

## بررسی اثر آنتیاکسیدانی و سیتو توکسیک عصاره اتانولی گیاه اسطوخودوس (Lavandula angustifolia) بر روی رده سلولی 8305C

صدیقه مهدی نژاد دوغیکلائی، محسن محمدی\*

گروه زیست شناسی سلولی و مولکولی، دانشکده علوم زیستی، واحد تکابین، دانشگاه آزاد اسلامی، تکابین، ایران

### چکیده

**سابقه و هدف:** سرطان تیروئید آنالپلاستیک از جمله خطرناک‌ترین نوع سرطان تیروئید است و از آنجایی که اغلب درمان‌های امروزی سرطان ناکارآمد و دارای عوارض جانبی زیادی هستند، لذا یافتن درمان مؤثر و جای‌گیرین ضروری به نظر می‌رسد. گیاه اسطوخودوس با نام علمی *Lavandula angustifolia* از تیره نعناعیان گیاهی چند ساله است که ارزش غذایی و دارویی بالایی دارد. لذا در پژوهش حاضر تأثیر سیتو توکسیکی عصاره اتانولی گیاه اسطوخودوس بر روی رده سلولی 8305C مورد بررسی قرار گرفت.

**مواد و روش‌ها:** در این مطالعه، برای اولین بار، اثر سیتو توکسیکی عصاره اتانولی اندام‌های هوایی گیاه اسطوخودوس بر روی رده سلولی 8305C مورد بررسی قرار گرفت. به طوری که گیاه اسطوخودوس در اردیبهشت ماه سال ۱۳۹۵ از منطقه سه هزار تکابین جمع آوری شد و جهت بررسی فعالیت آنتیاکسیدانی به روش DPPH<sup>0</sup> مورد ارزیابی قرار گرفت. رده سلولی 8305C در محیط DMEM با ۱۰ درصد سرم جنین گاوی کشت داده شد. غلظت‌های مختلف عصاره اتانولی گیاه اسطوخودوس (۵، ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰ و ۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) به مدت ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت بر روی سلول‌های سرطانی 8305C اثر داده شد. در ادامه توانایی حیات سلول‌ها با استفاده از روش MTT بررسی شد.

**یافته‌ها:** در بررسی حاضر، میزان مهار رادیکال آزاد DPPH<sup>0</sup> برابر با ۶/۲۷ میکروگرم بر میلی‌لیتر محاسبه گردید. نتایج حاصل از تست MTT، این پژوهش نشان داد که عصاره اتانولی گیاه اسطوخودوس اثر سایتو توکسیک وابسته به دوز بر روی رده سلولی 8305C دارد. IC<sub>50</sub> این عصاره برای سلول‌های 8305C غلظت ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در مدت ۴۸ ساعت به دست آمد.

**نتیجه‌گیری:** عصاره اتانولی گیاه اسطوخودوس به صورت وابسته به دوز قادر، به از بین بردن سلول‌های سرطانی بوده و خواص سایتو توکسیکی از خود نشان داد. بدین ترتیب این گیاه می‌تواند به عنوان یک گیاه دارویی بر علیه سرطان تیروئید آنالپلاستیک مورد پژوهش وسیع‌تری قرار گیرد.

**واژه‌های کلیدی:** سرطان، تیروئید آنالپلاستیک، عصاره اتانولی، DPPH، روش MTT

### مقدمه:

به طوری که دسترسی به دارویی با اثر بخشی بالا، سمتی کم، که به صورت اختصاصی بر سلول‌ها تأثیر گذاشته و ارزان باشد یکی از دغدغه‌های مهم جوامع دارویی دنیا و حوزه درمان است. در این زمینه درمان گیاهان دارویی می‌تواند یکی از پایه‌های اصلی کنترل و درمان سرطان باشد و به نظر می‌رسد معرفی داروهای مورد استفاده در طب سنتی بهویژه گیاهان دارویی سرآغاز مناسی برای تدوین پروژه‌های تحقیقاتی جهت دست‌یابی به داروهای نوین باشد. به هر حال سرطان یک مشکل مهم سلامتی در کشورهای در حال توسعه محسوب می‌شود و بیشتر درمان‌ها مناسب و کافی نیستند (۶).

سرطان دومین عامل مرگ‌ومیر بعداز بیماری‌های قلبی عروقی در بسیاری از جوامع از جمله ایران است (۱).

درمان سرطان‌های مرسوم باعث اثرهای جانبی جدی می‌شود

### نویسنده مسئول:

گروه زیست شناسی سلولی و مولکولی، دانشکده علوم زیستی، واحد تکابین، دانشگاه آزاد اسلامی، تکابین، ایران

پست الکترونیکی: dr\_mohsenmohamadi@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۶/۲۴

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۹/۷

برگ های گیاه اسطوخودوس در اردیبهشت ماه سال ۱۳۹۵ از منطقه سدهزار شهرستان تنکابن واقع در شمال غرب مازندران جمع آوری شدند.

در نهایت نمونه ها به دور از نور مستقیم خورشید نگه داشته شده و در سایه خشک گردیدند و توسط دستگاه آسیاب، پودر آن تهیه گشت.

جهت تهیه عصاره اتانولی ۳۰ گرم از پودر خشک شده گیاه اسطوخودوس در کاغذ واتمن به صورت ساندویچ قرار داده شد و به منظور حذف رنگ و چربی در دستگاه سوکسله به همراه ۵۰۰ میلی لیتر N-هگزان قرار داده شد و در دمای ۷۰ درجه سانتی گراد و به مدت ۱۰ الی ۱۲ ساعت روی دستگاه هیتر گذاشته شد تا پودر داخل کاغذ واتمن بی رنگ و N-هگزان رنگی شود سپس پودر به ارلن حاوی ۳۰۰ میلی لیتر اتانول ۵٪ اضافه شد و سپس ۱۵ دقیقه مخلوط با حرارت ملاتیم جوشانده و با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره یک، فیلتر شد و در نهایت به وسیله دستگاه روتاری مورد تغليظ قرار گرفت.

**DPPH<sup>0</sup>** ب: اندازه گیری فعالیت آنتی اکسیدانی به روش<sup>۰</sup> DPPH<sup>0</sup> فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره ها، از طریق اندازه گیری ظرفیت مهار رادیکالی DPPH<sup>0</sup> مورد بررسی قرار گرفت (۱۶). بدین منظور، ۱ میلی لیتر محلول ۰/۱ میلی مولار DPPH<sup>0</sup> به ۱ میلی لیتر از عصاره اضافه شد و مخلوط حاصل به خوبی تکان داده شد سپس به مدت ۳۰ دقیقه در محیط تاریک قرار گردید. جذب مخلوط توسط دستگاه اسپکترو فوتومتر در ۵۱۷ نانومتر با بلانک متابول قرائت گردید. اسکوربیک اسید به عنوان استاندار استفاده شد و در نهایت، مقدار به دام اندازی رادیکال DPPH<sup>0</sup> با فرمول زیر محاسبه شد.

$$\text{درصد مهار رادیکال آزاد} = \frac{(A_0 - A_s)}{A_0} \times 100$$

A<sub>0</sub> = جذب شاهد

A<sub>s</sub> = جذب عصاره مورد آزمایش

### پ: نگهداری و کشت سلولی

رده سلولی 8305C به صورت فلاسک کشت از انستیتو پاستور ایران با مشخصات موجود در جدول ۱ خردباری گردید و در محیط کشت DMEM با ۱۰ درصد سرم جنین گاوی و ۱ درصد آنتی بیوتیک پنی سیلین/ استرپتومایسین (جهت جلوگیری از رشد قارچ) نگهداری و پاساز داده شد. شرایط لازم برای رشد سلول ها دمای ۳۷ درجه سانتی گراد، میزان CO<sub>2</sub> ۰/۹۵٪ همراه با ۰/۹۵٪ رطوبت است که این شرایط به وسیله انکوباتور (EC160 مدل NÜVE) تأمین شد. برای

سرطان تیروئید آناپلاستیک یکی از بد خیم ترین و کشنده ترین تومورهای جامد شناخته شده در انسان است (۵).

تومورهای آناپلاستیک دارای رشد سریعی بوده و به سرعت بافت اطراف گلورا در گیر می کنند و پاسخ به درمان ضعیفی دارند. پیش آگاهی در<sup>۱</sup> ATC از زمان تشخیص ۴ تا ۱۲ ماه است (۱۷، ۱۸).

سرطان تیروئید آناپلاستیک ۶/۱٪ سرطان های تیروئید را شامل می شود (۱۱، ۱۰).

درمان کارسینوم آناپلاستیک به طور کلی موقتی است و به ندرت قابل درمان و کم و بیش همیشه کشنده است. مرگ به دلیل انسداد راه هوایی فوقانی و اختناق تنفسی در نیمی از بیماران صورت می گیرد. جراحی به تنها یک درمان مناسب برای بیماری نیست و باید با شیمی درمانی و پر توردرمانی همراه باشد (۱۱). با این حال عود بیماری و تهاجم گسترده به بافت های اطراف، رایج ترین مشکل در مورد ATC است. بنابراین بررسی داروهای جدید اجتناب ناپذیر است.

نام علمی اسطوخودوس Lavandula angustifolia است و نام رسمی تر آن Lavandula Oficinalis است. اسطوخودوس گیاهی چند ساله و همیشه سبز از تیره نعناعیان است. نام انگلیسی این گیاه Lavander است (۱۳). این گیاه بومی اروپا است و چون در ایران به صورت خودرو رشد نمی کند؛ تهیه و تولید آن تنها از طریق کشت امکان پذیر است. بنابراین در تمام پهنه کشورمان به صورت کشت شده یافت می شود. این گیاه دارای ۳۹ گونه است که رایج ترین آن Lavandula angustifolia است (۹، ۱۳).

مردم در گذشته از اندام هوایی و گل اسطوخودوس استفاده های دارویی متعددی می کردند. آن ها معتقد بودند که استفاده از آن سبب معالجه افراد فلچ و به کار افتادن مجدد دست و پای این افراد می شود. همچنین برای درمان بعضی از بیماری های مغزی از جمله سردرد و درمان بیماری های معده از این گیاه استفاده می کردند (۳).

به منظور بررسی اثر توکسیسیتی عصاره اتانولی گیاه اسطوخودوس بر مهار تکثیر رده سلولی 8305C از آزمون MTT استفاده شد.

### مواد و روش ها:

الف: جمع آوری گیاه و عصاره گیری

<sup>۱</sup> Anaplastic Thyroid Cancer

اختلاف آماری میان تیمارها توسط آزمون تی بررسی گردید و  $P < 0.05$  به عنوان معنی دار در نظر گرفته شد.

### یافته ها:

سنجدش فعالیت آنتی اکسیدانی به روش DPPH<sup>0</sup> مقدار IC<sub>50</sub> سنجدش مهار رادیکال آزاد (DPPH) عصاره اتانولی گیاه اسطوخودوس ۶/۲۷ میکروگرم بر میلی لیتر ارزیابی شد که در جدول ۲ ارائه شده است.

جدول ۲: نتایج آزمون DPPH<sup>0</sup> عصاره اتانولی گیاه اسطوخودوس جمع آوری شده از ارتفاعات سه هزار در شهرستان تنکابن

DPPH <sup>0</sup>	$6/27 \pm 0/07$
اسید آسکوربیک	$6/0 \pm 1/6/07$

نتایج سمیت سلولی عصاره اتانولی گیاه اسطوخودوس بر روی رده سلولی سرطانی 8305C توسط روش MTT میزان درصد زنده بودن سلول های 8305C با غلظت های مختلف عصاره اتانولی گیاه اسطوخودوس در جدول ۳ نشان داده شده است. نتایج به صورت میانگین ۹ بار تکرار آزمایش است.

جدول ۳: میانگین کل درصد سلول های زنده در غلظت ها و زمان های مختلف عصاره اتانولی گیاه اسطوخودوس بر روی رده سلولی 8305C

میانگین توان زیستی			میزان غلظت (میلی گرم بر میلی لیتر)
ساعت ۷۲	ساعت ۴۸	ساعت ۲۴	
۱۰۰ ± ۰	۱۰۰ ± ۰	۱۰۰ ± ۰	کنترل
۹۶/۰۲ ± ۰	۹۳/۰۵ ± ۰	۹۰/۰۱ ± ۰	سلول + محلول
۳۳/۶۵ ± ۰/۰۳	۵۰/۶۳ ± ۰/۰۰۳	۶۰/۱۳ ± ۰/۰۶	غلظت ۵
۲۱/۴۶ ± ۰/۰۷	۴۱/۶۷ ± ۰/۰۰۱	۵۸/۱۳ ± ۰/۰۳	غلظت ۱۰
۱۷/۵۳ ± ۰/۰۱۲	۳۱/۵۷ ± ۰/۰۵	۵۳/۲۷ ± ۰/۰۴	غلظت ۲۰
۱۰/۵۴ ± ۰/۰۶	۱۷/۹۱ ± ۰/۰۱	۴۸/۶۵ ± ۰/۱۳	غلظت ۳۰
۵/۲۵ ± ۰/۲	۹/۵۷ ± ۰/۰۱۹	۳۳/۵۹ ± ۰/۱۲	غلظت ۴۰
۳/۵۹ ± ۰/۰۵	۷/۵ ± ۰/۱	۱۷/۵۶ ± ۰/۹	غلظت ۵۰

\* مقادیر به صورت میانگین ± انحراف از معیار بوده و تفاوت میانگین ها در سطح  $P < 0.05$  معنی دار در نظر گرفته شده است.

نتایج سمیت سلولی غلظت ها و زمان های مختلف عصاره اتانولی گیاه اسطوخودوس بر روی رده سلولی 8305C در جدول ۳ نشان داد که ۵۰ درصد از سلول ها (شکل ۲) در غلظت ۵ میلی گرم بر میلی لیتر در مدت زمان ۴۸ ساعت نسبت به کنترل (شکل ۱) از بین رفته اند. از این رو می توان نتیجه گرفت که IC<sub>50</sub> عصاره اتانولی گیاه اسطوخودوس برای رده سلولی 8305C غلظت ۵ میلی گرم بر میلی لیتر در مدت زمان ۴۸ ساعت است.

انجام تست MTT، زمانی که سلول ها حداقل به ۷۰ درصد رشد سلولی رسیدند توسط تریپسین - اتیل دی آمین تراسیتیک اسید<sup>۱</sup> از ته فلاسک جدا شده و در دور rpm ۱۷۰۰ به مدت ۶ دقیقه سانتریفیوژ شدند. رسوب سلولی در یک سی سی محیط کشت به حالت سوسپانسیون تهیه شد و درصد زنده بودن سلول ها در سوسپانسیون سلولی با مخلوط کردن آن با نسبت مساوی از تریپان بلو، و شمارش آن ها توسط لامئوبار در زیر میکروسکوپ نوری تعیین شد.

پس از اطمینان، از عدم آلودگی سلول ها، برای انجام تست از سلول های با درصد زنده بودن بالای ۹۰ درصد استفاده شد.

جدول ۱: مشخصات رده سلولی 8305C

نام رده سلولی	منشاء	محیط کشت
۸۳۰۵C	تیروئید	DMEM

### ت: بررسی اثر سیتو توکسیک عصاره اتانولی گیاه اسطوخودوس:

به منظور بررسی اثر عصاره اتانولی گیاه اسطوخودوس بر تکثیر سلول های سرطانی 8305C از روش رنگ سنجی نمک ترازو ایلیوم (MTT) استفاده شد.

برای این تست تعداد  $10^4$  سلول به هر چاهک پلیت ۹۶ خانه ای اضافه گردید. پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون غلظت های ۵، ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰ و ۵۰ میلی گرم بر میلی لیتر به مدت ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت بر روی سلول های سرطانی 8305C تیمار شد. پس از طی زمان های مذکور ۱۰ میکرو لیتر محلول MTT و ۱۰۰ میکرو لیتر محیط کشت پایه به هر چاهک اضافه شد. پلیت به مدت ۴ ساعت در تاریکی درون انکوباتور  $\text{CO}_2$  با دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قرار داده شد. بعد از گذشت این زمان به هر چاهک ۱۰۰ میکرو لیتر DMSO اضافه شد و برای خواندن با جذب نوری ۴۹۲ و ۶۳۰ نانومتر در دستگاه الیزا ریدر (DANA) مدل DA3200 قرار داده شد. درصد زنده بودن سلول ها با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید:

$$\frac{\text{OD}_{\text{آن}}}{\text{OD}_{\text{کنترل}}} \times 100 = \text{توانایی زیستی سلول ها}$$

برای مقایسه نتایج علاوه بر فرمول اشاره شده در بالا که به صورت میانگین ۹ بار تکرار آزمایش ها محاسبه گردید. نتایج با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۲ تجزیه و تحلیل شد و

<sup>۱</sup> Trypsin-EDTA(1X)

سیوکالتیو،<sup>۱</sup> TEAC<sup>۲</sup> آزمایش رادیکال زایی DPPH<sup>۳</sup> هستند. آزمایش سنجش رادیکال زایی DPPH، روش حساس و مستقل از قطبیت سوبستر است (۲۱).

این گیاه در فرآورده های آرایشی و بهداشتی به عنوان معطر کننده استفاده می شود و گل، بخش دارویی گیاه را تشکیل می دهد. گیاه شامل منو ترپین ها است که مهم ترین مواد مشکله آن شامل لینالیل استات، لینالول، بتا اوسمنین، سینئول، تانن، مشتقات رزمارینیک اسید، کومارین و فلاونوئید است (۴,۷).

گزارش های به دست آمده از نتایج تحقیق های انجام شده حاکی از آن است که گیاه اسطوخودوس دارای خواص بالینی بی شماری از جمله خواص ضدقارچی، ضدالتهابی، ضد میکروبی، آرام بخشی و کاهش درد است (۲).

تاکنون مطالعه ای در مورد بررسی خواص سلطانی عصاره اتانولی برگ گیاه اسطوخودوس بر روی رده سلولی C8305 صورت نگرفته است، لذا مطالعه حاضر اولین مطالعه در این زمینه است و نتایج به دست آمده با نتایج دیگری قابل مقایسه نیستند، اما مطالعه های دیگری در این خانواده انجام شده است از جمله مطالعه وکیلی و همکاران نشان داد روغن لا واندولا دارای خاصیت ضدایسکمی، آنتی اکسیدانی و ضداسترس اکسیدانتیو است (۱۹).

در مطالعه های فریرا و همکارانش (۸) و همچنین پری و همکارانش (۱۴) گیاه اسطوخودوس دارای اثر آنتی اکسیدانی قدر تمندی بود.

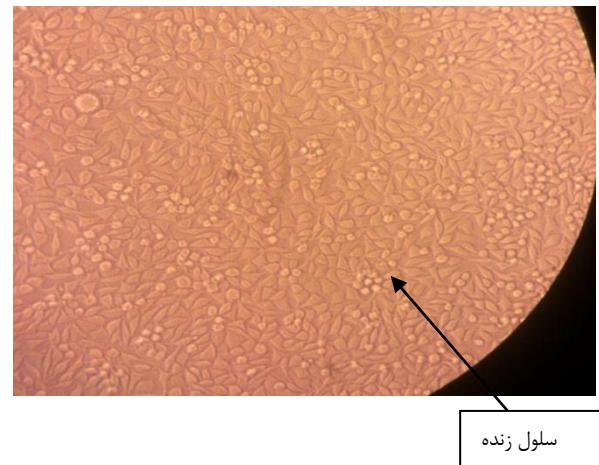
بر اساس مطالعه های انجام شده اخیر غلظت ۲۰۰ میکرو گرم در میلی لیتر عصاره آبی این گیاه اثرهای چشم گیری بر کاهش عوارض ناشی از آزادیم و به خصوص ترمیم حافظه دارد و می توان از آن به عنوان فاکتوری در جهت تقویت سیستم عصبی استفاده کرد. سایر تحقیق ها نشان داده که غلظت های پایین تر از ۲۰۰ میکرو گرم در میلی لیتر عصاره آبی این گیاه می تواند خواص مهار رشد بر سلول های سلطانی نظر سلطان معده، روده و هاچکین داشته باشد (۲).

### نتیجه گیری:

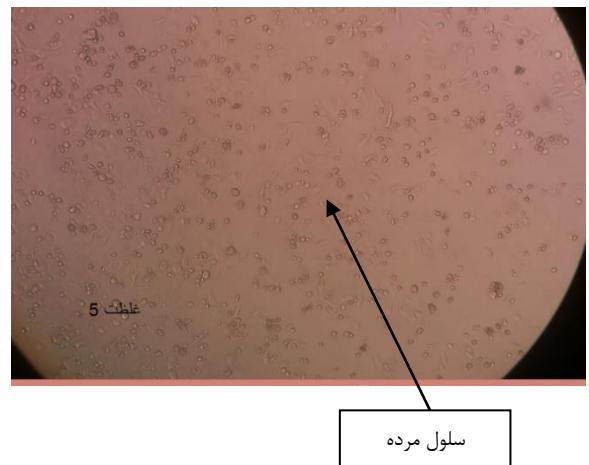
در پژوهش حاضر نشان داده شد که عصاره اتانولی گیاه اسطوخودوس برداشت شده از ارتفاعات سه هزار تنکابن در غلظت ۵ میلی گرم بر میلی لیتر و در مدت زمان ۴۸ ساعت

<sup>۱</sup> Trolox Equivalent Antioxidant Capacity

<sup>۲</sup> DPPH radical-scavenging assay



شکل ۱: تصویر میکروسکوپی از سلول های کنترل بعد از گذشت ۴۸ ساعت



شکل ۲: تصویر میکروسکوپی از سلول های تحت تاثیر با عصاره اتانولی اسطوخودوس بعد از گذشت ۴۸ ساعت

### بحث:

در سال های اخیر استفاده از محصول های گیاهی با توجه به محتویات متابولیت های متنوع گیاهی و ساختارهای شیمیایی مختلف و فعالیت های بیولوژیکی، در درمان بیماری ها رو به افزایش است. همچنین نگرانی در مورد ایمنی ترکیب های آنتی اکسیدان مصنوعی باعث شده تا محققان به اکتشاف ترکیب های گیاهان آلی و آروماتیک معمولا در آنتی اکسیدانی از منابع طبیعی پردازنند (۱۵).

اثرهای آنتی اکسیدانی با توجه به مشاهده های مهار اکسیداسیون از یک سوبسترای مناسب، اندازه گیری می شود. طیف گستردگی از روش ها در شرایط آزمایشگاهی برای ارزیابی توانایی مهار رادیکال آزاد، می توانند مورد استفاده قرار گیرند (۲۰).

روش های در برگیرنده واکنش انتقال الکترون شامل سنجش فنل کل با استفاده از واکنش گر فولین

باعث مرگ ۵۰ درصد از سلول های رده سلولی 8305C می- گردد. بنابراین می توان نتیجه گیری کرد که عصاره اتانولی گیاه اسطوخودوس ممکن است اثر قابل توجهی در درمان سلطان تیروئید آنالاستیک داشته باشد. برای چنین نتیجه گیری انجام آزمایش های تکمیلی به صورت برون تن<sup>۱</sup> و درون تن<sup>۲</sup> مورد نیاز هستند.

## سپاسگزاری

این مقاله برگرفته از پایان نامه کارشناسی ارشد مصوب دانشگاه آزاد اسلامی تنکابن است. لذا از مسئولین دانشگاه آزاد اسلامی تنکابن تشکر و قدردانی می گردد.

---

<sup>1</sup> In Vitro  
<sup>2</sup> In vivo

## منابع

1. Azizzadeh.phD, Farzan A.R, M.D The prophylactic capacity of nepeta Menthoïds(Ostokhodus)in prevention of spinal motoneuron Injury. -journad of kerman university of medical sciences.2012;20(3):20-30
2. Agarwal C, Singh RP, Dhanalakshimi S, Tyagi AK, Tecklenburge M, Sclafani RA, Agarwal R. Silibinin upregulates the expression of cyclin-dependent kinase inhibitors and causes cell cycle arrest and apoptosis in human colon carcinoma HT-29 cells. *Oncogene*, 2003; 22: 8271-8282.
3. Amin A, Gali-Muhtasib H, Ocker M, Schneider-Stock R. Overview of Major Classes of Plant-Derived Anticancer Drugs. *IJBS*, 2009; 5(1): 1-11.
4. Dalilan S ,Heidari kashl ,Zamanian Azodi,Omidi,Roeintan ,Hoseini ,The Evaluation of Lavender Aqueous Extract on Human Fibroblast Cells. *Scientific Journal of Ilam University of Medical Sciences* ,2013;21(1):143-149
5. Denner SS. *Lavandula angustifolia* Miller. *Holist Nurs Pract*, 2009; 23(1): 57-64.
6. Ferreira A, Proença C, Serralheiro ML, Araújo ME. The in vitro screening for acetylcholinesterase inhibition and antioxidant activity of medicinal plants from Portugal. *J Ethnopharmacol*, 2006; 108(1):31-7.
7. Ghelardini C, Galeotti N, Salvatore G, Mazzanti G. Local anaesthetic activity of the essential oil of *Lavandula angustifolia*. *Planta Med*, 1999; 65(8):700-3.
8. Hadipour A, changes in essential oil content/composition and shoot aerial yield of lavender(*lavanula officinalis* L.)Affected by different Treatments of N1itrogen. *JMP*.2013;2(46);156-9
9. Hajian k FA,Kia MT.Pattern of age distribution of different cancers in babol in2001 Research in Medicine.2003;27(3):293-245
10. Kebebew E, Clark OH, Greenspan FS, Woeber KA, McMillan A. Anaplastic thyroid carcinoma. Treatment
11. Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Mitchell R, Robbins basic pathology 8th edition, 2007.
12. Landis SH, Murray T, Bolden S, Wing PA. Cancer statistics. *Cancer J Clin*, 1998; 48: 6-29.
13. Palá-Paúl J, Brophy JJ, Goldsack RJ, Fontaniella B. Analysis of the volatile components of *Lavandula canariensis* (L.) Mill., a Canary Islands endemic species, growing in Australia. *Biochemical Systematics and Ecology*, 2004; 32(1): 55-62.
14. Perry NS, Bollen C, Perry EK, Ballard C. *Salvia* for dementiatherapy: review of
15. pharmacological activity and pilot tolerabilityclinical trial. *Pharmacol Biochem Behav*, 2003; 75(3): 651-659.
16. Sharma M, Govind P. Ethnomedicinal plants for prevention and treatment of tumors. *IJGP*, 2009; 2- 5.
17. Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventos RM. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods Enzymol*, 1999; 299: 152-178.
18. Spires JR, Schwartz MR, Miller RH. Anaplastic thyroid carcinoma: association with differentiated thyroid cancer. *Arch Otolaryngol*, 1988; 114: 40-44.
19. Tallroth E, Wallin G, Lundell G, Lowhangen T, Einhorn J. Multimodality
20. treatment in anaplastic giant cell thyroid carcinoma. *Cancer*, 1987; 60: 1428-1431.
21. Vakili A, Sharifat S, Akhavan MM, Bandegi AR. Effect of lavender oil (*Lavandula angustifolia*) on cerebral edema and its possible mechanisms in an experimental model of stroke. *Brain Res*, 2014; 1548:56-62.
22. Villa˜no D, Pach’on M, Moy’ a M, Troncoso A, Parrilla M. Radical scavenging ability of polyphenolic compounds towards DPPH free radical. *Talanta*, 2007; 71: 230-235.

- 23.Yaghoobi k,kaka GR.Davoodi sh,Ashayaeri H.Therapeutic effectsof *Lavandula angustifolia*.Journal of Gorgan university of Medical Sciences2016;17:28-30
24. Yamaguchi T, Takamura H, Matoba T, Terao J. HPLC method for evaluation of the free radical-scavenging activity of foods by using 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl. Biosci Biotechnol Biochem, 1998; 62(6): 1201-4

