

بررسی مقایسه‌ای اثر ضد جهشی و ضد سرطانی بخش‌های رویشی و زایشی بارهنگ کبیر (*Plantago major*) در دو منطقه لنگرود (گیلان) و حصارک (کرج)

صدیقه مهربان^۱، احمد مجد^۲، راضیه دانا^۳

۱- استاد گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه تربیت معلم.

۲- استاد گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال.

۳- کارشناس ارشد گروه زیست شناسی دانشکده علوم دانشگاه تربیت معلم، R_dana@yahoo.com

چکیده

با شیوع بسیار زیاد سرطان در ایران و جهان، نیاز به داروهایی با عوارض جانبی کمتر و اثرات درمانی بهتر مورد توجه پژوهش‌گران قرار گرفته شده است. به طوری که امروزه بیش از ۶۰٪ ترکیبات ضد سرطانی برای درمان بیماران سرطانی از منابع گیاهی، دریایی و میکروارگانیسم‌ها بدست می‌آیند. گیاه بارهنگ کبیر (*Plantago major*) با خواص درمانی گسترده در طب سنتی، حاوی متابولیت‌های ثانویه‌ای چون ترکیبات فنلی (مشتقات کافئیک اسید)، فلاونوئیدها، آلکالوئیدها، تریپنوئیدها و ویتامین C در درمان بیماری‌های پوستی، اندام‌های تنفسی، اندام‌های گوارشی، گردش خون، پیش‌گیری از سرطان، ممانعت از تشکیل تومور، درمان زخم و عفونت‌ها می‌باشد. هدف از این پژوهش بررسی مقایسه‌ای اثر ضد جهشی و ضد سرطانی عصاره متانولی بخش‌های رویشی و زایشی گیاه بارهنگ می‌باشد. در این بررسی از عصاره‌های بخش‌های رویشی (برگ و ریشه) و زایشی (گل آذین) گیاه جمع‌آوری شده از دو منطقه، استفاده شد. آزمون تعیین توان ضد جهشی بر اساس روش پیشنهادی پروفیسور ایمز و همکاران با استفاده از سوبه جهش یافته سالمونلا تیفی موریوم TA۱۰۰ و ماده سرطان‌زای شناخته شده (آزید سدیم) انجام گرفت. هم‌چنین با افزودن میکروزوم کبد موش اثر ضد سرطانی عصاره‌ها به اثبات رسید. در هر آزمون از یک شاهد مثبت (آزید سدیم) و یک شاهد منفی (آب مقطر) استفاده شد. نتایج به دست آمده مشخص نمود که عصاره متانولی گل آذین و برگ بارهنگ کبیر در هر دو منطقه لنگرود و حصارک در حضور S_۱ و بدون S_۱ با درصد مهار بیش از ۴۰٪ بازدارندگی جهش قوی نشان داده و ریشه با درصد مهار بین ۳۵ تا ۴۰ مهار متوسط نشان داد. نتایج به دست آمده از این تحقیق حاکی از آن است که بارهنگ کبیر (بخش‌های رویشی و زایشی) با داشتن خاصیت ضد جهشی و ضد سرطانی، گیاه دارویی با ارزشی است و مقایسه عصاره بارهنگ دو منطقه لنگرود و حصارک، تأثیر شرایط محیطی در میزان ساخت ترکیبات آنتی‌اکسیدان را در گیاه نشان می‌دهد.

کلید واژه: عصاره متانولی گیاه بارهنگ کبیر، سالمونلا تیفی موریوم، اثر ضد جهش زایی، اثر ضد سرطانی.

مقدمه

در اواخر دهه ۱۹۶۰ انجام شد. آن‌ها
Podophyllotoxin و مشتقات آن به عنوان عوامل

استفاده از ترکیبات گیاهی به عنوان عوامل ضد
سرطانی برای اولین بار توسط Hartwell و همکارانش

بارهنگ کبیر با نام علمی *Plantago major L.* از خانواده *Plantaginaceae*، دارای مصارف دارویی از جمله، درمان بیماری های پوستی، ناراحتی های تنفسی، گوارشی، گردش خون، پیش گیری از سرطان، ممانعت از تشکیل تومور، درمان زخم و عفونت ها و غیره است (۹ و ۸). بارهنگ کبیر با داشتن ترکیباتی مانند ترکیبات فنلی (مشتقات کافئیک اسید)، فلاونوئیدها، آلکالوئیدها، ترپنوئیدها و ویتامین C، گیاه دارویی مهمی محسوب می شود. ترکیب اصلی فلاونوئیدی در گونه های *Plantago Luteolin 7-glucoside* است که در پیش گیری و مهار سرطان نقش دارد (۱۰ و ۹). تری ترپنوئیدهای جدا شده از موم برگگی عبارتند از *Oleonolic acid*، *ursolic acid* است که این دو ماده اثر مهارکننده بر پیشرفت تومور را بر عهده دارند (۹). مشتق اصلی کافئیک اسید در بارهنگ کبیر *Plantamajoside* و *Actoside* است (۱۱). بارهنگ کبیر دارای آلکالوئیدهایی است که تحت عنوان *Indican* و *Plantagonin* نام گذاری نموده اند (۹). بررسی هایی که با استفاده از میکروسکوپ الکترونی بر روی بخش میکروزومی انجام شده نشان می دهد که میکروزومها از قطعاتی از سیستم واکوئلی و نیز قطعات شبکه آندوپلاسمی صاف و زبر و دستگاه گلژی ساخته شده اند و در یاخته های زنده و سالم دیده نمی شوند بلکه ضمن خرد کردن یاخته ها، لوله ها و کیسه های شبکه آندو پلاسمی شکسته و قطعات غشایی شبکه به سرعت حفره های میکروزومی را بوجود می آورند. در غشای میکروزومها نوعی هموپروتئین به نام سیتوکروم P_{450} وجود دارد. این هموپروتئین در یاخته های کبدی بیش از سایر یاخته ها وجود دارد و مقدار آن ضمن تیمار جانوران با عوامل القایی مختلف، تغییر می کند. سیتوکروم P_{450} به صورت یک اکسیداز انتهایی عمل می کند و عامل ضد سمی در کبد است و عوامل زیان بار

ضد سرطانی استفاده کردند (۱). با شیوع بسیار زیاد سرطان در ایران و جهان، نیاز به داروهایی با عوارض جانبی و تداخلات دارویی کمتر و اثرات درمانی بهتر از طرف پژوهش گران مورد توجه قرار گرفته است. به طوری که امروزه بیش از ۶۰ درصد ترکیبات ضد سرطانی برای درمان بیماران سرطانی از منابع گیاهی، دریایی و میکروارگانیسم ها بدست می آیند (۳، ۲ و ۱). هم چنین به علت علاقه وافر مردم و مصرف روزافزون داروهای گیاهی و اهمیتی که این بخش از منابع طبیعی ایران از نظر اقتصادی و درمانی دارد، ضرورت تحقیق در زمینه اثرات درمانی گیاهان دارویی آشکار است. امروزه برای سنجش فعالیت ضد جهشی ترکیب های مختلف از باکتری ها استفاده می شود که در زمانی کوتاه نتایج عالی ارائه می دهند. یکی از روش های سنجش ترکیب های بازدارنده جهش در باکتری ها، کاربرد روش ایمز (Ames) است. ایمز و همکارانش در سال ۱۹۷۵ فعالیت ضد جهشی و ضد سرطانی ترکیبات مختلف را مورد بررسی قرار دادند. در این روش از سویه های سالمونلایی که بر اثر موتاسیون قدرت سنتز هیستیدین را از دست داده اند، استفاده می شود. این سوش ها در مقابل ماده سرطانزا در محیط فاقد هیستیدین، جهش برگشتی در جهت سنتز هیستیدین خواهند داشت (۵ و ۴). در روش ایمز سویه های جهش یافته سالمونلا تیفی موریوم برای شناسایی ترکیبات ضد جهشی به طور گسترده استفاده می شود (۶). سویه های جهش یافته سالمونلایی دارای جهش هایی از نوع تغییر قالب (fram-shift) یا جانشینی جفت بازی هستند. سویه TA100 استفاده شده در این پژوهش دارای جهش از نوع جانشینی جفت بازی است (۷). سویه های جهش یافته سالمونلا به علت جهش ایجاد شده، در محیط حداقل (فاقد هیستیدین) توانایی رشد نداشته (اکزوتروف) و هیستیدین منفی هستند. همه ی بخش های رویشی و زایشی (ریشه، ساقه و دانه) گیاه

جهش rfa: سوش مورد نظر برای حساسیت به کریستال ویوله آزمایش شد. به این منظور یک دیسک (فیلتر) کاغذی استریل آغشته به کریستال ویوله را در سطح پلیت کشت شده با سالمونلا تیفی-موریوم (TA100) قرار داده، بعد از ۲۴ ساعت قطر هاله مهار رشد سنجیده شد.

جهش uvrB: جهش uvrB با نشان دادن حساسیت به UV در سوش TA100 حامل این جهش تأیید شد.

فاکتور R: سوش TA100 به طور معمول برای وجود فاکتور مقاومت به آمپی‌سیلین مورد آزمایش قرار گرفت. این آزمایش تنها نشانه ای مناسب برای کسب اطلاع در زمینه وجود پلاسمید است.

آزمون اثر ضد جهشی عصاره متانولی ریشه، گل آذین و برگ بارهنگ کبیر با استفاده از سالمونلا تیفی موریوم

مرحله اول این آزمون، شامل آمیختن ماده مورد آزمایش به ۰/۵ میلی لیتر کشت تازه شبانه سالمونلا تیفی-موریوم (TA100) و ۰/۱ میلی لیتر محلول هیستیدین-بیوتین در لوله آزمایش محتوی تاپ آگار است. سپس محتویات این لوله را پس از ۳ ثانیه تکان دهی (در shaker)، به طور یک نواخت در سطح محیط آگار حداقل گسترده و بعد از سفت شدن آگار به مدت ۴۸ ساعت در دمای C ۳۷^o قرار می‌گیرد (برای هر عصاره مورد آزمایش ۳ پلیت در نظر گرفته می‌شود). شاهد منفی حاوی باکتری و آب مقطر استریل است و شاهد مثبت نیز شامل باکتری و سدیم آزید می‌باشد. پس از ۴۸ ساعت انکوباسیون، کلنی‌های برگشت یافته در پلیت‌های شاهد شمارش می‌گردند. در این آزمون عصاره‌های متانولی گل آذین، برگ و ریشه گیاهان بارهنگ کبیر در دو منطقه حصارک و لنگرود مورد مطالعه و آزمایش قرار گرفت.

آزمون فعالیت ضد جهشی عصاره‌ها با استفاده از میکروزوم کبد موش (S₉)

و تعدادی از مواد دارویی را از طریق اکسیداسیون و نیز هورمون‌های استروئیدی را با هیدروکسیلاسیون غیر فعال می‌سازد (۱۲). فعالیت متابولیکی برخی ترکیبات در حضور عصاره میکروزومی، در جهت مهار جهش تقویت می‌شود. بنابراین استفاده از عصاره میکروزومی به منظور بررسی فعالیت ضدسرطانی عصاره‌های گیاهی در بدن و برقراری ارتباط بین سیستم پروکاریوتی با سیستم یوکاریوتی ضروری است. با توجه به فراوانی گیاه بارهنگ و استفاده متداول از آن در کشور، پژوهش حاضر با هدف بررسی مقایسه خواص ضد جهشی عصاره‌های متانولی با استفاده از روش ایمز و سپس بررسی خواص ضد سرطانی ناشی از خواص ضد جهشی آن با استفاده از عصاره کبد موش آزمایشگاهی تدوین و انجام شده است

مواد و روش‌ها

عصاره گیری و نمونه برداری گیاه

به منظور بررسی فعالیت ضد سرطانی بارهنگ کبیر و تأثیر شرایط محیطی بر روی میزان و نوع ترکیبات ضد سرطانی موجود در گیاه، جمع آوری بخش‌های ریشه، برگ و گل آذین در دو منطقه حصارک (کرج) و لنگرود (گیلان) انجام شد. نمونه‌ها در ساعات اولیه صبح فصل پاییز جمع آوری شدند. پس از شستشوی اولیه، نمونه‌ها در دمای اتاق و دور از نور مستقیم خورشید خشک و به وسیله آسیاب برقی پودر شده، سپس با استفاده از روش تندالیزاسیون استریل شده و با استفاده از متانول ۸۰٪، عصاره‌های متانولی ریشه، برگ و گل آذین گیاه بارهنگ کبیر تهیه شدند (۱۳).

باکتری مورد آزمایش

باکتری مورد استفاده، باکتری سالمونلا تیفی موریوم TA100 است که مستقیماً از پروفیسور ایمز دریافت شد. **آزمون‌های تأیید سوش مورد آزمایش (TA100)** برای تأیید سوش در تمامی آزمون‌های زیر از کشت تازه شبانه استفاده شد.

جهت تهیه S₉ از کبدرت نر استفاده می‌شود. با شستشوی کبد موش در محلول استریل و سرد کلرید پتاسیم ۰/۱۵ مولار و سانتریفوژ کردن، محلول S₉ تهیه گردید (۴). این آزمون نیز مرکب از آمیختن ماده‌ی آزمایشی، سوش باکتری آزمایشی، محلول هیستیدین - بیوتین و مخلوط S₉ در لوله آزمایش محتوی تاپ آگار بوده، که در سطح محیط آگار حداقل گسترده شده است. در این آزمون نیز شاهد مثبت و منفی در نظر گرفته می‌شود و پس از ۴۸ ساعت انکوباسیون در دمای درجه سانتی گراد ۳۷ کلی‌های برگشت یافته، شمارش می‌شوند.

محاسبه درصد بازدارندگی جهش توسط عصاره ها

مقدار درصد بازدارندگی از جهش با استفاده از فرمول $S = (1 - T/M) \times 100$ محاسبه می‌شود (۱۴). در این فرمول S مقدار درصد بازدارندگی از جهش، T تعداد کلی‌های برگشتی در هر پلیت در حضور عامل جهش‌زا و عصاره و در نهایت M تعداد کلی‌های برگشتی در هر یک از پلیت‌های شاهد مثبت می‌باشند (تعداد کلی‌های برگشتی خود به خودی در شاهد منفی باید از صورت و مخرج کسر کاسته شود).

تحلیل آماری

بررسی آماری این پژوهش با استفاده از نرم افزار SPSS و تحلیل واریانس یک عاملی (One -Way Anova) و نیز رسم نمودار با استفاده از نرم افزار Excel انجام شد.

نتایج

تأیید سوش باکتری

نتایج تأیید ژنوتیپ سوش سالمونلاتیفی موریوم TA100 حاکی از آن است که این سوش کاملاً جهش یافته بوده و جهت انجام آزمون‌های ضد جهشی عصاره‌های گیاهی مناسب است (جدول ۱). جهش rfa سبب فقدان جزئی لیپو پلی ساکاریدهای پوشش سطحی باکتری می‌شود و در نتیجه باکتری به کریستال ویوله نفوذپذیر شده و حضور کریستال ویوله در محیط سبب مرگ باکتری می‌شود. جهش uvrB نشان‌دهنده جهش در ژن‌های تعمیر یافته DNA در اثر آسیب UV می‌باشد. با تاباندن UV و قرار دادن نمونه در تاریکی، باکتری قادر به تعمیر بخش آسیب دیده نخواهد بود و بخشی که در معرض UV بوده، باکتری‌ها رشد نمی‌کنند. پلاسمید R در سویه TA100 دارای ژن مقاومت به آمپی‌سیلین است و در حضور دیسک آمپی‌سیلین، باکتری رشد می‌نماید.

بررسی اثر ضد جهشی بارهنگ کبیر در حضور S₉ و بدون S₉ با استفاده از سالمونلا تیفی موریوم در دو منطقه لنگرود و حصارک

نتایج به دست آمده از تأثیر عصاره‌های متانولی گل آذین، برگ و ریشه بر جهش‌زایی سدیم آزید در غیاب S₉ نشان داد که تعداد کلی‌های برگشتی در حضور عصاره‌های گل آذین، برگ و ریشه (به ترتیب:

جدول ۱- مشخصات ژنوتیپی سویه های سالمونلا تیفی موریوم TA ۱۰۰

پلاسمید R- Factor	جهش UvrB	جهش rfa	سویه مورد آزمایش
+	+	+	سالمونلا تیفی موریوم TA۱۰۰

۳۷۵، ۷۲۸، ۱۵۴۸) در مقایسه با تعداد کلنی‌های برگشتی در پلیت شاهد مثبت (۲۰۷۳)، کمتر است. هم چنین محاسبه درصد مهار جهش عصاره‌ها با استفاده از فرمول Ong (1986) نشان داد که عصاره گل آذین و ریشه به ترتیب با درصد مهار ۹۶/۸۳ و ۴۰/۲۲، بیش ترین و کم ترین درصد مهار را جهش داشتند و عصاره برگ با درصد مهار ۷۹/۸ درصد مهار جهش کمتری نسبت به گل آذین نشان داد (جدول ۲). به همین ترتیب درصد مهار جهش عصاره گل آذین، تفاوت معنی داری با درصد مهار جهش عصاره برگ و ریشه دارد ($P < 0/001$). نتایج بررسی عصاره‌ها در حضور S_9 نشان دادند که تعداد کلنی‌های برگشتی در حضور عصاره های گل آذین، برگ و ریشه (به ترتیب: ۳۷۴، ۷۳۶، ۱۵۱۷) در مقایسه با تعداد کلنی‌های برگشتی در شاهد مثبت (۲۰۲۴)، کمتر است و نیز درصد مهار جهش عصاره‌های گل آذین، برگ و ریشه به ترتیب از بیش ترین به کم ترین شامل ۹۵/۳۶، ۷۷/۶۳، ۳۹/۶۵ است (جدول ۲). بررسی آماری فعالیت ضد جهشی و ضد سرطانی نشان می دهد که بین نتایج استفاده از S_9 و عدم استفاده از S_9 ، تفاوت معنی داری وجود ندارد ($P < 0/05$). بنابراین عصاره‌های استفاده شده منطقه

لنگرود در غیاب S_9 و در حضور S_9 ، فعالیت ضد جهشی و ضد سرطانی یکسانی دارند.

نتایج بررسی اثر ضد جهشی و ضد سرطانی عصاره‌های گل آذین، برگ و ریشه گیاهان منطقه حصارک

نتایج به دست آمده از تأثیر عصاره‌های متانولی گل آذین، برگ و ریشه بر جهش‌زایی سدیم آزید در غیاب S_9 نشان داد که تعداد کلنی‌های برگشتی در حضور عصاره‌های گل آذین، برگ و ریشه (به ترتیب: ۳۸۳، ۴۸۱، ۱۵۹۰) در مقایسه با تعداد کلنی‌های برگشتی پلیت شاهد مثبت (۲۰۷۳)، کمتر بود (جدول ۳). هم چنین محاسبه درصد مهار جهش عصاره‌ها با استفاده از فرمول Ong (1986) نشان داد که عصاره گل آذین و برگ به ترتیب با درصد مهار جهش ۹۶/۳۹ و ۹۱/۶۸ بیش ترین و ریشه با درصد مهار جهش ۳۸/۱۶ کم ترین درصد مهار جهش را داشتند (جدول ۳). درصد مهار جهش عصاره گل آذین تفاوت معنی داری با درصد مهار جهش عصاره برگ ($P < 0/05$) و ریشه ($P < 0/001$) نشان داد. نتایج بررسی تأثیر عصاره‌ها در حضور S_9 نشان دادند که تعداد کلنی‌های برگشتی در حضور عصاره‌های گل آذین، برگ و ریشه (به ترتیب: ۳۸۲، ۵۲۰، ۱۶۰۹) در مقایسه با

جدول ۲- نتایج بررسی اثر ضد جهشی و ضد سرطانی عصاره‌های گل آذین، برگ، ریشه گیاهان منطقه لنگرود با استفاده از سالمونلا تیفی موریوم TA 100 - (بدون S_9)، S_9 (+ حضور S_9).

سالمونلا تیفی موریوم TA 100 (+ S_9)		سالمونلا تیفی موریوم TA 100 (- S_9)		عصاره‌های متانولی
درصد مهار جهش	میانگین تعداد کلنی‌های برگشتی	درصد مهار جهش	میانگین تعداد کلنی‌های برگشتی	
-	۲۹۶	-	۳۰۹	شاهد منفی
-	۲۰۲۴	-	۲۰۷۳	شاهد مثبت
۹۵/۳۶	۳۷۴	۹۶/۸۳	۳۷۵	گل آذین
۷۷/۶۳	۷۳۶	۷۹/۸۰	۷۲۸	برگ
۳۹/۶۵	۱۵۱۷	۴۰/۲۲	۱۵۴۸	ریشه

تعداد کلنی های برگشتی در شاهد مثبت (۲۰۲۴)، کمتر است و نیز درصد مهار جهش عصاره های گل آذین، برگ و ریشه به ترتیب از بیش ترین به کم ترین ۹۵/۷۶، ۸۸/۹۲، ۳۵/۰۸ است. عصاره گل آذین و برگ نسبت به ریشه درصد مهار بیشتری نشان دادند (جدول ۳). بررسی آماری فعالیت ضد جهشی و ضد سرطانی نشان می دهد که بین نتایج استفاده از S_9 و عدم استفاده از S_9 ، تفاوت معنی داری وجود ندارد ($P < 0.05$). بنابراین گیاهان منطقه حصارک نیز مانند گیاهان منطقه لنگرود در غیاب S_9 و در حضور S_9 ، فعالیت ضد جهشی و ضد سرطانی یکسانی دارند.

مقایسه فعالیت ضد جهشی و ضد سرطانی عصاره های گل آذین، برگ و ریشه گیاهان بارهنگ کبیر در دو منطقه لنگرود و حصارک

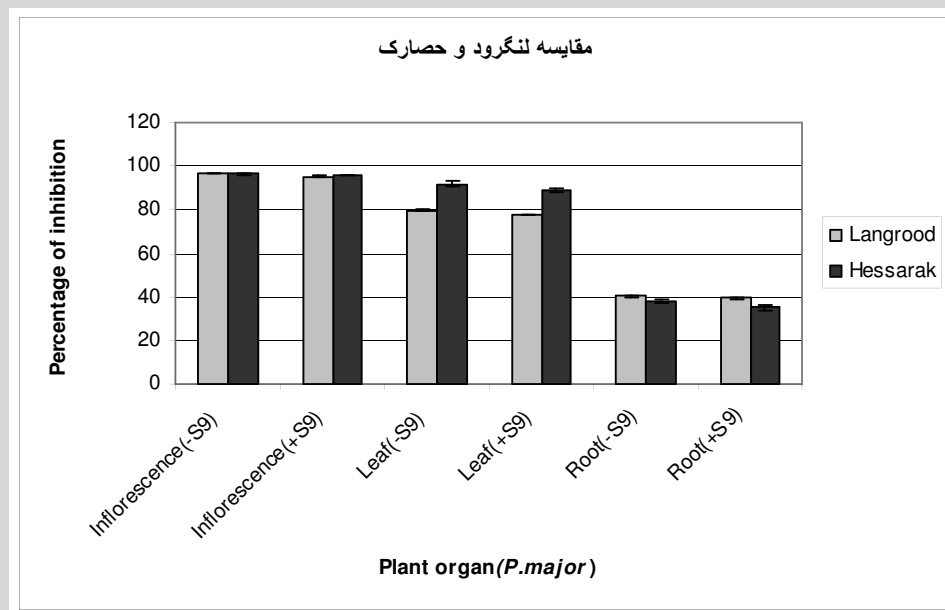
نتایج به دست آمده از بررسی آماری نشان داده است که فعالیت ضد جهشی و ضد سرطانی عصاره های گل آذین و ریشه گیاهان منطقه لنگرود با عصاره های گل -

آذین و ریشه گیاهان منطقه حصارک در حضور S_9 و بدون S_9 ، تفاوت معنی داری ندارند ($P < 0.05$). اما بین عصاره برگ گیاهان منطقه لنگرود در حضور S_9 و بدون S_9 به ترتیب با درصد مهار ۷۹/۸ و ۷۷/۶۳، با عصاره برگ گیاهان منطقه حصارک در حضور S_9 و بدون S_9 به ترتیب با درصد مهار ۹۱/۶۸ و ۸۸/۹۲، تفاوت معنی داری وجود دارد ($P < 0.05$)، به طوری که عصاره برگ گیاهان منطقه حصارک در مقایسه با برگ گیاهان منطقه لنگرود، درصد مهار بیشتری نشان می دهند (نمودار ۱).

در مقایسه میانگین ها در سوش TA ۱۰۰ (بدون S_9 و در حضور S_9) کم ترین میانگین کلنی های برگشت یافته مربوط به شاهد منفی و بیش ترین میانگین کلنی های برگشت یافته مربوط به شاهد مثبت می باشد. پس از آن ها به ترتیب از کم ترین به بیش ترین : شاهد منفی، گل آذین، برگ، ریشه و شاهد مثبت است

جدول ۳- نتایج بررسی اثر ضد جهشی و ضد سرطانی عصاره های گل آذین، برگ، ریشه گیاهان منطقه حصارک با استفاده از سالمونلا تیفی مورיום TA ۱۰۰ (S_9 - بدون S_9)، S_9 + (S_9 حضور S_9).

سالمونلا تیفی مورיום TA ۱۰۰ (+ S_9)		سالمونلا تیفی مورיום TA ۱۰۰ (- S_9)		عصاره های متانولی
درصد مهار جهش	میانگین تعداد کلنی های برگشتی	درصد مهار جهش	میانگین تعداد کلنی های برگشتی	
-	۲۹۶	-	۳۰۹	شاهد منفی
-	۲۰۲۴	-	۲۰۷۳	شاهد مثبت
۹۵/۷۶	۳۸۲	۹۶/۳۹	۳۸۳	گل آذین
۸۸/۹۲	۵۲۰	۹۱/۶۸	۴۸۱	برگ
۳۵/۰۸	۱۶۰۹	۳۸/۱۶	۱۵۹۰	ریشه



نمودار ۱- مقایسه درصد مهار جهش بخش‌های مختلف بارهنگ کبیر در دو منطقه لنگرود و حصارک

این مناطق برای مقابله با شدت نور زیاد، دارای ترکیبات آنتی‌اکسیدان بیشتری نسبت به گیاهان رویش‌یافته در مناطق کم‌ارتفاع هستند (۱۶). بنابراین با توجه به آن که ارتفاع از سطح دریای منطقه حصارک از لنگرود بیشتر می‌باشد، نتایج ما با بررسی‌های Ren و همکارانش درباره‌ی افزایش ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در مناطق با ارتفاع بیشتر، مطابقت دارد. گونه‌های مختلف *Plantago* در مناطق مختلف جهان در درمان سرطان استفاده می‌شوند. Hartwell در بررسی‌هایش در مورد استفاده‌ی انسان از گیاهان در درمان سرطان نشان داد که از گونه‌های مختلف *Plantago* از جمله *Plantago major* استفاده می‌کنند (۱۷). اخیراً نیز گزارش‌های فراوانی مبنی بر استفاده از گونه‌های *Plantago* در طب سنتی، علیه سرطان در کشورهای مختلف جهان از جمله مکزیک و آرژانتین منتشر شده است (۱). Galvez

بحث

در این پژوهش جهش‌یافتگی سالمونلاتیفی موریوم TA۱۰۰ با جدول پروفیسور ایمز که در سال ۱۹۸۳ بر اساس آخرین بررسی‌ها ارایه شده (۴) هم‌سویی نشان داده و سوش TA۱۰۰ تأیید گردید. روش فعالیت ضد جهشی با کاهش تعداد جهش‌های برگشتی در مقایسه با شاهد مثبت رایج در آزمایشگاه‌های سراسر دنیا استفاده می‌شود (۱۵). بررسی جدول نتایج نشان می‌دهد تعداد کلنی‌ها با جهش برگشتی در حضور عصاره‌ها در مقایسه با شاهد مثبت کاهش یافته است که نشان‌دهنده فعالیت ضد جهشی عصاره‌ها می‌باشد. بررسی‌ها نشان داده که گیاهانی که در ارتفاعات می‌رویند با کاهش دما و افزایش تولید گونه‌های اکسیژن آزاد مواجه می‌شوند، افزایش شدت نور نیز سبب افزایش تولید گونه‌های اکسیژن آزاد و آسیب اکسیداتیو سلول‌ها می‌شود. برگ

روش ایمز با نتایج Galves و همکاران (۲۰۰۳) در مورد فعالیت ضد سرطانی عصاره متانولی بخش هوایی بارهنگ کبیر بر لایه های سلول های سرطانی نام برده، هم سویی داشت (۹). مشتقات کافئیک اسید موجود در بارهنگ در شیشه (In vitro) نقش آنتی اکسیدانی داشته و اثر جهش زایی و سرطان زایی ترکیباتی مانند نیتروز آمین را مهار می نمایند (۱۱). بررسی های ما در مهار جهش زایی سدیم آزید با استفاده از عصاره متانولی بخش های رویشی و زایشی بارهنگ کبیر با بررسی های Olthof و همکاران (۲۰۰۰) در مهار جهش زایی ترکیب جهش زای نیتروز آمین به وسیله مشتقات کافئیک اسید موجود در بارهنگ کبیر، مطابقت دارد. در ترکیبات شیمیایی بارهنگ کبیر، ترکیبات فنلی نیز وجود دارند. ترکیبات فنلی به ویژه فلاونوئیدها دارای خواص آنتی اکسیدانی هستند، اما آن ها همه ی جهش هایی را که توسط عوامل جهش زا القاء می شوند، نمی توانند مهار نمایند. بررسی ها نشان داده که ترکیبات فنلی در گیاه علیه تشعشعات UV استفاده می شوند. از این رو، آن ها برای عمل ضد جهشی خود در بدن جانوران دیگر نیازمند ترکیبات فعال متابولیکی هستند (۶). به همین علت در روش ایمز برای بررسی فعالیت ضد سرطانی عصاره های گیاهی از عصاره میکروزومی کبد پستانداران (موش یا انسان) استفاده می شود (۱۹). فعالیت ضد جهشی ترکیبات فنلی با فعالیت آنتی اکسیدانی آن ها همراه می شود، زیرا ترکیبات فنلی سبب مهار آسیب DNA در حضور رادیکال های آزاد می شوند (۶).

و همکارانش در بررسی های خود در مورد *P. major* نشان داد که در جزایر قناری، شیلی، ونزوئلا و پاناما از *P. major* در درمان تومور استفاده می شود (۱۰). در پژوهش حاضر، مشاهدات ما از فعالیت ضد جهشی و ضد سرطانی بخش های مختلف بارهنگ کبیر با مشاهده های Hartwell و Samuelsen در استفاده سنتی بارهنگ کبیر در درمان سرطان مطابقت دارد (۱۷ و ۹). Kanda و همکارانش، فلاونوئیدهای ۸ گونه از *Plantago* را مطالعه نمودند و نشان دادند که Luteolin- 7-O- β -glucoside ترکیب اصلی فلاونوئیدی در بیشتر گونه های *Plantago* است (۱۸). نتایج بررسی های Galves و همکارانش نشان داد که Luteolin- 7-O- β -glucoside به عنوان مولکول ضد سرطان قوی در مهار آدنوکارسینوما ی پستان می باشد. مکانیزم دقیق فعالیت مهاری Luteolin- 7-O- β -glucoside در گونه های *Plantago* به طور دقیق شناخته نشده است. اما به نظر می رسد مهار آسیب DNA که به وسیله توپوایزومرازها وساطت می شود کاندید اصلی عملکرد Luteolin- 7-O- β -glucoside در مهار سرطان باشد (۱۰). Galves و همکاران اثر مهاری عصاره متانولی بخش های هوایی (گل آذین و برگ) گیاه بارهنگ کبیر بر لایه های سلول های سرطانی آدنوکارسینوما ی انسان (MCF-7) و لایه های سلول های سرطانی ملانوما ی انسان (UACC-62) را نشان دادند. نتایج ما درباره ی فعالیت ضد سرطانی عصاره های متانولی بخش های مختلف گیاه بارهنگ کبیر با استفاده از

منابع

1. Srivastava V , Negi A S , Kuma J K R, Gupta M M and Khanuja S P S.(2005) Plant-based anticancer molecules: A chemical and biological profile of some important leads. Bioorganic & Medicinal Chemistry. 13:5892–590.
2. Moller P, Wallin H, Knudsen LE. (1996) Oxidative stress associated psychological stress and life-style factor. Chem Bio Interact. 102:1-36.
3. Namiki M. (1990) Antioxidants/antimutagens in foods. Crit Rev. Food Technol. 29:273-300.
4. Ames B N (1983) Directary carcinogens and anticarcinogens. Science. 221(1983): 1256-1263.
5. Ames B N. (1976) Method for detecting carcinogens and mutagens with the *Salmonella* / mammalian microsomal mutagenicity test. Mutat. Res. 31(1973) : 347-349.
6. The'riault M A, Caillet S A, Kermasha S A, Lacroix M. (2006) Antioxidant, antiradical and antimutagenic activities of phenolic compounds present in maple products. Food Chemistry. 98: 490–501.
7. Gee P, Maron D P and Ames BN. (1994) Detection and classification of mutagens: A soft base-specific *Salmonella* tester strains. Proc. Nad. Acad. Sci. 91: 11606-11610.
8. Chiang LC , Chiang W, Chang MY , Lin LT. (2002) Antiviral activity of *Plantago major* extracts and related compounds in vitro. Antiviral Research .55: 53–62.
9. Samuelsen A B (2000) The traditional uses, chemical constituents and biological activities of *Plantago major* L. A review. Journal of Ethnopharmacology. 71:1–21.
10. Galvez M, Cordero M C, Cortes F and Ayus MY. (2003) Cytotoxic effect of *Plantago spp.* on cancer cells. J. Ethnopharmacology. 88:125-130.
11. Olthof mR, Hollman P C H and Katan M B (2000) Chlorogenic Acid and caffeic acid are absorbed in humans. American Society for Nutritional Sciences
- ۱۲- مجد، احمد و شریعت زاده، سید محمد علی (۱۳۸۴) زیست سلولی مولکولی، انتشارات آبیژ.
13. Motalleb G , Hanachi P. (2005) Evaluation of Phenolic content and total antioxidant activity in *Berberis vulgaris* fruit extracts. J. Biol. Sci. 648-653.
14. Ong T, Ong W Z W, Stewart J D and Brockman H E (1986) Chlorophyllin. A potent antimutagen against environmental and dietary complex mixture. Mutat. Res. 173:111-115.
15. Shamon L A & Pezzuto J M. (1997) Assessment of antimutagenic activity with *Salmonella typhimurium* strain TM677. Methods in science. 19 [Abstract].
16. Ren H X , Wang Z L , Chen X , Zhu Y L. (1999) Antioxidative responses to different altitudes in *Plantago major*. Environmental and Experimental Botany. 42 : 51–59.
17. Hartwell J L. (1982) Plants used against cancer : A survey. Quaterman publications, Lawrence, MA.
18. Kanda S, Wani C, Middleton E. (1994) Free scavenging and antioxidant activity of plant flavonoids. Advances in Experimental. Medicine and Biology. 366:354-376.
19. Thepouyporn A, Kwanbunjan K, Pooudong S and Changbumrung S. (2006) Mutagenicity of study weeds and common plants used in traditional medicine and for animal feed. Mahidol University. 37.

Abstract

Along with increasing cancer all over the world and also in Iran the need for anticarcinogenic medicines with more effects and less side effects seems to attract researchers' attention day by day. Nowadays, however, more than 60% of anticarcinogenic compounds are derived from herbal, marine and micro-organisms resources. *Plantago major L.* with its expanded medical property in traditional medicine has got several secondary metabolites such as: Fenolice compounds (Coffeic acid derivatives) Felavonoids, Alkaloids, Terpenoids and Vitamin C, which can be used in the dermal disease healing, and respiratory, digestive and blood circulation problems therapies. It also can prevent cancer and tumor and infectious wounds. The aim of this study was to compare the anticarcinogenic and antimoutagenic effect of the metanolic extract of vegetative (leaves, roots) and generative (inflorescences) parts of the plant in two different regions: Hesarak and Langerood. The antimoutagenic potential determination experiment was done using Professor Ames and et al. Method on mutagened *Salmonella typhimurium* TA100 and in the presence of a carcinogenic compound, Sodium Azid. Furthermore, by adding rat liver microsome, the anticarcinogenic effect of the extracts was proved. Each experiment included positive control (Sodium Azid+ bacteria) and negative experiment (water + bacteria). The results revealed that the methanolic extracts of the florescences and the leaves of *P.major* in both Langerood and Hesarak region with and without S₉ and inhibition percentage of more than 40% showed strong antimutagenicity and anticarcinogenicity efficiency. However, the root extracts, by less than 40% inhibitory percentage revealed decrease in antimutagenicity and anticarcinogenicity efficiency. It is concluded that the *P.major* by having anticarcinogenic and antimoutagenic properties is a valuable medical plant and finally, comparing the extracts of the plants in both regions showed the effect of environmental conditions in antioxidant production in the plants.

Key words: *Plantago major*, *Salmonella typhimurium*, antimutagenicity, anticarcinogenicity, Ames test.

