BRIEF REPORT

In Vitro Evaluation of the Effects of Astragalus brachycalyx Fisch. Root Methanolic Extract on B16-F10 Cells in Relation to Its Phytochemical Properties

Fatemeh Akbari[1],
Mohammad Azadbakht[2],
Fatemeh Ebrahimi[3],
Zahra Mahdizadeh[4],
Ali Bagheri[5],
Setayesh Razavi[6]

[1] Assistant Professor, Department of Pharmacognosy, School of Pharmacy, Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran
[2] Professor, Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[3] PhD in Radiopharmacy, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[4] Pharmacy Student, Student Research Committee, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[5] Associate Professor, Department of Plant and Animal Biology, Faculty of Biological Science and Technology, University of Isfahan, Isfahan, Iran
[6] Student Research Committee, School of Pharmacy, Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran

(Received July 27, 2024; Accepted July 2, 2025)

Abstract

Background and purpose: Skin cancer is a highly prevalent disease, affecting approximately 1 in 33 individuals with fair skin. Melanoma, one of the most aggressive forms of skin cancer, arises from melanin-producing cells known as melanocytes. This study aims to investigate the effect of *Astragalus brachycalyx* on melanoma cells in vitro, with a particular focus on its phytochemical properties.

Materials and methods: In this experimental study, the methanolic root extract was prepared using the maceration method, and total flavonoid content was determined by the aluminum chloride colorimetric method. Genistein content was quantified using high-performance liquid chromatography (HPLC). To evaluate the effect of the extract, a scratch assay was performed on B16-F10 cells. Extract concentrations of 125, 62.5, 32.25, and 16.5 ppm were tested in separate culture media and compared with media lacking the extract (control group). Data were analyzed using a two-way mixed-model ANOVA, and multiple comparisons were performed using Bonferroni post hoc analysis. A P-value < 0.05 was considered statistically significant.

Results: The total flavonoid content of *Astragalus brachycalyx* root was 0.0454 g per gram of root, and the genistein content in the plant powder was 1.1%. Treatment of B16-F10 cells with 500 ppm of the methanolic extract resulted in significant cell death within 24 hours ($P < 0.001$). Additionally, the extract at 125 ppm caused a significant increase in scratch area ($P < 0.0001$), indicating inhibition of cell growth compared to the control group ($P < 0.001$).

Conclusion: The in vitro results demonstrate that *Astragalus brachycalyx* exhibits rapid and potent cytotoxic effects on B16-F10 melanoma cells.

Keywords: *Astragalus*, Inhibition of cancer cells, Cell death, B16-F10

J Mazandaran Univ Med Sci 2025; 35 (248): 74-81 (Persian).

Corresponding Author: Mohammad Azadbakht - Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran.(E-mail: azadbakhtm@hotmail.com)

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-09-12]

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره سی و پنجم شماره ۲۴۸ شهریور سال ۱۴۰۴ (۸۱-۷۴)

ارزیابی برون تنی اثر عصاره متانولی ریشه *Astragalus brachycalyx* Fisch. بر سلول های B16-F10 بر اساس خصوصیات فیتوشیمیایی

فاطمه اکبری[۱]
محمد آزادبخت[۲]
فاطمه ابراهیمی[۳]
زهرا مهدی زاده[۴]
علی باقری[۵]
ستایش رضوی[۶]

چکیده

سابقه و هدف: سرطان پوست یکی از بیماری‌ها با شیوع بالا است که میزان ریسک ابتلا به آن یک نفر در هر ۳۳ نفر با پوست سفید است. ملانوما یکی از خطرناک‌ترین سرطان‌های پوست است و از تغییرات سلول‌های تولیدکننده ملانین ایجاد می‌شود. این مطالعه اثر *Astragalus brachycalyx* را بر سلول‌های سرطانی ملانوما در شرایط برون تنی با تمرکز بر خصوصیات فیتوشیمیایی بررسی می‌کند.

مواد و روش ها: در مطالعه تجربی حاضر، عصاره متانولی ریشه با روش ماسراسیون تهیه شد و میزان فلاونوئید تام با روش رنگ سنجی کلریدآلومینیوم و میزان ژنیستئین با HPLC، اندازه‌گیری شد. برای ارزیابی اثر عصاره، تست خراش بر سلول‌های B16-F10 انجام شد و غلظت‌های ۱۲۵، ۶۲/۵، ۳۲/۲۵، ۱۶/۵ ppm از عصاره در محیط‌های کشت جداگانه بررسی و با محیط‌های کشت فاقد عصاره (گروه کنترل) مقایسه شدند. داده‌ها با استفاده از مدل مخلوط دو طرفه‌ی ANOVA مورد بررسی قرار گرفت. مقایسه چندگانه توسط تحلیل تعقیبی Bonferroni انجام شد. P کم‌تر از ۰/۰۵ از نظر آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: مقدار فلاونوئید تام ۰/۴۵۴ گرم در هر ۱ گرم ریشه *Astragalus brachycalyx* بود. میزان ژنیستئین ۱/۱ درصد در پودر گیاه بود. تغییرات مساحت خراش با غلظت ۵۰۰ ppm از عصاره متانولی ریشه *Astragalus brachycalyx* در رده سلولی B16-F10 طی ۲۴ ساعت به طور معنی‌داری مرگ سلولی را نشان داد (P<۰/۰۰۱). هم‌چنین عصاره با غلظت ۱۲۵ ppm افزایش قابل توجه در مساحت خراش‌ها (با محدود کردن رشد سلولی) را در مقایسه با گروه کنترل نشان داد (P۰/۰۰۱).

استنتاج: براساس نتایج برون تنی *Astragalus brachycalyx* دارای سمیت بالا و اثر سریع بر B16-F10 است.

واژه های کلیدی: *Astragalus*، مهار رشد سلول سرطانی، مرگ سلولی،B16-F10

مولف مسئول: محمد آزادبخت- ساری کیلومتر۱۷جاده فرح آباد، مجتمع دانشگاهی پیامبر اعظم، دانشکده داروسازی **E-mail:** azadbakhtm@hotmail.com
۱. استادیار، گروه فارماکوگنوزی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی سمنان، سمنان، ایران
۲. استاد، گروه فارماکوگنوزی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران،ساری، ایران
۳. دکترای تخصصی، گروه رادیوفارماسی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۴. دانشجو کمیته تحقیقات دانشجویی، داروسازی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۵. دانشیار، گروه زیست شناسی گیاهی و جانوری، دانشکده علوم و فناوری های زیستی، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران
۶. دانشجو کمیته تحقیقات دانشجویی دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی سمنان، سمنان، ایران

تاریخ دریافت : ۱۴۰۳/۵/۶ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۱۴۰۳/۵/۲۳ تاریخ تصویب : ۱۴۰۴/۴/۱۱

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-09-12]

مقدمه

سرطان پوست یکی از بیماری‌های شایع است که به طور مستقیم بر کیفیت زندگی جامعه تأثیر می‌گذارد. تمام لایه‌های پوست می‌توانند به سلول‌های سرطانی تبدیل شوند(۱). ملانوما نوعی سرطان است که از سلول‌های مشتق از ستیغ عصبی تولید کننده ملانین و ملانوسیت‌ها آغاز می‌شود و یکی از انواع جدی سرطان پوست است(۲). ملانوما در اشکال، رنگ‌ها و اندازه‌های مختلفی ظاهر می‌شود که هشداری بر وجود ملانوما هستند(۳). درصد ابتلا به سرطان پوست در ایران ۱۳/۱ درصد است. ولی این سرطان هم چنان شایع ترین سرطان کشور می باشد. میزان بروز آن در زنان و مردان به ترتیب برابر ۶۵/۹ و ۵۹/۱ است(۴).

در سال ۲۰۲۲، ۹۹۷۸۰ مورد جدید ملانوما در ایالات متحده آمریکا تشخیص داده شد که ۵۷/۳ درصد مردان و ۴۲/۶۹ درصد زنان بودند و از این میزان در جمعیت حدود ۷/۶۶ درصد احتمال مرگ وجود دارد (۶۶/۴۰ درصد مردان و ۳۳/۵۹ درصد زنان)(۵). علاوه بر آن، تقریباً ۹۸ درصد از موارد مبتلا در صورت تشخیص زود هنگام ملانوما، شانس دیدن ۵ سال آینده خود را دارند. عوامل خطر ایجاد ملانوما شامل ژنتیک، قرار گرفتن در معرض آفتاب، تابش UV و فاکتورهای خانوادگی و وراثتی است. هم‌چنین، میزان بروز سرطان پوست در نژاد سفیدپوست (غربی) بسیار بیش‌تر از انواع دیگر رنگ پوست است. درمان ملانوما به عوامل مختلفی از جمله مرحله بیماری و محل سلول‌های سرطانی بستگی دارد و شامل جراحی، ایمنوتراپی، شیمی درمانی و پرتو درمانی است.

رده سلولی B16-F10 یک رده سلولی ملانومای موشی است که برای بررسی مدل ملانومای متاستاتیک استفاده می‌شود. از نظر مورفولوژیکی، این رده سلولی دوکی شکل است و در محیط کشت سلولی به صورت یک جمعیت چسبنده با مورفولوژی اپیتلیالی ظاهر می‌شود(۶). ملانومای متاستاتیک یک بیماری تهدید کننده حیات است. عدم پاسخ به پرتو درمانی و شیمی درمانی، نیاز جدی به درمان‌های جدید را برجسته می‌کند. در مطالعه حاضر، اثر کشنده *Astragalus brachycalyx Fisch* (*A.brachycalyx*) بر رده سلولی B16-F10 ارزیابی شد. این گیاه متعلق به خانواده*Astragalus* است که یکی از بزرگ‌ترین گونه‌های پراکنده در سراسر جهان است و حدود ۸ درصد پوشش گیاهی ایران را گونه‌های گون تشکیل داده‌اند(۷). عمده ترکیبات موجود در ریشه آن شامل پلی ساکارید، ساپونین و فلاونوئیدها به خصوص ایزوفلاونوئید ها می‌باشد و از ریشه آن به طور سنتی برای درمان بسیاری از بیماری‌ها و شرایطی نظیر درمان اختلالات ایمنی، عفونت‌های ویروسی، لوسمی، نفریت و سرطان رحم کمک کننده هستند(۹-۷). هدف این مطالعه بررسی اثر (*Astragalus brachycalyx*) بر رده سلولی B16-F10با تست خراش سلولی است.

مواد و روش‌ها

مطالعه تجربی حاضر با کد اخلاق IR.MAZUMS. REC.1400.330 به بررسی اثر مهار رشد و مرگ سلولی عصاره گیاه *A. brachycalyx* بر سلول های ملانوما موشی B16-F10 پرداخت.

جمع آوری و عصاره‌گیری ازگیاه

گیاهان از مناطق رشد این گونه گیاهی در بخش‌های غربی استان اصفهان، کوه‌های اطراف چغیورت (عرض جغرافیایی ۳۲ ۵۸' شمالی، طول جغرافیایی ۵۰° ۰۱' شرقی) جمع‌آوری و توسط متخصص سیتماتیک گیاهی و با مطالعات مربوطه شناسایی شدند. نمونه‌های هرباریومی تهیه در هرباریوم دانشگاه اصفهان(HUI)نگهداری شدند. عصاره گیری با ۵۰۰ گرم ریشه (*A. brachycalyx*) با روش خیساندن با متانول خالص در دمای محیط به مدت ۳ روز استخراج شد و عصاره تحت خلاء با روتاری اواپریتور و سپس دستگاه فریز دارید خشک گردید. عصاره در ظرفی قرار داده شد و در فریزر -۳۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد(۷).

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-09-12]

بررسی فیتوشیمیایی گیاهانتعیین فلاونوئید تام

برای ارزیابی میزان فلانووئید کل از روش آلومینیوم کلرید استفاده شد. ۱ میلی‌لیتر از عصاره با ۱ میلی‌لیتر محلول متانلی ۲ درصد آلومینیوم کلرید مخلوط و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه در طول موج ۴۱۵ نانومتر جذب نمونه با دستگاه UV-Visible تعیین شد و براساس کوئرستین بیان شد(۱۰).

آنالیز HPLC ژنیستئین در عصاره

تعیین ایزوفلاون‌ها مانند روش مطالعه Akbari انجام شد(۱۱). در این روش، از ستون C18 با ابعاد ۵۳×۷ میلی‌متر استفاده شد. سیستم حلال گرادیان آب-اسید استیک (۱ لیتر آب دیونیزه به همراه ۱,۲ میلی‌لیتر اسید استیک) و استونیتریل استفاده شد. حجم تزریق ۲۰ میکرولیتر بود و استونیتریل از ۰ تا ۱۲ درصد در ۶ دقیقه افزوده شد و سپس از ۲۳ درصد به ۱۰۰ درصد در ۱۵ دقیقه افزایش یافت. سرعت جریان حلال‌ها ۲,۵ میلی‌لیتر بر دقیقه در طول موج ۲۸۰ نانومتر با آشکارساز UV تنظیم شد. استاندارد ژنیستئین (استاندارد خارجی) و استاندارد مخلوط با عصاره (استاندارد داخلی) به‌طور جداگانه به سیستم تزریق شدند تا مقدار این ترکیب در گیاه مقایسه و اندازه‌گیری شود.

کشت سلولی

برای این منظور رده سلولی B16-F10 در محیط کشت RPMI-1640 با مواد مکمل شامل ۱۰ درصد سرم جنین گاوی، ۱ درصد مخلوط آنتی‌بیوتیک/آنتی‌مایکوتیک، 0.01 M HEPES، 0.02 M L-glutamine و 0.001Mپیرووات سدیم نگهداری شد. سپس در انکوباتور (در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، محیط مرطوب با ۵ درصد CO2) انکوبه شد(۱۲).

تست تغییرات مساحت خراش

تغییرات مساحت خراش، مهار رشد و مرگ سلولی به روش برون تنی عصاره با تست ترمیم خراش ارزیابی شد(۱۳، ۱۴). سلول‌های B16-F10 در ۶ چاهک از پلیت‌های ۱۲ چاهکی، در شرایط ذکر شده، کشت داده شدند تا از سلول ها بافت یک لایه و یکنواخت در هر پلیت ایجاد شود. پس از چسبندگی سلول‌ها به پلیت، محیط کشت از چاهک حذف شد و یک خراش مرکزی با نوک میکروپیپت p ۲۰۰ ایجاد شد. پس از خراشیدن، چاهک‌ها با PBS شستشو داده شدند تا سلول‌های غیر چسبنده و باقی مانده سلول‌ها حذف شوند. غلظت‌های ۱۲۵، ۶۲/۵، ۳۲/۲۵، ۱۶/۵ ppm عصاره *Astragalus* در RPMI-1640 حل و به چاهک‌ها اضافه شدند. در گروه کنترل تنها محیط کشت RPMI-1640 مورد استفاده قرار گرفت. پلیت ها در دمای ۳۷ درجه (۵ درصد CO2) انکوبه شدند و به کمک میکروسکوپ در ابتدای آزمایش (0 h)، ۲، ۴ و ۶ ساعت از شروع آزمایش با میکروسکوپ مورد ارزیابی قرار گرفتند. مرگ و میر، تغییر ظاهر سلول و خراش مورد بررسی قرار گرفتند(۱۳). مساحت خراش به وسیله نرم افزار IC meseure ورژن 3.0.0.503۲اندازه‌گیری شد.

داده‌ها با استفاده از نرم افزار GraphPad Prism (نسخه ۵/۰۱) تجزیه و تحلیل شد. داده‌های گروه‌های مختلف با استفاده از مدل مخلوط دو طرفه ANOVA (two-way mixed-model ANOVA) مورد بررسی قرار گرفت. مقایسه چندگانه توسط تحلیل تعقیبی Bonferroni انجام شد. داده‌ها به عنوان میانگین ± انحراف معیار ارائه شد و P کم‌تر از ۰/۰۵ از نظر آماری معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها و بحث

مطالعه حاضر به بررسی اثر عصاره *A. brachycalyx* بر سلول‌های B16-F10 به روش خراش سلولی پرداخت و نشان داد که این گیاه می‌تواند موجب مهار رشد و مرگ سلولی شود. ملانوما نوعی سرطان پوست است که از ملانوسیت‌ها توسعه می‌یابد و معمولاً در پوست ظاهر می‌شود، اما می‌تواند به صورت

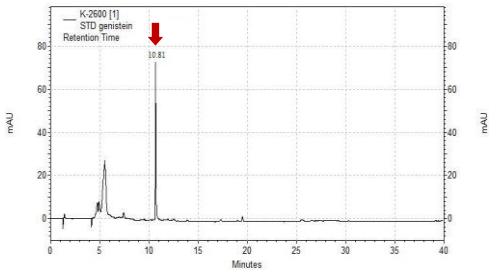
[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-09-12]

غیر عادی در سراسر بدن پراکنده شود. این عارضه تهدید کننده حیات است و ۹۸ درصد از موارد با تشخیص زود هنگام، ۵ سال آینده خود را می‌بینند.

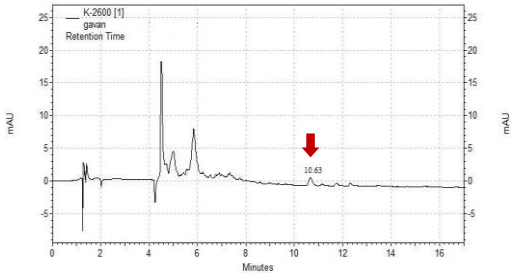
فلاونوئیدها با فعالیت ضد رادیکال‌های آزاد، می‌توانند به‌طور بالقوه خطر بروز سرطان را کاهش دهند. محققین نشان داده اند که عصاره *Inonotus obliquus* رشد و مهاجرت سلولی B16-F10 را مهار می‌کند(۱۵، ۱۶). چالکون‌ها (پیش‌سازهای فلاونوئیدها و ایزوفلاونوئیدها در مسیر بیوسنتز)، بر سرطان‌های حساس و مقاوم به دارو اثر دارند(۱۷). فلاونوئیدهای استخراج شده از *Glycyrrhiza uralensis* اثرات ضد سرطانی بر سلول‌های ملانوما نشان داده‌اند(۱۸). نتایج مطالعه حاضر همسو با مطالعات فوق الذکر بود. آنالیز گیاهی با استفاده از معادله منحنی استاندارد کوئرستین (y =۰/۰۶۷ x+۰/۲۳۶۵ ،R =۰/۰۹۷۱۲)، *A.brachycalyx* مقدار بالای محتوای فلاونوئیدی (۰/۴۵۴ گرم در هر گرم ریشه) را نشان داد.

اگرچه ملانوما سرطان وابسته به هورمون نیست، شواهد ارتباط مستقیم بین هورمون‌های جنسی (استروژن‌ها) و ملانوما را اثبات کرده‌اند(۱۹). ژنیستئین یکی از فلاونوئیدهایی است که در این خانواده وجود دارد(۷). هم‌چنین این ترکیب دارای فعالیت شبه استروژنی است، بر تکثیر سلولی اثر گذار است. در مطالعه حاضر حضور ژنیستئین با زمان بازداری ۱۰/۶۳ دقیقه در عصاره ظاهر شده است و میزان آن (۱/۱ درصد) مشخص گردید (تصاویر ۱ و ۲ و ۳). با این وجود این میزان ژنیستئین نه تنها باعث تکثیر سلول‌ها نشد بلکه عصاره موجب مهار رشد سلولی و مرگ سلولی شد. این نشان دهنده‌ی تاثیر مهار رشد و مرگ سلول‌های سرطانی توسط سایر ترکیبات موجود در عصاره بود. (تصویر شماره ۴ و جدول ۱).

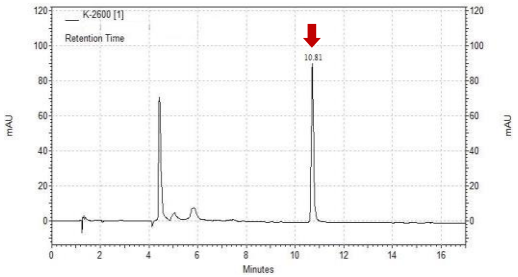
روش‌های متعددی جهت بررسی سمیت سلولی ترکیبات گیاهی وجود دارد، که می‌توان به سنجش سمیت با روش ارتمیاسالینای پرورشی، زبرا فیش، mtt، تست خراش سلولی، اشاره کرد(۲۲-۲۰).



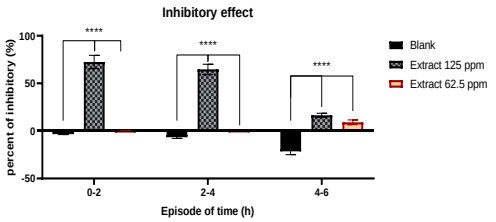
تصویر شماره ۱: آنالیز HPLC برای استاندارد ژنیستئین با غلظت ppm ۱۲۵، در آنالیز HPLC انجام شده برای ژنیستئین با غلظت ppm ۱۲۵ پیک استاندارد ژنیستئین در زمان بازداری ۱۰،۸۱دقیقه مشاهده می شود.



تصویر شماره ۲: دیاگرام HPLC عصاره با غلظت ppm ۱۰۰ فلش قرمز رنگ محل پیک ژنیستئین را در عصاره مشخص می کند.



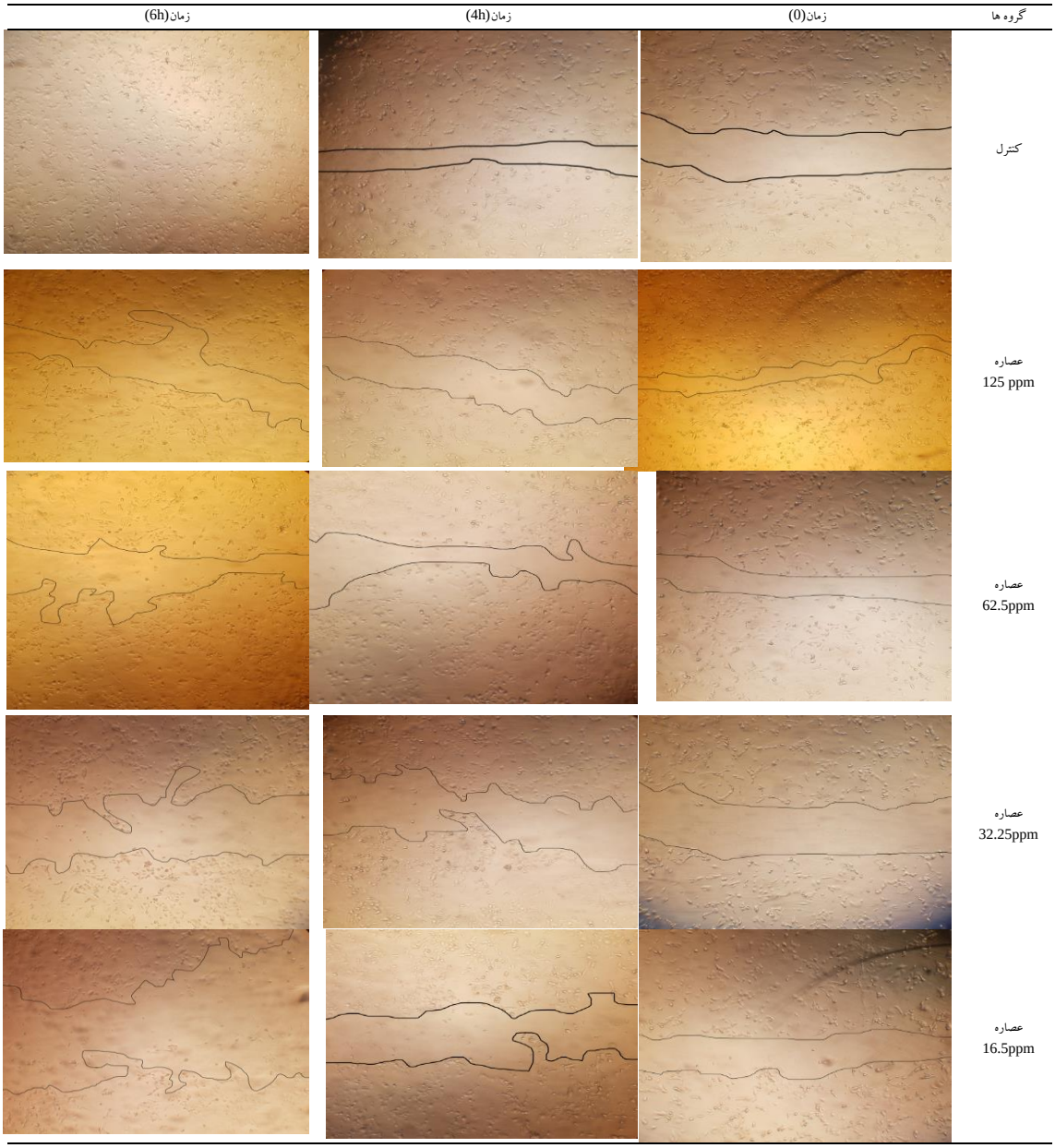
تصویر شماره ۳: تجزیه و تحلیل HPLC برای مخلوط استاندارد ژنیستئین با عصاره، در نمودار HPLC که از ترکیب استاندارد ژنیستئین و عصاره تهیه شده است زمان بازداری ۱۰/۸۱ دقیقه مربوط به پیک ژنیستئین می باشد.



تصویر شماره ٤: درصد مهار رشد سلولی در دو گروه خاص در طی سه بازه زمانی،درصد مهاری: (مساحت زمان دوم –مساحت زمان اول)/ مساحت زمان اول×۱۰۰ ($p < 0.05$, ** - $p < 0.01$, ***-p, < 0.001 and ****<0.0001 vs Control.).

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-09-12]

جدول شماره ۱: تصاویر میکروسکوپی(×۱۰۰) بسته شدن خراش در گروه های مختلف مورد ازمایش با غلظت های ۱۲۵، ۶۲,۵، ۳۲,۲۵، ۱۶,۵ و ppm ۸,۵ در زمان های ۰، ۲، ۴ و ۶ ساعت از شروع درمان



مطالعه‌ی حاضر به بررسی اثر عصاره‌ی *A. brachycalyx* بر سلول‌های B16-F10 پرداخت و ارزیابی تغییرات مساحت خراش به روش برون‌تنی نشان داد که عصاره با غلظت 500ppm، در مجاورت سلول‌ها منجر به مرگ سلولی شد. هم‌چنین هردو غلظت ۱۲۵ ppm و ۶۲/۵ به‌طور قابل توجهی مساحت محدوده خراش را در مقایسه با گروه کنترل افزایش دادند. این افزایش مساحت خراش در محیط با عصاره ۱۲۵ ppm به‌طور معنی‌داری بیش از عصاره با غلظت ۶۲/۵ ppm بود ($P < ۰/۰۵$). گروه ها به غلظت‌های ۳۲/۵ ppm و ۱۶/۵ نیز افزایش مساحت خراش را نشان دادند، اما این افزایش معنی‌دار نبود. گروه حاوی عصاره در مقایسه با گروه کنترل در هر بازه زمانی، موجب مهار رشد و مهاجرت سلولی شد (جدول شماره ۱ و تصویر شماره ۵). هم‌چنین تمام محیط‌ها پس از ۲۴ساعت مرگ سلولی را نشان دادند. هم‌چنین عصاره با غلظت ۱۲۵ ppm به طور قابل توجهی موجب مهار رشد

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-09-12]

سلول‌ها در تمامی بازه زمانی مورد سنجش نسبت به گروه کنترل گروه عصاره با غلظت ppm ۶۲/۵ بود (بازه‌های ساعتی ۰ تا ۴ و ۴ تا ۶) (P <۰/۰۰۰۱).

با توجه به میزان فلاونوئیدهای موجود در این عصاره، ممکن است حضور این دسته ترکیبات مکانیسم احتمالی در مواجهه با سرطان ملانوما باشد. از محدودیت مطالعه می‌توان از عدم بررسی mtt جهت بررسی سمیت عصاره با روش دیگر نام برد. این مطالعه، پیشنهاد می‌کند که عصاره از لحاظ فیتوشیمیایی به صورت پیشرفته مورد ارزیابی قرار گیرد و هم‌چنین اثر آن در شرایط in vivo ارزیابی شود.

عصاره ریشه (*Astragalus brachycalyx*) با مرگ سلولی، مهار رشد و مهاجرت سلول‌های سرطانی برای پر کردن محدوده خراش بر روی سلول‌های ملانوما تاثیر می‌گذارد.

سپاسگزاری

این مطالعه با همکاری انستیتو پاستور شمال ایران انجام شد و نویسندگان کمال تشکر را از همکاری پرسنل هر دو مرکز دارند.

References

1. Matthews NH, Li W-Q, Qureshi AA, Weinstock MA, Cho E. Epidemiology of melanoma. In: Exon Publications. 2017:3-22. PMID: 29461782.
2. Obrador E, Liu-Smith F, Dellinger RW, Salvador R, Meyskens FL, Estrela JM. Oxidative stress and antioxidants in the pathophysiology of malignant melanoma. Biol Chem 2019; 400(5): 589-612. PMID: 30352021.
3. Urs S. B16-F10. A Murine Melanoma Model. Princeton: Covance; 2019.
4. Afzali M, Mirzaei M, Saadati H, Mazloomi-Mahmood-Abadi S S. Epidemiology of skin cancer and changes in its trends in Iran. Feyz Med Sci J 2013; 17 (5) :501-511. (Persian).
5. Farshidfar F, Rhrissorrakrai K, Levovitz C, Peng C, Knight J, Bacchiocchi A, et al. Integrative molecular and clinical profiling of acral melanoma links focal amplification of 22q11.21 to metastasis. Nat Commun 2022; 13(1):1-16.
6. Nakamura K, Yoshikawa N, Yamaguchi Y, Kagota S, Shinozuka K, Kunitomo M. Characterization of mouse melanoma cell lines by their mortal malignancy using an experimental metastatic model. Life Sci 2002; 0(7): 791-798. PMID: 11833741.
7. Akbari F, Azadbakht M, Bagheri A, Vahedi L. In Vitro and In Vivo Wound Healing Activity of Astragalus floccosus Boiss. (Fabaceae). Adv Pharmacol Pharm Sci 2022; 2022: 7865015. PMID: 35392504.
8. Avicenna H. Ghanoon Dar Teb [The Canon of Medicine], Bulaq Edition. Sharafkandi A, translator. Tehran: University of Tehran Press; 1978.
9. Wang P, Wang Z, Zhang Z, Cao H, Kong L, Ma W, et al. A review of the botany, phytochemistry, traditional uses, pharmacology, toxicology, and quality control of the Astragalus memeranaceus. Front Pharmacol 2023; 14: 1242318. PMID: 37680711.
10. Faradiba F. Spectrophotometric determination of total flavonoid content in Biancaea Sappan (Caesalpinia sappan L.) leaves. J Fitofarmaka Indones 2021; 8(3):1-4.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-09-12]

11. Akbari F, Azadbakht M, Bagheri A, Vahedi L. In vitro and in vivo wound healing activity of Astragalus Floccosus Boiss. (Fabaceae). Adv Pharmacol Pharm Sci 2022; 2022: 7865015. PMID: 35392504.

12. Seif EJM, de França LP, de Oliveira FF, de Oliveira RA, Chaves ALF, Silva LAM, et al. Antioxidant and cytotoxic activity of diplotropis incexis rizzini & a. Matto's seed oil in b16-f10 murine melanoma. Braz J Dev 2021;7(11):106838-106856.

13. Felician FF, Yu R-H, Li M-Z, Li C-J, Chen H-Q, Jiang Y, et al. The wound healing potential of collagen peptides derived from the jellyfish Rhopilema esculentum. Chin J Traumatol 2019; 22(1): 12-20. PMID: 30827814.

14. Liang C-C, Park AY, Guan J-L. In vitro scratch assay: a convenient and inexpensive method for analysis of cell migration in vitro. Nat Protoc 2007; 2(2): 329-333. PMID: 17406593.

15. Youn M-J, Kim J-K, Park S-Y, Kim Y, Park C, Kim ES, et al. Potential anticancer properties of the water extract of Inontus obliquus by induction of apoptosis in melanoma B16-F10 cells. J Ethnopharmacol 2009; 121(2): 221-228. PMID: 19041933.

16. Jayakumar T, Chiu C-C, Wang S-H, Chou D-S, Huang Y-K, Sheu J-R. Anti-cancer effects of CME-1, a novel polysaccharide, purified from the mycelia of Cordyceps sinensis against B16-F10 melanoma cells. J Cancer Res Ther 2014; 10(1): 43-49. PMID: 24762485.

17. Gao F, Huang G, Xiao J. Chalcone hybrids as potential anticancer agents: Current development, mechanism of action, and structure-activity relationship. Med Res Rev 2020; 40(5):2 049-2084. PMID: 32525247.

18. Zheng Y, Wang H, Yang M, Peng G, Dong TTX, Xu ML, et al. Prenylated flavonoids from roots of Glycyrrhiza uralensis induce differentiation of B16-F10 melanoma cells. Int J Mol Sci 2018; 19(8): 2422. PMID: 30115883.

19. Bhari N, Schwaertz RA, Apalla Z, Salerni G, Akay BN, Patil A, et al. Effect of estrogen in malignant melanoma. J Cosmet Dermatol 2022; 21(5): 1905-1912. PMID: 34416066.

20. Hamidi MR, Jovanova B, Panovska TK. Toxicological evaluation of the plant products using Brine Shrimp (Artemia salina L.) model. Maced Pharm Bull 2014;60(1):9-18.

21. Vajrabhaya L-O, Korsuwannawong S. Cytotoxicity evaluation of a Thai herb using tetrazolium (MTT) and sulforhodamine B (SRB) assays. J Anal Sci Technol 2018; 9(1):15.

22. Zubair M, Ekholm A, Nybom H, Renvert S, Widen C, Rumpunen K. Effects of Plantago major L. leaf extracts on oral epithelial cells in a scratch assay. J Ethnopharmacol 2012; 141(3):825-830. PMID: 22465512.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-09-12]