

مقاله پژوهشی

بررسی اثرات سیتوتوکسیسته فراکسیون های هگزانی، کلروفرمی و اتانولی گیاهان اواریا گراندی فلورا و دیوسپیروس والاچیا بر روی رده سلولی کارسینومای کولون

علیرضا گلشن^۱، محمدرضا جلیوند^۲، حسین کمالی^۳، علی خاکشور^۴، علیرضا نعمت اللهی^{۵*}

^۱ استادیار اورولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، بجنورد، ایران
^۲ کارشناس ارشد علوم تغذیه، مرکز تحقیقات ایمنی فرآورده های طبیعی و گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، بجنورد، ایران
^۳ کارشناس ارشد مهندسی شیمی، مرکز تحقیقات ایمنی فرآورده های طبیعی و گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، بجنورد، ایران
^۴ استادیار، متخصص اطفال، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، بجنورد، ایران
^۵ دکتری حرفه ای داروسازی، مرکز تحقیقات ایمنی فرآورده های طبیعی و گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، بجنورد، ایران
^{*} نویسنده مسئول: بجنورد، خیابان شهید چمران، معاونت غذا و دارو، مرکز تحقیقات ایمنی فرآورده های طبیعی و گیاهان دارویی
 پست الکترونیک: alireza_nemat@yahoo.com

وصول: ۱۳۹۱/۴/۲۶ اصلاح: ۱۳۹۱/۵/۵ پذیرش: ۱۳۹۱/۵/۲۵

چکیده

زمینه و هدف: امروزه بهره بردن از فرآورده های طبیعی و گیاهان دارویی در درمان سرطان مورد توجه فراوان می باشد. نظر به این که امروزه یکی از سرطان های رو به رشد کارسینومای کولون می باشد در این مطالعه اثرات سیتوتوکسیسته سلولی دو گیاه دارویی مورد بررسی قرار گرفته شده است.

مواد و روش کار: اثرات سیتوتوکسیسته سلولی فراکسیون های هگزانی، کلروفرمی و اتانولی دو گیاه دیوسپیروس والاچیا و اواریا گراندی فلورا با استفاده از رده سلولی تومور انسانی شامل HTC-116 (کارسینومای کولون) و با به کارگیری روش MTT assay مورد ارزیابی قرار گرفت. در این روش جهت کنترل و مقایسه از ماده فلاونویدی کوئرستین با اثر سیتوتوکسیسته شناخته شده استفاده گردید. **یافته ها:** نتایج این بررسی نشان داد که جزء کلروفرمی پوست ساقه گیاه اواریا گراندی فلورا و جزء کلروفرمی میوه گیاه دیوسپیروس والاچیا بیشترین اثر مهارتی را در میان تمامی نمونه های تست شده به ترتیب با GI50 ۳/۸۵ و ۴/۵۸ میکروگرم بر میلی لیتر از خود نشان دادند.

نتیجه گیری: نتایج به دست آمده نشان داد که ترکیبات با پلاریته متوسط همچون مشتقات نفتوکینونی در گیاه دیوسپیروس و فلاونویدی در گیاه اواریا نقش عمده ای را در بروز این اثرات فارماکولوژیک بر عهده دارند، که این امر مطالعات بیشتری جهت جداسازی و خالص سازی ترکیبات موثره را می طلبد.

واژه های کلیدی: سیتوتوکسیک، اواریا گراندی فلورا، دیوسپیروس والاچیا، سرطان کولون، MTT assay

مقدمه

وین کریستین^۱ جدا شده از گیاه Vinca rosea، داروی ضد سرطان شناخته شده، اشاره نمود. در سال های اخیر علاقه قابل توجهی توسط بخش دانشگاهی به همراه صنعت دارویی به پتانسیل بالقوه این منابع طبیعی شده است. از طرفی پس از سالها پیشرفت در زمینه بهداشت امروزه نیز کشورهای توسعه یافته درگیر مبارزه و رویارویی با بیماری

طبیعت هزاران سال است که به عنوان یک منبع برای ترکیبات مؤثره درمانی شناخته می شود. همچنین به طور قابل چشمگیری بسیاری از داروهای مدرن نیز از منابع طبیعی نشأت گرفته اند. طی قرن گذشته، اقلام پر فروش دارویی جهان از این دسته بوده اند. برای مثال می توان به

1 - Vincristine

مواد گیاهی: در آذر ماه سال ۱۳۸۹ گیاهان اواریا گردنی فلورا و دیوسپیروس والایا از جنگل منطقه پراک^۸ واقع در ایپوه^۹ در کشور مالزی جمع آوری شد. گیاهان توسط سازمان تحقیقاتی جنگلداری مالزی شناسایی و تایید گردید. تهیه عصاره ها: هر کدام از دو گیاه در دمای اتاق در سایه خشک شدند و سپس توسط دستگاه خردکن مواد گیاهی خشک شده خرد و پودر گردیدند. پودرهای گیاهی بدست آمده توسط حلال هایی با قطبیت در حال افزایش (هگزان، کلرفرم و اتانول) در طی دو هفته با روش خیساندن عصاره گیری شدند. فراکسیون های حاصله درخلاء چرخان^{۱۰} و دمای پائینتر از ۶۰ °C تغلیظ گردیدند تا کاملاً غلیظ شوند. سپس عصاره مذکور در دسیکاتور کاملاً خشک شد و با استفاده از آسیاب بصورت پودر در آمد و در دمای ۲۰°C نگهداری گردید.

کشت سلولی: رده سلولی کارسینومای کولون HTC-116 دو بار در هفته در محیط RPMI 1640 (خریداری شده از شرکت SIGMA)، حاوی ۱۰٪ سرم جنین گاوی غیر فعال شده کشت داده شدند (FBS) و در انکوباتور ۳۷ °C حاوی ۵ درصد دی اکسید کربن و ۹۵ درصد اتمسفر هوا انکوبه شدند. هر ۲۴ ساعت یک بار تعویض محیط صورت می گرفت. بعد از ۴-۳ روز از کشت اولیه در زیر میکروسکوپ معکوس تراکم سلولی بررسی و در صورت نیاز سلول ها در فلاسک های جدید عبور داده می شدند. برای به حداقل رساندن جا به جایی فنوتیپی، رده سلولی برای ۴ ماه در محیط کشت باقی می ماند و سلول های پاساژ اولیه از مخزن نیتروژن مایع احیا گردیدند [۱۸].

سنجش میزان سمیت سلولی: MTT نمک محلول در آب تترازیولیم است که تحت تاثیر آنزیم های دهیدروناز موجود در میتوکندری فعال در اثر شکستن حلقه تترازیولیم به فرمازان نامحلول بنفش رنگ تبدیل می شود (شکل ۱). این ترکیب در محیط اسیدی محلول است و شدت رنگ آن در طول موج ۵۵۰-۶۰۰ nm بیشترین مقدار بوده و قابل اندازه گیری می باشد. پس از قرار دادن تعداد ۵×۱۰^۳ سلول در هر یک از چاهک های پلیت های ۹۶ خانه ای، پلیت ها به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور نگهداری شدند. غلظت های مورد نظر فراکسیون

مرگباری با نام سرطان می باشند [۱]. سرطان روده بزرگ^۱ بیماری است که در آن، سلول های بدخیم (سرطانی) در بافت روده بزرگ تشکیل می شوند. عوامل متعددی در ایجاد و گسترش سرطان روده ی بزرگ دخالت دارد؛ سن، رژیم غذایی، سابقه خانوادگی افراد، سیگار کشیدن، کم تحرکی، مصرف الکل و چاقی [۲]. شیوع سرطان کولون، چهارمین عامل متداول در مرگ های ناشی از سرطان، به طور فزاینده ای در جهان رو به رشد می باشد. بنابراین، منطقی و اقتصادی به نظر می رسد که اقدامات موثر و تحقیقات اساسی در جهت یافتن درمان های نوین سرطان کولون باید انجام شود [۳]. بهبود های مختلفی در درمان های متداول سرطان توسط یافت شدن ترکیبات ثانویه^۲ فرآورده های طبیعی و گیاهان دارویی گزارش شده است [۴،۵]. گیاهان تقریباً به عنوان پایه و اساس سیستم های طب سنتی که هزاران سال است که وجود دارد شناخته می شوند و هنوز نیز درمان های جدیدی را برای بشر فراهم می سازند (۶). قاره کهن آسیا دارای منابع بی نهایتی با رنج وسیعی از ترکیبات فرآورده های طبیعی می باشد [۷-۹]. آنوناس^۳ و ایناسه^۴ دو خانواده شناخته هستند که در زمینه ی طب سنتی از آن ها جهت درمان بیماری های مختلف استفاده بسیاری شده است [۱۰-۱۲]. شواهد بسیاری وجود دارد که این خانواده ها دارای اثرات قوی و قابل توجه سیتوتوکسیسته می باشند [۱۳-۱۴]. اهمیت خانواده آنوناسه به علت حضور فلاونوئید ها^۵ و ترکیبات خارق العاده و جذاب آستورنیز^۶ می باشد [۱۰]. بعلاوه حضور نفتوکینون ها^۷ در خانواده ایناسه نیز منجر به ظاهر شدن اثرات ضد سرطانی قابل توجهی گردیده است [۱۵،۱۶]. بنابراین هدف پژوهش فعلی، بررسی اثرات سیتوتوکسیسته فراکسیون های مختلف این دو گیاه علیه رده سلولی کارسینومای کولون HTC-116 با استفاده از روش MTT assay می باشد.

روش کار

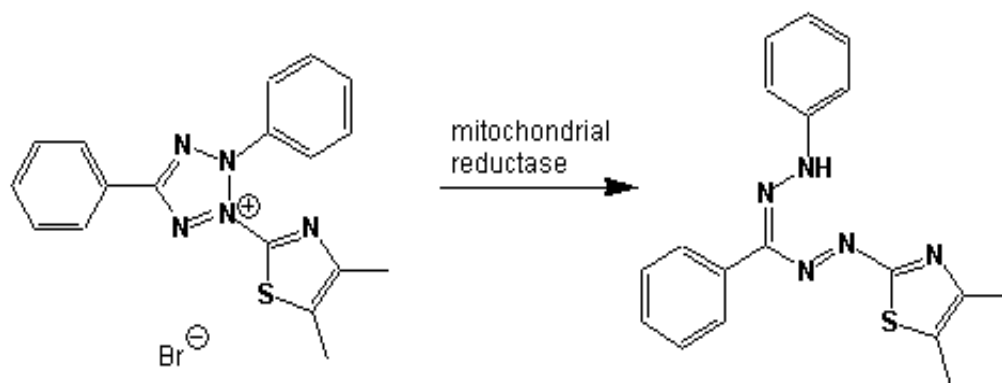
- 1 -Colon cancer
- 2 -Secondary Metabolites
- 3 -Annonaceae
- 4 -Ebenaceae
- 5 -Flavonoids
- 6 -Acetogenins
- 7 -Naphthoquinones

- 8-Perak
- 10- Ipoh
- 10 -Rotary evaporator

کشت کنترل کاهش دهد) از طریق معادله رگرسیون غیرخطی منحنی‌های رشد سلول در برابر غلظت مشتقات محاسبه شد. تمامی مراحل آزمون سه مرتبه تکرار شدند. روش‌های آماری: نتایج با استفاده از نرم افزار SPSS 15 تجزیه و تحلیل شد و با توجه به داشتن مقادیر مختلف و زمان‌های مختلف، از آزمون آماری آنالیز واریانس یکطرفه برای به‌دست‌آوردن واریانس داده‌ها و از آزمون آماری ویلکاکسون جهت تعیین معنی‌دار بودن یا نبودن اختلافات استفاده گردید. سطح معنی‌دار بودن اختلافات $p \leq 0.05$ در نظر گرفته شد.

های مختلف درست قبل از سنجش آماده گردید. توده‌های سلول زنده در زمان صفر و بعد از ۷۲ ساعت در معرض بودن فراکسیون‌های مختلف توسط نمک 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide با واسطه کاهشی معین شدند.

محلول MTT به هر یک از چاهک‌ها اضافه شد و پلیت‌ها مجدداً به مدت چهار ساعت در دمای ۳۷ سانتی گراد انکوبه شدند جهت ایجاد واکنش کاهشی MTT [۱۷]. در این مدت رنگ MTT جذب میتوکندری شده و تبدیل به کریستال‌های بنفش رنگ می‌گردد. پس از این مرحله



شکل ۱: شمای واکنش کاهشی MTT به فرمازان

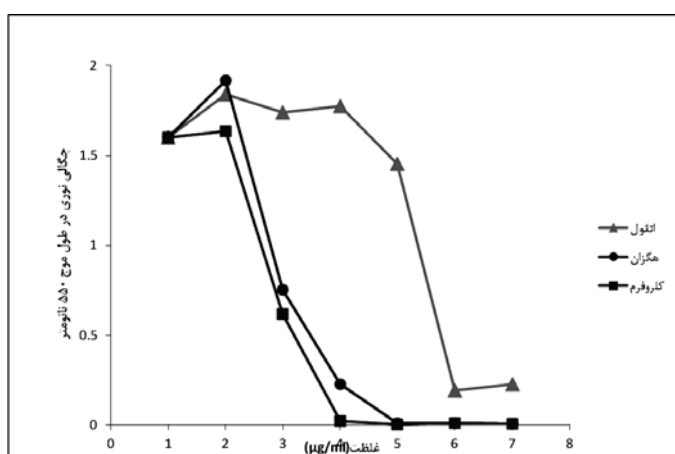
داده شده است. حداکثر فعالیت مهاري رشد و سمیت سلولی به فراکسیون کلروفرمی پوست ساقه اوریا گرندی فلورا و فراکسیون کلروفرمی میوه دیوسپیروس والاچیا با GI_{50} ۳/۸۵ و ۴/۵۸ میکروگرم بر میلی لیتر به ترتیب می باشد. اشکال ۲ و ۳ نسبت دانسیته نوری در برابر غلظ فعال راکسیون‌ها هر یک از گیاهان را نمایش می دهند.

یافته‌ها

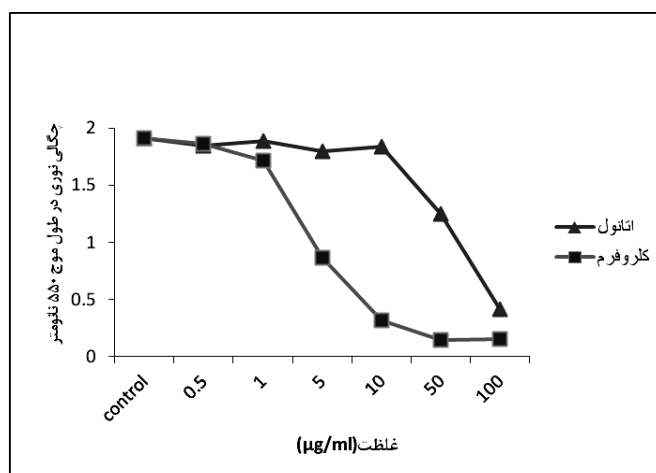
جهت سنجش سمیت سلولی فراکسیون‌های مختلف این گیاهان دارویی که در طب سنتی استفاده می شود، آزمون MMT assay همراه با رده سلولی کارسینومای کولون (HTC-116) انجام گردید. نتایج سمیت سلولی فراکسیون‌های هگزانی، کلروفرمی و اتانولی گیاهان اوریا گراندی فلورا و دیوسپیروس والاچیا در جدول ۱ نمایش محیط حاوی MTT به دقت خارج می‌شود و (DMSO Dimethyl sulfoxide) اضافه می گردد و در ادامه بافر گلاسیپین (pH=۱۰/۵) به هریک از خانه‌ها افزوده می شود. جذب آنها با دستگاه پلیت ریدر (Anthos Labtec) در طول موج ۵۵۵ نانومتر نانومتر اندازه‌گیری شد و پس از مقایسه با شاهد، نمودار مربوطه رسم گردید و GI_{50} (غلظتی از هر مشتق دارویی که ۵۰ درصد رشد سلول را نسبت به

جدول ۱: مقادیر مهارکنندگی رشد رده سلولی کارسینومای کولون توسط فراکسیون های مختلف گیاهان مورد آزمایش

فراکسیون های گیاه اواریا گراندی فلورا	GI ₅₀ (μg/ml)	فراکسیون های گیاه دیوسپیروس والاچیا	GI ₅₀ (μg/ml)
فراکسیون هگزانی برگ	>۱۰۰	فراکسیون هگزانی برگ	>۱۰۰
فراکسیون کلروفرمی برگ	>۱۰۰	فراکسیون کلروفرمی برگ	۵۸.۰
فراکسیون اتانولی برگ	>۱۰۰	فراکسیون اتانولی برگ	۵۰.۹۵
فراکسیون هگزانی پوسته ساقه	۴.۴۶	فراکسیون هگزانی پوسته ساقه	قابل اجراء نبود
فراکسیون کلروفرمی پوسته ساقه	۳.۸۵	فراکسیون کلروفرمی پوسته ساقه	۴.۵۸
فراکسیون اتانولی پوسته ساقه	۷۱.۵۳	فراکسیون اتانولی پوسته ساقه	۶۷.۷
کوئرستین		۲۱.۴۷	
استاندارد منفی		رشد کامل	



شکل ۲: نمودار اثر فراکسیون های مختلف پوست شاخه گیاه اواریا گراندی فلورا بر رده سلولی کارسینومای کولون در طول موج ۵۵۰ نانومتر



شکل ۳: نمودار اثر فراکسیون های مختلف میوه گیاه دیوسپیروس والاچیا بر رده سلولی کارسینومای کولون در طول موج ۵۵۰ نانومتر

بحث

با توجه به این موضوع که امروزه بسیاری از تحقیقات مربوط به فرآورده های طبیعی و گیاهان دارویی بر روی ترکیبات موثره و خالص شده انجام می گیرند اما در این مطالعه ما در فاز اول تحقیقاتیمان، از فراکسیون های مختلف بهره جستیم. قابل ذکر می باشد که مجموعه مواد مختلف می توانند برترهایی را در مقایسه با ترکیبات خالص را دارا باشند. این امر در مطالعه ای که ترکیبات خام در مقایسه با ترکیبات خالص شده اثرات بهتری در مرگ سلول های سرطانی را نشان دادند، که نشان دهنده نوعی سینرژیسم بین آنهاست، به اثبات رسیده شده است [۱۸]. در دنیای پزشکی امروز استفاده از فرآورده های طبیعی و گیاهان دارویی برای مدیریت و درمان دامنه ی گسترده ای از بیماری های انسانی از جمله انواع بدخیمی ها و سرطان در حال رشد روز افزون می باشد. بدیهی است که جراحی، اشعه درمانی و استفاده از داروهای ضد سرطان که از روش های شناخته شده در درمان سرطان می باشند، اکثراً با بهبودی نسبی و زنده ماندن دوره چند ساله بیماران همراه هستند. داروهای ضد سیتوتوکسیک مناسب و قابل قبول ترکیباتی هستند که با کمترین عارضه جانبی روی سلول های طبیعی، به صورت انتخابی سلول های سرطانی و توموری را از بین ببرند. در مطالعه حاضر مقدار GI_{50} فراکسیون کلروفومی پوست شاخه گیاه اواریا گراندی فلورا نشان دهنده حضور ترکیبات بسیاری جذاب و جالبی در آن می باشد. بر اساس روش عصاره گیری (خیساندن)

و بررسی متون در ارتباط با این گونه گیاهی و خانواده اواریا این موضوع قابل استنتاج می باشد که ترکیبات فلاونویدی و استوئینیزی مسئول این اثر می باشند. به نظر می رسد استوئینیزها، که در گیاهان خانواده انوناسه یافت می شوند، فیتوکمیکال های قدرتمندی می باشند که سابقه طولانی و غنی در طب گیاهی بومی را دارا می باشند. بسیاری از ترکیبات و مواد شیمیائی این دسته گیاهی از سال ۱۹۴۰ مورد شناسایی و تحقیق قرار گرفتند. استفاده های بسیاری از این دسته ترکیب در طب طبیعی شده است و که تحقیقات علمی آن تایید شده است. اولین مطالعات بین سال های ۱۹۴۱ و ۱۹۶۲ بودند. به تازگی تشخیص داده شده است که استوئینیزها مهار کننده های فوق العاده

کمپلکس I در سیستم های انتقال الکترون در میتوکندری موجودات زنده از جمله تومورها می باشند. مطالعه دیگری نشان داد که استوئینیزها موجود در گونه اواریا به طور انتخابی اثر سیتوتوکسیک بر سلول های سرطان روده بزرگ دارد که مقدار آن ۱۰،۰۰۰ بار از قدرت آدریامایسین^۱ (یک داروی شیمی درمانی) بیشتر بود [۱۹،۲۰]. مقدار GI_{50} فراکسیون کلروفومی میوه و همچنین برگ دیوسپیروس والاچیا نشان از این دارد که ترکیبات نفتوکینون می توانند مسئول این امر باشند. دلیل حضور تفتوکینون ها نیز بر اساس نحوه عصاره گیری و همچنین ضریب پخش مواد شیمیایی در فاز آلی کلروفومی می باشد. در بررسی متون مشاهده می گردد که ترکیبات 1,4-Naphthoquinones در گونه دیوسپیروس بسیار یافت می شوند. این ترکیبات دارای اثرات بسیار شناخته شده سیتوتوکسیک می باشند [۲۰].

نتیجه گیری

نتایج حاصل از این تحقیق نشان از اثرات سیتوتوکسیک فراکسیون های مختلف گیاهان اواریا گراندی فلورا و دیوسپیروس والاچیا بر سلول های سرطان کولون (-HTC) 116 دارد که چنین مطالعه ای با استفاده از عصاره این گیاهان تا به حال صورت نگرفته بود. این یافته ها نشان دهنده این موضوع است که این گیاهان می توانند به عنوان یک منبع فرآورده طبیعی و گیاه دارویی، پیشنهاد و راه حل قابل تاملی به منظور درمان موثر و حتی در جلوگیری از پیشرفت رشد سلول های سرطانی در محیط داخل سلولی (In vivo) مورد توجه قرار گیرند. برای نیل به این اهداف مطالعات وسیعتری بر رده های سلولی مختلف مرتبط با سرطان روده بزرگ در محیط In vitro احتیاج می باشد تا با اطمینان بیشتری در مورد کاربرد آن به طور In vivo بحث کرد. پیشنهاد می شود علاوه بر بررسی های فیتوشیمیایی و جداسازی و تعیین ساختار ترکیبات موثره این دو گیاه، تحقیقات بیشتری در مورد غلظت های مختلف تومورهای مشخصی بر حیوانات آزمایشگاهی مورد استفاده قرار بگیرند تا بتوان در صورت یافتن جوابی مناسب و قابل قبول آن را به صورت یک روش درمانی پذیرفته و موثر استفاده کرد.

1- Adriamycin

تشکر و قدردانی

برادشو و خانم جسیکا چو برای همکاری در انجام تست های سیتوتوکسیک تشکر و قدردانی می شود.

References

1. Ueda J, Tezuka Y, Banskota AH, Tran Q, Harimaya y, Saiki I, et al. Antiproliferative activity of vietnamese medicinal plants. Biol Pharm Bull. 2002;25:753-760.
2. Garland CF, Garland FC. Do sunlight and vitamin D reduce the likelihood of colon cancer? Int J Epidemiol 1980; 9:227-31
3. Grever MCB. Cancer drug discovery and development. In: V.H.S. De Vita and S.A. Rosenberg, Editors, Cancer: Principles and Practice of Oncology,. Lippincott-Raven; Philadelphia,. 2001.p.328-339.
4. Newman DJ, Cragg GM, Sander KM. The influence of natural products upon drug discovery. Nat. Prod. Rep. 2000; 17:215-234.
5. Butter MS. The role of natural product chemistry in drug discovery. J Nat Prod. 2004; 67:2141-2153.
6. Gurib-Fakim A. Medicinal plants: traditions of yesterday and drugs of tomorrow. Mol Aspects Med. 2006 ;27(1):1-93
7. Wiart C, Hannah A, Yusof M, Hamimah H, Sulaiman M. 2005. Growth inhibition of foodborne and nosocomial pathogens by aqueous fraction of bearded Argostemma. (Argostemma involucreatum Hemsl., Rubiaceae). J Herb. Pharmacother. 2005, 5(3):97 -102.
8. Wiart C, Mogana S, Khalifah S, Mahan M, Ismail S., Sulaiman M. 2004. Antimicrobial screening of plants used for traditional medicine in the state of Perak. Fitoterapia. 2004, 75, 68-73.
9. Aminimoghadamfarouj A, Nematollahi A, Wiart C. Anti- bacterial, Antioxidant activity and Phytochemical study of. Uvaria grandiflora: A rare species of Annonaceae. J Pharm Res. 2011;4(4):954-955.
10. Aminimoghadamfarouj N, Nematollahi A, Wiart C., Annonaceae: bio-resource for tomorrow's drug discovery., J Asian Nat Prod Res. 2011 May;13(5):465-76.
11. Jain N, Yadava R. Peregrinol. a lupanetype triterpene from the fruits of Diospyros peregrina. Phytochemistry. 1994 : 35: 1070-1072.
12. Kuo YH, Chang CI, Kuo YH. Triterpenes from Diospyros maritima. Phytochemistry. 1997, 46:1135-1137.
13. Buckpitt, A., Boland, B., Isbell, M., Morin, D., Shultz, M., Baldwin, R., Chan, K., Karlsson, A., Lin, C., Taff, A. et al. 2002. Naphthalene-induced respiratory tract toxicity: Metabolic mechanisms of toxicity. Drug Metabolism Reviews 34, 791-820.
14. Ndob IB, Champy P, Gleye C, Lewin G, Akendengué B. Annonaceous acetogenins: Precursors from the seeds of Annona squamosa . Phytochem. Lett. 2009; 2:72-76.
15. Khan MR, Nkunya MHH, Wevers H . Triterpenoids from leaves of diospyros species. Planta Medica. 1980; 38: 380-381.
16. Gafner F, Chapuis JC, Msonthi J, Hostettmann K. Cytotoxic naphthoquinones, molluscicidal saponins and flavonols from Diospyros zombensis. Phytochemistry. 1987; 26:2501-2503.
17. Bradshaw TD, Matthews CS, Cookson J, Chew EH, Shah. M, Bailey K, Monks A, Harris E, Westwell AD, Wells G., Laughton CA, Stevens MF. Elucidation of thioredoxin as a molecular target for antitumor quinols. Cancer Res. 2005; 65(9):3911-3919.
18. Fini L, Hotchkiss E, Fogliano V, Graziani G, Romano M, De Vol EB, et al. Chemopreventive properties of pinorensinol-rich olive oil involve a selective activation of the ATM-p53 cascade in colon cancer cell lines. Carcinogenesis. 2008 Jan; 29(1):139-46.
19. Rieser MJ, Gu ZM, Fang XP, Zeng L, Wood KV, McLaughlin JL., Five novel mono-tetrahydrofuran ring acetogenins from the seeds of Annona muricata., J Nat Prod. 1996 Feb;59(2):100-8.
20. Nematollahi A, Aminimoghadamfarouj N, Wiart C., Reviews on 1,4-naphthoquinones from Diospyros L., J Asian Nat Prod Res. 2012;14(1):80-8.

Original Article

Cytotoxic effect of hexane, chloroform and ethanol fractions of *Uvaria grandiflora* Roxb And *Diospyros wallichii* King&Gamble on human colon carcinoma HTC-116 cell line

Golshan A¹, Jalilvand M², Kamali H³, Khakshor A⁴, Nematollahi A^{5*}

¹Assistant Professor of Urology, School of Medicine, North Khorasan University of Medical Sciences, Bojnurd, Iran

²M.Sc of Nutrition and Food Science, Natural Products Safety and Medicinal Plants Research Center, North Khorasan University of Medical Sciences, Bojnurd, Iran

³M.Sc of Chemical Engineering, Natural Products Safety and Medicinal Plants Research Center, North Khorasan University of Medical Sciences, Bojnurd, Iran

⁴Assistant Professor of Pediatrics, School of Medicine, North Khorasan University of Medical Sciences, Bojnurd, Iran

⁵Pharm.D, Natural Products Safety and Medicinal Plants Research Center, North Khorasan University of Medical Sciences, Bojnurd, Iran

***Correspondence Author:**
Natural Products Safety and
Medicinal Plants Research
Center, North Khorasan
University of Medical Sciences
Email:
alireza_nemat@yahoo.com

Abstract

Background & Objectives: Since the incidence rate of colon carcinoma is growing significantly and natural products and medicinal plants are widely used in cancer treatment, the cytotoxic effects of two unstudied medicinal plants have been studied.

Material & Methods: Different concentration of the hexane, chloroform and ethanol fractions of *Uvaria grandiflora* Roxb. (leaves and stem barks) and *Diospyros wallichii* King&Gamble. (fruits and stem barks) were subjected to cytotoxic investigation against HTC-116 cell line by using MTT technique. In this study, quercetin was used as a positive control.

Results: The chloroform fraction of *Uvaria grandiflora* Roxb. stem barks and the chloroform fraction of *Diospyros wallichii* King&Gamble. Fruits exhibit the highest growth inhibiting activities among all the tested samples with the GI50 value of 3.85 µg/ml and 4.58 µg/ml, respectively.

Conclusion: From the obtained results, it was concluded that the Naphthoquinones derivatives from *Diospyros wallichii* and Flavonoids from *Uvaria grandiflora* are responsible for pharmacological and biological activities. Therefore, more investigations and isolations are recommended.

Keywords: cytotoxic, *Uvaria grandiflora*, *Diospyros wallichii*, colon carcinoma, MTT assay.

Submitted: 2012 Jul 16

Revised: 2012 Aug 26

Accepted: 2012 Aug 15

