

بررسی اثر ضدسرطانی عصاره متانولی گیاه رامنوس کاتارتیکا روی رده سلول AGS و MNK45 در شرایط برون تنی

احسان لطف آبادی^۱، آرونا چاپرا^۱، بهمن رحیمی اسبویی^{۲،۳*}، مریم حاتمی نژاد^۲

^۱ گروه فارماکوتوزی، دانشکده فارماکولوژی، شعبه آیت الله آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران

^۲ گروه انگل شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

^۳ مرکز تحقیقات توکسوپلاسموز، انستیتو بیماری های واگیر، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

*نویسنده مسئول: گروه انگل، مرکز تحقیقات توکسوپلاسموز، موسسه بیماری های واگیر، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران.
ایمیل: bahman5164@yahoo.com

دریافت: ۱۴۰۲/۹/۲۷ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۶/۰۳

چکیده

مقدمه: اکثر داروهای اساسی که در حال حاضر توسط بیماران استفاده می شود، دارای اثرات جانبی متعدد هستند، لذا جست و جو در جهت یافتن دارویی با اثرات ضدسرطانی قوی و به دنبال آن با اثر جانبی پایین از اهداف سازمان بهداشت جهانی و مراکز درمانی مبارزه با سرطان است.

اهداف: هدف از این مطالعه بررسی اثر ضدسرطانی عصاره متانولی گیاه رامنوس کاتارتیکا روی رده های سلولی AGS و MNK45 طراحی و اجرا گردید.

روش کار: رده های سلول سرطانی در محیط کشت RPMI-1640 کشت داده شدند و بعد از گذشت ۴۸ ساعت و تکثیر سلول ها، به میزان ۱۰۶ × ۱ سلول در هر میلی لیتر به چاهک های پلیت ۹۶ خانه اضافه گردید. عصاره رامنوس کاتارتیکا در غلظت های ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر به هر چاهک اضافه شد و میزان اثر کشندگی با استفاده از تست بیوشیمیایی MTT مورد ارزیابی قرار گرفته است.

نتایج: نتایج نشان داده است که عصاره متانولی رامنوس کاتارتیکا در غلظت های ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر روی رده های سلولی AGS و MNK45 موثر است و در غلظت ۸۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر اختلاف معنی داری نسبت به گروه کنترل مثبت نداشته است ($P < 0.05$).

نتیجه گیری: باتوجه به قدرت کشندگی عصاره متانولی گیاه رامنوس کاتارتیکا روی رده های سلولی AGS و MNK45 می توان نتیجه گرفت که ترکیبات فوق می توانند به عنوان کاندید مناسبی جهت درمان سرطان های گوارش البته بعد از انجام مطالعات تکمیلی باشند.

کلمات کلیدی: سرطان گوارش، رده سلولی، رامنوس

۱. مقدمه

و دومین عامل اصلی بروز سرطان در زنان و سومین عامل سرطان در مردان است. بیماری زایی سرطان کلورکتال بسیار پیچیده است و تحت تاثیر عوامل متفاوت شامل عوامل مربوط به رژیم غذایی و شیوه زندگی و عوامل ژنتیکی قرار دارد (۷). شدت پاتوژن سرطان کلورکتال با توجه به تغییرات ژنتیکی و اپی ژنتیکی می تواند متفاوت باشد. به دنبال تغییرات ژنتیکی و اپی ژنتیکی، تومورزایی در سلول های اپیتلیوم (بافت پوششی) سالم ایجاد می شود و در نهایت پیشرفت به سمت مراحل بدخیم بیماری، موجب بروز سرطان کلورکتال خواهد شد (۸، ۹). روش های متفاوتی برای درمان سرطان وجود دارد که هر کدام از آن ها دارای محدودیت ها و اثرات جانبی قابل توجهی هستند. داروهای شیمی درمانی مرسوم از طریق از بین بردن سریع سلول های

سرطان در کشورهای توسعه یافته و در حال توسعه به ترتیب اولین و دومین عامل مرگ است. سرطان دستگاه گوارش در جهان به عنوان چهارمین سرطان شایع و دومین عامل مرگ بر اثر سرطان شناخته می شود (۱). فرآیند ایجاد بافت سرطانی در معده، چندمرحله ای بوده و جز بیماری های چندعاملی (multi factorial) است که در آن وجود عوامل عفونی، محیطی و ژنتیکی می توانند موثر باشند (۲، ۳). عوامل ژنتیکی مرتبط با این سرطان عبارتند از جهش ها و پلی مورفیسم ها که زمینه ژنتیکی یکی از عوامل ایجاد سرطان ها در انسان هستند (۴-۶). سرطان کلورکتال یکی از علل عمده مرگ و میر در جهان است

۳. مواد و روش ها

این مطالعه تجربی در گروه فارماکوگنوزی دانشکده علوم دارویی دانشگاه آزاد اسلامی واحد آیت الله آملی با کد اخلاق IR.IAU.AMOL.REC.1402.106 ثبت و انجام شد.

۱.۳ جمع آوری نمونه گیاه

در این مطالعه ریزوم گیاه رامنوس کاتارتیکا از مراکز معتبر گیاهان دارویی جمع آوری شد و پس از تهیه نمونه هرباریومی و تأیید نام علمی گیاه و تعیین گونه آن توسط متخصص سیستماتیک گیاهی، در دیارتمان فارماکوگنوزی دانشکده داروسازی براساس سیستم Angiosperm Phylogeny Group system (APG) کدگذاری شده (E₁-212-111) و نگهداری شد.

۲.۳ عصاره گیری

ریزوم گیاه رامنوس کاتارتیکا در دمای آزمایشگاه و با استفاده از دستگاه خشک کن، خشک شد. سپس با دستگاه خردکن تا سایز الک شماره ۸۰ خرد و بلافاصله وارد مرحله عصاره گیری شد. ۲/۵ کیلوگرم از پودر نمونه به طور جداگانه به روش خیساندن چند بار ماسیراسیون با متانول خالص به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴۵ درجه عصاره گیری شد (۳ بار تکرار). سپس عصاره از صافی رد و با دستگاه روتاری تحت خلا تغلیظ شد. در نهایت عصاره تغلیظ شده، به کمک دستگاه فریز درایر به صورت پودر خشک درآمد و در ظرف در بسته و به دور از نور نگهداری شد (۱۹).

۳.۳ کشت سلول

در این مطالعه رده های سلولی استاندارد سرطان روده AGS و MNK45 و سلول های طبیعی رده فیبروبلاست HU-02 از بانک سلولی انستیتو پاستور ایران تهیه شد. این سلول ها در محیط کشت RPMI 1640 حاوی ۱۰ درصد سرم جنین گاوی (FBS)، ۱ درصد آنتی بیوتیک پنیسیلین استرپتومایسین در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد در یک اتمسفر مرطوب با غلظت CO₂ ۵ درصد کشت داده شدند. جهت بررسی وضعیت مورفولوژی، سلامت و تعداد سلول ها در زیر میکروسکوپ اینسورت بررسی شدند. زمانی که سلول ها حداقل به ۷۰ درصد رشد سلولی رسیدند، به وسیله تریپسین ۰/۰۵ درصد از ته فلاسک جدا شدند و در دور ۱۵۰۰ دور در دقیقه به مدت پنج دقیقه سانتریفیوژ شدند. رسوب سلولی حاصل به حالت سوسپانسیون تهیه شد و درصد زنده بودن سلول های موجود در آن با استفاده از لام نئوبار و رنگ تریپان بلو به وسیله میکروسکوپ نوری تعیین شد. پس از اطمینان از عدم آلودگی، از سلول های با درصد زیستایی بالای ۹۰ درصد جهت انجام آزمایش استفاده شد (۹، ۲۰).

توموری در حال تقسیم عمل می کنند، اما این داروها بر سلول های سالم و طبیعی بدن که سرعت تقسیم بالایی دارند مانند سلول های مغز استخوان، ماکروفاژها، سلول های پوششی مجاری گوارشی و سلول های فولیکول مو اثر گذاشته و موجب اختلال در عملکرد طبیعی آن ها می شوند (۱۰، ۱۱). مشکل اصلی داروهای شیمی درمانی رایج، این است که آن ها قادر به تشخیص و انتخاب سلول های سرطانی از سلول های طبیعی نیستند. در نتیجه موجب عوارض جانبی بسیاری از قبیل کاهش تولید گلبول های سفید خونی (سرکوب سیستم ایمنی)، موکوزیت (التهاب بافت پوششی مجاری گوارشی)، آلپسی (ریزش مو)، کم خونی، تغییر در اشتها، خونریزی، اختلالات چشمی، تغییرات سیستم عصبی، درد، تغییر در مسائل جنسی، مشکلات پوستی و ناخن، اختلالات ادراری، خستگی، عفونت، اختلال در اندام ها و همچنین کم خونی (ترومبوسیتوپنی) می شوند (۱۴-۱۲). گیاه رامنوس کاتارتیکا (*Rhamnus cathartica*) متعلق به خانواده Rhamnaceae است و ترکیبات فلاونوئیدی نظیر کاتارسین، کامفرول، کوئرتستین و دسته ترکیبات آنتراکینونی از مهمترین ترکیبات سازنده این گیاه است (۱۵). تابحال فعالیت ضدباکتریایی علیه استافیلوکوک اورئوس، باسیلوس سوبتیلیس، اشرشیا کلی، سودوموناس آئروژینوزا و فعالیت ضدقارچی علیه پنی سیلیوم نوتاتوم و آسپرژیلوس نیجر و ضدانگلی علیه انگل ژیا ردیا لامبلیا و انگل لیشمانیا ماژور از این گیاه گزارش شده است (۱۶، ۱۷). نتایج حاصل نشان داده است که ترکیبات طبیعی در بسیاری از نقاط مختلف دنیا، پتانسیل لازم جهت از بین بردن سلول سرطانی را دارا هستند و گویای این موضوع است که جست و جو در خصوص یافتن داروی ضدسرطان باید با قدرت و سرعت بیشتری ادامه یابد. روش های مختلفی برای درمان سرطان مورد استفاده قرار گرفت و همه روش ها دارای مزایا و معایبی بوده اند که در بعضی موارد از نظر عوارض جانبی مقرون به صرفه نیست (۱۸). با توجه به اینکه مطالعات مختلف نشان داده اند که بسیاری از داروهای موجود در بازار پایه و اساس طبیعی دارند و ترکیبات طبیعی معمولاً عوارض کمتری نسبت به داروهای شیمیایی دارند، لذا این مطالعه برای اولین بار در دنیا با هدف بررسی اثر ضدسرطانی نانوکورسین طراحی گردید. با مقایسه نتایج حاصل از مطالعات مذکور و مطالعه اخیر مشخص شده است که رامنوس کاتارتیکا دارای اثر ضدسرطانی قوی روی رده سلول سرطانی دستگاه گوارش است. همچنین می توان با انجام مطالعات تکمیلی و استخراج ماده موثره این گیاه به اثربخشی بالاتر و سمیت کمتری نیز دست یافت.

۲. اهداف

با توجه به اثرات و ترکیبات موثره که در این گیاه یافت می شود، این احتمال وجود دارد که بتواند در مقابل رشد و تکثیر سلول های سرطانی هم موثر واقع گردد. بنابراین این مطالعه با هدف بررسی نانوذرات امودین استخراج شده از گیاه رامنوس بر روی رده سلول AGS و MNK45 طراحی گردیده است.

۴.۳. روش MTT

$$\text{جذب نوری تست} \times 100 = \frac{\text{میزان بقای سلولی}}{\text{جذب نوری کنترل}}$$

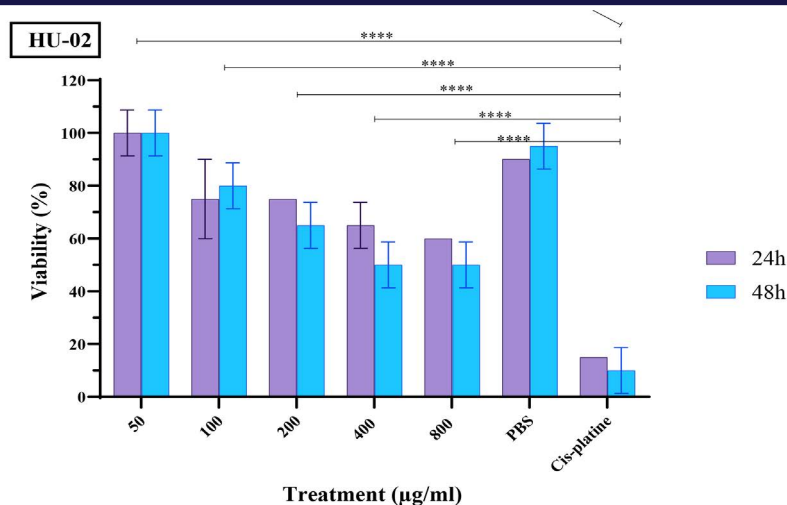
۵.۳. تجزیه و تحلیل آماری

نتایج حاصل از این مطالعه با استفاده از آزمون‌های آماری مجذور کای و Paired T test و نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲/۱ مورد ارزیابی قرار گرفته است. اختلاف آماری پایین‌تر از ۰/۰۵ به عنوان سطح معنی‌دار در نظر گرفته شد.

۴. نتایج

در این مطالعه میزان اثر ضدسرطانی عصاره متانولی گیاه رامنوس کاتارتیکا در غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر روی رده سلول‌های سرطانی AGS و MNK45 و رده سلول نرمال HU-02 پس از ۲۴ و ۴۸ ساعت مورد ارزیابی قرار گرفته است. میزان زنده‌مانی در این مطالعه با استفاده از روش رنگ‌سنجی MTT مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داده است که میزان اثر ضدسرطانی عصاره متانولی گیاه رامنوس کاتارتیکا وابسته به دوز است. به‌طوری که با افزایش غلظت دارو، میزان اثربخشی گیاه افزایش یافته است ولی اختلاف معنی‌داری در زمان‌های مختلف نشان داده نشد ($P > 0/05$). نتایج تست MTT نشان داد که عصاره متانولی گیاه رامنوس کاتارتیکا در همه غلظت‌ها میزان کشندگی بالاتری نسبت به گروه کنترل منفی داشته است. در این مطالعه میزان اثر ضدسرطانی با افزایش غلظت دارو، افزایش یافت که این اختلاف در همه غلظت‌ها از لحاظ آماری معنی‌دار بود ($P > 0/05$). نتایج حاصل از اثر عصاره متانولی گیاه رامنوس کاتارتیکا روی رده سلول نرمال انسانی (HU-02) نشان داد که با افزایش غلظت عصاره گیاهی، میزان مرگ سلولی در رده سلول سرطانی HU-02 افزایش می‌یابد اما این اختلاف از لحاظ آماری معنی‌دار نبود ($P > 0/05$) (تصویر ۱).

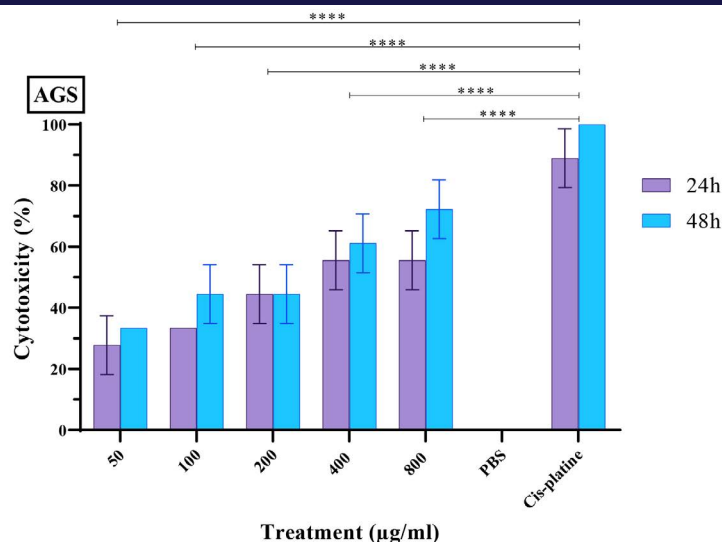
به‌منظور بررسی اثر عصاره گیاهی روی رشد و تکثیر سلول‌های سرطانی و نرمال از روش رنگ‌سنجی MTT استفاده شد. آزمایش MTT یکی از روش‌های رنگ‌سنجی متداول برای بررسی میزان سمیت مواد بر حیات سلول است. این مساله با سنجش قدرت احیای رنگ تترازولیوم (MTT) به‌وسیله آنزیم‌های سلولی و تبدیل آن به بلورهای فورمازان با رنگ بنفش مورد بررسی قرار می‌گیرد. در نتیجه فرآیند احیا، بلورهای بنفش رنگ فورمازون تشکیل می‌شود. سپس این بلورها در حلال مناسب حل شده و به‌وسیله روش‌های اسپکتروفتومتری مقدارسنجی می‌شوند. مقدار بلور فورمازون ایجاد شده می‌تواند نشان‌دهنده درصد سلول‌های زنده باشد. برای انجام آزمایش، حجم ۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت حاوی ۱۰۰۰۰ سلول 5-SUN و HU-02 در هر خانه پلیت ۹۶ خانه قرار داده شد. انکوباسیون با غلظت‌های مختلف ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از عصاره متانولی گیاه رامنوس کاتارتیکا طی زمان‌های ۲۴ و ۴۸ ساعت و با سه بار تکرار انجام شد. پس از طی زمان مذکور به هر خانه پلیت، ۱۰۰ میکرولیتر رنگ MTT ۲ (۵، ۴، ۳) دیمتیل تیزاویل) ۲ و ۵ دیفنیل تترازولیوم بروماید) با غلظت ۰/۵ گرم بر میلی‌لیتر اضافه شد و به مدت چهار ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه انکوبه شد. پس از گذشت چهار ساعت، محیط رویی پلیت خارج شد و به چاهک‌ها ایزوپروپانول اضافه شد تا کریستال‌های بنفش رنگ فورمازون ایجاد شده در سلول‌هایی که زنده مانده‌اند، حل شده و مایع رنگی یکنواختی ایجاد شود. پس از ۳۰ دقیقه انکوباسیون جذب نوری هر چاهک با استفاده از دستگاه ELISA READER در طول موج ۵۷۰ نانومتر خوانده شد. نتایج حاصله به‌صورت میزان درصد زیستایی و IC50 (غلظتی که سب مهار رشد سلولی تا میزان ۵۰ درصد می‌شود) گزارش شدند (۲۱). جهت گرفتن نتیجه بهتر، آزمایش‌های این تحقیق سه بار تکرار انجام گرفت و میزان بقای سلولی طبق فرمول زیر محاسبه گردید.



تصویر ۱. میزان زنده‌مانی رده سلول‌های سرطانی HU-02 در اثر مجاورت با غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر عصاره متانولی گیاه رامنوس و داروی سیس-پلاتین به‌عنوان گروه کنترل مثبت پس از ۲۴ و ۴۸ ساعت ($P < 0/0001$) (تصویر ۱).

۴۰۰ و ۸۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر بعد از ۲۴ و ۴۸ ساعت و در غلظت ۲۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر بعد از ۴۸ ساعت از لحاظ آماری معنی دار بود ($P > 0.05$) (تصویر ۲).

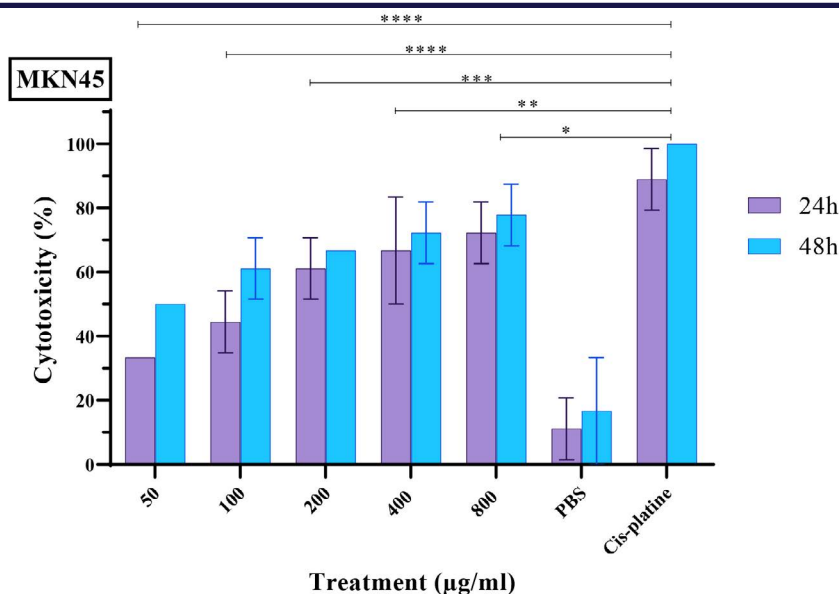
نتایج حاصل از اثر غلظت های مختلف عصاره متانولی گیاه رامنوس کاتارتیکا روی رده سلولی AGS نشان داد که با افزایش غلظت عصاره گیاهی، میزان مرگ سلولی در رده سلول سرطانی AGS افزایش می یابد که این در غلظت های



تصویر ۲. میزان زنده ماندن رده سلول های سرطانی AGS در اثر مجاورت با غلظت های ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر عصاره متانولی گیاه رامنوس کاتارتیکا و داروی سیس-پلاتین به عنوان گروه کنترل مثبت پس از ۲۴ و ۴۸ ساعت ($P < 0.0001$) (****)

در غلظت های ۸۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر بعد از ۲۴ و ۴۸ ساعت و در غلظت ۴۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر بعد از ۴۸ ساعت از لحاظ آماری معنی دار بود ($P > 0.05$) (تصویر ۳).

نتایج حاصل از اثر غلظت های ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر عصاره متانولی گیاه رامنوس کاتارتیکا روی رده سلولی MNK45 نشان داد که با افزایش غلظت عصاره گیاهی، میزان مرگ سلولی در رده سلول سرطانی MNK45 افزایش می یابد که این



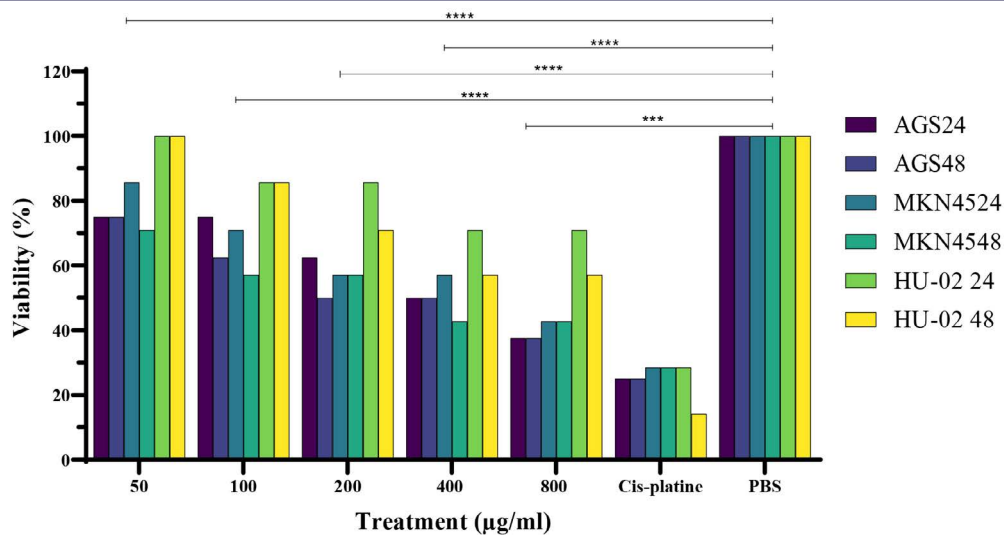
تصویر ۳. میزان انی رده سلول های سرطانی MNK45 در اثر مجاورت با غلظت های ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر عصاره متانولی گیاه رامنوس و داروی سیس-پلاتین به عنوان گروه کنترل مثبت پس از ۲۴ و ۴۸ ساعت ($P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.001$, $P < 0.0001$) (****)

اختلاف آماری در غلظت های ۵۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر از لحاظ آماری معنی دار بود ($P < 0.05$). در این مطالعه داروی روتین

همچنین در همه غلظت ها میزان سیتوتوکسیسیته روی رده سلول سرطانی AGS و MNK45 بیشتر از رده سلول سالم HU-O2 بود که

پلاتین در زمان‌های ۲۴ و ۴۸ ساعت روی همه رده‌های سلول‌های مورد بررسی، با اختلاف معنی‌داری بیشتر از عصاره متانولی گیاه رامنوس کاتارتیکا بود ($P < 0.05$) (تصویر ۴).

ضدسرطان سیس پلاتین به‌عنوان گروه کنترل مثبت مورد استفاده قرار گرفت و نتایج غلظت‌های مختلف عصاره متانولی گیاه رامنوس کاتارتیکا با آن مقایسه شد. نتایج نشان داد که اثر ضدسرطانی داروی سیس



تصویر ۴. میزان زنده‌مانی رده سلول‌های سرطانی AGS و MNK45 و رده سلول نرمال HU-02 در اثر مجاورت با غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر عصاره متانولی گیاه رامنوس کاتارتیکا پس از ۲۴ و ۴۸ ساعت ($P = 0.001$, $***$; $P < 0.0001$, $****$)

۵. بحث

در این مطالعه اثر ضدسرطانی عصاره متانولی گیاه رامنوس در غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر روی رده سلول‌های سرطانی AGS و MNK45 و رده سلول نرمال HU-02 پس از ۲۴ و ۴۸ ساعت با استفاده از روش بیوشیمیایی و رنگ‌سنجی MTT بررسی شد و نتایج قابل قبولی نیز به‌دست آمد. همچنین برای بررسی دقیق‌تر اثر ضدسرطانی یا به‌عبارتی دیگر برای بررسی مکانیسم دقیق ضدسرطانی، میزان بیان ژن Bcl2 در رده سلولی AGS و MNK45 در اثر مجاورت با گیاه رامنوس کاتارتیکا در زمان‌ها و غلظت‌های مختلف مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که میزان اثر ضدسرطانی عصاره متانولی گیاه رامنوس کاتارتیکا وابسته به دوز است به‌طوری که با افزایش غلظت دارو، میزان اثربخشی گیاه افزایش یافت ولی اختلاف معنی‌داری در زمان‌های مختلف نشان داده نشد.

کور کومین و ترکیبات دیگر مانند دسمتوکسی کور کومین و بیس‌دسمتوکسی ماده مؤثره و اصلی گیاه رامنوس کاتارتیکا هستند و مکانیسم‌های متعددی برای اثرات فارماکولوژی و بیولوژی کور کومین مطرح شده است مانند اثر آنتی‌اکسیدانی، مهار فاکتورهای التهابی، القا مرگ سلولی، آنتی‌کارسینوژن و فعال‌سازی یا مهار مسیرهای داخل سلولی که در ایجاد بیماری نقش دارند (۲۲، ۲۳). کور کومین نقش به‌سزایی در پیشگیری و درمان بیماری سرطان دارد و مطالعات بالینی

متعدد اثر آن را اثبات نموده‌اند. در کاربرد کور کومین در بیماری سرطان دو سری تحقیقات انجام شده است. مصرف کور کومین موجب پیشگیری از سرطان می‌شود و افرادی که کور کومین را مصرف نمودند دارای شیوع کمتری از سرطان هستند و در مطالعات دیگر مصرف همزمان کور کومین با داروهای شیمی‌درمانی موجب افزایش اثربخشی درمان سرطان شده است و همچنین عوارض ناشی از شیمی‌درمانی یا رادیوتراپی را کاهش داده است (۲۴). کور کومین اثر ضدالتهابی داشته و با تعداد زیادی از مولکول‌های مؤثر در پاسخ‌های التهابی تداخل دارد که می‌توان به کاهش فعالیت سیکلواکسیژناز (COX)، لپوکسیژناز، آنزیم‌های نیتریک‌اکسیدسنتتاز، مهار تولید سیتوکین‌های التهابی مانند نکروز توموری آلفا (TNF-α) و اینترلوکین‌ها و همچنین کاهش کینازهای مسیری سلولی اشاره کرد (۲۵، ۲۶). کور کومین با مهار مولکول‌های مؤثر در پاسخ‌های التهابی در پیشگیری و درمان بیماری‌های آرتریت روماتوئید و تنفسی مؤثر است. کور کومین فعالیت فاکتور هسته‌ای کاپانی (NF-κB) و ژن‌های پیش‌التهابی را سرکوب می‌کند. NF-κB و COX نقش به‌سزایی در التهاب، تمایز و تکثیر سلولی و سرطان‌زایی دارند. کور کومین با مهار NF-κB و COX موجب مهار فرآیندهای التهابی و سرطان‌زایی می‌شود. کور کومین با به دام انداختن گونه‌های فعال اکسیژن مانند آنیون سوپراکسید، هیدروژن پراکسید و رادیکال نیتريت که توسط ماکروفاژها تولید می‌شوند نقش به‌سزایی در مقابله با التهاب دارد (۲۶).

چانگ و همکاران در سال ۲۰۱۰ فعالیت ضدتوموری امودین را روی رده سلولی سرطانی K562 لوسمی میلوئیدی در شرایط درون تنی و برون تنی مورد بررسی قرار دادند. داده‌های MTT نشان‌دهنده مهار رشد سلول‌های K562 پس از درمان با امودین بود. فلوسایتومتری نشان داد که چرخه سلولی سلول‌های K562 در فاز G1/G0 متوقف شد. از طریق تجزیه و تحلیل وسترن بلات، مشخص شد که پروتئین Bcl-2 مربوط به آپوپتوز به صورت وابسته به دوز کاهش یافته و Bax پس از درمان با امودین افزایش یافته است. علاوه بر این، فعال‌سازی کاسپاز ۳، ۸ و ۹ در شرایط آزمایشگاهی و درون تنی نشان داده شد. افزایش Bax همزمان با کاهش Bcl-2 نشان داد که درمان با امودین ممکن است منجر به آپوپتوز سلول‌های K562 شود. آپوپتوز سلولی نیز مستقیماً با Annexin V-FITC و روش تکه‌تکه‌شدن DNA نشان داده شد. علاوه بر این، اثر تومورکشی امودین با استفاده از مدل موش برهنه زئوگراف اندازه‌گیری شد (۳۲). نتایج نشان داده است که پس از تلقیح با سلول‌های K562، موش‌های برهنه تحت درمان با emodin کاهش قابل توجهی در حجم تومور و وزن تومور در مقایسه با گروه کنترل نشان دادند. Emodin می‌تواند باعث پسرفت تومور شود. هم مطالعات in vitro و هم in vivo نشان می‌دهد که emodin می‌تواند به عنوان یک داروی امیدوارکننده ضدسرطان خون میلوئید مزمن توسعه یابد (۳۲).

۱.۵. نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داده است که عصاره متانولی گیاه رامنوس کاتارتیکا در همه غلظت‌ها دارای اثرات ضدسرطانی روی رده سلول سرطانی AGS و MNK45 است و با افزایش غلظت، در همه عصاره‌ها میزان اثر ضدسرطانی افزایش یافته است. همچنین در همه عصاره‌ها با افزایش زمان میزان اثر ضدسرطانی افزایش یافته است و اثر زمان در اغلب موارد موثرتر از غلظت نشان داده است. در نهایت بهترین اثربخشی مربوط به غلظت ۸۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بوده است.

تشکر و قدردانی

این مطالعه در گروه فارماکوگنوزی دانشکده علوم داروئی دانشگاه آزاد اسلامی واحد آیت‌الله آملی با کد اخلاق IR.IAU.AMOL.REC.1402.106 انجام شد و نویسندگان این مطالعه از تمامی کسانی که در انجام این پژوهش همکاری داشته‌اند تشکر و قدردانی می‌نمایند. ضمناً نویسندگان این مطالعه اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تضاد منافعی در این مطالعه وجود ندارد.

مشارکت و نقش نویسندگان

ب.ر.الف. و الف.چ. ایده و طراحی مطالعه؛ ب.ر.الف. و الف.ل. الف. جمع‌آوری داده؛ ب.ر.الف. و الف.چ. آنالیز و تفسیر نتایج؛ الف.ل. الف. نگارش نسخه اول مقاله؛ ب.ر.الف. و الف.چ. ویرایش مقاله نهایی. همه نویسندگان نتایج را بررسی نموده

کورکومین در غلظت‌های خیلی کم موجب مهار رشد سلول‌های سرطانی می‌شود. کورکومین موجب القا آپوپتوز (مرگ برنامه‌ریزی‌شده سلول) و مهار تکثیر سلول‌های سرطانی می‌شود. این مرگ سلولی با تکه‌تکه‌شدن DNA و توقف چرخه سلولی در فازهای سنتز و M/G2 اتفاق می‌افتد. القا آپوپتوز سلول سرطانی توسط کورکومین به دلیل آزادسازی سیتوکروم C، تولید گونه‌های فعال اکسیژن و تأثیر روی پروتئین p53 است و همچنین سیگنال‌های داخل سلولی که مسئول آسیب DNA و توقف رشد سلولی هستند را فعال می‌کند (۲۷). مطالعات نشان می‌دهند که کورکومین روی ۱۰۴ ژن از ۲۱۴ ژنی که مرتبط با آپوپتوز است تأثیر می‌گذارد. به‌طوری که فعالیت برخی از ژن‌ها را افزایش و برخی را کاهش می‌دهد و همچنین روی بسیاری از پروتئین‌ها مرتبط با آپوپتوز تأثیر می‌گذارد (۲۸). به‌طور مثال کورکومین بروز پروتئین‌های آنتی‌آپوپتوز مانند BCL2 و Survivin را مهار می‌کند و موجب مهار رشد لنفوم سلول B می‌شود. آنژیوژنز یا رگ‌زایی یکی از پدیده‌های مهم در پیشرفت سلول‌های سرطانی است به‌طوری که سلول‌های سرطانی برای رشد و متاستاز نیاز به غذا و اکسیژنی دارند که از طریق تشکیل رگ‌های جدید در سلول‌ها بافت توموری به آن‌ها می‌رسد. آنژیوژنز سرطان‌های پستان، پروستات و تخمدان موجب رشد زیاد و عدم درمان این تومورها می‌شود (۲۹).

در این مطالعه نتایج آزمون MTT نشان داده است که عصاره متانولی گیاه رامنوس کاتارتیکا دارای اثر ضدسرطانی قوی روی رده‌های سلول سرطانی AGS و MNK45 می‌باشد. میزان اثر ضد سرطانی عصاره متانولی گیاه رامنوس کاتارتیکا روی رده‌های سلول سرطانی AGS در غلظت‌های ۴۰۰ و ۸۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بعد از ۲۴ و ۴۸ ساعت و در غلظت ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بعد از ۴۸ ساعت از لحاظ آماری معنی‌دار است ($P < 0.05$) و روی رده‌های سلول سرطانی MNK45 در غلظت‌های ۸۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بعد از ۲۴ و ۴۸ ساعت و در غلظت ۴۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بعد از ۴۸ ساعت از لحاظ آماری معنی‌دار است ($P < 0.05$). امودین یکی از ترکیبات اصلی در گیاه رامنوس کاتارتیکا معنی‌دار که اثرات ضدالتهابی و ضدسرطانی در مطالعات مختلف از آن گزارش شده است. ساندرز و همکاران در سال ۲۰۱۸ در یک مقاله مروری سیستماتیک که ۳۸ مقاله را مورد بررسی قرار دادند، نشان داده‌اند که امودین به‌طور معنی‌داری اثر ضدسرطانی در شرایط برون تنی (in vitro) دارد (۳۰). پارک و همکاران در سال ۲۰۰۹ اثر ضدالتهابی امودین را روی ماکروفاژ مورد بررسی قرار دادند و نتایج ایشان نشان داد که امودین به‌طور وابسته به دوز بیان mRNA ژن نیتریک اکسید سنتاز (iNOS) القایی و تولید اکسید نیتریک (NO) را در ۴۰-۵۰ میکرومتر مهار می‌کند. علاوه بر این، نشان دادند سطح تولید mRNA سیکلو اکسیژناز-۲ (2-COX) و پروستاگلاندین E2 (PGE2) توسط ۴۰ میکرومتر امودین سرکوب می‌شود (۳۱). چون

References

و نسخه نهایی مقاله را تایید نمودند.

تضاد منافع:

هیچگونه تعارضی بین نویسندگان این مطالعه وجود ندارد.

بازیابی داده‌ها:

مجموعه داده ارائه شده در مطالعه با درخواست از نویسندگان مربوطه در حین ارسال یا پس از انتشار در دسترس است.

کد اخلاق:

موازین اخلاقی انجام این مطالعه توسط کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد آیت الله امّلی مورد تایید قرار گرفته است (IR.IAU.AMOL.REC.1402.106).

حمایت مالی و معنوی:

این مطالعه تحت حمایت مالی هیچ ارگان یا شخصی نیست.

- Hanahan D. Hallmarks of Cancer: New Dimensions. *Cancer Discov.* 2022;**12**(1):31-46. [PubMed ID:35022204]. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-21-1059>.
- Wan ML, Wang Y, Zeng Z, Deng B, Zhu BS, Cao T, et al. Colorectal cancer (CRC) as a multifactorial disease and its causal correlations with multiple signaling pathways. *Biosci Rep.* 2020;**40**(3). [PubMed ID:32149326]. [PubMed Central ID:PMC7087324]. <https://doi.org/10.1042/BSR20200265>.
- Oppegaard KR, Mayo SJ, Armstrong TS, Kober KM, Anguera JA, Wright F, et al. An Evaluation of the Multifactorial Model of Cancer-Related Cognitive Impairment. *Nurs Res.* 2023;**72**(4):272-80. [PubMed ID:37104681]. [PubMed Central ID:PMC10330009]. <https://doi.org/10.1097/NNR.0000000000000660>.
- Dragojlovic N, Borle K, Kopac N, Ellis U, Birch P, Adam S, et al. The composition and capacity of the clinical genetics workforce in high-income countries: a scoping review. *Genet Med.* 2020;**22**(9):1437-49. [PubMed ID:32576987]. <https://doi.org/10.1038/s41436-020-0825-2>.
- Elrebehy MA, Al-Saeed S, Gamal S, El-Sayed A, Ahmed AA, Waheed O, et al. miRNAs as cornerstones in colorectal cancer pathogenesis and resistance to therapy: A spotlight on signaling pathways interplay - A review. *Int J Biol Macromol.* 2022;**214**:583-600. [PubMed ID:35768045]. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.06.134>.
- Shishesaz P, Mahdavi M, Ghodrattpour F. [Evaluation of Cytotoxic and Apoptotic Effects of Green Synthesized Zn Oxide Nanoparticles on the MCF-7 breast cancer Cell Line]. *Koomesh.* 2023;**25**(2):270-8. Persian.
- Murphy CC, Zaki TA. Changing epidemiology of colorectal cancer - birth cohort effects and emerging risk factors. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2024;**21**(1):25-34. [PubMed ID:37723270]. <https://doi.org/10.1038/s41575-023-00841-9>.
- Rodger EJ, Gimenez G, Ajithkumar P, Stockwell PA, Almomani S, Bowden SA, et al. An epigenetic signature of advanced colorectal cancer metastasis. *iScience.* 2023;**26**(6):106986. [PubMed ID:37378317]. [PubMed Central ID:PMC10291510]. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2023.106986>.
- Sadrifar S, Erfanian S, Baharlou R. [The effect of fresh frozen plasma (FFP) and human platelet lysate (HPL) on the proliferation rate of human mesenchymal stem cells (MSCs) derived from adipose tissue and umbilical cord blood]. *Koomesh.* 2023;**25**(3):385-93. Persian.
- Chen JF, Wu SW, Shi ZM, Hu B. Traditional Chinese medicine for colorectal cancer treatment: potential targets and mechanisms of action. *Chin Med.* 2023;**18**(1):14. [PubMed ID:36782251]. [PubMed Central ID:PMC9923939]. <https://doi.org/10.1186/s13020-023-00719-7>.
- Hernandez Dominguez O, Yilmaz S, Steele SR. Stage IV Colorectal Cancer Management and Treatment. *J Clin Med.* 2023;**12**(5). [PubMed ID:36902858]. [PubMed Central ID:PMC10004676]. <https://doi.org/10.3390/jcm12052072>.
- Jiang H, Zuo J, Li B, Chen R, Luo K, Xiang X, et al. Drug-induced oxidative stress in cancer treatments: Angel or devil? *Redox Biol.* 2023;**63**:102754. [PubMed ID:37224697]. [PubMed Central ID:PMC10220276]. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2023.102754>.
- Motyka S, Jaferník K, Ekiert H, Sharifi-Rad J, Calina D, Al-Omari B, et al. Podophyllotoxin and its derivatives: Potential anticancer agents of natural origin in cancer chemotherapy. *Biomed Pharmacother.* 2023;**158**:114145. [PubMed ID:36586242]. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.114145>.
- Su Y, Zhao B, Zhou L, Zhang Z, Shen Y, Lv H, et al. Ferroptosis, a novel pharmacological mechanism of anti-cancer drugs. *Cancer Lett.* 2020;**483**:127-36. [PubMed ID:32067993]. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2020.02.015>.
- Rushdi M, Fouda WM, Mohamed AD. Natural product diversity of Buckthorns (*Rhamnus cathartica* and *Rhamnus disperma*). *Octahedron Drug Res.* 2024;**5**(1):51-63.
- Rahimi Esboei B, Chabra A, Hedayati P, Parandini F. Anti-leishmaniasis activity of *Rhamnus cathartica* on amastigote stages of *Leishmania major*. *Int J Mol Clin Microbiol.* 2023;**13**(1):1802-9.
- Khuda F, Alam N, Khalil AAK, Jan A, Naureen F, Ullah Z, et al. Screening of *Rhamnus Purpurea* (Edgew.) Leaves for Antimicrobial, Antioxidant, and Cytotoxic Potential. *ACS Omega.* 2022;**7**(26):22977-85. [PubMed ID:35811929]. [PubMed Central ID:PMC9260770]. <https://doi.org/10.1021/acsomega.2c03094>.
- Lamari FN, Cordopatis P. Exploring the potential of natural products in cancer treatment. In: Missailidis S, editor. *Anticancer Therapeutics*. Hoboken, New Jersey: Wiley; 2008. p. 1-16.
- Chabra A, Rahimi-Esboei B, Habibi E, Monadi T, Azadbakht M, Elmi T, et al. Effects of some natural products from fungal and herbal sources on *Giardia lamblia* in vivo. *Parasi-*

- tology. 2019;**146**(9):188-98. [PubMed ID:31006397]. <https://doi.org/10.1017/S0031182019000325>.
20. Zafari F, Sadeghi M, Moghanloo E, Bakhtiyari M. [Assessment of CD93 Stem Cell Growth and Survival on Three-Dimensional Biodegradable PCL-Gelatin Scaffold]. *J Mazandaran Univ Med Sci*. 2017;**26**(144):211-8. Persian.
 21. Rahimi MT, Ahmadpour E, Rahimi Esboei B, Spotin A, Kohansal Koshki MH, Alizadeh A, et al. Scolicidal activity of biosynthesized silver nanoparticles against *Echinococcus granulosus* protoscolices. *Int J Surg*. 2015;**19**. [PubMed ID:26028438]. <https://doi.org/10.1016/j.ijssu.2015.05.043>.
 22. Jakubczyk K, Druzga A, Katarzyna J, Skonieczna-Zydecka K. Antioxidant Potential of Curcumin-A Meta-Analysis of Randomized Clinical Trials. *Antioxidants (Basel)*. 2020;**9**(11). [PubMed ID:33172016]. [PubMed Central ID:PMC7694612]. <https://doi.org/10.3390/antiox911092>.
 23. Lin D, Xiao L, Qin W, Loy DA, Wu Z, Chen H, et al. Preparation, characterization and antioxidant properties of curcumin encapsulated chitosan/lignosulfonate micelles. *Carbohydr Polym*. 2022;**281**:119080. [PubMed ID:35074131]. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.119080>.
 24. Pricci M, Girardi B, Giorgio F, Losurdo G, Ierardi E, Di Leo A. Curcumin and Colorectal Cancer: From Basic to Clinical Evidences. *Int J Mol Sci*. 2020;**21**(7). [PubMed ID:32235371]. [PubMed Central ID:PMC7178200]. <https://doi.org/10.3390/ijms21072364>.
 25. Mansouri K, Rasoulpoor S, Daneshkhah A, Abolfathi S, Salari N, Mohammadi M, et al. Clinical effects of curcumin in enhancing cancer therapy: A systematic review. *BMC Cancer*. 2020;**20**(1):791. [PubMed ID:32838749]. [PubMed Central ID:PMC7446227]. <https://doi.org/10.1186/s12885-020-07256-8>.
 26. Mohankumar K, Francis AP, Pajaniradje S, Rajagopalan R. Synthetic curcumin analog: inhibiting the invasion, angiogenesis, and metastasis in human laryngeal carcinoma cells via NF-kB pathway. *Mol Biol Rep*. 2021;**48**(8):6065-74. [PubMed ID:34355287]. <https://doi.org/10.1007/s11033-021-06610-8>.
 27. Wang T, Wu X, Al Rudaisat M, Song Y, Cheng H. Curcumin induces G2/M arrest and triggers autophagy, ROS generation and cell senescence in cervical cancer cells. *J Cancer*. 2020;**11**(22):6704-15. [PubMed ID:33046993]. [PubMed Central ID:PMC7545669]. <https://doi.org/10.7150/jca.45176>.
 28. Rainey NE, Moustapha A, Petit PX. Curcumin, a Multifaceted Hormetic Agent, Mediates an Intricate Cross-talk between Mitochondrial Turnover, Autophagy, and Apoptosis. *Oxid Med Cell Longev*. 2020;**2020**. [PubMed ID:32765806]. [PubMed Central ID:PMC7387956]. <https://doi.org/10.1155/2020/3656419>.
 29. Ghaffari M, Dehghan G, Baradaran B, Zarebkohan A, Mansoori B, Soleymani J, et al. Co-delivery of curcumin and Bcl-2 siRNA by PAMAM dendrimers for enhancement of the therapeutic efficacy in HeLa cancer cells. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2020;**188**:110762. [PubMed ID:31911391]. [PubMed Central ID:PMC7071519]. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2019.110762>.
 30. Sanders B, Ray AM, Goldberg S, Clark T, McDaniel HR, Atlas SE, et al. Anti-cancer effects of aloe-emodin: a systematic review. *J Clin Transl Res*. 2018;**3**(3):283-96. [PubMed ID:30895270]. [PubMed Central ID:PMC6426255].
 31. Park MY, Kwon HJ, Sung MK. Evaluation of aloin and aloe-emodin as anti-inflammatory agents in aloe by using murine macrophages. *Biosci Biotechnol Biochem*. 2009;**73**(4):828-32. [PubMed ID: <https://doi.org/10.1271/bbb.80714>].
 32. Chun-Guang W, Jun-Qing Y, Bei-Zhong L, Dan-Ting J, Chong W, Liang Z, et al. Anti-tumor activity of emodin against human chronic myelocytic leukemia K562 cell lines in vitro and in vivo. *Eur J Pharmacol*. 2010;**627**(1-3):33-41. [PubMed ID:19857484]. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2009.10.035>.

Research Article

The Anti-cancer Effect of the Methanolic Extract of *Rhamnus cathartica* on AGS and MNK45 Cell Lines In vitro

Ehsan Lotfabadi ¹, Aroona Chabra ¹, Bahman Rahimi Esboei ^{2,3,*}, Maryam Hataminejad ²

¹Department of Pharmacognosy, School of Pharmacology, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran

²Department of Parasitology, School of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

³Toxoplasmosis Research Center, Communicable Diseases Institute, School of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

*Corresponding Author: Department of Parasitology, School of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran. Email: bahman5164@yahoo.com

Received 18/12/2023; Accepted 24/08/2024

Abstract

Background: Most of the basic drugs that are currently used by patients with different types of cancer have frequent side effects, so the search for a drug with strong anti-cancer effects and with low side effects is one of the goals of the World Health Organization (WHO) and medical centers in the treatment of cancer.

Objectives: The purpose of this study was to investigate the anticancer effect of *Rhamnus cathartica* methanolic extract on AGS and MNK45 cell lines.

Methods: Cancer cell lines were cultured in RPMI1640- culture medium and after 48 hours and cell proliferation, 106×1 cells/mL were added to the wells of the -96well plate. *Rhamnus cathartica* extract was added in concentrations of 400 ,200 ,100 and 800 µg/mL to each well and the lethality effect was evaluated using the MTT biochemical test.

Results: The results have shown that the methanolic extract of *R. cathartica* at concentrations of 400 ,200 and 800 micrograms/mL is effective on AGS and MNK45 cell lines and at a concentration of 800 micrograms/mL, there is a significant difference compared to the group There was no positive control ($P < 0.05$).

Conclusion: Considering the lethality of the methanolic extract of *R. cathartica* on AGS and MNK45 cell lines, it can be concluded that the above compounds can be suitable candidates for the treatment of digestive cancers, of course, after additional studies.

Keywords: Gastrointestinal Neoplasms, Cell line, *Rhamnus*