ORIGINAL ARTICLE

Evaluation of Synergic Effect of Nano-Micelle Curcumin and Epicatechin on Apoptosis and Proliferation of HT29 Colorectal Cancer Cell Line

Seyed Mohammad Ali Razavi[1]
Mohammad Shokrzadeh[2]
Shaghayegh Aghajanshakeri[1]
Ramin Ataee[3]

[1] Student, Student Research Committee, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[2] Professor, Pharmaceutical Sciences Research Center, Hemoglobinopathy Institute, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[3] Associated Professor, Medicinal Plant Research Center, Pharmaceutical Sciences Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received May 6, 2023; Accepted June 3, 2024)

Abstract

Background and purpose: Today, despite the abundance of chemical drugs, the use of medicinal plants is increasing; Curcumin (curcumin) is a yellow pigment obtained from the turmeric plant and is considered the effective ingredient of turmeric. This crystalline and crystallized product is widely used in Indian medicine. Recently, the beneficial effects of curcumin on stomach, colon, and mouth cancers have been proven in mice. Curcumin usually plays its role through pharmacological processes such as antioxidant, anti-inflammatory, antithrombotic, apoptotic, and hepatoprotective effects. Antioxidative, antiproliferative, and antiangiogenic properties of curcumin have been noticed in recent years. However, the low solubility of curcumin and its severe degradation have made it impossible to introduce it in clinical use. In recent years, studies and reviews have been conducted to prepare and design polymeric micelles (PMMCs) on a nanoscale to improve the cellular transport of curcumin. Green tea flavonoids, including epicatechin, have recently received attention. In in vitro research, these compounds have been proposed as antioxidants by inhibiting lipid peroxidation, trapping free radicals, and chelating metal ions, and this property is mentioned due to their unique structure (therefore, the purpose of this study is to determine the effect The synergism of curcumin and epicatechin has been carried out in the investigation of apoptosis and cell proliferation of HT29 cell lines and apoptotic factors.

Materials and methods: This study is experimental. After obtaining HT29 cells from the Pasteur Institute cell bank and completing cell passage and proliferation, the cells were distributed in triplicate wells across 7 test groups and 2 control groups (positive and negative). In test groups 1, 2, and 3, three concentrations of curcumin nanomicelles (10, 20, 50 µg/ml) were incubated in triplicate. In groups 4, 5, and 6, three concentrations of epicatechin (10, 20, 50 µg/ml) were incubated for 24 hours. Test group 7 consisted of HT29 cells treated with the IC50 concentration of nanomicelle curcumin combined with the IC50 concentration of epicatechin. Group 8, the positive control, consisted of cells treated with 5FU (100 µg/ml), while group 9, the negative control, consisted of cells exposed only to the cell culture medium. After the 24-hour incubation period, an MTT assay was performed to assess cell proliferation, and Annexin flow cytometry was used to determine the level of apoptosis.

Results: In this study, epicatechin and curcumin have been able to decrease cell viability of colon cancer cells (HT29) and increase the percent of apoptotic cells $P<0.05$, which was in a dose-dependent manner, also the combination of these two drugs caused a synergistic effect in high dose $P<0.05$. Epicatechin in concentrations of 20, 10 µg/mL, 50, and 100 has a significant difference compared to the negative control group with $P<0.05$, which has caused a decrease in cell viability in colon cancer cells with increasing dose. Curcumin is the group Nanomicelle with epicatechin at IC50 concentration compared to the positive control group of 5-FU in HT-29 cell line has greatly reduced cell viability of HT-29 cell line showed that curcumin and epicatechin nano micelles had a synergistic effect. The results of cell apoptosis have shown that curcumin and epicatechin nano micelle groups at IC50 concentrations had a synergistic effect.

Conclusion: epicatechin and curcumin have been able to increase the death rate of colon cancer cells (HT29) by increasing apoptosis, which indicates the anti-cancer effects of these compounds. So it can suggest these compounds in colon cancer therapeutics.

Keywords: colon cancer, epicatechin, nano-curcumin, apoptosis, proliferation, HT29 cell line

J Mazandaran Univ Med Sci 2024; 34 (235): 13-25 (Persian).

Corresponding Author: Ramin Ataee- Medicinal Plants Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran. (E-mail: raminataee1349@gmail.com)

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-28]

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره سی و چهارم شماره ۲۳۵ مرداد سال ۱۴۰۳ (۲۵-۱۳)

بررسی اثر هم افزایی نانومیسل کورکومین و اپی کاتچین در آپوپتوز و پرولیفراسیون سلول‌های سرطان کولون رده سلولی HT29

سید محمد علی رضوی[۱]
محمد شکرزاده[۲]
شقایق آقاجان شاکری[۱]
رامین عطایی[۳]

چکیده

سابقه و هدف: امروزه به رغم فراوانی داروهای شیمیایی، استفاده از گیاهان دارویی در حال افزایش است. کورکومین (curcumin) رنگدانه زرد رنگی است که از گیاه زردچوبه به‌دست می‌آید و در واقع ماده موثر زردچوبه محسوب می‌شود. این فراورده کریستالی و متبلور در مصارف پزشکی هند کاربرد بسیاری دارد. اخیرا اثرات مفید کورکومین بر سرطان‌های معده، کولون و دهان در موش سوری به اثبات رسیده است. کورکومین نقش خود را معمولا از طریق پروسه‌های فارماکولوژیکی از قبیل اثرات آنتی اکسیدانی،ضدالتهابی، آنتی‌ترومبوتیک، آپوپتوتیک و اثرات حفاظتی کبدی ایفا می‌کند. خواص آنتی‌اکسیداتیو، آنتی‌پرولیفراتیو سلولی و آنتی‌آنژیوژنیک کورکومین درسال‌های اخیر مورد توجه قرارگرفته است، اما حلالیت کم کورکومین و تخریب شدید آن باعث عدم امکان معرفی آن در کاربرد بالینی شده است، درنتیجه مطالعات و بررسی‌هایی برای تهیه و طراحی polymeric micelles (PMMCs) در مقیاس نانو برای بهبود انتقال سلولی کورکومین صورت پذیرفته است. فلاونوئیدهای چای سبز ازجمله اپی‌کاتچین اخیرا مورد توجه قرارگرفته است. درتحقیقات in vitro این ترکیبات از طریق مهار لیپید پروکسیداسیون، به چنگ انداختن رادیکال‌های آزاد و شلاته‌کننده یون‌های فلزی، به‌عنوان آنتی‌اکسیدانت مطرح شده‌اند که این خاصیت به دلیل وجود ساختار بی‌نظیر آن‌ها ذکر شده است، لذا هدف از این مطالعه تعیین اثر هم‌افزایی کورکومین و اپی‌کاتچین در بررسی آپوپتوز و پرولیفراسیون سلول‌های سرطان کولون رده‌های سلولی HT29 و فاکتورهای آپوپتوتیک صورت گرفته است.

مواد و روش‌ها: این مطالعه یک مطالعه تجربی بوده و پس از تهیه سلول‌های HT29 از بانک سلولی انستیتو پاستور و پاساژ و تکثیر سلولی، سلول‌ها به‌صورت چاهک‌های سه تایی(triplicate) در۷ گروه تست و ۲ گروه کنترل مثبت و منفی تفسیم شدند، در گروه‌های تست شماره ۱و۲و۳و سه غلظت نانو میسل کورکومین (۱۰، ۲۰، ۵۰µg/ml) به‌صورت triplicate و هم‌چنین در گروه‌های ۴ و۵و۶ سه غلظت اپی‌کاتچین (۱۰، ۲۰، ۵۰µg/ml) به‌مدت ۲۴ ساعت انکوبه شدند و در گروه تست ۷: سلول‌های HT29 با غلظت IC50 نانو میسل کورکومین + IC50 اپی‌کاتچین وگروه ۸کنترل مثبت: سلول‌ها تحت تاثیر 5FU(100µg/ml) و گروه ۹، کنترل منفی صرفا تحت تاثیر محیط کشت سلولی قرار گرفتند و پس از دوره انکوباسیون سلولی ۲۴ ساعته، تست‌های MTT برای بررسی پرولیفراسیون و روش Annexin flowcytometery برای تعیین میزان آپوپتوز انجام گرفت.

یافته‌ها: اپی کاتچین و کورکومین با افزایش میزان آپوپتوز توانستند باعث افزایش مرگ در سلول‌های سرطان کولون (HT29) گردند، که با افزایش دوز این موضوع به بیش‌ترین حد خود رسید و هم‌چنین ترکیب این دو دارو در high dose باعث اثر هم‌افزایی شده که اثر بیش‌تری نسبت به هر کدام به تنهایی نشان داده است($P<0/05$). اپی‌کاتچین در غلظت ۱۰، ۲۰ و ۵۰ µg/mL و ۱۰۰ نسبت به گروه کنترل منفی با $P<0/05$ دارای اختلاف معنی‌دار بوده که این امر با افزایش دوز باعث کاهش میزان حیات سلولی در سلول‌های سرطان کولون شده است.کورکومین در گروه نانومیسل به همراه اپی‌کاتچین در غلظت IC50 نسبت به گروه کنترل مثبت ۵-FU در رده سلولی HT-29 میزان حیات سلولی بسیار کاهش یافته است. نتایج حاصل از بررسی میزان آپوپتوز سلولی در گروه‌های نانومیسل کورکومین و اپی‌کاتچین در غلظت‌های IC50 در رده سلولی HT-29 نشان داده که نانومیسل کورکومین و اپی‌کاتچین اثر هم‌افزایی داشته‌اند.

استنتاج: مطالعه حاضر بیانگر اثرات ضد سرطانی اپی‌کاتچین و نانومیسل کورکومین می‌باشد. هم‌چنین ترکیب این دو دارو باعث اثر هم‌افزایی می‌شود. در ضمن از این دو ترکیب می‌توان به‌عنوان کاندیدهای درمان کانسر کولون در رژیم‌های درمانی استفاده کرد.

واژه های کلیدی: سرطان کولون، اپی کاتچین، نانوکورکومین، آپوپتوز، پرولیفراسیون، رده سلولی HT29

مولف مسئول: رامین عطایی–ساری: دانشگاه علوم پزشکی مازندران، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی E-mail:raminataee1349@gmail.com
۱. دانشجو ، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۲. استاد، مرکز تحقیقات علوم دارویی، انستیتو هموگلوبینوپاتی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۳. دانشیار، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
تاریخ دریافت : ۱۴۰۲/۲/۱۶ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۱۴۰۲/۳/۱۳ تاریخ تصویب : ۱۴۰۳/۳/۱۳

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-28]

مقدمه

کورکومین (curcumin) رنگدانه زرد رنگی است که از گیاه زردچوبه به‌دست می‌آید و در واقع ماده موثر زردچوبه محسوب می‌شود(۱). این فراورده کریستالی و متبلور در مصارف پزشکی هند کاربرد بسیاری دارد. اخیرا اثرات مفید کورکومین بر سرطان‌های معده، کولون و دهان درموش سوری به اثبات رسیده است(۲). کورکومین نقش خود را معمولا از طریق پروسه‌های فارماکولوژیکی ازقبیل اثرات آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی، آنتی‌ترومبوتیک، آپوپتوتیک و اثرات حفاظتی کبدی ایفا می‌کند. به جز آثار آنتی‌توکسیژنیک کورکومین در بعضی مطالعات آثار ضد نفروتوکسیک و آنتی‌هپاتو توکسیک دارد(۴،۳). خواص آنتی‌اکسیداتیو، آنتی‌پرولیفراتیو سلولی و آنتی آنژیوژنیک کورکومین در سال‌های اخیر مورد توجه قرار گرفته است(۵)، اما حلالیت کم کورکومین و تخریب شدید آن باعث عدم امکان معرفی آن در کاربرد بالینی شده است(۵) و در سال‌های اخیر مطالعات و بررسی‌هایی برای تهیه و طراحی polymeric micelles (PMMCs) در مقیاس نانو برای بهبود انتقال سلولی کورکومین صورت پذیرفته است(۵) و مشاهده شده است که جذب سلولی کورکومین با این ترکیبات پلی مریک بهتر است(۵).

در مطالعه‌ای مشاهده شده است F68-Cis-Cur micelles اثرات سایتوتوکسیک بیش‌تری علیه سلول‌های A2780 و SMMC 7721 نسبت به کورکومین خالص داشته است(۶) و باعث کاهش بیش‌تر پتانسیل غشا میتوکندریایی و ایجاد آپوپتوزیس سلولی شده است(۶). ترکیبات موجود در چای سبز دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانت، ضد موتاژن و ضد کارسینوژن بوده که می‌تواند انسان را از خطر سرطان و عوامل محیطی حفظ نماید. هم‌چنین در چای سبز نیز اثرات مرتبط با سلامتی آن به پلی‌فنل‌های موجود در چای سبز به‌خصوص فلاونوئیدها که در ۳۰ درصد وزن برگ تازه خشک شده آن وجود دارد، مربوط می‌شود(۷). در تحقیقات in vitro این ترکیبات از طریق مهار لیپید پروکسیداسیون، به چنگ انداختن رادیکال‌های آزاد و شلاته‌کننده یون‌های فلزی، به‌عنوان آنتی‌اکسیدانت مطرح شده‌اند که این خاصیت به دلیل وجود ساختار بی‌نظیر آن‌ها ذکر شده است(۸). هم‌چنین فلاونوئیدها به‌عنوان ترکیبات آنتی‌اکسیدانت، محافظت‌کننده قلبی، ضد التهاب و ضد سرطان شناخته می‌شوند(۹). به‌طور کلی فلاونوئیدها در مغز دارای چند اثر حفاظتی شامل: اثر مثبت در مقابل سموم عصبی، سرکوب التهاب‌های عصبی و توانایی افزایش(promote) حافظه و کارکردهای شناختی و یادگیری می‌باشند(۱۰،۱۱). مکانیسم اثر چای سبز ناشی از خصوصیات آنتی‌اکسیدانتی و توانایی کاتچین‌های پلی‌فنلی، برای به چنگ انداختن گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) به‌دلیل وجود گروه‌های هیدروکسی فنلی موجود بر روی B-ring کاتچین‌های غیر گالولیت (EC,EGC) و همین‌طور B-ring و D-ring کاتچین‌های گالولیت (ECG, EGCG) می‌باشد. وجود ۳، ۴، ۵ تری‌هیدروکسی B-ring برای فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانتی و به چنگ انداختن رادیکال‌ها مهم می‌باشد(۱۱).

چای سبز دارای چندین ترکیب پلی‌فنلی از جمله EGCG EGC، ECG و EC می‌باشد. تنوع ترکیبات متشکله به محل کشت، واریته گیاه، فصل برداشت و فرایندهای تولید وابسته است. به‌طور کلی شامل 10-15%EGCG، 6-10%EGC، 2-35ECG و 2%EC می‌باشد(۱۲،۱۳).

کاتچین‌های موجود در چای سبز خاصیت آنتی‌اکسیدانتی بیش‌تری را نسبت به ویتامین C و E از خود نشان داده‌اند. قدرت به چنگ اندازی رادیکال‌ها در بین کاتچین‌های موجود در چای سبز به‌صورت ECG>EGCG>EGC>EC>catechin می‌باشد. علاوه بر اثرات آنتی‌اکسیدانتی، کاتچین‌های چای سبز دارای اثراتی بر روی اهداف مولکولی و سلولی در مسیرهای انتقال سیگنالی مرتبط با مرگ و بقای سلول هستند که این اثرات هم در سلول‌های عصبی و هم در تومور سلول‌های اپی‌تلیال/ اندوتلیال به اثبات رسیده است(۱۱).

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-28]

Epicatechin(−) با وزن مولکولی ۲۹۰، فرم سیس catechin-(+) بوده است(۱۴)، EC به‌طور وسیعی درمواد غذایی دیگر نیز وجود دارد. این ترکیب با غلظت‌های بالا در سیب، شاه توت، باقلا، گیلاس، انگور سیاه، گلابی، تمشک و کاکائو وجود دارند. EC با گروه‌های متیل، سولفور و اسید گلوکورونیک کونژوگه می‌شود(۱۵).

EC و کاتچین در روده کوچک متیله و گلوکورونیده می‌شود. بررسی‌های درون‌تنی نشان می‌دهد که EC بعد از مصرف به صورت خوراکی در گردش خون به شکل متیله، گلوکورونیده و سولفاته قابل شناسایی می‌باشد(۱۶).

مطالعات اخیر نشان داده که EC در موش سوری از طریق فعال کردن Nrf2 (nuclear factor erythroid 2) و آنزیم هم اکسیژناز ۱ باعث کاهش خطر ابتلا به بیماری‌های ایسکمیک قلب می‌گردد(۱۷).

در مطالعه ای توسط Costa و همکاران در سال ۲۰۱۹ مشخص شد که عصاره چای سبز بر روی دو رده سلولی کانسر پستان آثار سایتوتوکسیگ داشته و باعث افزایش فاکتور آپوپتوتیک P53 شده اما بر روی سلول‌های نرمال اثر توکسیک نداشته است(۱۸).

در مطالعه Rogovskii و همکاران امکان اثر پیشگیری و درمانی کاتچین‌های چای در کانسر پروستات بررسی شد. در این مطالعه بیان شد که خواص آنتی کانسر چای از دو طریق اعمال می‌گردد که شامل اثر مستقیم یا از طریق تاثیر بر microenvironment سلولی به‌خصوص در ارتباط با سیستم ایمنی و کاهش التهاب و افزایش مقاومت سیستم ایمنی می‌باشد(۱۹). در مطالعه‌ای Ai و همکاران در سال ۲۰۱۹ به بررسی ترانسپورت کاتچین‌ها و تاثیر آن در efflulux transport و نفوذپذیری سلول‌ها پرداختند و مشخص شد که فرم ترانس از لحاظ ایزومر فضایی در افزایش نفوذپذیری سلولی نسبت به فرم Cis در efflux transport نقش دارد و دو ساعت انکوباسیون دارویی در رده سلولی Caco-2 تک لایه باعث افزایش بیان پروتئین‌های multidrug resistance-associated protein 2 (MRP2) and breast cancer-resistance protein (BCRP) و کاهش بیان P-glycoprotein شده است(۲۰). بنابراین با توجه به این‌که تاثیرات آپوپتوتیک و آنتی کانسری برای اپی‌کاتچین و کورکومین به تنهایی مشاهده شده است، این احتمال وجود دارد که اثر هم افزایی در خصوص دو ترکیب وجود داشته باشد، لذا این مطالعه با این هدف کلی طرح‌ریزی شده است و ۵- فلوئوروواوراسیل به عنوان درمان استاندارد کانسر کولون در نظر گرفته شده و بررسی مقایسه با آن و هم‌چنین بررسی هم افزایی با آن صورت گرفته است. این مطالعه یک مطالعه تجربی بوده وطبق مصوبات اخلاق در پژوهش کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی مازندران با کد IR.MAZUMS..REC.1399.6816 انجام شد. BSA (bovin serum albumin) و کیت Anexin-v، 5FU/Lecuvorin و DAB(Diaminobenzidine) و اپی‌کاتچین از شرکت مواد شیمیایی سیگما خریداری شد. مواد کشت سلول از جمله RPMI، FBS گلوتامین، آنتی بیوتیک از شرکت Roach خریداری شد و سلول‌های HT29، از انستیتوپاستور ایران تهیه گردید. سلول‌ها پس از کشت در محیط RPMI، FBS10% و L-Glutamin1% و streptomycin/penicilin1% در انکوباتور ۳۷ درجه و Co2 ۵ درصد و رطوبت ۳۰ درصد کشت داده شد و پس از رشد و پوشاندن کف فلاسک توسط تریسپین/EDTA عمل پاساژ انجام گردید.

نانومیسل کورکومین از شرکت دکتر جعفری علوم پزشکی مشهد تهیه و بررسی فیزیکوشیمیایی آن در آزمایشگاه دکتر علی‌نژاد (دانشکده شیمی دانشگاه مازندران) انجام شد و این بررسی‌ها شامل وزن و جرم حجمی، نقطه ذوب و اندازه و شکل کریستال و میزان رهاسازی در شرایط in vitro و in vivo بود.

رده‌های سلولی HT29 در شرایط انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد و Co_2 ۵ درصد در فلاسک‌های کشت در محیط RPMI,FCS10% نگهداری و هر روز از لحاظ confluence بررسی و پس از پر شدن کف فلاسک با Trypsin/EDTA ۱۰ درصد در شرایط استریل پاساژ

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-28]

داده شدند. پاساژهای پریودیک سلولی با استفاده از Trypsin-EDTA هنگامی که سلول‌ها به تجمع حدودی ۹۵-۹۰ درصد رسید، صورت می‌پذیرفت(۱۸،۱۹).

گروه‌های آزمایشی در این مطالعه به شرح ذیل بوده‌اند:

گروه های تست ۱و۲و۳: سلول‌های HT29 در density 10^4cells/well: با سه غلظت نانو میسل کورکومین (۱۰، ۲۰و۵۰µg/ml) به‌صورت triplicate به‌مدت ۲۴ ساعت انکوبه شدند(۲۰).

گروه های تست۴و۵و۶: سلول‌های HT29 در density 10^4cells/well: با سه غلظت اپی‌کاتچین (۱۰، ۲۰ و۵۰µg/ml) به‌صورت triplicate به‌مدت ۲۴ ساعت انکوبه شدند(۲۰). پس از انکوباسیون ۲۴ ساعته و تعیین cell viability در هر غلظت منحنی دوز پاسخ رسم شده و IC50 هر یک از ترکیبات تعیین می‌گردد.

گروه تست ۷: سلول‌های HT29 در density 10^4cells/well: با غلظت IC50 نانو میسل کورکومین + IC50 اپی‌کاتچین به‌صورت triplicate به‌مدت ۲۴ ساعت انکوبه شدند(۲۰).

گروه کنترل مثبت: سلول‌های HT29 در density 10^4cells/well: با غلظت 5FU(100µg/ml) به‌صورت triplicate به‌مدت ۲۴ و ۴۸ ساعت انکوبه شدند(۲۳). گروه کنترل منفی: سلول‌های HT29 در density 10^4cells/well : صرفا توسط محیط کشت سلولی به‌مدت ۲۴ و ۴۸ ساعت انکوبه شدند(۲۳). لازم به ذکر است این گروه‌های آزمایشی براساس آزمون پرولیفراسیون طراحی شده و برای بررسی آپوپتوز همین گروه‌ها و تنها در غلظت IC50 بررسی شدند. برای بررسی cell proliferation از آزمون MTT و بررسی آپوپتوزیس به شرح زیر استفاده گردید.

آزمون MTT

آزمایش‌های بقا و تکثیر سلولی از اهمیت خاصی برای کاربردهای معمول برخوردار است که روش سنجش فعالیت متابولیکی MTT از این روش‌ها به شمار می‌رود. این تست بر پایه تبدیل سوبسترای زرد رنگ نمک تترازولیوم بروماید با فرمول مولکولی MTT (3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide) به کریستال‌های ارغوانی فورامازان به وسیله سلول‌هایی که از نظر متابولیک فعال هستند در طی مدت تقریبی ۴ ساعت استوار است. MTT به وسیله آنزیم سوکسینات تترازولیوم ردوکتاز شکافته می‌شود که متعلق به زنجیره تنفسی میتوکندریایی است و تنها در سلول‌های زنده فعال است. واکنش احیای سلولی با واسطه فاکتورهای NADPH و NADH انجام می‌شود و کریستال‌های فورامازان ساخته شده به کمک حلال DMSO۱۰ درصد به فرم محلول در آمده و محلول ارغوانی رنگ ایجاد شده به وسیله اسپکتروفتومتری در طول موج ۵۴۵ نانومتر به‌صورت کمی اندازه‌گیری می‌شود. این آزمایش برای سنجش کمی رشد و بقای سلولی با استفاده از اسپکتروفتومتری و بدون استفاده از ایزوتوپ‌های رادیواکتیو طراحی شده است(۳۲-۳۰). گروه‌های آزمایشی در رابطه با نانومیسل کورکومین و اپی‌کاتچین در واقع همان سلول‌هایی هستند که در چاهک‌های ۹۶ خانه پلیت کشت سلول اضافه می‌شوند. به‌طوری‌که برای هر غلظت سه چاهک را در نظر می‌گیریم و برای کنترل نیز سه چاهک بدون تجویز دارو در نظر گرفته می‌شود. تعیین غلظت هم با توجه به رفرانس و تعین منحنی دوز رسپانس تعیین می‌گردد. معیارپرولیفراسیون براساس OD جذب رنگ Formazan (کریستال‌های MTT که جذب سلولهای زنده در کف چاهک کشت می‌شوند) محاسبه می‌شود و درصد Viability براساس OD جذب سلول‌های تست به کنترل محاسبه می‌شود. ضمنا برای گروه‌های دارویی IC50 یا حداقل غلظتی که باعث مهار ۵۰ درصد پرولیفراسیون می‌شود براساس منحنی Dose/response محاسبه می‌شود. همچنین سه غلظت برای کورکومین (غیرنانو) در نظر گرفته شده و برای هر غلظت سه چاهک در نظر

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-28]

گرفته می‌شود. مقایسه گروه‌های دارویی و کنترل‌ها بر اساس IC50 و درصدcell viability به روش نرم‌افزار SPSS و آزمون t-Test یا ANOVA انجام می‌گیرد. در این بررسی از 5FU/ (۱۰۰µM) به‌عنوان کنترل مثبت استفاده گردید(۳۲،۳۰). لازم به ذکر است که حلال موردنظر برای اپی‌کاتچین نرمال سالین با کمک حلال اتانول ۲ درصد و نانومیسل کورکومین در حلال DMSO ۱۰ درصد گردید.

- *Cell Apoptosis*

برای بررسی آپوپتوزیس از کیت فلوسایتومتری Anexin در سطح سلولی و تحت تاثیر شرایط تماس با داروها استفاده می‌شود. در روش ANEXIN سلول‌ها پس از جمع‌آوری پس از مرحله انکوباسیون ۴۸ ساعته با معرف ANNEXIN نشانه‌دار شده و با دستگاه فلوسایتومتری براساس مهاجرت سلول‌ها و جذب لیزر نوری شمارش سلول‌های آپوپتویک به‌وسیله دستگاه انجام و نسبت آپوپتوز و نکروز تعیین گردید(۲۰-۲۳).

تجزیه و تحلیل آماری

پس از اخذ و ثبت اطلاعات و جمع‌بندی برای تحلیل آماری از آزمون آنالیز واریانس (ANOVA) با نرم‌افزار Prism ver.3 برای مقایسه گروه‌ها از لحاظ بررسی پرولیفراسیون و داده‌های آپوپتوز استفاده شد. اختلاف بین گروه‌ها با P<۰/۰۵ در هر نقطه از نظر آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد. تعداد نمونه‌ها در هرگروه براساس آنالیز واریانس با قدرت اثر (Power۰/۹۵) تخمین زده شد.

یافته‌ها

نتایج حاصل از بررسی اثر هم‌افزایی نانومیسل کورکومین و اپی کاتچین در آپوپتوز و پرولیفراسیون سلول های سرطان کولون (HT-29) به روش MTT

داده‌های حاصل از بررسی IC_{50} (غلظتی از عصاره که رشد ۵۰ درصد از سلول‌ها را مهار می‌کند) نانومیسل کورکومین و اپی‌کاتچین بر روی رده سلولی سرطان کولون انسانی با استفاده از نرم‌افزار آماری Prism ver.3 مورد آنالیز آماری قرار گرفت و داده‌ها به روش one-way ANOVA و سپس روش Post Test: Tukey به منظور مقایسه داده‌های تمامی گروه‌ها با یکدیگر بررسی آماری شدند.

از میزان درصد زنده ماندن سلول‌ها (viability%) برای تعیین IC_{50} لاتین استفاده می‌گردد. بدین ترتیب که تعداد سلول‌های زنده مانده پس از مواجهه سلول‌های هر یک از رده‌های سلولی مورد نظر با عصاره گیاه و دارو و اتمام تست MTT با استفاده از میزان جذب خوانده شده توسط دستگاه microplate-reader را تعیین نموده و با تعداد سلول‌های هر یک از رده‌های سلولی موردنظر که هیچ ماده‌ای دریافت نکرده بودند، نسبت گرفته شده و درصد آن را مشخص می‌نمائیم.

همان‌گونه که درنمودار شماره ۱ مشخص می‌باشد در غلظت ۱۰،۲۰،۵۰و۱۰۰µg/mLگروه نانو میسل کورکومین نسبت به گروه کنترل منفی با P<۰/۰۵ دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشد که این امر با افزایش دوز باعث کاهش میزان حیات سلولی در سلول‌های سرطان کولون شده است. هم‌چنین در نمودار شماره ۱ مشخص می‌باشد در غلظت ۱۰ ،۲۰ ،۵۰ ،۱۰۰ µg/mL گروه اپی‌کاتچین نسبت به گروه کنترل منفی با P<۰/۰۵ دارای اختلاف معنا دار می‌باشد که این امر با افزایش دوز باعث کاهش میزان حیات سلولی در سلول‌های سرطان کولون شده است.

در گروه نانومیسل کورکومین به همراه اپی‌کاتچین در غلظت IC_{50} نسبت به گروه کنترل مثبت 5-FU در رده سلولی HT-29 میزان حیات سلولی بسیار کاهش یافته است. نتایج حاصل از بررسی میزان آپوپتوز سلولی در گروه‌های نانومیسل کورکومین و اپی‌کاتچین و گروه نانومیسل کورکومین به همراه اپی‌کاتچین در غلظت‌های IC_{50} در رده سلولی HT-29 در تصویر شماره ۱ مشاهده می‌کنید.

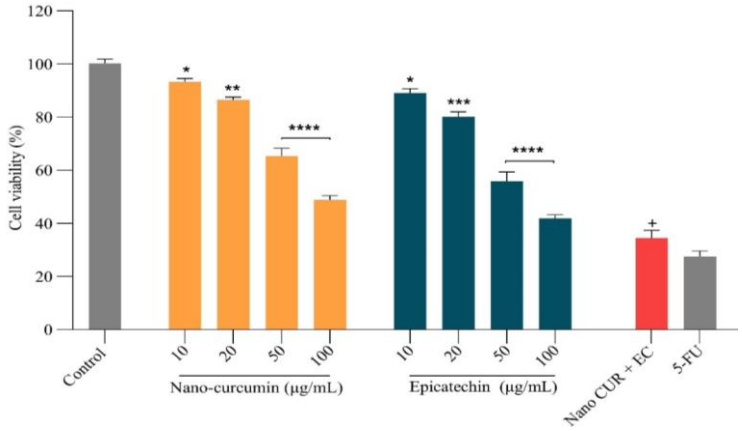
[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-28]

جدول شماره ۱: مقایسه نتایج حاصل از تست MTT(cell viability) بین گروه های مختلف

	CONTROL	NANO CUR 10	NANO CUR 20	NANO CUR 50	NANO CUR 100	EC 10	EC 20	EC 50	EC 100	NANO CUR+EC	5-FU
MEAN	۱۰۰/۳	۹۳/۲۹	۸۶/۵۷	۶۵/۳۹	۴۸/۸۰	۸۹/۰۹	۸۰/۱۴	۵۵/۸۵	۴۲/۰۰	۳۴/۵۴	۲۷/۶۱
STD. DEVIATION	۱/۶۲۰	۱/۲۹۵	۰/۹۵۵۳	۲/۹۲۶	۱/۶۵۵	۱/۶۳۶	۱/۷۹۸	۳/۵۴۷	۱/۲۱۲	۲/۸۷۲	۲/۰۵۷
STD. ERROR OF MEAN	۰/۹۳۵۰	۰/۷۴۷۷	۰/۵۵۱۶	۱/۶۹۰	۰/۹۵۵۴	۰/۹۴۴۴	۱/۰۳۸	۰/۲۴۸	۰/۶۹۹۸	۱/۶۵۸	۱/۱۸۷

IC_{50} Value Epicatechin: 60.63 ± 6.4 µg/mL

IC_{50} Value Nano-CUR: 79.45 ± 6.84 µg/mL



نمودار شماره ۱: نتایج MTT Assay

*P<۰/۰۵: معنی‌داری در غلظت ۱۰µg/mL گروه نانو میسل کورکومین نسبت به گروه کنترل منفی در رده سلولی HT-29

**P<۰/۰۱: معنی‌داری در غلظت ۲۰µg/mL گروه نانو میسل کورکومین نسبت به گروه کنترل منفی در رده سلولی HT-29

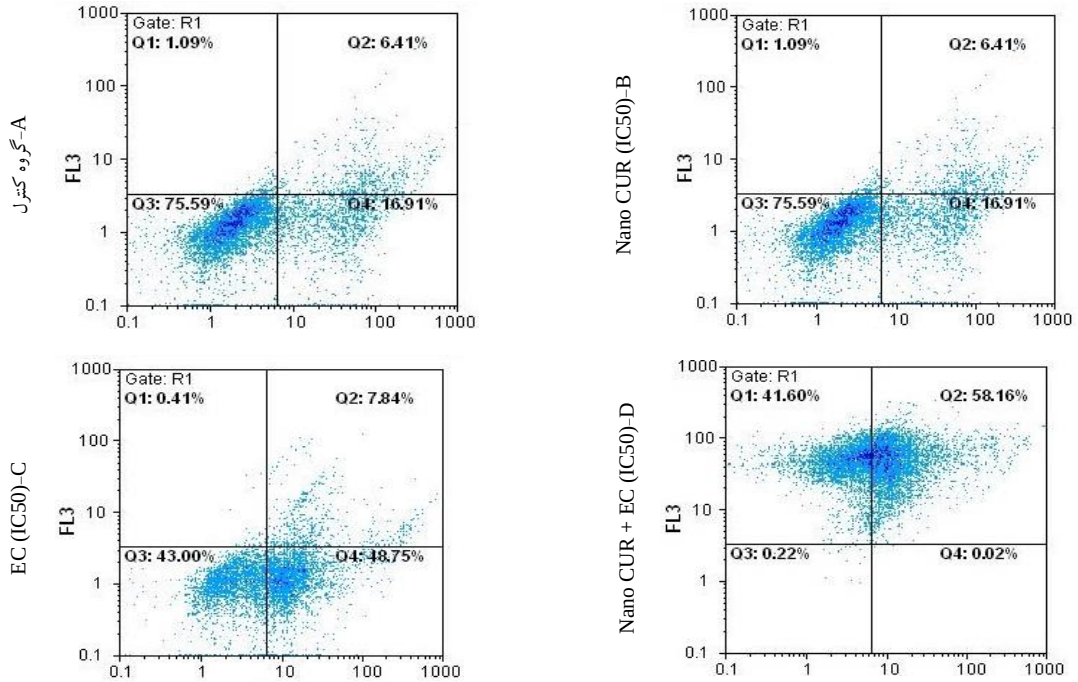
****P<۰/۰۰۰۱: معنی‌داری در غلظت ۵۰µg/mL و ۱۰۰ گروه نانو میسل کورکومین نسبت به گروه کنترل منفی در رده سلولی HT-29

*P<۰/۰۵: معنی‌داری در غلظت ۱۰µg/mL گروه اپی کاتچین نسبت به گروه کنترل منفی در رده سلولی HT-29

***P<۰/۰۰۱: معنی‌داری در غلظت ۲۰µg/mL گروه اپی کاتچین نسبت به گروه کنترل منفی در رده سلولی HT-29

****P<۰/۰۰۰۱: معنی‌داری در غلظت ۵۰µg/mL و ۱۰۰ گروه اپی کاتچین نسبت به گروه کنترل منفی در رده سلولی HT-29

$^{+}$P<۰/۰۵: معنی‌داری گروه نانومیسل کورکومین به همراه اپی کاتچین در غلظت IC_{50} نسبت به گروه کنترل مثبت 5-FU در رده سلولی HT-29



تصویر شماره ۱: نتایج بررسی آپوپتوز سلول‌های HT29 پس ارتیمار ۲۴ ساعته با غلظت IC50 اپی کاتچین و نانو میسل کورکومین به روش آنکسین فلوسایتومتری

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-28]

بحث

کورکومین ماده‌ای کریستالی و متبلور است که در مصارف پزشکی هند کاربرد بسیاری دارد. اثرات مفید کورکومین بر سرطان‌های معده،کولون و دهان در موش سوری به اثبات رسیده است(۲). فلاونوئیدها که اخیرا مورد توجه بسیار زیادی قرار گرفته‌اند در گیاهان مختلفی وجود دارند. انسان به‌طور اساسی این ترکیبات را از طریق مصرف میوه، سبزی و نوشیدنی‌ها به‌دست می‌آورد. در تحقیقات in vitro این ترکیبات از طریق مهار لیپید پروکسیداسیون، به چنگ انداختن رادیکال‌های آزاد و شلاته‌کننده یون‌های فلزی، به‌عنوان آنتی‌اکسیدانت مطرح شده‌اند که این خاصیت به‌دلیل وجود ساختار بی نظیر آن‌ها ذکر شده است(۸). هم‌چنین فلاونوئیدها به‌عنوان ترکیبات آنتی‌اکسیدانت، محافظت‌کننده قلبی، ضد التهاب و ضد سرطان شناخته می‌شوند(۹). به‌طورکلی فلاونوئیدها در مغز دارای چند اثر حفاظتی اثر مثبت در مقابل سموم عصبی، سرکوب التهاب‌های عصبی و توانایی افزایش (promote) حافظه و کارکردهای شناختی و یادگیری هستند(۱۰). هم‌چنین چای سبز اثرات حفاظتی قابل توجهی را درمقابل بیماری‌هایی مانند پارکینسون ، آلزایمر و آسیب‌های ایسکمیک نشان داده است. هم‌چنین اثرات ضد دیابتی چای سبز در مدل‌های حیوانی مقاوم به انسولین نشان داده شده است. از دیگر اثرات چای سبز می‌توان به خواص آنتی باکتریال، ضد HIV و ضد پیری اشاره کرد(۱۱).

در مطالعه حاضر نیز اپی کاتچین و کورکومین با افزایش میزان آپوپتوز توانسته‌اند باعث افزایش مرگ در سلول‌های سرطان کولون (HT29) گردند که این مورد با افزایش دوز به بیش‌ترین حد خود رسیده و هم‌چنین ترکیب این دو دارو باعث اثر هم افزایی بوده و اثر بیش‌تری نسبت به هر کدام به تنهایی نشان داده است. در مطالعه‌ای که توسط Huerta و همکاران در سال ۲۰۰۲ با عنوان ویتامین D3 و آنالوگ غیر کلسیمی بار تومور را کاهش می‌دهد، انجام شد به این نتیجه رسیدند که ویتامین D3 و آنالوگ غیر کلسیمی سبب کاهش بار تومور کولون در موش سوری می‌شود(۲۳). هم‌چنین در مطالعهحاضر نیز اپی کاتچین و کورکومین با افزایش میزان آپوپتوز توانسته اند باعث افزایش مرگ در سلول‌های سرطان کولون (HT29) گردند که این مورد با افزایش دوز به بیش‌ترین حد خود رسیده است.

در مطالعه‌ای که توسط Devasena و همکاران در مارچ سال۲۰۰۲ باعنوان اثر ضدسرطان آنالوگ کورکومین در مدل سرطان القا شده توسط دی متیل هیدرازین در موش صحرایی انجام گرفت،کورکومین به‌عنوان محافظت شیمیایی در مقابل گسترش سرطان کولون عمل کرده و نشان می‌دهد که گروه هیدروکسیل در حلقه آروماتیکی کورکومین مسئول اثر پیشگیری‌کننده در مقابل گروه متوکسی موجود در کورکومین است(۲۴).

در مطالعه حاضر نیز اپی‌کاتچین و کورکومین با افزایش میزان آپوپتوز توانسته اند باعث افزایش مرگ در سلول‌های سرطان کولون (HT29) گردند که این مورد با افزایش دوز به بیش‌ترین حد خود رسیده و هم‌چنین ترکیب این دو دارو باعث اثر هم افزایی بوه و اثر بیش‌تری نسبت به هر کدام به تنهایی نشان داده است.

در مطالعه حاضر ترکیب دو داروی کورکومین و اپی‌کاتچین توانسته اثر بهتری در افزایش میزان افزایش مرگ سلول‌های سرطانی نشان دهد که این امر به احتمال زیاد به علت اثر هم‌افزایی این دو ترکیب می‌باشد، همانگونه که در مطالعه Xu و همکاران دراکتبر سال ۲۰۰۹ با عنوان ترکیب کورکومین و چای سبز و اثرات پیشگیری‌کننده در سرطان کولون القا شده توسط دی‌متیل هیدرازین در موش صحرایی نشان داده شد که کورکومین و چای سبز ممکن است یک اثر هم‌افزایی پیشگیری کننده نسبت به سرطان کولون داشته باشند که از اثر هر کدام به تنهایی بیش‌تر است(۲۵).

در مطالعه‌ای که توسط Bounaama و همکاران در سپتامبر ۲۰۱۲ با نام درمان کوتاه مدت سرطان کولون در موش سوری برای بررسی استرس اکسیداتیو، فعالیت

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-28]

آرژیناز، TGF-B1 و HES-1 صورت گرفت نشانگر اثر محافظتی و مفید کورکومین بود(۲۶). هم‌چنین در مطالعه ما نیز اپی‌کاتچین و کورکومین با افزایش میزان آپوپتوز توانسته اند باعث افزایش مرگ در سلول‌های سرطان کولون (HT29) گردند که این مورد با افزایش دوز به بیش‌ترین حد خود رسیده است که به احتمال زیاد به علت افزایش مسیر آپوپتوز در سلول‌های سرطانی این اثرات را نشان می‌دهد.

در مطالعه‌ای که توسط Bisht و همکاران در نوامبر سال ۲۰۰۹ باعنوان ترکیبات رژیمی کورکومین، رزوراتول و فلاونوئید به‌عنوان ضد التهاب ومحافظ هسته و DNA انجام گرفت به این نتیجه رسیدند که پلی‌فنول‌ها، می‌توانند از سلول و خصوصا DNA در برابر آبشارهایی که منجر به واکنش‌های اکسایشی جهش و سرطان می‌شود جلوگیری کنند(۲۷).

در مطالعه حاضر اپی‌کاتچین و کورکومین با افزایش میزان آپوپتوز توانسته‌اند باعث افزایش مرگ در سلول‌های سرطان کولون (HT29) گردند که این مورد با افزایش دوز به بیش‌ترین حد خود رسیده است که بیانگر اثرات حفاظتی این ترکیبات می‌باشد. در مطالعه Nath و همکاران در خصوص بررسی اثرات حفاظت عصبی کاتچین‌ها در مقابل سموم میتوکندریال و پروتئین‌های موجود در ویروس HIV از طریق مسیر BDNF (Brain-derived neurotrophic factor) مشخص شد که EC و epigallocatechin gallate دارای اثرات محافظت عصبی بیش‌تری نسبت به catechin یا resveratrol بودند. هم‌چنین به‌دلیل ساختار ساده‌تر و ویژگی‌های نفوذ پذیری از سد خونی مغزی (BBB)، احتمالا EC بهترین گزینه درمان بیماری‌های نورودژنراتیو از جمله اختلالات شناختی ناشی از HIV که استرس اکسیداتیو یکی از مکانیسم‌های مهم پاتوفیزیولوژیکی آن است، مطرح می‌باشد(۱۴). بررسی‌های صورت گرفته توسط Shah و همکاران نشان می‌دهد که EC موجود در کاکائو و چای دارای اثرات محافظتی در مقابل آسیب‌های ایسکمیک مغزی می‌باشد. در این مطالعه نوع وحشی موش سوری با دریافت دوزهای مختلف (ECmg/kg۳۰،۱۵،۵) قبل از انسداد شریان میانی مغزی (MCAO)، دارای انفارکتوس‌های کم‌تر مغزی و نیز کاهش نمره نقائص نورولوژیک بوده است. نکته جالب توجه این‌که در موش‌های سوری فاقد آنزیم هم اکسیژناز ۱ (HO1) یا فاکتور رونویسی‌کننده Nrf2، اثرات محافظت عصبی EC از بین خواهد رفت. در نهایت در این مطالعه بیان شد که قسمتی از اثرات EC از طریق فعال سازی Nrf2 و افزایش اثرات محافظت عصبی هم اکسیژناز ۱ (HO1) خواهد بود(۱۷). در مطالعه ما نیز اپی کاتچین سبب افزایش میزان آپوپتوز و مرگ سلول‌های سرطانی شده است.

نتایج مطالعات Hooge و همکاران که به‌صورت in vivo بر روی نوروتوکسیسیتی ناشی از تزریق Amiloyd–beta 25–23 درناحیه CA1 هیپوکامپ صورت گرفت، نشان می‌دهد که تزریق Amiloyd–beta 25–23 باعث افزایش پراکسیداسیون لیپیدی، افزایش تشکیل ROS و کاهش مهارت های مربوط به حافظه و افزایش واکنش‌های ایمونولوژیکی علیه GFAP (Glial fibrillary acidic protein) می‌گردد، ولی در نمونه‌هایی که EC دریافت کرده‌اند کاهش پراکسیداسیون لیپیدی، کاهش تشکیل ROS و بهبود مهارت‌های مربوط به حافظه مشاهده می‌گردد(۲۸). هم‌چنین واکنش‌های ایمونولوِیک مربوط به GFAP نیز کاهش یافته بود. به‌طور کلی این مطالعه نشان داد که آسیب وارده به ناحیه هیپوکامپ به‌وسیله تجویز EC مهار شد(۲۸).

در مطالعه ما اپی‌کاتچین و کورکومین با افزایش میزان آپوپتوز توانسته اند باعث افزایش مرگ در سلول‌های سرطان کولون (HT29) گردند که این مورد با افزایش دوز به بیش‌ترین حد خود رسیده است که بیانگر اثرات حفاظتی این ترکیبات می‌باشد.

در مطالعه‌ای توسط Costa و همکاران در سال ۲۰۱۹ مشخص شد که عصاره چای سبز بر روی دو رده

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-28]

سلولی کانسر پستان آثار سایتوتوکسیک داشته و باعث افزایش فاکتور آپوپتوتیک P53 شده اما بر روی سلول‌های نرمال اثر توکسیک نداشته است(۱۸)، در مطالعه ما اپی‌کاتچین با افزایش میزان آپوپتوز توانسته است باعث افزایش مرگ در سلول‌های سرطان کولون (HT29) شود که این مورد با افزایش دوز به بیش‌ترین حد خود رسیده است که بیانگر اثرات ضدسرطانی این ترکیب می‌باشد.

در مطالعه Rogovskii و همکاران امکان اثر پیشگیری و درمانی کاتچین‌های چای در کانسر پروستات بررسی شد. در این مطالعه بیان شد که خواص آنتی کانسر چای از دو طریق اعمال می‌گردد که شامل اثر مستقیم یا از طریق تاثیر بر microenvironment سلولی به‌خصوص در ارتباط با سیستم ایمنی و کاهش التهاب و افزایش مقاومت سیستم ایمنی می‌گردد(۱۹)، هم‌چنین در مطالعه ما اپیکاتچین با افزایش میزان آپوپتوز توانسته است باعث افزایش مرگ در سلول‌های سرطان کولون (HT29) گردد که این مورد با افزایش دوز به بیش‌ترین حد خود رسیده است که به احتمال زیاد بیانگر اثرات ضد سرطانی این ترکیب از همین مسیرها می‌باشد.

در مطالعه‌ای توسط Ai و همکاران در سال ۲۰۱۹ به بررسی ترانسپورت کاتچین‌ها و تاثیر آن در efflulux transport و نفوذپذیری سلول‌ها پرداخته و مشخص شد که فرم ترانس از لحاظ ایزومر فضایی در افزایش نفوذپذیری سلولی نسبت به فرم Cis در efflux transport نقش دارد و دوساعت انکوباسیون دارویی در رده سلولی Caco-2 تک لایه باعث افزایش بیان پروتئین‌های multidrug resistance-associated protein 2(MRP2) و breast cancer-resistance protein(BCRP) و کاهش بیان P-glycoprotein شده است(۲۰). علی‌رغم تاثیرات مفید کورکومین در بسیاری از بدخیمی‌ها مصرف بالینی آن به‌دلیل فراهمی زیستی پایین و حلالیت پایین محدود است. در بررسی بالینی گزارش شده است که مصرف خوراکی کورکومین به میزان ۸ gm/day به‌طور سریع به متابولیت‌هایش تبدیل شده و در نتیجه سطح پایینی از کورکومین آزاد در پلاسما مشاهده شده است (۲/۵ng/ml>)(۲۸). در این تحقیق نیز کورکومین با افزایش میزان آپوپتوز توانسته است باعث افزایش مرگ در سلول‌های سرطان کولون (HT29) شود که این مورد با افزایش دوز به بیش‌ترین حد خود رسیده است که بیانگر اثرات حفاظتی این ترکیب می‌باشد. هم‌چنین در مطالعه‌ای اثر هم افزایی بین سیس پلاتین و کورکومین و epigallocatechin-3-gallate (EGCG) در Ovarian cancer مدل سلولی انجام شد و combination index (CI) تعیین گردید و هم‌چنین تجمع سلولی سیس پلاتین و اتصال آن با DNA به‌وسیله روش graphite furnace atomic absorption spectrometry تعیین گردید و مشخص شد که اضافه کردن سیس پلاتین، ۴ ساعت قبل از کورکومین باعث بیش‌ترین اثر هم‌افزایی در رده‌های سلولی A2780 and A2780 شده است(۲۹).

نتایج این مطالعه و نیز در مقایسه با سایر مطالعات انجام شده، نشان می‌دهد که در مطالعه ما اپیکاتچین و کورکومین با افزایش میزان آپوپتوز توانسته اند باعث افزایش مرگ در سلول‌های سرطان کولون (HT29) گردند که این مورد با افزایش دوز به بیش‌ترین حد خود رسیده است و بیانگر اثرات ضد سرطانی این ترکیبات می‌باشد. هم‌چنین ترکیب این دو دارو باعث اثر هم افزایی بوده و اثر بیش‌تری نسبت به هر کدام به تنهایی نشان داده است. هم‌چنین این دو ترکیب براساس مطالعات گذشته روی سلول‌های طبیعی اثرات سمیت سلولی نداشته و خود به تنهایی عاملی برای سمیت تلقی نمی‌شوند و می‌توان از آن به‌عنوان کاندیدهای سنتز داروی ضدسرطان نام برد. هم‌چنین در مطالعاتی که در سال ۲۰۱۰ بر روی سلول HT29 داشتیم اثرات ضد پرولیقراسیون آنتاگونیست‌های 5HT1B و5HT3 و 5HT4 بررسی شد که این مطالعه نیز در راستای مطالعات قبلی ما در بررسی تاثیر داروهای با منشا طبیعی درکانسر کولون بوده(۳۱،۳۰).

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-28]

References

1. Maheshwari RK, Singh AK, Gaddipati J, Srimal RC. Multiple biological activities of curcumin: a short review. Life Sci 2006; 78(18): 2081-2087.
2. Anand P, Sundaram C, Jhurani S, Kunnumakkara AB, Aggarwal BB. Curcumin and cancer: an "old-age" disease with an "age-old" solution. Cancer lett 2008; 267(1): 133-164.
3. Naik SR, Thakare VN, Patil SR. Protective effect of curcumin on experimentally induced inflammation, hepatotoxicity and cardiotoxicity in rats: evidence of its antioxidant property. Exp Toxicol Pathol 2011; 63(5): 419-431.
4. Singh R, Sharma P. Hepatoprotective effect of curcumin on lindane-induced oxidative stress in male Wistar rats. Toxicol Int 2011; 18(2): 124-129.
5. Rahimi HR, Nedaeinia R, Sepehri Shamloo A, Nikdoust S, Kazemi Oskuee R. Novel delivery system for natural products: Nano-curcumin formulations. Avicenna J Phytomed 2016; 6(4): 383-398.
6. Fang XB, Zhang JM, Xie X, Liu D, He CW, Wan JB, Chen MW. pH-sensitive micelles based on acid-labile pluronic F68-curcumin conjugates for improved tumor intracellular drug delivery. Int J Pharm 2016; 502(1-2): 28-37.
7. Chen XJ, Pang D, Li LP, Chen YQ, Tan XR. A hypothesis on the relationship between tea drinking and sexual activity. World J Hypertens 2013; 3(4): 32-36.
8. Mariusz K. Piskula and Junji Terao. Accumulation of (-)-Epicatechin Metabolites in Rat Plasma after Oral Administration and Distribution of Conjugation Enzymes in Rat Tissues. Journal of Nutrition 1998; 128(7): 1172-1178.
9. Lopes Lda S, Marques RB, Fernandes HB, Pereira Sda S, Ayres MC, Chaves MH, et al. Mechanisms of the antinociceptive action of (−)Epicatechin obtained from the hydroalcoholic fraction of Combretum leprosum Mart & Eic in rodents. J Biomed Sci 2012; 19(1): 68.
10. Spencer JP. Flavonoids and brain health: multiple effects underpinned by common mechanisms. Genes Nutr 2009; 4(4): 243-250.
11. Zaveri NT. Green tea and its polyphenolic catechins: Medicinal uses incancer and noncancer applications. Life Sciences 2006; 78(18): 2073-2080.
12. Suganuma M, Okabe S, Kai Y, Sueoka N, Sueoka E, Fujiki H.Synergistic Effects of (-)-Epigallocatechin Gallate with (-)-Epicatechin, Sulindac, or Tamoxifen on Cancer-preventive Activity in the Human Lung CancerCell Line PC-9. Cancer Res 1999; 59(1): 44-47.
13. Sutherland BA, Rahman RM, Appleton I. Mechanisms of action of green tea catechins, with a focus on ischemia-induced neurodegeneration. J Nutr Biochem 2006; 17(5): 291-306.
14. Nath S, Bachani M, Harshavardhana D, Steiner JP. Catechins protect neurons against mitochondrial toxins and HIV proteins via activation of the BDNF pathway. J Neurol 2012; 18(6): 445-455.
15. Gary W, Claudine M. Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. II. Review of 93 intervention studies. The American Journal Of Clinical Nutrition 2005; 81(1): 243-255.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-28]

16. Seigo B, Naomi O, Midori N, Yuko M, Toshio T, Junji T. In Vivo Comparison of the Bioavailability of (+)-Catechin, (-)-Epicatechin and Their Mixture in Orally Administered Rats. The Journal Nutrition 2001; 131(11): 2885-2891.
17. Shah ZA, Li RC, Ahmad AS, Kensler TW, Yamamoto M, Biswal S, et al. The flavanol (_)-epicatechin prevents stroke damage through the Nrf2/HO1 pathway. J Cereb Blood Flow Metab 2014; 34(4): 735.
18. Costa D, Santos R, Andrade EDS, Themistocles BL, da Silva BG, Fialho E, Monteiro M, Silva J, Daleprane J. Green Tea Extract (Camellia sinensis) as a Potential Antitumoral Agent on Breast Cancer Cells (FS13-04-19). Curr Dev Nutr 2019; 3(Suppl 1): nzz030.FS13-04-19.
19. Rogovskii VS, Popov SV, Sturov NV, Shimanovskii NL. The Possibility of Preventive and Therapeutic Use of Green Tea Catechins in Prostate Cancer.Anticancer Agents Med Chem 2019; 19(10): 1223-1231.
20. Ai Z, Liu S, Qu F, Zhang H, Chen Y, Ni D. Effect of Stereochemical Configuration on the Transport and Metabolism of Catechins from Green Tea across Caco-2 Monolayers. Molecules 2019; 24(6): 1185.
21. Kunati SR, Yang SM, William BM, Xu Y. An LC-MS/MS method for simultaneous determination of curcumin, curcumin glucuronide and curcumin sulfate in a phase II clinical trial. J Pharm Biomed Anal 2018; 156: 189-198.
22. Yunos NM, Beale P, Yu JQ, Huq F. Synergism From Sequenced Combinations of Curcumin and epigallocatechin-3-gallate With Cisplatin in the Killing of Human Ovarian Cancer Cells. Anticancer Res 2011; 31(4): 1131-1140.
23. Huerta S, Irwin RW, Heber D, Go VLW, Koeffler HP, Uskokovic MR, et al. 1α, 25-(OH) 2-D3 and its synthetic analogue decrease tumor load in the Apcmin mouse. Cancer Res 2002; 62(3): 741-746.
24. Devasena T, Rajasekaran K, Menon VP. Bis-1, 7-(2-hydroxyphenyl)-hepta-1, 6-diene-3, 5-dione (a curcumin analog) ameliorates DMH-induced hepatic oxidative stress during colon carcinogenesis. Pharmacol Res 2002; 46(1): 39-45.
25. Xu G, Ren G, Xu X, Yuan H, Wang Z, Kang L, et al. Combination of curcumin and green tea catechins prevents dimethylhydrazine-induced colon carcinogenesis. Food Chem Toxicol 2010; 48(1): 390-395.
26. Bounaama A, Djerdjouri B, Laroche-Clary A, Le Morvan V, Robert J. Short curcumin treatment modulates oxidative stress, arginase activity, aberrant crypt foci, and TGF-β1 and HES-1 transcripts in 1, 2-dimethylhydrazine-colon carcinogenesis in mice. Toxicology 2012; 302(2): 308-317.
27. Bisht K, Wagner KH, Bulmer AC. Curcumin, resveratrol and flavonoids as anti-inflammatory, cyto-and DNA-protective dietary compounds. Toxicology 2010; 278(1): 88-100.
28. Hooge RD, De Deyn PP. Application of the morris water maze in the study of learning and memory. Brain Res Rev 2001; 36(1): 60-90.
29. Shanmugam T, Selvaraj M, Poomalai S. Epigallocatechin gallate potentially abrogates fluoride induced lung oxidative stress, inflammation via Nrf2/Keap1 signaling pathway in rats: An in-vivo and in-silico study. Int Immunopharmacol 2016; 39: 128-139.
30. Ataee R, Ajdary S, Zarrindast M, Rezayat M, Hayatbakhsh MR. Anti-mitogenic and apoptotic effects of 5-HT1B receptor antagonist

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-28]

on HT29 colorectal cancer cell line. J Cancer Res Clin Oncol 2010; 136(10): 1461-1469.

31. Ataee R, Ajdary S, Rezayat M, Shokrgozar MA, Shahriari S, Zarrindast MR.Study of 5HT3 and HT4 receptor expression in HT29 cell line and human colon adenocarcinoma tissues. Arch Iran Med 2010; 13(2): 120-125.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-28]