New Cell Mol Biotech
j.10/38 , 2020

Research article

Scan online to view this article

Cytotoxicity of methanol extracts of *Ziziphora tenuior.L* on Hela cell line by MTT assay

Elahe Nasiri Tarzejani, Sima Nasri*

Department of biology, Payame noor University, Tehran, Iran

Abstract

Aim and Background: Cancer in recent centuries is one of the main causes of mortality in human societies. So far, many studies have been conducted to treat this fatal disease, but innovative methods have not yet succeeded in achieving the desired outcome for the treatment of this disease. Herbal remedies, due to their greater compatibility with their natural constituents, have fewer side effects with the body, while in many cases they also have more curative power. *Ziziphora tenuior* is a well-known compound with important therapeutic effects, such as Pulegone, limonene, thymol, and alpha-pinene. The present study was conducted to investigate the therapeutic effects of methanolic extract of *Ziziphora tenuior* leaves on cancer.

Materials and Methods: The method of experimentation was to determine the effect of methanolic extract of this plant on the hela cell line as a representative of cancer cells and cell line hek as a representative of normal and healthy cells using the MTT test. The doses used were 0.1, 1, 10, 50, 100, 150, 200, 1000 µg / ml and at 24, 48 and 72 hours of cell culture were performed with MTT assay. For the positive control group, Colchicine (0.5 µg / ml) was used.

Results: Dose of 100 µg / ml in 48 hours didn't have significant effect on hek cells but had meaningful effect on hela cells ($P< 0.001$).

Conclusion: According to the results of previous studies and the present research, it is believed that the *Ziziphora tenuior* has beneficial effects in the treatment of cancer.

Key words: *Ziziphora tenuior*, Hela cell, Hek cell, MTT, Cancer

Corresponding author:
Department of biology, Payame noor University, Tehran, Iran
Email: nasri1@pnu.ac.ir

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-06-19]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1399.10.38.4.9]

مجله تازه های بیوتکنولوژی سلولی مولکولی
دوره ۱۰ - شماره -۳۸ بهار ۱۳۹۹
مقاله پژوهشی

برای مشاهده این مقاله به صورت آنلاین اسکن کنید

بررسی اثر عصاره متانولی برگ گیاه کاکوتی‌کوهی (*Ziziphora tenuior*) بر سلول‌های هلا با استفاده از تست MTT

الهه نصیری طرزجانی، سیما نصری*

گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران.

چکیده

سابقه و هدف: بیماری سرطان در قرون اخیر از جمله علل اصلی مرگ و میر در جوامع بشری است. تاکنون تحقیقات و پژوهش های زیادی برای درمان این بیماری مهلک صورت گرفته است اما روش‌های ابداعی هنوز نتوانسته‌اند به نتیجه مطلوب برای درمان این بیماری برسند. داروهای گیاهی با توجه‌به سازگاری بیش‌تر ترکیب‌های طبیعی آن‌ها با بدن موجودات زنده دارای عوارض جانبی کم هستند. پژوهش حاضر برای بررسی اثرهای درمانی عصاره متانولی برگ‌های گیاه کاکوتی‌کوهی (*Ziziphora tenuior*) بر بیمار سرطان صورت گرفت.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش، اثرسنجی عصاره متانولی برگ‌های این گیاه بر رده سلولی هلا به‌عنوان نماینده سلول‌ها سرطانی و رده سلولی هک به‌عنوان نماینده سلول‌های نرمال و سالم با استفاده از تست MTT انجام شد. دوزهای به‌کار گرفته شده نیز ۰/۱ µg/ml، ۱، ۱۰، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰، ۱۰۰۰ بودند و در زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعته از کشت سلول تست MTT انجام ش برای گروه کنترل مثبت نیز داروی کلشی‌سین با دوز ۰/۵ µg/ml مورد استفاده قرارگرفت.

یافته‌ها: دوز ۱۰۰ µg/ml از عصاره در زمان ۴۸ ساعت در سطح معنی‌داری P< ۰/۰۰۱ دارای کم‌ترین میزان تأثیر منفی بر زند مانی سلول‌های‌هک و بیش‌ترین اثر بر درصد مرگ و میر سلول‌های هلا به‌عنوان بهترین و مؤثرترین دوز بود.

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج پژوهش‌هایی که در گذشته صورت گرفته و تحقیق حاضر، گمان می‌رود که گیاه کاکوتی دارا اثرهای درمانی مثبتی در درمان بیماری سرطان باشد.

واژه‌های کلیدی: کاکوتی‌کوهی، سلول هلا، سلول هک، MTT ، سرطان.

مقدمه

بیماری سرطان از جمله کشنده‌ترین عوامل مرگ و میر در انسان است. متأسفانه علی‌رغم پیشرفت بشر در زمینه‌های گوناگون رشد و آسیب این بیماری روز بروز در حال افزایش است که بخش عمده‌ای از آن به‌جهت تغییر سبک زندگی انسان است (۱). در روش‌های درمانی به‌کار رفته برای این بیماری مانند شیمی‌درمانی از عمده‌ترین مشکلات، عوارض جانبی زیاد و ناکارآمدی این درمان ها است. در دهه‌های اخیر بشر با رویکرد دوباره به طبیعت و استفاده از داروهای گیاهی سعی در درمان بسیاری از بیماری‌ها من‌جمله سرطان

نویسنده مسئول:
گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران
پست الکترونیکی: nasri1@pnu.ac.ir
تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۴/۲۳
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۹/۱۶

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-06-19]
[DOR: 20.1001.1.22285458.1399.10.38.4.9]

با عوارض جانبی کم‌تر نموده است (۲). گیاه کاکوتی در سفره غذایی مردم ایران به‌عنوان چاشنی و طعم دهنده مورد استفاده قرار می‌گیرد اما با توجه‌به ترکیب‌های موجود در آن از دیرباز در طب سنتی کاربرد و اهمیت ویژه‌ای در تسکین و درمان دردهای مختلف بیماری‌ها داشته است (۱). گیاه کاکوتی‌کوهی در خانواده نعناعیان قرار داشته و اعضا این خانواده به‌عنوان آرام‌بخش، مسکن، درمان اختلال‌های قلبی و ترمیم زخم‌ها به‌کار می‌روند (۱). با توجه‌به وجود مواد آنتی‌اکسیدانی فراوان در این گیاه و ترکیب‌های شیمیایی آلی چون ترپن‌ها، سزکوپی‌ترپن‌ها کاربرد این گیاه در صنایع غذایی و پزشکی مورد توجه خاص قرار گرفته است(۳). از دیگر ترکیب‌های فیتوشیمیایی مربوط به جنس کاکوتی ترکیبی ضدسرطانی به‌نام دیازل‌هپتانوئید است. در پژوهش-هایی که در سالیان اخیر صورت گرفته اثرهای ضدسرطانی این ترکیب مشاهده شده است که مکانیسم اثر آن از طریق تأثیر در مسیرهای پیام‌رسانی مختلفی از قبیل آپوپتوزیس، سیکل تکثیر سلولی، زنده‌مانی سلول‌ها و متاستازیس است (۴). کاکوتی دارای مواد مؤثره‌ای هم‌چون سینئول، پیپریتون، منتون، پولگون، ایزومنتول و کورکومین است. پولگون با فرمول شیمیایی $C_{10}H_{16}O$ که کتونی مونوترپن است و از ترکیب‌های عمده در این گیاه است (۵). در طب سنتی دم کرده سرشاخه‌های گل دار این گیاه به‌عنوان مقوی معده و رفع نفخ به‌کار برده می‌شود. هم‌چنین در درمان و بهبود ناراحتی‌های قاعدگی به‌کار برده می‌شود (۶). تأثیر آن بر ناراحتی‌های تنفسی مشهود است و به‌عنوان خلط‌آور مصرف می‌شود (۷). در بلوچستان برای کاهش تب و قطع اسهال، ناراحتی‌های گوارشی مانند عفونت روده به‌کار می‌رود (۸). در پژوهش صورت گرفته توسط Mohammadi و همکاران اثر فراکشن‌های گوناگون این گیاه بر التهاب و درد بررسی و ثابت شد. در این تحقیق مشخص شد که قدرت مهاری عصاره کلروفرمی و متانولی آن دارای بالاترین اثر ضد دردی است (۹). هم‌چنین اثر ضدمیکروبی بالای عصاره اتانولی آن بر باکتری‌هایی مانند Escherichia coli ثابت شده است (۱۰). به‌علاوه در سال ۲۰۱۳ اثر عصاره این گیاه بر سرطان معده و تأثیر منفی آن بر دودمان سلول‌های مربوطه مشاهده شد (۱۱). در این پژوهش با توجه‌به مواد مؤثره مهمی هم‌چون پولگون در عصاره کاکوتی اثر آن بر سلول‌های سرطانی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش ها

برای عصاره‌گیری از گیاه کاکوتی‌کوهی برگ‌های این گیاه که از مناطق واقع در استان خراسان رضوی کشور گردآوری شده بود استفاده گشت. پس از خشک کردن آن در شرایط استاندارد، دور از نور خورشید و رطوبت و آلودگی با کد هرباریومی kakuti1315 در دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن شناسایی شد. برای عصاره‌گیری پس از آسیاب آن، از روش ماسراسیون استفاده شد. در این روش گیاه آسیاب شده در محلول متانولی ۷۰٪ به‌مدت ۴۸ ساعت خیسانده شد و در نهایت محلول به‌دست آمده به دستگاه تقطیر در خلاء منتقل شد، تغلیظ و به آرامی خشک شد (۱۲). سپس رطوبت نسبی عصاره اندازه‌گیری گردید. میزان رطوبت نسبی ۳۵/۱۷ بود. جهت آماده‌سازی عصاره موردنظر برای تیمار سلول‌ها در ۱ ml آب مقطر، ۱ mg عصاره گیاه کاکوتی-کوهی حل شد تا محلول اولیه تهیه شود. سپس برای تهیه غلظت‌های مختلف برای افزودن به محیط کشت، محلول ذکر شده با نسبت‌های مختلف رقیق گشت تا با افزودن حجم مناسب‌به هر چاهک میزان عصاره موردنظر انتقال یابد (۲،۱۳). در این پژوهش از لاین سلول‌های سرطانی هلا (C115) و سالم هک (C10139) تهیه شده از انستیتو پاستور تهران مورد استفاده قرار گرفت. سپس پاساژ سلول-های فوق صورت گرفت. محیط کشت به‌کار رفته برای لاین-های سلولی فوق DMEM بود (۱۴). برای آماده‌سازی محیط کشت ابتدا آب مقطر دیونیزه را پیش‌تر استریل و سرد نموده به میزان سه چهارم حجم نهایی که مورد نیاز است در بطری ریخته، پودر محیط کشت که پیش‌تر وزن کشی شده به آرامی به بطری اضافه کرده و تا حل شدن کامل آن باید صبر کرد. پس از آن پودر بی‌کربنات $NaHCO_3$ به آن شد. مقدار آن نیز متناسب با مقادیر دستورالعمل شرکت سازنده است. با توجه‌به آن‌که pH = ۷ برای محیط کشت سلول ایده‌آل است اما به جهت آن‌که FBS با خاصیت اسیدی به محیط افزوده خواهد شد pH محیط را کمی قلیایی و بین ۷/۲ و ۷/۴ تنظیم گردید. برای

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-06-19]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1399.10.38.4.9]

این‌کار از دستگاه pHمتر و محلول یک مولار NAOH و HCL که پیش‌تر استریل شده‌اند بهره برده شد. در مرحله بعدی به محلول آنتی‌بیوتیک افزوده شد و حجم آن تا ۹۰٪ مقدار نهایی که مدنظر است رسانیده شد. چون در نهایت موادی مانند سرم به محلول فوق‌الذکر اضافه خواهند شد حجم محلول در این مرحله کم‌تر از میزان نهایی در نظر گرفته می‌شود. سرم جنین گاوی استریل، پس از فیلتراسیون به محیط کشت اضافه می‌شود. سپس محلول با کمک سرنگ و فیلتر سرسرنگی ۰/۲۲ میکرومتر فیلتراسیون شد. این عمل در زیر هود لامینار انجام شد. در پایان معادل حجم باقی‌مانده به آن سرم جنین گاوی اضافه می‌شود تا حجم پایانی موردنظر به‌دست آید. برای نگهداری محیط کشت آن-ها در ظروف شیشه‌ای با درب‌های پیچی که پیش‌تر استریل و اتوکلاو شده‌اند در یخچال ۴ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد (۱۵). برای پاساژ سلولی پس از بررسی سلول‌های داخل فلاسک از لحاظ عدم آلودگی و تراکم تقریبی سه تا چهار میلیون سلول در هر ویال، محیط کشت داخل فلاسک به ظرف ضایعات زیر هود لامینار منتقل کرده، فلاسک با تریپسین شستشو شد تا در مرحله بعد تریپسین بهتر عمل نماید. برای آزادسازی سلول‌ها محلول ۰/۲۵٪ تریپسین/EDTA را که در بافر PBS حل شده است به‌ازای هر cm^2 ۰/۲۵ یک ml به فلاسک اضافه شد. با تکان‌های منظم و افقی فلاسک امکان ترکیب محلول با تمام سلول ها فراهم گردید. پس از ۳-۵ دقیقه انکوبه کردن فلاسک در دمای 37^o c و اثر آنزیم روی سلول ها عمل ضربه زدن به آهستگی انجام داده شد. در این مرحله سلول‌ها مجزا و گرد دیده می‌شوند. در مرحله بعد به سوسپانسیون داخل فلاسک در حدود ml ۲-۵ محیط کشت حاوی سرم افزوده تا آنزیم تریپسین به‌وسیله پروتئین‌های موجود در سرم غیرفعال شود. محلول سانتریفیوژ شده و محلول رویی دور ریخته کمی محیط کشت افزوده، با پیپتاژ سوسپانسیون یکنواخت شود. با در نظر گرفتن غلظت تقریبی ۳ تا ۴ میلیون سلول برای هر ویال سوسپانسیون به سه بخش مساوی تقسیم و به سه فلاسک منتقل شد و با افزودن محیط کشت حاوی سرم حجم نهایی به ml ۵ رسانده شد. فلاسک‌ها به دمای 37^o c، Co_2 ۵٪ و رطوبت ۹۵٪ منتقل شد تا پاساژ یک به سه صورت پذیرد (۱۶). برای تمامی فعالیت‌های آزمایشگاهی مربوط به کشت سلول در آزمایشگاه از قبیل انجماد، پاساژ و تست MTT شمارش سلول‌ها ضروری است. در این پژوهش از روش لام های هموسیتومتر استفاده شد (۱۷). روش MTT شیوه ای مبتنی بر اسپکتروفتومتری است که برای تشخیص زنده بودن سلول‌ها به‌کار می‌رود. سنجش MTT بر پایه احیا و شکسته شدن کریستال‌های زرد رنگ تترازولیوم به‌وسیله آنزیم سوکسینات دهیدروژناز است که منجر به کریستال‌های آبی نامحلول می‌شود (۱۸). جهت دریافت بهترین نتیجه نمونه‌برداری باید در مرحله لگاریتمی کشت سلولی انجام شود. در پایان این تست جذب نوری در طول موج nm ۴۰۰-۶۳۰ را با دستگاه الایزا ریدر قرائت کرده و میزان جذب نوری به‌صورت کمی اندازه‌گیری می‌شود. برای آزمایش‌های عوامل مؤثر بر درمان سرطان نیز با تیمار سلول‌های سرطانی با داروها و یا موادی که موجب تشدید یا کاهش رشد آن‌ها می‌شوند و سنجش میزان مرگ یا زنده ماندن و رشد و تکثیر آن‌ها با روش MTT می‌توان میزان اثرهای مثبت یا منفی عوامل ذکر شده را مورد بررسی قرار داد (۱۹). در این آزمایش پس از کشت سلول‌های هک و هلا، تیمار و مجاورت با عصاره متانولی کاکوتی‌کوهی در دوزهای µg/ml ۰/۱، ۱، ۱۰، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰، ۱۰۰۰ صورت پذیرفت و در زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت سنجش MTT انجام شد(۲،۲۰). برای گروه کنترل مثبت نیز از داروی کلشی سین با دوز µg/ml ۰/۵ استفاده شد (۲۱). نتایج حاصله از این پژوهش بر پایه میانگین تکرار سه باره آزمایش‌ها صورت گرفت. جهت تجزیه تحلیل داده‌ها از آزمون آماری t-test و نرم‌افزار SPSS 21 و برای رسم نمودارها از برنامه Excel استفاده شد. سطح معنی‌داری نتایج۰/۰۵ >P تعیین گردید (۲۲).

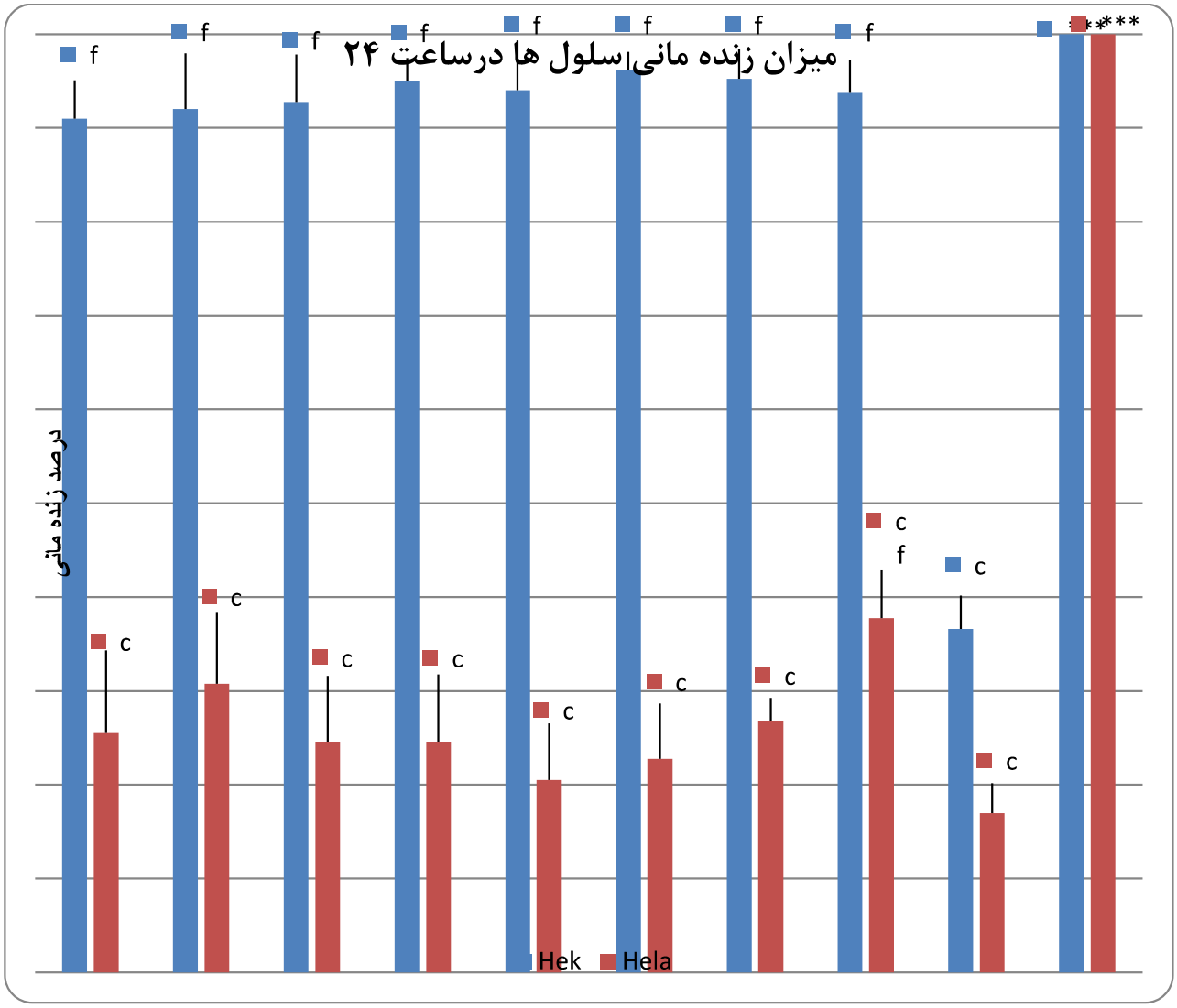
یافته‌ها

برای بررسی اثر عصاره متانولی برگ گیاه کاکوتی بر میزان زنده بودن سلول‌های سرطانی هلا و سالم هک از روش رنگ آمیزی آلی MTT استفاده شد. اثر دوزهای مختلف عصاره کاکوتی در ۳ زمان ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت بر روی سلول‌های سرطانی و نرمال سنجیده شد. نتایج جذب نوری قرائت شده

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-06-19]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1399.10.38.4.9]

توسط الایزا ریدر حاصل از آزمون MTT گردآوری شده سپس میزان بقای سلول‌ها محاسبه و درصد زنده مانی آن‌ها اندازه‌گیری شد (۲۲).

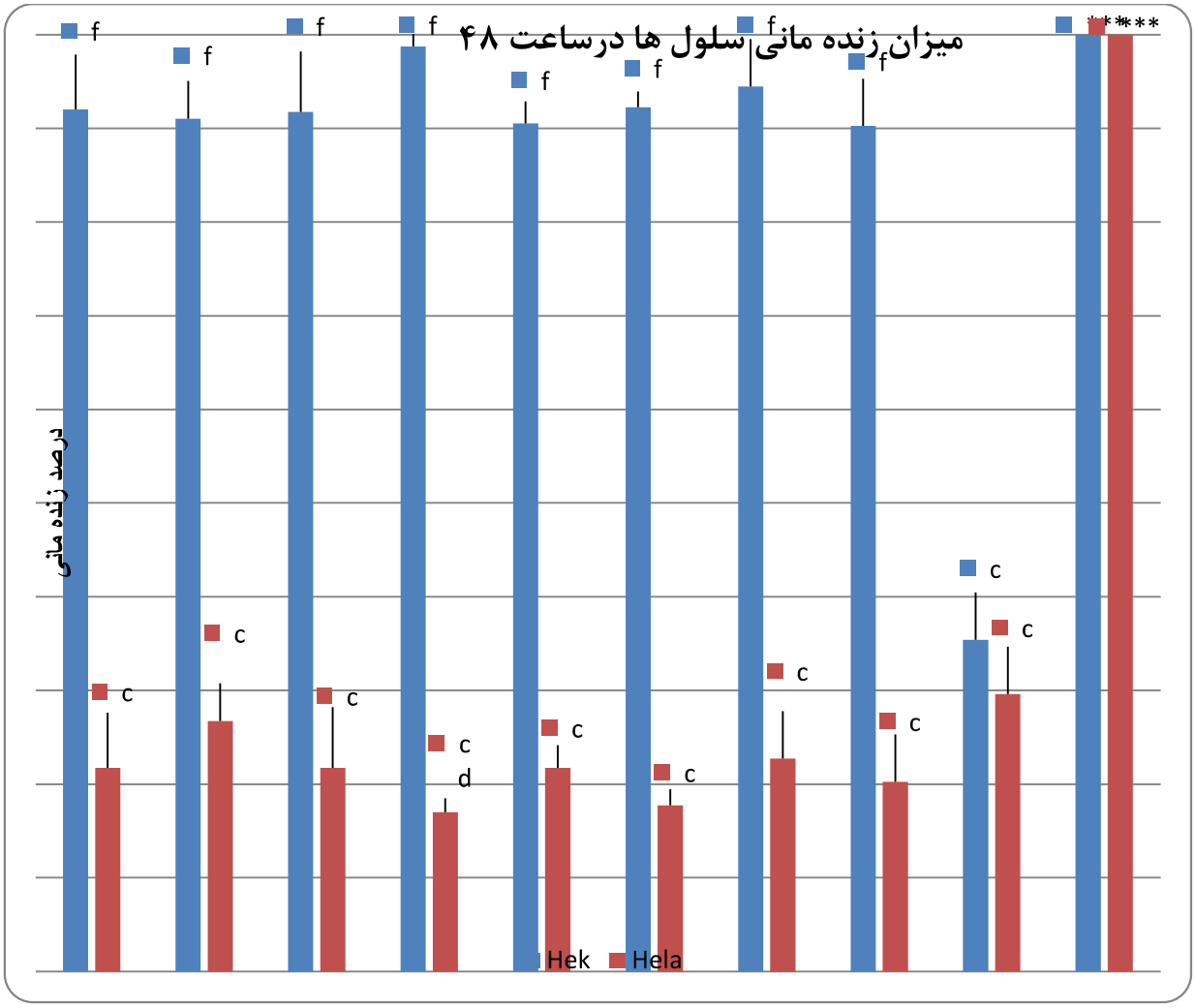


نمودار ۱: میزان‌مانی سلول‌های نرمال Hek و سلول‌های سرطانی Hela در زمان ۲۴ ساعت

c: اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل (P<۰/۰۰۱)، f: اختلاف معنی‌دار با گروه کلشی‌سین (P<۰/۰۰۱)

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-06-19]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1399.10.38.4.9]

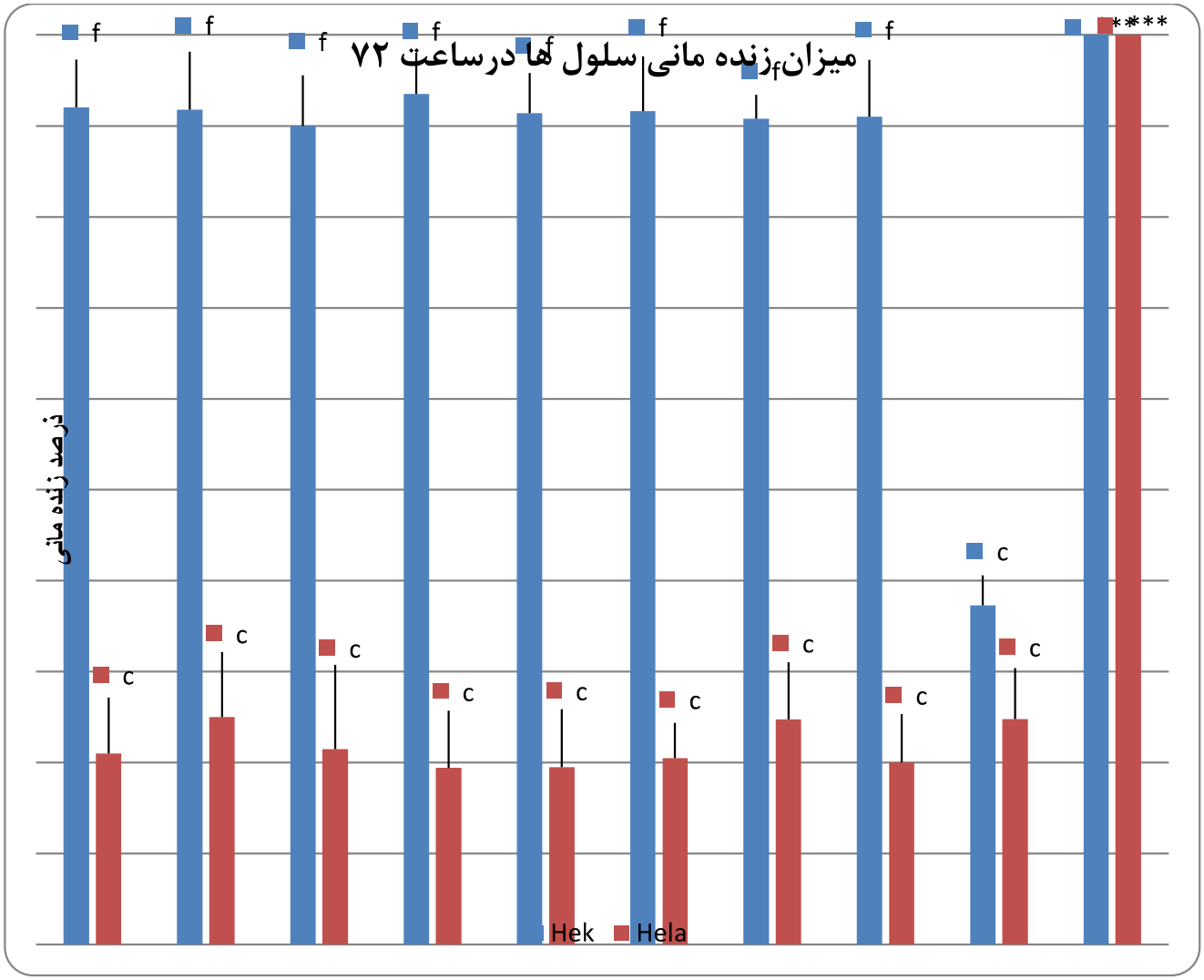


نمودار۲: میزان زنده‌مانی سلول‌های نرمال Hek و سلول‌های سرطانی Hela در زمان ۴۸ ساعت

c: اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل (P<۰/۰۰۱)، d: اختلاف معنی‌دار با گروه کلشی‌سین (P<۰/۰۵)، f: اختلاف معنی‌دار با گروه کلشی‌سین (P<۰/۰۰۱)

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-06-19]

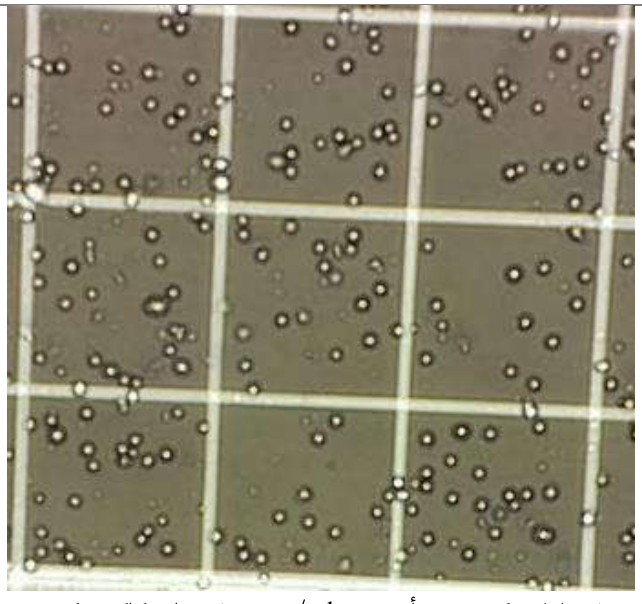
[DOR: 20.1001.1.22285458.1399.10.38.4.9]



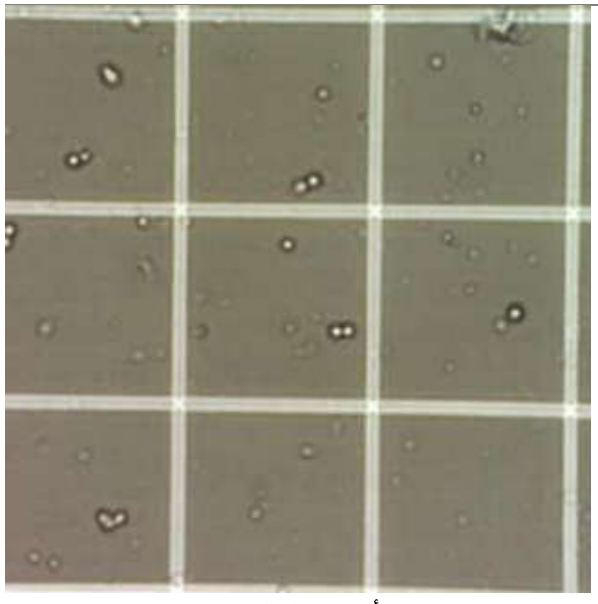
نمودار ۳: میزان زنده مانی سلول‌های نرمال Hek و سلول‌های سرطانی Hela در زمان ۷۲ ساعت

c: اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل(P<۰/۰۰۱)، f: اختلاف معنی‌دار با گروه کلشی‌سین (P<۰/۰۰۱)

تصاویر میکروسکوپی سلول‌های هک و هلا در دوز مؤثر ۱۰۰ µg/ml ساعت ۴۸ در مقایسه با کلشی سین



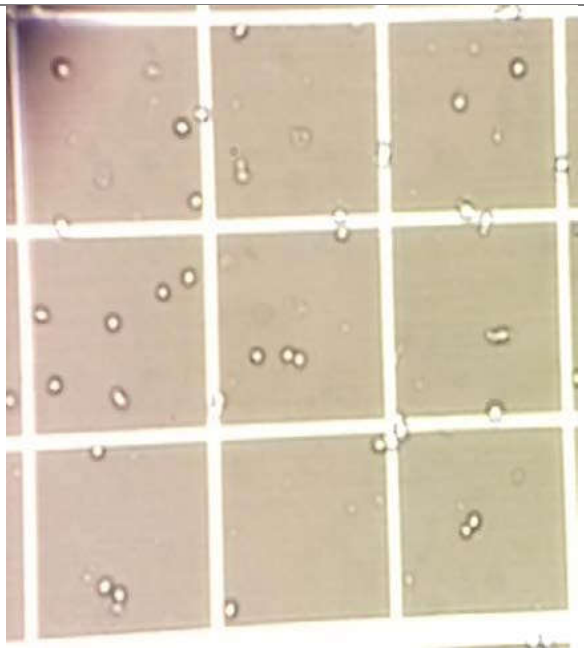
تصویر۱: سلول هک تحت تأثیر دوز ۱۰۰ µg/ml عصاره کاکوتی‌کوهی پس از ۴۸ ساعت



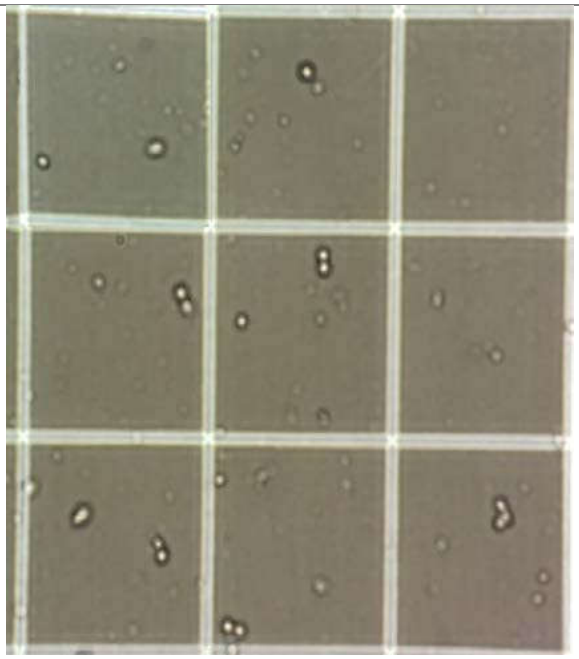
تصویر۲: سلول هلا تحت تأثیر دوز ۱۰۰ µg/ml عصاره کاکوتی‌کوه از ۴۸ ساعت

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-06-19]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1399.10.38.4.9]



تصویر۳: سلول هک تحت تأثیر کلشی‌سین پس از ۴۸ ساعت



تصویر۴: سلول هلا تحت تأثیر کلشی‌سین پس از ۴۸ ساعت

درتصاویر ۱ و ۲ شاهد اثر عصاره کاکوتی با دوز مؤثر µg/ml ۱۰۰ در ساعت ۴۸ بر سلول‌های نرمال هک و سرطانی هلا می‌باشیم. میزان سلول‌های زنده در مورد سلول‌های نرمال در مؤثرترین دوز عصاره به‌طرز مشهودی بالا است (تصویر۱) اما میزان زنده‌مانی سلول‌های سرطانی هلا بسیار پایین بود (تصویر۲). میزان بالای مرگ و میر سلول‌ها در هر دو گروه سلول‌های هک و هلا تحت تأثیر کلشی‌سین دیده شد (تصاویر ۳و ۴).

بر طبق نمودار ۱ و بررسی درصد زنده‌مانی سلول‌های دودمان Hela پس از ۲۴ ساعت در تمامی دوزهای عصاره گیاهی کاهش زنده‌مانی سلول‌های سرطانی دیده شد اما این میزان در هیچ‌کدام از گروه‌ها به اندازه گروه کنترل مثبت یعنی کلشی-سین نبود. ضمن آن‌که در دوز ۰/۱ تفاوت معنی‌دار با گروه کلشی‌سین دیده شد. تمامی گروه‌هایی که عصاره گیاه را دریافت کرده بودند به‌غیر از دوز µg ۰/۱ از لحاظ آماری تفاوتی با هم نداشتند. گروه کلشی‌سین در ساعت ۲۴ نسبت‌به همه گروه‌ها عملکرد بهتری داشت. دوز µg ۱۰ و ۵۰ نسبت‌به سایر دوزها به‌میزان بیش‌تری از زنده‌مانی سلول‌های سرطانی جلوگیری کرده بود. بر طبق نمودار ۲ و با بررسی درصد زنده-مانی سلول‌های دودمان Hela پس از ۴۸ ساعت در تمامی دوزهای عصاره گیاهی کاهش زنده‌مانی سلول‌های سرطانی دیده شد و میزان این تأثیر در همه دوزها بیش‌تر از گروه کلشی‌سین بود اگرچه تنها در دوز µg ۱۰۰ اختلاف معنی‌دار با گروه کلشی‌سین دیده شد که زنده‌مانی کم‌تر از گروه کلشی‌سین بود. بر پایه داده‌های نمودار ۳ و مشاهده درصد زنده‌مانی سلول‌های دودمان Hela پس از ۷۲ ساعت در تمامی دوزهای عصاره گیاهی کاهش زنده‌مانی سلول‌های سرطانی دیده شد و میزان این تأثیر در برخی دوزها بیش‌تر از گروه کلشی‌سین بود ولی در هیچ‌کدام اختلاف معنی‌دار با گروه کلشی‌سین دیده نشد. با ارزیابی و نتیجه‌گیری از درصد زنده-مانی سلول دودمان Hela پس از ۳ زمان ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت بیش‌ترین کاهش در ساعت ۴۸ دیده شد که این میزان در دوز µg ۱۰۰ بیش‌تر و دارای اختلاف معنی‌دار نسبت‌به گروه کلشی‌سین در سطح ۰/۰۵ بود.

بر طبق نمودار ۱ و مشاهده درصد زنده‌مانی سلول‌های دودمان Hek پس از ۲۴ ساعت در تمامی دوزهای عصاره گیاهی کاهش زنده‌مانی سلول‌های نرمال در حد محدودی دیده شد و میزان کاهش در هیچ‌کدام از گروه‌ها به اندازه گروه کنترل مثبت یعنی کلشی‌سین نبود. ضمن آن‌که در این دوزها در سطح معنی‌داری P< ۰/۰۰۱ با گروه کلشی‌سین اختلاف معنی‌دار دیده شد. با بررسی درصد زنده‌مانی سلول‌های دودمان Hek پس از ۴۸ ساعت در تمامی دوزهای عصاره گیاهی کاهش زنده‌مانی سلول‌های نرمال به‌غیر از سه دوز µg ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ با اختلاف معنی‌داری دیده شد البته میزان کاهش در هیچ‌کدام از گروه‌ها به اندازه گروه کنترل مثبت یعنی کلشی‌سین نبود و در این دوزها در سطح معنی‌داری

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-06-19]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1399.10.38.4.9]

P< ۰/۰۰۱ با گروه کلشی‌سین هم اختلاف معنی‌دار دیده شد. دوز µg ۱۰۰ دارای بیش‌ترین میزان زنده‌مانی در گروه‌های تیمار بود.

با بررسی درصد زنده‌مانی سلول‌های دودمان Hek پس از ۷۲ ساعت در تمامی دوزهای عصاره گیاهی کاهش زنده‌مانی سلول‌های نرمال به‌غیر از سه دوز ۰/۱، ۱۰ و ۱۰۰ با اختلاف معنی‌داری دیده شد البته میزان کاهش در هیچ‌کدام از گروه‌ها به‌اندازه گروه کنترل مثبت یعنی کلشی‌سین نبود و در این دوزها در سطح معنی‌داری P< ۰/۰۰۱ با گروه کلشی‌سین هم اختلاف معنی‌دار دیده شد. با ارزیابی و نتیجه‌گیری از درصد زنده‌مانی سلول‌های دودمان Hek پس از ۳ زمان ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت بیش‌ترین کاهش در ساعت ۴۸ دیده شد. نکته قابل توجه عدم اختلاف معنی‌دار همه دوزها با گروه کنترل در هر سه زمان آزمایش MTT بود.

مقایسه دوز مؤثر عصاره متانولی برگ کاکوتی‌کوهی در سلول‌های سرطانی Hela و سلول های سالم Hek

با مشاهده نتایج در هر سه نمودار مشاهده شد که تنها در ساعت ۴۸ و دوز ۱۰۰ شاهد بیش‌ترین میزان مرگ و میر سلول‌های سرطانی بودیم تا حدی که این دوز در این ساعت دارای اختلاف معنی‌دار با گروه کلشی‌سین شد. در حالی‌که میزان زنده‌مانی سلول‌های نرمال در این دوز و این ساعت دارای اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل نبودند ضمن آن‌که از لحاظ عددی هم در مجموع هر سه زمان دارای بالاترین درصد زنده‌مانی در دودمان سلول‌های هک بود. با توجه‌به بالاترین میزان زنده‌مانی این دوز در دودمان سلول‌های هک و پایین‌ترین میزان زنده‌مانی سلول‌های سرطانی در این دوز و ساعت، دوز µg/ml ۱۰۰ در ساعت ۴۸ در سطح معنی‌داری ۰/۰۰۱ P< به‌عنوان مؤثرترین دوز این عصاره تشخیص داده شد.

بحث و نتیجه گیری

در این پژوهش اثرهای درمانی گیاه کاکوتی‌کوهی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصله حاکی از آن بود که عصاره متانولی برگ‌های گیاه کاکوتی‌کوهی دارای تأثیر مثبت بر روند مرگ و میر سلول‌های سرطانی هلا هستند. تاکنون اثرهای ضدسرطانی مختلفی از گیاهان گزارش و اثبات شده است اما، در رابطه با *Ziziphora tenuior* مطالعه‌ای انجام نشده است. به‌همین دلیل به‌بررسی اثرهای ضدسرطانی گونه‌های دیگری از جنس Ziziphora اشاره می‌شود. بسیاری از آن‌ها دارای مکانیسم تأثیرگذاری مشابه بوده و تفاوت آن‌ها بر پایه مواد مؤثره متفاوت و میزان و چگونگی تأثیرگذاری آن بر روی رده‌های سلولی خاص است. در سال ۲۰۱۳ در پژوهشی اثر سمی چهار گیاه دارویی از جمله کاکوتی (*Ziziphora clinopodioide Lam*) بر روی سرطان روده با استفاده از لاین سلولی AGS و روش MTT مورد بررسی قرار گرفت که نتایج حاکی از اثر چشم‌گیر ضدسرطانی گیاه کاکوتی بود ضمن آن‌که نسبت‌به سایر گیاهان شرکت داده شده در آن تحقیق نیز بهترین اثر را داشت (۲۳). نتایج پژوهش ذکر شده همسو با نتایج دریافتی در تحقیق حاضر است. در پژوهشی دیگر در سال ۲۰۱۶ نیز ترکیب‌های شیمیایی و اثرهای ضدسرطانی بخش‌های هوایی گیاه کاکوتی‌کوهی (*Ziziphora clinopodioide Lam*) مورد بررسی قرار گرفت. اثرهای سمی این گیاه بر روی لاین‌های سلولی سرطان روده (HT-29)، سرطان سینه (T-47D)، لوکمیا (K-562) و فیبروبلاست جنین موش با استفاده از روش MTT مورد بررسی قرار گرفت. نتایج به‌دست آمده حاکی از اثر بازدارندگی و سمی فوق‌العاده ترکیب‌های موجود در گیاه کاکوتی بر این لاین‌های سلولی سرطانی بود که با نتایج به‌دست آمده از پژوهش ما هم‌خوانی دارد. در این پژوهش عمده‌ترین ترکیب‌های استخراج شده پولگون (۲۴٪)، منتول (۱۴٪) و منتون (۹٪) بود (۲۴). در تحقیقی اثر عصاره آویشن کرمانی (*Thymus carmanicus Jalas*) بر رده سلول‌های سرطانی هلا و رده سلول‌های نرمال MRC5 مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاکی از اثرهای ضدسرطانی این گیاه بود (۲۵). اثر ضدسرطانی کورکومین که ماده اصلی و مؤثره گیاه زردچوبه است نیز در تحقیقات فراوان ثابت شده، به‌تازگی اثرهای آن بر بیان ژن‌های مؤثر در سرطان نیز گزارش شده است (۲۶). در بررسی اثر عصاره اتانولی آویشن باغی (*Thymus vulgaris*) بر روی سرطان پروستات در موش‌های صحرایی اثرهای ضدسرطانی آن به‌ویژه بر گسترش توده‌های سلول‌های مذکور نمایان شد. این اثرها با میزان دوز به‌کار رفته نیز مرتبط بود. حتی در

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-06-19]
[DOR: 20.1001.1.22285458.1399.10.38.4.9]

پژوهشی دیگر به‌صورت in vivo اثر منفی و باز دارنده آن بر کارسینومای اپیتلیومی ناحیه سر مشاهده شد (۲۷). با توجه‌به هم‌خانواده بودن این گیاه با کاکوتی‌کوهی چنین اثرهایی برای این گیاه نیز دور از انتظار نیست. حتی عصاره گیاه آویشن باغی (*Thymus vulgaris*) اثر مهمی بر ضایع‌ها و بافت‌های پیش سرطانی دارد. این اثرها به تیمول و کارواکرول نسبت داده می‌شود (۲۸). همین ترکیب‌ها در کاکوتی نیز در حد قابل‌قبولی وجود دارند (۲۹). از دیگر ترکیب‌های مهم در این گروه از گیاهان، فلاوونوئیدها هستند. اثر ضدسرطانی این ترکیب‌ها بر کارسینومای ریه در موش دیده شده و این ترکیب‌ها نیز در کاکوتی‌کوهی به‌میزان بالایی وجود دارند (۳۰). اثرهای آنتی‌اکسیدانی عصاره این گیاهان نیز نقش مهمی در درمان و جلوگیری از گسترش سرطان و البته بسیاری بیماری‌های دیگر دارد (۱۱). در پژوهش‌های جداگانه اثرهای آنتی‌میکروتوبولی ترکیب‌هایی مهم مانند پولگون، لینالول و ترپینن به‌ویژه پولگون که مشترک با بسیاری از گیاهان است ثابت شده است. این ترکیب‌های مولکولی موجب افزایش سرعت تشکیل میکروتوبول از دایمرهای توبولین می‌شوند که نتیجه آن جلوگیری از دپلی‌مریزاسیون میکروتوبول‌ها است. این اتفاق از تثبیت میکروتوبول‌ها درسلول جلوگیری کرده و در نهایت موجب از بین رفتن اسکلت سلولی انعطاف‌پذیر در سلول شده که در چرخه‌های مهمی هم‌چون میتوز بسیار حیاتی است. چنین سلول هایی با وقفه در رشد و تقسیم خود پس از مدتی دچار نقصان و مرگ سلولی می‌شوند(۳۱،۳۳).. در پژوهش‌های متعددی ثابت شده که آنزیم‌های سیکلواکسیژناز و استرس اکسیداتیو در جریان چرخه‌های مختلف سلولی مانند رشد و نمو و تکثیر موجب ظهور نارسایی در این فرآیندها، اختلال و سرطان‌زایی می‌شوند. برای نمونه آنزیم سیکلواکسیژناز با افزایش فعالیت خود اثر بازدارندگی بر آپوپتوز سلول‌های سرطانی دارد. بدیهی است گیاهانی که بتوانند این عوامل را مهار کنند نقش مهمی در جلوگیری از ابتلا و گسترش سرطان خواهند داشت. در پژوهش‌های متعدد در مورد گیاهان تیره نعناعیان که کاکوتی نیز در این زمره قرار دارد وجود عواملی که موجب بهبود ظرفیت اکسیداتیو می‌شوند به اثبات رسیده است (۳۳). اثرهای آنتی‌اکسیدانی گیاه با مهار آنزیمی و هم‌چنین جلوگیری از تشکیل ROS القا می‌شود. فلاوونوئیدهای موجود در گیاه در این امر نقش فراوانی دارند. آن‌ها به‌وسیله آنزیم‌هایی هم‌چون گلوتاتیون، منواکسیژناز میکروزمی، NADH اکسیداز و سوکسین اکسیداز میتوکندریایی اثرهای ضدآنتی‌اکسیدانی خود را نشان می‌دهند. در پژوهش‌هایی که در گذشته صورت گرفته با چندین روش این خاصیت گیاه مورد ارزیابی قرار گرفته است و مشخص شده عصاره متانولی گیاه بالاترین توانایی در فعالیت آنتی‌اکسیدانی را از خود نشان می‌دهد. در خصوص مواد مؤثره در این زمینه فلاوونوئیدها و پلی‌فنول بسیار مهم هستند (۳۴). از این دست ترکیب‌ها می‌توان به لیمونن و فنول اشاره کرد که اثرهای آنتی‌اکسیدانی بالای آن‌ها به اثبات رسیده و در گیاه کاکوتی نیز در حد بالایی وجود دارند. از مکانیسم‌های دیگر تأثیر عصاره گیاهان این خانواده بر سلول‌های سرطانی تأثیر بر مورفولوژی این سلول‌ها هستند. این سلول‌ها وابسته‌به سطح هستند اما عصاره گیاهان این خانواده که دارای ترکیب‌های مشترک و بسیار مشابه با کاکوتی هستند با تأثیر بر نفوذپذیری غشاء سلول‌ها موجب گرد شدن و رها شدن آن‌ها از بستر می‌شود و همین امر موجب مرگ و جلوگیری از تکثیر آن‌ها می‌شود (۳۵). در صورتی‌که این اتفاق در دودمان سلول‌های نرمالی چون MRC_5 رخ نداده و این سلول‌ها ثبات مورفولوژیک خود را حفظ نموده‌اند (۲۲). ترکیب‌های مهم موجود در این گیاه پولگون، لیمونن، لینالول، ترپینن، فنول، کارواکرول و منتون است. اما بیش‌ترین ترکیب ماده مؤثره شناسایی شده در این گیاه پولگون است که بیش‌ترین اثرهای درمانی نیز به آن اختصاص داده شده است (۳۶). پولگون که در گروه مونوترپن‌ها است دارای بوی خوشی بوده که معطر بودن کاکوتی را به این مونوترپن اکسیژن‌دار حلقوی نسبت می‌دهند. ترپن‌ها با نفوذ به ترکیب‌های لیپیدی غشاء سلول‌ها موجب بهم ریختگی دیواره سلول شده و در نتیجه با واپاشی سیتوپلاسم و دناتوراسیون ترکیب‌های پپتیدی مرگ سلول مربوطه را رقم می‌زنند (۳۷). در پژوهشی اثرهای ضدباکتریایی آن اثبات و چند برابر نیستاتین گزارش شده است. این اثرها از طریق واکنش با غشاء سلول‌های متخاصم و تغییر در نفوذ پذیری آن‌ها ممکن می‌شود. بنابراین موجب مرگ بسیاری از سلول‌ها نظیر باکتری‌های گرم منفی شده و با خروج لیپو ساکاریدها و افزایش نفوذپذیری غشاء زمینه نابودی این سلول-

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-06-19]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1399.10.38.4.9]

ها فراهم می‌شود. این گیاه بر باکتری‌های اشریشیاکلای و سودوموناس اثرهای بازدارندگی زیادی دارد و به این دلیل در درمان ناراحتی‌های گوارشی میکروبی بسیار مهم است (۳۸،۳۹). وجود ماده لیمونن در این گیاه نیز در خواص ضدسرطانی آن بسیار مهم می‌تواند باشد. لیمونن با درصد بالای خاصیت آنتی‌اکسیدانی خود در پیشگیری از سرطان، رشد تومور و هم‌چنین جلوگیری از متاستاز نقش مهمی را دارد (۴۰،۴۱). ترکیب آلفا پینن نیز بر پایه مکانیسم‌های گفته شده هر سه ویژگی ضدباکتریایی، ضدالتهابی و ضدسرطانی را از خود نشان داده که در چندین پژوهش به اثبات رسیده است (۳۱،۴۲). هم‌چنین در پژوهشی اثرهای سمی این گیاه بر رده سلول‌های سرطانی AGS معده به میزان بالای ٪۸۸ ثابت شده است (۹). در پژوهش یاد شده اثر ضدسرطانی عصاره چهار گیاه زعفران، زنجبیل، آلوورا و کاکوتی مورد بررسی قرار گرفت که اثر ضدسرطانی کاکوتی بسیار قابل توجه بود. با توجه‌به اثرهای سیتوتوکسیک این عصاره بر رده سلول سرطانی AGS احتمال بروز این اثرهای از بین برنده بر سایر رده‌های سلول‌های سرطانی نیز وجود دارد(۱۱).

با توجه‌به نتایج این پژوهش مشاهده شد که عصاره متانولی برگ‌های گیاه کاکوتی‌کوهی بر میزان زنده‌مانی سلول‌های سرطانی هلا اثر معنی‌داری را دارد و این میزان در هر سه زمان اندازه‌گیری و دوزهای مختلف مشاهده شد. هم‌چنین تأثیر این عصاره بر سلول‌های سالم هک نیز مورد بررسی قرار گرفت. میزان تأثیر عصاره بر درصد زنده‌مانی این سلول‌ها به اندازه سلول‌های هلا نبود و میزان زنده‌مانی سلول‌های سالم بسیار بالاتر از سلول‌های سرطانی بود. با توجه‌به نتایج پژوهش‌هایی که در گذشته صورت گرفته و تحقیق حاضر، گمان می‌رود این ترکیب‌ها با تخریب و اثر منفی بر غشاء سلول‌های سرطانی موجبات مرگ آن‌ها را فراهم نموده‌اند. کاهش فعالیت آنزیم سیکلواکسیژناز نیز موجب افزایش آپوپتوز در رده سلول‌های سرطانی هلا شده است. تغییرهای مورفولوژیک و سست کردن پیوند سلول‌های سرطانی از دیگر دلایل احتمالی کاهش شدید درصد زنده‌مانی آن‌ها می‌تواند باشد. اما عدم مشاهده این تأثیرها در سلول‌های سالم هک می‌تواند بنا به این دلیل باشد که چرخه زیستی سلول‌های سرطانی بسیار منتج از درصد بالای رادیکال‌های آزاد، فعالیت آنزیم‌هایی نظیر سیکلواکسیژناز است. به‌احتمال عصاره این گیاه با از بین بردن این شرایط مساعد برای سلول‌های سرطانی زمینه را برای مرگ و میر آن-ها و زنده‌مانی بیش‌تر سلول‌های سالم هک فراهم نموده است.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-06-19]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1399.10.38.4.9]

منابع

1. Balunas MJ, Kinghorn AD. Drug discovery from medicinal plants. Life sciences. 2005 Dec 22;78(5):431-41.

2. Ghafari H, Yasa N, Mohammadirad A, Dehghan G, Zamani MJ, Nikfar S, Khorasani R, Minaie B, Abdollahi M. Protection by Ziziphora clinopoides of acetic acid-induced toxic bowel inflammation through reduction of cellular lipid peroxidation and myeloperoxidase activity. Human & experimental toxicology. 2006 Jun;25(6):325-32.

3. Carović-StanKo K, PeteK M, Martina G, Pintar J, Bedeković D, Ćustić MH, Šatović Z. Medicinal Plants of the Family Lamiaceaeas Functional Foods–a Review. Czech journal of food sciences. 2016 Jan 1;34(5):377.

4. Azadmehr A, Mosalla S, Hajiaghaee R, Shahnazi M. Immunomodulatory effects of Ziziphora tenuior L. extract on the dendritic cells. DARU Journal of Pharmaceutical Sciences. 2014 Dec;22(1):63.

5. Parija m. Soft tissue sarcoma recurrence in flap donor site-case report. University Journal of Surgery and Surgical Specialities. 2018 Apr 5;4(2).

6. Naeini A, Khosravi A, Tadjbakhsh H, Ghazanfari T, Yaraee R, Shokri H. Evaluation of the immunostimulatory activity of Ziziphora tenuior extracts. Comparative clinical pathology. 2010 Oct 1;19(5):459-63.

7. Nasab FK, Khosravi AR. Ethnobotanical study of medicinal plants of Sirjan in Kerman Province, Iran. Journal of ethnopharmacology. 2014 May 28;154(1):190-7.

8. Fumagalli I, Penel N, Wacrenier A, El Bedoui S, Adenis A. Advanced Abrikossoff tumour: A metastatic or a multifocal malignancy?. Acta Oncologica. 2012 Jan 1;51(1):133-5.

9. Dihazi H, Dihazi GH, Nolte J, Meyer S, Jahn O, Müller GA, Engel W. Multipotent adult germline stem cells and embryonic stem cells: comparative proteomic approach. Journal of proteome research. 2009 Oct 27;8(12):5497-510.

10. Aliakbarlu J, Shameli F. In vitro antioxidant and antibacterial properties and total phenolic contents of essential oils from Thymus vulgaris, T. kotschyanus, Ziziphora tenuior and Z. clinopodioides. Turkish Journal of Biochemistry/Turk Biyokimya Dergisi. 2013 Dec 1;38(4).

11. Harris IS, Treloar AE, Inoue S, Sasaki M, Gorrini C, Lee KC, Yung KY, Brenner D, Knobbe-Thomsen CB, Cox MA, Elia A. Glutathione and thioredoxin antioxidant pathways synergize to drive cancer initiation and progression. Cancer cell. 2015 Feb 9;27(2):211-22.

12. Azwanida NN. A review on the extraction methods use in medicinal plants, principle, strength and limitation. Med Aromat Plants. 2015 Jul;4(196):2167-0412.

13. Schottenfeld D, Fraumeni Jr JF, editors. Cancer epidemiology and prevention. Oxford University Press; 2006 Aug 24.

14. Maiorano G, Sabella S, Sorce B, Brunetti V, Malvindi MA, Cingolani R, Pompa PP. Effects of cell culture media on the dynamic formation of protein− nanoparticle complexes and influence on the cellular response. ACS nano. 2010 Nov 17;4(12):7481-91.

15. Gaddy VT, Barrett JT, Delk JN, Kallab AM, Porter AG, Schoenlein PV. Mifepristone induces growth arrest, caspase activation, and apoptosis of estrogen receptor-expressing, antiestrogen-resistant breast cancer cells. Clinical Cancer Research. 2004 Aug 1;10(15):5215-25.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-06-19]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1399.10.38.4.9]

16. Nasri, S.. Antinociceptive and Anti-inflammatory effects of Hydroalcoholic extract of aerial parts of Thymus carmanicus in male mice. Journal of Paramedical Sciences. 2018, 9(1), pp.42-50.

17. Tilg H, Adolph TE, Gerner RR, Moschen AR. The intestinal microbiota in colorectal cancer. Cancer cell. 2018 Jun 11;33(6):954-64.

18. Hadi MY, Mohammed GJ, Hameed IH. Analysis of bioactive chemical compounds of Nigella sativa using gas chromatography-mass spectrometry. Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy. 2016 Feb 29;8(2):8-24.

19. Vickers A. Botanical medicines for the treatment of cancer: rationale, overview of current data, and methodological considerations for phase I and II trials. Cancer investigation. 2002 Jan 1;20(7-8):1069-79.

20. Navaderi M, Gholamhoseinpour F, Bateni K. The Effect of Ziziphora Tenure Plant Extraction on MRSA Bacteria in Urinary Tract Infection Jacobs Journal of Nephrology and Urology.2015, 2 (4).

21. Jalilian S. The effect of colchicine on the pathways of apoptosis in prostate cancer cell lines pc3. .2016, (Doctoral dissertation, University of Zabol).

22. Gudarzi H, Salimi M, Irian S, Amanzadeh A, Mostafapour Kandelous H, Azadmanesh K, Salimi M. Ethanolic extract of Ferula gummosa is cytotoxic against cancer cells by inducing apoptosis and cell cycle arrest. Natural product research. 2015 Mar 19;29(6):546-50.

23. Ghazanfari T, Yaraee R, Shams J, Rahmati B, Radjabian T, Hakimzadeh H. Cytotoxic effect of four herbal medicines on gastric cancer (AGS) cell line. Food and agricultural immunology. 2013 Mar 1;24(1):1-7.

24. Yousefbeyk F, Tabaside J, Ostad SN, Salehi Sourmaghi MH, Amin GR. Investigation of chemical composition and cytotoxic activity of aerial parts of Ziziphora clinopodioides Lam. Research Journal of Pharmacognosy (RJP). 2016 Jan 1;3(2):47-51.

25. Hajializadeh Z, Nasri S, Kaeidi A, Sheibani V, Rasoulian B, Esmaeili-Mahani S. Inhibitory effect of Thymus caramanicus Jalas on hyperglycemia-induced apoptosis in in vitro and in vivo models of diabetic neuropathic pain. Journal of ethnopharmacology. 2014 May 14;153(3):596-603.

26. Maheshwari RK, Singh AK, Gaddipati J, Srimal RC. Multiple biological activities of curcumin: a short review. Life sciences. 2006 Mar 27;78(18):2081-7.

27. Berrington D, Lall N. Anticancer activity of certain herbs and spices on the cervical epithelial carcinoma (HeLa) cell line. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 2012;2012.

28. Ozturk S, Ercisli S. The chemical composition of essential oil and in vitro antibacterial activities of essential oil and methanol extract of Ziziphora persica Bunge. Journal of ethnopharmacology. 2006 Jul 19;106(3):372-6.

29. Salehi P, Sonboli A, Eftekhar F, Nejad-Ebrahimi S, Yousefzadi M. Essential Oil Composition, Antibacterial and Antioxidant Activity of the Oil and Various Extracts of Ziziphora clinopodioides subsp. rigida (B OISS.) R ECH. f. from Iran. Biological and Pharmaceutical Bulletin. 2005;28(10):1892-6.

30. Surmaghi, M.S., Amin, Y.A.G. and Mahmoodi, Z. Survey of iranian plants for saponins alkaloids flavonoids and tannins. IV. DARU Journal of Pharmaceutical Sciences,1992. 2(2-3), pp.1-11.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-06-19]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1399.10.38.4.9]

31. Hough CD, Sherman-Baust CA, Pizer ES, Montz FJ, Im DD, Rosenshein NB, Cho KR, Riggins GJ, Morin PJ. Large-scale serial analysis of gene expression reveals genes differentially expressed in ovarian cancer. Cancer Research. 2000 Nov 15;60(22):6281-7.

32. Fotakis G, Timbrell JA. In vitro cytotoxicity assays: comparison of LDH, neutral red, MTT and protein assay in hepatoma cell lines following exposure to cadmium chloride. Toxicology letters. 2006 Jan 5;160(2):171-7.

33. Triantaphyllou, Georgios Blekas, Dimitrios Boskou K. Antioxidative properties of water extracts obtained from herbs of the species Lamiaceae. International journal of food sciences and nutrition. 2001 Jan 1;52(4):313-7.

34. Dakah A, Zaid S, Suleiman M, Abbas S, Wink M. In vitro propagation of the medicinal plant Ziziphora tenuior L. and evaluation of its antioxidant activity. Saudi journal of biological sciences. 2014 Sep 1;21(4):317-23.

35. Steimer KS, Packard R, Holden D, Klagsbrun M. The serum-free growth of cultured cells in bovine colostrum and in milk obtained later in the lactation period. Journal of cellular physiology. 1981 Nov;109(2):223-34.

36. Olaku O, White JD. Herbal therapy use by cancer patients: a literature review on case reports. European journal of cancer. 2011 Mar 1;47(4):508-14.

37. D'Ambro E, Schobesberger S, Lopez-Hilfiker F, Shilling JE, Lee BH, Thornton JA. Molecular characterization and volatility evolution of alpha-pinene ozonolysis SOA during isothermal evaporations. InAGU Fall Meeting Abstracts 2017 Dec.

38. Najafi KR, Bagher M, Shahram BT. Effect of essential oil and extract of Ziziphora clinopodioides on yoghurt starter culture activity. World Applied Sciences Journal. 2007;2(3):194-7.

39. Joudi L, Bibalani GH. Exploration of medicinal species of Fabaceae, Lamiaceae and Asteraceae families in Ilkhji region, eastern Azerbaijan Province (northwestern Iran). Journal of Medicinal Plants Research. 2010 Jun 4;4(11):1081-4.

40. Amini-Shirazi N, Hoseini A, Ranjbar A, Mohammadirad A, Khoshakhlagh P, Yasa N, Abdollahi M. Inhibition of tumor necrosis factor and nitrosative/oxidative stresses by Ziziphora clinopoides (Kahlioti); a molecular mechanism of protection against dextran sodium sulfate-induced colitis in mice. Toxicology mechanisms and methods. 2009 Feb 1;19(2):183-9.

41. Hellmann MD, Nathanson T, Rizvi H, Creelan BC, Sanchez-Vega F, Ahuja A, Ni A, Novik JB, Mangarin LM, Abu-Akeel M, Liu C. Genomic features of response to combination immunotherapy in patients with advanced non-small-cell lung cancer. Cancer Cell. 2018 May 14;33(5):843-52.

42. Chen W, Liu Y, Li M, Mao J, Zhang L, Huang R, Jin X, Ye L. Anti-tumor effect of α-pinene on human hepatoma cell lines through inducing G2/M cell cycle arrest. Journal of pharmacological sciences. 2015 Mar 1;127(3):332-8.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-06-19]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1399.10.38.4.9]