



دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

minavash_hmd@yahoo.com

پیشگیری از بیماری های ناشی از غذاهای آلوده موجب توسعه سیستم های کنترلی امنیت غذا شده است. هم اکنون در صنعت غذا از نگهدارنده های شیمیایی برای جلوگیری از رشد میکرواورگانیزم های عامل فساد استفاده می شود. استفاده از این ترکیبات پیامد های ناخوشایندی از جمله بیماری سرطان و مسمومیت های شدید را به دنبال دارد. به نظر میرسد استفاده از مواد مؤثره گیاهان جایگزین مناسبی برای نگهدارنده های شیمیایی باشد. روشهای مختلفی برای استخراج مواد مؤثره گیاهان به کار میرود که روشهای استخراج با کمک سوکسله و تقطیر دو روشی است که حداکثر بازدهی را در استخراج مواد مؤثره گیاهان نشان دادند. گیاهان دارچین، نعناع و زردچوبه از جمله گیاهانی هستند که به عنوان ادویه در غذاهای سنتی ایرانیان مورد استفاده قرار می گیرند. همچنین گیاه زنیان در طب سنتی به عنوان داروی گیاهی کاربرد گسترده ای دارد. هدف از این مطالعه مقایسه اثر ضد میکروبی مواد مؤثره حاصل از این دو روش استخراج میباشد. پس از تهیه گیاهان مذکور از فروشندگان ادویه و گیاهان دارویی در شهر اصفهان توسط دستگاه کلونجر اسانس روغنی آنها استخراج و عصاره اتانولی آنها با کمک سوکسله حاصل شد. خاصیت ضد میکروبی آنها روی دو باکتری شاخص گرم مثبت باسیلوس سرئوس و گرم منفی ایکولای توسط روش دیسک دیفیوژن مورد مطالعه قرار گرفت. و... در طی این مطالعه مشخص گردید که ترکیبات مستخرجه از گیاهان با کمک هر دو روش دارای اثرات ضد میکروبی مؤثری در جلوگیری از رشد میکرواورگانیزم ها میباشدند.

واژگان کلیدی: نعناع، زنیان، زردچوبه، دارچین، ایکولای، باسیلوس سرئوس

بررسی اثرات سمیت سلولی ترکیب کومارینی umbelliprenin از گیاه Ferula

صفیه صبورملکی^{۱*}، مریم مقدم متین^{۱،۲}، حمید صادقیان^۳، احمد رضا بهرامی^{۱،۲}، سیده مینو حسینی مهر^۱

۱. دانشگاه فردوسی مشهد، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی

۲. دانشگاه فردوسی مشهد، پژوهشکده فناوری زیستی، گروه پژوهشی بیوتکنولوژی سلولی و مولکولی

۳. دانشگاه علوم پزشکی مشهد، دانشکده پیراپزشکی، گروه علوم آزمایشگاهی

saffiyeh66@yahoo.com

گونه های مختلف Ferula از خانواده Apiaceae به صورت خوراکی در طب سنتی ایران استفاده می شوند و بسیاری از آن ها قادر به سنتز ترکیبات کومارینی هستند که این ترکیبات فعالیت های بیولوژیکی متعددی از خود نشان داده اند. Umbelliprenin یک کومارین پرنیله شده ی طبیعی است که در گونه های جنس Ferula از جمله F. asa-foetida و F. szowitsiana یافت می شود. آنزیم ۱۵- لیپوکسیژناز نوع ۱ (LOX-1-15) از جمله آنزیم های مسیر لیپوکسیژناز می باشد که در سرطان پروستات افزایش بیان قابل توجهی را نشان داده است. Umbelliprenin از جمله مهار کننده های آنزیم لیپوکسیژناز می باشد که به تازگی پتانسیل مهار آن نسبت به LOX-1-15 تعیین شده است. در این مطالعه اثرات سمیت سلولی این ترکیب روی سلول های سرطانی پروستات رده ی PC-3 با استفاده از تست MTT مورد بررسی قرار گرفت. به منظور بررسی سمیت سلولی ترکیب umbelliprenin سلول های PC-3 با غلظت های افزایشی ۵۰ μg/ml umbelliprenin (۰.۲۵، ۰.۵، ۱، ۲، ۳، ۴، ۵، ۶، ۷، ۸، ۹، ۱۰، ۱۲، ۱۵، ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۵۰، ۶۰، ۷۰، ۸۰، ۹۰، ۱۰۰) در بازه های زمانی ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت تیمار شده و هرکدام با نمونه ی کنترل که حاوی غلظت مشابهی از DMSO بود مقایسه گردید. بررسی زنده ماندن سلول ها نشان داد که IC50 ترکیب umbelliprenin بر روی سلول های مذکور در ۴۸ و ۷۲ ساعت به ترتیب ۴۶ و ۳۲ ml/gμ بود. از آن جا که مهار آنزیم LOX-1-15 بوسیله ی umbelliprenin می تواند از رشد سلول های PC-3 جلوگیری کند، این ماده می تواند به عنوان یک ترکیب سمی در مطالعات in vivo و in vitro آینده مورد بررسی قرار گیرد.

واژگان کلیدی: Ferula. umbelliprenin، سرطان پروستات، آنزیم ۱۵- لیپوکسیژناز نوع ۱

شناسایی و بررسی تولید آنتی بیوتیک های حاصل از باکتری سویه MUT3

بررسی اثرات سمیت سلولی ترکیب کومارینی umbelliprenin از گیاه Ferula

صفیه صبورملکی^۱، مریم مقدم متین*^{۲،۱}، حمید صادقیان^۳، احمد رضا بهرامی^{۲،۱}، سیده مینو حسینی مهر^۱

۱. دانشگاه فردوسی مشهد، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی

۲. دانشگاه فردوسی مشهد، پژوهشکده فناوری زیستی، گروه پژوهشی بیوتکنولوژی سلولی و مولکولی

۳. دانشگاه علوم پزشکی مشهد، دانشکده پیراپزشکی، گروه علوم آزمایشگاهی

matin@um.ac.ir

خلاصه مقاله فارسی:

گونه های مختلف *Ferula* از خانوادهی Apiaceae به صورت خوراکی در طب سنتی ایران استفاده می شوند و بسیاری از آنها قادر به سنتز ترکیبات کومارینی هستند که این ترکیبات فعالیت های بیولوژیکی متعددی از خود نشان داده اند. Umbelliprenin یک کومارین پرنیله شده ی طبیعی است که در گونه های جنس *Ferula* از جمله *F. asa-foetida* و *F. szowitsiana* یافت می شود. آنزیم ۱۵-لیپوکسیژناز نوع ۱ (LOX-1) از جمله آنزیم های مسیر لیپوکسیژناز می باشد که در سرطان پروستات افزایش بیان قابل توجهی را نشان داده است. Umbelliprenin از جمله مهار کننده های آنزیم لیپوکسیژناز می باشد که به تازگی پتانسیل مهار آن نسبت به ۱۵-LOX-1 تعیین شده است. در این مطالعه اثرات سمیت سلولی این ترکیب روی سلول های سرطانی پروستات رده ی PC-3 با استفاده از تست MTT مورد بررسی قرار گرفت. به منظور بررسی سمیت سلولی ترکیب umbelliprenin سلول های PC-3 با غلظت های افزایشی umbelliprenin (۵۰، ۲۵، ۱۲/۵، ۶/۵، ۳) در بازه های زمانی ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت تیمار شده و هرکدام با نمونه ی کنترل که حاوی غلظت مشابهی از DMSO بود مقایسه گردید. بررسی زنده ماندن سلول ها نشان داد که IC₅₀ ترکیب umbelliprenin بر روی سلول های مذکور در ۴۸ و ۷۲ ساعت به ترتیب ۳۴/۴۵ و ۳۲/۹۹ μg/ml بود. از آن جا که مهار آنزیم ۱۵-LOX-1 بوسیله ی umbelliprenin می تواند از رشد سلول های PC-3 جلوگیری کند، این ماده می تواند به عنوان یک ترکیب سمی در مطالعات *in vivo* و *in vitro* آینده مورد بررسی قرار گیرد.

واژگان کلیدی: umbelliprenin، *Ferula*، سرطان پروستات، آنزیم ۱۵-لیپوکسیژناز نوع ۱

مقدمه:

گونه های مختلف *Ferula* از خانوادهی Apiaceae به صورت خوراکی و دارو در ایران مصرف می شوند. بسیاری از گونه های مختلف این جنس قادر به سنتز ترکیبات کومارینی می باشند (4,7,10). کومارین ها گروهی از مشتقات فنولی هستند که از حلقه های متصل بهم benzene و a-pyrone تشکیل شده اند. تاکنون بیش از ۱۳۰۰ نوع کومارین شناخته شده است که بیشتر آن ها از متابولیت های ثانویه در باکتری ها قارچ ها و گیاهان سبز هستند. Umbelliprenin یک کومارین پرنیله شده ی طبیعی است. ساختار این ترکیب شبیه به ترکیب ضد سرطان auraptene است (5). umbelliprenin یا 7-farnesyloxycoumarin (7F) در گونه های مختلف جنس *Ferula* از جمله در *F. asa-foetida* و *F. persica* یافت می شود (4,7,10). این ترکیب در سال ۲۰۰۹ توسط Askari و همکاران ساخته شد (1). سرطان پروستات رایج ترین سرطان در مردان و رایج ترین عامل مرگ و میر در غرب می باشد (11). اخیرا بیان بالای آنزیم ۱۵ لیپوکسیژناز نوع ۱ (LOX-1 یا 15-lipoxygenase-1) در سرطان پروستات انسانی گزارش شده است (8,9,12). طبق مطالعات انجام شده ترکیبی که توانایی مهار فعالیت آنزیم 15-LOX-1 را داشته باشد ممکن است در جلوگیری از پیشرفت سرطان موثر باشد (13,14). برای ترکیب

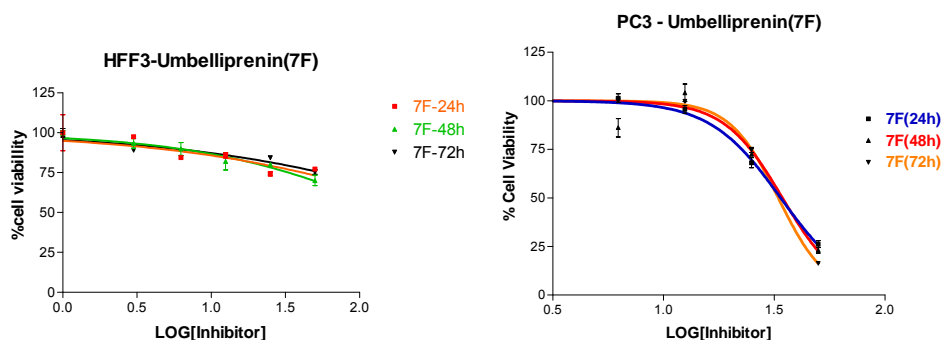
umbelliprenin فعالیت‌های مختلف زیستی را عنوان نموده‌اند (2,3,4,6,7,10). علاوه بر آن‌ها umbelliprenin می‌تواند باعث القای آپوپتوز در سلول‌های سرطان ملانوما و لوسمی لنفوبلاستیک مزمن (CLL) شود (15).

مواد و روش‌ها (شرح مقاله در مقالات مروری)

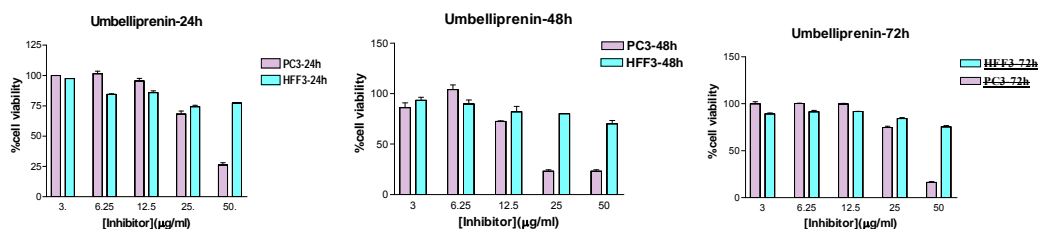
Umbelliprenin از واکنش 7-hydroxycoumarin و trans-trans farnesyl bromide از یافته‌های Askari و همکاران بدست آمد (1). در این مطالعه از رده‌ی سلول‌های سرطان پروستات PC3 استفاده شد. این رده‌ی سلولی از انستیتو پاستور تهران خریداری شد و در محیط RPMI همراه با ۱۰٪ سرم جنینی گاو کشت داده شده و در دمای ۳۷°C و ۵٪ CO₂ نگهداری شدند. سپس این سلول‌ها در پلیت‌های ۹۶ خانه (۱۲۰۰ سلول در یک خانه) یک روز قبل از تیمار با مواد، کشت داده شدند. به منظور بررسی سمیت سلولی ترکیب umbelliprenin (7F) سلول‌ها با غلظت‌های ۵۰، ۲۵، ۱۲/۵، ۶/۲۵ و ۳ μg/ml از این ماده که به روش رقت سازی ترتیبی (serial dilution) بدست آمدند، تیمار شدند. در همه غلظت‌ها گروه کنترل که حاوی ۲۵٪ غلظت DMSO بود به عنوان غلظت صفر در نظر گرفته شد. میزان مرگ و میر سلولی پس از گذشت ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت با استفاده از تست MTT ارزیابی شد. رنگ MTT تهیه شده ۵mg در هر میلی لیتر PBS بود. در طی این ارزیابی رنگ MTT با محیط کشت سلول به نسبت ۱ به ۱۰ ترکیب شد و پس از خارج سازی محیط کشت ۱۱۰ μl از رنگ به هر خانه اضافه شد. به منظور متابولیزه شدن رنگ و ایجاد بلورهای فورمازان توسط سلول‌های زنده، پلیت‌های ۹۶ خانه‌ای به مدت ۴ ساعت در دمای ۳۷°C نگهداری شدند. سپس محتویات خانه‌ها تخلیه شدند و به هر خانه ۱۵۰ μl از حلال DMSO اضافه شد. افزودن DMSO به هر خانه باعث حل شدن بلورهای فورمازان و ایجاد درجات متفاوتی از رنگ بنفش در ول‌ها می‌شود که شدت رنگ محلولها معیاری از زنده ماندن سلول‌ها در محیط می‌باشد. میزان جذب خانه‌ها در طول موج ۵۴۰nm توسط دستگاه ELISA reader اندازه‌گیری شد. جذب نمونه Blank که حاوی همه‌ی شرایط ول‌ها به غیر از سلول بود نیز از جذب همه‌ی غلظت‌ها کم شد. برای ارزیابی بهتر یافته‌ها، سلول‌های HFF3 نیز به عنوان رده‌ی نرمال به همین روش بررسی شدند.

نتایج و بحث:

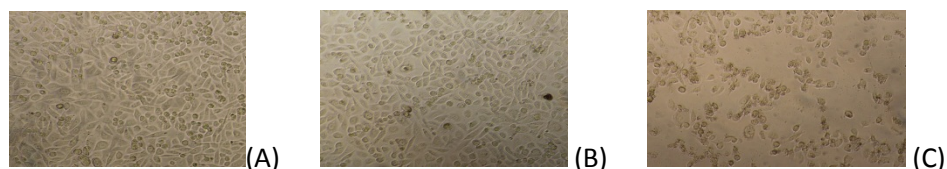
نتایج نشان دادند که umbelliprenin در ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت به ترتیب در غلظت‌های ۳۳/۸۴، ۳۴/۴۵ و ۳۲/۹۹ μl/ml باعث مرگ ۵۰٪ سلول‌ها گردید (شکل ۱). همچنین نتایج تیمار سلول‌های نرمال (HFF3) اثر قابل توجه و معنی داری نشان نداد (شکل ۲). مشاهدات مورفولوژیکی سلول‌ها نیز این یافته‌ها را تایید می‌کنند (شکل ۳).



شکل ۱: منحنی دوز-پاسخ سلول‌های HFF3 و PC3 طی ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از تیمار با Umbelliprenin



شکل ۲: نمودار ستونی مقایسه سلول‌های HFF3 و PC3 در ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از تیمار با Umbelliprenin



شکل ۳: مورفولوژی سلول‌های PC3 (A) سلول‌های تیمار نشده (B) سلول‌های تیمار شده با ۰/۲۵٪ DMSO (C) سلول‌های تیمار شده با umbelliprenin پس از ۷۲ ساعت.

از آن‌جا که مهار آنزیم 15-LOX-1 به وسیله umbelliprenin می‌تواند از رشد سلول‌های PC3 جلوگیری کند، این ماده می‌تواند به عنوان یک ترکیب سمی و ضد سرطانی در مطالعات آینده مورد بررسی قرار گیرد.

منابع و مراجع مورد استفاده

- 1-Askari, M., Sahebkar, A. & Iranshahi, M. (2009). Synthesis and Purification of 7-Prenyloxycoumarins and Herniarin as Bioactive Natural Coumarins. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences* 12(2): 63-69.
- 2-Barthomeuf, C., Lim, S., Iranshahi, M. & Chollet, P. (2007). Umbelliprenin from *Ferula szowitsiana* inhibits the growth of human M4Beu metastatic pigmented malignant melanoma cells through cell-cycle arrest in G1 and induction of caspase-dependent apoptosis. *Phytomedicine* 15(1-2): 103-111.
- 3-Cravotto, G., Balliano, G., Robaldo, B., Oliaro-Bosso, S., Chimichi, S. & Boccalini, M. (2004). Farnesyloxycoumarins, a new class of squalene-hopene cyclase inhibitors. *Bioorg Med Chem Lett* 14(8): 1931-1934.
- 4-Iranshahi, M., Arfa, P., Ramezani, M., Jaafari, M. R., Sadeghian, H., Bassarello, C., Piacente, S. & Pizza, C. (2007). Sesquiterpene coumarins from *Ferula szowitsiana* and in vitro antileishmanial activity of 7-prenyloxycoumarins against promastigotes. *Phytochemistry* 68(4): 554-561.
- 5-Iranshahi, M., Askari, M., Sahebkar, A. & Hadjipavlou-Litina, D. (2009). Evaluation of antioxidant, anti-inflammatory and lipoxygenase inhibitory activities of the prenylated coumarin umbelliprenin. *DARU* 17(2): 99-103.
- 6-Iranshahi, M., Kalategi, F., Rezaee, R., Shahverdi, A. R., Ito, C., Furukawa, H., Tokuda, H. & Itoigawa, M. (2008). Cancer chemopreventive activity of terpenoid coumarins from *Ferula* species. *Planta Med* 74(2): 147-150.
- 7-Iranshahi, M., Shahverdi, A. R., Mirjani, R., Amin, G. & Shafiee, A. (2004). Umbelliprenin from *Ferula persica* roots inhibits the red pigment production in *Serratia marcescens*. *Z Naturforsch C* 59(7-8): 506-508.
- 8-Kelavkar, U. P., Cohen, C., Kamitani, H., Eling, T. E. & Badr, K. F. (2000). Concordant induction of 15-lipoxygenase-1 and mutant p53 expression in human prostate adenocarcinoma: correlation with Gleason staging. *Carcinogenesis* 21(10): 1777-1787.
- 9-Kelavkar, U. P., Nixon, J. B., Cohen, C., Dillehay, D., Eling, T. E. & Badr, K. F. (2001). Overexpression of 15-lipoxygenase-1 in PC-3 human prostate cancer cells increases tumorigenesis. *Carcinogenesis* 22(11): 1765-1773.
- 10-Shahverdi, A. R., Saadat, F., Khorramizadeh, M. R., Iranshahi, M. & Khoshayand, M. R. (2006). Two matrix metalloproteinases inhibitors from *Ferula persica* var. *persica*. *Phytomedicine* 13(9-10): 712-717.
- 11-Siegel, R., Ward, E., Brawley, O. & Jemal, A. (2011). Cancer statistics, 2011: the impact of eliminating socioeconomic and racial disparities on premature cancer deaths. *CA Cancer J Clin* 61(4): 212-236.
- 12-Spindler, S. A., Sarkar, F. H., Sakr, W. A., Blackburn, M. L., Bull, A. W., LaGattuta, M. & Reddy, R. G. (1997). Production of 13-hydroxyoctadecadienoic acid (13-HODE) by prostate tumors and cell lines. *Biochem Biophys Res Commun* 239(3): 775-781.
- 13-Steele, V. E., Holmes, C. A., Hawk, E. T., Kopelovich, L., Lubet, R. A., Crowell, J. A., Sigman, C. C. & Kelloff, G. J. (1999). Lipoxygenase inhibitors as potential cancer chemopreventives. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 8(5): 467-483.
- 14-Timar, J., Raso, E., Fazakas, Z. S., Silletti, S., Raz, A. & Honn, K. V. (1996). Multiple use of a signal transduction pathway in tumor cell invasion. *Anticancer Res* 16(6A): 3299-3306.
- 15-Ziai, S. A., Gholami, O., Iranshahi, M., Zamani, A. H. & Jeddi-Tehrani, M. (2012). Umbelliprenin Induces Apoptosis in CLL Cell Lines. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research* 11(2).