دوره ۲۲، شماره ۶۹، بهار ۱۳۹۸، صفحات: ۴۱-۳۴

مقاله پژوهشی

ارزیابی اثر چهار گیاه از رشته کوه کپه داغ بر تکثیر سلول‌های سرطانی رده هپاتوکارسینوما

رقیه رشیدی[۱]، محمد صادق امیری[۲]، احمد قربانی[۱*]

[۱] مرکز تحقیقات فارماکولوژیک گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

[۲] گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام‌نور، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۲/۰۸ **تاریخ پذیرش:** ۱۳۹۸/۰۳/۰۴

چکیده

مقدمه: کارسینوم هپاتوسلولار یکی از شایع‌ترین دلایل مرگ ناشی از سرطان در جهان می‌باشد. در این ارتباط، مطالعه حاضر با هدف بررسی اثرات چهار گیاه جمع‌آوری‌شده از کوه‌های کپه داغ خراسان بر تکثیر سلول سرطانی رده هپاتوکارسینوما انجام شد. این گیاهان عبارت بودند از: *آنغوزه هزار مسجد* (*Ferula latisecta*)، *جاشیر گچ‌دوست* (Prangos latiloba)، *مرزه جنگلی* (*Satureja mutica*) و *پیاز غول‌آسا* (*Allium giganteum*).

مواد و روش‌ها: سلول‌های هپاتوکارسینومای رده HepG2 با غلظت‌های ۴۰۰-۱۲/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر از عصاره آبی- الکلی خیسانده از اندام هوایی گیاهان مذکور تیمار شدند. پس از ۲۴ ساعت، درصد سلول‌های زنده و میزان رادیکال‌های آزاد اکسیژن تعیین گردید و از سلول‌های فیبروبلاست لثه انسان به‌عنوان سلول غیرسرطانی کنترل استفاده شد. در نهایت، داده‌ها در نرم‌افزار SPSS 20 با استفاده از آزمون واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی Dunnett تجزیه و تحلیل گردیدند.

یافته‌ها: بر مبنای نتایج، عصاره *پیاز غول‌آسا* و *مرزه جنگلی* اثر معناداری بر زنده‌مانی سلول‌های هپاتوکارسینوما نداشتند. *آنغوزه هزار مسجد* در غلظت ۴۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر و *جاشیر* در غلظت‌های ۲۰۰ و ۴۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر درصد سلول‌های زنده را کاهش دادند ($P<0/05$)؛ اما عصاره جاشیر در غلظت ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر تأثیری بر زنده‌مانی فیبروبلاست‌ها نداشت. این عصاره تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن در سلول‌های هپاتوکارسینوما را کاهش داد ($P<0/001$).

نتیجه‌گیری: از میان گیاهان مورد بررسی، *جاشیر گچ‌دوست* توانست در غلظتی که اثر سمی بر فیبروبلاست نرمال نداشت، تکثیر سلول هپاتوکارسینوما را مهار کند. این اثر با مکانیسمی غیر از مسیر آسیب اکسیداتیو ایجاد شده است.

کلمات کلیدی: *آنغوزه*، *پیاز غول‌آسا*، *جاشیر*، *مرزه*، هپاتوکارسینوما

* **نویسنده مسئول:** احمد قربانی، مرکز تحقیقات فارماکولوژیک گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران. تلفن: ۰۵۱۳۸۰۰۲۲۷۸؛ فکس: ۰۵۱۳۸۸۲۸۵۶۷؛ ایمیل: ghorbania@mums.ac.ir

مقدمه

سرطان کبد از جمله شایع‌ترین بدخیمی‌ها در جهان می‌باشد. آمارها نشان می‌دهند که سرطان کبد به همراه سرطان ریه، پروستات، کولورکتال و معده، پنج سرطان شایع در مردان هستند (۱). اگرچه درمان‌های رایج کنونی توانسته‌اند میزان بقای مبتلایان به سرطان را افزایش دهند؛ اما همچنان میزان مرگ و میر افراد مبتلا به انواع سرطان کبد نظیر کارسینوم هپاتوسلولار و اینتراهپاتیک کلانژیوکارسینوما بالا می‌باشد (۲).

برای هزاران سال است که گیاهان دارویی به‌عنوان منبع ارزشمندی برای پیداکردن داروهای جدید محسوب می‌شوند. در دهه‌های اخیر در مطالعات کشت سلولی و مدل‌های حیوانی، اثرات ضد توموری بسیاری از گیاهان دارویی مورد بررسی قرار گرفته است (۵-۳). علاوه‌براین، امروزه برخی از ترکیبات مشتق‌شده از گیاهان مانند آلکالوئیدهای Vinca (وین‌کرستین و وین‌بلاستین)، آنالوگ‌های تاکسول و آنالوگ‌های Podophyllotoxin نقش مهمی در کمک به درمان سرطان دارند (۳).

دامنه‌های رشته کوه کپه داغ رویشگاه تعداد زیادی از گونه‌های منحصر به فرد گیاهان دارویی در خراسان می‌باشد. برخی از این گیاهان عبارت هستند از: *آنغوزه هزار مسجد* (*Ferula latisecta*)، *جاشیر گچ‌دوست* (*Prangos latiloba*)، *مرزه جنگلی* (*Satureja mutica*) و *پیاز غول‌آسا* (*Allium giganteum*).

آنغوزه هزار مسجد از گیاهان خانواده Umbelliferae است. تعداد مطالعات فارماکولوژیک انجام‌شده در مورد این گیاه محدود بوده و بیشتر متمرکز بر خواص ضد میکروبی آن می‌باشد (۶،۷). *جاشیر* یک گیاه چندساله متعلق به خانواده Apiaceae است که در مراتع شمال شرق ایران می‌روید و به‌عنوان علوفه استفاده می‌شود (۸). *پیاز غول‌آسا* در بخش‌های مرکزی آسیا می‌روید و از آن در تهیه غذا یا سالاد استفاده می‌شود. این گیاه دارای ترکیبات گوگردی و ساپونین‌های استروئیدی است و خواص آن تا حدودی مانند *سیر* و *پیاز* می‌باشد (۹). *مرزه جنگلی* نیز از گیاهان خانواده Lamiaceae است که در نواحی شمالی ایران می‌روید و اثر ضد میکروبی آن اثبات شده است (۱۰،۱۱). مطالعات پیشین نشان داده‌اند که بسیاری از گونه‌های *Allium*، *Ferula*، *Prangos* و Satureja دارای اثرات سیتوتوکسیک و ضد سرطانی می‌باشند (۱۵-۱۲). با توجه به موارد بیان‌شده، مطالعه حاضر با هدف تعیین اثرات چهار گیاه مذکور از کوه‌های کپه داغ بر تکثیر سلول‌های سرطانی رده هپاتوکارسینوما انجام شد.

مواد و روش‌ها

تهیه عصاره

گیاهان مورد نظر از کوه‌های کپه داغ جمع‌آوری شده و توسط متخصص گیاه‌شناسی شناسایی گردیدند. یک نمونه از هر گیاه در هرباریوم دانشکده پیام‌نور درگز با شماره‌های ۴۷۷ (*آنغوزه هزار مسجد*)، ۴۹۷ (*جاشیر گچ‌دوست*)، ۴۹۸ (*مرزه جنگلی*) و ۴۸۷ (*پیاز غول‌آسا*) بایگانی شدند. قسمت‌های هوایی گیاهان مذکور در سایه خشک شده و سپس آسیاب گردیدند. پودر آسیاب‌شده هر گیاه به‌طور جداگانه در اتانول ۷۰ درصد خیسانده شد و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. عصاره آبی- الکلی حاصل از یک صافی با اندازه ۲۵۰ میکرومتر عبور داده شد و رسوبات آن با سانتریفیوژ (۵ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه) حذف گردید. سپس، عصاره روی بن ماری در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد خشک شده و در فریزر نگهداری گردید.

کشت سلول‌ها و تیمار آن‌ها

سلول‌های هپاتوکارسینومای رده HepG2 و سلول‌های فیبروبلاست (جداشده از لثه انسان) در محیط کشت Dulbeccos Modified Eagles Medium حاوی ۱۰ درصد سرم جنین گاوی و آنتی‌بیوتیک (پنی‌سیلین و استرپتومایسین) درون انکوباتوری با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و ۵ درصد CO_2 نگهداری شدند. با استفاده از تریپسین، سلول‌ها از بستر فلاسک کشت جدا شده و به پلیت‌های ۹۶ چاهک منتقل گردیدند (۵۰۰۰ سلول در هر چاهک). پس از اتصال سلول‌ها به بستر چاهک‌ها، غلظت‌های مختلفی (۴۰۰-۱۲/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر) از عصاره‌های مورد نظر به محیط کشت آن‌ها اضافه شد و سلول‌ها به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور قرار داده شدند.

بررسی درصد سلول‌های زنده

پس از تیمار سلول‌ها با عصاره‌ها، درصد سلول‌های زنده در هر چاهک با استفاده از نمک تترازولیوم (2,5-diphenyl-3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)tetrazolium) تعیین شد. بدین‌منظور، ابتدا غلظت ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از این نمک تهیه گشت و ۱۰ میکرولیتر از آن به هریک از چاهک‌های پلیت کشت اضافه گردید. در ادامه، پلیت به مدت دو ساعت درون انکوباتور قرار داده شد. پس از خارج‌کردن محیط رویی چاهک‌ها، به هریک ۲۰۰ میکرولیتر محلول دی‌متیل سولفوکساید اضافه گردید و میزان جذب نوری محلول درون هر چاهک در طول موج ۵۴۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. شایان ذکر است که تعداد سلول‌های زنده تیمارنشده معادل ۱۰۰ درصد در نظر گرفته شد و درصد سلول‌ها در چاهک‌های تیمارشده نسبت به آن محاسبه گردید (۱۲).

بررسی میزان رادیکال‌های آزاد اکسیژن درون سلولی

پس از تیمار سلول‌ها با عصاره‌ها، میزان رادیکال‌های آزاد اکسیژن سلول‌های هر چاهک با استفاده از معرف دی‌کلرودی‌هیدروفلوئورسین دی‌استات (2′,7′-Dichlorodihydrofluorescein diacetate, H_2DCF-DA) تعیین شد. در این آزمون، H_2DCF-DA به سلول نفوذ می‌کند و در داخل سلول به H_2DCF تبدیل می‌شود. سپس در حضور رادیکال‌های آزاد، اکسید می‌گردد و دی‌کلروفلورسین حاصل می‌شود که شدت فلورسنت آن با استفاده از دستگاه فلوریمتری در طول موج تحریک ۴۸۰ نانومتر و نشر ۵۳۰ نانومتر اندازه‌گیری می‌گردد.

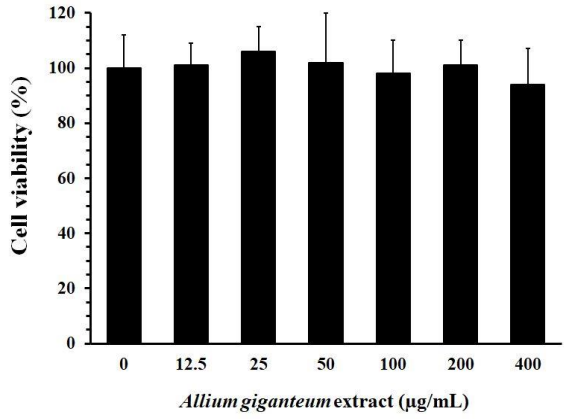
آزمون آماری

داده‌ها در نرم‌افزار SPSS 20 با استفاده از آزمون واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی Dunnett تجزیه و تحلیل شدند و نتایج به‌صورت انحراف معیار±میانگین بیان گردیدند. شایان ذکر است که سطح معناداری کمتر از (۰/۰۵) به‌عنوان تفاوت معنادار در نظر گرفته شد.

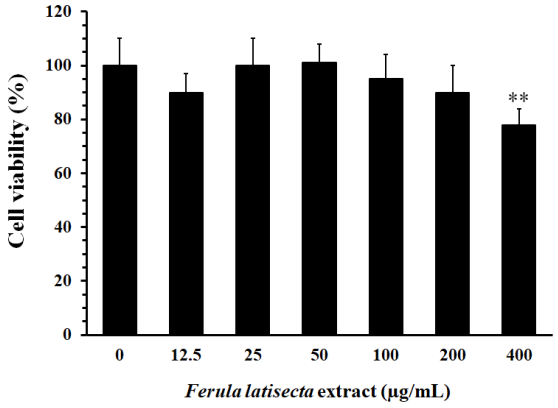
نتایج

اثر پیاز غول‌آسا بر سلول‌ها

همان‌گونه که در شکل ۱ نشان داده شده است، درصد



شکل ۱: اثر عصاره آبی- الکلی *پیاز غول‌آسا* بر سلول‌های هپاتوکارسینومای رده HepG2
مقادیر بر حسب انحراف معیار±میانگین نشان داده شده‌اند.



شکل ۲: اثر عصاره آبی- الکلی *آنغوزه هزار مسجد* بر سلول‌های هپاتوکارسینومای رده HepG2
مقادیر بر حسب انحراف معیار±میانگین نشان داده شده‌اند.
علامت ** بیانگر (P<۰/۰۱) است.

سلول‌های زنده در تمامی غلظت‌های عصاره *پیاز غول‌آسا* تفاوت معناداری با سلول‌های تیمارنشده (غلظت صفر) ندارد.

اثر آنغوزه هزار مسجد بر سلول‌ها

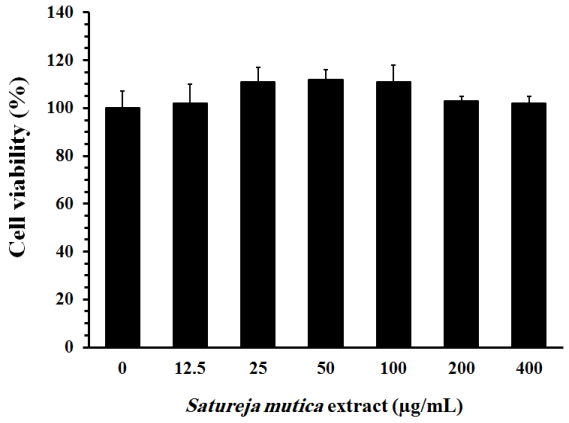
شکل ۲ تأثیر عصاره *آنغوزه* بر سلول‌ها را نشان می‌دهد. همان‌گونه که مشاهده می‌شود، درصد سلول‌های زنده پس از مجاورت با غلظت ۴۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از این عصاره در مقایسه با سلول‌های کنترل به‌طور معناداری کاهش یافته است (P<۰/۰۱).

اثر مرزه جنگلی بر سلول‌ها

همان‌گونه که در شکل ۳ نشان داده شده است، تیمار سلول‌ها به مدت ۲۴ ساعت با غلظت‌های مختلف عصاره *مرزه* نتوانست درصد سلول‌های زنده را در مقایسه با سلول‌های تیمارنشده به‌طور معناداری تغییر دهد.

اثر جاشیر گچ‌دوست بر سلول‌ها

شکل ۴A تأثیر عصاره *جاشیر* بر سلول‌های

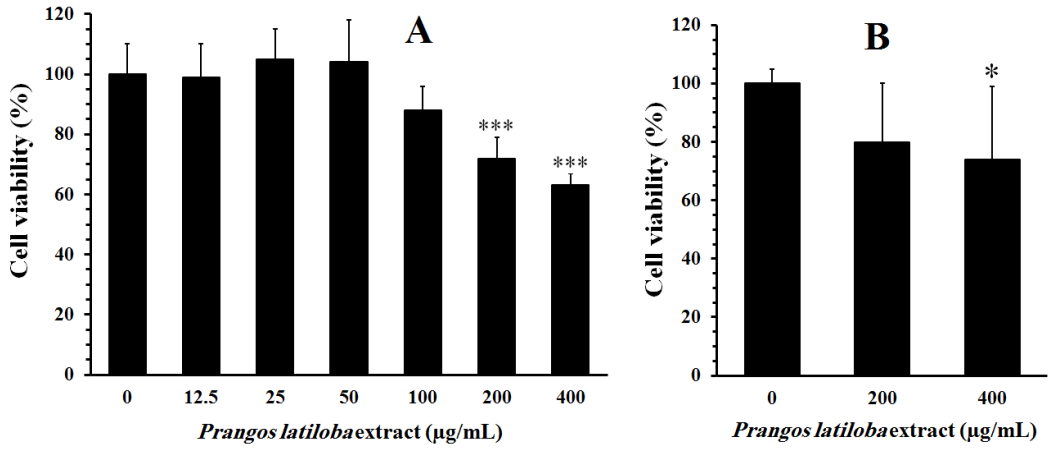


شکل ۳: اثر عصاره آبی- الکلی *مرزه جنگلی* بر سلول‌های هپاتوکارسینومای رده HepG2
مقادیر بر حسب انحراف معیار±میانگین بیان شده‌اند.

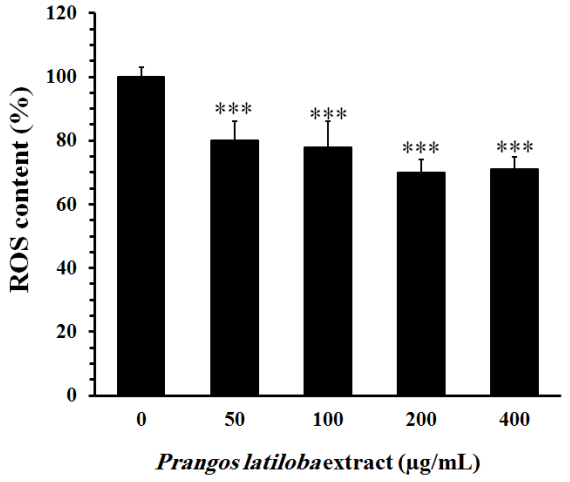
هپاتوکارسینوما را نشان می‌دهد. درصد سلول‌های زنده در غلظت‌های ۲۰۰ و ۴۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از این عصاره به‌ترتیب معادل ۷±۷۲ و ۴±۶۳ بود که در مقایسه با سلول‌های کنترل (۱۰±۱۰۰) به‌طور معناداری کمتر بود (P<۰/۰۰۱)؛ اما غلظت ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از عصاره *جاشیر* تأثیری بر سلول‌های فیبروبلاست نداشت. درصد فیبروبلاست زنده در غلظت ۴۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از این عصاره نیز معادل ۲۵±۷۴ بود که در مقایسه با سلول‌های تیمارنشده (۵±۱۰۰) تفاوت معناداری را نشان داد (P<۰/۰۵).

اثر جاشیر گچ‌دوست بر میزان رادیکال‌های آزاد اکسیژن درون سلول‌ها

شکل ۵ تأثیر عصاره *جاشیر گچ‌دوست* بر میزان رادیکال‌های آزاد اکسیژن سلول‌های هپاتوکارسینوما را نشان می‌دهد. همان‌طور که مشاهده می‌شود، میزان رادیکال‌های آزاد اکسیژن در غلظت‌های ۵۰ تا ۴۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر در مقایسه با سلول‌های کنترل به‌طور معناداری کمتر بوده است (P<۰/۰۰۱).



شکل ۴: اثر عصاره آبی- الکلی *جاشیر گچ‌دوست* بر سلول‌های هپاتوکارسینومای رده HepG2 (A) و سلول‌های فیبروبلاست لثه انسان (B) مقادیر بر حسب انحراف معیار±میانگین نشان داده شده‌اند. علامت‌های * و *** به‌ترتیب بیانگر P<۰/۰۵، P<۰/۰۱ و P<۰/۰۰۱ می‌باشند.



شکل ۵: اثر عصاره آبی- الکلی *جاشیر گچ‌دوست* بر میزان رادیکال‌های آزاد اکسیژن در سلول‌های هپاتوکارسینومای رده HepG2 مقادیر بر حسب انحراف معیار±میانگین نشان داده شده‌اند. علامت *** بیانگر (P<۰/۰۰۱) می‌باشد.

بحث

در این مطالعه اثر چهار گیاه جمع‌آوری‌شده از کوه‌های کپه داغ بر تکثیر سلول‌های سرطانی رده هپاتوکارسینوما مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان دادند که عصاره آبی- الکلی اندام هوایی گیاهان *مرزه جنگلی* و *پیاز غول‌آسا* تأثیری بر سلول‌های رده هپاتوکارسینوما ندارد؛ اما عصاره *آنغوزه هزار مسجد* در غلظت ۴۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر و عصاره *جاشیر* در غلظت‌های ۲۰۰ و ۴۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر توانستند تکثیر سلول‌های هپاتوکارسینوما را مهار کنند. به نظر می‌رسد که از میان این چهار گیاه، عصاره *جاشیر* به شکل مؤثرتری توانسته است رشد سلول‌های سرطان کبد را مهار کند. علاوه‌براین، عصاره این گیاه در غلظت ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر تأثیری بر سلول‌های غیرسرطانی فیبروبلاستی نداشت که این امر نشان می‌دهد که احتمالاً سمیت آن برای سلول‌های سرطانی بیشتر از سلول‌های سالم است؛ بنابراین در مطالعات آتی می‌توان بر ترکیبات موجود در عصاره *جاشیر* برای مهار سلول‌های سرطانی تمرکز نمود. برخی از ترکیبات شناسایی‌شده در برگ و ساقه این گیاه عبارت هستند از: کادینن (Cadinene)، پینن (Pinene)، سابینن (Sabinene)، جرماسرین (Germacrene)، کاریوفیلن (Caryophyllene)، لیمونن (Limonene) و میرسن (Myrcene) (۱۶،۱۷). در مطالعات پیشین پیشنهاد شده است که تعدادی از این ترکیبات از جمله کاریوفیلن و کادینن ممکن است رشد برخی از رده‌های سلولی سرطانی نظیر کبد و تخمدان را مهار کنند (۲۱-۱۸)؛ برای مثال کاریوفیلن در غلظت ۲۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر می‌تواند رشد سلول‌های سرطانی کبد را مهار کند (۲۰). علاوه‌براین، گزارش شده است که کاریوفیلن اکساید می‌تواند حساسیت سلول‌های سرطان کبد به شیمی‌درمانی با داروی سورافنیب

(Sorafenib) را افزایش دهد (۲۱). ذکر این نکته ضرورت دارد که در حال حاضر مشخص نمی‌باشد که به‌طور دقیق کدام ترکیب یا ترکیبات گیاه *جاشیر* مسئول مهار تکثیر سلول‌های هپاتوکارسینوما می‌باشد.

در این مطالعه عصاره *جاشیر*، میزان رادیکال‌های آزاد اکسیژن را در سلول‌های هپاتوکارسینوما کاهش داد که احتمالاً ناشی از وجود ترکیبات آنتی‌اکسیدان در این گیاه می‌باشد. استرس اکسیداتیو یکی از مکانیسم‌هایی است که با آسیب‌رساندن به پروتئین‌ها، چربی‌ها و DNA موجب مرگ سلولی می‌شود (۲۲)؛ بنابراین به نظر می‌رسد که مکانیسم القای مرگ سلولی توسط عصاره *جاشیر* در سلول‌های هپاتوکارسینوما از مسیر استرس اکسیداتیو صورت نمی‌گیرد و این موضوع می‌تواند در آینده مورد مطالعه قرار گیرد.

نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه حاضر نشان دادند که عصاره آبی- الکلی اندام هوایی گیاهان *مرزه جنگلی* و *پیاز غول‌آسا* تأثیری بر تکثیر سلول هپاتوکارسینوما ندارد؛ اما عصاره *آنغوزه* هزار مسجد در غلظت بالا و عصاره *جاشیر* در غلظت قابل‌قبول می‌توانند تکثیر این سلول را مهار کنند. باید خاطرنشان ساخت که اثر عصاره *جاشیر* با مکانیسمی غیر از مسیر آسیب اکسیداتیو ایجاد شده است. در این راستا، پیشنهاد می‌شود در آینده مطالعاتی در ارتباط با ترکیبات موجود در عصاره *جاشیر گچ‌دوست* برای مهار سلول‌های سرطانی صورت گیرد.

حمایت مالی

این مطالعه با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مشهد انجام شده است.

ملاحظات اخلاقی

نتایج این پژوهش حاصل پیش‌مطالعه مربوط به طرح تحقیقاتی شماره ۹۷۰۰۳۱ می‌باشد که از نظر ملاحظات اخلاقی در دانشگاه علوم پزشکی مشهد تصویب گردیده است.

تضاد منافع

هیچ‌گونه تضاد منافعی در این پژوهش گزارش نشده است.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از حمایت مالی معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مشهد قدردانی می‌شود.

References

1. World Health Organization. Iran (Islamic republic of): country profiles. Geneva: World Health Organization; 2015.
2. Massarweh NN, El-Serag HB. Epidemiology of hepatocellular carcinoma and intrahepatic cholangio-carcinoma. Cancer Control. 2017; 24(3):10732748177 29245.
3. Saklani A, Kutty SK. Plant-derived compounds in clinical trials. Drug Discov Today. 2008; 13(3-4):161-71.
4. Hosseini A, Ghorbani A. Cancer therapy with phytochemicals: evidence from clinical studies. Avicenna J Phytomed. 2015; 5(2):84-97.
5. Chahar MK, Sharma N, Dobhal MP, Joshi YC. Flavonoids: a versatile source of anticancer drugs. Pharmacogn Rev. 2011; 5(9):1-12.
6. Habibi Z, Salehi P, Yousefi M, Hejazi Y, Laleh A, Mozaffarian V, et al. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of Ferula latisecta and Mozaffariania insignis from Iran. Chem Natural Compd. 2006; 42(6):689-92.
7. Iranshahi M, Hassanzadeh-Khayat M, Bazzaz BS, Sabeti Z, Enayati F. High content of polysulphides in the volatile oil of Ferula latisecta Rech. F. et Aell. fruits and antimicrobial activity of the oil. J Essential Oil Res. 2008; 20(2):183-5.
8. Jangju M, Mellati F, Atashgahi Z, Vatanpour M.

Introducing three forage species, Prangos latiloba, Convolvulus commutatus, and Stachys trinervis from the Northern Khorasan rangelands. Iran J Range Desert Res. 2013; 20(1):145-60.
9. Sashida Y, Kawashima K, Mimaki Y. Novel polyhydroxylated steroidal saponins from Allium giganteum. Chem Pharm Bull. 1991; 39(3):698-703.
10. Gohari A, Saeidnia S, Hadjiakhoondi A, Abdoullahi M, Nezafati M. Isolation and Quantificative Analysis of Oleanolic Acid from Satureja mutica Fisch. & CA Mey. J Med Plant. 2009; 8(5):65-9.
11. Momtaz S, Abdollahi M. An update on pharmacology of Satureja species; from antioxidant, antimicrobial, antidiabetes and anti-hyperlipidemic to reproductive stimulation. Int J Pharmacol. 2010; 6(4):346-53.
12. Hadjzadeh M, Tavakol Afshari J, Ghorbani A, Shakeri MT. The effects of aqueous extract of garlic (Allium sativum L.) on laryngeal cancer cells (Hep-2) and L929 cells in vitro. J Med Plants. 2006; 2(18):41-8.
13. Iranshahi M, Kalategi F, Rezaee R, Shahverdi AR, Ito C, Furukawa H, et al. Cancer chemopreventive activity of terpenoid coumarins from Ferula species. Planta Med. 2008; 74(02):147-50.
14. Zahri S, Razavi SM. Cytotoxic effect of Prangos Pabularia extract on HELA cell line a medicinal plant. Int J Med Res Health Sci. 2016; 5(11):547-52.
15. Oke-Altuntas F, Demirtas I, Tufekci AR, Koldas S, Gul F, Behcet L ,et al. Inhibitory effects of the active components isolated from Satureja boissieri Hausskn. Ex Boiss. On human cervical cancer cell line. J Food Biochem. 2016; 40(4):499-506.
16. Akhlaghi SH, Hashemi P. Chemical compositions of the essential oils of stems, leaves, and roots of Prangos latiloba. Chem Nat Compd. 2005; 41(5):542-4.
17. Mazloomifar H, Bigdeli M, Saber-Tehrani M, Rustaiyan A, Masoudi S, Ameri N. Essential oil of Prangos uloptera DC. from Iran. J Essential Oil Res. 2004; 16(5):415-6.
18. Fidyt K, Fiedorowicz A, Strządała L, Szumny A. β-caryophyllene and β-caryophyllene oxide-natural compounds of anticancer and analgesic properties. Cancer Med. 2016; 5(10):3007-17.
19. Hui LM, Zhao GD, Zhao JJ. δ-Cadinene inhibits the growth of ovarian cancer cells via caspase-dependent apoptosis and cell cycle arrest. Int J Clin Exp Pathol. 2015; 8(6):6046.
20. Selestino Neta MC, Vittorazzi C, Guimarães AC, Martins JD, Fronza M, Endringer DC, et al. Effects of β-caryophyllene and Murraya paniculata essential oil in the murine hepatoma cells and in the bacteria and fungi 24-h time–kill curve studies. Pharm Biol. 2017; 55(1):190-7.
21. Di Giacomo S, Briz O, Monte MJ, Sanchez-Vicente L, Abete L, Lozano E, et al. Chemosensitization of hepatocellular carcinoma cells to sorafenib by β-caryophyllene oxide-induced inhibition of ABC export pumps. Arch Toxicol. 2019; 93(3):623-34.
22. Ryter SW, Kim HP, Hoetzel A, Park JW, Nakahira K, Wang X, et al. Mechanisms of cell death in oxidative stress. Antioxid Redox Signal. 2007; 9(1):49-89.

Volume 22, Issue 69, Spring 2019, Pages: 34-41

Original Article

Evaluation of the Effects of Four Plants Collected from Kopet-Dag Mountains on the Proliferation of Hepatocarcinoma Cell Line

Roghayeh Rashidi[1], Mohammad Sadegh Amiri[2], Ahmad Ghorbani[1*]

[1] Pharmacological Research Center of Medicinal Plants, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran
[2] Department of Biology, Payame Noor University, Tehran, Iran

Received: 28 April 2019 **Accepted:** 25 May 2019

Abstract

Introduction: Hepatocellular carcinoma is one of the most common causes of cancer mortality worldwide. The aim of this study was to investigate the effects of four plants collected from Kopet-Dag Mountains in Khorasan Province on the proliferation of hepatocarcinoma cell line. These plants include *Ferula latisecta*, *Prangos latiloba*, *Satureja mutica*, and *Allium giganteum*.

Materials and Methods: The HepG2 hepatocarcinoma cells were treated with 12.5-400 µg/mL of the hydro-alcoholic extracts prepared from the aerial parts of the plants. The percentage of cell viability and the amount of oxygen free radicals were determined after 24 h. Human gingiva fibroblast was used as a non-cancerous control cell. Data were analyzed in SPSS software (version 20) through one-way analysis of variance followed by Dunnett post hoc test.

Results: According to the results, the extracts of *Allium giganteum* and *Satureja mutica* had no significant effect on the viability of hepatocarcinoma cells. *Ferula latisecta* at the concentration of 400 µg/mL and *Prangos latiloba* at the concentrations of 200 and 400 µg/mL reduced the percentage of cell viability ($P<0.05$). However, *Prangos latiloba* extract at the concentration of 200 µg/mL had no effect on the viability of fibroblasts. This extract reduced the amount of oxygen free radicals in hepatocarcinoma cells ($P<0.001$).

Conclusion: Out of the investigated plants, *Prangos latiloba* could inhibit the proliferation of hepatocarcinoma cell at the concentration which had no cytotoxicity against normal fibroblast. This effect was induced via a mechanism independent of the pathway of oxidative damage.

Keywords: *Allium giganteum*, *Ferula latisecta*, Hepatocarcinoma, *Prangos latiloba*, *Satureja mutica*

**** Corresponding Author:*** Ahmad Ghorbani, Pharmacological Research Center of Medicinal Plants, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran. Tel: 05138002278; Fax: 05138828567; Email: ghorbania@mums.ac.ir