AUMJ Journal Alborz University of Medical Sciences
Alborz University of Medical Sciences Journal, Autumn 2025, Vol. 14, No 4: 357- 368

Evaluation of antioxidant compounds and antibacterial activity of Plantago major leaf and seed extracts and its toxic effect on lung cancer cells

Azar ZamaniChaparpardi[1]
Simin Arian [*1]
Zeinab khazaei Koohpar[2]
Mahdieh Houshani [*3]

Abstract

Introduction: Medicinal plants are valuable sources of antioxidant compounds that can be effective in treating bacterial infections and diseases caused by oxidative stress. This study aimed to investigate the antioxidant and antibacterial properties of the leaf and seed extracts of Plantago major and their inhibitory effects on lung cancer cells.

Methods: Samples were collected from Abbas Abad and extracted using the soaking method. Total phenol, flavonoid, and anthocyanin contents were quantified. The anticancer potential of the extracts was assessed using the MTT method, while antimicrobial activity was determined by the disk diffusion method. The study was approved by the Ethics Committee of the Islamic Azad University (IR.IAU.TON. REC. 1402.089).

Results: The leaf extract showed the highest total phenol content (13.90 ± 0.183 mg/g DW) and flavonoid content (0.194 ± 0.003 mg/g DW). The anticancer activity of the extracts was concentration- and time-dependent, with the highest cell growth inhibition (98.74% for leaf extract and 99.54% for seed extract) observed at 5000 mg/ml after 72 hours. The leaf and seed extracts also exhibited strong antibacterial activity against Staphylococcus aureus, with the highest zone of inhibition (non-growth area) at 1000 mg/ml.

Conclusion: The results indicate that Plantago major extract is a rich source of antioxidant compounds, particularly flavonoids, and possesses significant anti-cancer properties. It holds potential for further research as a medicinal plant in the treatment of lung cancer.

Keywords: Plantago major, Antioxidant, Antibacterial Activity, Lung Cancer, Plant Extracts

1. Department of Microbiology, To.C., Islamic Azad University,Tonekabon, Iran.
2. Department of Cellular and Molecular Biology, To.C., Islamic Azad University, Tonekabon, Iran.
3. Department of Plant Physiology, To.C., Islamic Azad University,Tonekabon, Iran.

* Corresponding Author:
simin.aryan@yahoo.com,
mhoshani@yahoo.com

How to cite this article: Zamani A, Arian S, khazaei Z, Houshani M. Evaluation of antioxidant compounds and antibacterial activity of Plantago major leaf and seed extracts and its toxic effect on lung cancer cells. Alborz University Medical Journal 2025; 14 (4): 357-368

Copyright © 2025 The Authors. Published by Alborz University of Medical Sciences.
This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/). Non-commercial uses of the work are permitted, provided the original work is properly cited.

AUMJ Journal
Alborz University of Medical Sciences
نشریه دانشگاه علوم‌پزشکی البرز، پاییز ۱۴۰۴، دوره ۱۴، شماره ۴، صفحه‌های ۳۶۸-۳۵۷

بررسی ترکیبات آنتی اکسیدانی و فعالیت ضدباکتریایی عصاره برگ و دانه بارهنگ (Plantago major L.) و اثر سمیت آن بر سلول های سرطانی ریه

آذر زمانی چپرپردی [۱]
سیمین آرین [۱*]
زینب خزائی کوهپر [۲]
مهدیه هوشنی [۳*]

چکیده

مقدمه: گیاهان دارویی منابع مهمی از ترکیبات آنتی‌اکسیدان هستند که می‌توانند برای درمان عفونت‌های باکتریایی و بیماری‌های ناشی از رادیکال‌های آزاد مناسب باشند؛ بنابراین، هدف این پژوهش بررسی ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و ضدباکتریایی عصاره برگ و دانه گیاه بارهنگ و اثر مهاری آن بر روی سلول‌های سرطانی ریه است.

روش کار: بدین منظور، نمونه‌ها از عباس‌آباد جمع‌آوری و عصاره‌گیری به روش خیساندن انجام شد. میزان فنل، فلاونوئید و آنتوسیانین کل عصاره‌ها تعیین شد. همچنین جهت تعیین اثر ضد سرطانی از روش MTT و فعالیت باکتریایی از روش انتشار دیسک استفاده شد.

یافته‌ها: بیشترین میزان فنل و فلاونوئید کل در عصاره برگ به ترتیب ۰/۱۸۳±۱۳/۹۰ و ۰/۰۰۳ ±۰/۱۹٤ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک گیاه بدست آمد. همچنین خاصیت ضد سرطانی عصاره‌ها و وابسته به غلظت و زمان بود به طوری که بیشترین درصد مهار رشد سلول‌ها در غلظت ۵۰۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر برای عصاره‌های برگ و دانه به ترتیب ۹۸ /۹۸ و ۹۹/٥٤ درصد در مدت زمان ۷۲ ساعت بدست آمد. بیشترین هاله عدم رشد مربوط به باکتری گرم مثبت استافیلوکوس اورئوس و در غلظت ۱۰۰۰ گرم بر میلی‌لیتر برای عصاره‌های برگ و دانه مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه پیشنهاد می‌کند که عصاره گیاه بارهنگ می‌تواند به‌عنوان یک منبع قابل‌دسترس از ترکیبات آنتی‌اکسیدان خصوصاً فلاونوئیدها باشد و به علت داشتن خاصیت ضد سرطانی بالا می‌تواند به‌عنوان یک گیاه دارویی علیه سرطان ریه مورد پژوهش‌های وسیع‌تری قرار گیرد.

واژگان کلیدی: بارهنگ، ترکیبات آنتی‌اکسیدان، سرطان ریه، فعالیت ضدباکتریایی

۱..گروه میکروبیولوژی، واحد تنکابن، دانشگاه آزاد اسلامی، تنکابن، ایران.
۲.گروه زیست شناسی سلولی و مولکولی، واحد تنکابن، دانشگاه آزاد اسلامی، تنکابن، ایران
۳.گروه فیزیولوژی گیاهی، واحد تنکابن، دانشگاه آزاد اسلامی، تنکابن، ایران

* نویسنده مسئول:
Simin.aryan@yahoo.com
mhoshani@yahoo.com

مقدمه

موجودات زنده در معرض انواع مختلفی از تنش‌ها هستند که ویژگی کلی آنها توانایی افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن است [۱]. گونه‌های فعال اکسیژن سبب غیر فعال شدن آنزیم‌ها، آسیب به DNA و پراکسیداسیون لیپیدها شده و در ایجاد بیمارهایی نظیر سرطان، آلزایمر، نقرس، پیری و بیمارهای قلبی- عروقی موثرهستند. سرطان به مجموعه بیماری‌هایی گفته می‌شود که از تکثیر مهار نشده سلول‌ها پدید می‌آیند. احتمال بروز سرطان در سنین مختلف وجود دارد ولی با افزایش سن احتمال ابتلا به سرطان زیادتر می‌شود[۲]. بر طبق گزارش انجمن بهداشت آمریکا، ۷/٦ میلیون نفر بر اثر سرطان در سال ۲۰۱۷ دچار مرگ شدند[۳]. یکی از سرطان‌های شایع در دنیا، سرطان ریه است. امروزه درمان‌های رایج سرطان شامل جراحی، پرتو درمانی و شیمی درمانی می‌باشد که اغلب موارد سلول‌های سالم نیز آسیب می‌بینند و از بین می‌روند که این می‌تواند باعث اثرات سمی و عوارض جانبی در بیمار شود[٤]. در سال‌های اخیر به علت افزایش شیوع مرگ و میر ناشی از سرطان‌ها و نقص روش‌های شیمی درمانی و پرتو درمانی در فرم‌های پیشرفته سرطان، نیاز به یافتن شیوه‌های جدید برای کنترل سرطان احساس می‌شود که یکی از این روش‌ها استفاده از عصاره‌های گیاهی است[۵]. از سوی دیگر افزایش عفونت‌های میکروبی و مقاومت آنتی‌بیوتیکی نیز از مشکلات دیگر جوامع بشری به خصوص کشورهای در حال توسعه می‌باشد. ترکیبات گیاهی به علت منشا طبیعی، اثرات جانبی کم و دسترسی آسان از جایگاه ویژه‌ای در حفظ سلامت جوامع مختلف برخوردار هستند[٦]. برای جلوگیری از اثرات سوء گونه‌های فعال اکسیژن، حضور ترکیبات آنتی‌اکسیدان ضروری می‌باشد[۷]. تعداد زیادی از ترکیبات آنتی‌اکسیدان طبیعی و سنتزی در درمان یا پیشگیری از بیماری‌های مرتبط با گونه‌های فعال اکسیژن به کار برده می‌شوند. با توجه به اثرات نامطلوب آنتی‌اکسیدان سنتزی بر بدن، امروزه تلاش وسیعی در جهت جایگزین نمودن آنها با انواع طبیعی خصوصاً فراورده‌های گیاهی صورت می‌گیرد. اکثر گیاهان غنی از ترکیبات آنتیاکسیدان هستند و می‌توانند سلول را از تنش‌های اکسیداتیو محافظت نمایند. سیستم آنتی‌اکسیدان در گیاهان شامل مولکولهای آنتی‌اکسیدان غیر آنزیمی و آنزیمی می‌باشد[۸]. مطالعات نشان داده‌است که محتوای آنتی‌اکسیدان در گیاه با توجه به ژنوتیب، مرحله‌ی بلوغ، شرایط محیطی در زمان رشد و پس از برداشت گیاه تغییر می‌کند[۹]. گیاهان منابع غنی از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی محسوب می‌شوند. آنتی‌اکسیدان‌های گیاهی به علت خاصیت احیاکنندگی خود به عنوان پالاینده‌ی اکسیژن فعال عمل می‌کنند. بنابراین، آنها می‌توانند در ممانعت و به تاخیر انداختن بروز این بیماری‌ها مفید باشند[۱۰]. بررسی‌ها نشان داده است که آنتی‌اکسیدان‌ها در جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدها نقش مهمی ایفا می‌کنند. این عمل از طریق افزایش سطح آنتی‌اکسیدان‌هایی از جمله آنزیم‌های سوپراکسیددسموتاز و کاتالاز می‌باشد. این آنزیم‌ها قادر به کاهش تولید محصولات نهایی پراکسیداسیون لیپیدها نظیر مالوندیآلدهید و هیدرو پروکسید می‌باشند. بنابراین در جلوگیری از بیماری‌هایی نظیر دیابت موثر هستند[۱۱]. آنتی‌اکسیدان‌ها با کاهش آسیب‌های اکسیداتیو به اسیدهای نوکلئیک می‌توانند خطر ابتلا به سرطان را کاهش دهند[۱۲].

گیاه بارهنگ با نام علمی Plantago major و از خانواده Plantaginaceae می‌باشد که از بیش از ۲۰۰ گونه تشکیل شده است. گیاه بارهنگ در منطقه وسیعی از دو قاره اروپا و آسیا و همچنین شمال آفریقا و آمریکای شمالی می‌روید و در ایران تقریباً در تمام نقاط می‌روید. ریشه، برگ و دانه این گیاه خاصیت دارویی دارند و از آن‌ها به عنوان تصفیه‌کننده خون، آرام‌کننده ناراحتی‌های آسم، اسهال‌های ساده و ورم مخاط دهان استفاده می‌شود. دانه‌های بارهنگ دارای چربی، صمغ، لیزاب، ترکیبات گلوکزیدی، تانن‌ها، کومارینها و فلاونوئیدها می‌باشند. علاوه براین جوشانده دانه بارهنگ در ناراحتی‌های تنفسی و برونشیت حاد، ضد عفونی‌کننده و خلط‌آوری دستگاه تنفس، رفع بیماری‌های التهابی کلیه و مثانه مؤثر است. همچنین برگ و ریشه این گیاه برای بهبود زخم و تسکین درد استفاده می‌شود و گزارش شده است که برگ این گیاه خاصیت ضد عفونی‌کنندگی نیز دارد [۱٤، ۱۳]. با توجه به ارزش دارویی گیاه بارهنگ و رویش خودرو آن، تاکنون پژوهش‌های مدونی بر روی خواص دارویی و ترکیبات موثره این گیاه انجام نشده است. لذا هدف اصلی این پژوهش بررسی خاصیت ضد باکتریایی و آنتیاکسیدانی عصاره برگ و دانه گیاه بارهنگ و اثر سمیت آن بر روی سلولهای سرطانی ریه رده A٥٤٩ میباشد.

روش کار

جمع‌آوری گیاه و عصارهگیری

برگ و دانه گیاه بارهنگ از منطقه‌ای در نزدیکی شهرستان عباس‌آباد در بهار ۱٤۰۱ از ارتفاع ۵۵ متری جمع‌آوری شد. سپس نمونه‌ها در سایه و در مجاورت هوا خشک و سپس آسیاب گردیدند. مقدار ۵ گرم از هر نمونه

در ۱۰۰ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد خیسانده و به مدت ٤٨ ساعت در دمای اتاق نگهداری گردید. پس از طی شدن زمان مورد نظر، عصاره‌ها صاف شدند. سپس حلال در دمای کمتر از ٤٠°C توسط دستگاه روتاری تبخیر گردید. باقیمانده برای انجام آزمایشات در یخچال با درجه حرارت ٤°C نگهداری شد[۱۵].

۲،۲. اندازه‌گیری محتوای فنل، فلاونوئید و آنتوسیانین کل عصاره‌ها

برای اندازه‌گیری محتوای فنل کل به ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره گیاه، ۲ میلی‌لیتر کربنات سدیم ۲٪، ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر و ۱۰۰ میکرولیتر معرف فولینسیوکالچو ۵۰٪ اضافه شد. بعد از گذشت نیم ساعت جذب آنها در طول موج ۷۲۰ نانومتر نسبت به شاهد ثبت گردید. اسید گالیک به عنوان استاندارد برای رسم منحنی استاندارد بکار رفت. محتوای فنل کل عصاره‌ها براساس میلی‌گرم معادل اسید گالیک بر گرم وزن خشک گیاه گزارش شد[١٦].

برای سنجش میزان فلاونوئید کل به ۵۰۰ میکرولیتر از هر عصاره ۱/۵ میلی‌لیتر متانول ۸۰٪، ۱۰۰ میکرولیتر محلول آلومینیوم کلراید ۱۰٪، ۱۰۰ میکرولیتر محلول استات پتاسیم ۱ مولار و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد. جذب مخلوط بعد از گذشت ٤٠ دقیقه در طول موج ٤١٥ نانومتر نسبت به شاهد اندازه‌گیری گردید. برای رسم منحنی استاندارد از کوئرستین استفاده شد. میزان فلاونوئید کل عصاره‌ها بر اساس میلی‌گرم معادل کوئرستین بر گرم وزن خشک گیاه گزارش شد[۱۷].

برای سنجش میزان آنتوسیانین کل مقدار ۰/۰۲ گرم از بافت خشک گیاهی با ٤ میلی‌لیتر محلول اسید کلریدریک ۱٪ متانول در یک هاون چینی ساییده شد. محلول حاصل به مدت ٢٤ ساعت در یخچال نگهداری شد. سپس، محلول به مدت ۱۰ دقیقه و در ۱۳۰۰۰ دور سانتریفوژ گردید. فاز رویی را برداشته و جذب محلول‌ها در طول موج ۵۳۰ و ٦٥٧ نانومتر نسبت به شاهد اندازه‌گیری شد. از محلول اسید کلریدریک ۱٪ متانول به عنوان شاهد استفاده گردید. میزان آنتوسیانین برای هر عصاره با استفاده از رابطه‌ی زیر محاسبه گردید[۱۸].

$$A = A_{۵۳۰} - (۰/۲۵ \times A_{٦٥٧})$$

A : جذب محلول (اعداد اندیس نشانگر طول‌موج‌هایی است که جذب در آنها اندازه‌گیری شد).

ارزیابی فعالیت ضدباکتریایی عصاره‌ها

تهیه سویه‌های باکتری

میکروارگانیسم‌های موردبررسی در این مطالعه شامل باکتری‌های گرم مثبت، استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس سرئوس و باکتری‌های گرم منفی سودوموناس آئروژینوزا و اشرشیا کلی است. سویه‌های خالص این باکتری‌ها از مرکز کلکسیون قارچ‌ها و باکتری‌های صنعتی ایران خریداری شد.

سنجش فعالیت ضدباکتریایی عصاره‌ها به روش انتشار دیسک

به‌منظور انجام آزمایش ابتدا میکروارگانیسم‌های موردنظر در محیط کشت نوترینت براث فعال گردید. سپس از میکروارگانیسم‌های فعال شده سوسپانسیونی معادل با نیم مک فارلند تهیه شد. پس از تهیهٔ سوسپانسیون ۰/۱ میلی‌لیتر از آن بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار به طور یکنواخت پخش گردید. سپس ۳۰ میکرولیتر از غلظت‌های مختلف عصاره‌ها (۱۰۰۰ و ۲۰۰، ٤٠٠، ٦٠٠، ۸۰۰ گرم بر میلی‌لیتر) بر روی دیسک‌های کاغذی اضافه شد و در ادامه دیسک‌ها بر روی محیط کشت قرار داده شد. در پایان پلیت‌ها در دمای مناسب برای هر میکروارگانیسم به مدت ٢٤ ساعت در انکوباتور نگهداری و سپس قطر هاله عدم رشد برحسب میلی‌متر اندازه‌گیری شد[۱۹].

بررسی اثر عصاره‌های برگ و دانه بر رشد و زیستایی رده سلولی $A_{٥٤٩}$

به‌منظور بررسی اثر عصاره متانولی برگ و دانه گیاه بارهنگ بر رشد و زیستایی سلولی از آزمون رنگ‌سنجی MTT (۳، ٤، ۵ دی متیل تیازول ۲ – ایل ۲، ۵ دی فینیل تترازولیوم) استفاده شد. برای این منظور تعداد ۱۰٤ سلول در هر چاهک در پلیت‌های ۹٦ چاهکی قرار داده شد. بعد از ٢٤ ساعت، غلظت‌های ٤/۸، ۹/۷۷، ۱۹/۵۳، ۳۹/۰٦، ۷۸/۱۳، ۱۵٦/۲۵، ۳۱۲/۵، ٦۲۵، ۱۲۵۰، ۲۵۰۰ و ۵۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از عصاره متانولی به هر چاهک برای زمان‌های ٤۸، ٢٤ و ۷۲ ساعت اضافه شد. بعد از تیمار سلول‌ها تست MTT انجام شد و سپس جذب نمونه‌ها دستگاه الایزا در طول‌موج ۵٤۰ نانومتر مورد بررسی قرار گرفت. درصد زیستایی توسط فرمول زیر محاسبه شد[۲۰].

درصد زیستایی = جذب نمونه / جذب کنترل ×۱۰۰

آنالیز آماری

تمامی نتایج بر اساس میانگین سه تکرار ± خطا استاندارد گزارش شدند. بررسی تمامی داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس و بر اساس آزمون دانکن و با استفاده نرم‌افزار SPSS صورت گرفت و تفاوتها با سطح احتمال کمتر از ۵٪ ($p \leq ۰,۰۵$) معنی‌دار شناخته شدند. همچنین از نرم‌افزار SPSS

برای محاسبه ضریب همبستگی پیرسون بین شاخص‌های اندازه‌گیری شده استفاده شد. رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel ۲۰۱۰ انجام گرفت.

یافته‌ها

بررسی میزان فنل، فلاونوئید و آنتوسیانین کل عصاره‌ها

نتایج نشان داد که عصاره‌های برگ و دانه گیاه بارهنگ خصوصاً عصاره برگ غنی از ترکیبات فنل، فلاونوئید و آنتوسیانین کل است. بر اساس نتایج به‌دست‌آمده، بیشترین میزان فنل و فلاونوئید کل در عصاره برگ به ترتیب ۰/۱۸۳ ±۱۳/۹۰ و ۰/۰۰۳ ±۰/۱۹٤ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک گیاه بدست آمد. همچنین بیشترین میزان آنتوسیانین کل در عصاره‌های برگ و دانه گزارش شد (جدول ۱).

جدول ۱- محتوای فنل، فلاونوئید و آنتوسیانین کل عصارههای برگ و دانه گیاه بارهنگ. دادهها به صورت میانگین ± خطا استاندارد

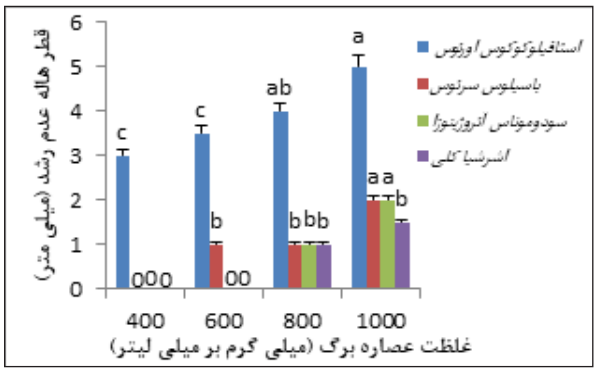
عصاره‌های گیاهی	آنتوسیانین کل (mg g^{-1} DW)	فلاونوئید کل (mg g-۱ DW)	فنل کل (mg g-۱ DW)
برگ	۰/۲۵۰ ±۰/۰۰۳	۱۳/۰±۹۰/۱۸۳	۰/۱۹۴ ±۰/۰۰۳
دانه	۰/۲۵۹ ±۰/۰۰۶	۷/۲۱ ±۰/۱۱۳	۰/۱۴۵ ±۰/۰۱۲

DW : وزن خشک گیاه

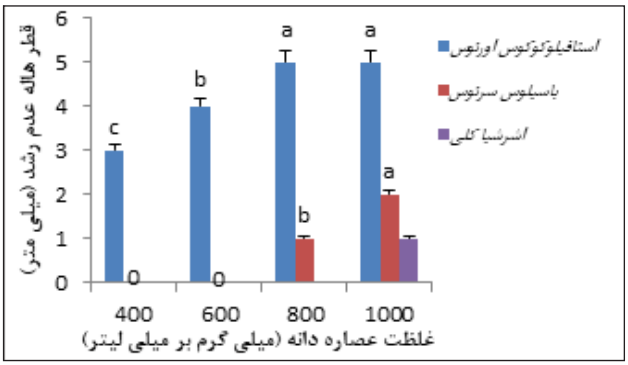
ارزیابی فعالیت ضدباکتریایی عصاره برگ و دانه گیاه بارهنگ به روش انتشار دیسک

فعالیت ضدمیکروبی عصاره برگ و دانه گیاه بارهنگ بر روی تعدادی از باکتریهای پاتوژن شامل استافیلوکوکوس ارئوس، باسیلوس سرئوس، سودوموناس آئروژینوزا و اشرشیاکلی موردبررسی قرار گرفت و از آنتی‌بیوتیک جنتامایسین به‌عنوان کنترل مثبت این آزمایش استفاده شد (شکل ۱). نتایج نشان داد که افزایش غلظت‌های مختلف عصاره‌های برگ و دانه بر رشد باکتری‌های گرم مثبت به‌خصوص باکتری استافیلوکوکوس ارئوس تأثیرگذار است. غلظت ۲۰۰ میلیگرم بر میلی‌لیتر عصاره برگ و دانه بر هیچ از باکتری‌های موردبررسی تأثیرگذار نبود. غلظت ٤۰۰ میلیگرم بر میلی‌لیتر عصاره برگ تنها بر باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس ارئوس و غلظت ٦۰۰ میلیگرم بر میلی‌لیتر عصاره برگ علاوه بر استافیلوکوکوس ارئوس بر باسیلوس سرئوس نیز مؤثر بود. همچنین، بیشترین هاله عدم رشد در غلظت‌های ۸۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره برگ در باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس به ترتیب ٤/٥±۰/۱۱۷ و ۵±۰/۰۱۲ میلی‌متر به دست آمد. علاوه بر این در غلظت ۱۰۰۰ میلیگرم بر میلی‌لیتر عصاره برگ بیشترین هاله عدم رشد در باکتری‌های گرم منفی سودوموناس آئروزینوژا ۲±۰/۰۱۲ میلی‌متر مشاهده شد. در خصوص عصاره دانه غلظت‌های ٤۰۰ و ٦۰۰ میلیگرم بر میلی‌لیتر عصاره تنها بر روی باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس مؤثر بود. بر اساس نتایج به دست‌آمده، بیشترین هاله عدم رشد در غلظت ۸۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره در باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس (۵±۰/۱٤۸میلی‌متر) مشاهده شد. همچنین عصاره دانه تأثیر کمی بر مهار رشد باکتری گرم منفی اشرشیاکلی در غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم (۲±۰/۰۰۱میلی‌متر) از خود نشان داد. در ضمن هیچ یک از غلظت‌های عصاره دانه نتوانستند رشد باکتری گرم منفی سودوموناس آئروزینوژا را مهار کنند.

الف



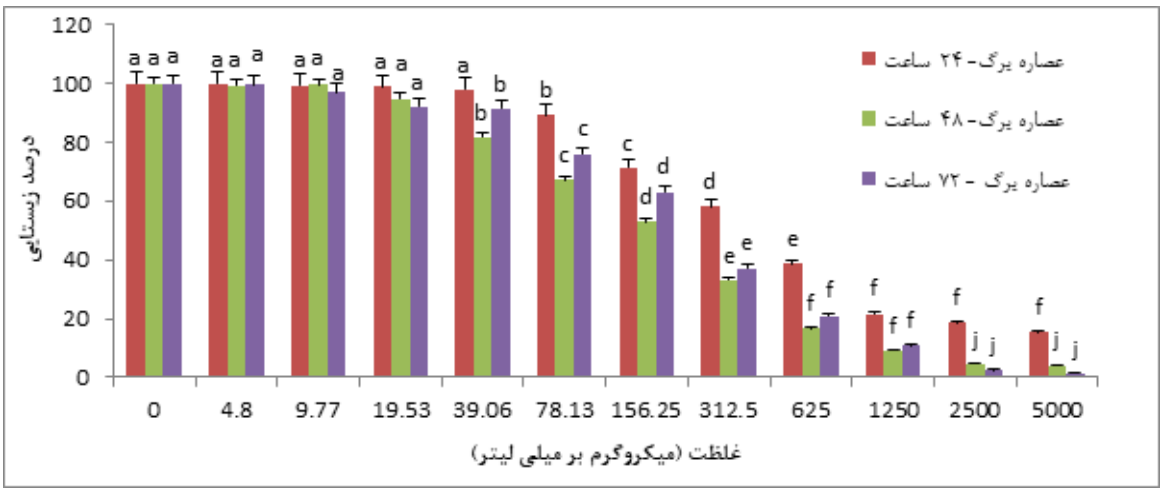
ب



شکل ۱- بررسی اثر ضد میکروبی عصاره گیاه بارهنگ به روش انتشار دیسک. الف. عصاره برگ ب)- عصاره دانه. هر ستون نشان دهنده میانگین داده‌ها ± انحراف استاندارد است. ستونهای دارای حداقل یک حروف مشترک با آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنیدار ندارند.

بررسی تأثیر ضد سرطانی عصاره برگ گیاه بارهنگ طی زمان‌های ۲۴ ، ۴۸ و ۷۲ ساعت

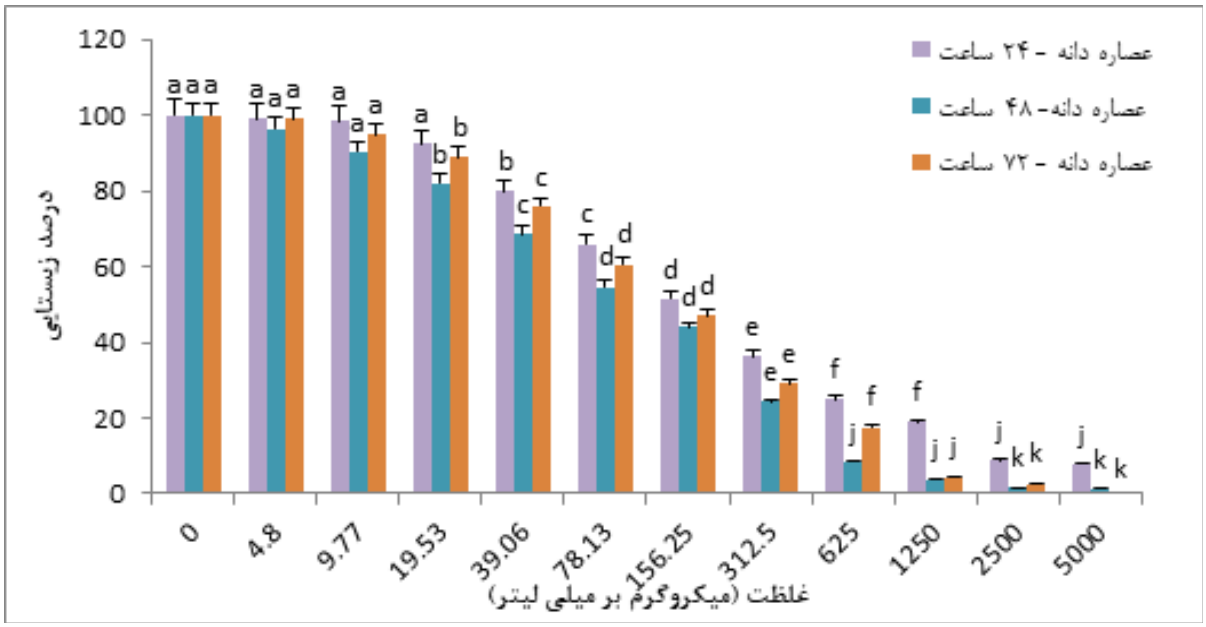
نتایج این پژوهش نشان داد در مجموع غلظت‌های مختلف عصاره برگ گیاه بارهنگ بر مهار رشد سلول‌های سرطانی تأثیر معنی‌داری داشت (شکل ۲). بر اساس نتایج بدست آمده کمترین درصد زیستایی سلول‌های سرطانی در مدت زمان ۲۴ ساعت در غلظت‌های ۲۵۰۰، ۱۲۵۰ و ۵۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر عصاره به ترتیب ۱/۴۷۱± ۲۱/۵۰، ۱/۲۵۶± ۱۸/۴۸ و ۱۵/۳± ۰/۹۸۱ درصد مشاهد شد که به ترتیب بیانگر مهار۷۸/۵، ۸۱/۵۲ و۸۴/۷ درصد در غلظت‌های مورد نظر است. همچنین در مدت زمان ۴۸ ساعت کمترین درصد زیستایی سلول‌های سرطانی در غلظت‌های ۲۵۰۰ و ۵۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر عصاره به ترتیب ۰/۰۳۸ ±۴/۵۴ و ۰/۰۲۱ ±۴/۰۷ درصد مشاهد شد که به ترتیب بیانگر مهار ۹۵/۴۶ و ۹۵/۹۳ درصد در غلظت‌های مورد نظر است. بر اساس نتایج بدست آمده در مدت زمان ۷۲ ساعت کمترین درصد زیستایی سلولهای سرطانی در غلظت ۵۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر عصاره ۰/۰۰۵ ±۱/۲۶ درصد مشاهد شد که این کاهش بیانگر مهار۹۸/۷۴ در غلظت مورد نظر بود.



شکل ۲- مقایسه تاثیر غلظت‌های مختلف عصاره برگ گیاه بارهنگ بر رشد سلول‌های سرطانی طی زمان های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت. هر ستون نشان دهنده میانگین داده‌ها ± انحراف استاندارد. ستون‌های دارای حداقل یک حروف مشترک با آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌دار ندارند.

بررسی تأثیر ضد سرطانی عصاره دانه گیاه بارهنگ طی زمان‌های ۲٤ ، ٤٨ و ۷۲ ساعت

نتایج این پژوهش به‌طورکلی نشان داد که غلظت‌های مختلف عصاره دانه گیاه بارهنگ بر مهار رشد سلول‌های سرطانی تأثیر معنیداری داشت (شکل ۳). براساس نتایج بدست آمده در مدت زمان ۲٤ ساعت، تغییرات غلظت‌های ٤/۸ تا ۱۹/۵۳ میکروگرم بر میلی‌لیتر عصاره بر زیستایی سلول‌های سرطانی نسبت به نمونه کنترل معنی‌دار نبوده است و از غلظت ۳۹/۰٦ میکروگرم بر میلی‌لیتر عصاره زیستایی سلول‌های سرطانی نسبت به نمونه کنترل تغییرات معنی‌داری را نشان دادند. همچنین نتایج بیانگر این بود که کمترین درصد زیستایی سلول‌های سرطانی در غلظت‌های ۲۵۰۰ و ۵۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر عصاره به ترتیب ۰/۰۳۸ ±۸/۸٦ و ۰/۰۲۱ ±۷/۸۷ درصد مشاهد شد که به ترتیب بیانگر مهار ۹۱/۱٤ و ۹۲/۱۳ درصد در غلظت‌های مورد نظر است. در مدت زمان ٤۸ ساعت کمترین درصد زیستایی سلولهای سرطانی در غلظت‌های ۲۵۰۰ و ۵۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر عصاره به ترتیب ۰/۰۰۱ ±۱/٦۳ و ۰/۰۰۱ ±۱/۱۷ درصد مشاهد شد که به ترتیب بیانگر مهار ۹۸/۳۷ و ۹۸/۸۳ درصد در غلظت‌های مورد نظر است. همچنین غلظت‌های ۱۲۵۰ و ٦۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر عصاره نیز باعث کاهش قابل ملاحظه‌ای در رشد سلولهای سرطانی نسبت به کنترل شده اند. علاوه براین نتایج بیانگر این بود که در مدت زمان ٤۸ ساعت نسبت به مدت زمان ۲٤ ساعت زیستایی سلول های سرطانی کاهش چشمگیری را نشان دادند. در مدت زمان ۷۲ ساعت، بیشترین کاهش زیستایی سلول‌ها در غلظت ۵۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر عصاره برابر ۰/۰۰۰۲ ±۰/٤٦ درصد بدست آمد که این کاهش رشد برابر با مهار ۹۹/۵٤ درصدی سلول‌ها می‌باشد. علاوه براین، نتایج این پژوهش بیان کرد که غلظت‌های ۱۲۵۰ و ۲۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر عصاره نیز باعث کاهش قابل ملاحظه‌ای در زیستایی سلولهای سرطانی نسبت به کنترل شده است.



شکل ۳- مقایسه تاثیر غلظت‌های مختلف عصاره دانه گیاه بارهنگ بر رشد سلولهای سرطانی طی زمان های ۲٤، ٤۸ و ۷۲ ساعت. هر ستون نشان دهنده میانگین داده‌ها ± انحراف استاندارد. ستونهای دارای حداقل یک حروف مشترک با آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنیدار ندارند.

بررسی همبستگی بین فعالیت ضد میکروبی و ضد سرطانی عصاره‌های برگ و دانه گیاه بارهنگ با ترکیبات آنتی‌اکسیدان اندازه‌گیری شده

جدول همبستگی نشان داد که فعالیت ضد میکروبی و مهار سلول های سرطانی عصاره‌های برگ و دانه با محتوای فلاونوئید کل در سطح ۱ درصد همبستگی مثبت معنی‌دار دارد. همچنین فعالیت ضد میکروبی و مهار سلول های سرطانی عصاره‌های برگ و دانه با ترکیبات فنلی نیز همبستگی مثبت دارد ولی معنی‌دار نمی‌باشد (جدول ۲ الف و ب).

جدول ۲ الف. همبستگی بین فعالیت ضد میکروبی و ضد سرطانی و برخی ترکیبات آنتی‌اکسیدانی غیر آنزیمی عصاره برگ گیاه بارهنگ.

	محتوای فلاونوئید کل	محتوای فنل کل	محتوای آنتوسیانین	مهار سلول های سرطانی	فعالیت ضد میکروبی
فعالیت ضد میکروبی	۰/۷۱۶**	۰/۴۲۰ns	۰/۲۴۱ns	−۰/۷۶۵**	۱
مهار سلول های سرطانی	۰/۷۸۹**	۰/۴۱۵ns	۰/۳۲۵ns	۱	
محتوای آنتوسیانین	۰/۶۳۹*	۰/۷۱۹**	۱		
محتوای فنل کل	۰/۴۱۵ns	۱			
محتوای فلاونوئید کل	۱				

بررسی همبستگی بین فعالیت ضد میکروبی و ضد سرطانی عصاره های برگ و دانه گیاه بارهنگ با ترکیبات آنتیاکسیدان اندازهگیری شده

جدول ۲ ب. همبستگی بین فعالیت ضد میکروبی و ضد سرطانی و برخی ترکیبات آنتیاکسیدانی غیر آنزیمی عصاره برگ گیاه بارهنگ.

	محتوای فلاونوئید کل	محتوای فنل کل	محتوای آنتوسیانین	مهار سلول‌های سرطانی	فعالیت‌ضدمیکروبی
فعالیت‌ضدمیکروبی	۰/۷۶۵**	۰/۳۲۰ns	ns۳۱۵/۰	−۰/۹۲۳**	۱
مهار سلول‌های سرطانی	۰/۷۲۵**	۰/۲۱۹ns	ns۱۵۵/۰−	۱	
محتوای آنتوسیانین	۰/۷۶۵**	۰/۶۸۹*	۱		
محتوای فنل کل	۰/۷۸۵**	۱			
محتوای فلاونوئید کل	۱				

**همبستگی در سطح ۱ درصد معنی دار است. * همبستگی در سطح ۵ درصد معنیدار است. ns همبستگی بین صفات معنی‌دار نیست.

بحث

ترکیبات آنتی‌اکسیدان مانند ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی به دلیل افزایش تعداد گروههای هیدروکسیل حلقه‌های آروماتیک در محیط واکنش، احتمال‌دادن هیدروژن به رادیکال آزاد و به دنبال آن منجر به افزایش خاصیت آنتی‌اکسیدانی و مهار رادیکال‌های آزاد می‌شوند. در بین ترکیبات فنلی، فلاونوئیدها ترکیبات آنتیاکسیدانی قوی‌تری محسوب می‌شوند. فلاونوئیدها بازدارنده قوی رادیکال‌های هیدروکسیل و پراکسید هستند [۲۱]. در مطالعه‌ای به بررسی خواص درمانی گیاه بارهنگ و ترکیبات فعال آن پرداختند. نتایج این مطالعه نشان داد که برگ و دانه‌های این گیاه به طور وسیعی در طب سنتی به اهداف متفاوتی استفاده می‌شود که از آن جمله می‌توان به ناهنجاری‌های تنفسی و گوارشی اشاره کرد. آنالیز فیتوشیمیایی این گیاه بیانگر پلی ساکاریدها، لیپیدها، آمینواسیدها، اسید کافئیک، فلاونوئیدها و ترپنوئیدها در ساختار بیوشیمیایی آن می‌باشد که میتوان اثرات بیولوژیکی متفاوتی را اعمال کند[۲۲]. بنابراین نتایج این پژوهش‌ها با نتایج پژوهش

حاضر مطابقت داشت. به طور کلی با توجه گزارشات مختلف در زمینه ترکیبات آنتیاکسیدان میتوان اینگونه نتیجه‌گیری کرد که فعالیت آنتیاکسیدانی عصاره‌های گیاهی متأثر از عواملی چون ژنوتیپ گیاهی، روش‌های کشت، شرایط آب و هوایی، مراحل رشد و نمو و فرایندهای پس از برداشت می‌باشند، همچنین تحت تأثیر عواملی دیگر مانند اینکه عصاره از چه بخشی از گیاه استخراج شده است، روش استخراج و همچنین حلال مورد استفاده برای استخراج نیز قرار دارد. بنابراین با توجه به اینکه برخی از این عوامل تأثیرگذار در پژوهش‌های بیان شده و پژوهش حاضر با هم متفاوت بوده‌اند، اختلاف در نتایج بدست آمده کاملاً منطقی است[۱۰].

در خصوص نتایج مربوط به اثر عصاره‌های برگ و دانه بارهنگ بر روی زیستایی سلول‌های سرطانی نشان داد که اثر عصاره‌های برگ و دانه گیاه بارهنگ بر روی کاهش زیستایی سلول‌های سرطان ریه رده سلولی A۵۴۹ وابسته به غلظت و زمان است به‌طوری که بیشترین کاهش زیستایی سلول‌های سرطانی در مدت زمان ۷۲ ساعت و در غلظت ۵۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر عصاره‌ها مشاهده شد (شکل‌های ۲ و ۳). همچنین نتایج جدول همبستگی نشان داد که بین مهار رشد سلول‌های سرطانی و محتوای فلاونوئید عصاره‌ها همبستگی مثبت معنی‌داری وجود دارد (جدول ۲ الف و ب). در پژوهش حاضر، مشاهدات ما از خاصیت ضد سرطانی بخش‌های مختلف گیاه بارهنگ با مشاهدات ساملسن (۲۰۰۰) در استفاده سنتی از بارهنگ در درمان سرطان مطابقت دارد [۲۳]. همچنین مطالعات کاندا و همکاران (۲۰۰۳) که فلاونوئیدهای ۸ گونه از بارهنگ را مطالعه نمودند و نشان دادند که لوتئولین گلکوزید ترکیب اصلی فلاونوئیدی در بیشتر گونه‌های بارهنگ است [۲۴]. نتایج بررسی گالوز و همکاران (۲۰۰۳) نشان داد که لوتئولین گلکوزید عصاره بارهنگ به‌عنوان مولکول ضد سرطانی قوی در مهار سلول‌های سرطانی آدنوکارسینوم کلیه انسان (TK-۱۰)، آدنوکارسینوم پستان انسان (MCF-۷) و رده‌های سلولی ملانوم انسانی (UACC-۶۲) عمل میکند. مکانیسم دقیق فعالیت مهاری این نوع فلاونوئید در گونه‌های بارهنگ به‌خوبی شناخته نشده است؛ اما به نظر می‌رسد مهار آسیب DNA که به‌وسیله توپوایزومرازها وساطت می‌شود کاندید اصلی عملکرد لوتئولین گلکوزید در مهار سرطان باشد [۲۵]. عملکرد این ترکیبات در مهار سلول‌های سرطانی ممکن است به این صورت باشد که این ترکیبات آنتی‌اکسیدان قادرند چرخه سلولی را مهار کرده و یا چک پوینت‌های آن را فعال کنند، مانع همانندسازی DNA شوند و یا مسیر داخلی و یا خارجی آپوپتوز را فعال کنند [۲۶]. از سوی دیگر فلاونوئیدها به طور عمده فرایندهای ایمنی و سلولی مرتبط با گسترش و پیشرفت سرطان مثل تکثیر سلولی، تمایز سلولی و ایجاد رگ‌های جدید را مانع می‌شوند [۲۷]. در تحقیق حاضر مسیرهای بیوشیمیایی و مکانیسم عمل عصاره‌های برگ و دانه گیاه بارهنگ در مهار سلول‌های سرطان ریه رده سلولی A۵۴۹ موردبررسی قرار نگرفته است، بنابراین در این مورد نمی‌توان اظهارنظر کرد، اما چیزی که در این پژوهش به اثبات رسید این است که عصاره برگ و دانه این گیاه حاوی مقدار زیادی از ترکیبات آنتیاکسیدان به‌ویژه ترکیبات فلاونوئیدی است که نتایج محققین دیگر نیز آن را اثبات نمود. همچنین به دلیل وجود همبستگی مثبت معنی‌دار بین ترکیبات فلاونوئیدی و مهار رشد سلول‌های سرطانی، احتمالاً وجود فلاونوئیدها به‌عنوان یک ترکیب آنتی‌اکسیدان می‌تواند نشان‌دهنده این باشد که این ترکیبات احتمالاً از طریق یکی از مسیرهای ذکر شده باعث مهار رشد سلولهای سرطانی می‌شوند.

مطابق نتایج بدست آمده خاصیت ضدمیکروبی برگ و دانه گیاه بارهنگ را می‌توان به مقادیر بالای ترکیبات آنتیاکسیدانی موجود در عصاره‌ها نسبت داد که نتایج جدول همبستگی نیز نشان داد که خاصیت ضد میکروبی عصاره‌های برگ و دانه گیاه بارهنگ با محتوای فلاونوئید کل همبستگی مثبت معنی‌داری را نشان داده است (جدول ۲ الف و ب). همچنین نتایج نشان داد که عصاره برگ گیاه بارهنگ در مقایسه با عصاره دانه خاصیت ضد میکروبی بالاتری را نشان داد و بیشترین هاله عدم رشد برای باکتری‌های مورد نظر در غلظت ۱۰۰۰ میلیگرم بر میلی‌لیتر مشاهده شد (شکل ۱). همچنین نتایج نشان داد که بیشترین قطر هاله عدم رشد بر باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس مشاهده شد. در پژوهشی اثر ضد باکتریایی غلظت‌های مختلف عصاره هیدروالکلی بارهنگ و ناخنک بر باکتریهای شیگلا فلکسنتری، آنتروکوکوس فکالیس، استرپتوکوکوس پیوژنز بررسی شد. نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد اگرچه قدرت بازدارندگی غلظت‌های مختلف عصاره نسبت به دو نوع آنتی بیوتیک پنی سیلین و اریترومایسین کمتر بود اما نسبت به شاهد (آب مقطر) معنی‌دار بود. در این آزمایش، تاثیر عصاره ناخنک در مقایسه با بارهنگ کمتر بود، هرچند که افزایش غلظت عصاره‌ها، سبب افزایش میزان قطر بازدارندگی رشد باکتری‌ها بخصوص باکتری‌های گرم مثبت استرپتوکوکوس پیوژنز و انتروکوکوس فکالیس گردید[۲۸]. تحقیقات متعددی روی فعالیت ضد

میکروبی عصاره سایرگیاهان نیز انجام شده است که نتایج آنها نشان داد که ترکیبات آنتیاکسیدان موجود در گیاهان باعث خاصیت ضد میکروبی این گیاهان شد[۲۹،۳۰]. نتایج پژوهش حاضر نیز یافته‌های این محققین را تایید می‌کند و نشان می‌دهد که ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی اثر ضد میکروبی روی باکتری‌های گرم مثبت نسبت به باکتری‌های گرم منفی دارد و به طور کلی باکتری‌های گرم منفی در مقایسه به گرم مثبت‌ها نسبت به ترکیبات فنلی مقاومتر هستند که این تفاوت شاید به دلیل تفاوت در ساختمان دیواره سلولی آنها باشد[۳۱]. باکتری‌های گرم مثبت در دیواره سلولی خود دارای موکوپپتید بوده در حالی که باکتری‌های گرم منفی فقط یه لایه نازکی از موکوپپتید دارند و قسمت اعظم ساختمان دیواره در آنها لیپو پروتئین و لیپو پلی ساکارید است. در حقیقت باکتری‌های گرم منفی یک غشا خارجی در اطراف دیواره سلولی خود دارند که به همین دلیل آنها را در برابر مواد ضد باکتریایی مقاومتر می‌سازد[۳۲]. سطح هیدروفیلی این غشا که غنی از مولکول‌های لیپوپلیساکاریدی میباشد به عنوان مانع در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها عمل می‌کند. همچنین آنزیم‌های موجود در فضای پریپلاسمایی، می‌توانند مولکول‌های ورودی از بیرون را بشکنند اما در مورد باکتریهای گرم مثبت، مواد ضد میکروبی به راحتی دیواره سلولی و غشای سیتوپلاسمی را تخریب کرده که منجر به نشت سیتوپلاسم و انعقاد آن می‌شوند[۳۳]. تخریب دیواره سلولی منجر به نشت محتویات سلولی به بیرون و در نتیجه مرگ سلول می‌شود. میزان اثر این ترکیبات به دوز و زمان اثر آنها بستگی دارد. غلظت بالاتر منجر به افزایش سرعت نابودی میکروارگانیسمها میشود در نتیجه برای ایجاد اثر ضد باکتریایی مشابه در دوزهای پایین از زمان بیشتری استفاده کرد. ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی قادر هستند که به غشای سلولی صدمه بزنند و در ساختار لیپید دیواره سلولی باکتری‌ها نفوذ کنند که این امر منجر به دناتوراسیون پروتئین‌ها و از هم پاشیدن ساختار سلولی و تراوش سیتوپلاسم و در نهایت مرگ سلولی می‌شود[۳٤].

نتیجه‌گیری

نتایج به‌دست‌آمده از این پژوهش مشخص کرد که برگ و دانه گیاه بارهنگ منبع غنی از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی به‌ویژه ترکیبات فلاونوئیدی است. همچنین نتایج نشان داد که عصاره‌های برگ و دانه گیاه بارهنگ در غلظت‌های ۸۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم بر میلی‌لیتر اثر ضد باکتریایی خوبی بر روی باکترهای گرم مثبت استافیلوکوکوس و باسیلوس سرئوس از خود نشان دادند. همچنین عصاره برگ تاثیر کمی بر روی مهار رشد باکتری‌های گرم منفی اشرشیا کلی و سودوموناس آئروزینوژا داشتند. از سوی دیگر بر اساس نتایج بدست آمده غلظت‌های مختلف عصاره‌های برگ و دانه گیاه بارهنگ باعث کاهش زیستایی سلول‌های سرطانی ریه گردید. کاهش زیستایی سلول‌های سرطانی وابسته به غلظت و زمان بود به طوری در عصاره‌های برگ و دانه بیشترین کاهش زیستایی در غلظت ۵۰۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر و در مدت زمان ۷۲ ساعت مشاهده شد. بنابراین با توجه به نتایج بدست آمده می‌توان گفت که عصاره‌های برگ و دانه گیاه بارهنگ سرشار از ترکیبات آنتی اکسیدان است که با توجه به مقاومت سویه‌های باکتریایی به آنتی‌بیوتیک‌ها و اثرات جانبی داروهای شیمی درمانی، می‌توان این بخشهای مختلف این گیاه را برای بررسی‌های فارماکولوژی بیشتر توصیه کرد تا شاید در آینده از این گیاه در زمینه‌های درمان استفاده کرد.

اعلان‌ها

تشکر و قدردانی: این مقاله مستخرج از پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد است که در شورای پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن ثبت شده است.

تعارض منافع: در این مطالعه تضاد منافع وجود ندارد.

ملاحظات اخلاقی: در این مطالعه ملاحظات اخلاقی مطابق کد اخلاق IR.IAU.TON.REC. ۱٤۰۲,۰۸۹ در دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن انجام شد.

مشارکت نویسندگان: آذر زمانی چپرپردی: اجرای تحقیق و آنالیز داده‌ها؛ سیمین آرین: طرح اصلی موضوع و ویرایش مقاله؛ زینب خزائی کوهپر: طرح اصلی موضوع و ویرایش مقاله؛ مهدیه هوشنی: تحلیل دادهها و ویرایش مقاله. سیمین آرین و مهدیه هوشنی به طور مشترک نویسنده مسئول مقاله هستند و از امتیاز برابر برخوردارند.

References

1. 1. Kumar Panda S, Gupta D, Patel M, Vyver Ch, Koyama H. Functionality of Reactive Oxygen Species (ROS) in Plants: Toxicity and Control in Poaceae Crops Exposed to Abiotic Stress Malaysiana. Plants. 2024; 13(15): 1-25.
2. 2. Blackadar CB. Historical review of the causes of cancer. World Journal of Clinical Oncology. 2016; 7: 54 -86.
3. 3. Donofrio A, Mazzetta Ch, Robertson Ch, Smans M, Boyle P, Boniol M. Maps and atlases of cancer mortality: a review of a useful tool to trigger new questions. Cancer Medicine Sience. 2016; 10: 670.
4. 4. Yang Y, Wang H, Xue Q, Peng W, Zhou Q. New advances of natural products in non-small cell lung cancer: From mechanisms to therapies. Journal of Ethnopharmacology. 2025; 346: 119636.
5. 5. Ortiz R I, Melguizo C, Prados J, Álvarez P J, Caba O, Rodríguez-Serrano F, Hita F, Aránega A. New gene therapy strategies for cancer treatment: a review of recent patents. Recent Patents on Anti-Cancer Drug Discovery, 2012; 7: 297-312.
6. 6. Pinto R J, Marques P A, Neto C P, Trindade T, Daina S, Sadocco P. Antibacterial activity of nanocomposites of silver and bacterial or vegetable cellulosic fibers. Acta Biomaterialia. 2009; 5: 2279-2289.
7. 7. Shen N, Wang T, Gan Q, Liu S, Wang L, Jin B. Plant Flavonoids: Classification, Distribution, Biosynthesis, and Antioxidant Activity. Food Chemistry. 2022; 383: 132531.
8. 8. Babakhani B, Houshani M, Motalebi Tala Tapeh S, Shoja Shafiee M, Heidari Keshel S. The evolution of antioxidant activity and anticancer of Alfalfa extract on MCF7 Cell line. Regeneration, Reconstruction and Restoration. 2019; 4 (1): 9-14.
9. 9. Min Oh S, Kim DY, Lee SY, Song HE, Kim I, Seo, WD, Lee JH, , Oh S, Lee DY, Ryu HW. Comparisons of phenolic compounds and antioxidant activities during different growth stages in Artemisia gmelinii Weber ex Stechm with UPLC-QTOF/MS based on a metabolomics approach. Industrial Crops and Products. 2023; 116999.
10. 10. Houshani M, Mianabadi M, Aghdasi M, Azim Mohseni M. An investigation of antioxidant activity of Physalis alkekengi methanolic extracts in different phenolegical stages. Journal of Plant Biology. 2012; 4 (14), 101-114.
11. 11. Li, S. Novel Insight into Functions of Ascorbate Peroxidase in Higher Plants: More than a Simple Antioxidant Enzyme. Redox Biology. 2023: 64: 102789.
12. 12. Voronkova Y, Voronkova O, Gorban V, Holoborogko, K. Oxidative stress, reactive oxygen species, antioxidants: a review. Ecology Noospherology. 2018; 29 (1): 52-59.
13. 13. Eskandari H, Kazemi K, Ghani B. Reaction of Barhang medicinal plants to some abiotic stresses. International Congress of Agriculture, Medicinal Plants and Traditional Medicine. 2016; 1-5.
14. 14. Amin G. The most common traditional medicinal plants of Iran. Research Assistant of Tehran University of Medical Sciences and Medical Health Services. 2014. 264.
15. 15. Pourmorad F, Hosseinimehr S J, Shahabimajd N. Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. African Journal of Biotechnology. 2006; 5: 1142-1145.
16. 16. Meda A, Lamien C E, Romito M, Millogo J, Nacoulma O G. Determination of the total phenolic, flavonoid and pralin contents in Burkina Fasan honey, as well as their scavenging activity. Food Chemistry. 2005; 91: 571-577.
17. 17. Chang C, Yang M, Wen H, Chern J. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. Journal of Food and Drug Analysis. 2002; 10: 178-182.
18. 18. Mita S, Murano N, Akaike M, Nakamura K. Mutants of Arabidopsis thaliana with pleiotropic effects on the expression of the gen for beta-amylase and on the accumulation of anthocyanin that are

inducible by sugars. Plant Journal. 2007;11: 841-851.

19. 19. Chakraborty M, Mitra A. The antioxidant and antimicrobial properties of the methanolic extract from Cocos nucifera mesocarp. Food Chemistry. 2008;107: 994-999.
20. 20. Sitiasma M J, Al-jamal H, Yong-Ang C H, Matasan J, Seeni A, Johan M F. Apoptosis induction in MV4-11 and K562 human leukemic cells by Pereskia sacharosa (Cactaceae) leaf crude extract. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention. 2014; 15: 475- 481.
21. 21. Fazeli-Nasab B, Rahnama M, Mazarei A. Correlation between antioxidant activity and antibacterial activity of nine medicinal plant extracts. Journal of Mazandaran University of Medical Sciences. 2017; 27, 63-78.
22. 22. Mikaili P, Aghajan Shakri, Sh, Molodi Zargari M, Javaheripour S. Therapeutic uses and medicinal properties of Barhang and its active compounds. Congress of Physiology and Pharmacology of Iran. 2013.
23. 23. Samuelsen A B. The traditional uses, chemical constituents and biological activities of Plantago major L. A review. Journal of Ethnopharmacology. 2010; 71:1-21.
24. 24. Kanda S,Wani C,Middletion E.(1994)Free scavenging and antioxidant activity of plant flavonoids .Advanses in Experimental.Medicine andBiology.366:354-376.
25. 25. Almatroudi A, Allemailem K. S, Alwanian W. M, Alharbi B. F, Alrumaihi F, Khan A. A. Effects and mechanisms of kaempferol in the management of cancers through modulation of inflammation and signal transduction pathways. International Journal of Molecular Sciences. 2023; 24 (10): 8630.
26. 26. Rezakhani L, Mirzapour P, Alizadeh A, Khazaei M R, Alizadeh M, Khazaei M.. A review of plants and natural compounds with anticancer effects. Pathological researches. 2017; 21 (3): 171-163.
27. 27. Silvestri G A, Alberg A J, Ravenel J. The changing epidemiology of lung cancer with a focus an screening. Baritish Medicin. 2009; 399: 451-454.
28. 28. Aminian, R. Mardani, M. Daudnia, b. 2017. Investigating the antibacterial effect of the hydroalcoholic extract of Plantago major and Astragalus hamosus on a number of Gram-negative and Gram-positive bacteria. Plant Research Journal. 31 (3): 567-556.
29. 29. Aryan S, Habib Hosseini F. Phytochemical, antioxidant and antibacterial investigation and comparison of different concentrations of the extract of the medicinal plant organs Physalis alkekengi. Ecophytochemistry Journal of Medicinal Plants. 2021; 10 (3): 109-103.
30. 30. Mianabadi M, Hoshani M, Salmanian S. Antimicrobial and Anti-oxidative Effects of Methanolic Extract of Dorema aucheri Boiss. Journal of Agriculture Science Technology. 2015; 17, 623-634.
31. 31. Chandra P, Sharma RK, Arora DS. Antioxidant compounds from microbial sources: A review. Food Research Internationa. 2020; 108849.
32. 32. Salvagnini L E, Oliveira J R S, Santos L E d, Moreira R R D, Pietro R C L. Evaluation of the antibacterial activity of Myrtus communis L.(Myrtaceae) leaves. Revista Brasileira de Farmacognosia. 2008;18: 241-244.
33. 33. Duffy C F, Power R F. Antioxidant and antimicrobial properties of some Chinese plant extracts. International Journal of Antimicrobial Agents. 2010; 17: 527-529.
34. 34. Jahan N, Khatoon R, Shahzad A, Shahid M, Ahmad S. Comparison of antibacterial activity of parent plant of Tylophora indica Merr. with its in vitro raised plant and leaf callus. African Journal of Biotechnology. 2013; 12 (8): 4891-4896.