

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

Azar ZamaniChaparparadi<sup>1</sup>  
Simin Arian <sup>\*1</sup>  
Zeinab khazaei Koozpar<sup>2</sup>  
Mahdieh Houshani <sup>\*3</sup>

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

### 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 ( $13.90 \pm 0.183$  mg/g DW) and flavonoid content ( $0.194 \pm 0.003$  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 آنتی‌اکسیدانی 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 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 مهاري 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  $0/194 \pm 0/003$  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 ۹۹/۵۴ 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 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

آذر زمانی چپرپردی<sup>۱</sup>  
سیمین آرین<sup>۱\*</sup>  
زینب خزائی کوهپر<sup>۲</sup>  
مهدیه هوشنی<sup>۳\*</sup>

۱. گروه میکروبیولوژی، واحد تنکابن، دانشگاه آزاد اسلامی، تنکابن، ایران.  
۲. گروه زیست‌شناسی 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

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 مالوندیآلدئید و هیدرو پروکسید می باشند. بنابراین در جلوگیری از بیماری هایی 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 مؤثر 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 میباشد.

## 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

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 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.

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 میکروارگانسیم‌های موردنظر در محیط کشت نوترینت براث فعال گردید. سپس از میکروارگانسیم‌های 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 میکروارگانسیم 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

$A_{0.49}$

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 فینیل 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  $40^{\circ}\text{C}$  توسط دستگاه روتاری تبخیر گردید. باقیمانده برای انجام آزمایشات در یخچال با درجه حرارت  $4^{\circ}\text{C}$  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 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 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].

$$A = A_{0.530} - (0.25 \times A_{0.657})$$

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

### ارزیابی فعالیت ضدباکتریایی عصاره‌ها

#### تهیه سویه‌های باکتری

میکروارگانسیم‌های موردبررسی در این مطالعه شامل باکتری‌های گرم

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  $0/183 \pm 0/90$  و  $0/194 \pm 0/03$  میلی‌گرم بر گرم وزن خشک گیاه بدست آمد. همچنین بیشترین میزان آنتوسیانین کل در عصاره‌های برگ و دانه گزارش شد (جدول ۱).

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

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

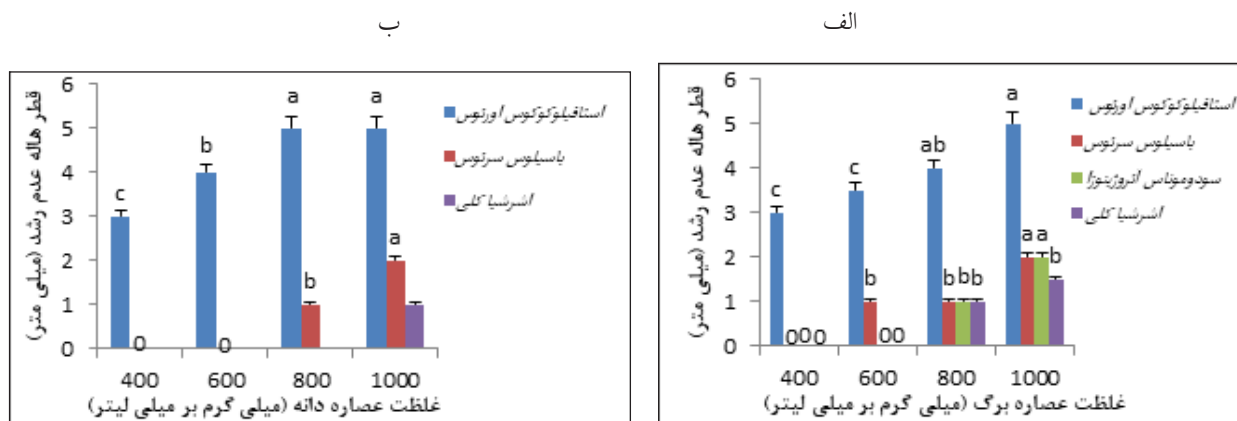
عصاره‌های گیاهی	آنتوسیانین کل (mg g <sup>-1</sup> DW)	فلاونوئید کل (mg g <sup>-1</sup> DW)	فنل کل (mg g <sup>-1</sup> DW)
برگ	$0/250 \pm 0/03$	$13/0 \pm 90/183$	$0/194 \pm 0/03$
دانه	$0/259 \pm 0/06$	$7/21 \pm 0/113$	$0/145 \pm 0/012$

DW: وزن خشک گیاه

رشد در غلظت‌های ۸۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره برگ در باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس به ترتیب  $4/5 \pm 0/117$  و  $5 \pm 0/012$  میلی‌متر به دست آمد. علاوه بر این در غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره برگ بیشترین هاله عدم رشد در باکتری‌های گرم منفی سودوموناس آئروزیینوزا  $2 \pm 0/012$  میلی‌متر مشاهده شد. در خصوص عصاره دانه غلظت‌های ۴۰۰ و ۶۰۰ 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 ( $5 \pm 0/148$  میلی‌متر) مشاهده شد. همچنین عصاره دانه تأثیر کمی بر مهار رشد باکتری گرم منفی اشرشیاکلی در غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم ( $2 \pm 0/001$  میلی‌متر) از خود نشان داد. در ضمن هیچ یک از غلظت‌های 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 باکتری‌های پاتوژن شامل استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس سرئوس، سودوموناس آئروزیینوزا و اشرشیاکلی مورد بررسی 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 اورئوس تأثیر گذار است. غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره برگ و دانه بر هیچ‌یک از باکتری‌های مورد بررسی تأثیر گذار نبود. غلظت ۴۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره برگ تنها بر باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس و غلظت ۶۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره برگ علاوه بر استافیلوکوکوس اورئوس بر باسیلوس سرئوس نیز مؤثر بود. همچنین، بیشترین هاله عدم

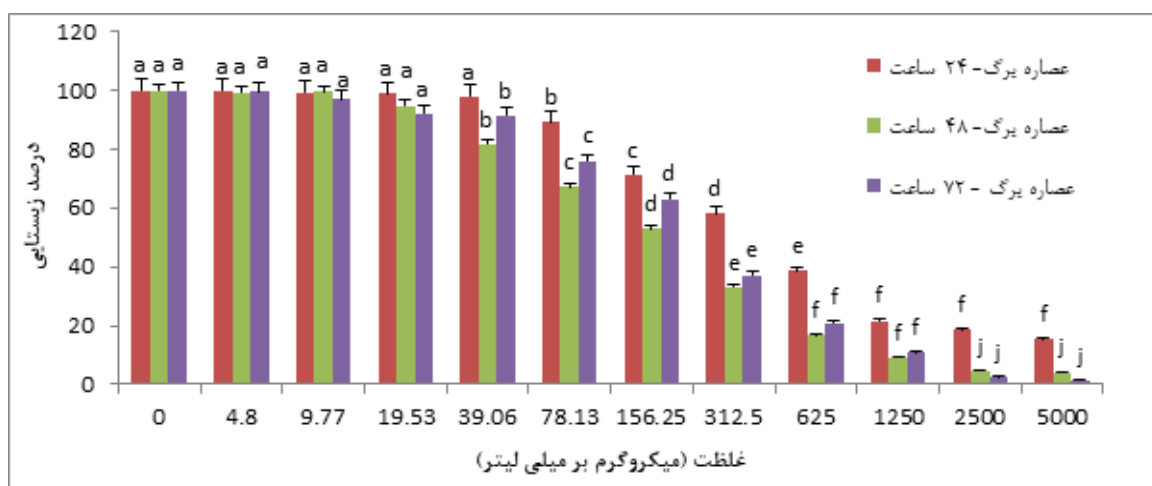


شکل ۱- بررسی اثر ضد میکروبی عصاره گیاه بارهنگ به روش انتشار دیسک. الف. عصاره برگ (ب)- عصاره دانه. هر ستون نشان دهنده میانگین داده‌ها  $\pm$  انحراف استاندارد است. ستونهای دارای حداقل یک حروف مشترک با آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌دار ندارند.

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  $0.38 \pm 0.54$  و  $0.21 \pm 0.07$  درصد مشاهده شد که به ترتیب بیانگر مهار  $95/46$  و  $95/93$  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  $0.05 \pm 0.26$  درصد مشاهده شد که این کاهش بیانگر مهار  $98/74$  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 ۵۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر عصاره به ترتیب  $1/47 \pm 21/50$ ،  $1/256 \pm 18/48$  و  $15/3 \pm 0/981$  درصد مشاهده شد که به ترتیب بیانگر مهار  $78/5$ ،  $81/52$  و  $84/7$

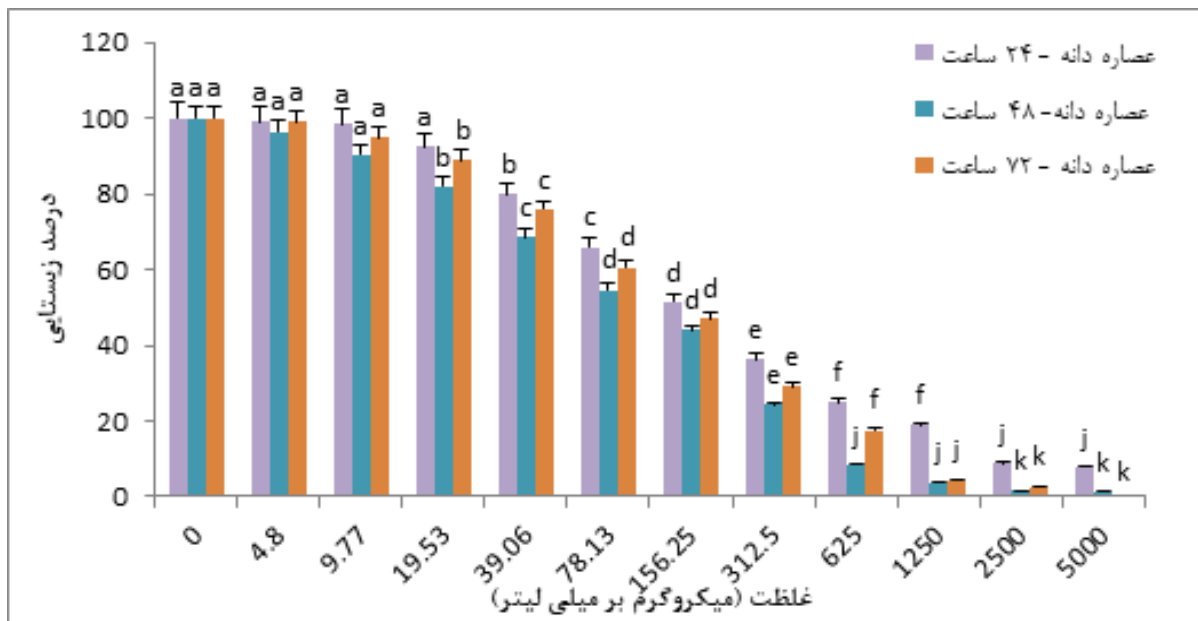


شکل ۲- مقایسه تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره برگ گیاه بارهنگ بر رشد سلول‌های سرطانی طی زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت. هر ستون نشان دهنده میانگین داده‌ها  $\pm$  انحراف استاندارد. ستون‌های دارای حداقل یک حروف مشترک با آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌دار ندارند.

میلی‌لیتر عصاره به ترتیب  $1/17 \pm 0/001$  و  $1/63 \pm 0/001$  درصد مشاهده شد که به ترتیب بیانگر مهار  $98/83$  و  $98/37$  درصد در غلظت‌های مورد نظر است. همچنین غلظت‌های  $1250$  و  $625$  میکروگرم بر میلی‌لیتر عصاره نیز باعث کاهش قابل ملاحظه‌ای در رشد سلول‌های سرطانی نسبت به کنترل شده‌اند. علاوه بر این نتایج بیانگر این بود که در مدت زمان  $48$  ساعت نسبت به مدت زمان  $24$  ساعت زیستایی سلول‌های سرطانی کاهش چشمگیری را نشان دادند. در مدت زمان  $72$  ساعت، بیشترین کاهش زیستایی سلول‌ها در غلظت  $5000$  میکروگرم بر میلی‌لیتر عصاره برابر  $0/46 \pm 0/002$  درصد بدست آمد که این کاهش رشد برابر با مهار  $99/54$  درصدی سلول‌ها می‌باشد. علاوه بر این، نتایج این پژوهش بیان کرد که غلظت‌های  $1250$  و  $2500$  میکروگرم بر میلی‌لیتر عصاره نیز باعث کاهش قابل ملاحظه‌ای در زیستایی سلول‌های سرطانی نسبت به کنترل شده است.

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

نتایج این پژوهش به‌طور کلی 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  $24$  ساعت، تغییرات غلظت‌های  $4/8$  تا  $19/53$  میکروگرم بر میلی‌لیتر عصاره بر زیستایی سلول‌های سرطانی نسبت به نمونه کنترل معنی‌دار نبوده است و از غلظت  $39/06$  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  $2500$  و  $5000$  میکروگرم بر میلی‌لیتر عصاره به ترتیب  $7/87 \pm 0/021$  و  $8/86 \pm 0/038$  درصد در غلظت‌های مورد نظر است. در مدت زمان  $48$  ساعت کمترین درصد زیستایی سلول‌های سرطانی در غلظت‌های  $2500$  و  $5000$  میکروگرم بر



شکل ۳- مقایسه تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره دانه 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 حرف 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 سلول‌های سرطانی عصاره‌های برگ و دانه با محتوای فلاونوئید کل در سطح ۱

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 <sup>ns</sup>	۰/۴۲۰ <sup>ns</sup>	۰/۷۱۶**
	۱	۰/۳۲۵ <sup>ns</sup>	۰/۴۱۵ <sup>ns</sup>	۰/۷۸۹**
		۱	۰/۷۱۹**	۰/۶۳۹*
			۱	۰/۴۱۵ <sup>ns</sup>
				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 <sup>۳۱۵/۰</sup>	۰/۳۲۰ <sup>ns</sup>	۰/۷۶۵**
	۱	ns <sup>۱۵۵/۰-</sup>	۰/۲۱۹ <sup>ns</sup>	۰/۷۲۵**
		۱	۰/۶۸۹*	۰/۷۶۵**
			۱	۰/۷۸۵**
				۱

\*\*همبستگی در سطح ۱ درصد معنی دار است. \* همبستگی در سطح ۵ درصد معنی دار است. ns همبستگی بین صفات معنی دار 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 پلی ساکاریدها، لیپیدها، آمینواسیدها، اسید کافئیک، فلاونوئیدها و تربنوتییدها 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



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 سرطانی ریه رده سلولی A۵۴۹ مورد بررسی قرار نگرفته است، بنابراین در این مورد نمی‌توان 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 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 ضد میکروبی 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 آنتی‌بیوتیک پنی سیلین و اریترومايسين 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 آنتروکوکوس فکالیس گردید [۲۸]. تحقیقات متعددی روی فعالیت ضد

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 سرطانی ریه رده سلولی A۵۴۹ وابسته به غلظت و زمان است به‌طوری‌که 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 لوتولین گلکوزید ترکیب اصلی فلاونوئیدی در بیشتر گونه‌های بارهنگ است [۲۴]. نتایج بررسی گالوز و همکاران (۲۰۰۳) نشان داد که لوتولین 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 مهاري 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 لوتولین 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

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 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.

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 مقاومتر 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 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 [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 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.