

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

Azar ZamaniChaparpardi¹

Simin Arian ^{*1}

Zynab khazaei Kooohpar²

Mahdieh Houshani ^{*3}

1. Department of Microbiology,
Faculty of Biological Sciences,
Tonekabon Branch, Islamic Azad
University, Tonekabon, Iran.

2. Cellular and Molecular Department,
Faculty of Biological Sciences,
Tonekabon Branch, Islamic Azad
University, Tonekabon, Iran.

3. Department of Plant Physiology,
Faculty of Biological Sciences,
Tonekabon Branch, Islamic Azad
University, Tonekabon, Iran.

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

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

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

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

چکیده

مقدمه: گیاهان دارویی منابع مهمی از ترکیبات آنتی اکسیدان هستند که می‌توانند برای درمان عفونت‌های باکتریایی و بیماری‌های ناشی از رادیکال‌های آزاد مناسب باشند؛ بنابراین، هدف این پژوهش بررسی ترکیبات آنتی اکسیدانی 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 $13/90 \pm 0/183$ و $0/194 \pm 0/003$ میلی گرم بر گرم وزن خشک گیاه بدست آمد. همچنین خاصیت ضد سرطانی عصاره‌ها وابسته به غلظت و زمان بود به طوری که بیشترین درصد مهار رشد سلول‌ها در غلظت ۵۰۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر برای عصاره‌های برگ و دانه به ترتیب ۹۸/۹۸ و ۹۹/۵۴ درصد در مدت زمان ۷۲ ساعت بدست آمد. بیشترین هاله عدم رشد مربوط به باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس و در غلظت ۱۰۰۰ گرم بر میلی لیتر برای عصاره‌های برگ و دانه مشاهده شد.

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

واژگان کلیدی: بارهنگ، ترکیبات آنتی اکسیدان، سرطان ریه، فعالیت ضدباکتریایی

آذر زمانی چپرپردی^۱

سیمین آراین^{۱*}

زینب خزائی کوهپر^۲

مهدیه هوشنی^{۳*}

۱. گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی،

دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن، تنکابن، ایران

۲. گروه سلولی و مولکولی، دانشکده علوم

زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن،

تنکابن، ایران

۳. گروه فیزیولوژی گیاهی، دانشکده علوم

زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن،

تنکابن، ایران

* نویسنده مسئول:

Simin.aryan@yahoo.com

mhoshani@yahoo.com

مقدمه

موجودات زنده در معرض انواع مختلفی از تنش ها هستند که ویژگی کلی آنها توانایی افزایش تولید گونه های فعال اکسیژن است [۱]. گونه های فعال اکسیژن سبب غیر فعال شدن آنزیم ها، آسیب به DNA و پراکسیداسیون لیپیدها شده و در ایجاد بیماری های نظیر سرطان، آلزایمر، نقرس، پیری و بیماری های قلبی - عروقی موثر هستند. سرطان به مجموعه بیماری هایی گفته می شود که از تکثیر مهار نشده سلول ها پدید می آیند. احتمال بروز سرطان در سنین مختلف وجود دارد ولی با افزایش سن احتمال ابتلا به سرطان زیادتر می شود [۲]. بر طبق گزارش انجمن بهداشت آمریکا، ۷/۶ میلیون نفر بر اثر سرطان در سال ۲۰۱۷ دچار مرگ شدند [۳]. یکی از سرطان های شایع در دنیا، سرطان ریه است. امروزه درمان های رایج سرطان شامل جراحی، پرتو درمانی و شیمی درمانی می باشد که اغلب موارد سلول های سالم نیز آسیب می بینند و از بین می روند که این می تواند باعث اثرات سمی و عوارض جانبی در بیمار شود [۴]. در سال های اخیر به علت افزایش شیوع مرگ و میر ناشی از سرطان ها و نقص روش های شیمی درمانی و پرتو درمانی در فرم های پیشرفته سرطان، نیاز به یافتن شیوه های جدید برای کنترل سرطان احساس می شود که یکی از این روش ها استفاده از عصاره های گیاهی است [۵]. از سوی دیگر افزایش عفونت های میکروبی و مقاومت آنتی بیوتیکی نیز از مشکلات دیگر جوامع بشری به خصوص کشورهای در حال توسعه می باشد. ترکیبات گیاهی به علت منشأ طبیعی، اثرات جانبی کم و دسترسی آسان از جایگاه ویژه ای در حفظ سلامت جوامع مختلف برخوردار هستند [۶]. برای جلوگیری از اثرات سوء گونه های فعال اکسیژن، حضور ترکیبات آنتی اکسیدان ضروری می باشد [۷]. تعداد زیادی از ترکیبات آنتی اکسیدان طبیعی و سنتزی در درمان یا پیشگیری از بیماری های مرتبط با گونه های فعال اکسیژن به کار برده می شوند. با توجه به اثرات نامطلوب آنتی اکسیدان سنتزی بر بدن، امروزه تلاش وسیعی در جهت جایگزین نمودن آنها با انواع طبیعی خصوصاً فراورده های گیاهی صورت می گیرد. اکثر گیاهان غنی از ترکیبات آنتیاکسیدان هستند و می توانند سلول را از تنش های اکسیداتیو محافظت نمایند. سیستم آنتی اکسیدان در گیاهان شامل مولکول های آنتی اکسیدان غیر آنزیمی و آنزیمی می باشد [۸]. مطالعات نشان داده است که محتوای آنتی اکسیدان در گیاه با توجه به ژنوتیپ، مرحله ی بلوغ، شرایط محیطی در زمان رشد و پس از برداشت گیاه تغییر می کند [۹]. گیاهان منابع غنی از آنتی اکسیدان های طبیعی محسوب می شوند.

آنتی اکسیدان های گیاهی به علت خاصیت احیاکنندگی خود به عنوان پالاینده ی اکسیژن فعال عمل می کنند. بنابراین، آنها می توانند در ممانعت و به تاخیر انداختن بروز این بیماری ها مفید باشند [۱۰]. بررسی ها نشان داده است که آنتی اکسیدان ها در جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدها نقش مهمی ایفا می کنند. این عمل از طریق افزایش سطح آنتی اکسیدان هایی از جمله آنزیم های سوپراکسیددسموتاز و کاتالاز می باشد. این آنزیم ها قادر به کاهش تولید محصولات نهایی پراکسیداسیون لیپیدها نظیر مالونیدیل آلدئید و هیدرو پروکسید می باشند. بنابراین در جلوگیری از بیماری های نظیر دیابت موثر هستند [۱۱]. آنتی اکسیدان ها با کاهش آسیب های اکسیداتیو به اسیدهای نوکلئیک می توانند خطر ابتلا به سرطان را کاهش دهند [۱۲].

گیاه بارهنگ با نام علمی *Plantago major* و از خانواده Plantaginaceae می باشد 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 می روید و در ایران تقریباً در تمام نقاط می روید. ریشه، برگ و دانه این گیاه خاصیت دارویی دارند و از آن ها به عنوان تصفیه کننده خون، آرام کننده ناراحتی های آسم، اسهال های ساده و ورم مخاط دهان استفاده می شود. دانه های بارهنگ دارای چربی، صمغ، لیزاب، ترکیبات گلوکزیدی، تانن ها، کومارینها و فلاونوئیدها می باشند. علاوه بر این جوشانده دانه بارهنگ در ناراحتی های تنفسی و برونشیت حاد، ضد عفونی کننده و خلط آوری دستگاه تنفس، رفع بیماری های التهابی کلیه و مثانه موثر است. همچنین برگ و ریشه این گیاه برای بهبود زخم و تسکین درد استفاده می شود و گزارش شده است که برگ این گیاه خاصیت ضد عفونی کنندگی نیز دارد [۱۴، ۱۳]. با توجه به ارزش دارویی گیاه بارهنگ و رویش خودرو آن، تاکنون پژوهش های 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 سلول های سرطانی ریه رده A۵۴۹ می باشد.

روش کار

جمع آوری گیاه و عصاره گیری

برگ و دانه گیاه بارهنگ از منطقه ای در نزدیکی شهرستان عباس آباد در بهار ۱۴۰۱ از ارتفاع ۵۵ متری جمع آوری شد. سپس نمونه ها در سایه و در مجاورت هوا خشک و سپس آسیاب گردیدند. مقدار ۵ گرم از هر نمونه

مثبت، استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس سرئوس و باکتری‌های گرم منفی سودوموناس آئروژینوزا و اشرشیا کلی است. سویه‌های خالص این باکتری‌ها از مرکز کلکسیون فارچ‌ها و باکتری‌های صنعتی ایران خریداری شد.

سنجش فعالیت ضدباکتریایی عصاره‌ها به روش انتشار دیسک

به منظور انجام آزمایش ابتدا میکروارگانیسم‌های موردنظر در محیط کشت نوترینت براث فعال گردید. سپس از میکروارگانیسم‌های فعال شده سوسپانسیون معادل با نیم مک فارلند تهیه شد. پس از تهیه سوسپانسیون ۰/۱ میلی‌لیتر از آن بر روی محیط کشت مولر هیتون آگار به طور یکنواخت پخش گردید. سپس ۳۰ میکرولیتر از غلظت‌های مختلف عصاره‌ها (۱۰۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰، ۶۰۰، 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 ۲۴ 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_{549}

به منظور بررسی اثر عصاره متانولی برگ و دانه گیاه بارهنگ بر رشد و زیستایی سلولی از آزمون رنگ‌سنجی MTT (۳، ۴، ۵، دی متیل تiazول ۲- ایل ۵، ۲، دی فنیل ترازولیوم) استفاده شد. برای این منظور تعداد ۱۰۴ سلول در هر چاهک در پلیت‌های ۹۶ چاهکی قرار داده شد. بعد از ۲۴ ساعت، غلظت‌های ۴/۸، ۹/۷۷، ۱۹/۵۳، ۳۹/۰۶، ۷۸/۱۳، ۱۵۶/۲۵، ۳۱۲/۵، ۶۲۵، ۱۲۵۰، ۲۵۰۰ و ۵۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از عصاره متانولی به هر چاهک برای زمان‌های ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت اضافه شد. بعد از تیمار سلول‌ها تست MTT انجام شد و سپس جذب نمونه‌ها دستگاه الیزا در طول موج ۵۴۰ نانومتر مورد بررسی قرار گرفت. درصد زیستایی توسط فرمول زیر محاسبه شد [۲۰].

$$100 \times \text{جذب کنترل} / \text{جذب نمونه} = \text{درصد زیستایی}$$

آنالیز آماری

تمامی نتایج بر اساس میانگین سه تکرار $\pm$ 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 ۰/۰۵ ($p \leq 0.05$) معنی دار شناخته شدند. همچنین از نرم‌افزار SPSS

در ۱۰۰ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد خیسانده و به مدت ۴۸ ساعت در دمای اتاق نگهداری گردید. پس از طی شدن زمان مورد نظر، عصاره‌ها صاف شدند. سپس حلال در دمای کمتر از 40°C توسط دستگاه روتاری تبخیر گردید. باقیمانده برای انجام آزمایشات در یخچال با درجه حرارت 4°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 ۰/۲٪، ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر و ۱۰۰ میکرولیتر معرف فولینسیو کالجو ۰/۵٪ 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 [۱۶]. برای سنجش میزان فلاونوئید کل به ۵۰۰ میکرولیتر از هر عصاره ۱/۵ میلی‌لیتر متانول ۰/۸٪، ۱۰۰ میکرولیتر محلول آلومینیوم کلراید ۰/۱٪، ۱۰۰ میکرولیتر محلول استات پتاسیم ۱ مولار و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد. جذب مخلوط بعد از گذشت ۴۰ دقیقه در طول موج ۴۱۵ 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 ۴ میلی‌لیتر محلول اسید کلریدریک ۱٪ متانول در یک هاون چینی ساییده شد. محلول حاصل به مدت ۲۴ 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 ۶۵۷ 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].

$$A = A_{530} - (0.25 \times A_{657})$$

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

برگ غنی از ترکیبات فنل، فلاونوئید و آنتوسیانین کل است. بر اساس نتایج به دست آمده، بیشترین میزان فنل و فلاونوئید کل در عصاره برگ به ترتیب $0/183 \pm 0/90$ و $0/194 \pm 0/03$ میلی گرم بر گرم وزن خشک گیاه بدست آمد. همچنین بیشترین میزان آنتوسیانین کل در عصاره های برگ و دانه گزارش شد (جدول ۱).

برای محاسبه ضریب همبستگی پیرسون بین شاخص های اندازه گیری شده استفاده شد. رسم نمودارها با استفاده از نرم افزار Excel ۲۰۱۰ انجام گرفت.

یافته ها

بررسی میزان فنل، فلاونوئید و آنتوسیانین کل عصاره ها

نتایج نشان داد که عصاره های برگ و دانه گیاه بارهنگ خصوصاً عصاره

جدول ۱- محتوای فنل، فلاونوئید و آنتوسیانین کل عصاره های برگ و دانه گیاه بارهنگ. داده ها به صورت میانگین $\pm$ خطا استاندارد

عصاره های گیاهی	آنتوسیانین کل (mg g ⁻¹ DW)	فلاونوئید کل (mg g ⁻¹ DW)	فنل کل (mg g ⁻¹ DW)
برگ	$0/250 \pm 0/03$	$13/0 \pm 90/183$	$0/194 \pm 0/03$
دانه	$0/259 \pm 0/06$	$7/21 \pm 0/113$	$0/145 \pm 0/012$

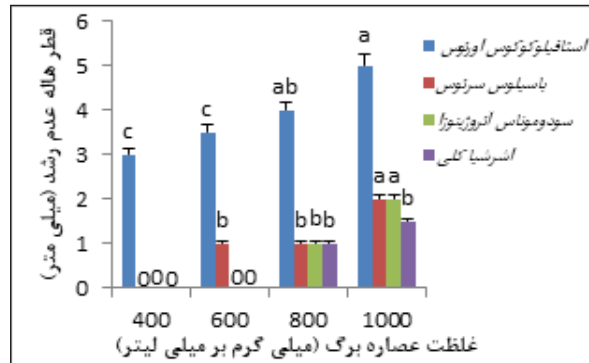
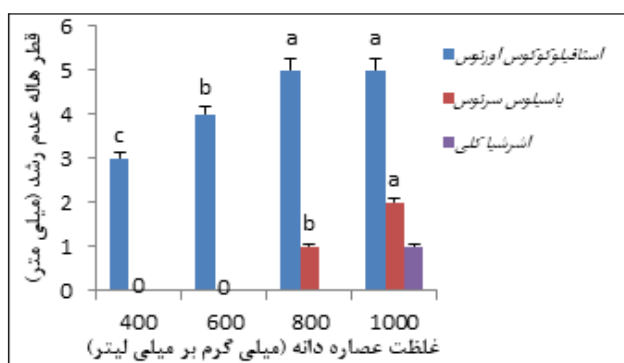
DW: وزن خشک گیاه

رشد در غلظت های ۸۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر عصاره برگ در باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس به ترتیب $4/5 \pm 0/117$ و $5 \pm 0/012$ میلی متر به دست آمد. علاوه بر این در غلظت ۱۰۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر عصاره برگ بیشترین هاله عدم رشد در باکتری های گرم منفی سودوموناس آئروزیینوزا $2 \pm 0/012$ میلی متر مشاهده شد. در خصوص عصاره دانه غلظت های ۴۰۰ و ۶۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر عصاره تنها بر روی باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس مؤثر بود. بر اساس نتایج به دست آمده، بیشترین هاله عدم رشد در غلظت ۸۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر عصاره در باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس ($5 \pm 0/148$ میلی متر) مشاهده شد. همچنین عصاره دانه تأثیر کمی بر مهار رشد باکتری گرم منفی اشرشیاکلی در غلظت ۱۰۰۰ میلی گرم ($2 \pm 0/001$ میلی متر) از خود نشان داد. در ضمن هیچ یک از غلظت های عصاره دانه نتوانستند رشد باکتری گرم منفی سودوموناس آئروزیینوزا را مهار کنند.

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

فعالیت ضد میکروبی عصاره برگ و دانه گیاه بارهنگ بر روی تعدادی از باکتری های پاتوژن شامل استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس سرئوس، سودوموناس آئروزیینوزا و اشرشیاکلی مورد بررسی قرار گرفت و از آنتی بیوتیک جنتامایسین به عنوان کنترل مثبت این آزمایش استفاده شد (شکل ۱). نتایج نشان داد که افزایش غلظت های مختلف عصاره های برگ و دانه بر رشد باکتری های گرم مثبت به خصوص باکتری استافیلوکوکوس اورئوس تأثیر گذار است. غلظت ۲۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر عصاره برگ و دانه بر هیچ از باکتری های مورد بررسی تأثیر گذار نبود. غلظت ۴۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر عصاره برگ تنها بر باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس و غلظت ۶۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر عصاره برگ علاوه بر استافیلوکوکوس اورئوس بر باسیلوس سرئوس نیز مؤثر بود. همچنین، بیشترین هاله عدم

الف

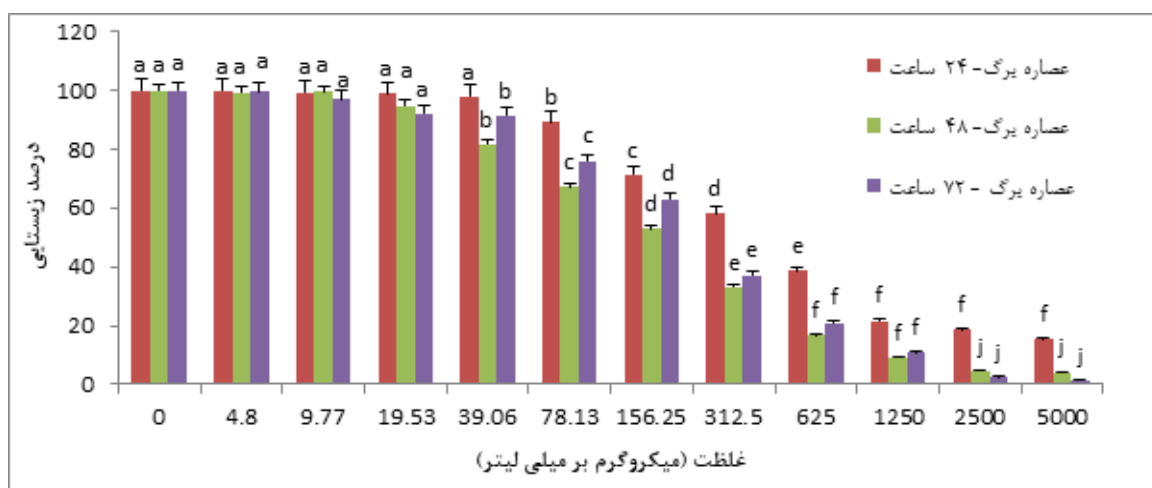


شکل ۱- بررسی اثر ضد میکروبی عصاره گیاه بارهنگ به روش انتشار دیسک. الف. عصاره برگ (ب)- عصاره دانه. هر ستون نشان دهنده میانگین داده‌ها $\pm$ انحراف استاندارد است. ستونهای دارای حداقل یک حروف مشترک با آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌دار ندارند.

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 0.38 ± 0.54 و 0.21 ± 0.07 درصد مشاهده 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 0.05 ± 0.26 درصد مشاهده شد که این کاهش بیانگر مهار ۹۸/۷۴ درصد در غلظت مورد نظر بود.

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 ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر عصاره به ترتیب 1.47 ± 0.51 ، 1.25 ± 0.48 و 1.3 ± 0.15 درصد مشاهده شد که به ترتیب بیانگر مهار ۷۸/۵، ۸۱/۵۲ و ۸۴/۷ درصد

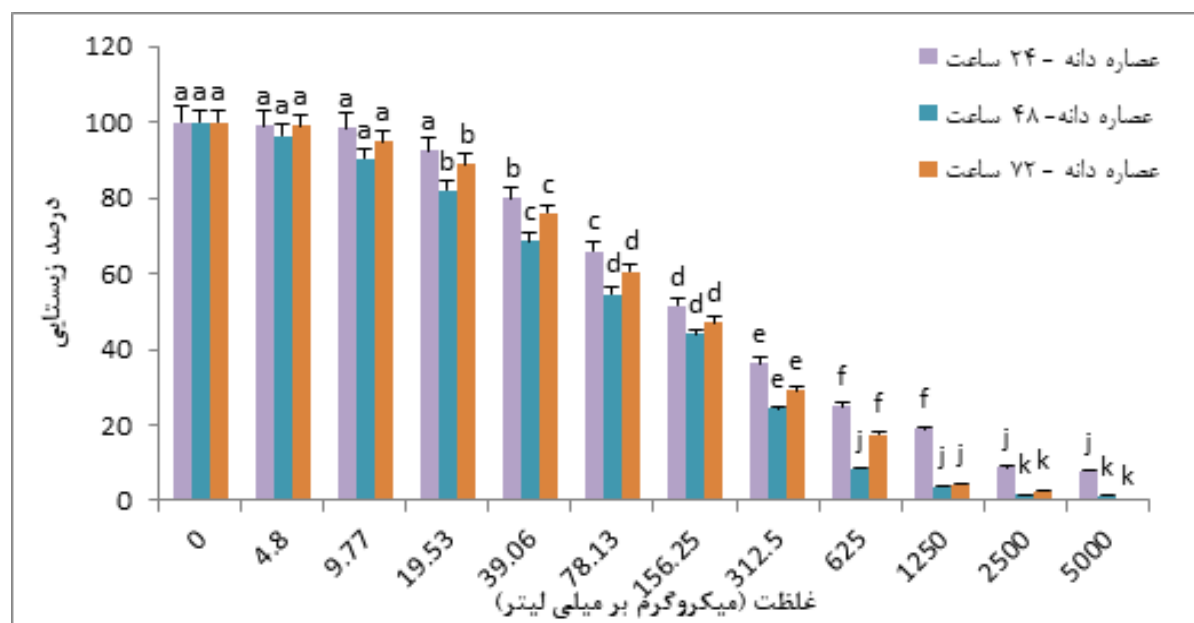


شکل ۲- مقایسه تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره برگ گیاه بارهنگ بر رشد سلول‌های سرطانی طی زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت. هر ستون نشان دهنده میانگین داده‌ها $\pm$ انحراف استاندارد. ستون‌های دارای حداقل یک حروف مشترک با آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌دار ندارند.

میلی لیتر عصاره به ترتیب $0/001 \pm 1/63$ و $0/001 \pm 1/17$ درصد مشاهد شد که به ترتیب بیانگر مهار $98/37$ و $98/83$ درصد در غلظت های مورد نظر است. همچنین غلظت های 1250 و 625 میکروگرم بر میلی لیتر عصاره نیز باعث کاهش قابل ملاحظه ای در رشد سلول های سرطانی نسبت به کنترل شده اند. علاوه بر این نتایج بیانگر این بود که در مدت زمان 48 ساعت نسبت به مدت زمان 24 ساعت زیستایی سلول های سرطانی کاهش چشمگیری را نشان دادند. در مدت زمان 72 ساعت، بیشترین کاهش زیستایی سلول ها در غلظت 5000 میکروگرم بر میلی لیتر عصاره برابر $0/002 \pm 0/46$ درصد بدست آمد که این کاهش رشد برابر با مهار $99/54$ درصدی سلول ها می باشد. علاوه بر این، نتایج این پژوهش بیان کرد که غلظت های 1250 و 2500 میکروگرم بر میلی لیتر عصاره نیز باعث کاهش قابل ملاحظه ای در زیستایی سلول های سرطانی نسبت به کنترل شده است.

بررسی تأثیر ضد سرطانی عصاره دانه گیاه بارهنگ طی زمان های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت

نتایج این پژوهش به طور کلی نشان داد که غلظت های مختلف عصاره دانه گیاه بارهنگ بر مهار رشد سلول های سرطانی تأثیر معنیداری داشت (شکل ۳). براساس نتایج بدست آمده در مدت زمان 24 ساعت، تغییرات غلظت های $4/8$ تا $19/53$ میکروگرم بر میلی لیتر عصاره بر زیستایی سلول های سرطانی نسبت به نمونه کنترل معنی دار نبوده است و از غلظت $39/06$ میکروگرم بر میلی لیتر عصاره زیستایی سلول های سرطانی نسبت به نمونه کنترل تغییرات معنی داری را نشان دادند. همچنین نتایج بیانگر این بود که کمترین درصد زیستایی سلول های سرطانی در غلظت های 2500 و 5000 میکروگرم بر میلی لیتر عصاره به ترتیب $0/038 \pm 8/86$ و $0/021 \pm 7/87$ درصد مشاهد شد که به ترتیب بیانگر مهار $91/14$ و $92/13$ درصد در غلظت های مورد نظر است. در مدت زمان 48 ساعت کمترین درصد زیستایی سلول های سرطانی در غلظت های 2500 و 5000 میکروگرم بر



شکل ۳- مقایسه تاثیر غلظت های مختلف عصاره دانه گیاه بارهنگ بر رشد سلول های سرطانی طی زمان های 24 ، 48 و 72 ساعت. هر ستون نشان دهنده میانگین داده ها $\pm$ انحراف استاندارد. ستون های دارای حداقل یک حرف مشترک با آزمون دانکن در سطح احتمال 5 درصد تفاوت معنی دار 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 سلول‌های سرطانی عصاره‌های برگ و دانه با محتوای فلاونوئید کل در سطح ۱ درصد همبستگی مثبت معنی‌دار دارد. همچنین فعالیت ضد میکروبی و مهار سلول‌های 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.

فعالیت ضد میکروبی	مهار سلول‌های سرطانی	محتوای آنتوسیانین	محتوای فنل کل	محتوای فلاونوئید کل
۱	-۰/۷۶۵**	۰/۲۴۱ ^{ns}	۰/۴۲۰ ^{ns}	۰/۷۱۶**
مهار سلول‌های سرطانی	۱	۰/۳۲۵ ^{ns}	۰/۴۱۵ ^{ns}	۰/۷۸۹**
محتوای آنتوسیانین		۱	۰/۷۱۹**	۰/۶۳۹*
محتوای فنل کل			۱	۰/۴۱۵ ^{ns}
محتوای فلاونوئید کل				۱

بررسی همبستگی بین فعالیت ضد میکروبی و ضد سرطانی عصاره‌های 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.

فعالیت ضد میکروبی	مهار سلول‌های سرطانی	محتوای آنتوسیانین	محتوای فنل کل	محتوای فلاونوئید کل
۱	-۰/۹۲۳**	ns ^{۱۵/۰}	۰/۳۲۰ ^{ns}	۰/۷۶۵**
مهار سلول‌های سرطانی	۱	ns ^{۱۵۵/۰-}	۰/۲۱۹ ^{ns}	۰/۷۲۵**
محتوای آنتوسیانین		۱	۰/۶۸۹*	۰/۷۶۵**
محتوای فنل کل			۱	۰/۷۸۵**
محتوای فلاونوئید کل				۱

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

بحث

[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 پلی‌ساکاریدها، لیپیدها، آمینواسیدها، اسید کافیک، فلاونوئیدها و تربنوتیدها در ساختار بیوشیمیایی آن می‌باشد که می‌توان اثرات بیولوژیکی متفاوتی را اعمال کند [۲۲]. بنابراین نتایج این پژوهش‌ها با نتایج پژوهش

ترکیبات آنتی‌اکسیدان مانند ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی به دلیل افزایش تعداد گروه‌های هیدروکسیل حلقه‌های آروماتیک در محیط واکنش، احتمال دادن 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

حاضر مطابقت داشت. به طور کلی با توجه گزارشات مختلف در زمینه ترکیبات آنتیاکسیدان میتوان اینگونه نتیجه گیری کرد که فعالیت آنتیاکسیدانی عصاره های گیاهی متأثر از عواملی چون ژنوتیپ گیاهی، روش های کشت، شرایط آب و هوایی، مراحل رشد و نمو و فرایندهای پس از برداشت می باشند، 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 پژوهش های بیان شده و پژوهش حاضر با هم متفاوت بوده اند، اختلاف در نتایج بدست آمده کاملاً منطقی است [۱۰].

در خصوص نتایج مربوط به اثر عصاره های برگ و دانه بارهنگ بر روی زیستایی سلول های سرطانی نشان داد که اثر عصاره های برگ و دانه گیاه بارهنگ بر روی کاهش زیستایی سلول های سرطان ریه رده سلولی A۵۴۹ وابسته به غلظت و زمان است به طوری که بیشترین کاهش زیستایی سلول های سرطانی در مدت زمان ۷۲ ساعت و در غلظت ۵۰۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر عصاره ها مشاهده شد (شکل های ۲ و ۳). همچنین نتایج جدول همبستگی نشان داد که بین مهار رشد سلول های سرطانی و محتوای فلاونوئید عصاره ها همبستگی مثبت معنی داری وجود دارد (جدول ۲ الف و ب). در پژوهش حاضر، مشاهدات ما از خاصیت ضد سرطانی بخش های 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 گونه های بارهنگ است [۲۴]. نتایج بررسی گالوز و همکاران (۲۰۰۳) نشان داد که لوتئولین گلکوزید عصاره بارهنگ به عنوان مولکول ضد سرطانی قوی در مهار سلول های سرطانی آدنوکارسینوم کلیه انسان (TK-۱۰)، آدنوکارسینوم پستان انسان (MCF-۷) و رده های سلولی ملانوم انسانی (UACC-۶۲) عمل میکند. مکانیسم دقیق فعالیت مهاري این نوع فلاونوئید در گونه های بارهنگ به خوبی شناخته نشده است؛ اما به نظر می رسد مهار آسیب DNA که به وسیله توپوایزومرازها وساطت می شود کاندید اصلی عملکرد لوتئولین گلکوزید در مهار سرطان باشد [۲۵]. عملکرد این ترکیبات در مهار سلول های سرطانی ممکن است به این صورت باشد که این ترکیبات آنتی اکسیدان قادرند چرخه سلولی را مهار کرده و یا چک پوینت های 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 رگ های جدید را مانع می شوند [۲۷]. در تحقیق حاضر مسیرهای بیوشیمیایی و مکانیسم عمل عصاره های برگ و دانه گیاه بارهنگ در مهار سلول های سرطان ریه رده سلولی A۵۴۹ مورد بررسی قرار نگرفته است، بنابراین در این مورد نمی توان اظهار نظر 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 به ویژه ترکیبات فلاونوئیدی است که نتایج محققین دیگر نیز آن را اثبات نمود. همچنین به دلیل وجود همبستگی مثبت معنی دار بین ترکیبات فلاونوئیدی و مهار رشد سلول های سرطانی، احتمالاً وجود فلاونوئیدها به عنوان یک ترکیب آنتی اکسیدان می تواند نشان دهنده این باشد که این ترکیبات احتمالاً از طریق یکی از مسیرهای ذکر شده باعث مهار رشد سلول های سرطانی می شوند.

مطابق نتایج بدست آمده خاصیت ضد میکروبی برگ و دانه گیاه بارهنگ را می توان به مقادیر بالای ترکیبات آنتیاکسیدانی موجود در عصاره ها نسبت داد که نتایج جدول همبستگی نیز نشان داد که خاصیت ضد میکروبی عصاره های برگ و دانه گیاه بارهنگ با محتوای فلاونوئید کل همبستگی مثبت معنی داری 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 باکتری های مورد نظر در غلظت ۱۰۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر مشاهده شد (شکل ۱). همچنین نتایج نشان داد که بیشترین قطر هاله عدم رشد بر باکتری گرم مثبت استفیلوکوکوس اورئوس مشاهده شد. در پژوهشی اثر ضد باکتریایی غلظت های مختلف عصاره هیدروالکلی بارهنگ و ناخنک بر باکتری های شینگلا فلکستر، آنتروکوکوس فکاليس، استرپتوکوکوس پیوژنز بررسی شد. نتایج مقایسه میانگین ها نشان داد اگرچه قدرت بازدارندگی غلظت های مختلف عصاره نسبت به دو نوع آنتی بیوتیک پنی سیلین و اریترومايسين کمتر بود اما نسبت به شاهد (آب مقطر) معنی دار بود. در این آزمایش، تأثیر عصاره ناخنک در مقایسه با بارهنگ کمتر بود، هر چند که افزایش غلظت عصاره ها، سبب افزایش میزان قطر بازدارندگی رشد باکتری ها بخصوص باکتری های گرم مثبت استرپتوکوکوس پیوژنز و آنتروکوکوس فکاليس گردید [۲۸]. تحقیقات متعددی روی فعالیت ضد

از خود نشان دادند. همچنین عصاره برگ تاثیر کمی بر روی مهار رشد باکتری‌های گرم منفی اشرشیا کلی و سودوموناس آئروزیوزا 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 کارشناسی ارشد 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. ۱۴۰۲، 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 کوهر: 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.

میکروبی عصاره سایر گیاهان 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 مقاومت‌تر هستند که این تفاوت شاید به دلیل تفاوت در ساختمان دیواره سلولی آنها باشد [۳۱]. باکتری‌های گرم مثبت در دیواره سلولی خود دارای موکوپتید بوده در حالی که باکتری‌های گرم منفی فقط یه لایه نازکی از موکوپتید 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 مقاومت‌تر می‌سازد [۳۲]. سطح هیدروفیلی این غشا که غنی از مولکول‌های لیپوپلی ساکاریدی 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 [۳۴].

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 باکتری‌های گرم مثبت استافیلوکوکوس و باسیلوس سرئوس

References

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. Blackadar CB. Historical review of the causes of cancer. *World Journal of Clinical Oncology*. 2016; 7: 54 -86.
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 Science*. 2016; 10: 670.
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. 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. 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. 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. 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. 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. Houshani M, Mianabadi M, Aghdasi M, Azim Mohseni M. An investigation of antioxidant activity of *Physalis alkekengi* methanolic extracts in different phenological stages. *Journal of Plant Biology*. 2012; 4 (14), 101-114.
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. Voronkova Y, Voronkova O, Gorban V, Holoborogko, K. Oxidative stress, reactive oxygen species, antioxidants: a review. *Ecology Noospherology*. 2018; 29 (1): 52-59.
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. 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. 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. 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. 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. 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, Middleton E. (1994) Free scavenging and antioxidant activity of plant flavonoids. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. 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 on screening. *British Medical Journal*. 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 International*. 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.