مقاله
پژوهشی

ظرفیت مهار رادیکال آزاد و اثر سمیت سلولی عصاره متانولی گیاه Eremostachys labiosiformis (Popov) Knorring بر روی رده سلولی Vero

سارا اسدی بربریها[1]، فاطمه رودباری[2]*، مریم مهاجرانی[3]، آرمان محمودی اطاقوری[4]، صادق پورمرادی[5]، سعید کاووسیان[6]، نسرین حسن‌زاده[7]

[1]کارشناس ارشد میکروبیولوژی، گروه زیست شناسی سلولی و مولکولی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران
[2]استادیار، دکتری ویروس‌شناسی پزشکی، گروه زیست‌شناسی سلولی و مولکولی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران
[3]دانشیار، دکتری بیوشیمی، گروه زیست‌شناسی سلولی و مولکولی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران
[4]استادیار، دکتری سیستماتیک گیاهی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران
[5]دانشجوی دکتری بیوتکنولوژی، عضو هیئت علمی بخش تحقیقات منابع طبیعی، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی مازندران، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، ساری، ایران
[6]کارشناس ارشد زیست‌شناسی سلولی و مولکولی، پژوهشکده شمال کشور انستیتو پاستور ایران، آمل، ایران
[7]کارشناس ارشد بیوتکنولوژی، پژوهشکده شمال کشور انستیتو پاستور ایران، آمل، ایران
*نویسنده مسئول: ایران، بابلسر، دانشگاه مازندران، دانشکده علوم پایه
پست الکترونیک: Roudbari@umz.ac.ir

چکیده

زمینه و هدف: *تجمع رادیکال‌های آزاد اکسیژن منجر به تنش اکسیداتیو می‌شود. این تنش می‌تواند با تغییر در فعالیت آنزیم‌ها، بیان ژن، آزادسازی کلسیم از ذخایر سلولی بر ساختار غشا، رشد و مرگ سلول‌ها اثر بگذارد. گیاهان غنی از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی هستند که با حفاظت از سلول‌ها و افزایش قدرت آنتی‌اکسیدان‌های پلاسما، ابتلا به برخی بیماری‌های مزمن مانند سرطان، بیماری‌های قلبی و سکته مغزی را کاهش می‌دهند. مطالعه حاضر به ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی و سمیت سلولی عصاره متانولی گیاه Eremostachys labiosiformis(Popov) Knorring می‌پردازد.*

مواد و روش کار: *گیاه E.labiosiformis پس از جمع‌آوری، در مجاورت هوا خشک و پودر گردید. عصاره متانولی به روش خیساندن تهیه شد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی با روش مهار رادیکال آزاد (DPPH) و ارزیابی اثر سمیت سلولی بر رده‌ی سلولی vero با روش MTT مورد سنجش قرار گرفت.*

یافته‌ها: *ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ی متانولی E.labiosiformis، IC50=۰/۳۹۲mg/ml و اثر سمیت سلولی (CC50)، طی زمان‌های مختلف ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت به ترتیب ۱۳۲۹/۱۶µg/ml، ۱۳۶۰/۲۵µg/ml و ۱۱۵۹/۷۱µg/ml محاسبه گردید.*

نتیجه‌گیری: *نتایج مقایسه‌ی خاصیت آنتی‌اکسیدانی گیاه E.labiosiformis با اسید آسکوربیک نشان داد، این گیاه نسبت به سایر گیاهان مشابه فعالیت خوبی در مهار رادیکال آزاد دارد و با توجه به سنجش سمیت عصاره مشخص گردید؛ عصاره‌ی متانولی گیاه مذکور می‌تواند برای استفاده‌های درمانی بی‌خطر باشد. با این حال، برای نتیجه‌گیری قطعی، استفاده از رده‌های سلولی دیگر و همچنین مطالعات در شرایط invivo پیشنهاد می‌گردد.*

واژه‌های کلیدی: *Eremostachys labiosiformis (Popov) Knorring، آنتی‌اکسیدان، کشت سلولی، سمیت سلولی*

وصول: ۹۴/۱۰/۱۲
اصلاح: ۹۴/۱۰/۲۶
پذیرش: ۹۵/۹/۲۰

DOI: *http://journal.nkums.ac.ir/article-1-1045-fa.html*
Cite this article as: *Asadi barbariha S, Roudbari F, Mohajerani M, Mahmoudi Otaghvari A, Pourmoradi S, Kavoosian S et al . Evaluation of free radical scavenging capacity and cytotoxiceffect of methanol extracts of plant Eremostachys labiosiformis (Popov) Knorring on Vero cells . JNKUMS. 2017; 8 (4) :633-641*

مجله دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی سال ۹۵، دوره ۸ (۴): ۶۴۱-۶۳۳
Journal of North Khorasan University of Medical sciences 2016;8(4):633-641

مقدمه

استرس اکسیداتیو ناشی از رادیکال‌های اکسیژن بعنوان عامل اصلی در ایجاد بیماری‌های دژنراتیو مختلف از قبیل سرطان، تصلب شرایین و زخم معده شناخته شده است [۱]. تجمع انواع اکسیژن فعال (ROS)[۱] از جمله پراکسید هیدروژن (H_2O_2)، آنیون سوپراکسید (O_2^-) و رادیکال‌های آزاد مانند رادیکال هیدروکسیل (OH) سبب تغییر در فعالیت آنزیم‌ها، بیان ژن و آزادسازی کلسیم از ذخایر سلولی می‌گردد [۲]. این مولکول‌های ناپایدار و بسیار واکنش‌پذیر توسط واکنش‌های زنجیره‌ای شیمیایی مانند پراکسیداسیون لیپیدی یا با تشکیل ترکیباتی در DNA می‌توانند در ساختار غشا، رشد، جهش و مرگ سلول‌ها و نیز ایجاد سرطان تأثیرگذار باشند [۱،۳].

آنتی‌اکسیدان‌ها در سیستم‌های بیولوژیکی نقش‌های متعددی شامل جلوگیری از آسیب اکسیداتیو و شرکت در مسیر سیگنالینگ سلول بر عهده دارند [۱]. شواهد بسیار زیادی دال بر سمی بودن و اثرات سوءتغذیه‌ای آنتی‌اکسیدان‌های ساختگی اضافه شده به مواد غذایی مانند بوتیل هیدروکسی آنیزول (BHA)[۲]، بوتیل هیدوکسی تولوئن (BHT)[۳] وجود دارد و همچنین خطر آسیب کبدی و ایجاد سرطان در حیوانات آزمایشگاهی در استفاده از این آنتی‌اکسیدان‌ها به اثبات رسیده است [۴،۵] لذا توجه به آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی که در بخش‌های مختلف دارای ترکیبات فیتوشیمیایی هستند بیشتر شده است [۵]. گیاهان، غنی از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی بوده و با حفاظت سلول‌ها و افزایش قدرت آنتی‌اکسیدان‌های پلاسما، ابتلا به برخی بیماری‌های مزمن مانند سرطان، بیماری‌های قلبی، سکته مغزی، از دست دادن حافظه، آرتریت روماتوئید و آب مروارید را کاهش می‌دهند [۱،۴]. فلاونوئیدها و آلکالوئیدها که معمولاً در گیاهان دارویی وجود دارند فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالایی را به خود اختصاص داده‌اند [۵].

1-Reactive Oxygen Species
2-Butyl Hydroxy Anisole
3-Butyl Hydroxy Toluene

گیاه Eremostachys labiosiformis (Popov) Knorring گونه‌ای از گیاهان گلدار خانواده نعناعیان[۴] است که به سنبل بیابانی معروف می‌باشد. این گیاه بومی ایران، افغانستان و ترکمنستان و دارای ترکیبات فعال دارویی شامل آلکالوئیدها[۵]، ساپونین‌ها[۶]، فلاونوئیدها[۷] و تانن‌ها[۸] است [۶،۷] با توجه به اینکه خانواده نعناعیان دارای ترکیبات پلی‌فنلی بوده و ترکیبات فنلی با وزن مولکولی زیاد (تانن‌ها) توانایی بالایی برای پاکسازی رادیکال‌های آزاد دارند [۱۴،۱۷] و مطالعه‌ای در رابطه با ارزیابی خاصیت آنتی‌اکسیدانی و اثر سمیت سلولی عصاره متانولی آن بر روی رده سلولی Vero[۹] (سلول اپیتلیال کلیه میمون سبز آفریقایی طبیعی و بالغ) صورت نگرفته لذا مطالعه‌ای در این زمینه صورت گرفت.

روش کار

گونه‌ی گیاهی E.labiosiformis در مرحله گلدهی، اواسط اردیبهشت ماه سال ۱۳۹۴ از ارتفاعات کوه بابا موسی واقع در شهرستان بجنورد استان خراسان شمالی جمع‌آوری و در اداره محیط زیست بجنورد به شماره هرباریوم (EDBH:00108) نگهداری (شکل ۱) و برای شناسایی مجدد و انجام آزمایشات به آزمایشگاه بخش گیاه‌شناسی دانشگاه مازندران منتقل شد. بخش‌های هوایی گیاه بعد از شستن کامل در مجاورت هوا و در سایه خشک و پودر گردید. ۲۰ گرم پودر گیاه در متانول ۸۰ درصد به مدت ۴۸ ساعت در دمای اتاق خیسانده و مخلوط گردید. در نهایت عصاره توسط دستگاه تقطیر در خلاء در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد تغلیظ شد.

برای انجام ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی با روش دی فنیل پیکریل هیدارزیل (DPPH)[۱۰] از روش شیمادا[۱۱] و همکاران (۱۹۹۲) استفاده شد [۸]. بر این اساس ۱/۵ میلی‌لیتر از غلظت‌های مختلف عصاره (۱۲۵، ۲۵۰، ۵۰۰،

4-Labiatae (Lamiaceae)
5-Alkaloids
6-Saponins
7-Flavonoids
8-Tannins
9-Vero
10-diphenyl-1-picrylhydrazyl
11 -Shimada

۱۰۰۰، ۲۰۰۰، ۴۰۰۰ میکروگرم/میلی‌لیتر) با ۱/۵ میلی‌لیتر محلول ۰/۰۰۴ درصد DPPH مخلوط و در مکانی تاریک و در دمای اتاق به مدت ۱۵ دقیقه قرار گرفت. سپس جذب مخلوط توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر در ۵۱۷ نانومتر با بلانک متانول قرائت شد. درصد مهار رادیکال DPPH طبق فرمول زیر محاسبه گردید:

Scavenging Activity (%) = [(A - B)/A] x 100

A: جذب بلانک متانول B: جذب نمونه

برای تعیین آستانه سمیت سلولی عصاره متانولی E.Labiosiformis با روش MTT، سلول‌های Vero به تعداد مناسبی (۶۰۰۰ سلول/چاهک) در میکروپلیت ۹۶ خانه‌ای کشت داده شدند آنگاه به مدت ۲۴ ساعت در گرمخانه ۳۷ درجه سانتیگراد و ۵٪ CO_2 قرار گرفتند تا تک لایه سلولی تشکیل گردد. سپس از گرمخانه خارج و در زیر هود، غلظت‌های مختلف عصاره متانولی E.labiosiformis (۲۰۰۰، ۱۰۰۰، ۵۰۰، ۲۵۰، ۱۲۵، ۶۲/۵، ۳۱/۲۵ میکروگرم/ میلی‌لیتر) به سلول‌ها افزوده گردید. چاهک‌های کنترل نیز شامل کنترل سلول که محتوی سلول و محیط کشت کامل و کنترل بلانک که بدون سلول و محیط کشت کامل است تعیین و میکروپلیت‌ها تا زمان‌های مورد نیاز (۷۲- ۴۸- ۲۴ ساعته) مجدداً در گرمخانه ۳۷ درجه سانتیگراد و ۵٪ CO_2 قرار گرفتند. بعد از طی زمان‌های مورد آزمایش، سلول‌ها با فسفات سالین PBS شستشو شدند رنگ MTT به چاهک‌ها اضافه و میکروپلیت به مدت ۳ ساعت انکوبه گردیدند. در نهایت جذب نوری سلول‌ها در طول موج ۵۷۰ نانومتر توسط دستگاه الایزا ریدر (Bio Tek, model: Elx800) خوانده شد.

درصد بقای سلول‌ها توسط فرمول زیر محاسبه گردید.

viability(%) = [(A - B)/(C-B)] x 100

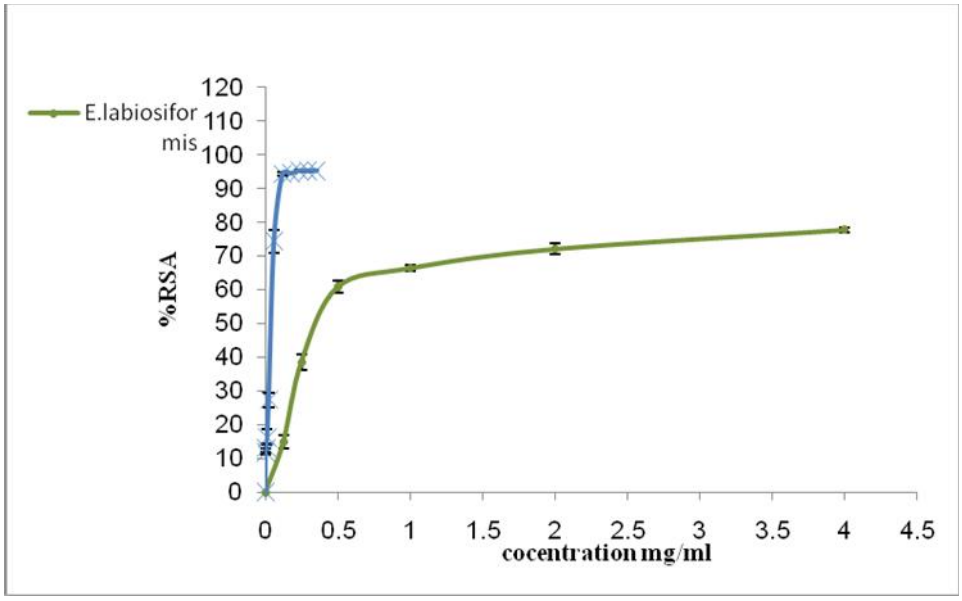
A: جذب سلول تیمارشده با عصاره B: جذب کنترل بلانک C: جذب کنترل سلول

پس از جمع‌آوری داده‌ها از نرم‌افزار آماری Minitab (V: 16) برای تجزیه و تحلیل آماری استفاده شد. بررسی نتایج آنتی‌اکسیدان در قالب طرح کاملاً تصادفی و مقایسه میانگین‌ها از آزمون توکی با احتساب حداکثر خطای ۵ درصد استفاده شد. جهت سنجش میزان درصد بقای سلولی در قالب آزمایش‌های فاکتوریل با طرح اصلی بلوک‌های کاملاً تصادفی و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون توکی با احتساب حداکثر خطای ۵ درصد استفاده شد. ۵۰ ٪ سمیت سلولی (CC50) و ۵۰ ٪ مهار رادیکال آزاد (IC50) با نرم‌افزار ED50 plus (INER,V: 1.0) برآورد گردید. اندازه‌گیری‌ها بصورت میانگین ± انحراف معیار گزارش گردید.

یافته‌ها

فعالیت به دام اندازی رادیکال DPPH عصاره متانولی سنبل بیابانی بصورت IC50 (غلظتی از عصاره که منجر به ۵۰٪ مهار رادیکالی شود) در مقایسه با اسید آسکوربیک به عنوان استاندارد محاسبه گردید (نمودار ۱). کمترین

شکل ۱: گیاه E.labiosiformis



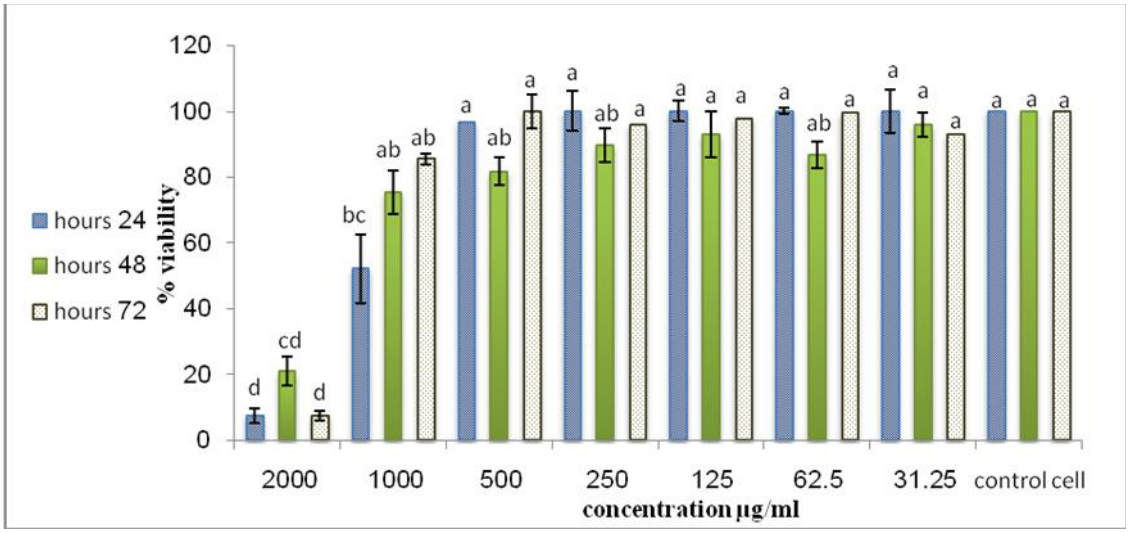
نمودار ۱: فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره متانولی E.labiosiformis در مقایسه با اسید آسکوربیک. Error bar بیانگر میانگین ± انحراف معیاراست.

جدول ۱: مقایسه میانگین میزان مهار رادیکال‌های آزاد توسط غلظت‌های مختلف اسید آسکوربیک و عصاره متانولی E.labiosiformis با استفاده از آزمون توکی با احتساب حداکثر خطای ۵٪

غلظت اسید آسکوربیک (µg/ml)	%RSA±SD	گروه	Ic50 (µg/ml ±SD)
۳۵۲	۹۵/۲±۰/۱۱۷	a	
۲۹۳	۹۵/۱±۰/۳۰۹	a	
۲۳۵	۹۴/۹±۰/۴۲۲	a	
۱۷۶	۹۴/۵±۰	a	
۱۱۷	۹۳/۸±۰/۶۵۲	a	۴۱±۰/۰۰۱۶
۵۹	۷۰/۷±۳/۳۴	cd	
۲۳	۲۸/۳±۲/۱۸۷	g	
۱۲	۱۵/۶±۲/۳۷۳	h	
۲	۱۳/۷±۱/۱۸۸	h	
۱	۱۱/۹±۰/۹۱۴	h	
غلظت E.labiosiformis(µg/ml)	%RSA±SD	گروه	Ic50 (µg/ml±SD)
۴۰۰۰	۷۷/۸±۰/۷۲۳	b	
۲۰۰۰	۷۲/۱±۱/۶۶۶	c	
۱۰۰۰	۶۶/۴±۰/۷۷۲	d	۳۹۲±۰/۰۰۹
۵۰۰	۶۰/۸±۱/۸۴۳	e	
۲۵۰	۳۸/۶±۲/۲۵۴	f	
۱۲۵	۱۴/۹±۱/۸۴۳	h	

جدول ۲: مقایسه میانگین درصد بقای سلول‌های Vero در غلظت‌های مختلف عصاره متانولی E.labiosiformis (CC50) طی زمان‌های مختلف

زمان (ساعت)	غلظت (µg/ml±SD)						CC50 (µg/ml)
	۲۰۰۰	۱۰۰۰	۵۰۰	۲۵۰	۱۲۵	۶۲/۵	۳۱/۲۵	
۲۴	۷/۶ ± ۲/۳۴	۸۵/۵ ± ۱۰/۴۵	۱۰۰ ± ۰	۹۵/۷ ± ۶/۱۴	۹۷/۸ ± ۳/۰۷	۹۹/۳ ± ۱/۰۲	۱۳۲۹/۱۶
۴۸	۲۱/۱ ± ۴/۳۶	۷۵/۲ ± ۶/۶۴	۸۱/۷ ± ۴/۳۳	۸۹/۷ ± ۵/۱۱	۹۳ ± ۶/۸۹	۸۷/۷ ± ۴/۱۳	۱۳۶۰/۲۵
۷۲	۷/۵ ± ۱/۴۳	۵۲/۱ ± ۱/۶۷	۹۶/۴ ± ۵/۰۹	۱۰۰ ± ۰	۱۰۰ ± ۰	۱۰۰ ± ۰	۱۱۵۹/۷۱



نمودار ۲: مقایسه میانگین درصد بقای سلول‌های ورو در غلظت‌های مختلف عصاره متانولی E.labiosiformis و در زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت با استفاده از آزمون توکی با احتساب حداکثر خطای ۵٪

درصد مهار رادیکال آزاد اسید آسکوربیک در غلظت‌های ۰/۰۰۱ mg/ml، ۰/۰۰۲ mg/ml و ۰/۰۱۲ mg/ml بترتیب برابر ۱۱/۹، ۱۳/۷ و ۱۵/۶ گردید که تقریباً برابر با کمترین درصد مهار رادیکال آزاد E.labiosiformis (۱۴/۹) برای غلظت ۰/۱۲۵ mg/ml می‌باشد (جدول ۱). درصد بقای سلولی بدست آمده از روش MTT در جدول ۲ آورده شده است. بر طبق آن میزان CC50 طی زمان‌های مختلف ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت به ترتیب ۱۳۲۹/۱۶ µg/ml، ۱۳۶۰/۲۵µg/ml و ۱۱۵۹/۷۱ µg/ml و ضریب همبستگی به ترتیب برابر R^2=۰/۸۸، R^2 =۰/۹۶ و R^2=۰/۹۴ محاسبه گردید (نمودار ۲). با توجه به آنالیز داده‌ها بین غلظت‌های مختلف عصاره اختلاف معنی‌داری با احتساب حداکثر خطای ۵ درصد مشاهده شد؛ اختلافی بین زمان‌ها با احتساب حداکثر خطای ۵ درصد مشاهده نگردید. اثر سمیت سلولی عصاره متانولی E.labiosiformis بر رده سلولی Vero در غلظت ۲۰۰۰ µg/ml در زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت با سایر غلظت‌ها در همان زمان‌ها اختلاف معنی‌داری را نشان داد (نمودار ۲).

بحث

آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی که بیشتر در گیاهان موجودند حاوی ترکیبات فنلی هستند. ترکیبات فنلی با وزن مولکولی زیاد (تانن‌ها) توانایی بالایی برای پاکسازی رادیکال‌های آزاد دارند و این توانایی بیشتر بستگی به تعداد حلقه‌های هیدروکسیل دارد [۴،۱۷]. گیاهان خانواده نعناعیان دارای ترکیبات اصلی پلی‌فنلی، فلاونوئیدی و ترپنوئیدی هستند که خاصیت آنتی‌اکسیدانی قوی دارند [۱۸]. محتوای فنلی و ترکیبات گیاه به فاکتورهای ژنتیکی و محیطی وابسته است. بنظر می‌رسد این ترکیبات بیشتر از طریق تهیه‌ی عصاره گیاهان در مقایسه با تهیه‌ی اسانس آن‌ها قابل استخراج باشد، شاید علت این اختلاف در روش‌های مختلف عصاره‌گیری است. بازده‌ی عصاره به نوع حلال، زمان و دمای عصاره‌گیری و ماهیت شیمیایی نمونه وابسته است و تحت دما و زمان یکسان، حلال مورد استفاده و ویژگی شیمیایی نمونه‌ها دو فاکتور مهم هستند [۱۹]. متانول و اتانول در بین حلال‌های رایج عصاره‌گیری مواد گیاهی اعم از ترکیبات قطبی و غیر قطبی دارای بیشترین کارایی می‌باشند؛ بنابراین اندازه‌گیری خاصیت آنتی‌اکسیدانی که با استفاده از عصاره متانولی انجام می‌گیرد بدلیل استخراج میزان مناسب ترکیبات قطبی و غیرقطبی، میزان بیشتری خواهد بود [۴].

به دلیل وفور ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در گیاهان، شناسایی تک‌تک آن‌ها کار دشواری است بنابراین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها با سنجش‌های متعددی بررسی می‌شود [۹]. آزمون DPPH برای تعیین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات در توانایی آن‌ها به مهار رادیکال آزاد و یا اهداکنندگی هیدروژن مانند فنل‌ها، به‌وسیله رنگ‌زدایی آنتی‌اکسیدان‌ها در حضور DPPH صورت می‌گیرد [۱۰،۱۱]. MTT یک تکنیک رنگ سنجی است. بر این اساس که سلول زنده می‌تواند متابولیسم اکسیداتیو انجام دهد در نتیجه با اکسیداسیون، رنگ MTT را بشکند و رنگی در محدوده‌ی زرد تا آبی تولید کند. با انجام این آزمون تعداد سلول‌های زنده مشخص می‌شود [۱۲].

پژوهش حاضر اولین مطالعه در زمینه سنجش اثر سمیت سلولی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره متانولی گیاه E.labiosiformis است لذا نتایج بدست آمده با نتایج پژوهش‌های دیگری قابل قیاس نیستند. بر این اساس، مطالعه حاضر با مطالعاتی که در خانواده این گیاه (نعناعیان) انجام شده، مورد مقایسه قرار گرفت. نتایج نشان دادند، خاصیت آنتی‌اکسیدانی و اثر سمیت سلولی عصاره متانولی E.labiosiformis بر رده سلولی Vero وابسته به غلظت است. بنابراین هر چه غلظت بیشتر گردد خاصیت آنتی‌اکسیدانی و اثر سمیت سلولی عصاره متانولی گیاه بیشتر می‌شود. همچنین نشان داده شد؛ اثر عصاره متانولی E.labiosiformis بر روی سلول Vero در زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت از نظر میزان CC50 با احتساب حداکثر خطای ۵ درصد با هم تفاوت معنی‌داری ندارند و اختلاف عددی جزئی مشاهده شده می‌تواند بدلیل تغییر PH محیط در اثر فعالیت اکسیداتیو سلول‌ها، استفاده از مواد مغذی محیط کشت و دفع مواد زائد باشد.

همچنین اثر متقابل بین زمان‌ها و غلظت‌های مختلف در میزان بقای سلول تأثیرگذار است به طوری که درصد بقای سلول در غلظت ۲۰۰۰ µg/ml در مقایسه با سایر غلظت‌ها و زمان‌های مختلف با اختلاف معنی‌داری کمتر بوده است.

مطالعه‌ی حامدیزدان و همکاران در بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره گیاه Marrabiumpersicum از خانواده نعناعیان انجام شد که IC50 =۰/۰۵۲ mg/ml بدست آمد [۱۳]. کامکار و همکاران به ارزیابی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی اسانس و عصاره نعناع ایرانی پرداختندکه مقدار IC50 برای عصاره گیاه ۰/۰۱۲ mg/ml محاسبه گردید [۱۴]. این مطالعات در مقایسه با عصاره متانولی گیاه مورد پژوهش دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری بودند. در دیگر مطالعاتی که توسط پانداش[1] و اژگن[2] و همکاران بترتیب روی عصاره متانولی گیاه Lamium Album و مریم‌گلی (Salvia limbata) از تیره نعناعیان انجام دادند IC50 بترتیب ۰/۴۶۵۹ mg/ml و ۰/۶۱۹۵mg/ml محاسبه گردید [۱۵،۱۶]. مقایسه این تحقیقات باعصاره متانولی E.labiosiformis نشان داد این گیاه خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری (۰/۳۹۲ mg/ml =IC50)نسبت به گیاهان مذکور دارد.

مطالعه‌ای در زمینه اثر سمیت سلولی عصاره متانولی بادرنجبویه (Melissaofficinalis) بر رده سلول Vero توسط وهاب‌پور انجام شد مقدار CC50 معادل µg/ml ۸۰۰ بدست آمد [۱۷] که بیانگر اثر سمیت کمتر عصاره متانولی E.labiosiformis (CC50=۱۱۵۹/۷۱ µg/ml) نسبت به عصاره متانولی بادرنجبویه است. مطالعه دیگری روی اسانس آویشن شیرازی توسط مردانی و همکاران صورت گرفت که در آن مقدار CC50 برابر µg/ml ۰/۰۶۷ بدست آمد [۱۸] که نشان‌دهنده‌ی اثر سمیت بیشتر اسانس در برابر عصاره است. از این رو توجه به ایمنی در کاربرد اسانس و عصاره‌ها اهمیت بیشتر پیدا می‌کند.

نتیجه‌گیری

تحقیقات بر روی خواص درمانی گیاه E.labiosiformis برای اولین بار در ایران و جهان صورت گرفته است لذا بسیاری از خواص این گیاه نامعلوم است با این حال شواهد این مطالعه نشان دادند عصاره گیاه مذکور می‌تواند برای استفاده‌های درمانی بی‌خطر باشد و به منظور تأیید کاربردهای دارویی، آرایشی و بهداشتی عصاره این گیاه، نیاز به مطالعات تکمیلی است.

تشکر و قدردانی

از مسئولان محترم پژوهشکده شمال کشور انستیتو پاستور ایران به دلیل حمایت در انجام این تحقیق قدردانی می‌گردد.

1-R.panduch
2-Ozgen

References

1. Finkel, T, Holbrook, N, J, Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing, Nature 2000; 408(6809): 239-247.
2. Green, L, M, Miller, A, B, Agnew, D, A, Greenberg, M, L, Li, J, Villeneuve, P, J, Tibshirani, R, Childhood leukemia and personal monitoring of residential exposures to electric and magnetic fields in Ontario, Canada, Cancer Causes & Control, 1999; 10(3): 233-243.
3. Sahebjamei, H, Abdolmaleki, P, Ghanati, F, Effects of magnetic field on the antioxidant enzyme activities of suspension-cultured tobacco cells, Bioelectromagnetics 2007; 28(1): 42-47[Persian]
4. Mirzaei, A, Mohammdi, J, Mirzaei, N, Mirzaei, M, The antioxidant capacities and total phenolic contents of some medicinal plants in iran, JFUMS 2011, 1(3): 160-167. [Persian]
5. Uddin, M, Z, Emran, T, B, Nath, A, K, Hossain, M, I, Alamgir, M, Rana, S, In vitro Antioxidative, Fibrinolytic and Phytochemical Effects of Different Extracts of Sterculiavillosa Barks, IJRPB, 2015; 2(1): 1-9.
6. Vahedi, H, Lari, J, Halimi, M, Nasrabadi, M, Chemical Composition of Eremostachys labiosiformis Growing Wild in Iran and Antimicrobial Activities Against Phytopathogenic Bacteria, Chemistry of Natural Compounds. 2013; 49(5): 958-960[Persian]
7.Salmaki, Y, Zarre, S, Heubl, G, The genus Phlomoides moench (Lamiaceae; Lamioideae; Phloideae) in iran: an updated synoposis, Iran, j. bot; 2012; 18(2): 219-207.
8. Shimada, K, Fujikawa, K, Yahara, K, Nakamura, T, Antioxidative Properties ofXanthin on Autoxidation of Soybean Oil in Cyclodextrin Emulsion, Journal of Agricultural & Food Chemistry, 1992; 40: 945-948.
9. M, Ahvazi, F, Khalighi–Sigaroodi, H, Ebrahimzadeh, N, Rahimifard, Chemical Composition of the Essential Oil and Antioxidant Activities, Total Phenol and Flavonoid Content of the Extract of Nepetapogonosperma, JMP, 2013; 4(48): 185-198. [Persian]
10. Demir, T, Özen, M, Ö,Hameş-kocabaş, E, E, Antioxidant and Cytotoxic Activity of Physalisperuviana, JMPR, 2014; 4(3): 30-34.
11. Floegel, A, Kim, D, O, Chung, S, J, Koo, S, I, Chun, O, K, Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods, Journal of food composition and analysis, 2011; 24(7): 1043-1048.
12. Twentyman, P, R, Luscombe, M, A study of some variables in a tetrazolium dye (MTT) based assay for cell growth and chemosensitivity, BJC, 1987; 56(3): 279.
13. Hamedeyazdan, S, Fathiazad, F, Sharifi, S, Nazemiyeh, H, Antiproliferative activity of Marrubiumpersicum extract in the MCF-7 human breast cancer cell line, APJCP, 2012; 13(11): 5843-8.
14. Kamkar, A, Asadi, F, JebelliJavan, A, Jamshidi, R, Antioxidant capacity of essential oil and extract of Iranian Menthaspicat, J VLR. 2009; 1(1): 69-77. [Persian]
15. Paduch, R, Matysik, G, Wójciak-Kosior, et al, Lamium album extracts express free radical scavenging and cytotoxic activities, PJOES, 2008; 17(4): 569-580.
16. Özgen, U,Mavi, A, Terzi, Z, Yıldırım, A, Coşkun, M. Houghton, P, J, Antioxidant properties of some medicinal Lamiaceae (Labiatae) species, JPB, 2006; 44(2): 107-112.
17. Vahabpour R, Shamsi S, Monavari S. H. R, Sajjadi S.E., Sajjadi N, Evaluation of Potential Antiviral Activity of the Hydroalcoholic Extract of Lemon Balm L, against Herpes Simplex Virus Type 1, Iranian Journal of Virology, 2010; 4(3-4): 52 - 57[Persian]
18. Mardani, M, Motamedifar, M, Hosienipour, R, A Study of the Antiviral Effect of the Essential oil of Zataria Multiflora Boiss on Herpes Simplex Type 1 in Vero Cell Culture, dentjods, 2012; 414-420. [Persian]
19. Yang D, Wang Q, Ke L, Jiang J, Ayaing T, Antioxidant Activities of Various Extracts of Lotus **(**NelumbonuficeraGaertn**)** Rhizome, Asia Pac J ClinNutr, 2007; 16 **(1)**:158-163.

Original Article

Evaluation of free radical scavenging capacity and cytotoxiceffect of methanol extracts of plant Eremostachys labiosiformis (Popov) Knorring on Vero cells

Asadi barbariha S[1], Roudbari F[2], Mohajerani M[3], Mahmoudi Otaghvari A[4], Pourmoradi S[5], Kavoosian S[6], Hasanzadeh N[7]*

[1]Master of Microbiology, Department of Cellular and Molecular Biology, Faculty of Science , University of Mazandaran, Babolsar, Iran
[2]AssistantProfessor,Ph.D. MedicalVirology, Department of Cellular and Molecular Biology, Faculty of Science, University of Mazandaran, Babolsar , Iran
[3]Associate.Professor, Ph.D. Biochemistry, Cellular and Molecular Biology, Faculty of Science, University of Mazandaran, Babolsar, Iran
[4]Assistant Professor, Ph.D. Plant Systematics, Department of Biology, Faculty of Science, University of Mazandaran, Babolsar, Iran
[5]PhD student in Biotechnology, Scientific Board member of Research Division of Natural Resources, Mazandaran Agricultural and Natural Resources Research Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Sari, Iran.
[6]Master ofCellular and molecular biology, North research center, Pasteur institute of Iran, Amol, Iran
[7]Master of Biotechnology, North research center, Pasteur institute of Iran, Amol, Iran
***Corresponding Author:** University of Mazandaran, Babolsar, Iran
Email: Roudbari@umz.ac.ir

Journal of North Khorasan University of Medical sciences 2016;8(4):633-641

Abstract

Background& objectives: *Accumulation of free oxygen radicals leads to the oxidative tension. This tension will be able to change the enzyme activity, gene expression, calcium release from intracellular deposits on the membrane structure, cell growth, and death. Plants are rich in the case of antioxidant compounds which will be able to reduce the risk of some chronic diseases such as cancer, heart disease and stroke by protection of cells and increasing the plasma antioxidant power. This study aimed to evaluate the antioxidant activity and cytotoxicity of methanol extract of the Eremostachys labiosiformis (Popov) Knorring plant.*

Materials and Methods: *Methanol extracts were obtained from E.labiosiformis plant by maceration method following the collection, drying and powdering. The antioxidant activity and cytotoxicity effect were assessed by free radical scavenging method (DPPH) and MTT (on Vero cell lines), respectively.*

Results: *The antioxidant capacity of E.labiosiformis methanol extract was0/392 mg/ml. Cytotoxic effect (CC50) during different times of 24, 48 and 72 hours was also 1329/16 µg/ml, 1360/25 µg/ml and 1159/71 µg/ml, respectively.*

Conclusion: *The comparison results of E.labiosiformis antioxidant properties with ascorbic acid showed that this plant has a good free radical scavenging activity in comparison with the other similar plants. In the case of toxicity assessment, it was shown that the methanol extract of this plant can be safe for use in therapy. However, using the other cell lines as well as in vivo studies are recommended for a definitive conclusion.*

Keywords: *Eremostachys labiosiformis (Popov) Knorring, antioxidants, cell culture, cell toxicity*

Received: 2 Jan 2016
Revised:14 Jan 2016
Accepted: 10 Dec 2016