Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 12:00 +0330 on Sunday September 24th 2017

BRIEF REPORT

Cytotoxic Effect of Methanolic Extract of Papaver rhoeas L. on Vero Cell Line and Its Antioxidant Activity

Mohammad Shokrzadeh[1],
Emran Habibi[2],
Mona Modanloo[1],
Somaye Hesami[3]

[1] Pharmaceutical Research Center, Department of Toxicology and Pharmacology, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[2] Assistant Professor, Department of Pharmacognosy and Biotechnology, Pharmaceutical Sciences Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[3] MSc Student in Toxicology, Student Research Committee, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received August 15, 2016 ; Accepted February 1, 2017)

Abstract

Background and purpose: *Papaver rhoeas* L (family: Papaveraceae) is commonly known as corn poppy. Recent studies have revealed that *Papaver rhoeas* L extract has cytotoxic, genotoxic, and antioxidant effects. The present study aimed at evaluating the cytotoxic effect and antioxidant activity of *Papaver rhoeas* L. methanolic extract on monkey kidney carcinoma cell lines (Vero).

Materials and methods: Methanolic extract of *Papaver rhoeas* L. was prepared by maceration method. Cultivated cell line Vero was incubated with different concentrations (0, 10, 50, 100, 500, and 1000µg/ml) of the extract for 72 hours and cell growth inhibition was determined using MTT assay. The antioxidant capacity was assessed using two methods: DPPH and ferric reducing ability of plasma (FRAP). The total phenolic and flavonoid contents were also determined.

Results: The IC50 of cisplatin, as a common drug, is significantly lower than that of the *Papaver rhoeas* L. (IC50= 15.96±0.26 µg/ml). Our results showed that *Papaver rhoeas* L. extract caused a significant decrease in proliferation in monkey kidney cancer cell line (IC50=80.07 µg/ml). The scavenging effect of the extract on DPPH$^{\bullet}$ radical was found to be 5.74 µg/ml. The extract's ferric reducing ability of plasma was 2.663 ± 0.002 µg/ml. Also, the extract had more total phenolic content rather than flavonoid contents.

Conclusion: This study showed that methanolic extract of *Papaver rhoeas* L. has potent cytotoxic effect on cancer cell line Vero and considerable antioxidant activity. But further investigations are required to identify efficient compounds and molecular mechanism of this extract so that effective steps could be taken towards finding new drugs in treatment of diseases.

Keywords: *papaver rhoeas*, cancer cell line, MTT assay, antioxidant activity, DPPH, FRAP

J Mazandaran Univ Med Sci 2017; 26(145): 364-370 (Persian).

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 12:00 +0330 on Sunday September 24th 2017

گزارش کوتاه

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و ششم شماره ۱۴۵ بهمن سال ۱۳۹۵ (۳۷۰-۳۶۴)

بررسی اثر سمیت سلولی عصاره متانولی گیاه *Papaver rhoeas* L. بر روی رده سلولی سرطانی Vero و فعالیت آنتی اکسیدانی آن

محمد شکرزاده[۱]
عمران حبیبی[۲]
منا مدانلو[۱]
سمیه حسامی[۳]

چکیده

سابقه و هدف: گیاه شقایق وحشی(*Papaver rhoeas*) از تیره خشخاش (Papaveraceae) با نام شقایق سرخ (Corn poppy) معروف است. مطالعات اخیر نشان داده که عصاره شقایق وحشی اثرات سیتوتوکسیسیتی ، ژنوتوکسیسیتی و آنتی‌اکسیدانی دارد. مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر سیتوتوکسیسیتی عصاره متانولی گیاه شقایق وحشی بر روی رده سرطانی کلیه میمون و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره این گیاه انجام گرفت.

مواد و روش‌ها: عصاره متانولی به روش خیساندن (Maceration) تهیه شد و سپس اثرات محلول‌های حاوی نمونه با غلظت‌های مختلف (۰، ۱۰، ۵۰، ۱۰۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر) از هر عصاره تهیه بر روی رده سرطانی کلیه میمون توسط متد سنجش قدرت احیاء رنگ تترازولیوم (MTT) بررسی شد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی با دو روش مختلف مورد ارزیابی قرار گفت: روش به دام اندازی رادیکال‌های آزاد DPPH، قدرت تام آنتی اکسیدانی پلاسما (FRAP) علاوه بر آن محتوای تام فنلی و فلاونوئیدی نیز اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: یافته‌ها حاکی از آن است که میزان IC50 داروی سیس پلاتین به عنوان یک داروی رایج در بازار به طور معنی‌داری کم‌تر از گیاه شقایق وحشی است (میکروگرم/ میلی‌لیتر ۰/۲۶ ± ۱۵/۹۶=IC50). عصاره گیاه *Papaver rhoeas* سبب کاهش معنی دار رشد سلول سرطانی کلیه میمون گردید(میکروگرم/میلی‌لیتر ۸۰/۰۷= IC50). در بررسی اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره اثر به دام اندازی رادیکال DPPH، عصاره گیاه معادل ۵/۷۴ میکروگرم در میلی‌لیتر را از خود نشان داد. قدرت تام آنتی‌اکسیدانی پلاسما عصاره میزان ۰/۰۰۲ ± ۲/۶۶۳ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به‌دست آمد. هم‌چنین عصاره دارای محتوای تام فنلی بیشتری نسبت به محتوای تام فلاونوئیدی بود.

استنتاج: نتایج نشان داد که عصاره متانولی شقایق وحشی یک ترکیب سیتوتوکسیک موثر بر روی رده سلول سرطانی کلیه میمون و دارای اثرات آنتی‌اکسیدانی قابل توجه می‌باشد، جهت یافتن ترکیبات شیمیایی موثر و مکانیسم‌های مولکولی موجود در عصاره گیاه تحقیقات بیش‌تر ضروری می‌باشد تا گامی در جهت یافتن و طراحی داروهای جدید وموثر در درمان بیماری‌ها باشد.

واژه های کلیدی: *papaver rhoeas*، رده سلول سرطانی، MTT، آنتی اکسیدان، DPPH, FRAP

مقدمه

امروزه سرطان یکی از شایع‌ترین علل مرگ و میر در جوامع بشری است(۱). اگرچه درمان‌های رایج کنونی توانسته‌اند پیش‌آگاهی مبتلایان به سرطان را بهبود بخشند، اما بسیاری از تومورها به اقدامات درمانی کنونی

مولف مسئول: سمیه حسامی- ساری: کیلومتر ۱۸ جاده خزرآباد، مجتمع دانشگاهی پیامبراعظم، دانشکده داروسازی E-mail: Somayehhesami78@yahoo.com
۱. مرکز تحقیقات علوم دارویی، گروه سم شناسی/ فارماکولوژی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۲. استادیار، گروه فارماکوگنوزی و بیوتکنولوژی، مرکز تحقیقات علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۳. دانشجوی کارشناسی ارشد سم شناسی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
تاریخ دریافت : ۱۳۹۵/۵/۲۵ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۱۳۹۵/۵/۳۰ تاریخ تصویب : ۱۳۹۵/۱۱/۱۲

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 12:00 +0330 on Sunday September 24th 2017

پاسخ نمی‌دهند(۲). بنابراین تلاش برای یافتن داروهای موثرتر و با عوارض جانبی کمتر ادامه دارد. گیاهان از دیرباز به عنوان منبع ارزشمندی برای پیدا کردن داروهای جدید محسوب می‌شدند(۴،۳). کشت سلولی در علم توکسیکوفارماکولوژی به منظور بررسی In vitro تمامی ترکیبات طبیعی و سنتتیک و ... پیشرفت شگرفی را پیدا کرده است(۸-۵). همچنین تولید رادیکال آزاد و گونه‌های واکنشگر اکسیژن در فرآیند متابولیسم به علت پتانسیل بالا در تخریب درشت مولکول‌های زیستی مانند DNA، پروتئین‌ها و چربی‌ها یکی از عوامل اصلی پیری و بیش از یکصد نوع بیماری مختلف در بدن محسوب می‌شود(۱۰،۹). گیاه شقایق وحشی با نام علمی Linn *Papaver rhoeas* از تیره خشخاش یا Papaveraceae می‌باشد(۱۱). از عصاره این گیاه اثرات آنتی‌اکسیدانی، سیتوتوکسیسیتی و ژنوتوکسیسیتی در رده‌های سلولی لنفوبلاستوئیدی انسان (TK6) گزارش شده است(۱۲). با توجه به این‌که تاکنون تحقیق مشابهی از گونه *Papaver rhoeas* در ایران بر روی رده سلول‌های سرطانی Vero و فعالیت آنتی‌اکسیدانی این گیاه انجام نشده، لذا ما اثرات عصاره متانولی شقایق وحشی را به منظور مهار رشد سلول موردنظر و تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی و میزان برخی از ترکیبات آنتی‌اکسیدان نظیر فنل و فلاونوئید کل، مورد مطالعه قرار دادیم.

مواد و روش ها

در این مطالعه آزمایشگاهی (Experimental) نمونه گیاه در اردیبهشت ماه ۱۳۹۴ از استان مازندران جمع‌آوری گردید، گونه و نوع گیاه، با نمونه هرباریومی دانشکده داروسازی ساری مطابقت وتوسط متخصص مربوطه تایید شد. سپس گیاهان در سایه به مدت ۵ روز و پس از حرارت مصنوعی ۴۰ درجه سانتی‌گراد به مدت یک هفته کاملا خشک گردیدند. گیاه خشک شده به اندازه ذره‌ای با مش ۱۰۰ توسط آسیاب معمولی خرد گردید. درمرحله بعد ۱۰۰ گرم نمونه خشک شده به روش خیساندن (Maceration) با مقدار ۲۰۰ سی‌سی متانول خالص عصاره‌گیری و با دستگاه تقطیر در خلاء در دمای ۵۰ درجه تغلیظ شد. و با انتقال به انکوباتور خشک گردید.

جهت بررسی اثر سیتوتوکسیسیتی و انجام کشت سلولی رده سلول سرطانی کلیه میمون (Vero) از انستیتو پاستور تهران خریداری شد. سلول‌ها در محیط کشت DMEM که با ۱۰ درصد سرم جنین گاوی (FBS)، سدیم پیروات ۱۰۰ میلی مولار، ۱/۵ g/l سدیم بی کربنات و ۱ درصد آنتی بیوتیک پنی‌سیلین-استرپتومایسین که در انکوباتور (BINDER,USA) در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و رطوبت کافی و۵ درصد دی‌اکسیدکربن نگهداری شد. پس از رشد ۷۰ درصدی سلول‌ها، توسط تریپسین- اتیلن دی آمین ترا استیک اسید (EDTA) از ته فلاسک جدا شده و در دور ۱۵۰۰ rpm به مدت ۵ دقیقه سانتریوفیوژ شدند. رسوب سلولی حاصل به حالت سوسپانسیون تهیه شد و درصد زنده بودن سلول‌های موجود در سوسپانسیون سلولی با مخلوط شدن نسبت مساوی از تریپان بلو با استفاده از لام هموسایتومتر و بررسی با میکروسکوپ نوری تعیین شد(۱۳). سنجش میزان سمیت سلولی با روش رنگ‌سنجی MTT انجام شد. در این روش میزان ۲۰ µl محیط کشت حاوی 10^5 سلول در هر چاهک پلیت ۹۶ خانه کاشته شد، پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون غلظت‌های مختلف از عصاره مورد نظر (۰، ۱۰، ۵۰، ۱۰۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰) میکروگرم در میلی‌لیتر به سلول‌ها اضافه شد و طی ۷۲ ساعت انکوبه شد. پس از طی زمان مذکور به هر چاهک پلیت MTT 20 µl (از شرکت سیگما با غلظت ۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) اضافه شد و به مدت چهار ساعت دیگر در تاریکی انکوبه شد. سپس محیط کشت به دقت خارج شده و به هر خانه پلیت ۲۰ µl محلول DMSO رقیق شده جهت حل کردن فورامازان ارغوانی رنگ اضافه شد. پس از ۱۵ دقیقه انکوباسیون در دمای اتاق جذب نوری هر چاهک با استفاده از دستگاه الایزا در طول

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 12:00 +0330 on Sunday September 24th 2017

موج ۴۹۰ نانومتر قرائت شد(۱۵،۱۴). درصد بقای سلولی با تقسیم جذب نوری تست برجذب نوری کنترل در برابر غلظت عصاره حاصل گردید. جهت بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی روش رادیکال آزاد DPPH (2,2-Diphenyl- Picryl- Hydrazyl) انجام شد. بدین منظور ۱ گرم از عصاره تام را در ۱ میلی‌لیتر از متانول ۹۵ درصد حل شد و سپس از محلول ۱۰۰۰ mg/ml بدست آمده، غلظت‌های مختلف شامل ۲۵ µg/ml، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰، ۱۲۵، ۱۵۰، ۲۰۰، ۴۰۰ تهیه شد. ۲۰۰ µM از DPPH در اتانول بصورت محلول در آورده، به هر غلظت هم حجم خودش محلول DPPH اضافه گردید. پس از مخلوط کردن بمدت ۳۰ دقیقه در تاریکی انکوبه و جذب آن در طول موج ۵۱۷ نانومتر اندازه‌گیری شد و از اسیدآسکوربیک ۲۰ µg/ml به عنوان کنترل مثبت استفاده گردید و درصد به دام‌اندازی رادیکال آزاد با فرمول زیر محاسبه گردید:

$$R\% = A_C - A_S/A_C \times 100$$

R% = درصد به دام اندازی رادیکال‌های آزاد، A_C = جذب کنترل، A_S = جذب نمونه ها یا استاندارد

جهت بررسی قدرت تام آنتی‌اکسیدانی پلاسما (FRAP) به ۵۰ میکرولیتر از عصاره گیاه ۱/۵ میلی‌لیتر معرف FRAP اضافه گردید. مخلوط حاصل ورتکس و در دمای ۳۰ °C انکوبه شد. جذب محلول‌ها در ۵۹۳ نانومتر نسبت به شاهد (شامل ۵۰ میکرولیتر آب مقطر به همراه ۱/۵ میلی‌لیتر معرف FRAP)، بعد از گذشت زمان ۴، ۳۰ و ۶۰ دقیقه خوانده شد. هم‌چنین از محلول آبی $FeSO_4 .7H_2O$ با غلظت‌های مختلف برای رسم نمودار کالیبراسیون استفاده شد(۱۷،۱۶). جهت اندازه‌گیری محتوای فنل، فلاونوئید، ۲۰۰ میکرولیتر از عصاره گیاه که به نسبت ۱:۱۰ در اتانول تهیه شده ۱ میلی‌لیتر معرف فولین‌سیوکالتو[1] که با نسبت ۱:۱۰ با آب مقطر رقیق شده اضافه گردید. پس از گذشت ۴ دقیقه ۸۰۰ میکرولیتر کربنات سدیم (۷۵ گرم بر لیتر) به آن افزوده شد. سپس محلول را بمدت ۲ ساعت در دمای اتاق قرار دادیم. جذب نمونه‌ها را در طول موج ۷۵۶ نانومتر قرائت نمودیم. از اسید گالیک (غلظت ۱ تا ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) برای رسم منحنی استاندارد استفاده شد و میزان کل فنل بر مبنای اسیدگالیک در هر میلی‌گرم عصاره خشک محاسبه شد. برای سنجش میزان فلاونوئید کل به ۵۰۰ میکرولیتر از هر عصاره ۱/۵ میلی‌لیتر متانول (۸۰ درصد)، ۱۰۰ میکرولیتر محلول آلومینیوم کلراید (۱۰ درصد)، ۱۰۰ میکرولیتر محلول استات پتاسیم ۱ مولار و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد. جذب مخلوط بعد از گذشت ۳۰ دقیقه در طول موج ۴۱۵ نانومتر نسبت به بلانک اندازه‌گیری گردید. بلانک حاوی تمام ترکیبات ذکر شده در بالا بود اما به‌جای عصاره، همان حجم متانول ۸۰ درصد به آن اضافه شده بود. برای رسم منحنی استاندارد از کوئرستین استفاده شد. نهایتاً آنالیز داده‌ها با نرم‌افزار SPSS ۱۶ و به روش ANOVA و T-test انجام شد.

یافته ها و بحث

استفاده از کشت سلولی در سم‌شناسی و فارماکولوژی شرایطی را برای تحقیق در انواع مواد دارویی و روش‌های جدید به وجود آورده است(۱۸). طی این مطالعه میزان IC50 عصاره متانولی گیاه شقایق وحشی برای سلول‌های سرطانی Vero، ۲/۵۲±۸۰/۰۷ میکروگرم بر میلی‌لیتر و برای داروی سیس‌پلاتین ۰/۲۶ ± ۱۵/۹۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر می‌باشد. با استفاده از میزان جذب‌های خوانده شده در رده سلولی Vero، میزان درصد زنده ماندن سلول‌ها (viability%) پس از مواجه با عصاره متانولی گیاه شقایق وحشی و اتمام تست MTT تعیین گردید (نمودار شماره ۱).

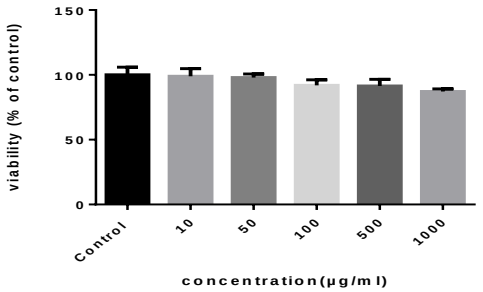
جهت فعالیت آنتی اکسیدانی از روش‌های به دام اندازی رادیکال‌های آزاد DPPH، تست قدرت تام آنتی‌اکسیدانی پلاسما (FRAP) و سنجش محتوای تام فنل و فلاونوئید برای ارزیابی این فعالیت گیاه استفاده

1. Folin–Ciocalteu's

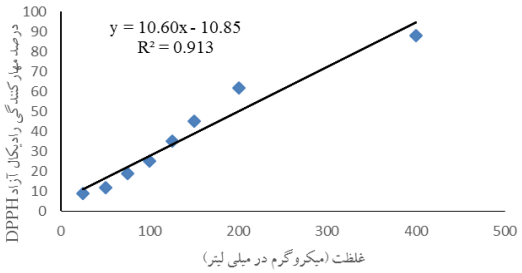
Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 12:00 +0330 on Sunday September 24th 2017

شـــــــــد. در روش رادیکـــــــــال آزاد DPPH (2,2-Diphenyl-Picryl-Hydrazyl) میزان IC_{50} عصاره گیاه و اسیدآسکوربیک به ترتیب ۵/۷۴ و ۰/۰۳ ± ۸/۲۴ میکروگرم در میلی‌لیتر به دست آمد (نمودار شماره ۲). در مورد قدرت تام آنتی اکسیدانی پلاسما (FRAP) در این تحقیق میزان ۰/۰۰۲ ± ۲/۶۶۳ میلی گرم بر میلی‌لیتر به‌دست آمد (نمودار شماره ۳)(۱).

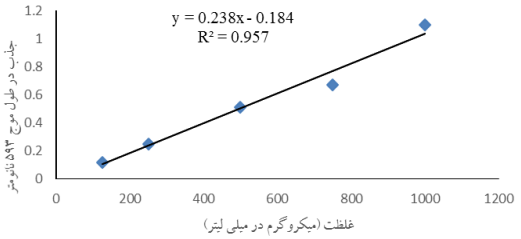
محتـوای فنلـی عصـاره گیـاه ۰/۰۰۲ ± ۲۵۵/۱۲ میلی‌گرم معادل اسیدگالیک در یک گرم عصاره و محتوای تام فلاونوئیدی ۰/۰۱ ± ۱۴۶/۴۵ میلی‌گرم معادل کوئرستین در یک گرم عصاره گیاه به‌دست آمد.



نمودار شماره ۱: میزان بقای سلولی (درصد) رده Vero در مواجهه با عصاره متانولی گیاه .*papaver rhoeas* L طی زمان انکوباسیون ۷۲ ساعت



نمودار شماره۲: نمودار درصد فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH



نمودار شماره ۳: نمودار میزان جذب کمپلکس $[Fe(II)(TPTZ)_2]^{+2}$ در تست FRAP

با نظر اجمالی به نمودار شماره ۱ و داده‌های به‌دست آمده در یافته‌ها می‌توانیم دریابیم که گرچه تفاوت معنی‌داری میان مقدار IC50 عصاره گیاه .*papaver rhoeas* L (میکروگرم/ میلی‌لیتر IC50=۸۰/۰۷) در مقایسه با داروی ضدسرطان سیس‌پلاتین (میکروگرم/میلی‌لیتر ۰/۲۶ ± IC50=۱۵/۹۶) وجود دارد(p< ۰/۰۵)، اما می‌توان ادعا کرد که عصاره این گیاه دارای اثرات مهارکنندگی رشد قابل‌توجهی بر روی رده سلولی Vero بوده است. سیس‌پلاتین یکی از پرمصرف‌ترین داروها در شیمی درمانی سرطان می‌باشد علت اختلاف معنی‌دار IC50 سیس‌پلاتین با عصاره شقایق‌وحشی این است که سیس‌پلاتین یک ترکیب خالص شیمیایی است، اما عصاره گیاه شقایق مخلوط تعدادی از ترکیبات از جمله انواعی از آلکالوئیدهای مختلفی مانند رآدین، اسید رآدیک، اسید پاپاوریک، اسید مکوئیک، موسیلاژ می‌باشد که چه بسا در نتیجه مطالعات بیش‌تر ترکیبات خالص شده بتوانند با اثربخشی قوی‌تر و عارضه کم‌تر جایگزین مناسبی برای داروهایی هم‌چون سیس‌پلاتین باشند(۱۹،۲۰). در روش فعالیت به دام اندازی رادیکال‌های آزاد DPPH، مقدار IC_{50} به‌دست آمده برای عصاره گیاه برابر با ۵/۷۴ میکروگرم در میلی‌لیتر بود، طی یک مطالعه اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره اتانولی گیاه خشخاش (.*papaver somniferum* L) بررسی شد IC_{50} عصاره ۰/۰۱ ± ۴۸/۵۶ بود که در مقایسه با گیاه موردمطالعه ما اثر آنتی‌اکسیدانی ضعیف‌تری داشت(۲۱). بررسی‌های اندکی بر روی گونه‌های جنس پاپاور در زمینه تست قدرت تام آنتی اکسیدانی پلاسما (FRAP) و تعیین محتوای تام فنول و فلاونوئیدی انجام شده است. لذا پیشنهاد می‌نماییم علاوه بر این نوع عصاره اثرات عصاره‌های تام دیگر بر رده‌های سلولی سرطانی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها، وتست‌هایی با مکانیسم‌های انتقال هیدروژن، تست‌های رادیکال‌های مخرب موجود در انسان مانند سوپراکسید و هیدروکسیل نیز مورد بررسی قرار گیرند. هم‌چنین

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 12:00 +0330 on Sunday September 24th 2017

ترکیبات موثر موجود در عصاره گیاه را جداسازی و اثرات آن‌ها بر مهار رشد رده‌های سلولی سرطانی مختلف و مکانیسم‌های مختلف مهار رشد ارزیابی گردد، تا گامی در جهت یافتن و طراحی داروهای جدید و موثر در درمان بیماری‌ها باشد.

سپاسگزاری

این مقاله حاصل پایان‌نامه خانم سمیه حسامی دانشجوی کارشناسی ارشد سم‌شناسی می‌باشد، از همه عزیزانی که در انجام این پایان‌نامه مشارکت داشته‌اند صمیمانه سپاسگزاریم.

References

1. Sharma DK, Dhiman K, Gupta DK, Gill NS, Goyal A. A Review on the Medicinally Important Plants of the Family Cucurbitaceae. Asian Journal of Clinical Nutrition 2012; 4(1): 16-26.
2. Magné N, Chargari C, Deutsch E, Castadot P, Ghalibafian M, Bourhis J, et al. Molecular profiling of uterine cervix carcinoma: an overview with a special focus on rationally designed target-based anticancer agents. Cancer and Metast Rev 2008; 27(4): 737-750.
3. Harlev E, Nevo E, Lansky EP, Lansky S, Bishayee A. Anticancer attributes of desert plants: a review. Anti-cancer Drugs 2012; 23(3): 255-271.
4. Sakarkar DM, Deshmukh VN. Ethnopharmacological review of traditional medicinal plants for anticancer activity. International J Pharm Tech Res 2011; 3(1): 298-308.
5. Yang CC, Lee MR, Hsu SL, Chang CM. Supercritical fluids extraction of capillarisin from Artemisia capillaris and its inhibition of in vitro growth of hepatoma cells. The Journal of Supercritical Fluids. 2007; 42(1): 96-103.
6. Zhai DD, Supaibulwatana K, Zhong JJ. Inhibition of tumor cell proliferation and induction of apoptosis in human lung carcinoma 95-D cells by a new sesquiterpene from hairy root cultures of Artemisia annua. Phytomedicine 2010; 17(11): 856-861.
7. Zhai DD, Jin HZ, Zhong JJ. A new sesquiterpene from hairy root culture of Artemisia annua. Chinese Chem Lett 2010; 21(5): 590-592.
8. Yuan HD, Jin GZ, Piao GC. Hepatoprotective effects of an active part from Artemisia sacrorum Ledeb. against acetaminophen-induced toxicity in mice. J Ethnopharmacol 2010; 127(2): 528-533.
9. Nagy IZ. On the true role of oxygen free radicals in the living state, aging, and degenerative disorders. Ann N Y Acad Sci 2001; 928: 187-199
10. Ames BN, Shigensaga MK, Hagen TM. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. Proc Natl Acad Sci U S A 1993; 90(17): 7915-7922.
11. Gubruz I, Ustun O, Yesilada E, Sezik E and Kutsal O. Antiulcerogenic activity of some plants used as folk remedy in Turkey. J Ethnopharmacol 2003, 88(1): 93-97.
12. Hasplova K, Hudecova A, Miadokova E, Magdolenova Z, Galova E, Vaculcikova L, et al. Biological activity of plant extract isolated from Papaver rhoeas on human lymfoblastoid cell line. Neoplasma 2011; 58(5): 386-391.
13. Ghosh K, Chandra K, Ojha AK, Sarkar S, Islam SS. Structural identification and cytotoxic activity of a polysaccharide from the fruits of Lagenaria siceraria (Lau). Carbohydr Res 2009; 344(5): 693-698.

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 12:00 +0330 on Sunday September 24th 2017

14. Shokrzadeh M, Habibi E, Dadkhah G, Modanloo M. Evaluating the Cytotoxicity Effect of Hydroalcoholic Extract of Juglans regia on Human Cancer Cell Lines (HepG2-HeLa) by MTT Assay. J Mazandaran Univ Med Sci 2016; 26(141): 160-164 (Persian).
15. Saravi SS, Shokrzadeh M, Shirazi FH. Cytotoxicity of Sambucus ebulus on cancer cell lines and protective effects of vitamins C and E against its cytotoxicity on normal cell lines. Afr J Biotechnol 2013; 12(21): 3360-3365.
16. Chiu S, Bhakthan NM. Experimental acetaminophen-induced hepatic necrosis: biochemical and electron microscopic study of cysteamine protection. Laboratory investigation. A Journal of Technical Methods and Pathology 1978; 39(3): 193-203.
17. Mutimer DJ, Ayres RC, Neuberger JM, Davies MH, Holguin J, Buckels JA, et al. Serious paracetamol poisoning and the results of liver transplantation. Gut 1994; 35(6): 809-814.
18. Mozdastan S, Ebrahimzadeh M A, Khalili M. Comparing the Impact of Different Extraction Methods on Antioxidant Activities of Myrtle (Myrtus communis L.). J Mazandaran Univ Med Sci 2015; 25 (127): 10-24 (Persian).
19. Huang D, Ou B, Prior RL. The Chemistry behind antioxidant capacity assays. J Agric Food Chem 2005; 53(6): 1841-1856.
20. Miller M. Basic Chemical Information of cisplatin. Available at: http://www.chm.bris.ac.uk/motm/cisplatin/htmlonly. Accessed June 14, 2012.
21. Anonymus, Cisplatin the Penicillin of Cancer. (2011). Available at: http://www.cisplatin.org. Accessed Aug 2, 2012.
22. Baros S, Karsayová M, Jomová K, Gáspár A, Valko M. Free radical scavenging capacity of Papaver somniferum L. and determination of pharmacologically active alkaloids using capillary electrophoresis. The Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences. 2012; 1 (Special issue): 725-732.