مقایسه اثر آنتی اکسیدانی و سیتوتوکسیک عصاره های آبی و هیدروالکلی گیاه سداب (*Ruta graveolens*) بر رده سلولی سرطان پروستات (DU145)

عاطفه کاروی[۱]، کهین شاهانی‌پور[۱*] و رامش منجمی[۲]

[۱] **اصفهان، دانشگاه آزاداسلامی، واحد فلاورجان، گروه بیوشیمی**

[۲] **اصفهان، دانشگاه آزاداسلامی، واحد فلاورجان، گروه زیست شناسی**

تاریخ دریافت: ۹۵/۲/۸ تاریخ پذیرش: ۹۵/۱۱/۳۰

چکیده

سرطان پروستات دومین سرطان شایع در مردان پس از سرطان پوست محسوب می‌گردد. صرف هزینه های زیاد برای پرتو درمانی،شیمی درمانی و جراحی بافت مهاجم مشکلات و عوارض جانبی زیادی را برای بیماران به وجود می‌آورد، لذا جایگزین کردن روش ها و ترکیبات جدید با اثرات جانبی کمتر، می‌تواند حائز اهمیت باشد. ترکیبات گیاهی و طبیعی به دلیل مزایای ختلف مورد توجه قرار گرفته اند. تا کنون گیاهان دارویی متعددی شناسایی شده اند که دارای ویژگی های ضد سرطانی می‌باشند و همچنین گیاهان به عنوان منابع مهم ترکیبات آنتی اکسیدان و فنل محسوب می‌شوند. یکی از گیاهان دارویی که در طب سنتی ایران و ملل مختلف سابقه مصرف دیرینه داشته و خواص درمانی چشمگیری را برای آن ذکر کرده اند، گیاه سداب با نام علمی *Ruta graveolens* است. ارزش درمانی این گیاه به قدری زیاد بوده که از آن به عنوان "درمان کننده جمیع بیماری ها" نام برده شده است و تا کنون بیش از ۸۵ ماده در سمت های مختلف(برگ، ساقه، ریشه و دانه) این گیاه با استفاده از کروماتوگرافی گازی شناسایی شده است.در این مطالعه به بررسی اثر سیتوتوکسیک عصاره آبی و هیدروالکلی گیاه سداب و مقایسه اثر این دو عصاره با هم بر روی رده سلولی DU-145 پرداخته میزان تاثیر آن در سلول های سرطانی پروستات مورد بررسی قرار گرفت. علاوه بر این عصاره های گیاه سداب از نظر خاصیت آنتی اکسیدانی و میزان ترکیبات فنلی مورد ارزیابی قرار گرفتند. گیاه سداب از طریق مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان اصفهان تهیه گردید.سپس عصاره های آبی، هیدرو الکلی و متانولی از این گیاه تهیه شد. رده سلولی DU-145 در محیط کشت RPMI-1640 حاوی ۱۰٪ سرم گاوی در انکوباتور با ۵٪ CO_2 کشت داده شد و تحت غلظت های مختلف عصاره های آبی و هیدروالکلی طی ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت انکوبه شد. از روش MTT برای محاسبه درصد بقاء سلول ها در حضور و فقدان عصاره ها استفاده شد و جذب نوری توسط دستگاه الایزا با طول موج ۵۴۰ نانومتر اندازه گیری شد. میزان فعالیت آنتی اکسیدانی این عصاره ها توسط ارزیابی میزان آنتی اکسیدانی یک محلول با روش DPPH اندازه گیری شد. همچنین عصاره های این گیاه برای اندازه گیری میزان فنل تام با استفاده از معرف فولین سیو کالتئو مورد آنالیز قرار گرفت.از گالیک اسید به عنوان ترکیب استاندارد استفاده گردید و فنل تام بر حسب میلی گرم بر گرم گالیک اسید محاسبه شد. خاصیت سیتوتوکسیک عصاره های آبی و الکلی گیاه سداب بر رده DU-145 ضعیف بوده ولی خاصیت آنتی اکسیدانی ومیزان فنل آن قابل توجه می باشد.

واژه های کلیدی: سیتوتوکسیک، سداب، رده سلولی DU-145، فعالیت آنتی اکسیدانی، فنل تام

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۳۲۸۸۹۳۲۴ ، پست الکترونیکی: shahanipur_k@yahoo.com

مقدمه

سرطان یکی از شایع ترین علل مرگ و میر در جوامع بشری است و بر اساس گزارش سازمان جهانی بهداشت، مسئول حدود ۱۳ درصد از کل مرگ و میرها در سراسر جهان محسوب می شود .سرطان پروستات شایعترین نوع بدخیمی در مردان است .سرطان پروستات یک بیماری چند عاملی است که عوامل ژنتیکی ومحیطی در آن نقش دارند(۶). این نوع سرطان با الگوهای رشد هتروژن مشخص می‌شود که شامل تومورهایی با رشد آهسته تا آسیب‌های متاستاتیک با رشد بسیار زیاد می باشد(۱۸). چندین مطالعه، تجمع خانوادگی از سرطان پروستات را نشان داده‌اند و دلیل اصلی برای این تجمع به ارث بردن ژن‌های درگیراست. در ایران، بیماری در ۴۰ تا ۵۰ درصد از مبتلایان بـه سرطان پروستات در مـراحل ابتدایی تشخیص داده می‌شود، اما صرف هزینه‌های زیاد برای پرتودرمانی، دارو درمانی و جراحی بافت مهاجم مشکلات زیادی را برای بیماران به وجود می‌آورد، لذا جایگزین کردن روش‌ها و ترکیبات جدید کم هزینه با اثرات جانبی کمتر می‌تواند بسیار حائز اهمیت باشد. طی سالیان متمادی گیاهان دارویی، اساس و در برخی موارد تنها راه درمان محسوب می‌شدند (۱۹). تاکنون گیاهان دارویی متعددی شناسایی شده‌اند که می‌توانند در حفظ سلامت بدن فرد نقش مهمی داشته از آن در مقابل انواع بیماری‌ها از جمله سرطان بدون هیچ عارضه سمی محافظت نمایند(۱۸). سداب ها گونه هایی از تیره سدابیا (مرکبات) از راسته سداب (روتال = تربنتال)هستند. طبق دسته بندی علمی لینه سه نوع سداب وجود دارد: *Ruta chalepensis L., Ruta graveolens L,. Ruta montana L.* در کتاب معروف قانون ابن سینا، از قول دیسقوریدوس نقل شده که سداب سه نوع بیابانی، کاشتنی و کوهی دارد که احتمال دارد همان سه نوع سداب دسته بندی علمی لینه باشد به ویژه که Montana به معنای «کوهی» است(۱۹) . در مطالعه حاضر سداب مورد استفاده از نوع کاشتنی و با نام علمی *Ruta graveolens L می‌باشد*. سداب گیاهی است چند ساله علفی، پایا به ارتفاع ۳۰ تا ۸۰ سانتی متر، عاری از کرک و دارای قاعده چوبی می‌باشد(۱۹). منشا اصلی سداب، نواحی جنوبی اروپا تشخیص داده شده است که امروزه با پراکندگی وسیع در غالب مناطق مدیترانه و نواحی دیگر اروپا و آسیا یافت می‌شود. در ایران این گیاه، در نواحی شمال کشور به طور خود رو می‌روید و در بعضی نواحی پرورش می‌یابد(۱۸). در این پژوهش اثر سایتوتوکسیک عصاره های آبی و هیدروالکلی گیاه سداب بر روی رده سلولی پروستات DU145 با استفاده از روش MTT بررسی گردید.

مواد و روشها

نام مواد	شرکت تولید کننده	کشور
اتانول	Merck	آلمان
متانول	Merck	آلمان
Na2HPO4	Sigma	آلمان
NaCl	Merck	آلمان
KH2PO4	Sigma	آلمان
KCL	Merck	آلمان
RPMI 1640	ایده زیست	ایران
Pen strep	ایده زیست	ایران
تریپسین	ایده زیست	ایران
دی متیل سولفوکساید (DMSO)	Sigma	آلمان
FBS	ایده زیست	ایران
MTT	Sigma	آلمان

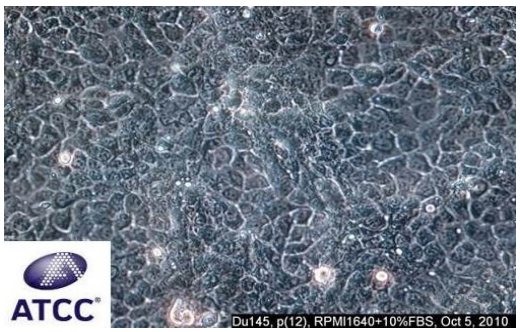
گیاه سداب ***(Ruta graveolens)*** از طریق مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان اصفهان در پاییز سال ۱۳۹۳ تهیه گردید و مورد تایید هرباریوم این مرکز قرار گرفت . در تاریکی در مجاورت هوا به طور کامل خشک گردید و سپس آسیاب شد (۱۹).عصاره ی آبی با استفاده از آب دیونیزه استریل و به روش خیساندن تهیه گردید و عصاره هیدروالکلی با استفاده از اتانول ۸۰ درصد و به روش خیساندن آماده گردید (۱۸) . رده سلولی DU-145 بصورت فلاسک از انستیتو پاستور ایران تهیه گردید و در محیط کشت RPMI1640 حاوی ۱۰٪ سرم جنین گاوی (FBS) و تریپسین و آنتی بیوتیک کشت داده شدو در انکوباتور

CO_2 دار و در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه، تعویض محیط کشت هر ۲ روز یکبار انجام گردید(۱۸). تعویض محیط کشت هر ۲ روز یک بار انجام گردید. اثر سیتوتوکسیک عصاره‌های تهیه شده بر روی سلول‌های سرطان پروستات انسانی با روش رنگ سنجی با استفاده از 3-(4-5dimethyl thiazoly1)-2,5 diphenyl tetraxolium bromide در مقایسه با گروه کنترل بررسی شد. این روش بر فعالیت آنزیم سوکسینات دهیدروژناز در میتوکندری سلول‌های زنده استوار است که محلول زرد رنگ MTT را به کریستال‌های نامحلول فورمازان بنفش رنگ تبدیل می‌کند، که می‌توان پس از حل کردن در DMSO با دستگاه الایزا ریدر سنجش نمود(۱۸). بطور خلاصه ۱۸۰ میکرولیتر سوسپانسیون سلولی (۱۰۴×۵ سلول در هر میلی لیتر محیط کشت) در میکروپلیت‌های ۹۶ خانه کشت داده شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه گردید. سپس ۲۰ میکرولیتر غلظت‌های مختلف تهیه شده از عصاره‌ها اضافه شد. دوکسوروبیسین بعنوان کنترل مثبت استفاده شد محیط کشت فاقد عصاره به عنوان کنترل مفید استفاده شد. میکروپلیت‌های حاوی عصاره و سلول در بازه زمانی ۲۴،۴۸،۷۲ ساعت انکوبه گردیدند. سپس ۲۰ میکرولیتر محلول MTT به هر چاهک اضافه گردید و به مدت ۳ ساعت انکوبه گردید. ۲۰۰ میکرولیتر DMSO جایگزین محیط انکوبه شده با MTT شد و برای حل کردن کریستال‌های فورمازان به آرامی پیپت گردید. جذب نوری در طول موج ۵۶۰ نانومتر با دستگاه الایزا ریدر سنجیده شد. اثر غلظت هر عصاره در سه بازه زمانی ارزیابی شد. درصد بقاء سلولی در گروه کنترل منفی ۱۰۰ منظور شد(۱۹). درصد بقاء سلول‌هایی که تحت تاثیر غلظتی خاص از دارو قرار گرفته اند با تقسیم جذب چاهک های تیمار شده به جذب کنترل منفی ضربدر ۱۰۰ محاسبه گردید. غلظتی از ترکیب مورد آزمایش که درصد حیات سلولی را به نصف تقلیل دهد بعنوان IC50 در نظر گرفته شد (۱۹).

برای انجام آنالیز آماری اطلاعات گروه‌های آزمایشی مختلف از نرم افزار SPSS استفاده گردید. نتایج گروه‌های مختلف با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه، مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. از آزمون یک طرفه ANOVA برای بدست آوردن واریانس داده‌ها جهت تعیین معنی دار بودن یا نبودن اختلافات استفاده گردید. سطح معنی دار بودن اختلافات $P<0.05$ در نظر گرفته شد.

نتایج

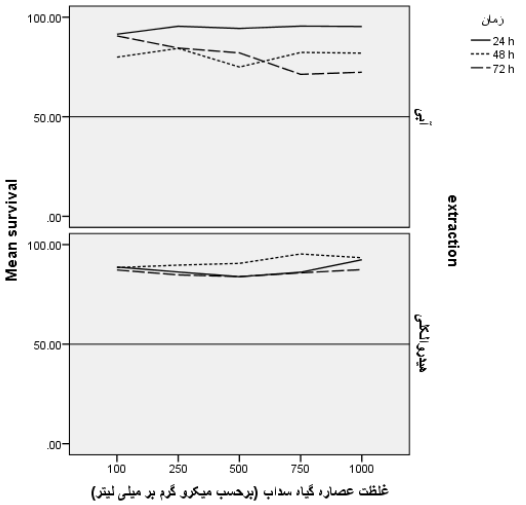
مرفولوژی سلول‌های DU145: سلول‌های DU145 بلافاصله پس از قرارگیری در محیط کشت و قبل از چسبیدن به کف منظره‌ای گرد و شناور دارند. این سلول‌ها پس از ۲۴ ساعت قرارگرفتن در محیط کشت در صورت مناسب بودن شرایط به کف فلاسک می‌چسبند و شروع به تقسیم شدن می‌کنند.



شکل ۱- رده سلولی DU-145

اثر سیتوتوکسیک عصاره‌های مختلف بر سلول‌های سرطان پروستات انسانی (DU145): نمونه هایی که باعث حداقل مهار رشدی معادل ۵۰ درصد گردیدند بعنوان نمونه های سیتوتوکسیک در نظر گرفته شدند. نتایج حاصل از این مطالعه اینگونه بیان می‌کند که عصاره‌ی آبی گیاه سداب در طی ۲۴ ،۴۸، ۷۲ ساعت اثر سیتوتوکسیک جزئی داشته است. چنانچه بیشترین تاثیر را در ۴۸ ساعت در غلظت ۱۰۰ و ۵۰۰ میکرولیتر و ۷۲ ساعت در غلظت ۷۵۰ و ۱۰۰۰ میکرولیتر با حداکثر ۲۰ درصد کاهش رشد همراه بوده است. (نمودار۱-۳). عصاره‌ی هیدرو الکلی نیز مانند

عصاره آبی دارای اثر جزئی بوده و بیشترین تاثیر رادر ۷۲ ساعت با حداکثر ۱۵ درصد کاهش رشد همراه بوده است. (نمودار۴-۶).

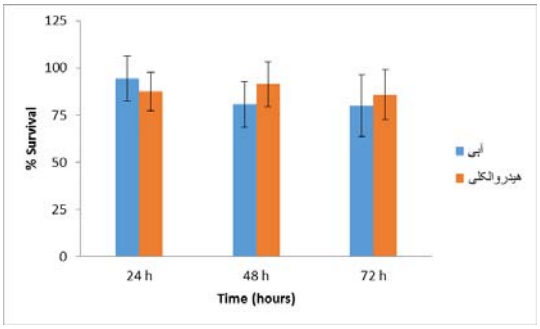


شکل ۱- تأثیر همزمان دو عصاره آبی و هیدروالکلی گیاه سداب طی زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت بر رده سلولی DU-145

همانطور که در شکل ۱ مشاهده می‌شود، میانگین درصد بقاء سلول‌های سرطانی رده DU-145 در طول زمان آزمایش، در هیچ یک از دو عصاره آبی و هیدروالکلی، به زیر ۵۰٪ نرسیده است.

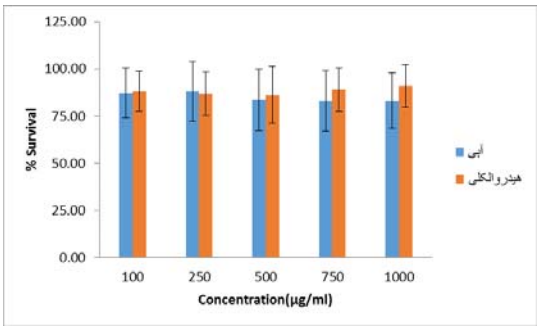
مقایسه دو عصاره آبی و هیدروالکلی گیاه سداب بر اساس زمان: میانگین درصد بقاء سلول‌های سرطانی رده DU-145 در ۲۴ ساعت اول و دوم در دو عصاره آبی و هیدروالکلی گیاه سداب اختلاف معنادار دارند. در ۲۴ ساعت اول، میانگین درصد بقاء سلول‌های سرطانی در عصاره هیدروالکلی کمتر است اما در ۲۴ ساعت دوم (زمان ۴۸ ساعت) نتیجه عکس می‌شود. در زمان ۷۲ ساعت، میانگین‌های درصد بقاء در دو عصاره تفاوت معناداری ندارند. نتایج در شکل ۲ قابل مشاهده است.

مقایسه دو عصاره آبی و هیدروالکلی گیاه سداب بر اساس غلظت: مقادیر میانگین و انحراف استاندارد درصد بقاء سلول‌های سرطانی رده DU-145 عصاره‌های آبی و هیدروالکلی گیاه سداب در پنج غلظت ۱۰۰، ۲۵۰، ۵۰۰، ۷۵۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر بررسی گردید.



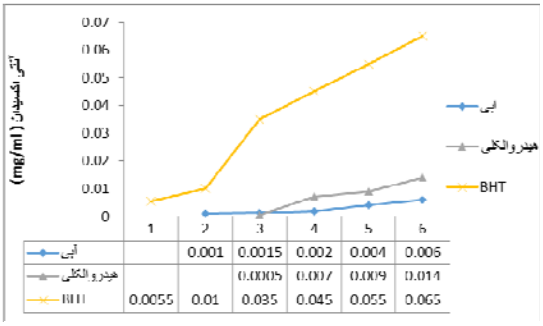
شکل ۲- مقایسه دو عصاره آبی و هیدروالکلی گیاه سداب طی زمان-های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت بر رده سلولی DU-145

با توجه به نتایج بدست آمده ، در هیچ کدام از غلظت‌ها، میانگین درصد بقاء سلول‌های سرطانی در دو عصاره آبی و هیدروالکلی گیاه سداب تفاوت معناداری ندارند. نتایج در شکل ۳ قابل مشاهده‌اند.



شکل ۳- مقایسه دو عصاره آبی و هیدروالکلی گیاه سداب بر اساس غلظت‌های مختلف بر رده سلولی DU-145

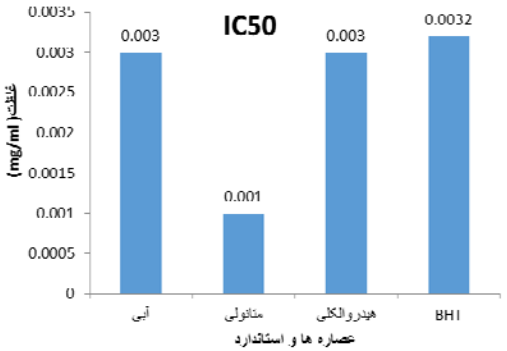
مقایسه اثر آنتی اکسیدانی عصاره‌های آبی و هیدروالکلی گیاه سداب:



نمودار ۱- بررسی اثر آنتی اکسیدانی عصاره‌های آبی و هیدروالکلی

گیاه سداب در مقایسه با توان آنتی اکسیدانی BHT به عنوان استاندارد

مقایسه ی میزان مهار رادیکال های آزاد به روش DPPH توسط BHT ، عصاره های آبی، هیدروالکلی وگیاه سداب:



نمودار ۲- مقایسه IC_{50} و فعالیت آنتی اکسیدانی BHT ، عصاره های آبی، هیدروالکلی گیاه سداب در آزمایش مهار رادیکال های آزاد DPPH

همانطور که در نمودار ۲ مشاهده می‌شود خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره آبی و هیدروالکلی گیاه سداب بسیار نزدیک به BHT که یک آنتی اکسیدان قوی محسوب می-شود، می‌باشد.

بحث و نتیجه گیری

با توجه به این که پیشرفت تومور ارتباط بسیار نزدیکی با التهاب و استرس اکسیداتیو دارد، ترکیبی که خواص ضد التهابی یا آنتی اکسیدانی داشته باشد، می‌تواند یک عامل آنتی کارسینوژن باشد بسیاری از گیاهان و ادویه جات دارای خاصیت فارماکولوژیک و بیوشیمیایی شامل، خاصیت آنتی اکسیدانی و ضد التهاب می‌باشند که به نظر می‌رسد در فعالیت های آنتی کارسینوژینک و آنتی موتاژنیک دخالت دارند(۱). امروزه گیاهان دارویی نقش حیاتی در درمان بسیاری از بیماری ها از جمله سرطان دارند .گیاهان تنها دیگر فقط در طب سنتی مطرح نیستند بلکه آن ها توانسته اند، یک خط صنعتی از فرآورده های طبیعی را نیز به خود اختصاص دهند(۱۹). اغلب مشاهده شده است که مسیر های بیوسنتز فنیل پروپانوئید، فلاونوئید و تری ترپن هابه دنبال تیمار بافت گیاه یا سلولهای کشت شده با القاء کننده ها القاء می‌شوند(۲). .دودمان‌های سلولی متنوعی از سرطان پروستات جدا شده که می‌تواند در اولین گام‌های توسعه دودمان سرطان پروستات مورد استفاده قرار بگیرد. از جمله این دودمان‌های سلولی می‌توان به دودمان DU-145 که در سال ۱۹۷۹ توسط استون جداسازی شده است اشاره کرد (۱۹). از خصوصیات مهم این دودمان این است که می‌توان آن را به دو صورت کشت تک لایه و اسفروئید کشت داد.

سرعت رشد سرطان پروستات و متاستاز آن از بیماری به بیمار دیگر متفاوت است. پیشرفت این بیماری وابسته به تغییرات ژنتیکی درون تومور(۱۸) و اندرکنش بین تومور و بخش محیطی است (۱۹). این در حالتی است که بسیاری از مکانیسم‌های خاص مولکولی، بصورت نامعلوم باقی مانده است. هنگامی که توده سرطانی دچار متاستاز می‌شود انتخاب روش درمانی محدود می‌شود.

در مطالعه‌ای سلول‌های DU-145 از رده سلول‌های سرطان پروستات انسانی به دو روش اسفروئید و تک لایه رشد داده شدند. سپس سلول‌های کشت اسفروئید ئر مراحل مختلفی از رشد تحت هایپراورومیا قرار گرفت و مقاومت حرارتی این سلول‌ها و سلول‌های کشت تک لایه را با توانایی تشکیل کلنی این سلول‌ها مورد سنجش قرار دادند. هرچند مقاومت حرارتی سلول‌ها بستگی به سن و در نتیجه سایز اسفروئیدها دارد، نتایج نشان داد که سلول‌های کشت اسفروئید در همه مراحل رشد نسبت به سلول‌های تک لایه مقاومت بیشتری در برابر حرارت داشته‌اند(۱۹،۱۸).

هدف از تحقیق حاضر، بررسی میزان مهار رشد سلول‌های رده سلولی DU-145 توسط عصاره‌های آبی، هیدروالکلی گیاه سداب بود. میزان رشد در نمونه‌های شاهد منفی ۱۰۰ درصد در نظر گرفته شد و بررسی میزان رشد سلول‌ها در

مجاورت ۵ غلظت از عصاره‌ها صورت گرفت. نمونه‌هایی که باعث حداقل مهار رشدی معادل ۵۰ درصد گردیدند به عنوان نمونه‌های سیتوتوکسیک در نظر گرفته شدند. نتایج حاصل از این مطالعه اینگونه بیان می‌کند که عصاره‌ی آبی گیاه سداب در طی ۲۴ ،۴۸، ۷۲ ساعت اثر سیتوتوکسیک جزئی داشته است. چنانچه بیشترین تاثیر را در ۴۸ ساعت در غلظت ۱۰۰ و ۵۰۰ میکرولیتر و ۷۲ ساعت در غلظت ۷۵۰ و ۱۰۰۰ میکرولیتر با حداکثر ۲۰ درصد کاهش رشد همراه بوده است. احتمالا وجود ترکیبات ترپنی در عصاره و کاهش میزان آن با گذشت زمان، سبب کاهش اثرات سیتوتوکسیک آن می‌شود.

عصاره‌ی هیدرو الکلی نیز مانند عصاره آبی دارای اثر جزئی بوده و بیشترین تاثیر رادر ۷۲ ساعت با حداکثر ۱۵ درصد کاهش رشد همراه بوده است. نتایج حاصل از بررسی این دو عصاره، عدم وابستگی به زمان رانشان می-دهد.

در یک مطالعه به بررسی اثر عصاره های آبی، دی کلرومتان و متانولی ریشه کاسنی بر سرطان پروستات در شرایط آزمایشگاهی پرداخته شده است؛ این مطالعه بر روی سه دودمان سلولی سرطان پروستات(PC-3، DU-145، AT3B-1) آزمایش شده است و نتیجه حاصل نشان دهنده اثرات ضد سرطانی این عصاره ها می‌باشد(۱۹).هر چند در هر دوگیاه ترکیباتی نظیر فلاونوئید و کومارین وجود داشته ولی نتایج متفاوت بوده که این تفاوت احتمالا بدلیل وجود ترکیبات دیگر در عصاره تام گیاه سداب می باشد.

نتیجه گیری

بطور کلی عصاره‌ی آبی و هیدروالکلی گیاه سداب تا حدودی دارای اثر سیتوتوکسیک می‌باشند.از طرفی خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره‌ی آبی و هیدروالکلی گیاه سداب به یک نسبت می باشد.

منابع

۱- حیدریه ن،فرجی م.۱۳۹۲.بررسی اثر عصاره اتانولیک زنجبیل بر وزن بدن و رشد تومور در سرطان پستان موش ماده *BALB/C*. *مجله زیست شناسی ایران. جلد ۲۷. شماره ۴. ۴۸۷-۴۹۷.*

۲- شبانی ل،احسان پور ع. ۱۳۸۸.القاء آنزیم های آنتی اکسیدان، ترکیبات فنولیک و فلاونوئید در کشت در شیشه شیرین بیان (*Glycyrrhiza glabra* L.) با استفاده از متیل جاسمونات و سالیسیلیک اسید. مجله زیست شناسی ایران. جلد۲۲. شماره۴،۶۹۱ - ۷۰۳.

3- Amirizadeh A. 2009. The Efect of Hyperthermia on Survival Fraction of DU145 Porstate Carcinoma Cell Line in Monolayer and Spheroid Culture, Iranian journal of Cancer Prevention. 17-20.and Molecular Biology, 40(6); 944-951.

4- Charrier JP. (1999). Two-dimensional antigen in sera of men with prostate cancer or benign prostate hyperplasia. Electrophoresis. 20:1075-81

5- Chung L.1992. Human Prostate Cancer Model: Roles of growth Factors and Extracelluar Matriced. Journal of Cellular Biochemistry, vol 50. 99-105.

6- Fenwick GR, Lutomski J, Nieman A. (1990). Licorice, GlycyrrhizaGlabra. Compositition, Uses and Analysus. Food Chemistry38:119-143.

7- Gilloteaux J, Jamison J M, Neal D, Summers J L. 2014. Synergistic Antitumor Cytotoxic Actions of Ascorbate and Menadione on Human Prostate (DU145) Cancer Cells In Vitro, Nucleus and Other Injuries Preceding Cell Death by Autoschizis, Ultrastructural Pathology,38:116-140.

8- Kaighn ME. .(1979). Establishment and characterization of a human prostatic carcinoma cell line (PC3). Invest. Urol17: 16-23

9- Khanavi, M., Moshteh, M., Manayi, A., Shams Ardekani, M.R., Vazirian, M., Ajani, Y. (2011). Cytotoxic activity of Lythrum salicaria L. Research Journal of Biological Sciences, 6 (2); 55-57.

10- Khoie S,Goliaei B, Neshasteh Riz A.2004. Differentiol Themoreistance of Multicellular

Toumor Spheroids. Iranian Journal of Science & Technology 28:107-116.

11- Lampronti, I., Saab, A., Gambari, R., (2005), Medicinal plants from Lebanon effects of essential oils from Pistacia palaestina on proliferation and erythroid differentiation of human leukemic K562 cells,Minerva biotec, 17: 153-158.

12- Madhuri, S., Pandey, G., (2009), Some anticancer medicinal plants of foreign origin, Current Science, 96: 779-783.

13- Meshkini, A.,Yazdanparast, R. (2007). Induction of megakaryocytic differentiation in chronic myelo genous leukemia cell k562 by 3- hydro genkwada phnin, Journal of Biochemistry

14- Spector, D.L., Goldman, D., Leinwan, L.A. (1998). Cells. first ed. cold spring harbor laboratory press; P.1-25.

15- Stone K.R. 1987. Isolation of a Human Prostate Carcinoma Cell Line (DU145), International Journal of Cancer, Vol 21, 274-281.

16- Subhash, C., Vivekananda, M., Anup Kumar Das, T. (2014). Essentials of Botanical Extraction. 2nd ed. Principles and Applications, 83-136.

17- Toyang N,et al.2012. In vitro anti-prostate cancer and ex vivo antiangiogenic activity of vernonia guineensis benth.(Asteraceae) tuber extracts,Journal of Ethnopharmacology. 141: 866-871.

18- Visakorpi T. 2003. The Molecular Genelices of Prostate Cancer, Urology, Vol 62, 3-10.

19- Zargari A. Medicinal plants. 6 edn. Tehran. Tehran University. 1996, pp: 464 – 7.

Compare Antioxidant and cytotoxic effects of aqueous and hidroalcoholic extracts of Ruta graveolens on DU145 cell line

Karavi A.[1], Shahanipour K.[1] and Monajemi R.[2]

[1] **Biochemistry Dept. Falavarjan Branch, Islamic Azad University, Isfahan, I.R. of Iran**

[2] **Biology Dept. Falavarjan Branch, Islamic Azad University, Isfahan, I.R. of Iran**

Abstract

The prostate cancer is considered as the second most common malignancy in men after skin cancer. The alternative methods and novel compounds with lower side effects can be very important and critical for the patients due to high costs and many complications of radiotherapy, chemotherapy and invasive tissue surgery. The natural and herbal compounds have been noticed since they have variable advantages. The several herbal drugs have been identified up to now which have anticancer effect. Indeed, the plants are considered as an important source of antioxidant and phenolic compounds. The Sodab plant, *Ruta graveolens,* as a member of herbal drugs has a long consumption history in traditional medicine of Iran and different nations besides its significant therapeutic effects. The Sodab is a very valuable plant which has been named as "a treatment for all diseases" and over 85 compounds of its different parts (leaves, stems, roots and seeds) has been recognized by gas-chromatography. The goals of this study were to investigate the cytotoxic effect of aqueous and hydroalcoholic extracts of Sodab besides the comparison of these two extract effects on DU-145 cell line. In addition, the effect of this plant was studied on the prostate cancer cells. Furthermore, the antioxidant effect and the amount of phenolic compounds of Sodab extracts were evaluated. The Sodab plant was prepared from the Agriculture and Natural Resources Research Center of Isfahan. The next step was preparation of the water, hydroalcoholic and methanol extracts of this plant. The DU-145 cell line cultivation conditions were RPMI-1640 culture medium which contains 10% bovine serum, incubation with 5% CO_2 and different concentrations of aqueous and hydroalcoholic extracts during 24, 48 and 72 hours of incubation. The MTT method was used in order to estimate the cells viability percent in the presence and absence of the extract and in the optical absorption was read with wavelength 540 nm by the ELISA device. The selected method for estimation of the antioxidant activity was DPPH. In addition, the total phenolic content of this plant extracts was analyzed by Folin Ciocalteu reagent. The gallic acid was used as the standard compound and the total phenol was measured based on the milligram per gram of gallic acid. The cytotoxic effect of Sodab aqueous and hydroalcoholic extracts was weak on DU-145 cell line while the antioxidant activity and the phenolic content of this plant were significant.

Key words: Cytotoxic, Sodab, DU-145 cell line, Antioxidant activity, Total phenol.