

ارزیابی سمیت سلولی عصاره متانولی درمنه دشتی بر رده سلول سرطان سینه انسانی MCF7

بابک گردانیان^۱، ماندانا بهبهانی^{۲*}، ژیرایر کاراپتیان^۱، محمد فضیلتی^۳

^۱ گروه زیست شناسی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران، ^۲ گروه بیوتکنولوژی، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران، ^۳ گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور تهران، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۶/۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۷/۳۰

چکیده

زمینه و هدف: با توجه به مقاومت سلول‌های سرطانی به داروهای شیمیایی و گزارش‌های گوناگون از اثر سمیت گیاه درمنه دشتی بر برخی از سلول‌های سرطانی، هدف این مطالعه ارزیابی سمیت سلولی عصاره متانولی درمنه دشتی بر رده سلول سرطان سینه انسانی MCF7 بود.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی اثر سمیت عصاره متانولی گل، برگ، ساقه و ریشه درمنه دشتی جمع‌آوری شده از دو استان اصفهان و خراسان بر سلول سرطان سینه انسانی رده MCF-7 و سلول نرمال HEK293 بررسی شد. نمونه‌های گیاهی به وسیله حلال متانولی عصاره‌گیری شدند و اثر سمیت آنها بر سلول‌های سرطانی و نرمال در غلظت‌های ۶۲/۵، ۱۲۵، ۲۵۰ و ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر به روش MTT ارزیابی شد. سلول سرطان سینه رده MCF-7 و سلول نرمال HEK293 به ترتیب در محیط کشت RPMI-1640 و DMEM حاوی ۱۰ درصد سرم جنین گاوی کشت داده شدند. داده‌ها با آزمون آماری آنالیز واریانس یک طرفه و تست LSD تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: نتایج حاکی از سمیت عصاره متانولی درمنه دشتی بر سلول MCF7 بود. گیاه منطقه خراسان سمیت سلولی بیشتری نسبت به گیاه منطقه اصفهان نشان داد. IC₅₀ گیاه اصفهان برای تمامی قسمت‌های گیاه بیش از ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر به دست آمد، اما IC₅₀ گیاه منطقه خراسان به ترتیب در برگ و گل $205 \pm 3/1$ و $213 \pm 3/5$ میکروگرم بر میلی‌لیتر محاسبه گردید، همچنین برگ و گل در هر دو مورد دارای بیشترین سمیت سلولی بودند. عصاره گیاهان هر دو منطقه سمیت سلولی قابل توجهی بر سلول نرمال HEK293 نشان ندادند.

نتیجه‌گیری: عصاره متانولی گیاه درمنه دشتی منطقه خراسان نسبت به گیاه منطقه اصفهان سمیت سلولی بیشتری نشان می‌دهد و به نظر می‌رسد شرایط متفاوت محیطی بر سمیت سلولی اندام‌های مختلف گیاه درمنه دشتی نقش قابل توجهی دارد.

واژه‌های کلیدی: درمنه دشتی، تست MTT، سرطان سینه

*نویسنده مسئول: دکتر ماندانا بهبهانی، اصفهان، دانشگاه اصفهان، دانشکده علوم و فناوری‌های نوین، گروه بیوتکنولوژی
Email: ma.behbahani@ast.ui.ac.ir

مقدمه

گیاه در آسیا، اروپا و شمال آمریکا پراکندگی دارد(۸). بیش از ۳۴ گونه از این جنس در ایران گزارش شده است. درمنه دشتی گیاه پایا از منطقه ایرانی-تورانی است و در مرکز، جنوب، شرق، شمال شرق و شرق ایران پراکندگی دارد(۹). درمنه در طب سنتی برای تسکین دردهای مزمن، یرقان، نقرس برونشیت، مالاریا، سیاه سرفه، زخم‌های لته و دهان، درد عصبی، التهاب، سرخک، تب و راش مورد استفاده قرار می‌گرفته است(۱۳ و ۱۴).

هدف این مطالعه ارزیابی سمیت سلولی عصاره متانولی درمنه دشتی بر سلول سرطان سینه انسانی رده MCF7 بود.

روش بررسی

در این مطالعه تجربی، در مهر ماه ۱۳۹۰ گیاه درمنه دشتی از اصفهان و خراسان جمع‌آوری شد. پس از شستشو، در سایه خشک شدند. در زمان جمع‌آوری گیاهان دقت شد تا گیاهان هم سن انتخاب شوند. قسمت‌های مختلف گیاه از جمله، گل، برگ، ساقه و ریشه به صورت جداگانه آسیاب شدند. ۲۰ گرم از پودر اندام‌های مختلف گیاه به صورت جداگانه با حلال متانولی به مدت ۷۲ ساعت بر روی شیکر با دور ۱۸۰ دور بر دقیقه و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند، عصاره‌های به دست آمده به وسیله دستگاه روتاری در شرایط خلاء و در دمای ۴۰ درجه

سرطان سینه و افزایش روز افزون آن یک مشکل عمده در سراسر دنیا می باشد. شیوع سرطان سینه در ایران ۱۷/۴۴ نفر در هر ۱۰۰۰۰۰ نفر گزارش شده است(۱). جراحی و درمان‌های مکمل مانند درمان دارویی، هورمونی، شیمی درمانی و رادیوتراپی از روش‌های درمان سرطان سینه می‌باشند، از بزرگ‌ترین محدودیت‌های داروهای ضد سرطان، مقاومت سلول‌های سرطانی نسبت به دارو است(۲). امروزه داروهای گیاهی به علت عدم عوارض جانبی نسبت به داروهای شیمیایی مورد توجه قرار گرفته‌اند(۳). بالغ بر ۳۵۰۰ سال است که از گیاهان در درمان سرطان استفاده می‌شود(۴). گیاهان زیادی مشخص شده است که در درمان سرطان کاربرد دارند و ۶۰ درصد آنها به صورت طبیعی مورد استفاده قرار می‌گیرند(۵).

با توجه به گزارش‌های قبلی در مورد اثر سمیت برخی از گونه‌های درمنه^(۱) بر سلول‌های سرطانی(۷ و ۶)، در این تحقیق اثر رویشگاه بر سمیت سلولی ۴ اندام (گل، برگ، ساقه و ریشه) گیاه درمنه دشتی^(۲) به صورت تجربی مورد بررسی قرار گرفت، میزان سمیت اندام‌های گفته شده بر رده سلول سرطان سینه MCF7 و سلول نرمال HEK293 ارزیابی شد. درمنه گیاهی است متعلق به خانواده Asteraceae که اکثراً بوته‌ای می‌باشد، بالغ بر ۵۰۰ گونه از این جنس گزارش شده است، که گیاهانی پایا هستند و به صورت پراکنده نواحی استپی را تشکیل می‌دهند، این

1-Artemisia
2-A.sieberi

۲۰ میکرولیتر از غلظت‌های مختلف عصاره‌ها به چاهک‌های مورد نظر از پلیت اضافه گردید، به گونه‌ای که حجم نهایی هر خانه به ۲۰۰ میکرولیتر رسید. دوکسوروبیسین به عنوان کنترل مثبت و محیط کشت حاوی ۰/۵ درصد DMSO (بدون هیچ گونه عصاره‌ای) به عنوان کنترل منفی در نظر گرفته شد، پلیت به مدت ۴۸ ساعت درون انکوباتور CO₂ ۵ درصد و دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید. سپس ۲۵ میکرولیتر محلول MTT ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر (سیگما) به هر چاهک از پلیت اضافه شد و به مدت ۲ ساعت انکوبه گشت، مقدار ۲۰۰ میکرولیتر DMSO به منظور حل کردن کریستال‌های فورمازان جایگزین محلول قبلی شد و جذب در طول موج ۵۶۰ نانومتر به وسیله دستگاه الیزاری (Awareness Technology Inc., stat fax 2100) خوانده شد. برای هر غلظت عصاره، ۳ تکرار تعیین گردید. درصد بقاء سلولی در گروه کنترل منفی ۱۰۰ در نظر گرفته شد و از فرمول مربوطه به دست آمد (۱۵). غلظتی از ترکیبات مورد آزمایش که درصد حیات سلولی را به نصف کاهش می‌دهد به عنوان IC₅₀ لحاظ شد. داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS^(۱) و آزمون آماری آنالیز واریانس یک طرفه^(۲) و آزمون تعقیبی تست LSD تجزیه و تحلیل شدند.

سانتی‌گراد تغلیظ و در نهایت به وسیله دستگاه لیوفیلیز خشک شدند. عصاره‌های حاصل در کمترین مقدار دی متیل سولفوکساید DMSO حل شدند و با توجه به گزارش‌های قبلی غلظت‌های استاندارد ۶۲/۵، ۱۲۵، ۲۵۰ و ۵۰۰ تهیه شدند (۱۵).

رده سلول سرطانی MCF-7 و سلول نرمال HEK293 از بانک سلولی انسیتو پاستور ایران خریداری شدند و به ترتیب در محیط کشت RPMI-1640 و DMEM حاوی ۱۰ درصد سرم جنین گاوی و ۲ میلی‌مولار L-گلوتامین به همراه محلول پنی‌سیلین ۵۰ واحد بر میلی‌لیتر، استرپتومایسن ۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر کشت داده شدند. سپس در انکوباتور CO₂ ۵ درصد (N-Biotek) نگهداری شدند و هر ۳ روز یکبار محیط کشت آنها تعویض گردید (۱۵).

بررسی اثر سمیت سلولی عصاره‌ها با روش رنگ سنجی، با استفاده از 3-(4, 5-dimethylthiazol-2-yl)-2, 5-diphenyl tetrazolium bromide (MTT) انجام شد (۱۶). این روش بر اساس فعالیت آنزیم سوکسینات‌دهیدروژناز میتوکندریایی سلول‌های زنده استوار است که محلول زرد رنگ MTT را به کریستال‌های بنفش رنگ فورمازان تبدیل می‌کند که به وسیله دی متیل سولفوکساید به صورت محلول در می‌آید و هر چه سلول‌ها فعال‌تر و تعدادشان بیشتر باشد میزان رنگ ایجاد شده بیشتر خواهد بود. مقدار ۱۸۰ میکرولیتر سوسپانسیون سلولی در هر چاهک از پلیت ۹۶ چاهکی ریخته شد، به گونه‌ای که هر میکرولیتر از محیط کشت دارای ۱۰^۴ × ۵ سلول باشد، سپس مقدار

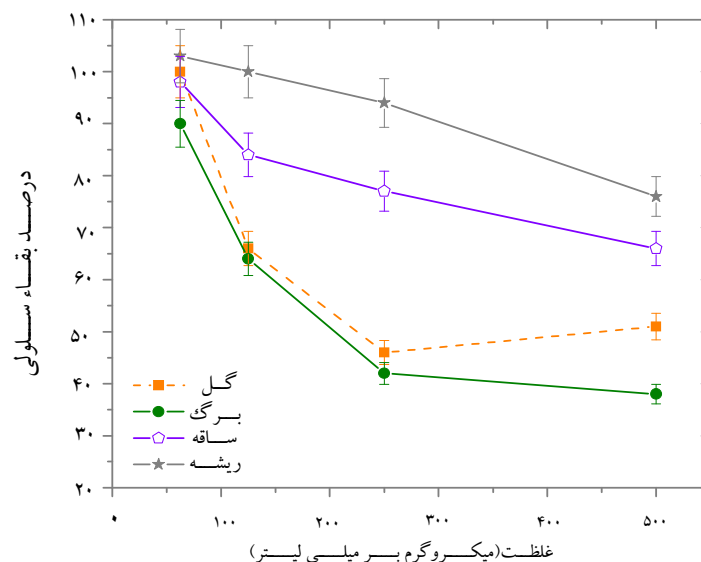
1-Statistical Package for Social Sciences
2-One Way ANOVA

یافته‌ها

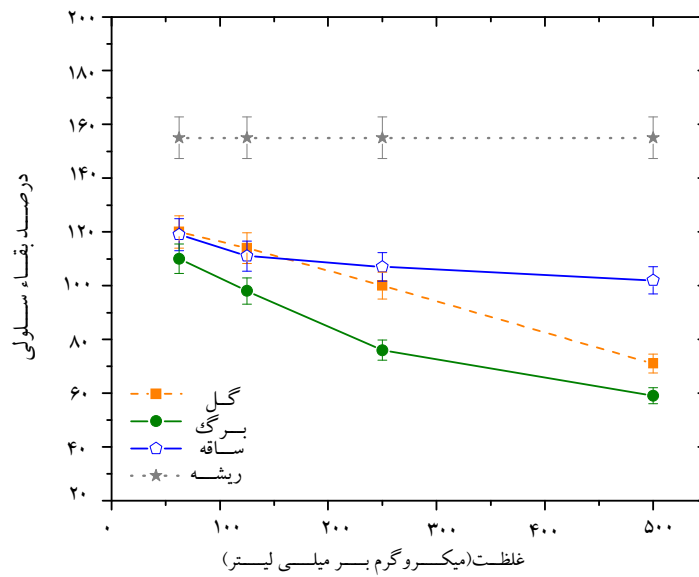
سلولی در غلظت ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر مشاهده شد (نمودارهای ۱ و ۲).

بر اساس نتایج حاصله، اثر سایتوتوکسیک عصاره‌ها بر سلول نرمال HEK293 نسبت به سلول MCF7 بسیار کمتر است، به طوری که در بیشتر موارد هیچ‌گونه کاهش درصد بقا مشاهده نشد. تنها عصاره متانولی برگ درمنه دشتی منطقه خراسان ۱۰ درصد سمیت نشان داد که این مقدار نسبت به سلول سرطانی ۵۰ درصد کمتر بود. سمیت سلولی در هیچ یک از دیگر اندام‌های درمنه دشتی جمع‌آوری شده از هر دو منطقه وجود نداشت، ساقه در نمونه‌های هر دو منطقه در غلظت‌های پایین موجب افزایش درصد بقا گردید. ریشه در هر دو مورد افزایش ۲۲ درصد تکثیر سلولی را به همراه داشت (نمودارهای ۳ و ۴).

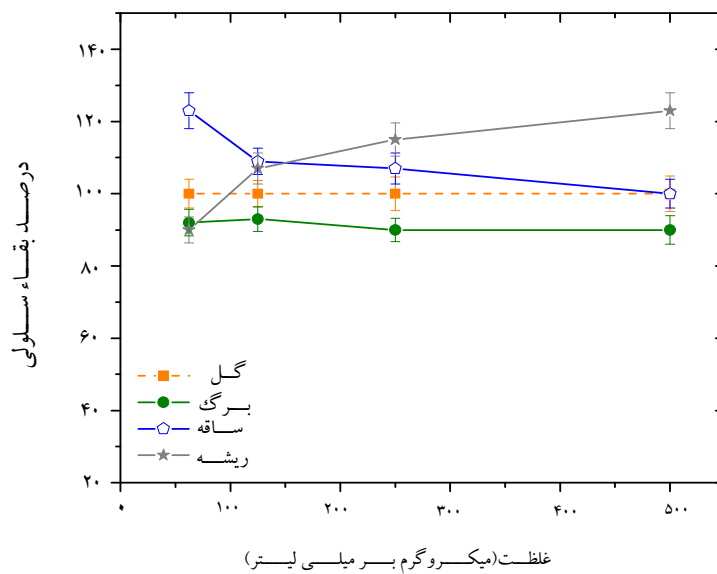
سمیت سلولی درمنه دشتی جمع‌آوری شده از خراسان به ترتیب در برگ و گل با IC_{50} ، $2/1 \pm 20.5$ و $3/5 \pm 21.3$ و در ساقه و ریشه با IC_{50} بیش از ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر به دست آمد. اثر سمیت سلولی اندام‌های مختلف درمنه دشتی جمع‌آوری شده از اصفهان در برگ و گل با IC_{50} بیش از ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر محاسبه گردید. برگ و گل به ترتیب ۴۲ درصد و ۳۰ درصد سمیت بر سلول MCF7 نشان دادند، ساقه هیچ‌گونه سمیت سلولی نشان نداد. ریشه نه تنها دارای سمیت نبود، بلکه در نمونه جمع‌آوری شده از اصفهان افزایش ۵۵ درصد تکثیر سلولی را به همراه داشت. نتایج حاصل از اثر عصاره‌ها بر سلول MCF7 نشان داد که با افزایش غلظت عصاره‌ها درصد بقا سلولی کاهش می‌یابد به طوری که کمترین بقا



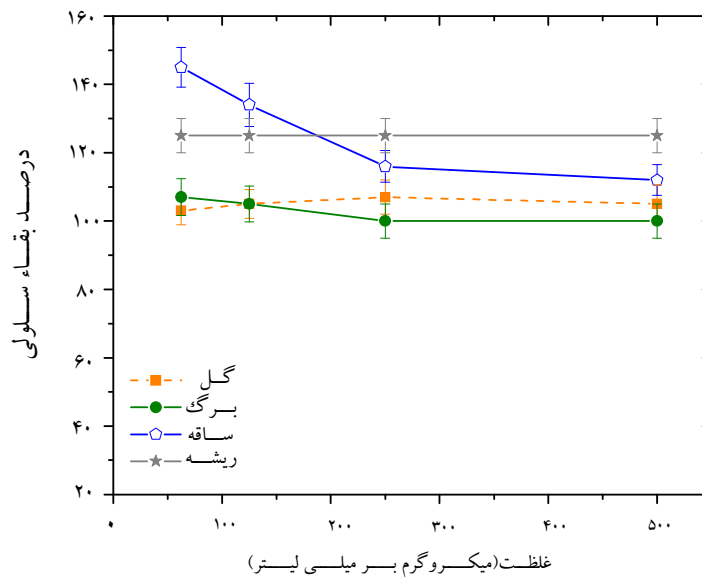
نمودار ۱. مقایسه اثر سمیت غلظت‌های مختلف عصاره گل، برگ، ساقه و ریشه درمنه دشتی جمع‌آوری شده از خراسان بر سلول MCF7



نمودار ۲. مقایسه اثر سمیت غلظت‌های مختلف عصاره گل، برگ، ساقه و ریشه درمنه دشتی جمع‌آوری شده از اصفهان بر سلول MCF7



نمودار ۳. مقایسه اثر سمیت غلظت‌های مختلف عصاره گل، برگ، ساقه و ریشه درمنه دشتی جمع‌آوری شده از خراسان بر سلول HEK293



نمودار ۴: مقایسه اثر سمیت غلظت‌های مختلف عصاره گل، برگ، ساقه و ریشه درمنه دشتی جمع‌آوری شده از اصفهان بر سلول HEK293

بحث

خراسان ۳۱ ترکیب مشخص شده است که مونوترپن‌ها (۸۷/۲ درصد)، بتا توجون (۱۹/۸ درصد)، کامفر (۱۹/۵ درصد)، آلفا توجون (۶/۴ درصد) و سینئول (۵/۷ درصد) به ترتیب بیشترین درصد اسانس گیاه را تشکیل می‌دهند (۱۹). با توجه به مطالعات صورت گرفته ترپنوئیدها و فلاونوئیدهای موجود در *Artemisia annua* دارای سمیت بر چندین رده سلول سرطانی انسان هستند. آرتیمیزینین یکی از سسکوئی‌ترپن‌هایی است که در گونه‌های مختلف این گیاه وجود دارد و فعالیت ضدسرطانی آن در *in vitro* و *in vivo* ثابت شده است (۲۱ و ۲۰). اثر آرتیمیزینین موجود در این گیاه بر روی سلول‌های سرطانی مورد بررسی قرار گرفته است و پاسخ پلئوتروپیک آن در سلول‌های سرطانی شامل مهار رشد سلول، آپوپتوزیس، ممانعت از آنژیوژنسیز، تخریب مهاجرت

با توجه به اثبات سمیت سلولی درمنه دشتی بر بعضی از سلول‌های سرطانی (۷)، هدف این مطالعه ارزیابی سمیت سلولی عصاره متانولی درمنه دشتی بر سلول سرطان سینه انسانی رده MCF7 بود. نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که عصاره متانولی قسمت‌های مختلف درمنه دشتی دارای خاصیت سایتوتوکسیک بر سلول MCF7 می‌باشند. در مطالعات پیشین وجود آلفا پینن، بتا پینن، جرماکرین D، لیمونن و میرسن موجود در درمنه عامل احتمالی مهار رشد سلول‌های سرطان سینه انسانی، کبد و ملانوما گزارش شده‌اند (۱۷). هم‌چنین یوپاتلین موجود در *Artemisia asiatica* از عوامل القاء کننده آپوپتوز در سلول‌های پرومیلوسیتیک (HL-60) و سرطان معده شناخته شده است (۱۸). در اسانس درمنه دشتی

فلاونوئید موجود در *A. annua* را بر چندین رده سلولی مورد آزمایش قرار دادند و فعالیت سیتوتوکسیتی *quercetagenin* 6,7,3',4'-tetramethyl ether و *artemisinin* را بر MCF7, HT29, A549, P-388 و KB تأیید کردند (۲۶). مطالعات قبلی ثابت کرده‌اند که برخی از ترکیبات طبیعی مانند روغن‌های فرار، فلاونوئیدها و ترپنوئیدها به طور قابل توجهی می‌توانند باعث افزایش تکثیر سلولی شوند. کاجی و همکاران^(۵) (۱۹۹۰) افزایش تکثیر سلول‌های اندوتلیال را به وسیله عصاره *Artemisia princeps* گزارش کردند (۲۷). در پژوهشی دیگر لی بایل و همکاران^(۱) (۱۹۹۸) گزارش کردند که فلاونوئیدها در غلظت کم باعث افزایش سلول‌های سرطان سینه رده MCF7 می‌گردند و نتایج مشابهی به دست آمده در این تحقیق را گزارش نمودند (۲۸).

عوامل محیطی می‌تواند باعث تغییر در مواد مؤثره گیاه از جمله آلکالوئیدها، گلیکوزیدها، استروئیدها و روغن‌های فرار شود. در مطالعه‌ای ثابت شد که درصد اسانس به دست آمده از *Artemisia roxburghiana* Basser var جمع‌آوری شده از چند ارتفاع مختلف رابطه منفی معنی‌داری را بین ارتفاع و درصد اسانس گیاه نشان می‌دهد (۲۹). لاری یزدی و همکاران (۲۰۰۲) در تحقیقی که بر روی ترکیبات ۱۱

سلولی و کاهش پاسخ گیرنده‌های هسته‌ای می‌باشد (۲۲ و ۲۳). امامی و همکاران (۲۰۰۹) اثر سیتوتوکسیک عصاره اتانولی درمنه دشتی را بر سلول‌های سرطانی Hep2 و HepG2 به ترتیب با IC_{50} ۲۲۱ و ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر گزارش کردند (۷).

نتایج مشابهی در ارتباط با خاصیت ضد سرطانی عصاره *Artemisia afra* و *A. absinthum* بر روی هر سه رده سلولی HT-29, MCF-7 و Hela گزارش شده است (۱۵). زهی و همکاران (۲۰۱۰) سسکوئی‌ترپنی به نام 1-(Z)-7-acetoxy-methyl-11-methyl-3-methylene-dodeca-6, 10-triene (AMDT) را در ریشه *A. annua* گزارش کردند که باعث مهار تکثیر سلولی و القای آپتوزیس در سلول‌های سرطان ریه، تخمدان، کبد و Hela می‌شود (۲۴). دوموراری و همکاران^(۱) (۲۰۰۹)، افزایش آنزیم‌های سوپراکسیددیس‌موتاز، کاتالاز و گلو‌تاتیون پراکسیداز در خون موش‌های دارای Ehrlich ascites carcinoma (EAC) را در اثر عصاره *A. nilagirica* تأیید نموده و آنها را عامل احتمالی کاهش حجم تومور دانسته‌اند (۶). طبق گزارش اکروت و همکاران^(۲) (۲۰۱۱)، آلفا پینن، بتا پینن و لیمونن عامل احتمالی مهار سلول‌های HT29 به وسیله عصاره متانولی و اتانولی *A. campestris* می‌باشند (۱۷). آنجل و همکاران^(۳) (۲۰۰۹) ترکیبات آنتی‌اکسیدانی از جمله پلی‌فنل‌ها و فلاونوئیدها را از عوامل مؤثر در توان سیتوتوکسیتی *A. campestris* دانسته‌اند (۲۵). زنگ و همکاران^(۴) (۱۹۹۴) فعالیت سیتوتوکسیتی ۹ ترپنوئید و

1-Devmurari et al
2-Akrou et al
3-Angel et al
4-Zheng et al
5-Kayi et al
6-Le Bail et al

نمونه *A.annua* در مناطق شمالی ایران انجام دادند، ثابت نمودند که اختلاف معنی‌داری در درصد اسانس و نوع ترکیبات گیاهان مورد مطالعه وجود دارد که این اختلاف می‌تواند مربوط به شرایط اقلیمی متفاوت و یا اختلاف در کموتایپ‌های گیاه مورد مطالعه باشد (۳۰).

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل حاکی از سمیت عصاره متانولی درمنه دشتی بر سلول MCF7 می‌باشد. سمیت سلولی در اندام هوایی گیاهان جمع‌آوری شده از هر دو منطقه بیشتر از ریشه می‌باشد که خود حاکی از تجمع مواد آنتی‌اکسیدانی در این اندام‌ها است. توان سینتوتوکسیتی درمنه دشتی منطقه خراسان ۲۰-۴۰ درصد بیشتر از منطقه اصفهان محاسبه شد که علت آن می‌تواند شرایط متفاوت آب و هوایی و خاک‌شناسی منطقه باشد که باعث تغییر در متابولیت‌های ثانویه گیاه می‌شود، از این رو انجام بررسی‌های بیشتر جهت مشخص شدن ترکیبات آنتی‌اکسیدانی درمنه دشتی و همچنین نقش اکوسیستم بر روی تجمع این ترکیبات در اندام‌های مختلف گیاه پیشنهاد شود.

تقدیر و تشکر

این مطالعه حاصل پایان‌نامه کارشناسی ارشد رشته زیست‌شناسی می‌باشد که در دانشکده علوم و فناوری نوین دانشگاه اصفهان انجام شده است.

REFERENCES

1. Mousavi SM, Montazeri A, Mohagheghi MA, Jarrahi AM, Harirchi I, Najafi M, et al. Breast cancer in Iran: an epidemiological review. *Breast J* 2007; 13(4): 383-91.
2. Katzung B, Masters S, Terevor A. Basic and clinical pharmacology. 11th ed. Norwalk: McGraw-Hill Medical; 2009.
3. Hoffman E. Cancer and the search for selective biochemical inhibitors. 2th ed. Boca Raton. CRC Press; 2007.
4. Mans DRA, Schwartzmann G. Anticancer drug discovery and development in brazil: Targeted plant collection as a rational strategy to acquire candidate anticancer compound. *Oncologist* 2000; 5:185-98.
5. Dai J, Mumper RJ. Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules* 2010; 15: 7313-52.
6. Devmurari VP, Jivani N P. Anticancer Evaluation of *Artemisia nilagirica*. *Journal of PharmTech Research* 2010; 2: 1603-8.
7. Emami A, Vahdati-Mashhadian A, Vosough R, Oghazian MB. The Anticancer Activity of Five Species of *Artemisia* on Hep2 and HepG2 Cell Lines. *Pharmacologyonline* 2009; 3: 327-39.
8. Valles J. McArthur ED. *Artemisia* systematics and phylogeny: Cytogenetic and molecular in sights. USDA Forest Service Proceedings RMRS-P-21, 2001; 67-74.
9. Mozafarian V. Flor of Iran. 1th ed. Research institute of forests and Rangelands. Tehran; 2008;199-260.
10. Haung L, Liv Jf, Liv Lx. Antipyretic and antinflammatory effect of *Artemisia annua*. *Rev Med* 1993; 18(1): 44-48.
11. Sengul M, Ercisli S, Yildiz H, Gungor N, Kavaza A, Çetin B. Antioxidant, Antimicrobial Activity and Total Phenolic Content within the Aerial Parts of *Artemisia absinthum*, *Artemisia santonicum* and *Saponaria officinalis*. *Iran J Pharm Res* 2011; 10 (1): 49-56.
12. Gambelunghe C, Melai P. Absinthe: Enjoying a new popularity among young people?. *Forensic Sci Int* 2002;130 (2-3): 183-6.
13. Jafari M, Aleni A, Malekpur B. Investigation of some ecological properties of *Artemisia Sieberi* in hotbeds of Ardabil province. *J Environmental Studies* 2004; 32: 15-20.
14. Ferreira JFS, Luthria D L, Sasaki T, Heyerick A. Flavonoids from *Artemisia annua* L. as Antioxidants and Their Potential Synergism with artemisinin against malaria and cancer. *Molecules* 2010; 15: 3135-70.
15. Feridberg R. An investigation into the antimicrobial and anticancer activities of *Geranium incanum*, *Artemisia afra* and *Artemisia absinthium* (Dissertation). Faculty of Health Science, Nelson Mandela Metropolitan University; 2009; 1-245.
16. Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival Application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods* 1983; 65: 55-63.
17. Akrouf A, Gonzalez LA, Hajer ElJ. Antioxidant and antitumor activities of *Artemisia campestris* and *Thymelaea hirsuta* from southern Tunisia. *Food and Chemical Toxicology* 2011; 49: 342-7.
18. Kim MJ, Kim DH, Na HK, Oh TY, Shin CY, Surh YJ. Eupatilin, a pharmacologically active flavone erived from *artemisia* plants, induces apoptosis in human gastric cancer (AGS) cells. *J Environ Pathol Toxicol Oncol* 2005; 24: 261-9.
19. Ghorbani-Ghouzhdhi H, Sahraroo A, Asghari HM, Abbasdokht H. Composition of essential oils of *Artemisia sieberi* and *Artemisia khorasanica* from Iran. *World Applied Scie J* 2008; 5(3): 363-6.
20. Chen HH, Zhou H J, Fang X. Inhibition of human cancer cell line growth and human umbilical vein endothelial cell angiogenesis by artemisinin derivatives *in vitro*. *Pharm Res* 2003; 48: 231-6.
21. Amart N, Upur H, Blazecovic B. *In vivo* hepatoprotective activity of aqueous extract of *Artemisia absinthium*L against chemically and immunologically induced liver injuries in mice, *Ehnopharmacology* 2010; 31(2): 478-84.
22. Asghar MN, Khan IU, Bano N. *In vitro* antioxidant and radical scavenging capacities of *citrullus colocinthes* (L) and *Artemisia absinthium* extract using prometazine hydrochloride radical cation and contemporary assays. *Food Sci Tecnol Int* 2011; 17: 484-94.
23. Rombauts K, Heyerick A. *Artemisia annua*. *CAM-Cancer* 2011; 5.
24. Zahi D, Supaibulwatana K, Zhong J. Inhibition of tumor cell proliferation and induction of apoptosis in human lung carcinoma 95-D cells by a new sesquiterpene from hairy root cultures of *Artemisia annua*. *Phytomedicine* 2010; 17(11): 856-61.
25. Angel S, Morana A, Salvatore A, Zappia V, Galletti P. Protective effect of polyphenols from *Glycyrrhiza glabra* against oxidative stress in Caco-2 cells. *J Med Food* 2009;12 (6): 1326-33.

26. Zheng GQ. Cytotoxic terpenoids and flavonoids from *Artemisia annua*. *Planta Med* 1994; 60: 54-7.
27. Kaji T, Kaga K, Miezi N, Ejiri N, Sakuragawa N. A stimulatory effect of *Artemisia* leaf extract on the proliferation of cultured endothelial cells. *Chem Pharm Bull* 1990; 38 (2): 538-40.
28. Le Bail JC, Varnat F, Nicolas JC, Habrioux G. Estrogenic and antiproliferative activities on MCF-7 human breast cancer cells by flavonoids. *Cancer Lett* 1998; 14: 209-16.
29. Haider F, Kumar N, Banerjee S, Naqvi A, Baggi G. Effect of altitude on the essential oil constituents of *Artemisia roxburghiana* Besser Var. *Purpurascens* (Jacq) Hook. *J essential oil Res* 2009; 21(4).
30. Lariyazdi H, Khavarinejad R, Rustaiyan A. The composition of the essential oil of *Artemisia Annu* L. growing wild in Iran. *Medicinal Plant* 2002; 1: 39-46.

Evaluation of Cytotoxicity of Sagebrush Plain Extract on Human Breast Cancer MCF7 Cells

Gordanian B¹, Behbahani M^{2*}, Carapetian J³, Fazilati M⁴

¹Department of Biology, Urmia university, Urmia, Iran, ² Department of Biotechnology, University of Isfahan, Isfahan, Iran, ³ Department of Biology, Payam Nour of Isfahan University, Isfahan, Iran.

Received: 12 Dec 2012 Accepted: 19 Feb 2013

Abstract

Background & aim: Several studies have reported anti-cancer properties of sagebrush plain. The aim of this study was to evaluate the cytotoxicity of the methanol extract of sagebrush plain on human breast cancer MCF7 cells.

Methods: In the present experimental study, the toxic effects of methanol extracts of flowers, leaves, stems and roots of sagebrush plain from of Khorassan and Esfahan province were tested on human breast cancer cells MCF-7 and normal cells HEK293. Plant samples were extracted by methanol and their toxic effects on normal and breast cancer cells at concentrations of 5.62, 125, 250 and 500 µg/ml was determined by MTT. Both breast cancer cells MCF-7 and normal HEK293 cells were cultured in RPMI-1640 medium and DMEM containing 10% fetal calf serums were cultured. Data were analyzed by one-way ANOVA.

Results: The methanol extract of sagebrush showed toxicity on MCF7 cells. The extract of Khorasan showed higher toxicity than Esfahan province. IC₅₀ of sagebrush plant for all parts of the plant were obtained more than 500 µg/ml, but the IC₅₀ of sagebrush plant of Khorasan region in leaf and flower were 205 ± 1.3 and $213 \pm 5.3\mu\text{g}$ respectively. The leaves and flowers in both cases had the highest cytotoxicity. Plant extracts in both regions did not show significant cytotoxicity on normal HEK293 cells.

Conclusion: The extract of the sagebrush plain region of Khorasan region showed greater cytotoxicity than Esfahan. It seems that different environmental conditions has considerable cytotoxicity.

Keywords: Sagebrush Plain, MTT, Breast Cancer

*Corresponding Author: Behbahani M, Department of Biotechnology, University of Isfahan, Isfahan, Iran,
Email: ma.behbahani@ast.ui.ac.ir