مجله دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی
تابستان ۱۳۹۱؛۴(۲):۲۵۸-۲۵۳

Journal of North Khorasan University of Medical Sciences
Summer 2012;4(2):253-258

مقاله پژوهشی

بررسی اثرات سیتوتوکسیسیته فراکسیون های هگزانی، کلروفرمی و اتانولی گیاهان اواریا گراندی‌فلورا و دیوسپیروس والاچیا بر روی رده سلولی کارسینومای کولون

علیرضا گلشن[۱]، محمدرضا جلیلوند[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، معاونـــت غـذا و دارو، مرکز تحقیقات ایمنی فرآورده های طبیعی وگیاهان 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 ایـن مطالعـه اثرات سیتوتوکسیسیته سلولی دو گیاه دارویی مورد بررسی قرار گرفته شده است.*

مواد و روش کار: *اثرات سیتوتوکسیسیته سلولی فراکسیون های هگزانی، کلروفرمی و اتانولی دو گیاه دیوسپیورس والاچیا و اواریا گرندی فلورا با استفاده از رده سلولی تومور انسانی شامل HTC-116 (کارسـینومای کولون) و با به‌کارگیری روشMTT assay مورد ارزیابی قرار گرفت. در ایـن روش جهـت کنتـرل و مقایسه از ماده فلاونوییدی کوئرستین با اثر سیتوتوکسیسیته شناخته شده استفاده گردید.*

یافته‌ها: *نتایج این بررسی نشان داد که جزء کلروفرمی پوست ساقه گیاه اواریا گرندی فلورا و جزء کلروفرمی میوه گیاه دیوسپیروس والاچیا بیشترین اثر مهاری 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 دیوسپیوروس و فلاونوئیدی در گیاه اوریا 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

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 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

1 -Vincristine

مرگباری با نام سرطان می باشند[۱]. سرطان روده بزرگ[1] بیماری است که در آن، سلولهای 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 فزآینده 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[2] 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 رِنج وسیعی از ترکیبات فرآورده های طبیعی می باشد [۷-۹]. آنوناسه[3] و ابناسه[4] 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 سیتوتوکسیسیته می باشند [۱۳-۱۴]. اهمیت خانواده آنوناسه به علت حضور فلاونویید ها[5] و ترکیبات خارق العاده و جذاب آستوژنینز[6] می باشد [۱۰]. بعلاوه حضور نفتوکینون ها[7] در خانواده اِبناسه نیز منجر به ظاهر شدن اثرات ضد سرطانی قابل توجهی گردیده است [۱۵،۱۶]. بنابراین هدف پژوهش فعلی، بررسی اثرات سیتوتوکسیسیته فراکسیون های مختلف این دو گیاه علیه رده سلولی کارسینومای کولون HTC-116 با استفاده از روش MTT assay می باشد.

روش کار

مواد گیاهی: در آذر ماه سال ۱۳۸۹ گیاهان اواریا گرندی فلورا و دیوسپیروس والاچیا از جنگل منطقه پراک[8] واقع در ایپوه[9] 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[10] و دمای پائینتر از $60\ c^{\circ}$ تغلیظ گردیدند تا کاملاً غلیظ شوند. سپس‌عصاره مذکور در دسیکاتور کاملاً خشک شد و با استفاده از آسیاب بصورت پودر در آمد و در دمای $-20c^{\circ}$ 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 $37\ C^{\circ}$ حاوی ۵ درصد دی اکسید کربن و ۹۵ درصد اتمسفر هوا انکوبه شدند. هر ۲۴ ساعت یک بار تعویض محیط صورت می‌گرفت. بعد از ۴-۳ روز از کشت اولیه در زیر میکروسکوپ معکوس تراکم سلولی بررسی و در صورت نیاز سلول‌ها در فلاسک‌های جدید عبور داده می‌شدند. برای به حداقل رساندن جا به جایی فنوتیپی، رده سلولی برای ۴ ماه در محیط کشت باقی می مانند و سلول های پاساژ اولیه از مخزن نیتروژن مایع احیا گردیدند[۱۸].

سنجش میزان سمیت سلولی: MTT نمک محلول در آب تترازولیوم است که تحت تاثیر آنزیم‌های دهیدروژناز موجود در میتوکندری فعال در اثر شکستن حلقه تترازولیوم به فرمازان نامحلول بنفش رنگ تبدیل می‌شود (شکل۱). این ترکیب در محیط اسیدی محلول است و شدت رنگ آن در طول موج ۵۵۰-۶۰۰ nm بیشترین مقدار بوده و قابل اندازه‌گیری می‌باشد. پس از قرار دادن تعداد 5×10^{3} سلول در هر یک از چاهک‌های پلیت‌های ۹۶ خانه‌ای، پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور نگهداری شدند. غلظت‌های مورد نظر فراکسیون

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

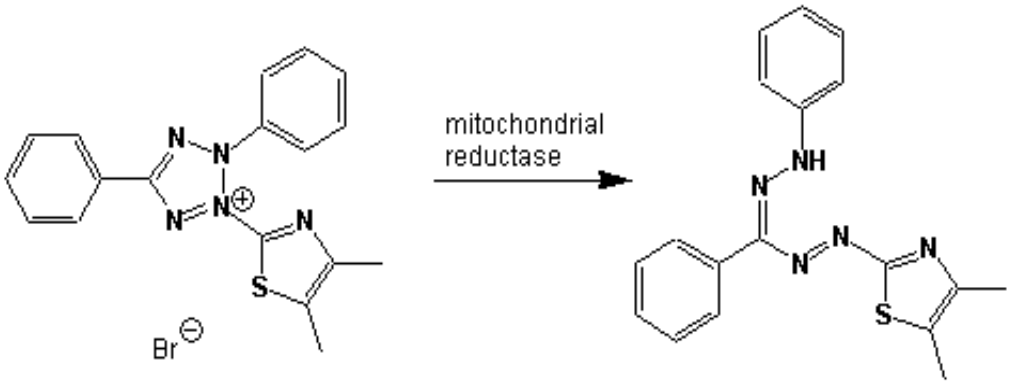
8-Perak
10- Ipoh
10 -Rotary evaporator

های مختلف درست قبل از سنجش آماده گردید. توده های سلول زنده در زمان صفر و بعد از ۷۲ ساعت درمعرض بودن فراکسیون های مختلف توسط نمک 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide باواسطه 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 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، ازآزمون آماری آنالیز واریانس یکطرفه برای به‌دست‌آوردن واریانس داده‌ها و از آزمون آماری ویلکاکسون جهت تعیین‌معنی‌دار بودن یا نبودن اختلافات استفاده گردید. سطح معنی‌دار بودن اختلافات $p\leq ۰/۰۵$ در نظر گرفته شد.



شکل۱: شمای واکنش کاهشی MTT به فرمازان

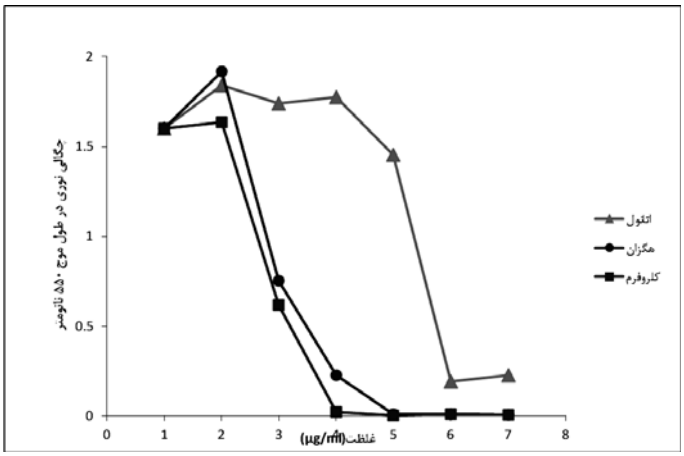
یافته ها

جهت سنجش سمیت سلولی فراکسیون های مختلف این گیاهان دارویی که در طب سنتی استفاده می شود، آزمونMMT assay همراه با رده سلولی کارسینومای کولون (HTC-116) انجام گردید. نتایج سمیت سلولی فراکسیون های هگزانی، کلروفرمی و اتانولی گیاهان اوریا گراندی فلورا و دیوسپیروس والاچیا در جدول ۱ نمایش

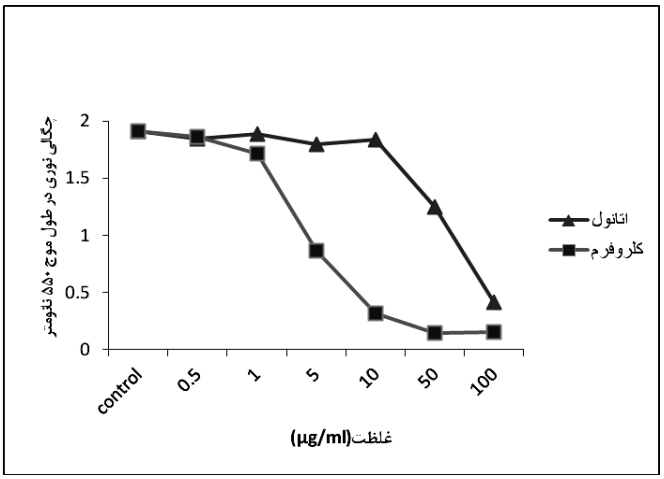
محیط حاوی MTT به دقت خارج می‌شود و (DMSO Dimethyl sulfoxide) اضافه می گردد و در ادامه بافر گلایسین (pH=۱۰/۵) به هریک از خانه ها افزوده می شود. جذب آنها با دستگاه پلیت ریدر (Anthos Labtec) در طول موج ۵۵۵ نانومتر نانومتر اندازه‌گیری شد و پس از مقایسه با شاهد، نمودار مربوطه رسم‌گردید و GI_{50} (غلظتی از هر مشتق داروئی که ۵۰ درصد رشد سلول را نسبت به داده شده است. حداکثر فعالیت مهاری 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 ۲و۳ نسبت دانسیته نوری در برابر غلظ فعال راکسیون ها هر یک از گیاهان را نمایش می دهند.

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

فراکسیون های گیاه اواریا گراندی فلورا	$GI_{50}(\mu g/ml)$	فراکسیون های گیاه دیوسپیروس والاچیا	$GI_{50}(\mu g/ml)$
فراکسیون هگزانـــی برگ	۱۰۰>	فراکسیون هگزانـــی برگ	۱۰۰>
فراکسیون کلروفرمی برگ	۱۰۰>	فراکسیون کلروفرمی برگ	۵.۸۰
فراکسیون اتانـــولی برگ	۱۰۰>	فراکسیون اتانـــولی برگ	۵۰.۹۵
فراکسیون هگزانی پـــوسته ساقه	۴.۴۶	فراکسیون هگزانی پـــوسته ساقه	قابل اجراء نبود
فراکسیون کلروفرمی پوسته ساقه	۳.۸۵	فراکسیون کلروفرمی پوسته ساقه	۴.۵۸
فراکسیون اتانولی پوســـته ساقه	۷۱.۵۳	فراکسیون اتانولی پوســـته ساقه	۶۷.۷
کوئرستین		۲۱.۴۷	
استاندارد منفی		رشد کامل	



شکل۲: نمودار اثر فراکسیون های مختلف پوست شاخه گیاه اواریا گرندی فلورا بر رده سلولی کارسینومای کولون در طول موج ۵۵۰ نانومتر



شکل۳: 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 می‌گیرند اما در این مطالعه ما در فاز اول تحقیقاتیمان، از فراکسیون های مختلف بهره جستیم. قابل ذکر می باشد که مجموعه مواد مختلف می‌توانند برترهایی را در مقایسه با ترکیبات خالص را دارا باشند. این امر در مطالعه‌ای که ترکیبات خام در مقایسه با ترکیبات خالص شده اثرات بهتری در مـــرگ سلول‌های سرطانی را نشان دادند، که نشاندهنده 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 بیماری‌های 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 روش‌های 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 سلول‌های طبیعی، به صورت انتخابی سلول‌های سرطانی و توموری را از بین ببرند. در مطالعه حاضر مقدار GI_{50} فراکسیون کلروفرمی 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 وخانواده اواریا این موضوع قابل استنتاج می باشد که ترکیبات فلاونوییدی و استوژنینزی مسئول این اثر می باشند. به نظر می رسد استوژنینزها، 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 سال۱۹۴۰ 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 استوژنینزها 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 استوژنینزها موجود در گونه اواریا به طور انتخابی اثر سایتوتوکسیک بر سلول های سرطان روده بزرگ دارد که مقدار آن ۱۰،۰۰۰ بار از قدرت آدریامایسین[1] (یک داروی شیمی درمانی) بیشتر بود[۱۹،۱۰] مقدار GI_{50} فراکسیون کلروفرمی میوه و همچنین برگ دیوسپیورس 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 کلروفرمی 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 گرندی فلورا و دیوسپیروس والاچیا بر سلولهای 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 داروئی، پیشنهاد و راه حل قابل تاملی به منظور درمان موثر و حتی در جلوگیری از پیشرفت رشد سلولهای 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 غلظتهای مختلف بر 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

بدین وسیله از گروه تحقیقات بیوتکنولوژی و فارماکولوژی دانشگاه ناتینگهام انگلستان، سر کار خانم دکتر تریسی 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 anddevelopment. 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 drugdiscovery. 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 involucratum 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 activityand 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. 18) Fini L, Hotchkiss E, Fogliano V, Graziani G, Romano M, De Vol EB, et al. Chemopreventive properties of pinoresinol-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 A[1], Jalilvand M[2], Kamali H[3], Khakshor A[4], Nematollahi A[5]*

[1]Assistant Professor of Urology, School of Medicine, North Khorasan University of Medical Sciences, Bojnurd, Iran
[2]M.Sc of Nutrition and Food Science, Natural Products Safety and Medicinal Plants Research Center, North Khorasan University of Medical Sciences, Bojnurd, Iran
[3]M.Sc of Chemical Engineering, Natural Products Safety and Medicinal Plants Research Center, North Khorasan University of Medical Sciences, Bojnurd, Iran
[4]Assistant Professor of Pediatrics, School of Medicine, North Khorasan University of Medical Sciences, Bojnurd, Iran
[5]Pharm.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*