فصلنامه علمی پژوهشی فیزیولوژی و تکوین جانوری
شماره پیاپی 29، جلد 8، شماره 2، بهار94، صفحه 51 تا 58

# بررسی اثر غلظت‌های مختلف عصاره الکلی برگ گیاه آلوئه ورا بر تکثیر سلول‌های سرطانی دهانه رحم( Hela)

الهه ابراهیمی[1]، **مسعود پارسانیا**[2]، حمید حسینی دوست[3]

**1-**گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم و فن آوری‌های نوین، واحد علوم دارویی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران. ایران.

**2-**استادیار گروه میکروبیولوژی، واحد تهران پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران. ایران. **masoud_parsania@yahoo.com**

**3-**استاد گروه میکروبیولوژی، واحد علوم دارویی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران. ایران.

**تاریخ دریافت: 93/11/6 تاریخ پذیرش:94/1/15**

## چکیده

**زمینه و هدف: سرطان دهانه رحم دومین سرطان شایع در زنان است. شیوع بالای سرطان و موثر نبودن درمان‌های شیمیایی لزوم دستیابی به ترکیبات دارویی طبیعی، با عوارض جانبی کمتر را نشان می‌دهد. امروزه عصاره‌های گیاهی به علت اثر درمانی قابل توجه و عوارض کمتر مورد توجه قرار گرفته‌اند. هدف از این پژوهش بررسی اثر غلظت‌های مختلف عصاره الکلی برگ گیاه آلوئه ورا بر تکثیر سلول‌های سرطانی دهانه رحم می‌باشد.**

**روش کار: پس از جمع‌آوری و تأیید گونه گیاه مورد نظر، عصاره‌گیری به روش خیساندن(ماسراسیون) با برش برگ‌های گیاه و خروج ژل درون آن انجام شده و به وزن نهایی ژل جمع‌آوری شده متانول افزوده شد. پس از حل شدن کامل ژل در متانول تقطیر صورت گرفته، 0/21گرم از عصاره در10میلی‌لیتر محیط(DMEM,Gibco) حل و عصاره به‌دست آمد. در این مطالعه پایداری سلول‌های Hela(بافت اپی تلیالی سرطان دهانه رحم) در مجاورت، با غلظت‌های 21، 20، 19، 18، 17، 16 mg/ml از عصاره ژل آلوئه ورا به همراه محیط DMEM و 1٪سرم در زمان‌های 24، 48 و 72ساعت با استفاده از روش تریپان بلو و MTT مورد ارزیابی قرار گرفت.**

**یافته ها: نتایج نشان داد با افزایش غلظت عصاره، پایداری سلول‌های سرطانی کاهش و غلظت 20 mg/ml از عصاره آلوئه ورا در مقایسه با کنترل و سایر غلظت‌های مورد بررسی، باعث کاهش چشمگیری($P\leq0/01$)در تکثیر سلول‌های Hela شد($CC_{50}$).**

**نتیجه‌گیری: می‌توان از غلظت 20 mg/ml عصاره آلوئه ورا برای مهار رشد سلول‌های Hela استفاده نمود.**

**واژه های کلیدی:** سیتوتوکسیسیته، سلول های Hela، عصاره آلوئه ورا.

## مقدمه

سرطان یکی از بیماری‌های مهمی است که نقش زیادی در مرگ و میر انسان‌ها دارد. میزان مرگ ناشی از سرطان در سال 2007 حدود 7/9 میلیون نفر(حدود 13% کل موارد مرگ و میر) بود. از میان انواع سرطان‌ها، بیشتر موارد مرگ و میر ناشی از سرطان‌های معده، ریه، روده بزرگ، کبد و پستان می‌باشد. میزان موارد مرگ ومیر ناشی از سرطان در آینده رو به افزایش است و تخمین زده می‌شود که در سال 2030 حدود 12 میلیون نفر در سراسر جهان به علت ابتلا به سرطان جان خود را از دست بدهند. حدود 30٪ موارد مرگ و میر ناشی از سرطان قابل پیشگیری است و با کنترل عوامل سرطان‌زا، می‌توان از ایجاد بسیاری از آن‌ها جلوگیری نمود. مصرف دخانیات، رژیم غذایی نامناسب، تماس با عوامل عفونی و اشعه یونیزان خطر بروز انواعی از سرطان‌ها را افزایش می‌دهند(11). سرطان دهانه رحم چهارمین سرطان شایع در جهان از رشد فزاینده و نامنظم سلول‌های اپی‌تلیالی دهانه رحم و ریزش مداوم سلول‌ها حاصل می‌شود. شناخته ترین علت ایجاد این سرطان ویروس پاپیلومای انسانی(HPV: Human Papilloma Virus) می‌باشد. از هر 100 هزار زن سالانه 34/8 نفر مبتلا به سرطان دهانه رحم می‌شوند که22/5 نفر آن‌ها جان خود را از دست می‌دهند. درمان سرطان با استفاده از جراحی، شیمی

درمانی، هورمون درمانی، پرتو درمانی و درمان زیستی(ایمونوتراپی) انجام می‌شود. اغلب درمان‌های شیمیایی عوارض جانبی متعددی از جمله کاهش اشتها، تغییر وزن، سوزش دهان یا گلو، مشکلات دندانی و لثه، تهوع و استفراغ، افسردگی و خستگی را ایجاد می‌کنند. شیوع بالای سرطان و موثر نبودن درمان‌های شیمیایی لزوم دستیابی به ترکیبات دارویی جدید و طبیعی که عوارض جانبی کمتری داشته باشند را نشان می‌دهد(13). مطالعات نشان می‌دهدگیاهان، سبزیجات و ادویه ها می-توانند به عنوان یک منبع برای جلوگیری از سرطان موثر باشند. مواد غذایی نیز نقش مهمی در کاهش پیشرفت انواع سرطان دارند. استفاده از گیاهان دارویی در طب سنتی در بسیاری از کشورها از جمله ایران قدمت طولانی داشته و امروزه استفاده از گیاهان دارویی به علت سازگاری بهتر با فیزیولوژیک بدن، داشتن عوارض جانبی کمتر، در درمان بیماری‌های مختلف رو به افزایش است(12). گیاهان دارویی برای تحقیقات فارماکولوژیکی و توسعه داروها هم به صورت استفاده مستقیم از ترکیبات گیاهی و هم سنتز داروهای جدید از اهمیت خاصی برخوردارند(9). نتایج تحقیقات نشان می‌دهد که وجود ترکیبات آنتراکینونی (Anthraquinone) و فلاونوییدی(Flavonoidi) در مواد مؤثره گیاهان می‌تواند عامل خواص ضد ویروسی و ضد باکتریایی در عصاره آن‌ها باشند(18، 14). اولین داروی گیاهی ضد سرطان، آلکالوئیدهای ضدلوسمی وین کریستین(Vincristine) و وین‌بلاستین(Waine-Blastine) است(7). از اوایل دهه 1950 تاکنون برنامه‌های شناسایی و غربالگری وسیع گیاهان، برای دستیابی به ترکیبات درمانی جدید انجام شده است. عوامل ضدنئوپلاسم(Anti- neoplastic) جدید نظیر مشتق تاکسان( *Taxan paclitaxel*) معروف به taxol از گیاه برگ ریز سرخدار(*Taxus brevifolia*) و آلکالوئید *Camptotheca* از درخت چینی (*Camptothecin acuminate*) به دست آمدند(6). تحقیقات بسیاری در سراسر دنیا در جهت کشف ترکیبات طبیعی که می توانند باعث مهار یا پیشگیری روند سرطان دهانه رحم شوند در حال انجام می‌باشد(6). هم‌چنین باید توجه داشت که مصرف مواد طبیعی مانند عصاره گیاهان به میزان بالاتر از حدود تعیین شده می‌تواند اثرات نامطلوبی مانند سمیت آلرژیک و حتی موتاژنی نیز داشته باشد، بنابراین لازم است غلظت غیر سمی عصاره گیاهان دارویی برای مصرف مشخص گردد(۲۳،۲۹). گیاه آلوئه ورا(*Aleo vera .Sp*) متعلق به خانواده *Liliaceae* دارای انواع مواد ارزشمند معدنی، ویتامین، آمینواسیدها، آنتراکینونی، امودین(Emodin) و آلویین(Aloein) با خاصیت ضدویروسی، آنتی‌اکسیدانی، ضد قارچی، ضد باکتریایی، ضد روماتیسمی، ضد سرطانی، ضد پیری پوست، ضد عفونی‌کنندگی، ضد التهابی، تنظیم‌کنندگی سیستم ایمنی، بهبود دهنده جراحت‌ها و ریزش هستند(22، 15). با توجه به خواص دارویی مختلف آلوئه ورا در داروسازی، تولید ژل و پماد بهبود دهنده جراحات، دهان‌شویه و ضدعفونی‌کننده در دندانپزشکی، استفاده می‌شود(28، 17، 11). در سال 2012 Atul و همکارانش خواص ضد سرطانی عصاره آلوئه ورا را بر رده سلولیB16F10(سلول‌های ملانوم) بررسی کردند. نتایج نشان داد عصاره آلوئه ورا، تکثیر سلول‌های سرطانی ملانوم را بیش از50٪ کاهش می-دهد(10). در سال2007 Kambizi و همکاران اثر *Aloe ferox* را بر روی هرپس سیمپلکس تیپ یک در رده سلولی Vero بررسی کردند. نتایج بررسی نشان داد عصاره آلوئه ورا، اثر مهارکنندگی بر جذب و همانندسازی ویروس هرپس سیمپلکس دارد(20). سلول-های Hela از سلول‌های اپی‌تلیالی سرطان دهانه رحم به دست آمده است. از ویژگی سلول‌های Hela می توان به

تکثیر نامحدود، تحمل پاساژهای طولانی اشاره نمود. در این مطالعه اثر غلظت های مختلف عصاره گیاه آلوئه ورا بر تکثیر سلول‌های سرطانی دهانه رحم (Hela) مورد ارزیابی قرار گرفته است.

## مواد و روش‌ها

### تهیه عصاره گیاه

پس از جمع‌آوری گیاه و تأیید گونه توسط کارشناسان موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، عصاره‌گیری به روش خیساندن(ماسراسیون) انجام شد(29). بدین ترتیب که ابتدا برشی در برگ‌های گیاه(50-40 سانتی‌متر طول و 8-7 سانتی‌متر عرض) داده و12/54 گرم ژل درون برگ‌ها جمع‌آوری و یک لیتر متانول(96٪) به آن افزوده شد. پس از حل شدن کامل ژل در متانول در شرایط خلاء تقطیر صورت و درنهایت 1/92 گرم ماده رزینی جمع‌آوری گردید. 0/21گرم از عصاره در10میلی لیتر محیط Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM,Gibco) حل و پس از سانتریفوژ، صاف و از عصاره حاصل با غلظت 21 mg/ml برای غلظت سازی در مراحل بعد استفاده شد.

### کشت سلول

در این تحقیق سلول Hela از انستیتو پاستور ایران تهیه گردید. از محیط DMEM حاوی 10٪ سرم جنین گاو(Fetal Bovin Serum (FBS, Biosera و آنتی بیوتیک‌ها(پنی سیلین 100ug/ml و استرپتومایسین 100ug/ml)، برای ممانعت از بروز آلودگی، برای رشد و تکثیر سلول استفاده شد. پس از کشت، گرماگذاری سلول‌ها در دمای 37 درجه سانتی‌گراد در حضور 5% دی اکسید کربن انجام گرفت(31).

### بررسی میزان سمیت عصاره گیاهی آلوئه ورا بر سلول‌های Hela به روش تریپان بلو

پس از رشد تک لایه مناسب از سلول‌های Hela در فلاسک کشت و خروج محیط رویی، با 5 میلی لیتر بافر فسفات(pH=7) 2 بار شستشو و سپس برای جداسازی سلول‌ها از کف فلاسک، 1میلی‌لیتر تریپسین به آن اضافه گردید، سپس 2 میلی‌لیتر محیط DMEM به سوسپانسیون سلولی اضافه و پس از مخلوط شدن، شمارش سلولی سوسپانسیون با رنگ آمیزی تریپان بلو(به نسبت 1:1) با استفاده از لام نئوبار انجام و 7500 سلول به فلاسک 24 خانه‌ای منتقل گردید. 1000 میکرولیتر محیط کشت DMEM حاوی 10 درصد سرم گاو به هر چاهک اضافه و در 37درجه سانتی‌گراد همراه با 5% $CO_2$ گرماگذاری شد. سلول‌ها پس72–48 ساعت در کف فلاسک مونولایر کاملی تشکیل دادند. در مرحله بعد محیط کشت هر چاهک خارج و با بافر فسفات استریل شستشو شدند. غلظت‌های mg/ml 21، 20، 19، 18،17،16 از عصاره گیاهی به هر ردیف از میکرو پلیت 24خانه‌ای اضافه و برای هر ردیف یک کنترل با محیط کشت DMEM حاوی 1% FBS فاقد عصاره معین شد. پلیت حاوی سلول‌های مجاور شده با عصاره در زمان‌های 24، 48 و 72 ساعت مورد بررسی قرار گرفت(32، 8). بدین ترتیب که محیط کشت 1 چاهک از هر ردیف، در مدت زمان‌های ذکرشده تخلیه و چاهک با 5میلی‌لیتر PBS شستشو و با اضافه نمودن یک میلی‌لیتر تریپسین به هر چاهک سلول‌ها از بستر رشد جدا شدند. سلول‌های هر چاهک پیپتاژ و به داخل میکروتیوب منتقل و به نسبت به 1 محلول تریپان بلو Merck) اضافه و شمارش سلول‌ها صورت گرفت(30). با استفاده از فرمول زیر میزان سمیت برای غلظت‌های مختلف عصاره تعیین شد:

$$\text{درصد سلول‌های زنده} = \frac{\text{تعدادسلول های زنده}}{\text{تعدادسلول مرده+تعدادسلول های زنده}} \times 100$$

### بررسی میزان سمیت عصاره گیاه آلوئه ورا بر سلول‌های Hela به روش MTT

این روش بر اساس احیا و شکسته شدن کریستال‌های زردرنگ تترازولویم( 3- (4,5-dimethyl thiazol-2-$y_1$) - 2,5 - diphenyl tetrazolium bromide) با آنزیم سوکسینات دهیدروژناز میتوکندری سلول‌های زنده که

معمولاً برای بررسی زنده‌بودن سلول‌ها در شرایط invitro به کار می‌رود، می‌باشد. در این روش پس از احیاء کریستال‌های نمک تترازولیوم، کریستال‌های بنفش‌رنگ فورمازان ایجاد می‌شود. با استفاده از DMSO می‌توان آن‌ها را حل کرده و کمپلکس رنگی بنفش‌رنگی ایجاد کرد. کمپلکس فوق قابل رنگ سنجی است. در این مرحله نیز پس از آماده سازی تک لایه مناسب سلولی و شمارش سلول‌ها، تعداد 7500 سلول در 200 میکرولیتر محیط DMEM حاوی 10٪ سرم در چاهک‌های یک پلیت 96 خانه‌ای کشت داده شد. پس از گذشت 48 ساعت ازگرماگذاری، با توجه به نتایج به‌دست آمده از مرحله تریپان بلو از بین غلظت‌های مورد آزمون، غلظت-های 19،20،21mg/ml که اثر سایتوتوکسیک بهتری داشتند در این مرحله نیز مورد ارزیابی قرار گرفتند، غلظت‌های مورد نظر از عصاره تهیه شده همراه با محیط دارای 2٪ سرم به سلول‌های هر چاهک و به چاهک‌های کنترل، محیط دارای سرم و فاقد عصاره اضافه شد. پس از 72 ساعت، شستشو با PBS انجام وبه سلول‌های هر چاهک 20 میکرولیتر محلول(Merck) MTT و 80 میکرولیتر محیط DMEM اضافه گردید. پس از 4 ساعت گرماگذاری در دمای 37 درجه سانتی‌گراد، محیط رویی به آرامی خارج و به هر چاهک 100 میکرولیتر DMSO اضافه و محتویات چاهک‌ها به مدت 15 ثانیه به آرامی تکان داده شدند. میزان جذب هر چاهک در طول موج 540 نانومتر توسط دستگاه ELISA Reader ثبت گردید(32، 27).

$$\% \text{ Cytotoxcicity} = \frac{a-b}{d-b} \times 100$$

a = میانگین OD چاهک‌های تست

b= Blank میانگین OD چاهک‌های

d=میانگین ODچاهک‌های کنترل

**تحلیل آماری**

نتایج حاصل به صورت میانگین ± خطای استاندارد بیان و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار Graphpad Prism (ورژن 6/01) انجام و سطح P<0/05 اختلاف معنی‌داری در نظر گرفته شد.

## نتایج

نتایج مرحله تریپان بلو نشان داد که غلظت mg/ml 20 عصاره آلوئه ورا باعث کاهش چشمگیری در تکثیر سلول‌های Hela می‌شود(شکل1). علی رغم بیشتر بودن اثر سایتوپاتیک غلظت mg/ml 21عصاره، در مقایسه با سایر غلظت های مورد بررسی، غلظت mg/ml 20 به دلیل مهار تکثیر در 50٪ سلول‌ها CytotoxicConcentration(CC50) در مقایسه با غلظت کنترل، به‌عنوان غلظت موثر در مهار قابل توجه رشد سلول‌های Hela به دست آمد. هم‌چنین، نتایج به‌دست آمده از بررسی میزان سمیت عصاره *Aloe vera* بر سلول‌های Hela با روش MTT نیز، نتایج مرحله تریپان بلو را تأیید نمود(جدول 1 و 2).

## بحث و نتیجه گیری

گیاهان دارویی قدمت طولانی در طب سنتی بسیاری از کشورها دارند و به علت اثر مناسب درمانی و طبیعی بودن بسیاری از ترکیبات مؤثر آن‌ها، مورد توجه محققان قرارگرفته‌اند(19). در این مطالعه ابتدا اثر غلظت‌های مختلف عصاره آلوئه ورا بر رده سلولی Hela با روش تریپان بلو و روش MTT ارزیابی و نتایج حاصل از هر 2 مرحله نشان داد که غلظت 20mg/mlاز عصاره آلوئه ورا، می‌تواند تکثیر سلول‌های Hela را به‌صورت چشمگیری کاهش دهد(CC50). صبوری قناد و همکارانش(1392) اثر عصاره ریشه گیاه شیرین بیان را بر ویروس هرپس سیمپلکس بررسی کردندکه نتایج این مطالعه نشان داد غلظت mg/ml 200از عصاره شیرین‌بیان اثر مهاری قابل توجهی بر تکثیر سلول‌های Hela دارد(5).

**جدول 1- اثر عصاره آلوئه ورا بر روی میانگین تعداد و درصد بقا سلول های Hela به روش تریپان بلو در مقایسه با کنترل**

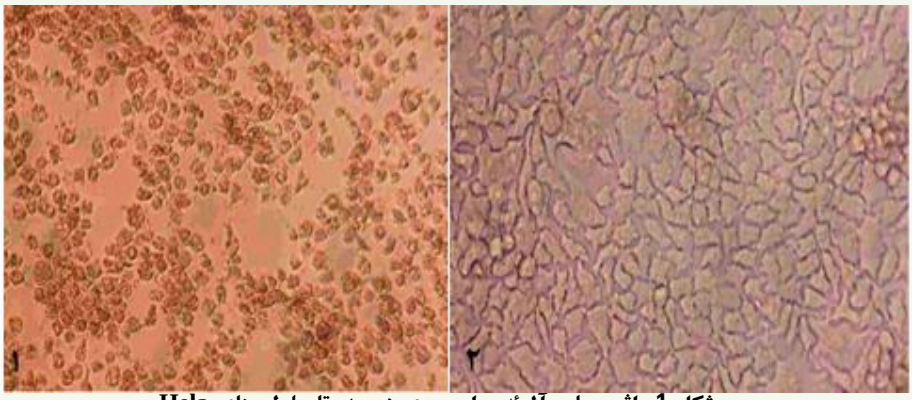
| غلظت عصاره( mg/ml) | 24ساعت | 48ساعت | 72 ساعت | میانگین و انحراف معیار |
|---|---|---|---|---|
| صفر | %96 | 96 | %94 | 96/00±1/000 [a] |
| 21(mg/ml ) | %75 | %60 | %48 | 44/00±4/000 [f] |
| 20(mg/ml ) | %82 | %68 | %53 | 54/00±3/000 [e] |
| 19(mg/ml ) | %91 | %88 | %61 | 61/50±3/500 [d] |
| 18(mg/ml ) | %95 | %94 | %76 | 71/50±0/50 [c] |
| 17(mg/ml ) | %96 | %96 | %82 | 79/00±3/0 [b] |
| 16(mg/ml ) | % 97 | %97 | %89 | 90/0±1/500[a] |

**e**=p<0/05**

جدول 2- **اثر عصاره آلوئه ورا بر روی میانگین تعداد و درصد بقا سلول های Hela به روش MTTدر مقایسه با کنترل**

| غلظتعصاره( mg/ml) | 72ساعت | میانگین و انحراف معیار |
|---|---|---|
| صفر | %96 | 94/50±1/ 500[a] |
| 19(mg/ml ) | ٪68 | 63/00±2/000[a] |
| 20(mg/ml ) | %53 | 52/00±1/000[b] |
| 21(mg/ml ) | ٪40 | 39/50±0/5000[c] |

**b**=P<0 /01




**شکل 1- اثر عصاره آلوئه ورا بر روی درصد بقا سلول های Hela**

عصاره آلوئه ورا باعث کاهش چشمگیری در تکثیر و اثر سایتوپاتیک عصاره در سلول‌های Hela می‌شود1)تیمار 20mg/ml، 2)کنترل

در مطالعه ای که رضوی و همکارانش انجام دادند نیز مشخص شد غلظت 3/05 میلی‌گرم از عصاره الکلی گیاه سیر باعث مرگ 50٪ از سلول های Hela می‌شود(3). نیز رحیمی فرد و همکارانش(1388) اثرات عصاره و اسانس آویشن باغی، آویشن شیرازی و میخک را بر رده سلول Hela بررسی کردند که نتایج نشان داد غلظت 1/5ppm عصاره میخک، غلظت0/375 ppm عصاره آویشن باغی و غلظت 0/375 ppmاز عصاره آویشن شیرازی در مقایسه با کنترل اثر مهاری چشمگیری بر تکثیر سلول‌های Hela داشته است(2). سبحانی و همکارانش(1380) اثر عصاره اسفند را بر رده سلولی Hela بررسی کردند که در این مطالعه غلظت µg/ml 74/53 از عصاره اسفند به‌عنوان $CC_{50}$ تعیین گردید(4). نتایج مطالعه حبیب زاده و همکارانش نیز نشان داد غلظت

0/625 میلی‌گرم از عصاره گیاه مورد در مقایسه با کنترل، اثر مهاری قابل توجهی بر سلول‌های Hela دارد(1). Hasmah و همکارانش(2010) اثر سمیت عصاره بلوط (*Quercus infectoria*) را بر روی دو رده از سلول‌های سرطانی از جمله Hela و Caov-3(سلول سرطانی تخمدان) ارزیابی کردند، در این مطالعه مشخص شد غلظت 2/5 mg/ml از عصاره بلوط کاهش چشمگیری در رشد سلول‌های Hela وCaov دارد(16). در سال 2012 Atul، و همکارانش خواص ضد سرطانی عصاره آلوئه ورا را بر رده سلولیB16F10(سلول‌های ملانوم) بررسی کردند، نتایج نشان داد که، غلظت 50 mg/ml از عصاره آلوئه ورا ،تکثیر سلول‌های سرطانی ملانوم را بیش از 50٪ کاهش می‌دهد، این نتایج تایید کننده اثر ضد سرطانی عصاره آلوئه ورا می‌باشد(10). تفاوت غلظت عصاره مورد استفاده این مطالعه، با مطالعه حاضر را می توان، به تفاوت حساسیت سلول‌های ملانوم در مقایسه با سلول‌های Hela و به حساسیت متفاوت رده‌های سلولی نسبت به غلظت عصاره نسبت داد. Kaiyuan و همکارانش در سال 2010 اثر Emodin به‌دست آمده ازآلوئه ورا را بر تکثیر سلول‌های سرطان کلون بررسی و نشان دادند که 0/37mMاز Emodin می‌تواند تکثیر سلول‌های سرطان کلون را مهار نمایید(19). Pankaj و همکارانش(2013) نشان دادند که ساکارید های موجود در عصاره آلوئه ورا عامل مهار اتصال بنزوپیرین به سلول‌های کبد در موش می‌شود و بدین ترتیب از تکثیر سلول‌های سرطانی کبد موش ممانعت می‌کند(24). در مطالعه‌ای که در سال 2000 توسط Lee و همکارانش انجام شد، مشخص گردید که di(2- ethylhexyl) phthalate (DPHE)،موجود در ترکیبات عصاره آلوئه ورا، تکثیر سلو ل‌های سرطانی خون(لوکمی) را مهار می-کند. خواص ضد سرطانی عصاره آلوئه ورا این مطالعه را نیز می‌توان به حضور این مواد در ترکیبات موثره عصاره نسبت داد(21،25). با توجه به پیشینه مصرف دارویی آلوئه ورا و هم‌چنین وجود ترکیبات مختلف و خواص متعدد و متنوعی که در عصاره آلوئه ورا وجود دارد(27، 26) می‌توان این گیاه را به عنوان یک کاندید دارویی در نظر گرفت و به جهت دستیابی به یک داروی موثر لازم است مطالعات کامل‌تری در خصوص بررسی اثر ترکیبات مختلف این عصاره بر پاتوژن‌های انسانی انجام گیرد.

## تشکر و قدر دانی

مطالعه فوق با همکاری مرکز تحقیقات ژنومیک پزشکی دانشگاه علوم پزشکی آزاد اسلامی واحد تهران و موسسه جنگل‌ها و مراتع کشور امکان پذیر شد که بدین وسیله از خدمات ارائه شده از سوی مراکز فوق قدردانی می‌گردد.

## منابع

**1-**حبیب زاده، خامنه، س.، نعمتی، ف.، شیروی ،ع. 1392. بررسی اثر سمیت سلولی عصاره گیاه *Myrtus communis*بر رده سلول‌های سرطانی Hela و MCF7. فصلنامه علمی پژوهشی زیست شناسی جانوری. دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان. سال ششم. شماره دوم.زمستان 92. 28-21.

**2-**رحیمی فرد، ن. 1388. بررسی اثرات عصاره و اسانس آویشن‌باغی(*Thymus vulgaris*) آویشن شیرازی( *Zataria multiflora*) و میخک(*Eugenia caryophilata* ) بر روی سلول‌های Hep2، Vero و Hela در محیط کشت سلولی با روشMTT ، فصلنامه گیاهان دارویی. سال هشتم. دوره دوم. شماره مسلسل سی ام. 156-152.

**3-**رضوی، م.، عزیزالهی، ب.، رحیمی،پ. 1385. بررسی اثر عصاره سیر برروی ویروس هرپس سیمپلکس با استفاده از کشت سلول. مجله دانشکده دندانپزشکی. دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی. دوره 24. شماره 1. 93-86.

**4-**سبحانی، ا.، ابراهیمی، ا.، هورمند، م.، روشن دل، ن.، محمودیان، م. 1380. بررسی سمیت سلولی عصاره دانه اسفند و ارتباط آن با آلکالوئیدهای بتا –کاربولینی موجود در عصاره. مجله دانشگاه علوم پزشکی ایران. سال هشتم. شماره 26 . 438-432.

**5-**صبوری قناد، م.، محمدی، آ.، صفی اللهی، س.، فردمال، ج. 1392. بررسی اثر ضد ویروسی عصاره متانولی ریشه گیاه شیرین بیان بر روی هرپس سیمپلکس نوع یک با استفاده از روش کشت سلولی، مجله علوم پزشکی دانشگاه همدان. دوره20. شماره2. 325.

**6-**فراهانی، م. 1392. ارزیابی اثر ضدویروسی گیاه خرزهره بر1 -HSV در شرایط آزمایشگاهی.مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد.دوره 21. شماره 2. 196-189.

**7-**فروزنده، ص.، نقش، ن.، سلیمی، س.، جهان تیغ، د. 1393. اثر سمیت عصاره هیدروالکلی کندر بر سلول‌های کارسینومای اپی تلیال دهانه رحم انسان. مجله علوم آزمایشگاهی. دوره هشتم. شماره 1. 13-7.

**8-** منوری، م.، همکار، ر.، نوروزبابایی، ز.، ادیبی، ل.، نوروزی، م.، ضیایی، ع. 1386. بررسی اثرات ضد ویروسی بیست و پنج گونه از تیره های مختلف گیاهان دارویی ایران. مجله میکروب شناسی پزشکی ایران. سال1. شماره 2. 59-49.

**9.**Astani, A., Reichling, J., Schnitzler, P. (2011). Screening for antiviral activities of isolated compounds from essential oils. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 253643;1-8.

**10.**Atul, N., Kumar, Chand, S. C., Bhattacharjee, Ch., Debnath, S. (2012). Cytotoxicity study of plant *Aloe vera* Linn. Chronicles of Young Scientists, 3(3); 233-235.

**11.**Beger, R.D**.** (2013). Review of applications of metabolomics in cancer. Metabolites, 3; 552-574.

**12.**Che, C. T. (1991). Plants as a source of apotential anti viralagents. Economic and Medicinal Plant Research Academic Press.London, (5); 167 – 251.

**13.**DeVita,V,T., Rosenberg,S,A. (2012). Two hundred years of cancer research. N. Engl. J. Med., 366; 2207-14.

**14.** El-Shemy, H,A., Aboul-Soud, M.A., Nassr-Allah, A.A., Aboul-Enein, K.M., Kabash, A., Yagi, A. (2010). Antitumor properties and modulation of antioxidant enzymes activity by *Aloe vera* leaf active principles isolated via supercritical carbon dioxide extraction. Curr. Med. Chem., 17(2); 129-38.

**15.**Gupta, V.K., Malhotra, S. (2012). Pharmacological attribute of *Aloe vera*: revalidation through experimental and clinical studies. Ayu, 33(2); 193–196.

**16.**Hasmah, A., Nurazila, Z., Chow, C,Y., Rina, R., Rafiquzzaman, M. (2010). Cytotoxic effects of quercus infectoria extracts towards cervical (Hela) and ovarian (Caov-3) cancer cell lines. Health and the Environment Journal, 1; 17-23.

**17.**Hudson, J.B., Lee, M.K., Rasoanaivo, P. (2000). Ntiviral activity in plants endemic to Madagascar . Pharmaceutical Biology, 38(1); 36-39.

**18.**Josias, H. (2010). Hamman composition and applications of *Aloe vera* leaf gel. Molecules, 13; 1599–616.

**19.**Kai-yuan, A. L., Yih-huei, U. (2010). *Aloe emodin*, an anthraquinone, in vitro inhibits proliferation and induces apoptosis in human colon carcinoma cells. Oncology Letters, 1; 541-547.

**20.**Kmbizi, L., Goosen, B.B., Taylor, M.B., Afoloyan, A.J**.** (2007). Anti-viral effects of aqueous extracts of *Aloe ferox* and *Withania somniferaon* herpes simplex virus type 1 in cellculture. S. Afr. J. Sci., 103 (9-10); 359.

**21.**Langmead, L., Makins, R.J., Rampton, D.S. (2004). Aliment Pharmacol Ther, 19(2); 521-527.

**22.**Lee, K.H., Kim, J.H., Lim, D,S., Kim, C.H. (2000). Anti-leukaemic and anti-mutagenic effects of di(2-ethylhexyl)phthalate isolated from *Aloe vera* Linne. J. Pharm. Pharmacol, 52(5); 593-8.

**23.**Miller, G., Lucinda, A. (1988). Herbal medicinals and clinician's guide. USA Pharmaceutical Products Press, 158–9.

**24.**Pankaj, K. (2013). Therapeutic and medicinal uses of *Aloe vera*. A Review Pharmacology & Pharmacy, 9(1-2); 599-601.

**25.** Saeed, M.A., Ishtiaq ,A., .Yaqub, U., Akbar, SH., Amranwaheed, M., Saleem, N. (2003). *Aloe vera*: A plant of vital signinficance**.** Quarterly Science Vision, 1-13.

**26.**Sharrif Moghaddasi, M.(2010). *Aloe vera* chemical and useges. Advances in Environmental Biology, 4(3); 464-468.

**27.**Stockert, J. C., Blázquez-Castro, A., Magdalena, C., Horobin ,R., Villanueva, W. (2012). MTT assay for cell viability: Intracellular localization of the formazan product is in lipid droplets. 114(8); 785–796.

**28.**Surjushe, A., Vasani, R., Saple, D.G. (2008).

*Aloe vera*: A short reviwe.Journal List ,Indian J Dermatol, 53(4); 163-166.

**29.**Tiwari, P., Kumar, B., Kaur, M., Kaur, G., Kaur, H. (2011). Phytochemical screening and extraction: a review. International Pharmaceutica Sciencia, 1(1); 98-108.

**30.**Tran, S.L., Puhar, A., Ngo-Camus, M., Ramarao, N. (2011). Trypan blue dye enters viable cells incubated with the pore-forming toxin hlyii of *Bacillus cereus*. PLoS ONE, 6(9); 1.

**31.**Yuan, R. L. (2000). Traditional chines medicine: An approach to scientific proof and clinical validation. Pharmacology & Therapeutics, 191 - 8.

**32.**Zandi, K., Abbas Zadeh, M., Sartavi, K., Rastian, Z. (2007). Antiviral activity of *Aloe vera* against herpe simplex virus type 2: An in vitro study**.** African Journal of Biotechnology, 6 (15); 1770-1773.