

The Evaluation of Antioxidant and Antibacterial of Leaf and Flower Extracts of *Rhynchocorys elepha* and their Toxicity on Lung Cancer Cells

Mehdi Saberi Amiri¹, Mahdieh Houshani^{*2} Simin Arian¹

1. Department of Microbiology, To.C., Islamic Azad University, Tonekabon, Iran.

Saberimahdi19@gmail.com, S.arian26@iau.ir

2. Department of Plant Physiology, To.C., Islamic Azad University, Tonekabon, Iran.

mhoshani@yahoo.com

* Corresponding author: mhoshani@yahoo.com orcid: 0009-0000-5244-1543

Received: 11/02/2026 Revised: 15/02/2026 Accepted: 21/02/2026

Abstract

Aim and Background: Lung cancer is a common cancer and chemotherapy is one of the methods of cancer treatment, but it becomes intolerable due to the occurrence of side effects. Thus, the purpose of study is to determine the antioxidant and antibacterial activity of *Rhynchocorys elephas* extracts and their inhibitory effect on the lung cancer cells.

Materials and Methods: Samples were collected from Tonekabon and extracted by maceration. To determine the cytotoxicity of the extracts, the MTT method was used and the antimicrobial activity was determined by disk diffusion, MIC, and MBC methods. Also, total phenol, flavonoid, and anthocyanin contents were measured.

Results: The results showed that the highest amount of antioxidant compounds in leaf and flower extracts relating to phenolic compounds. Also, the extracts showed that significant inhibitory activity against Gram-positive bacteria *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus* and the highest zone of bacterial inhibition concentration of 1000 mg⁻¹ml. Also, the results of the MTT test showed that the decrease in the viability of cancer cells depending on the concentration and time, so that the maximum decrease in viability and the increase in the inhibition of cancer cells was obtained in the concentration of 2000 µg⁻¹ml of leaf and flower extract in a period of 72 hours 86.64 and 80.12 percent.

Conclusion: According to the results, it can be said that the extracts have antibacterial and anticancer properties and also recommended for further pharmacological studies so that this plant can be used in the fields of treatment in the future.

Keywords: Antioxidant compounds, Lung cancer, *Rhynchocorys elepha*, Antibacterial activity

بررسی ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و ضدباکتریایی عصاره برگ و گل گیاه گل فیلی (*Rhynchocorys elepha*) و اثر سمیت آن‌ها بر سلول‌های سرطانی ریه رده سلولی A549

مهدی صابری امیری^۱، مهدیه هوشنی^{۲*}، سیمین آرین^۱

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

Saberimahdi19@gmail.com, S.arian26@iaui.ir

۲. گروه فیزیولوژی گیاهی، واحد تنکابن، دانشگاه آزاد اسلامی، تنکابن، ایران.

mhoshani@yahoo.com

* نویسنده مسئول: mhoshani@yahoo.com: 0009-0000-5244-1543: orcid

تاریخ بارگذاری: ۱۴۰۴/۱۱/۲۲ تاریخ بازنگری: ۱۴۰۴/۱۱/۲۶ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۱۲/۰۲

چکیده

سابقه و هدف: سرطان ریه از سرطان‌های شایع است و شیمی‌درمانی یکی از روش‌های درمان سرطان است، اما به دلیل عوارض جانبی غیرقابل تحمل می‌شود؛ بنابراین هدف این پژوهش تعیین ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و فعالیت ضدباکتریایی عصاره گل فیلی و اثر مهاری آن‌ها را بر رشد سلول‌های سرطانی ریه می‌باشد.

مواد و روش‌ها: نمونه‌های برگ و گل از تنکابن جمع‌آوری و عصاره‌گیری به روش خیساندن انجام شد. جهت تعیین سمیت سلولی عصاره‌ها بر روی سلول‌های سرطانی ریه از روش MTT و فعالیت ضدباکتریایی عصاره‌ها از روش‌های انتشار دیسک، MIC و MBC استفاده شد. همچنین میزان فنل، فلاونوئید و آنتوسیانین کل عصاره‌ها نیز تعیین شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که بیشترین میزان ترکیبات آنتی‌اکسیدان در عصاره‌های برگ

و گل مربوط به ترکیبات فنلی بود. علاوه بر این عصاره‌ها فعالیت مهاری قابل ملاحظه‌ای بر علیه باکتری‌های گرم مثبت /ستافیلوکوکوس/ اورئوس و باسیلوس سرئوس از خود نشان دادند به طوری که بیشترین هاله عدم رشد باکتری‌ها در غلظت ۱۰۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر مشاهده شد. تأثیر عصاره‌ها بر روی مهار رشد سلول‌ها، وابسته به غلظت و زمان بود و بیشترین درصد مهار رشد سلول‌ها در غلظت ۲۰۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر در عصاره‌های برگ و گل به ترتیب ۸۶/۸۴ و ۸۰/۱۲ درصد در مدت زمان ۷۲ ساعت به دست آمد.

نتیجه گیری: با توجه به نتایج به دست آمده می‌توان گفت که عصاره‌های این گیاه دارای خاصیت ضدباکتریایی و ضدسرطانی است؛ بنابراین عصاره‌های این گیاه را برای بررسی‌های فارماکولوژی بیشتر توصیه کرد تا شاید در آینده از این گیاه در زمینه‌های درمان استفاده کرد.

کلمات کلیدی: آنتی‌اکسیدان، سرطان ریه، گل فلی، فعالیت ضدباکتریایی.

۱. مقدمه

سرطان دومین عامل مرگ و میر در دنیا محسوب می‌شود که سالانه میلیون‌ها نفر در سراسر جهان را درگیر کرده است [۱]. سرطان ریه شایع‌ترین سرطان در ایران است و دلیل اصلی آن جهش در پروتئین‌های انکوژن و نیز سرکوب‌گر تومور می‌باشد که در نهایت منجر به رشد بی‌رویه سلولی می‌شوند [۲]. درمان‌های رایج برای این سرطان همچون سایر انواع سرطان‌ها، جراحی، شیمی‌درمانی و پرتودرمانی است که با وجود پیشرفت‌های بسیار زیاد، کارایی کافی ندارند. مقاومت سلول‌های سرطانی نسبت به داروهای شیمی‌درمانی و نیز عوارض جانبی این داروها از اصلی‌ترین چالش‌های درمان سرطان ریه است [۳]؛ بنابراین امروز استفاده از این گیاهان دارویی در درمان سرطان از اهمیت زیادی برخوردار است [۴]. ازسوی دیگر بیماری‌های عفونی ناشی از میکروارگانیسم‌های مختلف نیز در سراسر جهان بسیار شایع است. بسیاری از این بیماری‌ها ناشی از مصرف مواد غذایی آلوده به پاتوژن هستند که در بسیاری از جوامع

انسانی باعث ایجاد زیان‌های اقتصادی گسترده‌ای شده است. یکی از راه‌های کنترل رشد میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا در مواد غذایی استفاده از نگهدارنده‌ها و مواد ضد میکروبی می‌باشد [۵]. در حال حاضر با توجه به استفاده بی‌رویه از آنتی‌بیوتیک‌ها و افزایش مقاومت در باکتری‌ها، یافتن جایگزین‌های مناسب برای آنتی‌بیوتیک‌ها امری ضروری است. به همین دلیل مطالعات گسترده‌ای در مورد پتانسیل استفاده از ترکیبات ضد میکروبی موجود در گیاهان برای کنترل و درمان عوامل بیماری‌زا صورت گرفته است [۶ و ۷]. با توجه به فراوانی مقاومت‌های دارویی و کاهش اثربخشی ترکیبات شیمیایی در درمان بیماری‌های مختلف استفاده از این ترکیبات گیاهی از استقبال خوبی برخوردار بوده و بسیاری از شرکت‌های معتبر داروسازی جهان سرمایه‌گذاری فراوانی در این زمینه را آغاز کردند. گیاهان دارویی با داشتن ترکیبات آنتی‌اکسیدان آنزیمی و غیر آنزیمی می‌توانند باعث خنثی‌سازی و مهار رادیکال‌های آزاد و گونه‌های فعال شوند [۸]. آسیب‌های ناشی از گونه‌های اکسیژن فعال منجر به بروز بیماری‌هایی نظیر سرطان‌ها و بیماری‌های قلبی-عروقی و غیره می‌شود. اثرات سودمند ترکیبات آنتی‌اکسیدان بر روی سلامت انسان از طریق کاهش تنش اکسیداتیو بیان می‌شود [۹]. مطالعات نشان داده است که برخی از ترکیبات آنتی‌اکسیدان نظیر فنل‌ها و فلاونوئیدها قادر به اعمال اثرات ضد میکروبی و اثر ضد آپوپتوتیک یا به‌طور کلی مهار فرایندهای تکثیر سلولی می‌باشند [۱۰ و ۱۱].

گیاه گل فیلی با نام علمی *Rhynchocorys elephas* از خانواده گل میمونی می‌باشد که گلی است زرد رنگ و بسیار زیبا به شکل خرطوم فیل که به همین جهت به آن گل فیلی می‌گویند. برگ‌های این گیاه بیضوی شکل و دارای بریدگی‌های در لبه برگ است. فصل گل‌دهی آن در استان گیلان، اوایل فروردین ماه بوده و به فراوانی در چمنزارها و حاشیه باغ‌ها و جاده‌ها و مناطق جلگه‌ای شمال ایران می‌روید. این گیاه دارای دو گونه *R. elephas* و *R. maxima* است که بسیار شبیه هم هستند و آن‌ها را تنها می‌توان از روی نشانه‌های اندکی چون طول پایک از هم تشخیص داد. ترکیبات شیمیایی موجود در گل فیلی شامل ساپونین‌ها، فلاونوئیدها و تانن می‌باشد و مهم‌ترین خواص درمانی این گیاه خاصیت ضد میکروبی و ضدالتهاب آن است. عصاره گل فیلی به دلیل دارا بودن ترکیبات خاص دارای خواص ضدقارچی، ضدباکتریایی و آنتی‌اکسیدانی می‌باشد.

همچنین طب سنتی این گیاه را به‌عنوان دارویی قاعده‌آور، ضداسهال، ضدعفونت و نیز به‌عنوان گیاهی ضدسرطان می‌شناسد [۱۲]؛ لذا با توجه به ارزش دارویی گیاه گل‌فیلی و این‌که این گیاه به‌صورت خودرو در شمال ایران رویش دارد تاکنون پژوهش‌های مدونی بر خاصیت دارویی و ترکیبات مؤثره این گیاه صورت نگرفته است؛ لذا هدف اصلی این پژوهش بررسی خاصیت ضدباکتریایی و آنتی‌اکسیدانی برگ و گل گیاه گل‌فیلی و اثر سمیت آن بر روی سلول‌های سرطانی ریه رده A549 است.

۲. مواد و روش‌ها

۲-۱. جمع‌آوری گیاه و عصاره‌گیری

برگ و گل گیاه گل‌فیلی از منطقه‌ای در نزدیکی شهرستان تنکابن در بهار ۱۴۰۴ از ارتفاع ۵۰ متری جمع‌آوری شد. سپس نمونه‌ها در سایه و در مجاورت هوا خشک و سپس آسیاب شدند. مقدار ۳۰ گرم از هر نمونه در ۲۰۰ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد خیسانده و به مدت ۴۸ ساعت در دمای اتاق نگهداری شد. 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 [۱۳].

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٪، $2/8$ میلی‌لیتر آب مقطر و ۱۰۰ میکرولیتر معرف فولین سیوکالچو ۵۰٪ اضافه شد. بعد از گذشت نیم‌ساعت جذب آن‌ها در طول موج ۷۲۰ نانومتر نسبت به شاهد ثبت شد. اسید گالیک به‌عنوان استاندارد برای رسم منحنی استاندارد به‌کار رفت. محتوای فنل کل عصاره‌ها براساس میلی‌گرم معادل اسید گالیک بر گرم وزن خشک گیاه گزارش شد [۱۴].

برای سنجش میزان فلاونوئید کل به ۵۰۰ میکرولیتر از هر عصاره $1/5$ میلی‌لیتر متانول ۸۰٪، ۱۰۰ میکرولیتر محلول آلومینیوم کلراید ۱۰٪، ۱۰۰ میکرولیتر محلول

استات پتاسیم ۱ مولار و ۲/۸ میلی لیتر آب مقطر اضافه شد. جذب مخلوط بعد از گذشت ۴۰ دقیقه در طول موج ۴۱۵ نانومتر نسبت به شاهد اندازه گیری گردید. برای رسم منحنی استاندارد از کوئرتستین استفاده شد. میزان فلاونوئید کل عصاره ها براساس میلی گرم معادل کوئرتستین بر گرم وزن خشک گیاه گزارش شد [۱۵].

برای سنجش میزان آنتوسیانین کل مقدار ۰/۰۲ گرم از بافت خشک گیاهی با ۴ میلی لیتر 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 محلول ها در طول موج ۵۳۰ و ۶۵۷ نانومتر نسبت به شاهد اندازه گیری شد. از محلول اسید کلریدریک ۱٪ متانول به عنوان شاهد استفاده گردید. میزان آنتوسیانین برای هر عصاره با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد [۱۶].

$$A = A_{\Delta 30} - (0/25 \times A_{\Delta 57})$$

A: جذب محلول (اعداد اندیس نشانگر طول موج هایی است که جذب در آن ها اندازه گیری شد).

۲-۳. ارزیابی فعالیت ضدباکتریایی عصاره

۲-۳-۱. تهیه سویه های باکتریایی

میکروارگانیزم های مورد بررسی در این مطالعه شامل باکتری های گرم مثبت، *استافیلوکوکوس اورئوس* (PTCC: ۱۱۱۲)، *باسیلوس سرئوس* (PTCC: ۱۰۱۵) و باکتری های گرم منفی *سودوموناس آئروژینوزا* (PTCC: ۱۰۷۴) و *شرشیا کلی* (PTCC: ۱۳۹۹) است. سویه های خالص این باکتری ها از مرکز کلکسیون قارچ ها و باکتری های صنعتی ایران خریداری شد.

۲-۳-۲. آزمون ضدباکتریایی به روش انتشار دیسک

به منظور انجام آزمایش ابتدا میکروارگانیزم های مورد نظر در محیط کشت نوترینت برات فعال شد. سپس از میکروارگانیزم های فعال شده سوسپانسیونی معادل با نیم مک فارلند تهیه شد. پس از تهیه سوسپانسیون ۰/۱ میلی لیتر از آن بر روی محیط کشت مولر

هینتون آگار به‌طور یکنواخت پخش گردید. سپس ۳۰ میکرولیتر از غلظت‌های مختلف عصاره‌ها (۴۰۰، ۶۰۰، ۸۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم 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 بر حسب میلی‌متر اندازه‌گیری شد [۱۷].

۲-۳-۳. تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC)

برای تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی از روش رقت لوله‌ای استفاده شد. بدین‌منظور سری‌های رقت از عصاره در محیط نوترینت براث تهیه شد. پس از تهیه سری رقت‌ها ۱۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتریایی معادل نیم‌مک‌فارلند به تمامی لوله‌ها اضافه شد. در نهایت لوله‌های تلقیح شده به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. اولین لوله‌ای که در آن کدورتی مشاهده شد به‌عنوان MIC در نظر گرفته شد [۱۸].

۲-۳-۴. تعیین حداقل غلظت کشندگی (MBC)

از لوله‌ای که در آن‌ها کدورتی مشاهده نشد، ۵ میکرولیتر به محیط کشت جامد (مولر هینتون آگار) منتقل و به مدت یک شب در دمای ۳۷°C نگهداری شد. اولین غلظتی که در آن هیچ رشدی دیده نشد به‌عنوان حداقل غلظت کشندگی می‌باشد [۱۹].

۲-۳-۵. بررسی اثر عصاره گیاه گل‌فیلی بر رشد و زیستایی رده سلولی A549

به منظور بررسی اثر عصاره متانولی برگ و گل گیاه گل‌فیلی بر رشد و زیستایی سلولی از آزمون رنگ‌سنجی MTT (۳، ۴، ۵ دی‌متیل تیازول ۲- ایل ۵، ۲ دی‌فینیل تترازولیم) استفاده شد. برای این منظور تعداد 10^4 سلول در هر چاهک در پلیت‌های ۹۶ چاهکی قرار داده شد. بعد از ۲۴ ساعت غلظت‌های ۶۲/۵، ۱۲۵، ۲۵۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر برای از عصاره متانولی به هر چاهک برای زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت اضافه شد. در هر بازه زمانی، جذب نمونه‌ها توسط دستگاه الایزا در طول موج

۵۴۰ نانومتر مورد بررسی قرار گرفت. درصد زیستایی توسط فرمول زیر محاسبه شد [۲۰].

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

۴-۲. آنالیز آماری

داده‌ها براساس میانگین سه تکرار $\pm$ خطا استاندارد گزارش شدند. بررسی تمامی نتایج با استفاده از آنالیز واریانس و براساس آزمون دانکن و با استفاده از نرم‌افزار SPSS صورت گرفت و تفاوت‌های با سطح احتمال ۵٪ معنی‌دار شناخته شدند. رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel 2010 انجام گرفت.

۳. نتایج

۳-۱. بررسی میزان فنل، فلاونوئید و آنتوسیانین کل عصاره‌ها

براساس نتایج به‌دست آمده مشخص شد که عصاره‌های برگ و گل گیاه گل فیللی غنی از ترکیبات آنتی اکسیدان به‌ویژه ترکیبات فنلی بود، به‌طوری که میزان فنل کل در عصاره‌های برگ و گل به ترتیب $12/13 \pm 0/332$ و $13/98 \pm 0/269$ میلی گرم معادل گالیک اسید بر گرم وزن خشک گیاه به‌دست آمد. همچنین میزان فلاونوئید کل در عصاره گل بیشتر از عصاره برگ به‌دست آمد. محتوای آنتوسیانین کل در عصاره‌های برگ و گل گیاه گل فیللی در مقایسه با ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی مقدار کمی را به‌خود اختصاص داد (جدول ۱).

جدول ۱. محتوای آنتوسیانین، فلاونوئید و فنل کل عصاره برگ و گل گیاه گل فیللی. داده‌ها به‌صورت میانگین $\pm$ خطا استاندارد است.

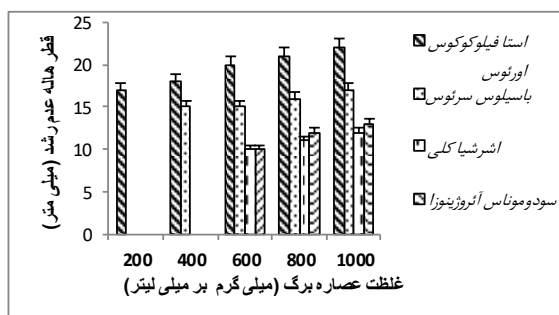
عصاره‌های گیاهی	فنل کل (mg g ⁻¹ DW)	فلاونوئید کل (mg g ⁻¹ DW)	فنل کل (mg g ⁻¹ DW)
برگ	$12/13 \pm 0/332$	$0/183 \pm 0/006$	$0/045 \pm 0/004$
گل	$13/98 \pm 0/269$	$0/205 \pm 0/024$	$0/026 \pm 0/001$

۲-۳. ارزیابی فعالیت ضدباکتریایی عصاره برگ و گل گیاه گل فیلی به روش

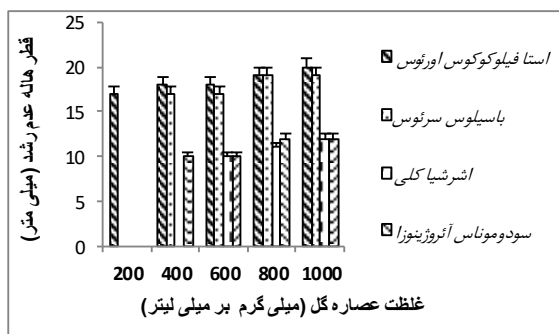
دیسک

نتایج نشان داد که تأثیر عصاره‌های برگ و گل گیاه گل فیلی بر روی باکتری‌های گرم مثبت بیشتر از باکتری‌های گرم منفی بود. در خصوص عصاره برگ نتایج نشان داد که غلظت‌های ۲۰۰، ۴۰۰، ۶۰۰ و ۸۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر عصاره باعث مهار رشد باکتری گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* شد و بیشترین هاله عدم رشد در غلظت ۱۰۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر $1/12 \pm 22$ میلی متر به دست آمد. غلظت‌های ۴۰۰ تا ۱۰۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر بر روی رشد باکتری گرم مثبت *باسیلوس سرئوس* مؤثر بود و در غلظت‌های ۸۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر عصاره برگ هاله عدم رشد $16 \pm 9/73$ و $1/13 \pm 17$ میلی متر مشاهده شد. در خصوص باکتری‌های گرم منفی مورد بررسی، غلظت‌های ۶۰۰ تا ۱۰۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر عصاره باعث مهار رشد باکتری‌های گرم منفی *اشریشیا کلی* و *سودوموناس آئروژینوزا* شد، به طوری که بیشترین هاله عدم رشد در غلظت ۱۰۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر عصاره به ترتیب $12 \pm 0/281$ و $13 \pm 0/561$ میلی متر به دست آمد (شکل ۱ الف). در خصوص عصاره گل نیز نتایج نشان داد که بیشترین هاله عدم رشد برای باکتری گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* در غلظت ۱۰۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر عصاره برابر $1/115 \pm 20$ میلی متر و برای باکتری گرم مثبت *باسیلوس سرئوس* در غلظت‌های ۸۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر عصاره برابر $1/289 \pm 19$ میلی متر به دست آمد. همچنین نتایج نشان داد که غلظت‌های ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر عصاره بر روی باکتری گرم منفی *اشریشیا کلی* و غلظت ۲۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر بر روی باکتری گرم منفی *سودوموناس آئروژینوزا* مؤثر نبوده است. علاوه بر این بیشترین هاله عدم رشد برای باکتری‌های گرم منفی *اشریشیا کلی* و *سودوموناس آئروژینوزا* در غلظت ۱۰۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر عصاره $12 \pm 0/843$ میلی متر به دست آمد (شکل ۱ ب).

الف



ب



شکل ۱. بررسی فعالیت ضدباکتریایی عصاره گیاه گل فیلی به روش انتشار دیسک.

(الف) عصاره برگ و (ب) عصاره گل

۳-۳. بررسی حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی

(MBC) عصاره گیاه گل فیلی

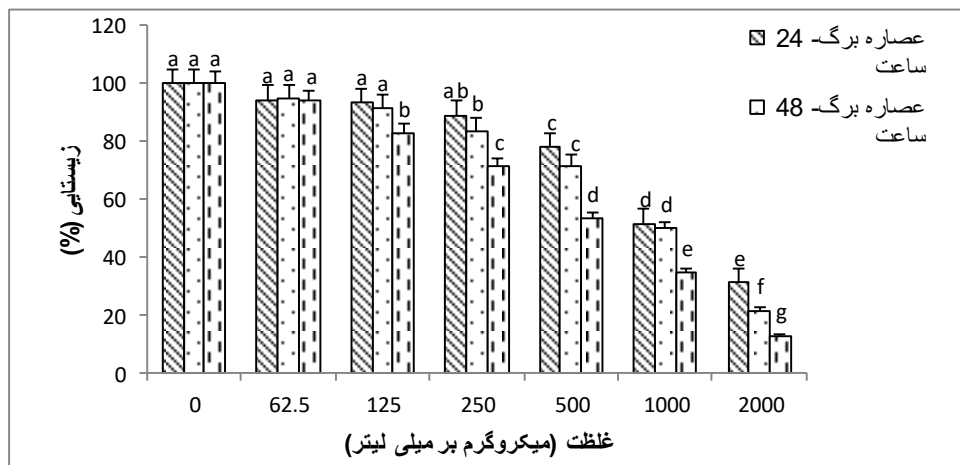
براساس نتایج به دست آمده از تست MIC مشخص شد که باکتری‌های گرم منفی *اشرشیا کلی* و *سودوموناس آئروژینوزا* مقاوم بودند و عصاره‌ها تأثیری بر روی این باکتری‌ها نداشتند. نتایج این تست نشان داد که کمترین MIC توسط عصاره برگ و گل برای باکتری گرم مثبت *باسیلیوس سرئوس* به دست آمد. همچنین نتایج نشان داد که عصاره‌های برگ و گل در تست MIC و MBC تنها در غلظت‌های ۸۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر عصاره بر روی باکتری‌های گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* و *باسیلیوس سرئوس* تأثیر داشتند و بر روی سایر باکتری‌های مورد بررسی اثری نداشتند (جدول ۲).

جدول ۲. حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و کشندگی (MBC) بر حسب میلی گرم بر**میلی لیتر عصاره برگ و گل گیاه گل فیلی**

گل	برگ	نوع باکتری	شماره باکتری	باکتری	MBC	MIC
۲۵۰	۱۲۵	۵۰۰	۲۵۰	گرم مثبت	۱۱۱۲	استافیلوکوکوس اورئوس
۲۰۰	۱۰۰	۲۵۰	۱۲۵	گرم مثبت	۱۰۱۵	باسیلوس سرئوس
-	-	-	-	گرم منفی	۱۰۷۴	سودوموناس آئروژینوزا
-	-	-	-	گرم منفی	۱۳۹۹	اشریشیا کلی

۳-۴. مه‌ار رشد سلول‌های سرطانی توسط غلظت‌های مختلف عصاره برگ گیاه**گل فیلی طی زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت**

براساس نتایج به‌دست آمده مشخص شد که غلظت‌های مختلف عصاره برگ گیاه گل فیلی در طی زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت بر مه‌ار رشد سلول‌های سرطانی ریه تأثیر معنی‌داری داشت، به‌طوری که با افزایش غلظت عصاره میزان زیستایی سلول‌های سرطانی کاهش یافت. طبق نتایج به‌دست آمده کمترین درصد زیستایی سلول‌های سرطانی در غلظت ۲۰۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر عصاره برگ در طی این زمان‌ها به ترتیب $1/21 \pm 31/52$ ، $1/271 \pm 21/82$ و $0/821 \pm 13/16$ درصد مشاهده شد که بیانگر مه‌ار ۶۸/۴۸، ۷۸/۱۸ و ۸۶/۸۴ درصد در غلظت مورد نظر است (شکل ۲).

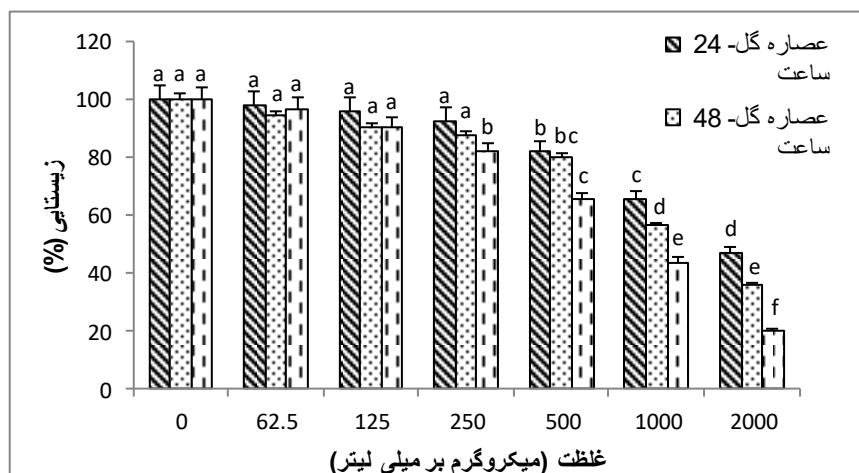


شکل ۲. نمودار مقایسه تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره برگ گیاه گل فیللی بر رشد سلول‌های سرطانی ریه طی زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت. هر ستون نشان‌دهنده میانگین داده‌ها $\pm$ انحراف استاندارد.. ستون‌های دارای حداقل یک حروف مشترک با آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌دار ندارد.

۳-۵. مهار رشد سلول‌های سرطانی توسط غلظت‌های مختلف عصاره گل گیاه گل فیللی طی زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت

نتایج این پژوهش نشان داد که غلظت‌های مختلف عصاره گل گیاه گل فیللی بر مهار رشد سلول‌های سرطانی تأثیر معنی‌داری داشت، به‌طوری که کمترین درصد زیستایی سلول‌های سرطانی در غلظت ۲۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر عصاره $46/84 \pm 1/251$ مشاهده شد که بیانگر مهار ۵۳/۱۶ درصد در غلظت مورد نظر است. همچنین نتایج نشان داد که غلظت ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر عصاره نیز باعث کاهش $43/75 \pm 1/011$ درصدی رشد سلول‌های سرطانی نسبت به کنترل شده است و درصد مهار رشد در این غلظت ۵۶/۲۵ درصد به‌دست آمد. در مدت زمان ۴۸ و ۷۲ ساعت نیز کمترین درصد زیستایی سلول‌های سرطانی در غلظت ۲۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر عصاره به ترتیب $35/78 \pm 0/781$ و $19/88 \pm 0/221$ درصد به‌دست آمد که بیانگر مهار رشد ۶۴/۲۲ و ۸۰/۱۲ درصدی در غلظت مورد نظر است. همچنین این نتایج بیان کرد که کاهش

زیستایی سلول‌ها در مدت زمان ۷۲ ساعت نسبت به زمان ۲۴ ساعت قابل توجه بود (شکل ۳).



شکل ۳. نمودار مقایسه تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره گل گیاه گل فیلی بر رشد سلول‌های سرطانی طی زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت. هر ستون نشان‌دهنده میانگین داده‌ها $\pm$ انحراف استاندارد. ستون‌های دارای حداقل یک حرف مشترک با آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی دار ندارد.

۳-۶. بررسی همبستگی بین فعالیت ضدباکتریایی و ضدسرطانی عصاره‌های گیاه گل فیلی با ترکیبات آنتی‌اکسیدان اندازه‌گیری شده

جدول همبستگی نشان داد که فعالیت ضدباکتریایی و مهار سلول‌های سرطانی عصاره‌های برگ و گل با محتوای فنل کل در سطح ۱ درصد همبستگی مثبت معنی‌دار دارد. همچنین فعالیت ضدباکتریایی و مهار سلول‌های سرطانی عصاره‌های برگ و گل با ترکیبات فلاونوئیدی نیز همبستگی مثبت دارد ولی معنی‌دار نیست (جدول ۳ الف و ب).

جدول ۳ الف. همبستگی بین فعالیت ضدباکتریایی و ضدسرطانی عصاره برگ گیاه گل فلی با برخی از ترکیبات آنتی اکسیدانی غیرآزمی.

فعالیت ضد باکتریایی	مهار سلول های سرطانی	فنل کل	فلاونوئید کل	آنتوسیانین کل	
۱	۰/۱۶۵ ^{ns}	۰/۸۹۰ ^{**}	۰/۳۸۵ ^{ns}	۰/۱۱۵ ^{ns}	فعالیت ضدباکتریایی
	۱	۰/۸۵۵ ^{**}	۰/۴۱۵ ^{ns}	۰/۲۲۰ ^{ns}	مهار سلول های سرطانی
		۱	۰/۷۱۹ ^{**}	۰/۶۳۹ [*]	فنل کل
			۱	۰/۴۱۵ ^{ns}	فلاونوئید کل
				۱	آنتوسیانین کل

* و ** به ترتیب نشان دهنده همبستگی در سطح ۱ و ۵ درصد معنی دار است.
^{ns} همبستگی بین صفات معنی دار نیست.

جدول ۳ ب. همبستگی بین فعالیت ضدباکتریایی و ضدسرطانی عصاره گل گیاه گل فلی با برخی از ترکیبات آنتی اکسیدانی غیرآزمی.

فعالیت ضد باکتریایی	مهار سلول های سرطانی	فنل کل	فلاونوئید کل	آنتوسیانین کل	
۱	۰/۱۸۵ ^{ns}	۰/۸۵۰ ^{**}	۰/۲۱۵ ^{ns}	۰/۱۱۰ ^{ns}	فعالیت ضدباکتریایی
	۱	۰/۷۶۵ ^{**}	۰/۲۴۵ ^{ns}	۰/۱۸۹ ^{ns}	مهار سلول های سرطانی
		۱	۰/۷۷۰ ^{**}	۰/۶۱۹ [*]	فنل کل
			۱	۰/۳۲۰ ^{ns}	فلاونوئید کل
				۱	آنتوسیانین کل

* و ** به ترتیب نشان دهنده همبستگی در سطح ۱ و ۵ درصد معنی دار است.
^{ns} همبستگی بین صفات معنی دار نیست.

۴. بحث

آسیب‌های ناشی از اکسیژن فعال به مولکول‌های زیستی زمینه‌ساز بیماری‌هایی مانند سرطان، نقرس، دیابت، پیری و بیماری‌های قلبی -عروقی می‌باشد [۲۱ و ۲۲]. محافظت علیه این بیماری‌ها می‌تواند توسط آنتی‌اکسیدان‌های موجود در رژیم غذایی صورت می‌گیرد. در تمام مراحل رشد گیاهان، یک سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی فعال است که شامل ترکیبات آنزیمی و غیرآنزیمی است. عمل این آنتی‌اکسیدان‌ها متفاوت است و به‌طور گسترده با عواملی مثل مراحل بلوغ، شرایط آب و هوایی، بخش‌های مورد استفاده از گیاه، شرایط برداشت و ذخیره‌سازی تغییر می‌کند [۲۳ و ۲۴]. در راستای این مطالعات، برگ و گل گیاه گل فیلی از طبیعت جمع‌آوری و مطالعه شد. نتایج نشان داد که بخش‌های مختلف گیاه گل فیلی خصوصاً برگ و گل این گیاه غنی از ترکیبات آنتی‌اکسیدان به‌ویژه ترکیبات فنلی می‌باشد (جدول ۱). در مطالعه‌ای مشابه به بررسی ترکیبات آنتی‌اکسیدان و فعالیت آنتی‌اکسیدانی سرشاخه‌های گلدار گیاه گل فیلی پرداخته شد. نتایج نشان داد که سرشاخه‌های گلدار گیاه گل فیلی حاوی فلاونوئید، تانن و ساپونین است. همچنین خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره متانولی گیاه با روش DPPH نشان داد که میزان IC50 برای گیاه مورد نظر برابر با ۳/۱۱۴ mg/ml و برای BHT برابر با ۵۹/۱۰ mg/ml به‌دست آمد؛ بنابراین با توجه به این نتایج مشخص شد که عصاره سرشاخه‌های گلدار حاوی ترکیبات آنتی‌اکسیدان و فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل قبول است [۲۵]؛ بنابراین وجود ترکیبات آنتی‌اکسیدان در قسمت‌های مختلف گیاه نشان می‌دهد که توانایی آنتی‌اکسیدانی به‌طور قابل‌ملاحظه‌ای در طی مراحل رشد متفاوت است؛ بنابراین با توجه به درصد ترکیبات آنتی‌اکسیدان گوناگون و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در قسمت‌های مختلف گیاه، می‌توان هر بخش را برای هدف خاصی انتخاب و برداشت کرد.

از سوی دیگر مطابق نتایج به‌دست آمده خاصیت ضدباکتریایی برگ و گل گیاه گل فیلی را می‌توان به مقادیر بالای ترکیبات آنتی‌اکسیدانی موجود در عصاره‌ها نسبت داد که نتایج جدول همبستگی نیز نشان داد که خاصیت باکتریایی عصاره‌های برگ و گل با محتوای فنل کل همبستگی مثبت معنی‌دار را نشان داده است (جدول ۳ الف و ب).

همچنین نتایج پژوهش نشان داد که غلظت‌های ۲۰۰ تا ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره‌های برگ و گل گیاه گل فیللی تأثیر خوبی بر مهار رشد باکتری‌های گرم مثبت /استافیلوکوکوس اورئوس و باسیلوس سرئوس داشت، اما مهار باکتری‌های گرم منفی /شریشیا کلی و سودوموناس آئروژینوز/ در غلظت‌های ۶۰۰ تا ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر صورت گرفت (شکل ۱ الف و ب). در راستای پژوهش حاضر، مطالعاتی در مورد خواص ضد میکروبی عصاره گل فیللی انجام شده بود که با نتایج به دست آمده از پژوهش حاضر مطابقت دارد. مطالعات انجام شده در مورد خاصیت ضدباکتریایی عصاره گل فیللی نشان داد که عصاره متانولی این گیاه باعث مهار رشد باکتری گرم منفی /شریشیا کلی جدا شده از نمونه‌های بیمارستانی می‌شود؛ MIC آن ۵/۶۲ mg/ml به دست آمده است [۲۵]. همچنین در مطالعه‌ای مشابه به بررسی اثرات ضد میکروبی عصاره متانولی و اتانولی گیاهان گل فیللی بر علیه قارچ‌های بیماری‌زای *Penicillium italicum* و *Penicillium digitatum* پرداختند. نتایج این تحقیق نشان داد که عصاره متانولی گیاه گل فیللی با غلظت‌های ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بر روی قارچ *Penicillium digitatum* و *Penicillium italicum* تأثیر داشته است. عصاره متانولی گیاه گل فیللی با اندازه ۱۳ و ۱۲ میلی‌متر بیشترین تأثیر را روی گونه *Penicillium digitatum* داشت [۲۶]. علاوه بر این به اثرات ضد میکروبی عصاره‌های مختلف ریشه و عصاره متانولی اندام هوایی گیاه گل میمونی سازویی با روش دیسک دیفیوژن و نیز رقت لوله‌ای بر روی باکتری‌های /شریشیا کلی، باسیلوس سرئوس و استافیلوکوکوس اورئوس پرداخته شد. در این مطالعه از دی‌متیل سولفوکسید به عنوان شاهد منفی و از آمپی‌سیلین و نالیدیکسیک اسید به عنوان شاهد‌های مثبت استفاده شد. نتایج نشان داد که ریشه و اندام هوایی گیاه گل میمونی سازویی حاوی فلاونوئیدها، گلیکوزیدها، ساپونین‌ها، تانن‌ها و ترپنوئیدها است. هاله عدم رشد به وسیله عصاره‌های کلروفرمی و اتیل‌استاتی ریشه مشاهده نشد، در صورتی که عصاره متانولی ریشه گل میمونی سازویی، مؤثرترین عصاره بر روی باسیلوس سرئوس با هاله عدم رشد ۲۱ میلی‌متر، حداقل غلظت مهارکنندگی ۶۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و حداقل غلظت میکروب‌کشی ۷۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. عصاره متانولی اندام هوایی دارای کمترین اثر بر روی

اشریشیا کلی بود؛ بنابراین عصاره متانولی ریشه و اندام هوایی گیاه گل میمونی دارای اثر ضدباکتریایی به‌ویژه بر روی باکتری باسیلوس سرئوس بود [۲۷]. تحقیقات متعددی روی فعالیت ضد میکروبی عصاره‌ها انجام شده است و نتایج این پژوهش‌ها بیانگر این بود که ترکیبات فنلی، اثر ضدباکتریایی خوبی روی باکتری‌های گرم مثبت در مقایسه با باکتری‌های گرم منفی دارند. به‌طور کلی باکتری‌های گرم منفی در مقایسه به گرم مثبت، نسبت به ترکیبات فنلی مقاوم‌تر هستند، که این تفاوت شاید به دلیل تفاوت در ساختمان دیواره سلولی آن‌هاست [۲۸]. باکتری‌های گرم منفی علاوه بر لایه پتیدوگلیکان، دارای یک غشای خارجی در دیواره سلولی خود هستند. سطح هیدروفیلی این غشا که غنی از مولکول‌های لیپولی ساکاریدی است به‌عنوان 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 [۲۹]. علاوه بر این، خاصیت مهارکنندگی بیشتر عصاره‌های مورد مطالعه بر روی باکتری‌های گرم مثبت، نسبت به گرم منفی می‌تواند به علت اتصال گروه‌های هیدروکسیل ترکیبات فنلی موجود در عصاره به گروه N-استیل گلوکز آمین موجود در دیواره سلولی باکتری‌های گرم مثبت باشد و مقاومت بیشتر باکتری‌های گرم منفی به عصاره ممکن است به علت وجود لیپولی ساکاریدهای غشاء بیرونی باکتری‌های گرم منفی نسبت داده شود که ذاتاً به عوامل خارجی مانند آنتی‌بیوتیک‌ها و شوینده‌ها مقاوم هستند [۳۰]. به‌طور کلی مکانیسم‌های احتمالی فعالیت ضدباکتریایی عصاره را می‌توان به از بین رفتن یکپارچی غشای سلولی ناشی از اختلال در لایه فسفولیپیدها به‌عنوان یکی از مهم‌ترین مکانیسم‌های مهاری اشاره کرد. همچنین استرس اکسیداتیو ناشی از تولید انواع اکسیژن فعال یکی دیگر از سازوکارهای مهم بوده و این مولکول‌ها بیشتر با مهار یا تغییر در همانندسازی DNA، چرخه سنتز پروتئین، چرخه متابولیسم غذایی یا چرخه تنفسی باعث مرگ باکتریایی می‌شوند [۳۱].

علاوه بر این از ترکیبات طبیعی برای مقابله با سرطان، با توجه به عوارض جانبی کم و تأثیرات امیدبخش آن مورد توجه قرار گرفته و مطالعات متعددی جهت بررسی اثرات

ضدسرطانی گیاهان دارویی و بومی در کشورهای مختلف انجام گرفته است [۲۰، ۳۲ و ۳۳]. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که اثر عصاره‌های برگ و گل گیاه گل فیلی روی کاهش زیستایی سلول‌های سرطان ریه رده سلولی A549 وابسته به غلظت و زمان بود (شکل‌های ۲ و ۳). طبق نتایج به‌دست آمده مشخص شد که غلظت‌های مختلف عصاره‌های برگ و گل گیاه گل فیلی باعث کاهش زیستایی سلول‌های سرطانی شدند به‌طوری که بیشترین کاهش زیستایی سلول‌های سرطانی در مدت زمان ۷۲ ساعت و در غلظت ۲۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر عصاره‌ها مشاهده شد. همچنین نتایج جدول همبستگی نشان داد که بین مهار رشد سلول‌های سرطانی و محتوای فنل برگ و گل گیاه گل فیلی همبستگی مثبت معنی‌داری وجود دارد. براساس نتایج به‌دست آمده مشخص شد که عصاره برگ و گل گیاه گل فیلی دارای مقادیر زیادی از ترکیبات آنتی‌اکسیدان به‌خصوص ترکیبات فنلی است. این ترکیبات ممکن است چرخه سلولی را مهار کرده و یا چک‌پوینت‌های آن را فعال کنند، مانع همانندسازی DNA شوند و یا مسیر داخلی و یا خارجی آپوپتوز را فعال کنند. همچنین قادر به ایجاد تمایز و مرگ سلولی در سرطان خون، سرطان ریه، سرکوب رگ‌زایی تومور و متاستاز یا فراگستری سلولی می‌شوند [۳۴]. استر موجود در ترکیبات فنلی با کاهش استرس اکسیداتیو، از آسیب‌های سلولی جلوگیری می‌کند. خواص آنتی‌اکسیدانی آن باعث حفاظت سلول‌ها در برابر آسیب‌های اکسیداتیو می‌گردد و با اثر ضدتکثیری خود مانع از سرطانی شدن سلول‌ها می‌شود [۳۵]. بررسی Arast و همکاران (۲۰۱۰) نشان داده شده که آنتی‌اکسیدان‌ها می‌توانند باعث تحریک سلول‌های سیستم ایمنی برای مستقر شدن در محل تومور و از بین بردن سلول‌های آن و یا مهار آنژیوژنز شوند [۳۶]. مطالعات قبلی نشان داده است که ترکیبات آنتی‌اکسیدان مثل فنولیک اسیدها، پلی‌فنل‌ها و فلاونوئیدها رادیکال‌های آزادی نظیر هیدروپراکسید، سوپراکسید و پراکسید هیدروژن را پالایش می‌کنند و مانع از بروز فرایندهای اکسیداتیو که منجر به آسیب به ژنومی و بروز جهش می‌شوند، می‌گردند. فلاونوئیدها به‌طور عمده فرایندهای ایمنی و سلولی مرتبط با گسترش و پیشرفت سرطان مثل تکثیر سلولی، تمایز سلولی و ایجاد رگ‌های جدید را مانع می‌شوند [۲۳ و ۳۷]. در مطالعه‌ای اثرات سایتوتوکسیک عصاره گیاه گل میمونی

fruteseus Scrophularia در برابر سلول‌های Hep-2 که از اپیتلیوم سرطانی سلول‌های حلقی جداسازی شده مورد مطالعه قرار گرفت و فعالیت ضدسرطانی قابل‌مشاهده‌ای که ناشی از ترکیبات وابسته به گروه‌های فنولیک است در این پژوهش به‌دست آمد [۳۸]. همچنین در پژوهشی مشخص شد که عصاره گل میمونی موجب کاهش چشمگیر توانایی زیستی سلول‌های سرطانی پستان شد که با افزایش غلظت و زمان میزان مرگ‌ومیر سلول‌های سرطانی پستان رده 4T₁ افزایش یافت [۳۹]. مطالعات نشان داده است که نتایج این پژوهشگران با نتایج پژوهش حاضر مطابقت داشت و خاصیت ضدسرطانی عصاره‌ها با ترکیبات فنلی همبستگی مثبت معنی‌دار دارد.

با بررسی تمام این پژوهش‌های ذکر شده در مورد خاصیت ضدسرطانی عصاره‌ها براساس یافته‌های حاصل می‌توان نتیجه گرفت ترکیبات فنلی می‌تواند سبب کاهش تکثیر و افزایش آپوپتوز سلول‌های سرطان ریه شوند؛ هرچند که در پژوهش حاضر مسیرهای ژنتیکی مکانیسم عمل عصاره برگ و گل گیاه گل فیلی در مهار سلول‌های سرطانی ریه مورد بررسی 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 گل گیاه گل فیلی حاوی مقدار زیادی از ترکیبات آنتی‌اکسیدان به‌ویژه ترکیبات فنلی است که به‌دلیل وجود همبستگی مثبت معنی‌دار بین ترکیبات فنلی و مهار رشد سلول‌های سرطانی، احتمالاً وجود فل‌ها به‌عنوان یک نوع از ترکیبات آنتی‌اکسیدان می‌تواند نشان‌دهنده این باشد که این ترکیبات احتمالاً از طریق مسیر مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی باعث مهار رشد سلول‌های سرطانی شوند.

۵. نتیجه‌گیری

نتایج به‌دست آمده از این پژوهش نشان داد که برگ و گل گیاه گل فیلی سرشار از ترکیبات فنلی است. همچنین نتایج نشان داد که عصاره گیاه گل فیلی اثر ضدباکتریایی خوبی بر روی باکترهای گرم مثبت /استافیلوکوکوس و باسیلوس سرئوس داشت و حساسیت این باکتری‌ها نسبت به باکتری‌های گرم منفی سودموناس آئروزینوزا و /شریشیا کلی بیشتر بود. ازسوی دیگر طبق نتایج به‌دست آمده عصاره‌های برگ و گل

گیاه گل فیللی اثر مهاری وابسته به غلظت و زمان در مهار رشد سلول‌های سرطانی ریه از خود نشان دادند و بیشترین اثر مهاری برای آن‌ها در غلظت ۲۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر و در مدت زمان ۷۲ ساعت به دست آمد؛ لذا با توجه به نتایج به دست آمده می‌توان گفت که عصاره‌های برگ و گل گیاه گل فیللی سرشار از ترکیبات آنتی‌اکسیدان است که با توجه به مقاومت سویه‌های باکتریایی به آنتی‌بیوتیک‌ها و اثرات جانبی داروهای شیمی‌درمانی، عصاره این گیاه برای بررسی فارماکولوژی بیشتر توصیه می‌شود تا شاید بتوان در آینده از این گیاه در زمینه‌های درمان استفاده کرد.

منابع

1. Siegel, R.L., Miller, K.D., Jemal, A. (2019). "Cancer statistics." *Cancer J Clin*, 69(1): 7-34.
2. Demidyuk, I.V., Shubin, A.V., Gasanov, E.V., Kurinov, A.M., Demkin, V.V., Vinogradova, T.V. (2013). "Alterations in gene expression of proprotein convertases in human lung cancer have a limited number of scenarios". *PLoS One*, 8(2): e55752.
3. Mollaei, H., Moudi, M., Ghorbany, M., Mousavi-Kouhi, S.Y., Hosseinzadeh, M. (2022). "Anti-cancer effects and molecular mechanisms of sour tea (*Hibiscus sabdariffa*) in the human cellular model (A549) of lung cancer". *J Birjand Univ Med Sci*, 29(1): 12-20. [Persian]
4. Shokralezadeh, M., Poresh, A., Shahani, S., Habibi, A., Zar, Z. (2013). "Investigating the effect of cytotoxicity of *Lagenaria siceraria* plant extract on lung cancer cell line. (A549)". *J. Maz. Uni. Med. Sci*, 230-225. [In Persian]
5. Shahnia, M., Khaksar, R. (2013). "Antimicrobial effects and determination of minimum inhibitory concentration (MIC) methods of essential oils against pathogenic bacteria". *Iran. J.Nut. Sci Food Technol*, 7(5): 949-55.
6. Azizianshermeh, O., Valizadeh, J., Noroozifar, M., Qasemi, A. (2016). "Investigating the Antimicrobial Activities of Silver Nanoparticles Biosynthesized by Aqueous Extract of *Sambucus ebulus*". *JIUMS*, 2016; 1: 92-108. [In Persian]
7. Majnooni, M.B., Abiri, R., Afnanzade, N.S., Malek Khatabi, P. (2012). "Study of antibacterial effects of hydro- alcoholic extract of 8 medicinal herbs against vancomycin resistant *staphylococcus aureus*". *J. Med. Plants*, (41): 103-110.
8. Babakhani, B., Houshani, M., Motalebi Tala Tapeh, S., Hosseini Boldaji, S.A., Shoja Shafiee, M., Arman, M., Heidari Keshel, S. (2020). "The Evaluation of Antioxidant Activity and Cytotoxicity of Leaf, Orange Fruit, and Calyx Extract of *Physalis alkekengi* on Human Lung Cancer A549 Cell Line". *Triple R*, 5 (1): 11-28.
9. Gandhi, S., Abramov, A.Y. (2012). "Mechanism of oxidative stress in neurodegeneration". *Oxid. Med. Cell. Longev*, 3:11-22.
10. Feizi, P., Ahmadzadeh, S., Kamali, H., Al-Sheikh, P., Zarghami- Moghadam, P., Mqhamadi, A. (2016). "Qualitative and quantitative analysis of anthocyanins, carotenoids, polyphenols, flavonoids and antioxidant activity of methanolic extracts of *Scutellaria pinnatifida* ". *J North Khorasan Univ Med Sci*, 7(3):645-55.
11. Balouiri, M., Sadiki, M., Ibensouda, S.K. (2016). "Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review". *J Pharm Anal*, 6(2):71-79.
12. Larbi, A. 2012. "Evaluation of botanical characteristics *Rhynchocorys elepha*". *J. Med. Plant*, 4(3): 7-12.
13. Pourmorad, F., Hosseinimehr, S.J., Shahabimajd, N. (2006). "Antioxidant

- activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants". *Afr. J. Biotechnol*, 5: 1142-1145.
14. Meda, A., Lamien, C.E., Romito, M., Millogo, J., Nacoulma, O.G. (2005). "Determination of the total phenolic, flavonoid and pralin contents in Burkina Fasan honey, as well as their scavenging activity". *Food Chem*, 91: 571-577.
 15. Chang, C., Yang, M., Wen, H., Chern, J. (2002). "Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods". *J. Food. Drug. Anal*, 10: 178-182.
 16. Mita, S, Murano, N., Akaike, M., Nakamura, K. (1997). "Mutants of *Arabidopsis thaliana* with pleiotropic effects on the expression of the gen for beta-amylase and on the accumulation of anthocyanin that is inducible by sugars". *Plant J*, 11: 841-851.
 17. Chakraborty, M., Mitra, A. (2008). "The antioxidant and antimicrobial properties of the methanolic extract from *Cocos nucifera* mesocarp". *Food Chem*, 107: 994-999.
 18. Jahantigh, M., Beigomi, M., Mohkami, Z., Saeidi, S. (2022). "Antimicrobial Activity medical plant extracts, *Prosopis farcta* L. and *Datura stramonium* L., against *Salmonella typhimurium* isolated from poultry in Zabol". *Quality. shelf life of agricul. food products*, 1(3): 36-45. [In Persian]
 19. Oroojalian, F., Kasra-Kermanshahi, R. Azizi, M. and Bassami, M. R. (2010). "Phytochemical composition of the essential oils from three apiaceae species and their antibacterial effects on food-borne pathogens". *Food Chem*, 120: 765-770.
 20. Sitiasma, M.J., Al-jamal, H., Yong-Ang, C.H., Matasan, J., Seeni, A., Johan, M.F.(2014). "Apoptosis induction in MV4-11 and K562 human leukemic cells by *Pereskia sacharosa* (Cactaceae) leaf crude extract". *APJCP*, 15 (1): 475-481.
 21. Xu , D.P., Li , Y., Meng , X., Zhou, T, Zhang, J.J. (2017). "Natural antioxidants in foods and medicinal plants: extraction, assessment and resources". *Int. J. Mol. Sci*, 5;18 (1):96.
 22. Govahi, M., Ranjbar, M., Norouzi Jobie, F., Azizi , H. (2020). "Antimicrobial and Antioxidant Effects of Aqueous Extract of *Lythrum Salicaria*". *JSSU*, 29 (2). 3292-3298.
 23. Babakhani, B., Houshani, M., Motalebi Tala -Tapeh, S., Shoja Shafiee, M., Heidari-Keshel, S. (2019). "The evolution of antioxidant activity and anticancer of Alfalfa extract on MCF7 Cell line". *Triple R*, 2019; 4 (1): 9-14.
 24. Houshani, M., Mianabadi, M., Aghdasi, M., Azim-Mohseni, M. (2012). "An investigation of antioxidant activity of *Physalis alkekengi* methanolic extracts in different phenological stages". *J. Plant Biol*, 4(14): 101-114. [In Persian]
 25. Asgarpana, Z.h. (2015). "The antioxidant effect of DPPH barush and the antibiotic effect of methanolic extract of *R.elephase* on clinical strains collected from urinary tract infection patients hospitalized in Imam Khomeini Hospital", Tehran. [In Persian]

26. Esmailpour, Z., Nematzadeh, Q., Alavi, M. (2014). "Investigation of the antifungal effects of extracts of the *Rhynchocorys elepha* and *Cotoneaster cornubia* against pathogenic fungi". First National Conference on Medicinal Plants, Traditional Medicine and Organic Agriculture. [In Persian]
27. Safavi, F., Ebrahimi, P., Mighani, H. (2013). "In vitro anti-bacterial activity of root and aerial parts of *Scrophularia Striata* Bioss on *Escherichia Coli*, *Staphylococcus Aureus* and *Bacillus Cereus*". *Armaghane-danesh, Yasuj University of Original Article Medical Sciences Journal (YUMSJ)*. 18(8): 603-614. [In Persian]
28. Mekonnen, A., Desta, W. (2020). "Comparative study of the antioxidant and antibacterial activities of *Rumex abyssinicus* with commercially available *Zingiber officinale* and *Curcuma longa* in Bahir". *Chemical and Biological Technologie*, 1: 21-34.
29. Ahmadpour-Torki, M., Ranjbar, M., Govahi, M., Tafrihi, M. (2022). "Effect of Aqueous Extract of Turkey Tail (*Trametes versicolor*) on *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Fusarium thapsinum*". *J Gorgan Univ Med Sci*, 2(3): 23-32.
30. Elansary, H.O., Szopa, A., Klimek-Szczykutowicz, M., Ekiert, H., Barakat, A.A., Al-Mana, F.A. (2020). "Antiproliferative, antimicrobial, and antifungal activities of polyphenol extracts from *Ferocactus* species". *Processes*. 8(2): 125-138.
31. Roy, A. 2017. "Synthesis, characterization and antibacterial properties of a novel silver-exchanged montmorillonite (Ag-Mt) synthesized". *JOMMID*, 10 (4): 192-198.
32. Gins, V.K *Eur J Pharmacol.*, Gins, M.S., Kononkov, P.F., Pivovarov, V.F., Kulikov, I.M., Antsiferov, A.V. (2017). "Multi-purpose use of phytolacca with antioxidant activity". *Biol. Agri. Hortic*, (2):47-51.
33. Davoodi, R., Esmailzade- Bahabadi, S., Najafi, S.h., Mazaheri-Naeeni, M. (2015). "Effect of hydro alcoholic extract of *Citrullus colocynthis* Fruit on Caspase 3 gene expression in MCF-7 breast cancer cell line". *J Shahid Sadoughi Univ Med Sci*, 23(5): 508-518. [In Persian]
34. Lu, Y., Jiang, F., Jiang, H., Wu, K., Zheng, X., Cai, Y. (2010). "Gallic acid suppresses cell viability, proliferation, invasion and angiogenesis in human glioma cells". *J. Med*, 641(2-3):102-7.
35. Zhao, B., Hu, M. (2013). "Gallic acid reduces cell viability, proliferation, invasion and angiogenesis in human cervical cancer cells". *Oncol Lett*, 6(6):1749-1755.
36. Arast, Y., Galedari, H., Solgui, R., Kalantari, H., Rezaei, M. (2010). "The effect of α - tocopherol and lovastatin on apoptosis induction in human colorectal carcinoma cell line". *AMUJ*, 13 (2):9-16.
37. Silvestri, G.A., Alberg, A.J., Ravenel, J. (2009). "The changing epidemiology of lung cancer with a focus an screening". *Barit Med*, 399: 451-454.

38. Valiyari, S., Jahanban-Esfahlan, R., Shahneh, F.Z., Yaripour, S., Baradaran, B., Delazar, A. (2013). "Cytotoxic and apoptotic activity of *Scrophularia oxysepala* in MCF-7 human breast cancer cells". *Toxicol Environ Chem*, 95 (7): 1208-20.
39. Chokhachi-Baradaran, P., Baradaran, B. (2013). "Anti-proliferation effects of *Scrophularia oxysepala* medicinal plant extract on the 4T1 mouse breast cancer cell line". *J. Urmia Uni Medi Scie*, 26(10): 871-881. [In Persian]