

Protective Effects of *Trigonella foenum graecum* L. Extract Against Cytotoxicity Induced by Cyclophosphamide on Ovarian Cancer (SKOV3) and Normal Cell Lines

Mohammad Shokrzadeh¹,
Emran Habibi²,
Nilloofar Pourfoladchi³,
Hamidreza Mohammadi⁴

¹ Associate Professor, Pharmaceutical Research Center, Department of Toxicology and Pharmacology, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

² Assistant Professor, Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

³ Pharmacy Student, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Ramsar International Unit, Sari, Iran

⁴ Assistant Professor, Pharmaceutical Research Center, Department of Toxicology and Pharmacology, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received November 12, 2016 Accepted August 5, 2017)

Abstract

Background and purpose: Today, medicinal plants are of great importance in treatment of different cancers. *Trigonella foenum graecum* L. (fenugreek) is a herbaceous plant with phenolic compounds that has received attention in cytotoxicity studies. The aim of this study was to evaluate the protective effects of *Trigonella foenum graecum* L. (TFG) against cytotoxicity induced by cyclophosphamide on ovarian cancer (SKOV3) and normal cell lines.

Materials and methods: We conducted an experimental study in which TFG aqueous extract was prepared by percolation method. Ovarian cancer cells (SKOV3) and normal cell lines (rats) were treated with cyclophosphamide and TFG aqueous extract in different concentrations (1, 10, 50, 100, 200 µg/ml) for 72 hr. Cells viability were then evaluated using MTT assay. Data analysis was done applying ANOVA.

Results: In this study, inhibitory concentration (IC₅₀) of the extract and cyclophosphamide on SKOV3 and normal cell lines were determined 5.992±0.013 and 30.66±0.032 µg/ml, respectively. The IC₅₀ values in cell lines treated with cyclophosphamide alone were 1.839±0.003 and 7.332±0.011 µg/ml, respectively.

Conclusion: Compared with cyclophosphamide alone, the IC₅₀ values from TFG aqueous extract and cyclophosphamide on SKOV3 and normal cell lines were increased which could be due to high antioxidant activity caused by bioactive components such as flavonoids and alkaloids of the TFG aqueous extract.

Keywords: *Trigonella foenum graecum* L., fenugreek, cancer cell lines, IC₅₀, cytotoxicity

بررسی اثر محافظتی عصاره آبی گیاه شنبلیله (*Trigonella foenum-graecum* L) بر سمیت سلولی القایی ناشی از سیکلوفسفامید در رده سلول های سرطانی تخمدان انسانی (SKOV3) و نرمال

محمد شکرزاده¹عمران حبیبی²نیلوفر پورفولادچی³حمید رضا محمدی⁴

چکیده

سابقه و هدف: امروزه استفاده از گیاهان دارویی در درمان سرطان از اهمیت فوق العاده ای برخوردار است. گیاه شنبلیله به دلیل دارا بودن ترکیبات فنلی برای مطالعات سمیت سلولی با اهمیت می باشد. هدف از این مطالعه، بررسی اثر محافظتی عصاره آبی گیاه شنبلیله بر سمیت سلولی ناشی از داروی سیکلوفسفامید بر روی رده سلول های سرطانی انسانی (SKOV3) و نرمال می باشد.

مواد و روش ها: در این مطالعه تجربی، ابتدا عصاره آبی گیاه به روش پراکولاسیون تهیه شد. بعد از مواجهه رده سلول سرطانی تخمدان انسانی (SKOV3) و رده سلولی نرمال فیبروبلاست جنین موش با غلظت های مختلف از عصاره گیاه و داروی سیکلوفسفامید به مدت 72 ساعت، میزان مرگ و میر سلول ها با روش MTT مورد بررسی قرار گرفت. محاسبات آماری و مقایسه داده ها با روش آنالیز واریانس (ANOVA) انجام گرفت.

یافته ها: نتایج نشان داد که میزان غلظت مهار (IC50) عصاره گیاه و داروی سیکلوفسفامید بر رده های سرطانی تخمدان انسانی (SKOV3) و رده سلولی نرمال فیبروبلاست جنین موش به ترتیب برابر با $0/013 \pm 5/992$ و $0/032 \pm 30/66$ میکروگرم بر میلی لیتر و میزان IC50 داروی سیکلوفسفامید بر این رده های سلولی به ترتیب برابر با $1/839 \pm 0/003$ و $7/332 \pm 0/011$ میکروگرم بر میلی لیتر است.

استنتاج: میزان غلظت مهار (IC50) عصاره گیاه شنبلیله و سیکلوفسفامید بر روی رده های سلول سرطانی تخمدان انسانی (SKOV3) و رده سلولی نرمال در مقایسه با داروی ضد سرطان سیکلوفسفامید افزایش نشان داد که می تواند ناشی از خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره به دلیل داشتن ترکیبات مختلف فلاونوئیدی و آلکالوئیدی باشد.

واژه های کلیدی: شنبلیله، *Trigonella foenum-graecum* L، رده سلولی سرطانی، IC50، سمیت سلولی

مقدمه

سرطان ها وجود دارد که می توان به جراحی، شیمی درمانی، رادیوتراپی، هورمون درمانی، ایمونوتراپی و... اشاره داشت (1). در خصوص سرطان های کبد، ریه و

سرطان یکی از بارزترین علل مرگ و میر دنیای امروزی است و جمعیتی میلیونی را تحت تأثیر مستقیم یا غیرمستقیم خود دارد. روش های درمان متفاوتی برای

Email: hmohammadi@farabi.tums.ac.ir

مؤلف مسئول: حمیدرضا محمدی - ساری، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، گروه سم شناسی و فارماکولوژی

1. استادیار، گروه سم شناسی و فارماکولوژی، مرکز تحقیقات علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

2. استادیار، گروه فارماکولوژی، مرکز تحقیقات علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

3. دانشجوی دکتری داروسازی، دانشکده داروسازی پردیس خودگردان رامسر، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ایران

4. استادیار، گروه سم شناسی و فارماکولوژی، مرکز تحقیقات علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

تاریخ دریافت: 1395/8/22 تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: 1395/11/12 تاریخ تصویب: 1396/5/14

سیکولوفسفامید در رده سلول‌های سرطانی تخمدان انسانی (SKOV3) و نرمال می‌باشد.

مواد و روش‌ها

الف) نحوه عصاره‌گیری

گیاه شنبلیله با نام علمی - *Trigonella foenum-graecum* L. از اطراف روستای کردخیل شهرستان ساری استان مازندران جمع‌آوری و توسط متخصص گیاه‌شناس شناسایی و تأیید گردید. گیاهان جمع‌آوری شده در سایه و به دور از نور مستقیم خورشید خشک و سپس به کمک آسیاب دستی به قطعات کوچک‌تر خرد گردید. 200 گرم اندام هوایی خشک شده‌ی گیاه به اندازه‌ی ذره‌ای با مش 100 توسط آسیاب معمولی خرد گردید. 100 گرم نمونه‌ی خشک شده‌ی پودر شده داخل کاغذ صافی نازک قرار داده شده و در قسمت B دستگاه سوکسله تعبیه گردید و توسط 1000 میلی لیتر آب مقطر دیونیزه شده و دو بار تقطیر شده به مدت 6 ساعت با استفاده از دستگاه سوکسله عصاره مورد نظر تهیه گردید. عصاره‌ی آبی توسط دستگاه روتاری اوپوراتور در دمای 45 درجه سانتی‌گراد تغلیظ شده و عصاره‌ی حاصل ترجیحاً توسط فریز درایر خشک و به صورت پودر تهیه گردید. در نهایت عصاره خشک در ظرف شیشه‌ای در بسته و درون یخچال به دور از گرما و نور نگهداری شد (8).

ب) نگهداری و کشت سلولی

در این مطالعه از رده‌های سلولی سرطانی تخمدان انسانی (SKOV3) و رده سلولی نرمال فیروبلست جنین موش که از بانک سلولی انیستیتو پاستور تهران خریداری شده بودند، استفاده گردید. از پاساژهای سلولی بین 26 تا 31 در محیط کشت DMEM با 10 درصد سرم جنین گاوی (FBS)، سدیم پیرووات 100 میلی گرم، 1/5 گرم بر لیتر سدیم بیکربنات و 1 درصد آنتی بیوتیک پنی سیلین استرپتومایسن، در انکوباتور

تخمندان (از نوع بدخیم) نیز از روش‌های متفاوت استفاده می‌شود که شیمی‌درمانی سیستمیک یکی از این روش‌ها می‌باشد (1). شیمی‌درمانی به دلیل عدم وجود سمیت انتخابی سلولی اغلب منجر به بروز عوارض جانبی غیرقابل تحمل می‌گردد. غیر از روش‌های رایج ذکر شده، امروزه استفاده از گیاهان دارویی (خصوصاً گیاهان بومی) در درمان سرطان از اهمیت فوق العاده‌ای برخوردار است (2، 3). از طرف دیگر استفاده از کشت سلولی در علم سم‌شناسی و فارماکولوژی به منظور سنجش سمیت سلولی مواد شیمیایی، دارویی، آفت‌کش‌ها و بررسی سمیت برون تنی تمامی ترکیبات طبیعی و سنتتیک و... پیشرفت شگرفی را پیدا کرده است (4).

شنبلیله گیاهی است علفی و یکساله که از گیاهان خانواده Leguminosae محسوب می‌شود. این گیاه از ایران و غرب آسیا به سایر کشورها منتقل شده است و اکنون در بیش تر نقاط دنیا کشت می‌شود. نام علمی آن *Trigonella foenum-graecum* L. و در کتب طب سنتی به اسم حله معروف می‌باشد. نام انگلیسی شنبلیله، Fenugreek بوده و در فرانسه به آن Trigonelle می‌گویند (5).

برخی از ترکیبات اصلی جدا و شناسایی شده موجود در دانه شنبلیله عبارتند از آلکالوئیدهای تری گونلین ((Trigonelline، جنتیانین (Gentianine) و کارپائین (Carpaine)، فلاونوئیدهای اوریتین ((Orientin، لوتولین (Luteolin) و ویستین (Vicentin)، استروئیدهای ساپونین ویتامین‌های A و C و املاح آهن و کلسیم (6، 7).

مطالعات انجام شده در خصوص اثرات محافظتی عصاره گیاه شنبلیله بر ارگان‌های مختلف بسیار کم می‌باشد. بر اساس دانسته‌های ما و پس از جستجوی وسیع در منابع علمی مختلف در خصوص اثرات محافظتی عصاره این گیاه بر سلول‌های سرطانی مورد خاصی یافت نگردید. هدف از این مطالعه بررسی اثر محافظتی عصاره آبی گیاه شنبلیله بر سمیت سلولی القایی ناشی از

(USA, BINDER) در دمای 37 درجه سانتی گراد و رطوبت کافی و میزان 5 درصد دی اکسید کربن، استفاده شد. برای انجام آزمایش‌های مختلف، زمانی که سلول‌های حداقل به 70 درصد رشد سلولی رسیدند، توسط تریپسین - اتیلن دی آمین تترا استیک اسید (EDTA) از ته فلاسک جدا شده و در 1500 rpm به مدت 5 دقیقه سانتریفیوژ شدند. رسوب سلولی در یک میلی‌لیتر محیط کشت به حالت سوسپانسیون تهیه شد. 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. پس از حصول اطمینان از عدم آلودگی سلول‌ها، از سلول‌های با درصد زنده بودن بالای 90 درصد برای انجام تست استفاده شد (9).

ج) بررسی سمیت سلولی گیاه شنبلیله و سیکلوفسفامید با روش *MTT assay* بر رده‌های سرطانی تخمدان انسانی (SKOV3) و رده سلولی نرمال به منظور بررسی اثر عصاره گیاه شنبلیله بر رشد و تکثیر سلول‌های سرطانی و نرمال از روش رنگ سنجی *MTT* استفاده شد. این روش یک تست متابولیک رقابتی میتوکندریایی است و بر اساس شکستن نمک ترازولیوم توسط آنزیم سوکسینات دهیدروژناز میتوکندریایی سلول‌های زنده استوار است. در این روش میزان 100 میکرولیتر محیط کشت حاوی تعداد 104 عدد سلول در هر چاهک پلیت 96 خانه قرار داده شد. پس از 24 ساعت انکوباسیون، غلظت‌های 1، 10، 25، 50، 100 میکروگرم بر میلی‌لیتر از عصاره گیاه شنبلیله و سیکلوفسفامید به سلول‌های سرطانی و غلظت‌های 1، 10، 50، 100، 200 میکروگرم بر میلی‌لیتر از عصاره گیاه شنبلیله و سیکلوفسفامید به سلول‌های نرمال اضافه شد و طی 72 ساعت انکوبه شد. پس از طی زمان مذکور به هر چاهک پلیت، 20 میکرولیتر محلول *MTT* (از شرکت سیگما با غلظت 5 میلی گرم بر میلی‌لیتر)

اضافه شد و به مدت 4 ساعت دیگر در دمای 37 درجه سانتی گراد انکوبه شد. پس از طی زمان لازم، محیط کشت حاوی *MTT* به دقت خارج شد و به هر خانه پلیت میزان 50 میکرولیتر محلول *DMSO* رقیق شده جهت حل کردن فورمازان ارغوانی رنگ اضافه شد. بعد از 15 دقیقه انکوباسیون در دمای اتاق، جذب نوری هر چاهک با استفاده از دستگاه الایزا در طول موج 490 و 630 نانومتر قرائت شد (7). نتایج حاصل به صورت درصد بقای سلولی مطابق روش زیر محاسبه شد:

$$100 \times (\text{جذب نوری کنترل} / \text{جذب نوری تست}) =$$

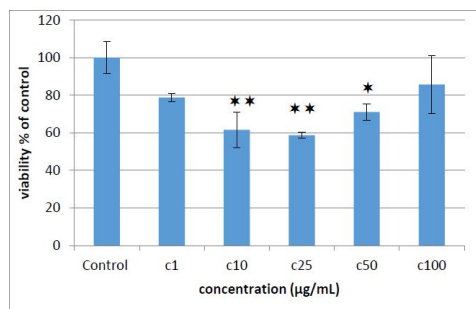
میزان بقای سلولی

تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS و آنالیز واریانس یک طرفه ANOVA و Tukey Post test انجام شد.

یافته‌ها

مقدار غلظت مهار (IC50) عصاره گیاه شنبلیله و سیکلوفسفامید بر روی سلول‌های سرطانی تخمدان انسانی (SKOV3) با میانگین $\pm$ انحراف معیار $5/992 \pm 0/013$ و سیکلوفسفامید به تنهایی $1/839 \pm 0/003$ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود. هم‌چنین مقدار غلظت مهار (IC50) عصاره گیاه شنبلیله و سیکلوفسفامید بر روی سلول‌های نرمال $30/66 \pm 0/022$ و سیکلوفسفامید تنها $7/332 \pm 0/011$ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود.

مقایسه داده‌های غلظت مهار (IC50) عصاره گیاهی و داروی سیکلوفسفامید بر روی رده‌های سلول‌های سرطانی تخمدان انسانی و نرمال نشان داد که تفاوت معناداری بین تمامی داده‌ها وجود دارد. نتایج نشان داد که داروی سیکلوفسفامید به‌طور معنی‌داری، غلظت مهار (IC50) بسیار کم‌تر از عصاره گیاه و سیکلوفسفامید می‌باشد (جدول شماره 1).

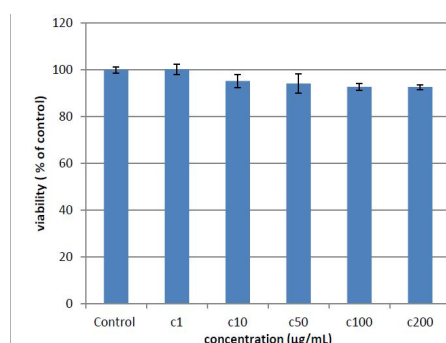


نمودار شماره 2: میزان بقای سلولی (درصد) رده سلولی SKOV3

در مواجهه با داروی سیکلوفسفامید + عصاره شنبلیله طی زمان 72 ساعت انکوباسیون در مقایسه با گروه کنترل

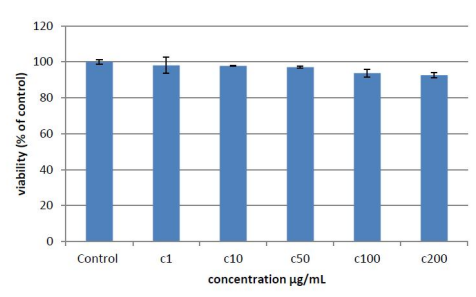
($P < 0.05$): معنی داری نسبت به گروه کنترل

($P < 0.01$): معنی داری نسبت به گروه کنترل



نمودار شماره 3: میزان بقای سلولی (درصد) رده سلولی نرمال

فیروبلست مواجهه یافته با داروی سیکلوفسفامید طی زمان 72 ساعت انکوباسیون



نمودار شماره 4: میزان بقای سلولی (درصد) رده نرمال فیروبلست

مواجهه یافته با داروی سیکلوفسفامید + عصاره شنبلیله طی زمان 72 ساعت انکوباسیون

جدول شماره 1: میزان غلظت مهاری (IC_{50}) محاسبه شده

عصاره گیاه شنبلیله و داروی سیکلوفسفامید بر خطوط سلول

سرطانی و نرمال بر حسب میکروگرم بر میلی لیتر ($\mu\text{g/mL}$):

** ($P < 0.05$): معنی داری نسبت به گروه سیکلوفسفامید

رد سلولی	میزان IC_{50} بر روی رده سلول سرطانی و نرمال فیروبلست	
عصاره گیاهی و دارو	SKOV3 ($\mu\text{g/mL}$)	NORMAL CELL ($\mu\text{g/mL}$)
<i>Trigonella foenum-graecum</i> <i>L+ Cyclophosphamide</i>	5/992±0/013**	30/66±0/022**
Cyclophosphamide	1/839±0/003	7/332±0/011

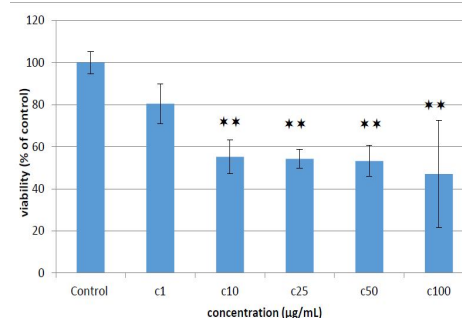
با استفاده از میزان جذب‌های خوانده شده در

رده‌های سلول‌های سرطانی تخمدان انسانی و نرمال،

میزان درصد زنده ماندن سلول‌ها (viability) پس از

مواجهه با عصاره گیاه شنبلیله و اتمام تست MTT انجام

گردید (نمودارهای شماره 1 و 2 و 3 و 4).



نمودار شماره 1: میزان بقای سلولی (درصد) رده سلولی SKOV3

در مواجهه با داروی سیکلوفسفامید طی زمان 72 ساعت

انکوباسیون در مقایسه با گروه کنترل ($P < 0.01$): معنی داری

نسبت به گروه کنترل

($P < 0.01$): معنی داری نسبت به گروه کنترل

بحث

استفاده از روش‌های کشت سلولی یکی از روش‌های بررسی سریع تأثیر داروهای مختلف بر روی سلول‌های سرطانی و نرمال می‌باشد. در این مطالعه از داروی سیکلوفسفامید جهت القای سمیت سلولی به عنوان مدل و عصاره گیاه شنبلیله به عنوان یک ترکیب محافظت کننده سلولی در مقابل آسیب‌های ایجاد شده بر سلول‌ها در فضای کنترل شده استفاده گردید. روش کشت سلولی می‌تواند به شناسایی دقیق‌تر مکانیسم‌ها و اثرات بیولوژیکی ترکیبات مختلف و هم‌چنین اثرات آن‌ها بر فاکتورهای متفاوت داخل سلولی کمک نماید. این امکانات شناسایی هر چه بهتر فرایندها و فعل و انفعالات داخل سلولی طی دوره دارو درمانی سرطان را ممکن می‌سازد که می‌تواند به ارتقاء روش‌های درمانی منجر گردد (9، 10). به‌هرحال یکی از مهم‌ترین کاندیدای سنتز داروهای ضد سرطان به‌منظور مصرف در شیمی درمانی سرطان‌ها، ترکیبات دارای اثرات سمی و خصوصاً سمیت سلولی هستند که امروزه سمیت سلولی آن‌ها با استفاده از روش‌های سنجش سمیت بر روی کشت سلولی و بافتی قابل اندازه‌گیری می‌باشد. از سوی دیگر، امروزه ترکیبات با منشأ طبیعی (گیاهی، حیوانی، معدنی) به‌علت فراوانی، عوارض جانبی و تداخلات دارویی کم‌تر، ارزان بودن و...، کانون توجه داروسازان و پزشکان به‌منظور سنتز داروهای نوین و درمان بیماری‌ها (خصوصاً بیماری‌هایی که درمان و رژیم دارویی قطعی با اثربخشی کافی برای آن‌ها وجود ندارد) می‌باشد.

در این مطالعه، اثر سمیت سلولی و اثر محافظتی عصاره گیاه شنبلیله بر رده‌های سلولی سرطانی SKOV3 و نرمال مورد بررسی قرار گرفت. با توجه به نتایج حاصله (جداول و نمودارها) میزان اثر مهاری سلولی (IC50) در گروه دریافت کننده سیکلوفسفامید نسبت به گروه دریافت کننده سیکلوفسفامید و شنبلیله مربوط به

رده سلولی SKOV3 به طور معنی‌داری کم‌تر می‌باشد که بیان‌گر اثر محافظتی عصاره شنبلیله بر سمیت ایجاد شده توسط داروی سمی سیکلوفسفامید می‌باشد. هم‌چنین میزان IC50 در گروه دریافت کننده سیکلوفسفامید و شنبلیله مربوط به رده سلولی نرمال نیز به طور معنی‌داری کاهش داشت که نشان‌دهنده اثر محافظتی عصاره شنبلیله بر سمیت ایجاد شده در این رده سلولی نیز می‌باشد.

داروی سیکلوفسفامید به‌عنوان دارویی پذیرفته شده است که به‌طور وسیعی در درمان سرطان‌های کولون، کبد، سر و گردن، بیضه، رحم و... به کار می‌رود. مکانیسم سمیت این دارو بر روی سلول‌ها به دلیل ایجاد عامل آلکیل‌کنندگی می‌باشد (11). ایجاد رادیکال‌های آزاد به دنبال متابولیسم شدن این ترکیب نیز علاوه بر عوامل آلکیل‌کننده وجود دارد که می‌تواند منجر به ایجاد استرس اکسیداتیو در سلول و مرگ آن شود (12). گیاهان دارویی به‌دلیل عوارض جانبی کم‌تر، دسترسی آسان، قیمت ارزان و اثرات سمی اندک به عنوان جایگزین بسیار مناسب برای داروهای شیمیایی می‌باشند. گیاه شنبلیله به سبب اثرات درمانی گسترده و مطالعات بسیار کم در زمینه تأثیر این گیاه بر سمیت‌های القایی، مورد توجه محققان می‌باشد. بر اساس تحقیقات انجام شده این گیاه دارای ترکیبات مختلف شامل آلکالوئیدهای تری گونلین (Trigonelline)، جنتیانین (Gentianine) و کارپائین (Carpaine)، فلاونوئیدهای اورینتین (Orientin)، لوتئولین (Luteolin) و ویسنتین (Vicentin)، استروئیدهای ساپونین و ویتامین‌های A و C و املاح آهن و کلسیم می‌باشد (7، 6). اثرات محافظتی ترکیبات فوق بر کاهش التهاب و کاهش میزان رادیکال‌های آزاد و آپوپتوز سلولی مشخص شده است (13). تحقیقات انجام گرفته هم‌چنین اثرات ضد دیابتی و کاهش‌دهنده میزان چربی خون توسط ترکیبات فوق را به اثبات رسانده است (14، 17). با توجه

هوموستازی گلوکز در دیابت تیپ 1 و 2 را به طور معنی داری از طریق تاخیر در هضم و جذب کربوهیدرات بهبود می بخشد که می تواند تقلید عملکرد انسولین باشد. در مطالعه ما نیز با همین فرض، عصاره می تواند اثرات محافظتی بر روی سلول نرمال داشته باشد (5).

به طور کلی نتایج این مطالعه نشان داد که عصاره آبی شنبلیله باعث کاهش میزان سمیت القایی ناشی از داروی سیکلوفسفامید در محیط برون تنی می گردد. کاهش سمیت می تواند ناشی از کاهش میزان رادیکال های آزاد، افزایش انتقال گلوکز به داخل سلول و یا اتصال به ترکیبات واسطه سمی باشد.

در این مطالعه، اثر سمیت سلولی و اثر محافظتی عصاره گیاه شنبلیله بر رده های سلولی سرطانی SKOV3 و نرمال مورد بررسی قرار گرفت. به طور کلی و با توجه به نتایج (جداول، نمودارها)، عصاره گیاه شنبلیله دارای اثرات محافظتی معنی داری بر روی سمیت این دو رده سلولی داشته است. این که کدام یک از ترکیبات موجود در عصاره دارای بیش ترین و یا بهترین اثر را در این مسیر دارا بوده است، نیاز به مطالعات بیش تری می باشد.

سپاسگزاری

نویسندگان مراتب تشکر خود را از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مازندران، به دلیل تامین هزینه این طرح (با شماره 1971) اعلام می دارند. این مقاله حاصل پایان نامه خانم نیلوفر پورفولادچی، دانشجوی دکتری داروسازی دانشکده داروسازی واحد پردیس خودگردان بوده است.

References

1. DeSantis CE, Lin CC, Mariotto AB, Siegel RL, Stein KD, Kramer JL, et al. Cancer treatment and survivorship statistics, 2014. CA Cancer J Clin 2014; 64(4): 252-271.
2. Carvalho M, Ferreira PJ, Mendes VS, Silva R, Pereira JA, Jerónimo C, et al. Human cancer cell antiproliferative and antioxidant activities of Juglans

به به تحقیقات جدید بر روی این گیاه و مواد موثره موجود در آن، مشخص شده است که بسیاری از ترکیبات موجود در عصاره این گیاه مانند تری گونلین (Trigonelline) دارای اثرات مهاري رادیکال های آزاد بوده و از استرس اکسیداتیو جلوگیری می نمایند (18). بنابراین به نظر می رسد که این گیاه با مکانیسم مهاري گونه های فعال اکسیژن (ROS) و کاهش رادیکال های آزاد از طریق جارو کردن آن ها در سلول و یا افزایش میزان آنتی اکسیدان های سلولی بتواند به سلول در کاهش سمیت القاء شده توسط سیکلوفسفامید کمک نماید. البته در این خصوص که کدام مسیر بیش تر می تواند در کاهش سمیت، موثر باشد، مطالعات بیش تری می بایست صورت پذیرد.

علت اختلاف معنادار میزان IC50 داروی سیکلوفسفامید با عصاره گیاه شنبلیله بر خطوط سلولی مورد ارزیابی، می تواند ناشی از وجود ترکیبات مختلف در عصاره گیاه شنبلیله باشد که توانائی وارد شدن به این فاز را دارند. وجود ترکیبات مؤثره گوناگون در گیاهان می تواند سبب بروز تداخل بین این ترکیبات و داروهای سنتتیک شیمیائی گردد. اتصال مستقیم ترکیبات موجود در عصاره با داروی سیکلوفسفامید و کاهش میزان سمیت این دارو، فرضیه پیشنهادی دیگری است که می تواند مطرح باشد، ولی نیاز به انجام تحقیقات بیش تر جهت اثبات آن می باشد.

Hannan در سال 2006 در مطالعه ای اثرات ضد دیابتی فیبرهای خوراکی محلول (Soluble Dietary Fibre) گیاه شنبلیله را مورد بررسی قرار دادند که مشخص شد میزان 50mg/kg از بخش هوایی گیاه، به طور معنی داری تحمل به گلوکز را افزایش داد و

- regia L. Food Chem Toxicol 2010; 48(1): 441-447.
3. Chevallier A. Encyclopedia of medicinal plants. Dorling kindersley pty limited, St Leonards. New South Wales. 1996.
 4. Jelodar G, Mohsen M, Shahram S. Effect of walnut leaf, coriander and pomegranate on blood glucose and histopathology of pancreas of alloxan induced diabetic rats. Afr J Tradit Complement Altern Med 2007; 4(3): 299-305.
 5. Hannan J, Rokeya B, Faruque O, Nahar N, Mosihuzzaman M, Khan AA, et al. Effect of soluble dietary fibre fraction of *Trigonella foenum graecum* on glycemic, insulinemic, lipidemic and platelet aggregation status of Type 2 diabetic model rats. Journal of ethnopharmacology 2003; 88(1): 73-77.
 6. Xue WL, Li XS, Zhang J, Liu YH, Wang ZL, Zhang RJ. Effect of *Trigonella foenum-graecum* (fenugreek) extract on blood glucose, blood lipid and hemorheological properties in streptozotocin-induced diabetic rats. Asia Pac J Clin Nutr 2007; 16(S1): 422-426.
 7. Yadav M1, Lavania A, Tomar R, Prasad GB, Jain S, Yadav H. Complementary and comparative study on hypoglycemic and antihyperglycemic activity of various extracts of *Eugenia jambolana* seed, *Momordica charantia* fruits, *Gymnema sylvestre*, and *Trigonella foenum graecum* seeds in rats. Appl Biochem Biotechnol 2010; 160(8): 2388-400.
 8. Shokrzadeh M, Keshavarz-Maleki R, Haghi-Aminjan H, Masoumi S, Yazdani-Charati J. Subacute and subchronic toxicity effects of the *Stachys lavandulifolia* water extract in rat. J Mazandaran Univ Med Sci 2014; 23(108): 69-75(Persian).
 9. Shokrzadeh M, Parvareh A, Shahani S, Habibi E, Zalzar Z. Cytotoxic Effects of *Lagenaria siceraria* Standl. Extract on Cancer Cell Lin. J Mazandaran Univ Med Sci 2013; 22(97): 225-230(Persian).
 10. Shokrzadeh M, Saeedi Saravi S, Mirzayi M. Cytotoxic effects of ethyl acetate extract of *Sambucus ebulus* compared with etoposide on normal and cancer cell lines. Pharmacognosy Magazine 2009; 5(20): 316-319.
 11. Ahmed AR, Hombal SM. Cyclophosphamide (Cytosan): a review on relevant pharmacology and clinical uses. J Am Acad Dermatol 1984; 11(6): 1115-1126.
 12. Fraiser LH, Kanekal S, Kehrler JP. Cyclophosphamide toxicity. Characterising and avoiding the problem. Drugs 1991; 42(5): 781-795.
 13. Ilavenil S, Kim DH, Jeong YI, Arasu MV, Vijayakumar M, Prabhu PN, et al. T Trigonelline protects the cardiocyte from hydrogen peroxide induced apoptosis in H9c2 cells Asian Pac J Trop Med 2015; 8(4): 263-268.
 14. Yoo G, Allred CD. The estrogenic effect of trigonelline and 3, 3-diindolymethane on cell growth in non-malignant colonocytes. Food Chem Toxicol 2016; 87: 23-30.

15. Kamble HV, Bodhankar SL. Antihyperglycemic activity of trigonelline and sitagliptin in nicotinamide-streptozotocin induced diabetes in Wistar rats. *Biomedicine & Aging Pathology* 2013; 3(3): 125-130.
16. Ghule AE, Jadhav SS, Bodhankar SL. Trigonelline ameliorates diabetic hypertensive nephropathy by suppression of oxidative stress in kidney and reduction in renal cell apoptosis and fibrosis in streptozotocin induced neonatal diabetic (nSTZ) rats. *Int Immunopharmacol* 2012; 14(4): 740-748.
17. Ilavenil S, Arasu MV, Lee JC, Kim DH, Roh SG, Park HS, et al. Trigonelline attenuates the adipocyte differentiation and lipid accumulation in 3T3-L1 cells. *Phytomedicine* 2014; 21(5): 758-765.
18. Vellai RD, Chandiran S, Pillai SS. GTF-231, a Mixture of Gymnemic Acid, Trigonelline and Ferulic Acid Significantly Ameliorates Oxidative Stress in Experimental Type 2 Diabetes in Rats. *Can J Diabetes* 2017; 1499-2671(16)30841-3.