بررسی اثر سمیت عصاره بذر گیاه سیاه‌دانه گونه‌های *Nigella sativa* و *Nigella arvensis* بر روی رده‌های سلولی سرطانی معده (AGS) و سلول‌های تومور مغزی (AST)

محسن رشید شیخ احمد: کارشناس ارشد علوم سلولی و مولکولی، گروه بیوتکنولوژی گیاهی، پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست‌فناوری، تهران، ایران. scrashidi@nigeb.ac.ir
فروغ سنجریان: استادیار، گروه بیوتکنولوژی گیاهی، پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست‌فناوری، تهران، ایران. fsanjarian@nigeb.ac.ir
* **فرزانه صابونی:** استادیار، گروه بیوتکنولوژی گیاهی، پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست‌فناوری، تهران، ایران (* نویسنده مسئول). sabouni@nigeb.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۵/۱/۲۱ تاریخ پذیرش: ۹۵/۵/۲۳

چکیده

زمینه و هدف: سرطان معده و تومورهای مغزی سالانه باعث مرگ بیش از هزاران نفر در دنیا می‌شوند. گیاه سیاه‌دانه گونه *N. sativa* به‌واسطه داشتن ترکیبات فعال مانند تایموکوئینون می‌تواند باعث مهار رشد این سلول‌ها شود. هدف از این مطالعه بررسی مهار رشد رده سلولی سرطانی معده و استروسایتوما توسط عصاره گرفته شده از سیاه‌دانه گونه *N. sativa* و *N. arvensis* و مقایسه این دو عصاره ازلحاظ کشندگی این سلول‌ها بود.

روش کار: در این مطالعه دو رده سلولی سرطانی معده (AGS) و استروسایتوما (AST) پس از کشت، با غلظت‌های مختلف از عصاره الکلی سیاه‌دانه جنس *N. sativa* و *N. arvensis* به مدت ۲۴ ساعت تیمار شده و سپس تأثیرات این عصاره ازلحاظ سمیت و کشندگی توسط تست MTT(3-(4,5-dimethylthiazolyl-2)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) بررسی شد. تمامی تست‌های انجام شده به صورت جداگانه و در سه تکرار سه‌تایی انجام شد.

یافته‌ها: براساس یافته‌ها، عصاره الکلی گیاه سیاه‌دانه *N. sativa* سمیت بالاتری برای سلول‌های سرطانی نسبت به عصاره *N. arvensis* داشت و این تفاوت سمیت در سلول‌های استروسایتوما بیشتر قابل مشاهده بود. از طرفی کشندگی این عصاره‌ها در مقدارهای بالا وابسته به مقدار نبوده و همه تقریباً به یک نسبت سلول‌ها را از بین بردند.

نتیجه‌گیری: بر اساس نتایج این مطالعه، هر دو عصاره مربوط به گونه‌های N.*sativa* و N.*arvensis* اثر سمیت را بر روی رده سلول‌های سرطانی مورد مطالعه نشان دادند.

کلیدواژه‌ها: سیاه دانه، سرطان معده، تومور مغزی

مقدمه

سرطان عامل اصلی مرگ و میر در کشورهای توسعه‌یافته و دومین عامل مرگ در کشورهای در حال توسعه می‌باشد (۱). در آمریکا یک نفر از هر چهار مبتلا در اثر سرطان جان خود را از دست می‌دهند (۲). بنا بر اعلام سازمان بهداشت جهانی در سال ۲۰۰۸ از حدود ۱۲/۷میلیون بیمار سرطانی تخمین زده شده ، ۷/۶ میلیون بیمار جان خود را از دست داده‌اند (۱۳ درصد کل مرگ‌ها) انتظار می‌رود این میزان با توجه به افزایش جمعیت و بالا رفتن میانگین سنی با روند افزاینده‌ای به حدود ۱۳/۱ میلیون نفر در سال ۲۰۳۰ میلادی برسد. سرطان‌های ریه، معده، کبد، کلون و سینه و پروستات بیشترین میزان مرگ در اثر سرطان را سالیانه به خود اختصاص می‌دهند. سرطان معده یکی از شایع‌ترین سرطان‌ها می‌باشد و ازلحاظ شیوع در مردان در رتبه چهارم و در زنان در رتبه پنجم قرار دارد . این سرطان یکی از مرگ‌آورترین سرطان‌ها می‌باشد به‌طوری‌که ۷۵ ٪ از مبتلایان به این سرطان جان خود را از دست می‌دهند (۳).

هرساله تقریباً ۲۲۰۰ نفر مبتلا به تومور مغزی شناسایی می‌شوند (۴). تومورهای مغزی یکی از شدیدترین عارضه‌های دوران کودکی است و بعد از

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-11-28]

سرطان خون دومین سرطان مرگ‌آور در بین کودکان می‌باشد. تقریباً عامل ۵۲٪ از تومورهای مغزی رشد و تکثیر سلول‌های آستروسایتوما می‌باشد (۵).

گیاهان دارویی سال‌هاست که به عنوان درمان بسیاری از بیماری‌ها مورداستفاده قرار می‌گیرند و به عنوان منبعی برای تولید دارو هستند که در مقایسه با داروهای شیمیایی اثرات سو بسیار کم‌تری دارند. در بین گیاهان دارویی، گیاهان جنس سیاه‌دانه، Nigella، معروف به گیاهان اعجازانگیز هستند (۶). در این راستا حدیثی از پیامبر اکرم نقل شده است که می‌فرمایند: "سیاه‌دانه برای هر دردی درمان است به‌جز مرگ" (۷). سیاه‌دانه بومی مناطق جنوب اروپا ، شمال افریقا و آسیای شرقی می‌باشد و همچنین این گیاهان در بسیاری از مناطق دیگر مانند کشورهای خاورمیانه ، جنوب اروپا ، هند ، پاکستان و ترکیه نیز کاشته می‌شوند (۸). از گونه‌های مهم این جنس می‌توان به گونه‌های *N. sativa* و *N. arvensis* اشاره کرد. روغن این گیاهان از ۶۵ تا ۷۵ ماده شیمیایی تشکیل شده است و تفاوت عمده آن‌ها ازلحاظ شیمیایی حضور تایموکوئینون در گونه *N. sativa* و عدم حضور این ماده در گونه *N. arvensis* می‌باشد (۹، ۱۰). تایموکوئینون مهم‌ترین ماده موجود در سیاه‌دانه ازلحاظ دارویی می‌باشد و روغن استخراج شده از این گیاه سیاه‌دانه *N. sativa* دارای خاصیت انتی باکتریال (۱۱) ضد قارچی (۱۲) ضد آنتی‌اکسیدانی (۱۳) ضد دیابت (۱۴) ضد سرطانی (۱۵) ضد التهاب (۱۶) و عصاره حاصل از سیاه‌دانه *N. arvensis* دارای تأثیر بر روی کانال انتقال یون سدیم و بهبود بیماری کلیوی (۱۷) می‌باشد.

۲-ایزوپروپیل-۶-متیل –P-بنزومواینون یا تایموکوئینون، مهم‌ترین ترکیب فعال موجود در روغن فرار سیاه‌دانه جنس *N. sativa*، نخستین بار توسط EL-Dakhakhany در سال ۱۹۶۳ استخراج شد (۱۲). این دارو دارای خاصیت‌هایی مانند متوقف کردن چرخه سلولی (۱۸) تحریک سلول‌ها به سمت اپپتوز که وابسته به ژن P53 (۱۹) و غیر وابسته به ژن P53 می‌باشد (۱۴). خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی (۲۰)، مهار تولید و تکثیر سلولی در سرطان‌های پستان و آدنوکارسینوما (۱۸) و همچنین تنظیم چرخه سلولی و مهار چرخه در مرحله G1 دز سلول‌های استئوسارکوما و روده (۱۸, ۲۱) تأثیرات در ایمنی سلولی را مرتبط با وجود تایموکوئینون می‌دانند.

با توجه به عدم تأثیرات شدید سمی تایموکوئینون و عصاره گیاه سیاه‌دانه بر روی سلول‌های نرمال بدن (۲۲). در این مطالعه به‌منظور بررسی خاصیت سمی بودن عصاره‌های دو جنس *N. arvensis* و *N. sativa* بر روی سلول‌های سرطانی معده و استروسایتوما، نخست ۴۰ گرم از هر دو بذر گرفته شده، پودر شده و سپس عصاره گیری از این بذرها توسط سیستم سوکسله انجام پذیرفت. در ادامه سلول‌های مورد نظر با غلظت‌های متفاوتی از این عصاره‌ها مورد تیمار قرار گرفتند و پس از بررسی نتایج دریافت گردید که هر دو عصاره خاصیت کشندگی را بر روی سلول‌های سرطانی دارند که این کشندگی در مقدارهای پایین وابسته به مقدار و در مقدارهای بالا غیر وابسته به مقدار می‌باشد.

روش کار

رده سلولی سرطانی معده AGS IBRC) (C10071 و استروسایتوما (AST) و همچنین بذر سیاه‌دانه *N. sativa*، از مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران و بذر *N.arvensis* از شرکت پاکان بذر (اصفهان) تهیه شد. سرم گاوی (FBS: Fetal serum bovine) و محیط کشت DMEM و Hams F12) از شرکت گیب کو خریداری شد. پودر MTT (M5655) از شرکت سیگما و DMSO نیز از شرکت Roth آلمان خریداری شد.

ابتدا ۴۰ گرم از بذرهای خریداری شده از هر دو گونه سیاه‌دانه توسط دستگاه کرانچر (Retsh MM301) خرد و به صورت پودر در آمده و سپس عصاره گیری الکلی به وسیله دستگاه سوکسله در طی هفت الی هشت ساعت انجام شد (حلال: الکل ۹۶٪) و سپس برای خالص‌سازی عصاره و خارج کردن الکل از عصاره از دستگاه خلأ ساز با فشار ۱۵۰ میلی بار و دمای ۵۰ درجه سانتی گراد

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-11-28]

استفاده شد (Buchi rotavapor R200). بعد از دو ساعت ۸ میلی‌لیتر عصاره روغنی بدون الکل به دست آمد. این عصاره در زیر هود توسط فیلتر ۰/۲ استریل و آماده استفاده شد.

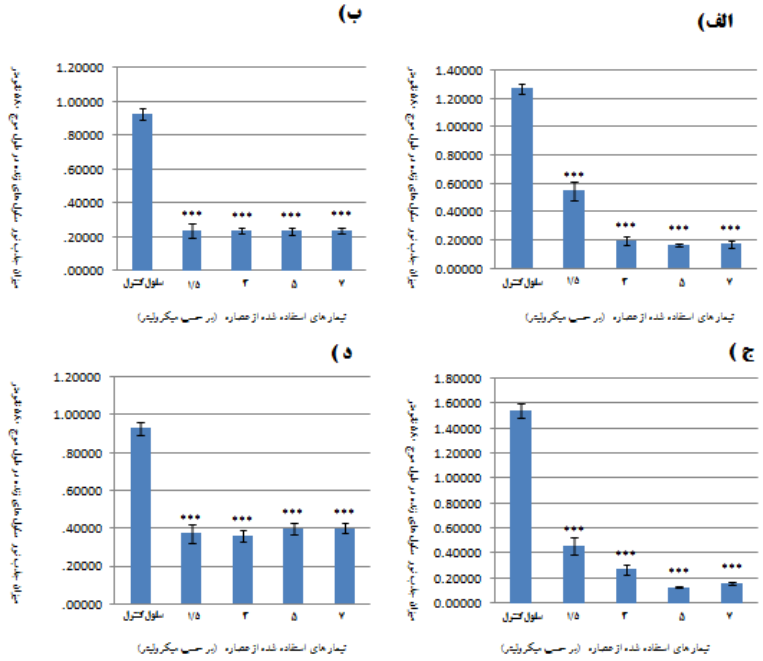
رده‌های سلولی خریداری شده در محیط کشت مناسب (رده سلولی معده در محیط کشت Ham's F12 و رده سلولی استروسایتوما در محیط کشت (DMEM با ۱۵٪ FBS کشت داده شدند. زمانی که سلول‌ها ۸۰ درصد فلاسک را پر کرده بودند، سلول‌ها تریپسینه و سپس شمارش سلول‌های زنده توسط رنگ تریپان بلو انجام شد. در نهایت این سلول‌ها در پلیت‌های ۹۶ خانه ریخته شدند، بدین ترتیب که در هر چاهک از پلیت ۹۶ خانه ۱۰۰۰۰ هزار از سلول‌های معده و ۱۵۰۰۰ هزار از رده سلولی استروسایتوما با ۲ درصد FBS و ۲۰۰ میکرولیتر محیط ریخته شدند. سلول‌های سرطانی معده توان تکثیری بالاتری نسبت به سلول‌های استروسایتوما دارند، به همین دلیل از این سلول‌ها ۱۰۰۰۰ هزار در هر چاهک ریخته شد. به سلول‌ها هفت ساعت فرصت داده شد تا به ته فلاسک بچسبند و مورفولوژی مناسب خود را به دست بیاورند.

هرکدام از رده‌های سلولی در دو پلیت ۹۶ خانه (در هر پلیت ۴۵ چاهک که شامل سه تکرار سه‌تایی برای هر غلظت می‌باشد) ریخته شده و سپس به ترتیب با عصاره سیاه‌دانه گونه *N. sativa* و عصاره سیاه‌دانه *N. arvensis* با غلظت‌های ۱/۵، ۳، ۵، ۷ میکرولیتر مورد تیمار قرار گرفتند (۱۶).

جهت تعیین بقای سلولی، بعد از گذشت ۲۴ ساعت به هر چاهک ۲۰ میکرولیتر از محلول MTT (5mg/ml) اضافه شد (۲۳). سپس سلول‌ها سه ساعت در معرض این ماده قرار گرفتند. سپس کل محیط خالی شده و هم حجم DMSO به چاهک‌ها اضافه شد. بلافاصله جذب نوری نمونه‌ها در طول‌موج ۵۸۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. در نهایت کلیه نتایج با نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ آنالیز و نمودار آن‌ها رسم شد.

یافته‌ها

در بررسی نتایج حاصل از سمیت عصاره *N.*



نمودار ۱- درصد بقای سلولی بعد از تیمار با عصاره گیاهان جنس سیاهدانه. نمودار الف) تیمار رده سلولی AGS با غلظت‌های مختلف از عصاره بذر *N. sativa* ب) تیمار رده سلولی استروسایتوما با غلظت‌های مختلف از عصاره بذر *N. sativa* ج) تیمار رده سلولی AGS با غلظت‌های مختلف از عصاره بذر *N. arvensis* د) تیمار رده سلولی استروسایتوما با غلظت‌های مختلف از عصاره بذر *N. arvensis*. محور افقی در تمامی نمودارها غلظت عصاره و محور عمودی مقدار جذب نور در طول‌موج ۵۸۰ نانومتر (نمایان گر سلول‌های زنده) را نشان می‌دهد.

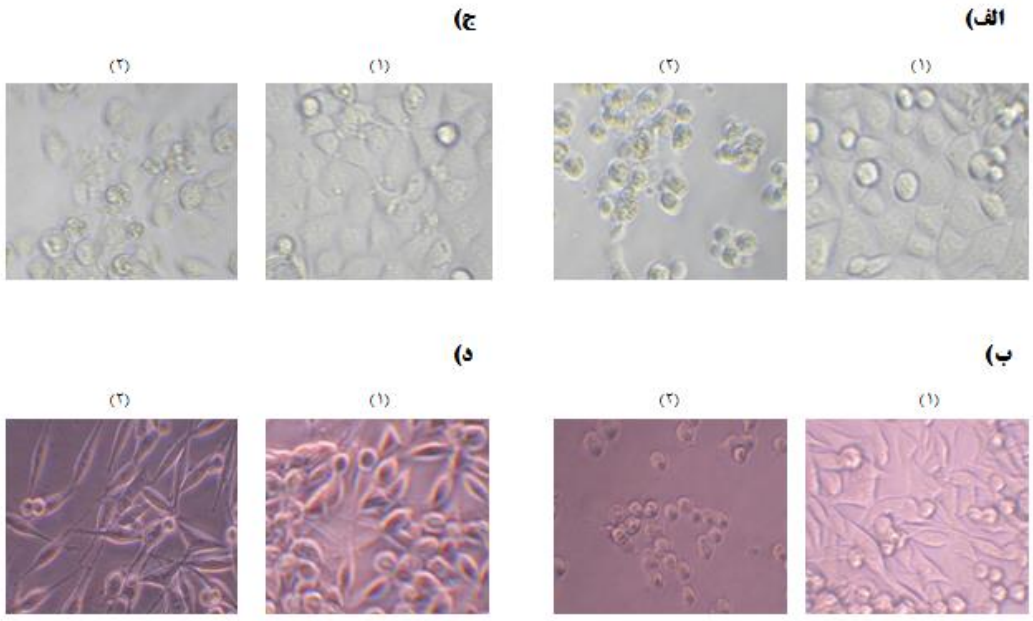
[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-11-28]

sativa بر روی رد سلولی معده (AGS) مشاهده شد که در تیمار با مقدار ۱/۵ میکرولیتر از عصاره تقریباً ۵۰ درصد سلول‌ها از بین رفتند و تفاوت معناداری را نسبت به سلول‌های کنترل ایجاد کردند. همچنین میزان کشندگی در استفاده از مقدارهای بالاتر، بیشتر شد (بیش از ۸۰٪) و این کشندگی در مقدارهای ۳، ۵، ۷ میکرولیتر برابر بود و تفاوت معناداری را نسبت به هم نداشتند. از این نتایج چنین برداشت شد که کشندگی عصاره در مقادیر سه تا هفت میکرولیتر وابسته به مقدار استفاده شده از عصاره نبود (نمودار شماره ۱ – الف).

نتایج مشاهده شده از تأثیر عصاره *N. sativa* بر روی رده سلولی تومور مغزی (AST) نشان‌دهنده آن بود که عصاره این گیاه در مقدارهای ۱/۵، ۳، ۵ و ۷ میکرولیتر اثر کشندگی یکسانی داشت. همچنین کشندگی این عصاره وابسته به مقدار استفاده از دارو نبوده (نمودار شماره ۱- ب) و سمیت این عصاره در مقدار ۱/۵ میکرولیتر بر روی سلول‌های سرطانی استروسایتوما بالاتر از سلول‌های معده بود.

در بررسی نتایج حاصل از تیمارِ رده سلولی معده (AGS) با عصاره *N. arvensis* مشاهده گردید که کشندگی این عصاره در مقایسه با عصاره *N. sativa* بسیار بیشتر بود. در مقدار ۱/۵ میکرولیتر تقریباً ۷۰ درصد سلول‌ها از بین رفت و در مقادیر بعدی هم کشندگی بیشتر شد، ولی در غلظت‌های ۵ و ۷ میکرولیتر کشندگی وابسته به مقدار عصاره نبود و میزان کشندگی هر دو غلظت برابر بود (نمودار شماره ۱ - ج). تیمار سلول‌های رده استروسایتوما (AST) با عصاره *N.arvensis* نتایج متفاوتی داشت. تمامی غلظت‌های این دارو اثر کشندگی کم‌تری در این سلول‌ها نسبت به عصاره *N. sativa* داشت و همه غلظت‌های استفاده شده سمیت یکسانی را نشان دادند. به عبارتی کشندگی سلول‌ها توسط عصاره، وابسته به مقدار غلظت استفاده شده از عصاره نبود. در استفاده از تمامی مقادیر، تقریباً ۵۰ درصد سلول‌ها از بین رفتند (نمودار شماره ۱ - د).

مشاهده سلول‌های تیمار شده با میکروسکپ فاز



شکل ۱- تغییرات شکلی رده‌های سلولی AGS و استروسایتوما در تیمار با عصاره بذر *N. sativa* و *N. arvensis* بعد از ۲۴ ساعت. ستون اول: سلول‌های کنترل، ستون دوم: سلول‌های تیمار شده با غلظت ۱/۵ میکرولیتر از عصاره بذر گیاه سیاه‌دانه. الف) رده سلولی سرطانی معده تیمار شده با عصاره *N. sativa* ب) رده سلولی سرطانی استروسایتوما تیمار شده با عصاره *N. sativa* ج) رده سلولی AGS تیمار شده با عصاره *N. arvensis* د) رده سلولی سرطانی استروسایتوما تیمار شده با عصاره *N. arvensis*

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-11-28]

جدول ۱- تجزیه واریانس درصد بقا سلولی رده سلولی AGS در تیمار با عصاره بذر *N. sativa* و *N. arvensis*

		درجه آزادی	مجموع مربعات (SS)	میانگین مربعات (MS)	آزمون فیشر
رده سلولی AGS تیمار با *N. sativa*	بین‌گروهی	۴	۵/۲۶۱	۱/۳۱۵	۱۱۱/۴۱۳***
	داخل‌گروهی	۲۵	۰/۲۹۵	۰/۰۱۲	
	کل	۲۹	۵/۵۵۶		
رده سلولی AGS تیمار با *N. arvensis*	بین‌گروهی	۴	۸/۳۳۷	۲/۰۸۴	۱۸۴/۲۸۲***
	داخل‌گروهی	۲۵	۰/۲۸۳	۰/۰۱۱	
	کل	۲۹	۸/۶۲۰		

*** : اختلاف کاملا معنی دار می باشد

جدول ۲- تجزیه واریانس درصد بقا سلولی در رده سلولی AST تیمار شده با عصاره بذر *N. sativa* و *N. arvansis*

		درجه آزادی	مجموع مربعات (SS)	میانگین مربعات (MS)	آزمون فیشر
رده سلولی AST تیمار با *N. sativa*	بین‌گروهی	۴	۲/۲۵۵	۰/۵۶۴	۵۶۹/۴۳۵***
	داخل‌گروهی	۲۵	۰/۲۲۷	۰/۰۰۱	
	کل	۲۹	۲/۲۶۲		
رده سلولی AST تیمار با *N. arvensis*	بین‌گروهی	۴	۱/۹۷۴	۰/۴۹۳	۵۹/۱۱۲***
	داخل‌گروهی	۲۵	۰/۲۰۹	۰/۰۰۸	
	کل	۲۹	۲/۱۸۴		

*** : اختلاف کاملا معنی دار می باشد

معکوس نشان داد که شکل و تماس‌های سلولی، بعد ازتیمار دچار دگرگونی شده و سلول‌ها شکل اصلی و عملکردی خود را از دست داده‌اند (شکل شماره ۱).

بررسی نتایج حاصل از تجزیه واریانس رده سلولی AGS تیمار شده با عصاره بذر گیاه *N. sativa* و *N. arvensis* نشان داد که تأثیر این دو عصاره در این رده سلولی کاملاً متفاوت و معنی‌دار بود (جدول ۱). همچنین نتایج حاصل از تجزیه واریانس رده سلولی AST تیمار شده با دو عصاره مذکور نشان از تفاوت معنی‌دار تأثیر این عصاره‌ها بر روی این رده سلولی داشت (جدول ۲).

بحث و نتیجه‌گیری

تیمار موفقیت‌آمیز سلول‌ها با ترکیبات شیمیایی کاملاً وابسته به توانایی این ترکیبات به تحریک سلول‌های سرطانی به‌سوی مرگ می‌باشد. با وجود پیشرفت‌های اخیر در شناسایی و درمان سرطان‌ها، همچنان سرطان معده و تومورهای مغزی یکی از سخت‌ترین سرطان‌ها برای درمان می‌باشند. تایموکوییننون و دی تایموکوییننون مهم‌ترین ترکیبات شیمیایی موجود در سیاه‌دانه گونه *N. sativa* است و در گونه *N. arvensis* تقریباً وجود ندارد. خاصیت سمی بودن این ترکیبات بر روی رده‌های سلولی مختلف مورد آزمایش قرار گرفته و تایید شده است (۱۹). به‌طوری‌که مقدار ۵۰ الی ۱۰۰ میکروگرم/ میلی‌لیتر در رده سلول‌های سرطانی کبدی (G2 Hep)، لنفوسیت (Molt T (4، میتوکندریایی (Wehi 164)، کلون (Sw 620) و رده سلولی مثانه (J82) تمامی سلول‌ها را از بین می‌برد. این نشان‌دهنده سمیت بالای این عصاره بر روی رده‌های سلولی مختلف می‌باشد (۲۴). درعین‌حال عصاره این گیاهان سمیت بسیار پایینی را بر روی سلول‌های نرمال اندوتلیالی دارند (۲۴). قریب به اتفاق آزمایشات صورت گرفته روی خواص درمانی از جمله خواص ضد سرطانی و یا حتی کلیه صفات ضد میکربی سیاهدانه بر گونه *N. sativa* بوده و وجود تایموکوییننون باعث شده که کلیه این اثرات به این ترکیب نسبت داده شود. با توجه به عدم وجود تایموکوییننون و دی تایموکوییننون در عصاره بذر *N. arvensis* (۹) به نظر می‌رسد اثرات کشندگی این عصاره بر روی

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-11-28]

رده‌های سلولی موردمطالعه با سایر ترکیبات موجود در آن مرتبط باشد. عمده‌ترین ترکیبات سازنده عصاره *N. arvensis* مونوترپن‌ها هستند که شامل آلفا پینن (a-pinen) و بتا پینن (B-pinen)، n-Undecane و Carvacrol methyl ether می‌باشد. بیشتر گزارشات موجود حاکی از خواص انتی باکتریال و تأثیر بر روی گیرنده‌های درد این ترکیبات است (۲۵، ۲۶). با توجه به نتایج به‌دست‌آمده از این آزمایش می‌توان خاصیت کشندگی سلول‌های سرطانی را نیز به این خواص افزود. نتایج نشان داد عصاره سیاه‌دانه *N. arvensis* سمیت پایین‌تری نسبت به عصاره *N. sative* دارد و همچنین در مقدارهای بالا کشندگی وابسته به مقدار نمی‌باشد و همه مقدارهای استفاده شده از عصاره میزان کشندگی یکسانی دارند. بعلاوه با توجه به نتایج می‌توان بیان کرد که مقاومت رده‌های سلولی سرطانی استروسایتوما نسبت به رده سلولی معده نسبت به عصاره‌های استفاده شده بالاتر بوده و کمتر تحت تأثیر تیمار با عصاره کشته می‌شود.

امروزه بازگشت به استفاده از ترکیبات طبیعی و بخصوص داروهای گیاهی در جوامع بشری رو به افزایش است. بیش از ۶۰ درصد ترکیباتی که امروزه برای درمان سرطان استفاده می‌شوند ترکیبات طبیعی هستند که از منابعی مانند گیاهان به دست می‌آیند (۲۷). داروهای گیاهی معروف تاکسول، وین بلاستین و وین کریستین امروزه نیز در درمان سرطان‌ها بکار می‌روند و تعداد بسیاری از ترکیبات گیاهی ضد سرطانی نیز در مراحل پیش کلینیکی قرار دارند (۲۸). یکی از ترکیبات معروف گیاهی که در سال‌های اخیر، خصوصاً در ایران، معرفی شده و نیز در داروخانه‌ها موجود است (سینا کورکومین)، کورکومین ماده مؤثره زردچوبه است. اگرچه در برخی از موارد (مانند کورکومین) نمی‌توان از ترکیبات گیاهی به‌عنوان روش درمان اصلی استفاده کرد، اما به‌عنوان طب مکمل جایگاه ویژه‌ای دارند (۲۹).

علاوه بر این در کاربرد درمانی از گیاهان داروی با در نظر گرفتن خواص هم‌افزایی ترکیبات مؤثره، ی تصمیم به استفاده از عصاره کل داروی گیاهی یا داروی تک ترکیب مشتق شده از گیاه دارویی جای تأمل دارد. همچنین در پژوهش حاضر قابل‌مشاهده است که غلظت‌های مشابه از عصاره *N. arvensis* اثرات کشندگی متفاوتی بر روی رده‌های سلولی مختلف دارد که می‌توان دلایل آن را در نوع تماس سلولی، هورمون‌های ترشح شده، مقاومت سلولی و برخی عوامل دیگر بررسی کرد که نیاز به پژوهش و تفکر بیشتری دارد.

در خصوص گیاهان دارویی معرفی شده در این تحقیق، علاوه بر تأکید بر روی استانداردسازی و در نظر گرفتن تأثیر ترکیبات مختلف در عصاره یک گیاه، تحقیقات بیشتر آزمایشگاهی در مورد چگونگی تأثیر بر روی مسیرهای داخل سلولی، تأثیر بر اندام‌های مختلف و مطالعات در جمعیت‌های بزرگ مدل حیوانی جهت مطالعات پیش کلینیکی ضروری است.

تقدیر و تشکر

این مقاله قسمتی از پایان‌نامه کارشناسی ارشد آقای محسن رشید شیخ احمد است. نویسندگان از پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست‌فناوری به دلیل فراهم آوردن تسهیلات این پژوهش تشکر و قدردانی می‌کنند.

منابع

1. Umar A, Dunn BK, Greenwald P. Future directions in cancer prevention. Nature Reviews Cancer; 2012. 12(12):835-48.

2. Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2013. CA: a cancer journal for clinicians; 2013. 63(1):11-30.

3. Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. CA: a cancer journal for clinicians; 2011. 61(2):69-90.

4. Smith RA, Cokkinides V, Eyre HJ. American Cancer Society guidelines for the early detection of cancer, 2003. CA: a cancer journal for clinicians; 2003. 53(1):27-43.

5. Linet MS, Ries LA, Smith MA, Tarone RE, Devesa SS. Cancer surveillance series: recent trends in childhood cancer incidence and mortality in the United States. Journal of the National Cancer Institute; 1999. 91(12):1051-8.

6. Ahmad A, Husain A, Mujeeb M, Khan SA, Najmi AK, Siddique NA, et al. A review on therapeutic potential of Nigella sativa: A miracle

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-11-28]

herb. Asian Pacific journal of tropical biomedicine; 2013. 3(5):337-52.

7. Al-Bukhari M, Sahi A-B. The collection of authentic sayings of Prophet Mohammad (peace be upon him), division 71 on medicine. Hilal Yayinlari, Ankara, Turkey; 1976.

8. Khare CP. Indian medicinal plants: an illustrated dictionary: Springer Science & Business Media; 2007.

9. Havlik J, Kokoska L, Vasickova S, Valterova I. Chemical composition of essential oil from the seeds of Nigella arvensis L. and assessment of its actimicrobial activity. Flavour and fragrance journal; 2006. 21(4):713-7.

10. Tutin TG. Flora Europaea. Lycopodiaceae to Platana-ceae .Flora Europaea Vol 1 Lycopodiaceae to Platana-ceae; 1964.

11. Bakathir HA, Abbas NA. Detection of The Antibacterial Effect of Nigella Sativa Ground Seedswith Water. African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines; 2011. 8(2).

12. Bita A, Rosu A, Calina D, Rosu L, Zlatian O, Dindere C, et al. An alternative treatment for Candida infections with Nigella sativa extracts. European Journal of Hospital Pharmacy: Science and Practice; 2012. 19(2):162.

13. Umar S, Zargan J, Umar K, Ahmad S, Katiyar CK, Khan HA. Modulation of the oxidative stress and inflammatory cytokine response by thymoquinone in the collagen induced arthritis in Wistar rats. Chemico-biological interactions; 2012. 197(1):40-6.

14. Abdelmeguid NE, Fakhoury R, Kamal SM, Al Wafai RJ. Effects of Nigella sativa and thymoquinone on biochemical and subcellular changes in pancreatic β-cells of streptozotocin-induced diabetic rats. Journal of diabetes. 2010;2(4):256-66.

15. Salem M, Alenzi F, Attia W. Thymoquinone, the active ingredient of Nigella sativa seeds, enhances survival and activity of antigen-specific CD8-positive T cells in vitro. British journal of biomedical science; 2011. 68(3):131.

16. Alemi M, Sabouni F, Sanjarian F, Haghbeen K, Ansari S. Anti-inflammatory effect of seeds and callus of Nigella sativa L. extracts on mix glial cells with regard to their thymoquinone content. AAPS PharmSciTech; 2013. 14(1):160-7.

17. Atia F, Mountian I, Simaels J, Waelkens E, Van Driessche W. Stimulatory effects on Na+ transport in renal epithelia induced by extracts of Nigella arvensis are caused by adenosine. Journal of experimental biology; 2002. 205(23):3729-37.

18. Shoieb AM, Elgayyar M, Dudrick PS, Bell JL, Tithof PK. In vitro inhibition of growth and induction of apoptosis in cancer cell lines by thymoquinone. International journal of oncology; 2003. 22(1):107-13.

19. Worthen DR, Ghosheh OA, Crooks P. The in vitro anti-tumor activity of some crude and purified components of blackseed, Nigella sativa L. Anticancer research; 1997. 18۳)A):1527-32.

20. Balkwill F, Coussens LM. Cancer: an inflammatory link. Nature; 2004. 431(7007):405-6.

21. Gali-Muhtasib H, Diab-Assaf M, Boltze C, Al-Hmaira J, Hartig R, Roessner A, et al. Thymoquinone extracted from black seed triggers apoptotic cell death in human colorectal cancer cells via a p53-dependent mechanism. International journal of oncology; 2004. 25(4):857-66.

22. Ng WK, Saiful Yazan L, Yap LH, Wan Nor Hafiza WAG, How CW, Abdullah R. Thymoquinone-Loaded Nanostructured Lipid Carrier Exhibited Cytotoxicity towards Breast Cancer Cell Lines (MDA-MB-231 and MCF-7) and Cervical Cancer Cell Lines (HeLa and SiHa). BioMed Research International; 2015. 2015.

23. Gerlier D, Thomasset N. Use of MTT colorimetric assay to measure cell activation. Journal of immunological methods; 1986. 94(1):57-63.

24. Swamy S, Tan B. Cytotoxic and immunopotentiating effects of ethanolic extract of Nigella sativa L. seeds. Journal of Ethnopharmacology; 2000. 70(1):1-7.

25. Massumi MA, Fazeli MR, Alavi SHR, Ajani Y. Chemical constituents and antibacterial activity of essential oil of Prangos ferulacea (L.) Lindl. fruits. Iranian Journal of Pharmaceutical Sciences; 2007. 3(3):171-6.

26. Quintans-Júnior L, Moreira JC, Pasquali MA, Rabie S, Pires AS, Schröder R, et al. Antinociceptive Activity and Redox Profile of the Monoterpenes. ISRN toxicology; 2013. 2013.

27. Kaur R, Kapoor K, Kaur H. Plants as a source of anticancer agents. J Nat Prod Plant Resour; 2011. 1(1):119-24.

28. Cragg GM, Newman DJ. Plants as a source of anti-cancer agents. Journal of ethnopharmacology; 2005. 100(1):72-9.

29. Hosseinimehr SJ. A review of preventive and therapeutic effects of curcumin in patients with cancer. Journal of Clinical Excellence; 2014. 2(2):50-63.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-11-28]

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-11-28]

Toxicity effect of *Nigella Sativa* and *Nigella Arvensis* seed extract on gastric cancer cell lines (AGS) and brain tumor cells (AST)

Mohsen Rashid Shyekh Ahmad, MSc in Cellular and Molecular Biology, Department of Agricultural Biotechnology, National Institute of Genetic Engineering and Biotechnology, Tehran, Iran. scrashidi@nigeb.ac.ir
Foruogh Sanjarian, PhD of Cellular and Molecular Biology, Assistant Professor, Department of Agricultural Biotechnology, National Institute of Genetic Engineering and Biotechnology, Tehran, Iran. Fsanjarian@nigeb.ac.ir
*__Farzaneh Sabouni__, PhD of Biochemistry, Assistant Professor, Department of Agricultural Biotechnology, National Institute of Genetic Engineering and Biotechnology, Tehran, Iran (*Corresponding author). sabouni@nigeb.ac.ir

Abstract

Background: Every year thousands of people die because of stomach cancer and brain tumors. *N. sativa* plant has thymoquinone and this compound may prevent cancer cell line growth in many types of cancer. The purpose of this study was to examine the possibility of inhibiting cell growth in human stomach gastric adenocarcinoma (AGS) and astrocytoma cell lines (AST) by *N. sativa* and *N. arvensis* extract and to compare lethal effect of these two extracts on cancer cell line.

Methods: AGS and AST cell lines were cultured and seeded for 7 hours. After this time these cells treated with various concentration of *N*. sativa and *N. arvensis* extracts for 24 hours. Consequently, the cytotoxicity effect of extract on cell line was investigated by MTT (3-(4,5-dimethylthiazolyl-2)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) assay.

Results: Based on our data the extract of *N. sativa* has cytotoxic effects on both AGS and AST cell lines. Although in case of astrocytoma cell line this effect is not dose dependent, in AGS cell line the results do not follow the same pattern and at lower three doses the cytotoxicity effect was dose dependent. The cytotoxicity effect of *N. arvensis* extract on astrocytoma cell line was dose independent, but in AGS cell line this effect was dose dependent.

C**onclusion**: According to the results of this study extracts of both *N. sativa* and *N. arvensis* showed cytotoxicity effect on examined cancer cell lines.

Keywords: *Nigella sativa*, *Nigella arvensis*, Gastric cancer, Brain tumor

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-11-28]