ORIGINAL ARTICLE

Cytotoxic Effect of Hydro-Alcoholic Extract of Crocus caspius on Breast Caner Cell Lines

Zahra Tofighi[1],
Hamidreza Mohamadi[2],
Mohammad Shokrzadeh[2],
Mohammad Hosein Ghahremani[3],
Sajad Noori[4],
Emran Habibi[5]

[1] Assistant Professor, Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
[2] Associate Professor, Department of Toxicology and Pharmacology, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[3] Professor, Department of Toxicology and Pharmacology, Faculty of Pharmacy, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
[4] Doctor of Pharmacy, Faculty of Pharmacy, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
[5] Assistant Professor, Department of Pharmacognosy and Biotechnology, Faculty of Pharmacy, Pharmaceutical Sciences Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received February 25, 2017 Accepted July 3, 2017)

Abstract

Background and purpose: Breast cancer is the most common cancer in woman. About one million new cases are diagnosed every year worldwide. Many researchers are interested in anti-cancer effects of natural products. In this research, cytotoxic effects of *Crocus caspius* extract against breast cancer and normal cell lines were investigated and total phenols and flavonoids were also determined.

Materials and methods: Flowers of *Crocus caspius* were collected from Neka in Mazandaran province, Iran, in autumn 2014. The powder of dried flowers were macerated with 80% methanol, three times every 48 hr. The methanol extract was concentrated under reduced pressure. Cell viability was determined using MTT and trypan blue assay was done on breast carcinoma cell lines (MCF7, 4T1, and SKBR3) and Swiss mouse embryo fibroblast (NIH/3T3) as normal cell lines. Various concentrations (1, 50, 100, 500, and 1000 µg/ml) of the extract and positive control were examined for determination of IC50.

Results: *Crocus caspius* extract showed no considerable cytotoxic effects against breast cancer and normal cell lines. Total phenolic and flavonoid contents of the extract were quite high; 238.25±4.35 mg GAE/g and 85.41±6.24 mg quercetin/g of dry extract, respectively.

Conclusion: These results indicated non toxicity of *Crocus caspius* extract. Further studies are needed to investigate the preventive effect of *C.caspius* extract against cancer according to its total phenolic and flavonoid contents.

Keywords: *Crocus caspius*, Cytotoxicity, MTT, trypan blue, breast neoplasms, total phenol

J Mazandaran Univ Med Sci 2017; 27 (151):32-40 (Persian).

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-05-17]

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و هفتم شماره 151 مرداد سال 1396 (40-32)

مطالعه سمیت سلولی عصاره هیدروالکلی گیاه زعفران خزری بر رده سلول‌های سرطانی سینه

زهرا توفیقی[1]
حمیدرضا محمدی[2]
محمد شکرزاده[2]
محمد حسین قهرمانی[3]
سجاد نوری[4]
عمران حبیبی[5]

چکیده

سابقه و هدف: سرطان سینه شایع‌ترین نوع سرطان بین خانم‌ها می‌باشد و هر سال حدود یک میلیون نفر به این بیماری مبتلا می‌شوند. محققین در جستجو ترکیبات ضدسرطان از منابع طبیعی می‌باشند. مطالعه حاضر به بررسی اثر سایتوتوکسیک عصاره گل زعفران خزری بر رده‌های سلول سرطان سینه و نرمال، تعیین مقدار فنول و فلاونوئید تام عصاره می‌پردازد.

مواد و روش‌ها: گل‌های زعفران خزری، در پائیز 93 از ارتفاعات جنگلی شهرستان نکا استان مازندران جمع‌آوری شد. پس از خشک و خرد شدن، عصاره‌گیری به روش ماسراسیون و با حلال متانول 80 درصد طی 48 ساعت با 3 مرتبه تکرار صورت گرفت. عصاره جمع‌آوری و تحت خلا و حرارت کم تغلیظ شد. اثر سایتوتوکسیک عصاره حاصل روی رده‌های سلول سرطان سینه MCF7، 4T1 و SKBR3 و سلول نرمال فیبروبلاست موش سوئیسی (NIH/3T3) مورد بررسی و با استفاده از روش MTT و Tripan blue فاکتور IC50 اندازه‌گیری شد (بر هر رده سلولی، غلظت‌های 1، 50، 100، 500 و 1000 میکروگرم بر میلی‌لیتر از عصاره آزمایش گردید).

یافته‌ها: نتایج این مطالعه نشان داد عصاره گل زعفران خزری اثر سایتوتوکسیک قابل توجهی نداشته است. از طرف دیگر مقدار فنول تام (4/35 ± 238/25 میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم عصاره خشک) و مقدار فلاونوئید تام (6/24± 85/41 میلی¬گرم کوئرستین بر گرم عصاره خشک) گل زعفران خزری قابل توجه می¬باشد.

استنتاج: ترکیبات موثر موجود در این عصاره، فاقد خاصیت سایتوتوکسیک موثر می‌باشند و پیشنهاد می‌گردد در مطالعات بعد با توجه به پروفایل ترکیبات فنولیک و فلاونوئیدی آن، بررسی‌های بیش‌تری روی خاصیت پیشگیری‌کننده و محافظتی عصاره گل زعفران خزری در برابر سرطان صورت گیرد.

واژه های کلیدی: زعفران خزری، سمیت سلولی، MTT، تریپان بلو، سرطان سینه، فنول تام

مقدمه

سرطان یک بیماری هتروژن چند عاملی و بر اساس اعلام سازمان بهداشت جهانی، یکی از علل‌های اصلی مرگ و میر در سراسر دنیا می‌باشد. سمیت و عوارض ناشی از شیمی درمانی در حال انجام، تقاضا برای توسعه عوامل ضد سرطان جدید را مطرح کرده است(1). طبیعت غنی از ترکیبات جدیدی است که نقش به

مولف مسئول: عمران حبیبی - ساری: جاده دریا، مجتمع پیامبر اعظم(ص) دانشگاه علوم پزشکی مازندران، دانشکده داروسازی Email: Emrapharm@yahoo.com
1. استادیار گروه فارماکوگنوزی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
2. دانشیار گروه سم شناسی و داروشناسی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
3. استادگروه سم شناسی و داروشناسی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
4. دکترای حرفه ای، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
5. استادیار گروه فارماکوگنوزی و بیوتکنولوژی، مرکز تحقیقات علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
تاریخ دریافت : 1395/12/7 تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : 1396/3/6 تاریخ تصویب : 1396/4/12

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-05-17]

سزایی در درمان انواع بیماری‌ها دارند و درمان سرطان از این امر مستثنی نیست. امروزه اکثر ترکیبات آنتی‌کانسر مورد استفاده، یا مستقیماً از ارگانیسم زنده جدا شده‌اند و یا مشتقات نیمه سنتیک ترکیبات طبیعی می‌باشند(2). اولین قدم در راه دست‌یابی و تکامل داروهای ضدسرطان از منابع طبیعی، انجام تست‌های غربالگری می‌باشد. چندین نوع از عوامل ضد سرطان برای آزمون غربالگری مورد توجه می‌باشند که از آن جمله می‌توان ترکیبات سایتوتوکسیک و موثر بر سیستم ایمنی را نام برد(3).

گیاه زعفران خزری (*Crocus caspius* Fisch & C. A. May) به‌عنوان یکی از گونه‌های انحصاری ایران، گیاهی یکساله و متعلق به تیره زنبق است. این گیاه در دنیا پراکندگی محدودی داشته و در ایران فقط در مناطق شمالی گسترش دارد. فصل گلدهی آن، ماه‌های مهر وآبان است(4). مطالعات فیتوشیمیایی اندکی روی این گیاه صورت گرفته و حضور ترکیبات فنول، فلاونوئیدی، عملکرد ضدباکتری و آنتی‌اکسیدانتی آن نشان داده شده‌است(5، 6). زعفران خزری یکی از گونه‌های نزدیک به زعفران خوراکی (Crocus sativa) می‌باشد و انتظار می‌رود از لحاظ ترکیبات و عملکرد، تشابهاتی با هم داشته باشند. زعفران خوراکی و اجزای تشکیل‌دهنده آن دارای اثرات فارماکولوژیکی مختلف از جمله عملکرد سایتوتوکسیک و ضد سرطان بوده که در مطالعات مختلف بیان شده‌است(7، 10). از آن‌جایی که تاکنون مطالعه‌ای از گیاه زعفران خزری بر روی رده‌های سلول سرطانی سینه MCF7، 4T1 وSKBR3 انجام نشده است، برآن شدیم تا در این پژوهش، اثر هیدروالکلی گل‌های گیاه زعفران خزری را در مهار رشد رده‌های سلولی مذکور بررسی نماییم.

مواد و روش ها

جمع‌آوری گیاه و عصاره‌گیری:

گیاه زعفران خزری (Crocus caspius Fisch & C. A. May.) از استان مازندران، شهر نکا، منطقه کوهسارکنده درآبان ماه 1393 جمع‌آوری شد و پس از تائید نام علمی توسط متخصص سیستماتیک، نمونه هرباریومی از آن تهیه و به شماره E2-2-512 در هرباریوم دانشکده داروسازی ساری قرار داده شد. گل‌های گیاه در سایه و در معرض جریان ملائم هوا خشک شده و سپس به صورت پودر در آمده و در ظرف‌های سربسته تا زمان انجام عصاره‌گیری نگهداری شد. برای تهیه عصاره از روش خیساندن چندباره و حلال هیدروالکلی متانول 80 درصد استفاده شد. به این منظور 100 گرم پودر خشک شده گیاه درون ظرف شیشه‌ای شیردار، حاوی صافی ریخته شد و سپس حلال هیدروالکلی به آن اضافه شد و پس از 48 ساعت، عصاره جمع‌آوری گردید و مجددا حلال هیدروالکلی جدید به تفاله اضافه و عمل جمع‌آوری 48 ساعت بعد تکرار شد (3 مرتبه). در مرحله آخر، عصاره به دست آمده توسط دستگاه روتاری تحت شرایط خلاء تغلیظ و با دستگاه فریزدرایر به صورت پودر خشک درآمد.

اندازه‌گیری میزان فنول تام:

میزان فنول تام با استفاده از واکنشگر فولین-سیوکالتیو و به روش اسپکتروفتومتری و رسم منحنی استاندارد انجام می‌پذیرد. ابتدا 1 میلی‌لیتر از محلول عصاره با غلظت 1 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر را با 5 میلی‌لیتر از معرف فولین سیتوکالیتو (رقیق شده 1 به 10) مخلوط کرده و در دمای اتاق انکوبه شد. پس از گذشت مدت زمان 10 دقیقه، 4 میلی‌لیتر از محلول حاوی بی‌کربنات‌سدیم با غلظت 75 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به آن افزوده و برای مدت 60 دقیقه و دور از نور در دمای اتاق انکوبه گردید. بعد از این مدت جذب نمونه در طول موج 765 نانومتر اندازه‌گیری شد. نتایج بر حسب میلی‌گرم هم‌ارز گالیک اسید بر میلی‌گرم وزن خشک عصاره گزارش شد(11).

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-05-17]

اندازه‌گیری میزان فلاونوئید تام:

با استفاده از روش رنگ سنجی آلومینیوم کلرید تعیین شد. در یک بالن ژوژه به حجم 10 میلی‌لیتر، این روش انجام می‌گیرد؛ بدین صورت که به 0/5 میلی‌لیتر از غلظت 1 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره، 1/5 میلی‌لیتر اتانول 95 درصد و بعد از آن 0/1 میلی‌لیتر محلول کلریدآلومینیوم 10 درصد و میزان 0/1 میلی‌لیتر پتاسیم استات 1 مولار) 1 (Mو در نهایت 2/8 میلی‌لیتر آب مقطر اضافه کرده و بعد از مخلوط کردن در شرایط دمایی اتاق، به مدت 30 دقیقه قرار داده و در نهایت میزان جذب نمونه در طول موج 415 نانومتر در مقابل محلول بلانک قرائت شد. منحنی کالیبراسیون محلول‌های کوئرستین در دامنه 200-25 میکروگرم بر میلی‌لیتر تهیه شد. نتایج به صورت میلی‌گرم هم‌ارز کوئرستین بر میلی‌گرم وزن خشک گزارش شد(12).

ارزیابی عملکرد سمیت سلولی:

جهت بررسی اثر سمیت سلولی، ابتدا رده‌های سلول سرطانی سینه (MCF7, 4T1 و (SKBR3و سلول‌های نرمال فیبروبلاست موش سوئیسی (NIH/3T3)از انستیتو پاستور تهران خریداری شد. سلول‌ها در محیط‌کشت DMEM که حاوی 10 درصد سرم جنین گاوی، سدیم پیروات 100 میلی‌مولار، g/l 5/1سدیم بی‌کربنات و 1 درصد آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین -استرپتومایسین بود، در انکوباتور (Binder, USA)در دمای 37 درجه سانتی‌گراد و رطوبت کافی و 5 درصد دی‌اکسیدکربن نگهداری شدند. پس از آن که سلول‌ها به میزان 70 درصد رشد داشتند، توسط تریپسین -اتیلن دی‌آمین تترااستیک اسید از ته فلاسک‌ها جدا گردیدند و در دور rpm 1500 به مدت 5 دقیقه سانتریوفوژ 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. سنجش میزان سمیت سلولی با روش رنگ‌سنجی MTT انجام گردید که در این روش میزان 20 µl محیط کشت حاوی 105 سلول در هر چاهک پلیت 96 خانه کاشته شد. پس از 24 ساعت انکوباسیون، غلظت‌های مختلف از عصاره مورد نظر (10، 50، 100، 500، 1000 میکروگرم بر میلی‌لیتر) به رده‌های مختلف سلولی اضافه شد و طی 72 ساعت انکوبه شدند. پس از طی زمان مذکور بر هر چاهک پلیت‌ها، میزان 20 µl از MTT (شرکت سیگما-آمریکا) با غلظت 5 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر اضافه شد و به مدت 4 ساعت دیگر در تاریکی انکوبه گردید. سپس محیط کشت به دقت از چاهک‌های پلیت‌ها خارج شده و به هر خانه پلیت، میزان 20 µl محلول دی‌متیل سولفوکساید رقیق شده جهت حل کردن فورامازان ارغوانی رنگ اضافه شد. پس از مدت 15 دقیقه انکوباسیون در دمای اتاق، جذب نوری هر چاهک پلیت‌های رده‌های مختلف سلولی با استفاده از دستگاه الایزا در طول موج 490 نانومتر قرائت شدند. درصد بقای سلولی با تقسیم جذب نوری نمونه‌های تست بر جذب نوری کنترل در برابر غلظت عصاره حاصل گردید(13، 15).

تحلیل آماری داده‌ها:

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه 16 انجام پذیرفت. جهت رسم نمودارها و جداول از نرم‌افزار Excel استفاده شد. برای مقایسه‌ی نمونه‌ها از آنالیز واریانس یک‌طرفه one-way (ANOVA) و T-Test استفاده گردید و اختلاف میانگین کم‌تر از 0/05 به عنوان معنادار در نظر گرفته شد.

یافته ها

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-05-17]

میزان بازده عصاره به دست آمده از گل‌های گیاه حدود 16 درصد بوده است. هم‌چنین محتوی فنولی تام عصاره هیدروالکلی گل زعفران خزری معادل گالیک اسید میزان 4/35 ± 238/25 میلی‌گرم بر گرم وزن خشک عصاره و مقدار فلاونوئید تام معادل کوئرستین در آن به میزان 6/24± 85/41 میلی‌گرم بر گرم وزن خشک عصاره به‌دست آمد. مقدار IC50 عصاره هیدروالکلی گلبرگ زعفران خزری برروی سلول‌های مختلف با روش MTT در جدول شماره 1 و روش تریپان بلو در جدول شماره 2 گزارش شده است.

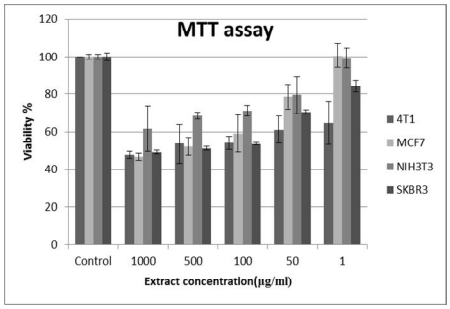
جدول شماره 1: میزان IC50 (µg/ml) عصاره هیدروالکلی گلبرگ زعفران خزری بر رده سلول‌های مختلف به روش MTT

رده های سلول	4T1	MCF7	SKBR3	NH3T3
میزان IC_{50} (µg/ml)	1088/98	568/8	611/4	3808

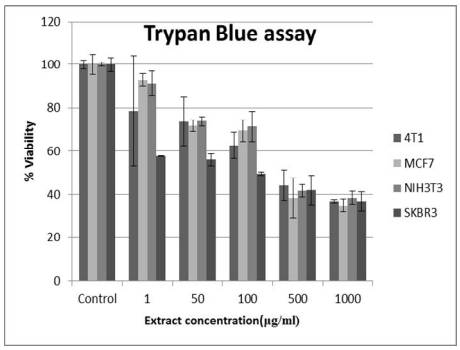
جدول شماره 2: میزان IC50 (µg/ml) عصاره هیدروالکلی گلبرگ زعفران خزری بر رده سلول‌های مختلف به روش تریپان بلو

رده های سلول	4T1	MCF7	SKBR3	NH3T3
میزان IC_{50} (µg/ml)	331/6	291/7	46/6	392/2

نتایج بررسی سایتوتوکسیسیته عصاره گل زعفران خزری در غلظت‌های مختلف (میکروگرم بر میلی‌لیتر) بر رده‌های سلولی در نمودارهای زیر نشان داده شده است.



نمودار شماره 1: میزان درصد بقای رده‌های سلولی در مواجهه با عصاره هیدروالکلی گل زعفران خزری طی زمان انکوباسیون 72 ساعت با روش MTT



نمودار شماره 2: میزان درصد بقای رده‌های سلولی در مواجهه با عصاره هیدروالکلی گل زعفران خزری طی زمان انکوباسیون 72 ساعت با روش تریپانبلو

بحث

سرطان، اختلال سلولی است که علت آن تغییر مکانیسم‌های کنترل‌کننده رشد و تمایز سلول‌ها می‌باشد. سرطان سینه، شایع ترین نوع در خانم‌ها و دومین سرطان پس از سرطان ریه در جهان است که هر سال حدود یک میلیون خانم در جهان مبتلا به آن می‌شوند. سرطان سینه در اثر اختلالات ژنتیک و بافتی ایجاد می‌شود و مکانیسم دقیقی که منجر به ایجاد این بیماری می‌شود، هنوز به طور کامل شناسایی نشده است. فعال یا غیرفعال شدن چند ژن به صورت هم‌زمان، سبب القای بدخیمی در سرطان سینه می‌شود(16، 18). از مشکلات علم پزشکی در ارتباط با سرطان، شکست دارودرمانی است که می‌تواند به دلیل عدم تحمل دارو از طرف بیمار به دنبال عوارض شیمی درمانی یا بروز مقاومت‌های دارویی باشد. به دنبال نبود اطلاعات کافی جهت طراحی منطقی دارو به صورت پیشرفته براساس بیولوژی و شیمی سلول‌های توموری، مرکز خدمات بین المللی کموتراپی سرطان در آمریکا توجه بیش تری را به سمت گیاهان دارویی معطوف داشته است. بر این اساس طی یک برنامه غربالگری وسیع جهت ارزیابی عصاره‌های گیاهان، این مرکز توانست بسیاری از ترکیبات فعال با ساختمان غیرمعمول را جداسازی و به سمت مطالعات پیشرفته کلینیکی هدایت کند. این فعالیت‌ها، رویکردهای جدیدی را برای تحقیق و کشف ترکیبات

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-05-17]

در ارتباط با اثرات ضدسرطانی عصاره‌های گیاهی که منبع بسیار عالی از مواد شیمیایی کمپلکس با فعالیت بیولوژیکی در رنج وسیع هستند، گشود(19). در حال حاضر بیش از 60 درصد داروهایی که در شیمی‌درمانی سرطان به‌کار می‌روند، دارای منشاء طبیعی می‌باشند و تحقیقات زیادی در زمینه اثرات سایتوتوکسیک و ضد سرطان ترکیبات طبیعی در جریان می‌باشد(20). در مطالعه حاضر، سمیت سلولی عصاره هیدروالکلی گل زعفران خزری به‌صورت جداگانه بر سه رده سلول سرطانی سینه T14، MCF7و SKBR3 و یک رده سلول غیر سرطانی NIH3T3 (سلول‌های بافت جنینی موش سوئیسی) به عنوان نمونه سلول‌های یوکاریوت مشابه فیبروبلاست انسانی با دو روش MTT و Tripan blue بررسی شد.

نتایج حاصل از این مطالعه عدم وجود اثرات سایتوتوکسیک گل‌های گیاه زعفران خزری را بر 4 رده سلولی با هر دو روش MTT و Tripan blue نشان می‌دهد. طبق استاندارد برنامه غربالگری گیاهان در موسسه سرطان ملی آمریکا، عصاره‌هایی با IC50 کم‌تر از 20 میکروگرم بر میلی‌لیتر و ترکیبات خالص گیاهی با IC50کم‌تر از 4 میکروگرم بر میلی‌لیتر به عنوان عصاره و ترکیب فعال سایتوتوکسیک در نظر گرفته می‌شوند(21) که هیچ‌کدام از رده‌های سلولی در مطالعه حاضر، چنین پاسخی از خود نشان ندادند.

در آزمایش حاضر، میزان IC50های محاسبه شده در روش تریپان‌بلو کم‌تر از MTT می‌باشد که یکی از علل این امر می‌تواند زمان مجاورت زیاد سلول‌ها با رنگ حین شمارش باشد. اساس رنگ‌آمیزی تریپان‌بلو بر جذب رنگ توسط سلول‌های مرده است، در حالی که سلول‌های زنده اجازه ورود رنگ را به درون سلول نمی‌دهند و میزان توکسیسیته با شمارش مستقیم سلول‌های زنده و مرده به دست می‌آید. محدودیت این روش آن است که سلول‌های زنده نیز ممکن است رنگ را جذب کنند و این در شرایطی است که بیش‌تر از 5 دقیقه در رنگ باقی بمانند. علاوه بر محدودیت در دقت این رنگ، مشکوک بودن به خواص کارسینوژنیک آن نیز، استفاده از آن را محدود می‌کند. در رنگ‌آمیزی با MTT، نمک زرد رنگ تترازولیوم به وسیله سلول‌های زنده جذب و در اثر فعالیت آنزیم دهیدروژناز آزاد شده از میتوکندری‌های سالم، تبدیل به کریستال‌های بنفش رنگ نامحلول فرمازان می‌گردد و به این ترتیب سلول‌های فعال قادر به این تبدیل رنگ هستند. البته میزان حساسیت این رنگ می‌تواند تحت تاثیر فاکتورهای ویژه‌ای از جمله حجم سلولی و مواد رنگی داخل سیتوپلاسم قرار گیرد(22، 23). نتایج بررسی‌های محققان نشان می‌دهد که روش MTT نسبت به روش‌های دیگر در سنجش توکسیسیتی سلول‌ها دارای اختلاف معناداری در غلظت IC50 مواد توکسیک می‌باشد(24) و بنا به گزارش بسیاری از محققین، روش رنگ سنجی MTT روشی سریع، دقیق و آسان در تعیین حساسیت داروهای ضد سرطانی در طی پروسه درمان بیماران می‌باشد(25، 26). و می‌توان به عنوان یک روش روتین در درمان از آن استفاده کرد.

سه رده سلول سرطانی سینه T14، MCF7 و SKBR3 که در مطالعه حاضر جهت سنجش سایتوتوکسیسیتی عصاره گل گیاه زعفران خزری استفاده گردیده‌اند، دارای تفاوت‌هایی با یکدیگر می‌باشند و همین امر سبب شده است تا پاسخ‌های متفاوتی از نظر میزان IC50 طی دو آزمون MTT و Tripan blue به‌دست آید. نتایج نشان می‌دهد که در روش MTT، اثر سمی عصاره گل زعفران خزری بر رده سلولی MCF7 (IC50=568.8 µg/ml) و در روش تریپان بلو بر رده سلولی SKBR3 از سایر رده‌ها بیش‌تر بوده است (IC50=46.6 µg/ml). گل زعفران خزری حاوی مقادیر بالایی از ترکیبات فنول و فلاونوئید تام می‌باشد که با مطالعه خلیلی و همکاران مطابقت دارد(6). گلبرگ‌های زعفران Crocus sativus نیز حاوی مقادیر

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-05-17]

زیاد ترکیبات فنولیک و فلاونوئیدی می‌باشند و به‌عنوان یک آنتی اکسیدان طبیعی مطرح می‌باشند(28 ،27). مطالعات اپیدمیولوژیک فراوانی نقش فلاونوئیدها را در پیشگیری از سرطان اثبات می‌نماید، از طرف دیگر مطالعات برون‌تن و درون‌تن بسیاری نیز، اثر ضد سرطان و آنتی تومور فلاونوئیدها و گیاهان حاوی مقادیر بالای ترکیبات فنولیک و فلاونوئیدها را نشان داده‌اند(29). به نظر می‌رسد مقادیر بالای ترکیبات فنولیک و فلاونوئیدهای موجود در گلبرگ‌های زعفران در پیشگیری از بروز سرطان موثر باشند و تحقیقات بیش‌تری برای اثبات این امر لازم است.

سپاسگزاری

از تمام کسانی که ما را در انجام این پروژه یاری نمودند، خصوصا خانم دکتر منا مدانلو، کمال تقدیر و تشکر را داریم.

References

1. Ravishankar D, Rajora AK, Greco F, Osborn HMI. Flavonoids as prospective compounds for anti-cancer therapy. Int J Biochem Cell Biol. 2013;45(12):2821-2831.
2. Cragg GM, Newman DJ, Weiss RB, editors. Coral reefs, forests, and thermal vents: the worldwide exploration of nature for novel antitumor agents. Semin Oncol. 1997;24(2):156-163.
3. Chevallier A. The encyclopedia of medicinal plants. London: D K; 1996.
4. Mathew B, Brighton C. Four central asian Crocus species (Liliaceae). Iran J Bot. 1977;1(2):123-135.
5. Asadi M. Antioxidant and antimicrobial activities in the different extracts of Caspian saffron (Crocus caspius Fisch & CA May). CJES.2016;14(4):331-338.(persian)
6. Khalili M , Fathi H , Ebrahimzadeh MA. Antioxidant activity of bulbs and aerial parts of Crocus caspius,impact of extraction methods. Pak J Pharm Sci. 2016; 29(3): 773-777.
7. Abdullaev FI. Cancer chemopreventive and tumoricidal properties of saffron (Crocus sativus L.). Exp Biol Med (Maywood). 2002;227(1):20-25.
8. Abdullaev F, Riveron-Negrete L, Caballero-Ortega H, Hernández JM, Perez-Lopez I, Pereda-Miranda R, et al. Use of in vitro assays to assess the potential antigenotoxic and cytotoxic effects of saffron (Crocus sativus L.). Toxicol in Vitro. 2003;17(5):731-736.
9. Escribano J, Alonso GL, Coca-Prados M, Fernández JA. Crocin, safranal and picrocrocin from saffron (Crocus sativus L.) inhibit the growth of human cancer cells in vitro. Cancer lett. 1996;100(1-2):23-30.
10. Samarghandian S, Boskabady MH, Davoodi S. Use of in vitro assays to assess the potential antiproliferative and cytotoxic effects of saffron (Crocus sativus L.) in human lung cancer cell line. Pharmacogn Mag.. 2010;6(24):309-314.
11. Nićiforović N, Mihailović V, Mašković P, Solujić S, Stojković A, Muratspahić DP. Antioxidant activity of selected plant species; potential new sources of natural antioxidants. Food Chem Toxicol. 2010;5(11):3125-3130.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-05-17]

12. Chang C-C, Yang M-H, Wen H-M, Chern J-C. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. J Food Drug Anal. 2002;10(3):178-182.
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.
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. Sabzevari O, Andalibi M, Ahmadiani A, Kamalinejad M, Abdollahi M, Ostad SN. Cytotoxicity assay of fenugreek aqueous extract on NIH3T3 fibroblast cells. Tehran Univ Med J. 2008;66(8):545-551.(persian)
16. Mendelsohn J, Howley PM, Israel MA, Gray JW, Thompson CB. The molecular basis of cancer. 4th ed. Amsterdam :Elsevier Inc;. 2014:35-46.
17. Hanf V, Gonder U. Nutrition and primary prevention of breast cancer: foods, nutrients and breast cancer risk. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2005;123(2):139-149.
18. Hedenfalk IA, Ringnér M, Trent JM, Borg A. Gene expression in inherited breast cancer. Adv Cancer Res. 2002;84:1-34.
19. Bhakuni DS, Rawat DS. Bioactive marine natural products. New Delhi: Springer; 2006.
20. Cragg GM, Newman DJ. Plants as a source of anti-cancer agents. J Ethnopharmacol. 2005;100(1):72-79.
21. Geran RI. Protocols for screening chemical agents and natural products against animal tumors and other biological systems. Cancer Chemother Rep. 1972;3(2):51-61.
22. Hayon T, Dvilansky A, Shpilberg O, Nathan I. Appraisal of the MTT-based assay as a useful tool for predicting drug chemosensitivity in leukemia. Leuk Lymphoma. 2003;44(11):1957-1962.
23. Wang X, Ge J, Wang K, Qian J, Zou Y. Evaluation of MTT assay for measurement of emodin-induced cytotoxicity. Assay Drug Dev Technol. 2006;4(2):203-207
24. Marks DC, Belov L, Davey MW, Davey RA, Kidman AD. The MTT cell viability assay for cytotoxicity testing in multidrug-resistant human leukemic cells. Leuk Res. 1992;16(12):1165-1173.
25. Weichert H, Blechschmidt I, Schröder S, Ambrosius H. The MTT-assay as a rapid test for cell proliferation and cell killing: application to human peripheral blood lymphocytes (PBL). Allerg Immunol (Leipz). 1990;37(3-4):139-144.
26. Fotakis G, Timbrell JA. In vitro cytotoxicity assays: comparison of LDH, neutral red, MTT and protein assay in hepatoma cell lines following

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-05-17]

exposure to cadmium chloride. Toxicol Lett. 2006;160(2):171-177.

27. Serrano-Díaz J, Sánchez AM, Maggi L, Martínez-Tomé M, García-Diz L, Murcia MA, et al. Increasing the applications of Crocus sativus flowers as natural antioxidants. J Food Sci. 2012;77(11):C1162-C8.
28. Montoro P, Tuberoso CI, Maldini M, Cabras P, Pizza C. Qualitative profile and quantitative determination of flavonoids from Crocus sativus L. petals by LC-MS/MS. Nat Prod Commun. 2008;3(12):2013-2016.
29. Batra P, Sharma AK. Anti-cancer potential of flavonoids: recent trends and future perspectives. 3 Biotech. 2013;3(6):439-459.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-05-17]