی بیوتیک‌ها، استفاده از گیاهان دارویی در درمان عفونت‌های باکتریایی رو به افزایش است. هدف این پژوهش بررسی ترکیبات آنتی اکسیدانی و ضد باکتریایی عصاره‌های برگ، گل و ریشه گیاه آقطی و اثر مهاری آن‌ها بر روی سلول‌های سرطانی ریه می‌باشد.

مواد و روش‌ها: بخش‌های مختلف گیاه آقطی از شهر عباس آباد جمع آوری و عصاره‌گیری به روش خیساندن انجام شد. جهت تعیین سمیت سلولی عصاره‌ها از روش MTT و فعالیت ضد میکروبی عصاره‌ها از روش‌ها انتشار دیسک استفاده شد. همچنین میزان فنل، فلاونوئید و آنتوسیانین کل عصاره‌ها نیز تعیین شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد بیشترین محتوای فنل کل در عصاره برگ بدست آمد. تاثیر عصاره‌ها بر روی مهار رشد سلول‌ها وابسته به غلظت و زمان بود. بیشترین درصد مهار رشد سلول‌ها در غلظت ۴۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر در عصاره‌های برگ و گل به ترتیب ۹۷/۴۷ و ۹۷/۸۷ درصد در مدت زمان ۷۲ ساعت بدست آمد. همچنین، بیشترین اثر مهاری عصاره‌های برگ و گل بر روی باکتری گرم مثبت /ستافیلوکوس/اورئوس در غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بدست آمد.

نتیجه‌گیری: بنابراین نتایج این مطالعه پیشنهاد می‌کند که عصاره گیاه آقطی به ویژه عصاره برگ و گل می‌تواند به عنوان یک منبع قابل دسترس از ترکیبات آنتی‌اکسیدان باشد و به علت داشتن خاصیت ضد سرطانی بالا می‌تواند به عنوان یک گیاه دارویی علیه سرطان ریه مورد پژوهش‌های وسیع‌تری قرار گیرد.

واژگان کلیدی: آقطی، آنتی اکسیدان، سرطان ریه، فعالیت ضدباکتریایی.

نویسنده مسئول: ۱ استادیار، گروه فیزیولوژی گیاهی، واحد تنکابن، دانشگاه آزاد اسلامی، تنکابن، ایران.

۲. استادیار، گروه میکروبیولوژی، واحد تنکابن، دانشگاه آزاد اسلامی، تنکابن، ایران.

Simin.aryan@yahoo.com

- پست الکترونیکی:

mhoshani@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۰/۱۱

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۰/۱۶

۱- مقدمه

آنتی‌اکسیدان‌ها نقش مهمی در مهار رادیکال‌های آزاد و شکستن واکنش‌های زنجیری اکسیداسیون دارند. مهار واکنش‌های اکسیداسیون در مواد غذایی، دارویی، آرایشی، بهداشتی و جلوگیری از بروز بیماری‌های مرتبط به استرس‌های اکسیداتیو، برخی از عملکردهای مفید آنتی‌اکسیدان‌ها به‌شمار می‌آیند (۱). استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی مانند بوتیلات هیدروکسی آنیزول^۱ (BHA) و بوتیلات هیدروکسی تولوئن^۲ (BHT) منجر به بروز عوارض جانبی نامطلوبی می‌گردد که از آن جمله می‌توان به بروز انواع سرطان‌ها اشاره نمود (۲). امروزه سرطان دومین عامل مرگ‌ومیر بعد از بیماری‌های قلبی است. سرطان ریه شایع‌ترین سرطان در دنیاست و به‌عنوان یک اپیدمی در نظر گرفته می‌شود و در سال ۲۰۰۲ بیش از ۱/۳ میلیون نفر مبتلا به این بیماری بودند که ۲۹ درصد از کل مرگ‌های ناشی از سرطان مربوط به سرطان ریه می‌باشد (۳). روش‌های درمانی متفاوتی برای سرطان‌ها وجود دارد که می‌توان به جراحی، شیمی‌درمانی، رادیوتراپی، ایمونوتراپی و غیره اشاره داشت. درخصوص سرطان ریه نیز از روش‌های متفاوت استفاده می‌شود که شیمی‌درمانی سیستمیک یکی از این روش‌ها می‌باشد اما فقدان سمیت انتخابی اغلب منجر به بروز عوارض جانبی غیرقابل تحمل می‌گردد. غیر از روش‌های رایج بیان‌شده، امروز استفاده از گیاهان دارویی در درمان سرطان از اهمیت زیادی برخوردار است (۴). از سوی دیگر بیماری‌های عفونی ناشی از میکروارگانیسم‌های مختلف نیز در سراسر جهان بسیار شایع می‌باشند. بسیاری از این بیماری‌ها ناشی از مصرف مواد غذایی آلوده به پاتوژن هستند که در بسیاری از جوامع انسانی باعث ایجاد زبان‌های اقتصادی و جانبی گسترده‌ای شده است. یکی از راه‌های کنترل رشد میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا در مواد غذایی، استفاده از نگهدارنده‌ها و مواد ضد میکروبی می‌باشد (۵). درحال حاضر با توجه به استفاده بی‌رویه از آنتی‌بیوتیک‌ها و افزایش مقاومت در باکتری‌ها، یافتن جایگزین‌های مناسب برای آنتی‌بیوتیک‌ها امری ضروری می‌باشد. به همین دلیل مطالعه‌های گسترده‌ای در مورد

پتانسیل استفاده از ترکیبات ضد میکروبی موجود در گیاهان برای کنترل و درمان عوامل بیماری‌زا صورت گرفته است (۶ و ۷). با توجه به فراوانی مقاومت‌های دارویی و کاهش اثر بخشی ترکیبات شیمیایی در درمان بیماری‌های مختلف استفاده از این ترکیبات گیاهی از استقبال خوبی برخوردار بوده و بسیاری از شرکت‌های معتبر داروسازی جهان سرمایه‌گذاری فراوانی در این زمینه را آغاز کردند (۸). گیاهان دارویی با داشتن ترکیبات آنتی‌اکسیدان آنزیمی و غیرآنزیمی می‌توانند باعث خنثی‌سازی و مهار رادیکال‌های آزاد و گونه‌های فعال شوند (۹). آسیب‌های ناشی از گونه‌های اکسیژن فعال منجر به بروز بیماری‌هایی نظیر سرطان‌ها و بیماری‌های قلبی-عروقی و غیره می‌گردد. اثرهای سودمند ترکیب‌های آنتی‌اکسیدان بر روی سلامت انسان از طریق کاهش تنش اکسیداتیو بیان می‌شود (۱۰). مطالعه‌ها نشان داده‌اند که برخی از ترکیب‌های آنتی‌اکسیدان نظیر فنل‌ها و فلاونوئیدها قادر به اعمال اثرهای ضد میکروبی و اثر ضدآپوپتوتیک یا به‌طور کلی مهار فرایندهای تکثیر سلولی می‌باشند (۱۱ و ۱۲).

گیاه آق‌طی با نام علمی *L. Sambucus ebulus* و با نام محلی پلم متعلق به تیره *Caprifoliaceae* گیاهی است چند ساله، عمدتاً خزان‌کننده با برگ‌های سبز رنگ، گوشوارک‌دار، متقابل شانه‌ای، حدود ۵ تا ۱۱ برگچه که در حاشیه دندانه دارند. هر برگ ۵ تا ۳۰ سانتی‌متر طول دارد و در اواخر بهار با گل‌های ریز سفید یا کرم رنگ که در گل‌آذین دیهیم هستند پدیدار می‌شوند. در اواخر تابستان گل‌ها به میوه‌های سته قرمز تا سیاه رنگ تبدیل می‌شوند (۷، ۱۳ و ۱۴). در طب سنتی ایران به‌صورت موضعی از برگ و ریشه گیاه در درمان دردهای مفصلی مانند آرتریت روماتوئید و درمان التهاب‌های ناشی از گزش حشرات، زخم‌های عفونی، زخم معده، ادم، آگما و کهیر و بیماری‌های مربوط ریه استفاده می‌گردد (۱۵ و ۱۶). بررسی‌های انجام‌شده نشان دادند که گیاه حاوی ترکیبات مختلف اسانس، فلاونوئید^۳، اسیدهای فنلی، ویتامین‌های A و C (در میوه)، آنتوسیانین^۴، سیانوژنیک گلیکوزیدها^۵

³ Flavonoid

⁴ Anthocyanin

⁵ Cyanogenic Glycoside

¹ Butylate Hydroxylanisole

² Butylated Hydroxytoluene

برای اندازه‌گیری محتوای فنل کل به ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره گیاه، ۲ میلی‌لیتر کربنات سدیم ۲ درصد، ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر و ۱۰۰ میکرولیتر معرف فولین-سیوکالچو ۵۰ درصد اضافه شد. بعد از گذشت نیم ساعت جذب آن‌ها در طول موج ۷۲۰ نانومتر نسبت به شاهد ثبت گردید. اسید گالیک^۴ به‌عنوان استاندارد برای رسم منحنی استاندارد به کار رفت. محتوای فنل کل عصاره‌ها بر اساس میلی‌گرم معادل اسید گالیک بر گرم وزن خشک گیاه گزارش شد (۱۹).

برای سنجش میزان فلاونوئید کل به ۵۰۰ میکرولیتر از هر عصاره ۱/۵ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد، ۱۰۰ میکرولیتر محلول آلومینیوم کلراید ۱۰ درصد، ۱۰۰ میکرولیتر محلول استات پتاسیم ۱ مولار و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد. جذب مخلوط بعد از گذشت ۴۰ دقیقه در طول موج ۴۱۵ نانومتر نسبت به شاهد اندازه‌گیری گردید. برای رسم منحنی استاندارد از کوئرستین استفاده شد. میزان فلاونوئید کل عصاره‌ها بر اساس میلی‌گرم معادل کوئرستین بر گرم وزن خشک گیاه گزارش شد (۲۰).

برای سنجش میزان آنتوسیانین کل مقدار ۰/۰۲ گرم از بافت خشک گیاهی با ۴ میلی‌لیتر محلول اسید کلریدریک ۱ درصد متانول در یک هاون چینی ساییده شد. محلول حاصل به مدت ۲۴ ساعت در یخچال نگهداری شد. سپس، محلول به مدت ۱۰ دقیقه و در ۱۳۰۰۰ دور سانتریفیوژ گردید. فاز رویی را برداشته و جذب محلول‌ها در طول موج ۵۳۰ و ۶۵۷ نانومتر نسبت به شاهد اندازه‌گیری شد. از محلول اسید کلریدریک ۱ درصد متانول به‌عنوان شاهد استفاده گردید. میزان آنتوسیانین برای هر عصاره با استفاده از رابطه زیر محاسبه گردید (۲۱):

$$A = A_{530} - (0/25 \times A_{657})$$

A: جذب محلول (اعداد اندیس نشانگر طول موج‌هایی است که جذب در آن‌ها اندازه‌گیری شد).

۳-۲-۳- ارزیابی فعالیت ضدباکتریایی عصاره

۳-۳-۱- تهیه سویه‌های باکتری

میکروارگانسیم‌های موردبررسی در این مطالعه شامل باکتری‌های گرم‌مثبت، *استافیلوکوکوس اورئوس*^۵

(در برگ)، ساپونین‌ها^۱، کاروتنوئیدها^۲، مشتقات کافئیک اسید و مواد فرّار است (۱۶ و ۱۷). آنتی‌اکسیدان‌های گیاهی بستگی مستقیم به ژنوتیپ گیاه، مرحله رشد و شرایط محیطی دارند، همچنین تغییر در میزان و فعالیت آن‌ها بیانگر عملکردهای مختلف فیزیولوژیکی گیاه در طی مرحله نمو است و از دیدگاه تغذیه‌ای و دارویی اهمیت به‌سزایی دارد. لذا با توجه به ارزش دارویی گیاه آقطی و اینکه این گیاه به‌صورت خودرو در شمال ایران رویش دارد تاکنون پژوهش‌های مَدونی بر خاصیت دارویی و ترکیب‌های مؤثره این گیاه صورت نگرفته است. از این‌رو هدف اصلی این پژوهش بررسی خاصیت ضدباکتریایی و آنتی‌اکسیدانی بخش‌های مختلف گیاه آقطی و اثر سمیت آن بر روی سلول‌های سرطانی ریه رده A549 می‌باشد.

۲- مواد و روش‌ها

مواد مورداستفاده در این پژوهش شامل گالیک اسید، کوئرستین، کربنات سدیم، آلومینیوم کلراید، استات پتاسیم، معرف فولین، نمک MTT و محیط‌کشت نوترینت برات از شرکت سیگما آلدردیج آمریکا خریداری شد. همچنین حلال‌های مورداستفاده در این پژوهش نیز با درجه خلوص بالا تهیه گردید.

۲-۱- جمع‌آوری گیاه و عصاره‌گیری

برگ، گل و ریشه گیاه آقطی از منطقه‌ای در نزدیکی شهرستان عباس‌آباد در تابستان ۱۴۰۰ از ارتفاع ۵۵ متری جمع‌آوری شد. سپس نمونه‌ها در سایه و مجاورت هوا خشک گردیدند و بعد آسیاب شدند. مقدار ۳۰ گرم از هر نمونه در ۲۰۰ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد خیسانده و به مدت ۴۸ ساعت در دمای اتاق نگهداری گردید. پس از طی شدن زمان موردنظر عصاره‌ها صاف شدند. سپس حلال در دمای کمتر از ۴۰ درجه سانتی‌گراد توسط دستگاه روتاری (Buchi, Schweiz) تبخیر گردید. باقی‌مانده برای انجام آزمایش‌ها در یخچال با درجه حرارت ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (۱۸).

۲-۲- اندازه‌گیری محتوای فنل^۳، فلاونوئید و آنتوسیانین کل عصاره‌ها

¹ Saponin

² Carotenoid

³ Phenol

⁴ Gallic Acid

⁵ *Staphylococcus aureus*

$100 \times \text{جذب کنترل} / \text{جذب نمونه} = \text{درصد}$

زنده‌مانی

۲-۵- آنالیز آماری

داده‌ها بر اساس میانگین سه تکرار $\pm$ خطای استاندارد گزارش شدند. بررسی تمامی نتایج با استفاده از آنالیز واریانس، بر اساس آزمون دانکن و با استفاده نرم‌افزار SPSS صورت گرفت و تفاوت‌های با سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار شناخته شدند. رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel 2010 انجام گرفت.

۳- نتایج

۳-۱- بررسی میزان فنل، فلاونوئید و آنتوسیانین

کل عصاره‌ها

نتایج نشان دادند که عصاره‌های برگ و گل غنی از ترکیبات فنل، فلاونوئید و آنتوسیانین کل می‌باشد به‌طوری‌که بیشترین میزان فنل کل در عصاره‌های برگ و گل به‌ترتیب به‌میزان $22/41 \pm 0/883$ و $21/63 \pm 0/543$ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک عصاره به‌دست آمد. همچنین بیشترین میزان فلاونوئید و آنتوسیانین کل در عصاره برگ به‌ترتیب $1/29 \pm 0/016$ و $0/193 \pm 0/060$ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک به‌دست آمد (جدول ۱).

(ATCC1112)، باسیلوس سرئوس^۱ (ATCC1015) و باکتری‌های گرم منفی سودوموناس آئروژینوزا^۲ (ATCC1074) و اشرشیاکلی^۳ (ATCC1399) می‌باشد. سویه‌های خالص این باکتری‌ها از مرکز کلکسیون قارچ‌ها و باکتری‌های صنعتی ایران خریداری شد.

۲-۳-۲- آزمون ضدباکتریایی به روش انتشار دیسک

به‌منظور انجام آزمایش ابتدا میکروارگانیسم‌های موردنظر در محیط‌کشت نوترینت براث فعال گردید. سپس از میکروارگانیسم‌های فعال شده، سوسپانسیونی معادل با نیم مک‌فارلند تهیه شد. پس از تهیه سوسپانسیون $0/1$ میلی‌لیتر از آن بر روی محیط‌کشت مولر هینتون آگار به‌طور یکنواخت پخش گردید. سپس 30 میکرولیتر از غلظت‌های مختلف عصاره‌ها (400 ، 600 ، 800 و 1000 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) بر روی دیسک‌های کاغذی اضافه شد و در ادامه دیسک‌ها بر روی محیط‌کشت قرار داده شد. در پایان پلیت‌ها در دمای مناسب برای هر میکروارگانیسم به‌مدت 24 ساعت در انکوباتور نگهداری و سپس قطر هاله عدم‌رشد برحسب میلی‌متر اندازه‌گیری شد (۲۲).

۲-۴- بررسی اثر عصاره گیاه آقطی بر رشد و

زنده‌مانی رده سلولی A549

رده سلولی A549 مربوط به سرطان ریه از انیستیتو پاستور ایران خریداری شد. به‌منظور بررسی اثر عصاره متانولی گل و ریشه گیاه آقطی بر رشد و زنده‌مانی سلولی از آزمون رنگ‌سنجی MTT (3 ، 4 ، 5) دی‌متیل‌تيازول 2 -ایل 5 ، 2 دی‌فنیل‌تترازولیوم) استفاده شد. برای این منظور تعداد 10^4 سلول در هر چاهک در پلیت‌های 96 چاهکی قرار داده شد. بعد از 24 ساعت، غلظت‌های $31/25$ ، $62/5$ ، 125 ، 250 ، 500 ، 1000 و 4000 میلی‌مولار از عصاره متانولی به هر چاهک برای زمان‌های 24 ، 48 و 72 ساعت اضافه شد. در هر بازه زمانی، جذب نمونه‌ها توسط دستگاه الایزا (Organon Teknika, Netherlands) در طول موج 540 نانومتر موردبررسی قرار گرفت. درصد زنده‌مانی توسط فرمول زیر محاسبه شد (۲۳):

¹ *Bacillus cereus*

² *Pseudomonas aeruginosa*

³ *Escherichia coli*

جدول ۱- محتوای آنتوسیانین، فلاونوئید و فنل کل عصاره برگ، گل و ریشه گیاه آقطی.

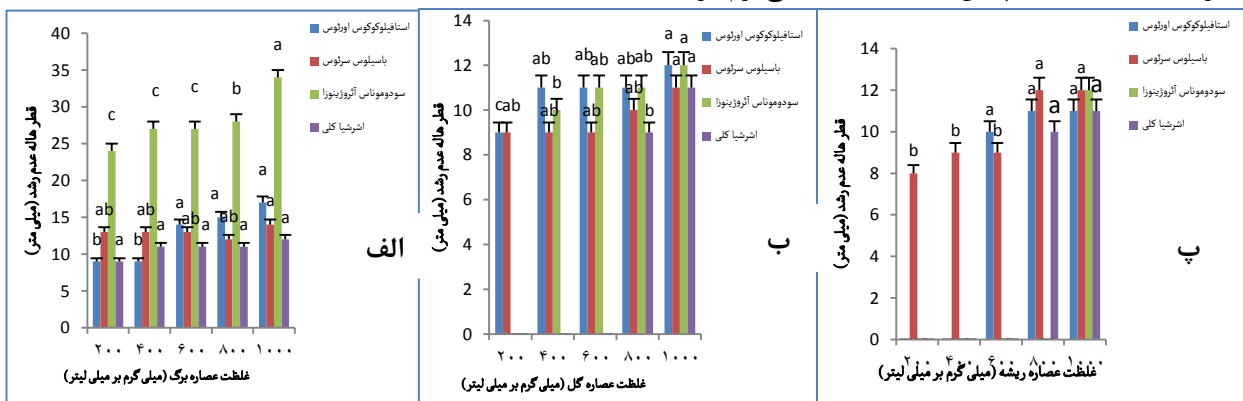
عصاره‌های گیاهی	آنتوسیانین کل (mg g ⁻¹ DW)	فلاونوئید کل (mg g ⁻¹ DW)	فنل کل (mg g ⁻¹ DW)
برگ	۰/۱۹۳ ± ۰/۰۶۰	۱/۲۹ ± ۰/۰۱۶	۲۲/۴۱ ± ۰/۸۸۳
گل	۰/۰۸۸ ± ۰/۰۴۴	۰/۷۲۷ ± ۰/۰۷۳	۲۱/۶۳ ± ۰/۵۴۳
ریشه	۰/۰۴۲ ± ۰/۰۰۱	۰/۰۵۵ ± ۰/۰۰۳	۸/۲۶ ± ۰/۱۸۳

* داده‌ها به صورت میانگین ± خطا استاندارد می‌باشند.

۲-۳- ارزیابی فعالیت ضدباکتریایی عصاره برگ، گل و ریشه گیاه آقطی به روش دیسک

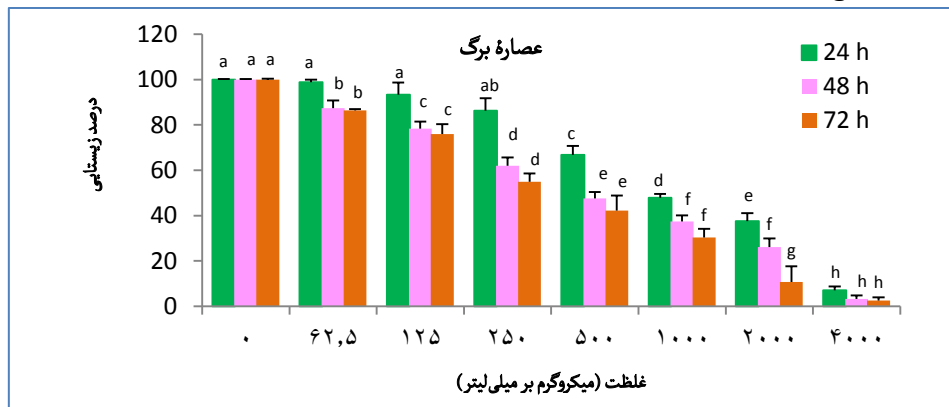
فعالیت ضدباکتریایی عصاره برگ، گل و ریشه گیاه آقطی بر روی تعدادی از باکتری‌های پاتوژن شامل *استافیلوکوکوس اورئوس*، *باسیلوس سرئوس*، *سودوموناس آئروژینوزا* و *اشرشیا کلی* مورد بررسی قرار گرفت (شکل ۱-الف تا پ). نتایج نشان دادند که افزایش غلظت‌های مختلف عصاره‌ها به خصوص عصاره گل بر رشد باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی به طور معنی‌داری تأثیرگذار است به طوری که بیشترین هاله عدم رشد در غلظت ۱۰۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر عصاره برگ در باکتری گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* (۱۷±۱ میلی متر) و در باکتری گرم منفی *سودوموناس آئروژینوزا* (۳۴±۱/۰۸ میلی متر) مشاهده شد. همچنین کمترین هاله عدم رشد در باکتری گرم منفی *اشرشیا کلی* مشاهده شد. در مورد عصاره گل نیز بیشترین هاله عدم رشد در باکتری مورد بررسی نیز در غلظت ۱۰۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر عصاره به دست آمد. همچنین غلظت ۲۰۰ میلی گرم بر

میلی لیتر عصاره گل فقط بر باکتری‌های گرم مثبت تأثیر داشت و بر روی باکتری گرم منفی *اشرشیا کلی* گردید و تنها غلظت‌های ۸۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر عصاره گل مؤثر بود (شکل ۱-ب). عصاره ریشه گیاه آقطی تنها غلظت ۱۰۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر بر روی هر چهار باکتری مورد بررسی تأثیر داشت. غلظت ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر عصاره ریشه تنها بر روی باکتری گرم مثبت *باسیلوس سرئوس* تأثیر داشت و غلظت‌های ۲۰۰ تا ۸۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر بر روی باکتری گرم منفی *سودوموناس آئروژینوزا* اثر نداشت و تنها غلظت ۱۰۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر بر روی این باکتری گرم منفی تأثیرگذار بود (شکل ۱-پ). نتایج کلی بیان نمود که بین عصاره‌های مورد بررسی عصاره ریشه کمترین اثر را بر روی باکتری‌های مورد بررسی داشت.



شکل ۱- بررسی اثر ضدباکتریایی عصاره گیاه آقطی بر روی باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس*، *باسیلوس سرئوس*، *سودوموناس آئروژینوزا* و *اشرشیا کلی* به روش انتشار دیسک. الف) عصاره برگ، ب) عصاره گل، پ) عصاره ریشه.

زنده‌مانی سلول‌های سرطانی در غلظت ۴۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر عصاره برگ در طی این زمان‌ها به ترتیب 7 ± 0.651 ، 3 ± 0.22 و 2 ± 0.53 درصد مشاهده شد که بیانگر مهار ۹۳، ۹۶/۷۸ و ۹۷/۴۷ درصد در غلظت موردنظر است. همچنین این نتایج بیان نمود که کاهش زنده‌مانی سلول‌ها در مدت زمان ۷۲ ساعت نسبت به زمان ۲۴ ساعت چشمگیر بود (شکل ۲).

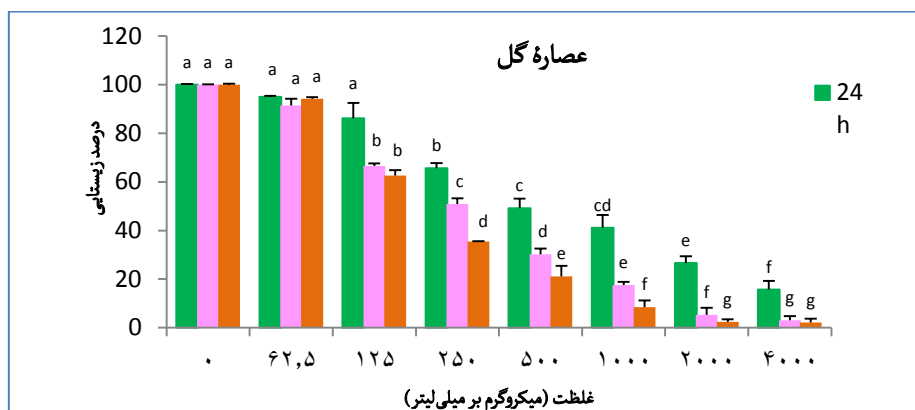


۳-۳- مهار رشد سلول‌های سرطانی توسط غلظت‌های مختلف عصاره برگ گیاه آقطی طی زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت
نتایج نشان دادند که غلظت‌های مختلف عصاره برگ گیاه آقطی در طی زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت بر مهار رشد سلول‌های سرطانی تأثیر معنی‌داری داشت به‌طوری‌که با افزایش غلظت عصاره میزان زنده‌مانی سلول‌های سرطانی کاهش یافت. طبق نتایج به‌دست‌آمده کمترین درصد

شکل ۲- نمودار مقایسه تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره برگ گیاه آقطی بر رشد سلول‌های سرطانی ریه رده سلولی A549 طی زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت. هر ستون نشان‌دهنده میانگین داده‌ها $\pm$ انحراف استاندارد. هر ستون نشان‌دهنده میانگین داده‌ها $\pm$ انحراف استاندارد. ستون‌های دارای حداقل یک حرف مشترک با آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌دار ندارند.

غلظت ۲۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر عصاره نیز باعث کاهش $16/16 \pm 1/28$ درصدی رشد سلول‌های سرطانی نسبت به کنترل شده است و درصد مهار رشد در این غلظت ۸۳/۸۴ درصد به‌دست آمد (شکل ۳). در مدت زمان ۴۸ و ۷۲ ساعت نیز کمترین درصد زنده‌مانی سلول‌های سرطانی در غلظت ۴۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر عصاره به ترتیب 3 ± 0.10 و 2 ± 0.13 درصد به‌دست آمد که بیانگر مهار رشد ۹۶/۹۰ و ۹۷/۸۷ درصدی، درصد در غلظت موردنظر است (شکل ۳).

۳-۴- مهار رشد سلول‌های سرطانی توسط غلظت‌های مختلف عصاره گل گیاه آقطی طی زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت
نتایج این پژوهش نشان داد که غلظت‌های مختلف عصاره گل گیاه آقطی بر مهار رشد سلول‌های سرطانی تأثیر معنی‌داری داشت به‌طوری‌که با افزایش غلظت عصاره میزان زنده‌مانی سلول‌های سرطانی کاهش یافت. طبق نتایج به‌دست‌آمده کمترین درصد زنده‌مانی سلول‌های سرطانی در غلظت ۴۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر عصاره $2/95 \pm 0/05$ مشاهده شد که بیانگر مهار ۹۷/۰۵ درصد در غلظت موردنظر است. همچنین نتایج نشان دادند که

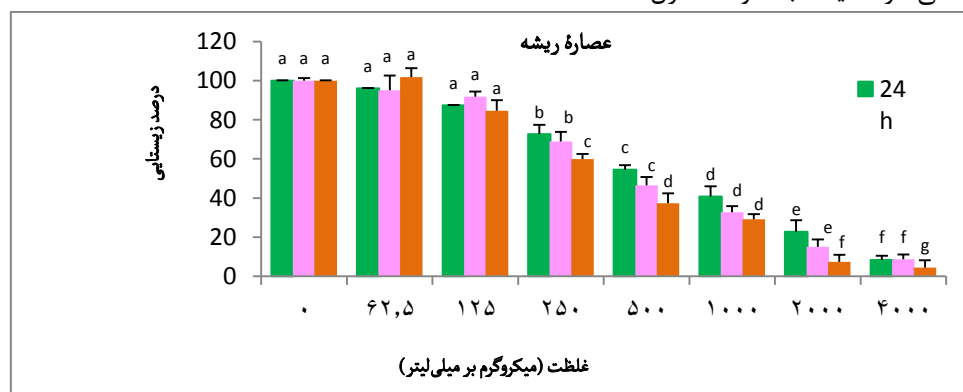


شکل ۳- نمودار مقایسه تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره گل گیاه آقطی بر رشد سلول‌های سرطانی ریه رده سلولی A549 طی زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت. هر ستون نشان‌دهنده میانگین داده‌ها $\pm$ انحراف استاندارد. ستون‌های دارای حداقل یک حروف مشترک با آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌دار ندارند.

به‌طوری‌که درصد مهار رشد سلول‌های سرطانی در این غلظت ۷۷/۱۴ درصد به‌دست آمد. در مدت زمان ۴۸ ساعت کمترین درصد زنده‌مانی سلول‌های سرطانی در غلظت ۴۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر عصاره $\pm 0/031$ ۸/۸۱ درصد به‌دست آمد که بیانگر مهار ۹۱/۸۲ درصد در غلظت موردنظر است (شکل ۴). همان‌طورکه مشاهده شد درصد مهار سلول‌های سرطانی در مدت زمان ۴۸ ساعت نسبت به مدت زمان ۲۴ ساعت افزایش یافت اما این افزایش چندان قابل‌توجه نبود. در مدت ۷۲ ساعت کاهش رشد سلول‌ها نسبت به زمان‌های ۲۴ و ۴۸ ساعت چشمگیر بود و درصد مهار زنده‌مانی سلول‌ها ۹۵/۵۹ درصد به‌دست آمد.

۳-۵- مهار رشد سلول‌های سرطانی توسط غلظت‌های مختلف عصاره ریشه گیاه آقطی طی زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت

نتایج نشان دادند که با افزایش غلظت‌های مختلف عصاره ریشه میزان زنده‌مانی سلول‌های سرطانی کاهش یافت. براساس نتایج به‌دست‌آمده کمترین درصد زنده‌مانی سلول‌های سرطانی در غلظت ۴۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر عصاره $\pm 0/116$ ۸/۴۷ درصد مشاهده شد که بیانگر مهار ۹۱/۵۳ درصد در غلظت موردنظر است. همچنین نتایج نشان دادند که غلظت عصاره ۲۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر نیز باعث کاهش قابل‌توجه رشد سلول‌های سرطانی در مقایسه با نمونه کنترل شده است.



شکل ۴- نمودار مقایسه تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره ریشه گیاه آقطی بر رشد سلول‌های سرطانی ریه رده سلولی A549 طی زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت. هر ستون نشان‌دهنده میانگین داده‌ها $\pm$ انحراف استاندارد. ستون‌های دارای حداقل یک حروف مشترک با آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌دار ندارند.

۳-۶- بررسی همبستگی بین فعالیت ضدباکتریایی و ضدسرطانی عصاره‌های گیاه آقطی با ترکیب‌های آنتی‌اکسیدانی اندازه‌گیری شده

دارد. همچنین فعالیت ضدباکتریایی و مهار سلول‌های سرطانی عصاره‌های برگ و گل با ترکیبات فلاونوئیدی نیز همبستگی مثبت دارد اما معنی‌دار نمی‌باشد. عصاره ریشه با هیچ کدام از ترکیب‌های آنتی‌اکسیدانی موردسنجش نیز همبستگی نشان نداد (جدول ۲ الف و ب).

جدول همبستگی نشان داد که فعالیت ضدباکتریایی و مهار سلول‌های سرطانی عصاره‌های برگ و گل با محتوای فنل کل در سطح ۱ درصد همبستگی مثبت معنی‌دار

جدول ۲-الف. همبستگی بین فعالیت ضدباکتریایی و ضدسرطانی و برخی ترکیب‌های آنتی‌اکسیدانی غیرآنزیمی عصاره برگ گیاه آقطی.

فعالیت ضدباکتریایی	مهار سلول‌های سرطانی	فعالیت آنتی‌اکسیدانی	محتوای آنتوسیانین	محتوای فلاونوئید	محتوای فنل	
۱	۰/۷۶۵**	۰/۹۰۳**	۰/۲۴۱ ^{ns}	۰/۴۲۰ ^{ns}	۰/۷۱۶**	فعالیت ضدباکتریایی
	۱	۰/۶۲۳*	۰/۳۲۵ ^{ns}	۰/۴۱۵ ^{ns}	۰/۷۸۹**	مهار سلول‌های سرطانی
		۱	۰/۸۸۵**	۰/۴۱۵ ^{ns}	۰/۸۹۱**	فعالیت آنتی‌اکسیدانی
			۱	۰/۷۱۹**	۰/۶۳۹*	محتوای آنتوسیانین
				۱	۰/۴۱۵ ^{ns}	محتوای فلاونوئید
					۱	محتوای فنل

**همبستگی در سطح ۱ درصد معنی‌دار، *همبستگی در سطح ۵ درصد معنی‌دار و ^{ns}همبستگی بین صفات معنی‌دار نیست.

جدول ۲-ب. همبستگی بین فعالیت ضدباکتریایی و برخی ترکیب‌های آنتی‌اکسیدانی غیرآنزیمی عصاره گل گیاه آقطی.

فعالیت ضدباکتریایی	مهار سلول‌های سرطانی	فعالیت آنتی‌اکسیدانی	محتوای آنتوسیانین	محتوای فلاونوئید	محتوای فنل	
۱	۰/۹۲۳**	۰/۷۱۸**	۰/۳۱۵ ^{ns}	۰/۳۲۰ ^{ns}	۰/۷۶۵**	فعالیت ضدباکتریایی
	۱	۰/۵۷۵*	۰/۱۵۵ ^{ns}	۰/۲۱۹ ^{ns}	۰/۷۲۵**	مهار سلول‌های سرطانی
		۱	۰/۸۲۵**	۰/۶۱۵*	۰/۷۰۸**	فعالیت آنتی‌اکسیدانی
			۱	۰/۶۸۹*	۰/۷۶۵**	محتوای آنتوسیانین
				۱	۰/۷۸۵**	محتوای فلاونوئید
					۱	محتوای فنل

**همبستگی در سطح ۱ درصد معنی‌دار، *همبستگی در سطح ۵ درصد معنی‌دار و ^{ns}همبستگی بین صفات معنی‌دار نیست.

۴- بحث

یک سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی در تمام مراحل رشد گیاهان، فعال می‌باشد که شامل ترکیبات آنزیمی و غیرآنزیمی است. مکانیسم عمل این آنتی‌اکسیدان‌ها متفاوت است و با عواملی مثل مراحل رشد و نمو گیاهان، شرایط آب‌وهوایی، شرایط خاک منطقه برداشت، بخش‌های مورد استفاده گیاه، شرایط برداشت و ذخیره‌سازی تغییر می‌کند (۲۴ و ۲۵). در راستای این پژوهش‌ها، برگ، گل و ریشه گیاه آقطی از طبیعت جمع‌آوری و مطالعه گردید. نتایج نشان دادند که بخش‌های مختلف گیاه آقطی خصوصاً برگ و گل این گیاه سرشار از ترکیب‌های آنتی‌اکسیدان به‌ویژه ترکیبات فنلی می‌باشد (جدول ۱). براساس نتایج به‌دست‌آمده مشخص شد که میزان ترکیب‌های آنتی‌اکسیدان در بخش‌های مختلف گیاه به‌طور قابل‌توجهی در طی مراحل رشد و نمو گیاه متفاوت است و می‌توان هر بخش را برای هدف خاصی انتخاب و برداشت نمود. در پژوهشی اندام‌های مختلف گیاه آقطی مانند برگ، گل، میوه نارس و رسیده آن را از دو منطقه در ساری جمع‌آوری کردند. نتایج این تحقیقات نشان داد که در گیاه جمع‌آوری‌شده از هر دو منطقه حاوی مواد مؤثری نظیر فنل‌ها و فلاونوئید می‌باشد و به‌عنوان دافع حشرات است (۱۷). بنابراین، براساس نتایج این پژوهش گیاه آقطی منبعی از ترکیب‌های آنتی‌اکسیدان ترکیب‌های فنلی و آنتوسیانینی می‌باشد. از سوی دیگر مطابق نتایج به‌دست‌آمده خاصیت ضد میکروبی بخش‌های مختلف گیاه آقطی را می‌توان به مقادیر بالای ترکیبات آنتی‌اکسیدانی موجود در عصاره‌ها نسبت داد که نتایج جدول همبستگی نیز نشان دادند که خاصیت ضد میکروبی عصاره‌های برگ و گل گیاه آقطی با محتوای فنل کل، دارای همبستگی مثبت معنی‌دار است (جدول ۲ الف و ب). همچنین نتایج نشان دادند که عصاره برگ گیاه آقطی در مقایسه با سایر عصاره‌ها فعالیت ضدباکتریایی بالاتری را نشان داد و بیشترین هاله عدم‌رشد برای باکتری‌های موردنظر در غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر مشاهده شد (شکل ۱-الف). پژوهش‌های متعددی بر روی فعالیت ضدباکتریایی عصاره سایر گیاهان نیز انجام شده است، از جمله این تحقیق‌ها می‌توان به اثر ضد میکروبی عصاره‌های رزماری، آویشن، بومادران و

زعفران آبی اشاره نمود که در این تحقیق اثر ضد میکروبی این عصاره‌ها بر روی باکتری‌های گرم‌منفی و گرم‌مثبت بررسی شد. نتایج نشان دادند که عصاره این گیاهان روی باکتری گرم‌مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* اثر ضد میکروبی خوبی را نشان دادند. همچنین این عصاره‌ها بر روی باکتری‌های گرم‌منفی *لستریا مونوسیتوژنز* و *سالمونلا تایفی* موریوم مؤثر بوده اما بر روی باکتری گرم‌منفی *شرشیاکلی* تأثیر نداشتند (۲۶). نتایج پژوهش حاضر نیز یافته‌های این محققان را تأیید می‌نماید و نشان می‌دهد که ترکیب‌های فنلی اثر ضد میکروبی بر روی باکتری‌های گرم‌مثبت نسبت به باکتری‌های گرم‌منفی دارند و به‌طور کلی باکتری‌های گرم‌منفی در مقایسه با گرم‌مثبت‌ها نسبت به ترکیب‌های فنلی مقاوم‌تر هستند که این تفاوت شاید به‌دلیل تفاوت در ساختمان دیواره سلولی آن‌ها باشد (۲۷). باکتری‌های گرم‌منفی علاوه بر لایه پپتیدوگلیکان، دارای یک غشای خارجی در دیواره سلولی خود می‌باشند. سطح هیدروفیلی این غشا که غنی از مولکول‌های لیپولی ساکاریدی می‌باشد به‌عنوان مانع در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها عمل می‌کند. همچنین آنزیم‌های موجود در فضای پری‌پلاسمایی، می‌توانند مولکول‌های ورودی از بیرون را بشکنند اما در مورد باکتری‌های گرم‌مثبت، مواد ضد میکروبی به‌راحتی دیواره سلولی و غشای سیتوپلاسمی را تخریب کرده که منجر به نشت سیتوپلاسم و انعقاد آن می‌شوند (۲۸). تعداد و موقعیت گروه‌های هیدروکسیل فاکتور کلیدی در فعالیت ضد میکروبی ترکیب‌های فنلی به‌شمار می‌آید که با افزایش تعداد گروه‌های هیدروکسیل، فعالیت میکروبی بیشتر می‌شود (۲۹). ترکیب‌های فنلی از طریق واکنش با گروه‌های سولفیدریل یا برهم‌کنش‌های غیراختصاصی با پروتئین‌ها، از فعالیت آنزیمی جلوگیری کرده و بدین ترتیب فعالیت ضد میکروبی خود را اعمال می‌کنند (۳۰). علاوه بر این از ترکیب‌های طبیعی برای مقابله با سرطان با توجه به عوارض جانبی کم و تأثیرهای امیدبخش آن مورد توجه قرار گرفته و مطالعه‌های متعددی جهت بررسی اثرهای ضدسرطانی گیاهان دارویی و بومی در کشورهای مختلف انجام گرفته است (۲۴، ۳۱ و ۳۲). نتایج این مطالعه نشان داده است که عصاره گل در مقایسه با عصاره برگ و ریشه، باعث مهار بیشتر سلول‌های سرطانی شده به‌طوری‌که با افزایش غلظت عصاره درصد

مهار رشد سلول‌ها افزایش پیدا کرده است و بیشترین مهار سلول‌ها بعد از ۷۲ ساعت در غلظت ۴۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر عصاره ۹۷/۸۷ درصد گزارش شد. همچنین نتایج جدول همبستگی نشان دادند که بین مهار رشد سلول‌های سرطانی و محتوای فنل برگ و گل گیاه آقطی همبستگی مثبت معنی‌داری وجود دارد (جدول ۲ الف و ب). بنابراین نتایج نشان دادند که عصاره برگ و گل گیاه آقطی دارای مقادیر زیادی از ترکیب‌های آنتی‌اکسیدان نظیر ترکیب‌های فنلی می‌باشند. این ترکیب‌ها ممکن است چرخه سلولی را مهار کرده و یا چک‌پوینت‌های آن را فعال کنند، مانع همانندسازی DNA شوند و یا مسیر داخلی و یا خارجی آپوپتوز را فعال نمایند (۲۴ و ۳۳). مطالعه‌ها نشان دادند که گل‌های گیاه آقطی حاوی فلاونوئیدها، سیانوزنیک گلیکوزیدها، تری‌ترپن، اسیدهای فنلی، تان‌ها، موسیلاژ و پکتین می‌باشد که مِلین، ضدویروس و ضدالتهاب می‌باشند و برگ این گیاه برای بیماری‌های کلیوی و بیماری مربوط به ریه توصیه می‌گردد (۱۵). علاوه بر این مطالعه‌های دیگری نیز نشان داده است که عصاره میوه آقطی دارای خاصیت ضدسرطانی است و خاصیت ضدسرطانی عصاره میوه را به دلیل رنگیزه آنتوسیانین معرفی کردند که شامل سیانیدین سابوویسکوزید و سیانیدین ۳-گلوکوزید است که قدرت آنتی‌اکسیدانی بیشتری نسبت به ویتامین‌های C، E و بتاکاروتن دارد و مسئول حفاظت در مقابل استرس‌های اکسیداتیو است که پاسخ‌های ایمنی را در طول سیتوکینز افزایش می‌دهد و به‌عنوان ضدویروس‌های محرک سیستم‌ایمنی هستند (۱۶ و ۱۷). بنابراین با مقایسه کار این محققان می‌توان دریافت که عصاره‌های گیاهی، اثرهای ضدسرطانی متفاوتی را در سرطان‌های مختلف و حتی بر روی یک رده سلولی یکسان از خود نشان می‌دهند. در بیشتر این پژوهش‌ها یک همبستگی بین میزان ترکیب‌های فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها با تأثیر آن‌ها بر سلول‌های سرطانی وجود دارد. این ترکیب‌ها از مسیرهای متفاوتی بر سلول‌های سرطانی اثر می‌گذارند به‌طوری‌که در بیشتر مطالعه‌ها، ترکیب‌های موجود در عصاره گیاهی باعث القای مرگ برنامه‌ریزی‌شده سلولی در سلول‌های سرطانی می‌شوند، که این اثر از طریق افزایش بیان ژن‌های القای مرگ برنامه‌ریزی‌شده سلولی صورت می‌گیرد. در برخی از گزارش‌ها نیز

ترکیب‌های موجود در عصاره باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نظیر سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، گلوکاتایون پراکسیداز و ترکیب‌های آنتی‌اکسیدان غیرآنزیمی‌شده و از این مسیر باعث از بین رفتن رادیکال‌های آزاد و در نتیجه کاهش تولید سلول‌های سرطانی جدید می‌شوند (۳۲ و ۳۴). در پژوهش حاضر مسیرهای بیوشیمیایی و مکانیسم عمل عصاره برگ، گل و ریشه در مهار سلول‌های سرطان ریه رده سلولی A549 مورد بررسی قرار نگرفته است، بنابراین در این مورد نمی‌توان اظهار نظر نمود، اما موردی که در این پژوهش به اثبات رسید این است که عصاره برگ، گل و ریشه گیاه آقطی حاوی مقدار زیادی از ترکیب‌های آنتی‌اکسیدان است و به دلیل وجود همبستگی مثبت معنی‌دار بین ترکیب‌های فنلی و مهار رشد سلول‌های سرطانی، احتمالاً وجود این ترکیب‌های آنتی‌اکسیدان می‌تواند نشان‌دهنده این باشد که این ترکیب‌ها احتمالاً از طریق خنثی نمودن رادیکال‌های آزاد و در نتیجه کاهش تولید سلول‌های سرطانی جدید، باعث مهار رشد سلول‌های سرطانی می‌شوند.

۵- نتیجه‌گیری

نتایج به‌دست‌آمده از این پژوهش نشان داد که برگ و گل گیاه آقطی سرشار از ترکیبات فنلی می‌باشد. همچنین نتایج نشان دادند که عصاره گیاه آقطی اثر ضدباکتریایی خوبی بر روی باکترهای گرم‌مثبت /استافیلوکوکوس و باسیلوس سرئوس داشت و حساسیت این باکتری‌ها نسبت به باکتری-های گرم‌منفی سودوموناس آئروزیینوزا و /شرشیاکلی بیشتر بود. از سوی دیگر طبق نتایج به‌دست‌آمده عصاره‌های برگ، گل و ریشه گیاه آقطی اثر مهارتی وابسته به غلظت و زمان در مهار رشد سلول‌های سرطانی ریه از خود نشان دادند و بیشترین اثر مهارتی برای آن‌ها در غلظت ۴۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر و در مدت زمان ۷۲ ساعت به دست آمد. از این رو با توجه به نتایج به‌دست‌آمده می‌توان گفت که عصاره‌های برگ و گل گیاه آقطی سرشار از ترکیبات آنتی‌اکسیدان است که با توجه به مقاومت سویه‌های باکتریایی به آنتی‌بیوتیک‌ها و اثرهای جانبی داروهای شیمی‌درمانی، عصاره این گیاه برای بررسی فارماکولوژی بیشتر توصیه می‌شود تا شاید در آینده از این گیاه بتوان در زمینه‌های درمان استفاده نمود.

۶- ملاحظات اخلاقی

کلیه کارهای پژوهشی این مقاله با کسب مجوز اخلاقی از کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن صورت گرفت.

۷- تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از کلیه پرسنل دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن برای حمایت از انجام این مطالعه قدردانی می‌کنند.

۸- تعارض منافع

نویسندگان این مقاله اعلام می‌دارند که تعارض منافی وجود ندارد.

۹- سهم نویسندگان

طراحی تحقیق و نظارت بر روند انجام کار توسط خانم دکتر سیمین آراین و خانم دکتر مهدیه هوشنی انجام گرفت. اجرای مراحل کارهای تحقیقاتی، آنالیز داده‌ها، نگارش و تنظیم مقاله توسط آقای امین توکلی یرکی با راهنمایی و مشاوره‌های استادهای محترم صورت گرفت.

۱۰- کد اخلاق

این طرح در دانشگاه آزاد اسلامی تنکابن با کد اخلاق IR.IAU.TON.REC. 1402.089 انجام شد.

1. Moure A, Cruz JM, Franco D, Dominguez M, Sineiro J, Dominguez H. Natural antioxidants from residual sources. Food Chem, 2001; 72: 145-171.
2. Ebrahimabadi AH, Ebrahimabadi EH, Jafari-Bidgoli Z, Jookar Kashi F, Mazoochi A, Batooli H. Composition and antioxidant and antimicrobial activity of the essential oil and extracts of *Stachys inflata* Benth from Iran. Food Chem, 2010; 119: 452-458.
3. Silvestri GA, Alberg AJ, Ravenel J. The changing epidemiology of lung cancer with a focus a screening. Barit. Med, .2009; 399: 451-454.
4. Shokralezadeh M, Poresh A, Shahani S, Habibi A, Zar, Z. Investigating the effect of cytotoxicity of *Lagenaria siceraria* plant extract on lung cancer cell line. (A549). J. Maz. Uni. Med. Sci, 2013; 230-225. [In Persian]
5. Shahnian M, Khaksar R. Antimicrobial effects and determination of minimum inhibitory concentration (MIC) methods of essential oils against pathogenic bacteria. Iran. J.Nut. Sci Food Technol. 2013; 7(5): 949-55.
6. Majnooni MB, Abiri R, Afnanzade NS, Malek Khatabi P. Study of antibacterial effects of hydro- alcoholic extract of 8 medicinal herbs against vancomycin resistant *staphylococcus aureus*. J. Med. Plants, 2012; (41): 103-110.
7. Azizianshermeh O, Valizadeh J, Noroozifar M, Qasemi A. Investigating the Antimicrobial Activities of Silver Nanoparticles Biosynthesized by Aqueous Extract of *Sambucus ebulus* L. 2016. JIUMS, 2016; 1: 92-108. [In Persian]
8. Ferlay J, Shin HR, Bray F. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008. Int. J. Cancer, 2010; 12: 127-129.
9. Babakhani B, Houshani M, Motalebi Tala Tapeh S, Shoja Shafiee M, Heidari Keshel S. The evolution of antioxidant activity and anticancer of Alfalfa extract on MCF7 Cell line. Triple R, 2019; 4 (1): 9-14.
10. Gandhi S, Abramov AY. 2012. Mechanism of oxidative stress in neurodegeneration. Oxid. Med. Cell. Longev, 2012. 3:11-22.
11. Burt S. 2004. Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods. Int. J. Food Microbio, 2004; 94: 223-253.
12. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. Int. J. Biochem. Cell Biol, 2007; 39(1):44-84.
13. Ebrahimzade MA, Pourmorad F, Bekhradnia AR. Iron chelating activity, phenol and flavonoid content of some medicinal plants from Iran. Afr. J. Food Drug Anal, 2008; 10: 178-182.
14. Emami A, Ahi A. Medicinal Botany. Publications of the University of Medical Sciences and Health Services. 2017. First Edition. [In Persian]
15. Pavaloioi RD, Sha'at F, Bubueanu C, Deaconu M, Neagu C, Sha'at, M, Anastasescu M, Mihailescu M, Matei C, Nechifor Gh, Berger D. Polyphenolic Extract from *Sambucus ebulus* L. Leaves Free and Loaded into Lipid Vesicles. Nanomaterials, 2020; 10 (56): 1-17.
16. Ebrahimzadeh M, Mahmoudi M, Saeed Nia S, Pourmarad F, Salimi A Investigating the analgesic and anti-inflammatory effect of hexane, ethyl acetate and methanolic extracts of different parts of aqti plant (*Sambucus ebulus*). J. Maz. Uni. Med. Sci, 2015; 54: 35-42. [In Persian]
17. Mazandarani M, Jamshidi M, Azad A. Investigation of secondary metabolites of *sambucus ebulus* L. in two natural regions of Mazandaran province, North of Iran. J. Plant Sci. Res 2011; 6 (1): 58-67. [In Persian]
18. Pourmorad F, Hosseini-mehr SJ, Shahabimajd N. Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. Afr. J. Biotechnol, 2006; 5: 1142-1145.
19. Meda A, Lamien CE, Romito M, Millogo J, Nacoulma OG. Determination of the total phenolic, flavonoid and pralin contents in Burkina Fasan honey, as well as their scavenging activity. Food Chem, 2005; 91: 571-577.
20. Chang C, Yang M, Wen H, Chern J. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. J. Food. Drug. Anal, 2002; 10: 178-182.
21. Mita S, Murano N, Akaike M, Nakamura K. Mutants of *Arabidopsis thaliana* with pleiotropic effects on the expression of the gene for beta-amylase and on the accumulation of anthocyanin that is inducible by sugars. Plant J, 1997;11: 841-851.
22. Chakraborty M, Mitra A. The antioxidant and antimicrobial properties of the methanolic extract from *Cocos nucifera* mesocarp. Food Chem, 2008;107: 994-999.
23. Sitiasma MJ, Al-jamal H, Yong-Ang CH, Matasan J, Seeni A, Johan MF. Apoptosis induction in MV4-11 and K562 human leukemic cells by *pereskia sacharosa* (Cactaceae) leaf crude extract. APJCP, 2014; 15 (1) 475-481.
24. Babakhani B, Houshani M, Motalebi Tala Tapeh S, Hosseini Boldaji SA, Shoja Shafiee M, Arman, M, Heidari Keshel S. The Evaluation of Antioxidant Activity and Cytotoxicity of Leaf, Orange Fruit, and Calyx Extract of *Physalis alkekengi* on Human Lung Cancer A549 Cell Line. Triple R, 2020; 5 (1): 11-28.
25. Hoshani M, Mianabadi M, Aghdasi M, Azim Mohseni M. An investigation of antioxidant activity of *Physalis alkekengi* methanolic extracts in different phenological stages. J. Plant Biol, 2012; 4(14): 101-114. [In Persian]

26. Motevasel M, Okhovat MA, Zomorodian K, Farshad Sh. Antibacterial effect of *Zataria multiflora* extract on MRSA. ISMJ, 2014; 17(1): 900-906.
27. Negi PS, Jayaprakasha, GK, Jena BS. Antioxidant and anti- mutagenic activities of pomegranate peel extracts. Food Chem, 2003; 80:393-397.
28. Duffy CF, Power RF. Antioxidant and antimicrobial properties of some Chinese plant extracts. Int. J. Antimicrob. Agents, 2001; 17: 527-529.
29. Cowan MM. 1999. Plant Products as Antimicrobial Agents. Clin. Microbio. Rev, 1999; 12: 564-582.
30. Wen A, Delaquis P, Stanich K, Toivonen P. Antilisterial activity of selected phenolic acids. Food Microbio, 2003; 56: 305-311.
31. Gins VK, Gins MS, Kononkov PF, Pivovarov VF, Kulikov IM, Antsiferov AV. Multi-purpose use of phytolacca with antioxidant activity. Biol. Agri. Horti, 2017; (2):47-51.
32. Davoodi R, Esmailzade Bahabadi S, Najafi Sh, Mazaheri Naeeni M. Effect of hydro alcoholic extract of *Citrullus colocynthis* Fruit on Caspase 3 gene expression in MCF-7 breast cancer cell line. J Shahid Sadoughi Univ Med Sci, 2015; 23(5): 508-518. [In Persian]
33. Kandaswami C, Lee LT, Lee PP, Hwang JJ, Ke FC, Huang YT, Lee MT. The antitumor activities of flavonoids. In vivo, 2005; 19: 895-909.
34. Suphachai Ch. Antioxidant and anticancer activities of *Moringa oleifera* leaves. J. Med. Plant Res, 2014; 8(7): 318-325.