مجله علوم پزشکی رازی دوره ۲۹، شماره ۱۱، بهمن ۱۴۰۱ http://rjms.iums.ac.ir

مقاله پژوهشی

بررسی اثر ضد سرطانی کوئرستین بر روی سلول های Saos۲ استئوسارکوما

شیما نوروزی: گروه فارماکولوژی- سم شناسی، دانشکده داروسازی، واحد علوم دارویی دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

ریحانه نمازی: گروه فارماکولوژی- سم شناسی، دانشکده داروسازی، واحد علوم دارویی دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

پروانه نجفی زاده: گروه فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

گلاره وهاب زاده: گروه فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران، و مرکز تحقیقات علوم دارویی رازی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران (* نویسنده مسئول) Vahabzadeh.g@iums.ac.ir

چکیده

زمینه و هدف: استئوسارکوم یک نئوپلاسم بدخیم غیر هماتوپوئتیک پیش‌رونده ناشی از تغییر شکل سلول‌های اولیه استخوان از منشا مزانشیم است. این بیماری بسیار تهاجمی است و تومور تشکیل شده آن ثابت، سخت و نا منظم می‌باشد. کوئرستین یک فلاوونول طبیعی زیر مجموعه بیوفلاوونوئیدها با اثرات جانبی کم می‌باشد که دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی، ضد التهابی و ضد سرطانی است. هدف از این مطالعه ارزیابی کوئرستین به عنوان ماده ضدسرطانی بر روی سلول‌های Saos-2 می‌باشد.

روش کار: پس از گذشت ۲۴ ساعت از کشت سلول‌های Saos2 در پلیت ۹۶ خانه، غلظت‌های متفاوت از کوئرستین به چاهک‌ها اضافه گردید و به مدت ۷۲ ساعت سلول‌ها با داروی مورد نظر انکوبه شدند و سپس جهت تاثیر زنده مانی سلول‌ها در حضور و عدم حضور دارو از روش MTT برای تعیین اثر زنده مانی سلول‌ها و از روش گریس جهت اندازه‌گیری میزان تولید نیتریک اکساید (NO) استفاده شد. داده‌ها با روش آماری واریانس یک طرفه (One way ANOVA) تجزیه و تحلیل و معنی داری در سطح $p< ۰/۰۵$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: نتایج این مطالعه نشان داد کوئرستین می‌تواند موجب کاهش درصد زنده ماندن سلول‌ها در مقایسه با گروه کنترل شود. بهترین دوز موثر در غلظت ۱۲۰ ماکرومول می‌باشد. همچنین داده‌ها نشان داد که کوئرستین در تمامی غلظت‌ها توانسته است باعث کاهش تولید NO در سلول‌های سرطانی شود و بهترین غلظت موثر ۱۲۰ ماکرومول می‌باشد.

نتیجه‌گیری: در این مطالعه مشخص شد که کوئرستین توانسته است باعث کاهش زنده مانی سلول‌های Saos2 شود که بخشی از اثرات آن را می‌توان وابسته به کاهش مقدار NO تولید شده نسبت داد.

تعارض منافع: گزارش نشده است.

منبع حمایت‌کننده: حامی مالی ندارد.

کلیدواژه‌ها

استئوسارکوم،

کوئرستین،

Saos2 ،

نیتریک اکساید

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۹/۲۶

تاریخ چاپ: ۱۴۰۱/۱۱/۱۸

شیوه استناد به این مقاله:

Norouzi S, Namazi R, Najafizadeh P, Vahabzadeh G. The Effect of Quercetin on Saos2 Osteosarcoma Cell Line. Razi J Med Sci. 2023;29(11):47-57.

*انتشار این مقاله به‌صورت دسترسی آزاد مطابق با CC BY-NC-SA 3.0 صورت گرفته است.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-05-31]

Razi Journal of Medical Sciences. 2023;29(11):47-57. http://rjms.iums.ac.ir

Original Article

The Effect of Quercetin on Saos2 Osteosarcoma Cell Line

Shima Norouzi: Department of Toxicology & Pharmacology, Faculty of Pharmacy, Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University, Tehran, Iran
Reyhaneh Namazi: Department of Toxicology & Pharmacology, Faculty of Pharmacy, Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University, Tehran, Iran
Parvaneh Najafizadeh: Department of Pharmacology, School of Medicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
Gelareh Vahabzadeh: Department of Pharmacology, School of Medicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran, & Razi Drug Research Center, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran (* Corresponding author) Vahabzadeh.g@iums.ac.ir

Abstract

Background & Aims: Osteosarcoma (also called osteogenic sarcoma) is the most common type of cancer that starts in the bones. It is a malignant mesenchymal cell tumour, characterized by pleomorphic spindle-shaped cells, capable of producing an osteoid matrix. Tumour cells metastasize primarily via the haematogenous route. This disease is very aggressive and the tumor formed is fixed, hard and irregular. The cancer cells in these tumors look like early forms of bone cells that normally help make new bone tissue, but the bone tissue in an osteosarcoma is not as strong as that in normal bones. Overall, osteosarcoma is a rare disease, however, children and teens are the most commonly affected age group, but osteosarcoma can develop at any age. Although this disease occurs sporadically, approximately 70% of tumor specimens show an abnormality in the chromosome. Moreover, regulation of cell cycle has been reported to demonstrate inherited defects in some cases. The incidence of osteosarcoma is bimodal. The first peak occurs at the ages of puberty, implying the ages of 15 to 19 in boys and the ages of 10 to 14 in girls. The second peak occurs in the elderly with the age of 75 years. Noteworthy, osteosarcoma is rare before the age of 5. With the application of multimodal chemotherapy, disease-free survival of patients with high-grade osteosarcoma has been improved to more than 60% compared to 10–20% which was reachable with the surgery as the only therapeutic approach. At present, treatment of osteosarcoma is a combination of surgery and chemotherapy both before and after the surgery. Additionally, the use of common chemotherapeutic agents such as high-dose methotrexate, cisplatin, doxorubicin and/or etoposide and ifosfamide frequently causes both acute and long-term toxicity. Although several chemotherapy regimens have been applied in the past 20 years, survival rates of patients are still not satisfying and no practical targeted therapy is discovered. Therefore, it is important to investigate different therapeutic methods and anti-tumor agents in order to find an approach that provides a higher survival rate. Flavonoids possess several biological and pharmacological activities. In addition, flavonoids have the advantage of being less toxic and can be prescribed for an extended duration. Therefore, various plant-derived flavonoids use as drugs have been reported as a modulator for chronic inflammation caused by virus infection and other diseases, such as human papillomavirus, hepatitis virus, SARS-CoV-2, autoimmune disease, type 2 diabetes, cardiovascular diseases, Alzheimer's disease, Parkinson's disease, and cancer. Quercetin is a naturally occurring polyphenolic flavonoid, whose chemical name is 3,3′,4′,5,7-Pentahydroxyflavone (C15H10O7), can be found in a wide range of daily foods, such as grains, fruits, and vegetables and in higher levels in capers, buckwheat seeds, radish, onions, apples, red leaf lettuce, asparagus, nuts, and teas. It is reported that oral

Keywords
SaOS2,
Nitric oxide,
Osteosarcoma,
Quercetin

Received: 17/12/2022
Published: 07/02/2023

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-05-31]

administration of 1 g quercetin per day is safe and is absorbed up to 60%. Quercetin has a high ability to scavenge reactive oxygen species (ROS) and reactive nitrogen species (RNS) molecules; therefore, exhibiting beneficial effects in preventing obesity, diabetes, cardiovascular diseases, and inflammation. Furthermore, quercetin is indicated to exert various anti-tumor effects both *in vitro* and *in vivo* against several cancers, such as ovarian cancer, colorectal cancer, lymphoma, gastric cancer, and breast cancer. On the other hand, the high toxic effect of quercetin against cancer cells is accompanied with little or no side effects or harm to normal cells. Its wide accessibility, efficacy, and a broad range of activity, and low toxicity as compared with other examined compounds, make it an attractive chemical in the fight against diseases including cancer. It has been recognized and employed as an alternative drug in treating different cancers alone or in combination with other chemotherapeutic drugs. NO is a free radical that regulates several physiological functions and is formed by the conversion of L-arginine to L-citrulline by nitric oxide synthases (NOS). NO is a dual molecule that can have a tumor-protecting or stimulating effect, depending on its local concentration. Certain reports demonstrated a cytotoxic role of NO; others presented a protective role. Many investigations have shown that quercetin has anti-inflammatory activity that pulls out the nitric oxide, catalase, and cytokines, specifically TNF-α, IL-β, and IL-6, which are inflammatory mediators. Therefore, we tried to elucidate the influence of quercetin in order to suggest a new candidate for the treatment of this cancer, on *in vitro* NO production from Saos2 osteosarcoma cell line

Methods: After 24 hours of culture of Saos2 cells in 96-well plates, different concentrations of quercetin were added to the wells for 72 hours. Cell viability was measured using the colorimetric MTT assay. Briefly, cells were incubated with 0.5mg/mL MTT in DMEM at 37 ºC under 5 % CO_2 for 3 h. The blue formazan reduction product, which is generated by the action of the succinate dehydrogenase on the dye only in living cells, was dissolved in 100µL DMSO, and its absorbance was read at 570nm using a Dynex MMX microplate reader. The level of nitrite as an indicator of NO production in the culture medium was measured using modified Griess reagent. In brief, after the experiment, the medium in each well was removed and centrifuged at 10,000 g for 10 min at 20 ºC. Then, 100 µL of the supernatant was mixed with an equal volume of Griess reagent at room temperature for 10 min, and the absorbance was measured at 540 nm using a microplate reader. The nitrite concentration was determined from a sodium nitrite standard curve.

The data were analyzed by one-way ANOVA and $P < 0.05$ was considered statistically significant.

Results: The results of this study showed that quercetin can decrease the percentage of cell viability of Saos2 cells compared to the control group. The best effective dose is 120 µM. Also, the data showed that quercetin in all concentrations was able to reduce the production of NO levels in Saos2 cells and the best effective concentration is 120 µM.

Conclusion: In this study, it was found that quercetin was able to reduce the viability of Saos2 cells, and part of its effects could be mediated partially by a decrease in NO production. However, further studies are needed on this natural compound.

Conflicts of interest: None
Funding: None

Cite this article as:

Norouzi S, Namazi R, Najafizadeh P, Vahabzadeh G. The Effect of Quercetin on Saos2 Osteosarcoma Cell Line. Razi J Med Sci. 2023;29(11):47-57.

*This work is published under CC BY-NC-SA 3.0 licence.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-05-31]

مقدمه

استئوسارکوم یک تومور بدخیم اولیه استخوانی نادر است و شیوع جهانی آن ۳/۴ نفردر هر میلیون نفر در سال می‌باشد. با این حال جز شایع ترین بدخیمی ها در کودکان می‌باشد (۱). این سرطان، سومین سرطان رایج در بین نوجوانان می‌باشد و پیک شیوع آن در دهه دوم زندگی بیشتر می‌باشد. قبل از سال ۱۹۷۰، قطع عضو بهترین روش درمان بود. اما بعد از آن با توجه به حضور عوامل شیمی درمانی، مدیریت درمان برای این تومور بدخیم تغییر پیدا کرد (۲). در سال‌های اخیر، شیوع استئوسارکوم رو به افزایش است. اگرچه شیمی درمانی و درمان جراحی جدید معمولاً برای درمان استئوسارکوم استفاده می شود، اما اثر درمانی و پیش آگهی آن نسبتاً ضعیف است. میزان بقای ۵ ساله برای بیماران مبتلا به استئوسارکوم بدون متاستاز کمتر از ۷۰ درصد است. برخی از بیماران مبتلا به شیمی درمانی (سیس پلاتین، متوترکسایت، دوکسوروبیسین و ایفوسفامید) حساس نیستند و برخی دیگر قادر به تحمل عوارض جانبی شیمی درمانی از جمله سرکوب مغز استخوان، سمیت کلیه و واکنش‌های گوارشی نمی باشند (۳، ۴). بنابراین، لازم است جهت درمان بیماران، از مواد جدید با عوارض جانبی کمتر و سرعت بهبودی بیشتر در نظر گرفته شود.

بر اساس طیف وسیعی از آزمایشات انجام شده، مواد شیمیایی گیاهی شامل پلی فنول ها، فلاون ها و فلاوونوئیدها دارای ویژگی های ضد سرطانی قابل توجهی هستند که می‌تواند در انواع مختلف سرطان‌ها مورد استفاده قرار گیرد (۵). در این راستا، کوئرستین که می تواند به طور گسترده در غذاهای روزانه از جمله آجیل، چای، سبزیجات، بروکلی، سیب و به طور کلی برنامه غذایی روزانه مردم مشاهده شود، یک ماده فیتوشیمیایی رایج می‌باشد (۶). علاوه بر این، این ماده از نظر تجاری قابل دسترس است، و در حال حاضر استفاده خوراکی آن با دوز ۱ گرم در روز به اندازه کافی ایمن می باشد و می‌تواند تا ۶۰ درصد در بدن جذب شود (۷). طیف وسیعی از فعالیت‌های دارویی برای کوئرستین گزارش شده است، از جمله آن‌ها می‌توان به خواص آنتی اکسیدانی، ضد دیابتی، ضد التهابی، ضد روماتیسم، ضد تکثیر سلولی و همچنین اثرات محافظتی بر روی سلول‌ها، کبد و رگ اشاره کرد (۱۰-۸). علاوه بر این، تعداد قابل توجهی از مطالعات بر روی خواص ضد سرطانی کوئرستین متمرکز شده است. بر اساس شواهد موجود، کوئرستین می تواند طیف وسیعی از سرطان‌ها مانند سینه، ریه، نازوفارنکس، روده بزرگ، پروستات، پانکراس و سرطان تخمدان را مهار کند (۱۱، ۱۲). در این زمینه کوئرستین از راه های متفاوتی باعث کاهش زنده مانی سلول‌های سرطانی در مطالعات *IN-VIVO* و *IN-VITRO* می‌شود، از جمله از طریق مسیرهای آپوپتوز، تکثیر، التهاب و اوتوفاژی (۱۶-۱۳). در محیط *IN-VITRO* کوئرستین توانسته است باعث کمتر شدن مقاومت در استفاده از داروهای ضد سرطان شود و همچنین نقش سینرژیسمی آن با بسیاری از داروهای ضد سرطانی مشخص شده است (۱۳، ۱۷، ۱۸). با توجه به اینکه کوئرستین بر روی سلول های سالم اثری ندارد، بنابراین آن را کاندید مناسبی برای درمان سرطان به عنوان یک عامل مکمل در کنار سایر داروهای ضد سرطان می توان به شمار آورد (۱۹). همچنین این ماده از طریق اثرات آنتی اکسیدانی خود نیز می تواند باعث اثرات ضد سرطانی شود که یکی از آنها کاهش گونه های فعال اکسیژن و نیتروژن می‌باشد (۲۰). NO یک رادیکال آزاد بیولوژیکی ناپایدار، چربی دوست و بسیار قابل انتشار است که عملکردهای بیولوژیکی متعددی را تنظیم می‌کند (۲۱). نقش NO در فرآیندهای بیولوژیکی به منبع تولید، مدت زمان و غلظت مکانی آن بستگی دارد. در غلظت‌های پایین‌تر، NO اثرات محافظت بر روی سلولهای سرطانی را دارد و از طریق فعال سازی مسیرهای انکوژنیک باعث ایجاد سرطان می شود. با این حال، در غلظت‌های بالاتر، نشان داده شده است که NO اثرات سیتوتوکسیک در سلول‌های سرطانی ایجاد می‌کند و آپوپتوز را القا می‌کند (۲۲). در بسیاری از مطالعات NO باعث بی ثباتی ژنومی، تحریک رگزایی، مهار آپوپتوز در سلول‌های سرطانی و تکثیر سلول‌های سرطانی می شود (۲۳). در یکی از مطالعات انجام شده نشان داده شد که نیتریک اکساید سنتاز القایی (iNOS) که باعث تولید NO می شود ممکن است یک نشانگر زیستی مفید برای ارزیابی پیشرفت تومور برای اوستئوسارکوم باشد که از طریق سیگنالینگ Wnt/β-catenin می‌تواند باعث تکثیر، پیشرفت و تهاجم در این نوع از سلول‌ها شود (۲۴).

بنابراین در این مطالعه، به بررسی اثر کوئرستین بعنوان

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-05-31]

یک داروی ضد سرطان بر روی سلول های سرطانی Saos-2 پرداخته شد و اینکه آیا NO تولید شده در حضور کوئرستین می تواند در کاهش زنده مانی سلول‌های سرطانی نقش داشته باشد یا خیر.

روش کار

کشت سلولی سلول‌های Saos-2: سلول‌های Saos-2 از بخش فارماکولوژی دانشگاه علوم پزشکی ایران تهیه گردید. کرایوتیوب حاوی human cell line $saos_2$ از تانک ازت خارج شد و محتویات داخل کرایوتیوب به فالکون ۱۵cc منتقل و به جهت حذف DMSO استفاده شده در مرحله دفریز سلول ها، از محیط کشت DMEM به همراه FBS برای سانترفیوژ به مدت ۱۰ دقیقه و با سرعت rpm2000 استفاده گردید. سپس مایع رویی دور ریخته شده و پلت سلولی که ته فالکون مشخص است با رعایت شرایط اسپیتک با حجم نهایی 5cc به داخل فلاسک فیلتر دار ۲۵cc که حاوی ۱٪ آنتی بیوتیک و ۱۰٪ FBS منتقل می شود. کشت مورد نظر در انکوباتور با ۵٪ CO2 و در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد نگه داری می شوند. بعد از رشد سلول‌ها آنها را به پلیت ۹۶ خانه (در هر چاهک ده هزار سلول) انتقال داده و بعد از گذشت ۲۴ ساعت، با داروی کوئرستین تیمار می شوند.

تیمار کردن سلول‌های $Saos_2$ با کوئرستین: محیط کشت حاوی کوئرستین با غلظت‌های ۱۰۰، ۱۱۰، ۱۲۰، ۱۳۰، ۱۴۰ و ۱۵۰ میکرومولار به سلول های Saos-2 اضافه شده (غلظت‌های بدست آمده با توجه سایر مقالات تعیین شده‌اند)و مجدداً پلیت به مدت ۷۲ ساعت جهت تأثیر دارو در انکوباتور قرار داده می شود. پس از طی دوره انکوباسیون از روش MTT برای بررسی میزان حیات سلول‌ها استفاده می‌شود.

بررسی میزان زنده بودن سلول‌ها با استفاده از آزمون MTT: این روش به عنوان یک شاخص بقای سلولی مورد استفاده قرار می‌گیرد. این روش یک تست متابولیک رقابتی میتوکندریایی است و بر اساس شکستن نمک تترازولیوم توسط آنزیم سوکسینات دهیدروژناز میتوکندریایی سلولهای زنده استوار است. در این روش احیا MTT (۰/۵ mg/ml) منجر به تشکیل کریستال‌های فورمازان می‌شود که این امر در نتیجه تأثیر آنزیم‌های دهیدروژناز میتوکندریهای سلول های زنده صورت می‌گیرد. کریستال‌های فورمازان ایجاد شده سپس در دی متیل سولفواکسید (DMSO) حل و یک محلول بنفش رنگ ایجاد می‌کنند. بعد از گذشت 72 ساعت از اضافه نمودن دارو به چاهک، ۱۰۰ میکرولیتر از محلول رویی سلول‌ها بیرون ریخته و بعد از آن ۱۰ میکرولیتر از محلول تهیه شده MTT به چاهک ها اضافه می شود و پلیت به مدت ۴-۳ ساعت انکوبه شود. بعد از گذشت این مدت، باقیمانده محیط را از چاهک خارج نموده و به هر چاهک ۱۰۰ml DMSO اضافه می شود تا فورمازان حاصله حل گردد. با استفاده از شیکر، پلیت به مدت ۱۵ دقیقه تکان می‌خورد و حل شدن فورمازان را تسهیل می نماید(۲۵).

اندازه‌گیری NO: مقدار نیتریت(NO_2^-) موجود در محیط های مصرف شده پس از اتمام دوره کشت نشان دهنده مقدار نیتریک اکساید تولید شده توسط سلول ها می باشد زیرا نیتریک اکساید بسیار ناپایدار بوده و پس از تولید سریعا به نوع پایدار نیتریت تبدیل می شود و بنابراین نیتریت یک شاخص قابل اطمینان جهت اندازه گیری مقدار نیتریک اکساید تولید شده توسط سلولها می باشد. این مولکول برخلافNO ، پایدار و غیرفرار می‌باشد. این روش برای اولین بار توسط گریس (Greiss assay method) ارائه شد (۲۶).

به منظور تهیه منحنی استاندارد، از NaNo2 استفاده می شود. جهت بی آب کردن این ترکیب، آن را به مدت ۴ ساعت در دمای ۱۱۰ درجه سانتی گراد قرار داده و بعد از آن غلظت های مختلف سدیم نیتریت تهیه شده و در هر ستون از چاهک های پلیت ۹۶ به میزان ۱۰۰ µL ریخته می شود. به میزان ۱۰۰ µL از معرف Greiss (متشکل از سولفانیلامید ۱ ٪+ نفتالین دی هیدروکلرید ۰/۱٪ حل شده در اسید ارتو فسفریک ۲/۵٪) نیز به همه چاهک ها اضافه می شود. همچنین از محیط کنترل نیز بعنوان (blank) استفاده شد. این مرحله در تاریکی صورت می گیرد و به مدت ۲۰ دقیقه پلیت به آرامی توسط شیکر، تکان خورده و در آخر با دستگاه الایزا جذب نوری در ۴۵۰ nm خوانده می‌شود. برای هر نمونه، سنجش نیتریت دو بار تکرار شد. اطلاعات به دست آمده در نرم

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-05-31]

افزار اکسل وارد می شود. سپس با استفاده از رگرسیون خطی (ضریب رگرسیون بالای ۰/۹۵) مقدار نیتریت در نمونه های مختلف از روی منحنی استاندارد تعیین گردید. برای اندازه گیری مقدار NO در نمونه ها، بعد از شمارش سلول ها و انتقال آنها به چاهک های پلیت ۹۶ خانه به روش ذکر شده در تست MTT و گذشت ۲۴ ساعت از انکوماسیون آنها، ۱۰۰ml محیط کشت حاوی غلظت های مشخص کوئرستین به چاهک‌ها اضافه می‌شود و ۷۲ ساعت زمان انکوباسیون در نظر گرفته می‌شود. بعد از گذشت این مدت در مرحله انجام این تست ۱۰۰ml از محلول رویی هر چاهک به دقت و آرامی برداشته می شود و به میکروتیوپ مخصوص همان چاهک منتقل می شود و بلافاصله میکروتیوپ های در بسته را در ظرف حاوی یخ قرار می دهند. میکروتیوپ ها به مدت ۱۰ دقیقه با دور 10^4 rpm در میکروسانتریفوژ قرار داده می شوند. حدود ۵۰µl ازمحلول سانتریفوژ شده هر میکروتیوپ به ۹۶plate خانه استریل منتقل می شود و به نسبت ۱ به ۱ به آنها معرف گریس تازه تهیه شده در غیاب نور محیط اضافه می شود. پلیت را دور از نور یا در پوشش آلومینیومی نگهداری می کنند و بعد از گذشت ۱۵ دقیقه جذب نوری نمونه) را 570_{nm} می خوانند.

تجزیه و تحلیل داده‌ها: جهت آنالیز آماری داده‌ها و مقایسه بین گروهی از واریانس یک طرفه ANOVA و آزمون TUKEY و به وسیله نرم افزار graphpad prism (ویرایش ۸) انجام گرفت و نتایج حاصله بصورت Mean (±SEM) گزارش شد. $P<0/05$ معنی دار تلقی گردید.

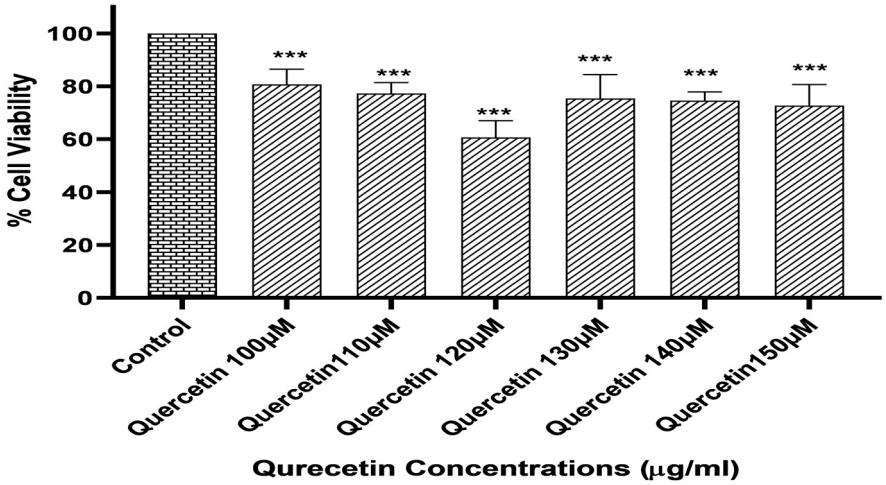
یافته‌ها

بررسی زنده بودن سلول‌های $Saos_2$ با غلظت‌های مختلف کوئرستین:

با توجه به نمودار ۱ مشخص می‌شود کوئرستین موجب کاهش درصد زنده مانی سلول‌های $Saos_2$ در مقایسه با گروه کنترل شده است. با اینکه در تمامی غلظت‌ها کاهش زنده مانی سلول ها مشاهده می‌شود اما غلظت ۱۲۰ ماکرومولار (۶۰/۶۶±۲/۱) بهترین درصد کاهش زنده مانی را نسبت به بقیه غلظت‌های کوئرستین و گروه کنترل (۱۰۰٪) ایجاد کرده است که این اختلاف معنی دار می‌باشد (نمودار ۱). تفاوت معنی داری بین غلظت های ۱۵۰-۱۳۰ ماکرومولار کوئرستین با غلظت ۱۱۰ ماکرومولار مشاهده نشد.

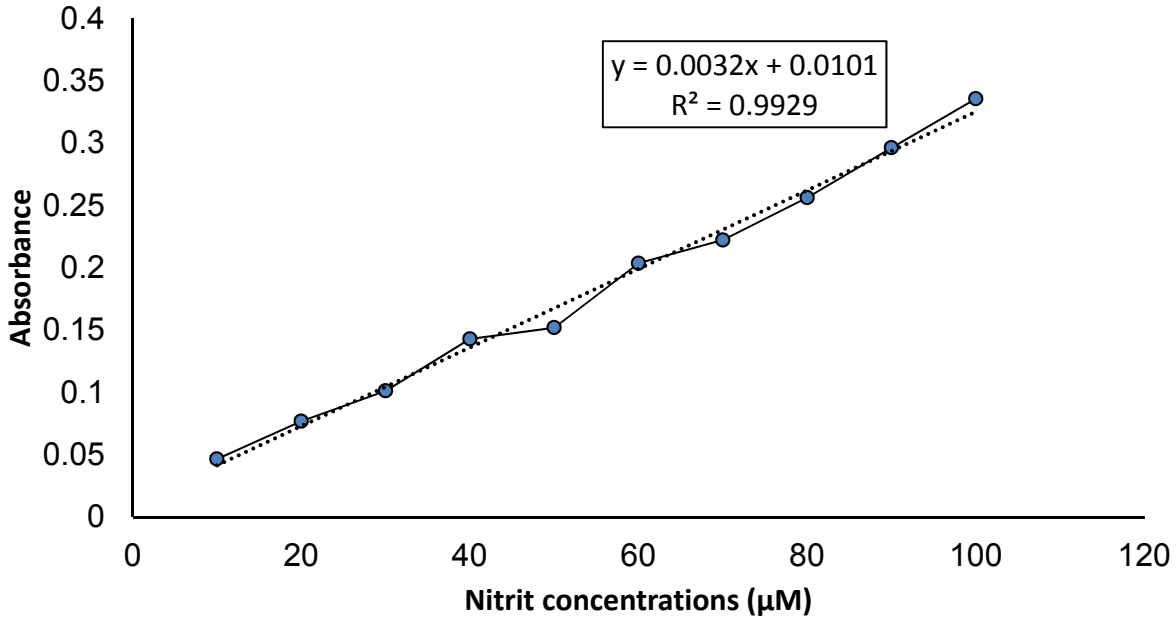
بررسی اثر کوئرستین بر مقدار NO تولید شده در سلول‌های $Saos_2$

با استفاده از رگرسیون خطی، مقدار نیتریت در نمونه‌های مختلف از روی منحنی استاندارد تعیین گردید (نمودار ۲). با توجه به نمودار۳ مشخص می شود که میزان تولید NO توسط سلول‌های سرطانی Saos2 تیمار شده با غلظت‌های مختلف کوئرستین تفاوت معنی داری با گروه کنترل داشته است. بهترین کاهش در



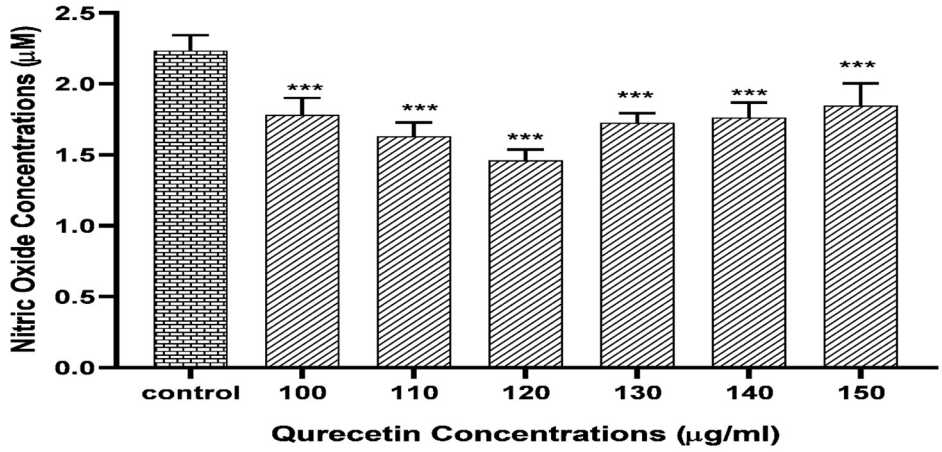
نمودار ۱- درصد بقای سلول‌های $Saos_2$ در مجاورت غلظت‌های مختلف کوئرستین. $P<0.05$ *** در مقایسه با گروه کنترل می‌باشد.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-05-31]



نمودار ۲- منحنی استاندارد NaNo2

در روشNO، منحنی ا ستاندارد نیتریت سدیم برای اندازه گیری NO ر سم می شود و معادله خط محا سبه می‌گردد. عدد به د ست آمده به عنوان y در معادله خط منحنی ا ستاندارد قرار داده می شود و x یا غلظت NO هر نمونه محاسبه می‌گردد.



نمودار۳- بررسی غلظت‌های مختلف کوئرستین بر مقدار NO تولید شده در سلول‌های $Saos_2$ *P <0.05* *** در مقایسه با گروه کنترل می‌باشد.

غلظت ۱۲۰ میکرومولار دیده شد (۱/۴۶±۰/۰۱).

بحث

ا ستئو سارکوم یک تومور ا ستخوانی با منشأ مزانشیمی ا ست که اغلب در مرحله ر شد سریع ا ستخوان‌های بلند رخ می‌د هد و معمولاً در صفحات رشد اپی فیز یال ا ستخوان ران یا در شت نی قرار دارد (۲۷). ا ستئو سارکوم در کودکان و نوجوانان بعنوان شایع ترین تومور بدخیم اولیه استخوان شناخته شده است و توانایی آن برای مهاجرت به بافت های دورتر نشان دهنده پیشرفت سریع این بیماری است. علاوه بر این، بیماران مبتلا به ا ستئو سارکوم متا ستاتیک به عوامل شیمی درمانی رایج فعلی (سیس پلاتین، متوترکسات، دوکسوروبیسین و ایفوسفامید) پاسخ ضعیفی می‌دهند (۱، ۲۸). اگرچه چندین رژیم شیمی درمانی در ۲۰ سال گذشته برای این بدخیمی در نظر گرفته شده است، اما میزان بقای بیماران

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-05-31]

هنوز رضـایت بخش نیسـت و هیچ درمان هدفمند عملی پیدا نشده است. بنابراین، مطالعاتی با هدف توسعه درمان های جدید برای بهبود این سرطان ضروری است.

بر اساس طیف گسترده ای از آزمایشات، فیتوکمیکال‌ها از جمله پلی فنول ها، فلاون ها و همچنین فلاونوئید ها دارای ویژگی های ضـد سـرطانی قابل توجهی هسـتندکه می تواند در برابر انواع مختلف سـرطان اسـتفاده شـوند (۱۱). کوئرستین، یک فلاونوئید فعال زیستی می باشد که به طور طبیعی در بسیاری از غذاهای رایج وجود دارد و به دلیل ماهیت لیپوفیلیک خود می‌تواند از غشـای سـلولی عبور کرده و مسیرهای مختلف درون سلولی را تحت تاثیر قرار دهد. کوئرسـتین دارای اثراتی از جمله اثرات آنتی اکسیدانی، ضد التهابی، ضد دیابتی، ضد ویروسی بوده و فعالیت حرکتی دسـتگاه گوارش را تنظیم کرده و اثر حفاظتی بر روی سـیسـتم قلب و عروق دارد. همچنین شـواهد نشـان می دهد که کوئرسـتین دارای اثرات ضـد سرطانی هم در محیط *In-Vivo* و هم در محیط *In-Vitro* نیز می باشد که به اثرات آنتی اکسیدانی و ضد التهابی آن بر می‌گردد (۱، ۲۹-۳۲). با این وجود مطالعات کمی بر روی اثرات این دارو روی استئوسارکوم انجام گرفته است (۲۸). قابلیت دسترسی گسترده این ماده، اثربخشی خوب، سمیت کم و قیمت ارزانتر آن نسبت به داروهای شیمیایی، آن را به یک ماده مناسب در مبارزه با بیماری ها از جمله سـرطان تبدیل کرده اسـت. این دارو به عنوان یک داروی جایگزین در درمان سـرطانهای مختلف به تنهایی یا در ترکیب با سایر داروهای شیمی درمانی مورد استفاده قرار گرفته است (۳۳).

مطالعه ما نشـان داد که کوئرسـتین توانسـته اسـت در تمامی غلظت‌های بکار برده شـده باعث کاهش زنده مانی سلول‌های سرطانی Saos-2 شود و بهترین غلظت ۱۲۰ ماکرومول می باشـد که توانسـته اسـت باعث ۵۰ درصـد کاهش در زنده ماندن سلول های Saos-2 شود. مطالعه ما همسو با دیگر مطالعات انجام شده است. بعنوان مثال در یکی از تحقیقات، به بررسـی اثرات کوئرسـتین بر روی مهاجرت و تهاجم استئوسارکوم تحت شرایط *in-vitro* و *in- vivo*پرداخته است. سلول های مورد استفاده در این مطالعه HOS و MG63 و حیوان مورد اسـتفاده نیز موش‌های حاوی استئوسارکوم انسانی متاستاز شده در ریه می‌باشند. نتایج نشان داد که کوئرستین دارای اثرات مهاری در اسـتئوسـارکوم انسـانی بوده و همچنین باعث جلوگیری از متاسـتاز آن در دیگر بافتها گردید (۲۸). مطالعه دیگری به بررسـی اثرات کوئرسـتین (۸۰-۲۰ ماکرومول) بر روی رده سـلول های Saos-2 و U2OS پرداخت. نتایج تاثیر اثر کوئرسـتین بر روی زنده مانی سـلول هـا در این شـرایط از طریق انـدازه گیری Sulforhodamine B (SRB) انجام گرفت و مشخص شد که کوئرستین در هر دو رده سلولی توانسته است بطور معنی دار و وابسـته به دوز باعث کاهش زنده ماندن سلول‌ها شود (۳۴). در مطالعه دیگری که توسط لیانگ و همکاران انجام گرفت نشان داده شد که کوئرستین زنده ماندن سـلول های MG-63 (یک نوع از سـلول های استئوسارکوم) را وابسته به دوز و زمان مهار کرد. ظاهرا این اثر کوئرسـتین در این تحقیق بـه افزایش بیـان پروتئین های پرو آپوپتوتیک (Bax و سـیتوکروم C) و کاهش بیان پروتئین‌های آنتی آپوپتوتیک (Bcl-2) نسبت داده شده است (۳۵). در مطالعه دیگری که توسط زنگ و همکاران انجام گرفت نشان داده شد که کوئرستین با دوز ۵ ماکرومول می تواند باعث اثر بخشـی بیشـتر داروی سیس پلاتین در درمان اوستئوسارکوم رده سلولی 143B شـود که این اثر مربوط به تنظیم مسـیر miR-217-KRAS می باشد. این یافته نشان می‌دهد که کوئرستین می تواند باعث افزایش حساسیت داروی سیس پلاتین به سلول های سـرطانی اسـتئوسـارکوم شـود (۳۶). مطالعه دیگری نشـان داد که کوئرسـتین در سـلول های استئوسارکوم U2-OS مقاوم به متوترکسایت، توانست باعث کاهش درصـد زنده مانی سـلول‌ها با اختلال در عملکرد میتوکندریایی و دفسـفریلاسـیون AKT شـود (۳۷). در مطاله دیگری نیز اثرات ضد سرطانی کوئرستین در کنار داروی متوترکسایت در سلول‌های Saos-2 مورد بررسی قرار گرفت. در این مطالعه نشان داده شده که در حضـور کوئرسـتین (IC50=142.3 µM) IC50 متوترکسـایت از 13.7 ng/ml به 8.45 ng/mlکاهش پیدا کرد. همچنین این مطالعه نشان داد که کوئرستین همراه با متوترکسـایت توانسـت باعث کاهش پرولیفراسـیون

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-05-31]

سلول‌های Saos-2 و افزایش بیان ژن‌های تومور ساپرسور ها شوند(۳۸). این یافته‌ها نشان می‌دهد که کوئرستین می تواند کاندیدای موفقی جهت کاهش زنده مانی سلول‌های سرطانی در کنار داروهای شیمی درمانی و افزایش حساسیت این داروها به پاسخ درمانی شود. همچنین با توجه به اینکه اقدام به موقع در تشخیص و درمان این سرطان نقش مهمی در تعویق قطع اندام می تواند داشته باشد بنابراین استفاده از یک داروی گیاهی و بی خطر می تواند کمک زیادی در بهبود روند درمان این سرطان داشته باشد و به نظر می رسد که کوئرستین یک گزینه مناسب برای درمان سرطان به تنهایی یا در ترکیب با سایر عوامل درمانی است (۱).

NO یک مولکول با نیمه عمر بسیار کوتاه است که توسط نیتریک اکسید سینتاز تولید می شود. NO برای اولین بار جزء عوامل ریلکس کننده اندوتلیوم تشخیص داده شد، اما در حال حاضر تعداد فرایندهای بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی که تحت سیگنالینگ NO قرار می گیرند همچنان در حال افزایش است (۳۹). در بسیاری از مطالعات مشخص گردید که NO بر رشد و متاستاز سلول های توموری تأثیر می گذارد و این در حالی است که مطالعات دیگر نظری متفاوت از نظر اولیه را دارند. در حال حاضر به نظر می رسد که اثرات NO بر روی سلول های سرطانی دوگانه می باشد، از یک طرف این ماده قادر است باعث رشد تومور شود و از طرف دیگر می تواند باعث از بین رفتن آن شود. در حال حاضر با توجه مطالعات انجام شده این اثر دوگانه NO بر روی تومور، به نوع سلول سرطانی، مقدار NO تولید شده و محیط پیرامون آن بافت نسبت داده شده است (۴۰، ۴۱). بعنوان مثال بورک و همکاران در سال ۲۰۱۳ نشان دادند که غلظت NO می تواند عامل مهمی در روند جلوگیری و یا پیشرفت تومور داشته باشد. در این مطالعه مشخص شد غلظت کم NO می تواند باعث افزایش رشد، آنژیوژنزیز و متاستاز در سلول شود اما غلظت های زیاد آن می تواند منجر به افزایش اکسیداتیو استرس، آسیب به DNA و افزایش آپوپتوز شود (۴۱).

در این مطالعه مشخص شد که کوئرستین در تمامی غلظت ها توانسته است باعث کاهش تولید مقدار نیتریک اکساید شود. هر چند غلظت ۱۲۰ ماکرومول بهترین کاهش در تولید NO را داشت. با توجه به نتایج چنین استنباط می شود که کاهش مقدار تولید NO در سلول های Saos-2 در حضور کوئرستین می تواند به اثرات آنتی اکسیدانی این ماده اشاره داشته باشد. در مطالعات متعددی به بررسی ساختار کوئرستین پرداخته شد و اثرات آنتی اکسیدانی آن را بعلت وجود استخلاف های مختلف این ماده در از بین بردن رادیکال های آزاد بیان کردند (۹، ۴۲). در آزمایشات دیگری نیز نقش کوئرستین در کاهش مقدار NO مورد بررسی قرار گرفته است. بطور مثال در یک مقاله مشخص شد که کوئرستین توانسته است باعث کاهش التهاب ایجاد شده از طریق کاهش تولید NO و کاهش بیان iNOS در سلول های ماکروفاژ شود (۴۳). در مطالعه دیگری اثرات فلاونوئیدها در حذف NO مورد بررسی قرار گرفت و مشخص گردید که اثرات آنتی اکسیدانی این مواد نقش موثری در کاهش مقدار NO دارد (۴۴). در مقاله دیگری به بررسی اثرات حفاظتی کوئرستین بر روی استخوانها پرداخته است. در این مقاله اثرات حفاظتی کوئرستین به استئوکلاستوژنزیز، آپوپتوز اوستئوبلاست، پاسخ‌های ضد التهابی و آنتی اکسیدانی آن مربوط می باشد و یکی از فاکتورهای مهم در افزایش اثرات آنتی اکسیدانی این ماده وابسته به کاهش مقدار NO در استخوان می باشد. با توجه به اثر مهم کوئرستین در تنظیم هموستاز استخوان، ممکن است این ماده به عنوان یک فاکتور اقتصادی و امیدوار کننده برای بهبود سلامت استخوانها در نظر گرفته شود(۴۵). در مطالعه دیگری که توسط ابدلکارم و همکاران انجام شد نقش کوئرستین در کاهش آسیب وارده به استخوان از طریق القا نانو-زینک اکساید به اثبات رسید. در این مطالعه مشخص شد کاهش تجزیه استئوکلاست ها به بطور معنی داری با کاهش مقدار NO بعد از استفاده از کوئرستین در ارتباط می باشد (۴۶).

نتیجه‌گیری

با توجه به مقالات و همچنین مطالعه اخیر می توان به این نتیجه رسید که کوئرستین احتمالا با اثرات آنتی اکسیدانی خود از جمله کاهش در تولید NO در سلول

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-05-31]

های Saos2 می تواند باعث اثرات حفاظتی برآسیب وارد شده به استخوان شود.

با توجه به این نتایج می توان پیشنهاد کرد که کوئرستین بعنوان یک ماده آنتی اکسیدان می تواند باعث کاهش تولید مقدار NO در سلول های سرطانی Saos-2 و در نتیجه کاهش زنده مانی آنها شود. هر چند تحقیقات گسترده تری جهت مکانسیم این دارو در محیط آزمایشگاهی و آزمایشات بیشتر بر روی حیوانات دچار اوستئوسارکوم باید انجام گردد.

تقدیر و تشکر

با تشکر از سرکام خانم اشرف السادات معظم که ما را در پایان رساندن این مطالعه یاری دادند.

References

1. Maleki Dana P, Sadoughi F, Asemi Z, Yousefi B. Anti-cancer properties of quercetin in osteosarcoma. Cancer Cell Int. 2021;21(1):1-9.

2. Misaghi A, Goldin A, Awad M, Kulidjian AA. Osteosarcoma: a comprehensive review. Sicot J. 2018;4.

3. Casali PG, Bielack S, Abecassis N, Aro H, Bauer S, Biagini R, et al. Bone sarcomas: ESMO–PaedCan–EURACAN Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. Ann Oncol. 2018;29:iv79-iv95.

4. Xie WP, Zhang Y, Zhang YK, Li G, Xin J, Bi RX, et al. Treatment of Saos-2 osteosarcoma cells with diallyl trisulfide is associated with an increase in calreticulin expression. Exp Ther Med. 2018;15(6):4737-42.

5. Thomasset SC, Berry DP, Garcea G, Marczylo T, Steward WP, Gescher AJ. Dietary polyphenolic phytochemicals—promising cancer chemopreventive agents in humans? A review of their clinical properties. IJC. 2007;120(3):451-8.

6. Metodiewa D, Jaiswal AK, Cenas N, Dickancaité E, Segura-Aguilar J. Quercetin may act as a cytotoxic prooxidant after its metabolic activation to semiquinone and quinoidal product. Free Radic Biol Med. 1999;26(1-2):107-16.

7. Harwood M, Danielewska-Nikiel B, Borzelleca J, Flamm G, Williams G, Lines T. A critical review of the data related to the safety of quercetin and lack of evidence of in vivo toxicity, including lack of genotoxic/carcinogenic properties. FCT. 2007;45(11):2179-205.

8. Hirpara KV, Aggarwal P, Mukherjee AJ, Joshi N, Burman AC. Quercetin and its derivatives: synthesis, pharmacological uses with special emphasis on anti-tumor properties and prodrug with enhanced bio-availability. Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents). 2009;9(2):138-61.

9. Boots AW, Haenen GR, Bast A. Health effects of quercetin: from antioxidant to nutraceutical. Eur J Pharmacol. 2008;585(2-3):325-37.

10. Saccol RdSP, da Silveira KL, Manzoni AG, Abdalla FH, de Oliveira JS, Dornelles GL, et al. Antioxidant, hepatoprotective, genoprotective, and cytoprotective effects of quercetin in a murine model of arthritis. J Cell Biochem. 2020;121(4):2792-801.

11. Vafadar A, Shabaninejad Z, Movahedpour A, Fallahi F, Taghavipour M, Ghasemi Y, et al. Quercetin and cancer: new insights into its therapeutic effects on ovarian cancer cells. Cell Biosci. 2020;10(1):10-17.

12. Yang Y, Wang T, Chen D, Ma Q, Zheng Y, Liao S, et al. Quercetin preferentially induces apoptosis in KRAS-mutant colorectal cancer cells via JNK signaling pathways. Cell Biol Int. 2019;43(2):117-24.

13. Kashyap D, Garg VK, Tuli HS, Yerer MB, Sak K, Sharma AK, et al. Fisetin and quercetin: promising flavonoids with chemopreventive potential. Biomolecules. 2019;9(5):174.

14. Kashyap D, Tuli HS, Garg VK, Goel N, Bishayee A. Oncogenic and tumor-suppressive roles of MicroRNAs with special reference to apoptosis: molecular mechanisms and therapeutic potential. Mol Diagn Ther. 2018;22(2):179-201.

15. Sezer ED, Oktay LM, Karadadaş E, Memmedov H, Selvi Gunel N, Sözmen E. Assessing anticancer potential of blueberry flavonoids, quercetin, kaempferol, and gentisic acid, through oxidative stress and apoptosis parameters on HCT-116 cells. J Med Food. 2019;22(11):1118-26.

16. Tang SM, Deng XT, Zhou J, Li QP, Ge XX, Miao L. Pharmacological basis and new insights of quercetin action in respect to its anti-cancer effects. Biomed Pharmacother. 2020;121:109604.

17. Shanmugam MK, Lee JH, Chai EZP, Kanchi MM, Kar S, Arfuso F, et al., editors. Cancer prevention and therapy through the modulation of transcription factors by bioactive natural compounds. Semin Cancer Biol; 2016: Elsevier.

18. Shanmugam MK, Kannaiyan R, Sethi G. Targeting cell signaling and apoptotic pathways by dietary agents: role in the prevention and treatment of cancer. Nutr Cancer. 2011;63(2):161-73.

19. Vargas AJ, Burd R. Hormesis and synergy: pathways and mechanisms of quercetin in cancer prevention and management. Nutr Rev.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-05-31]

2010;68(7):418-28.
20. Reyes-Farias M, Carrasco-Pozo C. The anti-cancer effect of quercetin: molecular implications in cancer metabolism. Int J Mol Sci. 2019;20(13):3177.
21. Khan FH, Dervan E, Bhattacharyya DD, McAuliffe JD, Miranda KM, Glynn SA. The role of nitric oxide in cancer: master regulator or NOt? Int J Mol Sci. 2020;21(24):9393.
22. Korde Choudhari S, Chaudhary M, Bagde S, Gadbail AR, Joshi V. Nitric oxide and cancer: a review. World J Surg Oncol. 2013;11(1):1-11.
23. Huerta S. Nitric oxide for cancer therapy. Future Sci OA. 2015;1(1).
24. Chu W, Cao L, Daokun G, Zhao J. iNOS promotes the development of osteosarcoma via Wnt/β-catenin pathway. J Immunol Res. 2021;
25. Fotovat Eskandari N, Vahabzadeh G, Golab F, Karimzadeh F, Rahimi-Moghadam P, Nasiripour S, et al. Neuroprotective Effects of Stiripentol on Oxygen-Glucose Deprivation in Primary Culture of Fetal Mice Cortical Neurons. Neurosci J Shefaye Khatam. 2017;5(1):7-10.
26. Hamby DM. A review of techniques for parameter sensitivity analysis of environmental models. Environ Monit Assess. 1994;32(2):135-54.
27. de Azevedo JWV, Fernandes TAAdM, Fernandes JV, de Azevedo JCV, Lanza DCF, Bezerra CM, et al. Biology and pathogenesis of human osteosarcoma. Oncol Lett. 2020;19(2):1099-116.
28. Lan H, Hong W, Fan P, Qian D, Zhu J, Bai B. Quercetin inhibits cell migration and invasion in human osteosarcoma cells. ell Physiol Biochem. 2017;43(2):553-67.
29. El-Gogary RI, Rubio N, Wang JT-W, Al-Jamal WT, Bourgognon M, Kafa H, et al. Polyethylene glycol conjugated polymeric nanocapsules for targeted delivery of quercetin to folate-expressing cancer cells in vitro and in vivo. ACS nano. 2014;8(2):1384-401.
30. Lakhanpal P, Rai DK. Quercetin: a versatile flavonoid. IJMU. 2007;2(2):22-37.
31. Kim H, Moon JY, Ahn KS, Cho SK. Quercetin induces mitochondrial mediated apoptosis and protective autophagy in human glioblastoma U373MG cells. Oxid Med Cell Longev. 2013;2013.
32. Filipa Brito A, Ribeiro M, Margarida Abrantes A, Salome Pires A, Jorge Teixo R, Guilherme Tralhao J, et al. Quercetin in cancer treatment, alone or in combination with conventional therapeutics? Curr Med Chem. 2015;22(26):3025-39.
33. Rauf A, Imran M, Khan IA, ur-Rehman M, Gilani SA, Mehmood Z, et al. Anticancer potential of quercetin: A comprehensive review. Phytother Res. 2018;32(11):2109-30.
34. Li S, Pei Y, Wang W, Liu F, Zheng K, Zhang X. Quercetin suppresses the proliferation and metastasis of metastatic osteosarcoma cells by inhibiting parathyroid hormone receptor 1. Biomed Pharmacother. 2019;114:108839.
35. Liang W, Li X, Li C, Liao L, Gao B, Gan H, et al. Quercetin-mediated apoptosis via activation of the mitochondrial-dependent pathway in MG-63 osteosarcoma cells. Mol Med Rep. 2011;4(5):1017-23.
36. Zhang J-Y, Lin M-T, Zhou M-J, Yi T, Tang Y-N, Tang S-L, et al. Combinational treatment of curcumin and quercetin against gastric cancer MGC-803 cells in vitro. Mol Cells. 2015;20(6):11524-34.
37. Xie X ,Yin J, Jia Q, Wang J, Zou C, Brewer KJ, et al. Quercetin induces apoptosis in the methotrexate-resistant osteosarcoma cell line U2-OS/MTX300 via mitochondrial dysfunction and dephosphorylation of Akt. Oncol Rep. 2011;26(3):687-93.
38. Mohammadi E, Alemi F, Maleki M, Malakoti F, Farsad-Akhtar N, Yousefi B. Quercetin and Methotrexate in Combination have Anticancer Activity in Osteosarcoma Cells and Repress Oncogenic MicroRNA-223. Drug Res. 2022;72(04):226-33.
39. Mintz J, Vedenko A, Rosete O, Shah K , Goldstein G, Hare JM, et al. Current advances of nitric oxide in cancer and anticancer therapeutics. Vaccines. 2021;9(2):94.
40. Kamm A, Przychodzen P, Kuban-Jankowska A, Jacewicz D, Dabrowska AM, Nussberger S, et al. Nitric oxide and its derivatives in the cancer battlefield. Nitric Oxide. 2019;93:102-14.
41. Burke AJ, Sullivan FJ, Giles FJ, Glynn SA. The yin and yang of nitric oxide in cancer progression. Carcinogenesis. 2013;34(3):503-12.
42. Panche AN, Diwan AD, Chandra SR. Flavonoids: an overview. J Nutr Sci. 2016;5.
43. Kao TK, Ou YC, Raung SL, Lai CY, Liao SL, Chen CJ. Inhibition of nitric oxide production by quercetin in endotoxin/cytokine-stimulated microglia. Life Sci. 2010;86(9-10):315-21.
44. Vanacker SA, Tromp MN, Haenen GR, Vandervijgh W, Bast A. Flavonoids as scavengers of nitric oxide radical. Biochem Biophys Res Commun. 1995;214(3):755-9.
45. Wong SK, Chin K-Y, Ima-Nirwana S. Quercetin as an agent for protecting the bone: a review of the current evidence. Int J Mol Sci. 2020;21(17):6448.
46. Abdelkarem HM, Fadda LM, Kaml OR. Alleviation of bone markers in rats induced nano-zinc oxide by qurecetin and α-lipolic acid. Toxicol Mech Methods. 2016;26(9):692-9.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-05-31]