

## تأثیر نانومولسیون اسانس گیاه زیره سیاه بر سلول‌های سرطانی رده TUBO و سلول‌های نرمال L929 و سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن

نیلوفر خاتمیان<sup>۱</sup>، مسعود همایونی تبریزی<sup>۲</sup>، پوران اردلان<sup>۳</sup>

تاریخ دریافت ۱۳۹۷/۱۱/۲۴ تاریخ پذیرش ۱۳۹۸/۰۳/۰۵

### چکیده

**پیش‌زمینه و هدف:** رادیکال‌های آزاد یکی از عوامل ایجاد سرطان هستند. در صورت ابتلا، برخی از سلول‌های بدن بدون توقف به بافت‌های اطراف پیشروی می‌کنند. مصرف آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی، نقش مثبتی در حفظ وضعیت سلامت بدن ایفا می‌کند. بیماری سرطان و وجود رادیکال‌های آزاد در بدن، پژوهش‌ها را به سمت کشف ماده‌ای موثرتر برای از بین بردن آن‌ها سوق می‌دهد. هدف از این پژوهش بررسی اثر نانومولسیون اسانس زیره سیاه بر روی سمیت سلولی و حذف رادیکال‌های آزاد می‌باشد.

**مواد و روش‌ها:** در این پژوهش فعالیت آنتی‌اکسیدانی نانومولسیون زیره سیاه با روش‌های DPPH، ABTS در غلظت‌های متفاوت سنجش شد. همچنین سمیت سلولی به روش MTT بر روی سلول‌های سرطانی پستان (TUBO) و سلول‌های نرمال (L929) در غلظت‌های متفاوت از نانومولسیون بررسی گردید.

**یافته‌ها:** نتیجه آزمایش‌های آنتی‌اکسیدانی، DPPH و ABTS با  $IC_{50}$  گزارش شده  $125$  و  $3125$   $\mu\text{g/mL}$  نشان دهنده خاصیت آنتی‌اکسیدانی نانومولسیون زیره سیاه می‌باشد که با افزایش غلظت، حذف رادیکال‌های آزاد نیز افزایش پیدا کرد.  $IC_{50}$  محاسبه شده در تست MTT بر روی سلول سرطانی پستان حدوداً  $25$   $\mu\text{g/mL}$  می‌باشد که نشان دهنده فعالیت ضدسرطانی نانومولسیون است اما نانومولسیون در غلظت‌های پایین تأثیر قابل توجهی بر روی سلول‌های نرمال نداشته است. **بحث و نتیجه گیری:** نتایج حاکی از آن است که نانومولسیون اسانس زیره سیاه توانایی مهار تکثیر سلول‌های سرطانی و نیز مهار رادیکال‌های آزاد را دارا است. **کلمات کلیدی:** نانومولسیون، آنتی‌اکسیدانی، سرطان، زیره سیاه

مجله پزشکی ارومیه، دوره سی‌ام، شماره چهارم، ص ۳۲۱-۳۱۵، تیر ۱۳۹۸

آدرس مکاتبه: گروه زیست‌شناسی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران، تلفن: ۰۵۱-۳۸۴۳۵۰۰۰

Email: mhomayouni6@gmail.com

### مقدمه

نانومولسیون است که برای افزایش حلالیت و دسترسی زیستی داروهای لیپوفیلیک استفاده می‌گردد (۳). تحقیقات نشان می‌دهد که نانومولسیون اسانس‌های گیاهی خواص آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی جهت جذب رادیکال‌های آزاد نشان می‌دهند. استرس اکسیداتیو ناشی از عدم تعادل در وضعیت ردوکس بدن است که طی آن افزایش رادیکال‌های آزاد بدن منجر به آسیب‌های بافتی می‌گردد. از مهم‌ترین رادیکال‌های آزاد گونه‌های فعال اکسیژن است که از طریق مسیرهای مختلف متابولیسمی مانند متابولیسم هوازی در زنجیره تنفسی میتوکندری تولید می‌شود و نقش کلیدی در بروز سرطان دارد (۴). گونه‌های فعال اکسیژن از طریق مسیرهای مختلف سیگنالینگ و هدایت پیام در بدن می‌توانند فرآیندهای رشد و تکثیر

گیاهان و ادویه‌ها منابع ارزشمندی هستند که روزانه در زندگی به عنوان مکمل‌های غذایی، طعم دهنده‌ها، دارو و رنگ‌ها یا به طور مستقیم در پزشکی مورد استفاده قرار می‌گیرند. استفاده از گیاهان دارای تاریخچه طولانی در سراسر جهان می‌باشد و در طول قرن‌ها، بشر روش‌های بهتری را برای استخراج روغن‌ها از گیاهان توسعه داده است. روغن‌ها و اسانس‌ها مخلوط پیچیده‌ای از مواد فرار هستند که معمولاً در غلظت‌های پایین وجود دارند (۱، ۲). طراحی فرمولاسیون مؤثر برای داروهای دارای یک چالش بزرگ بوده است زیرا اثر دارو می‌تواند شدیداً محدود به ناپایداری یا حلالیت ناچیز در حامل باشد. یکی از امید بخش‌ترین تکنولوژی‌ها، سیستم انتقال دارویی

<sup>۱</sup> گروه زیست‌شناسی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران

<sup>۲</sup> گروه زیست‌شناسی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران (نویسنده مسئول)

<sup>۳</sup> گروه شیمی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران

بنفش رنگ و نامحلول فورمازان در آب است. به منظور بررسی این تست، سلول‌های سرطانی TUBO و نرمال L-929 در هر یک از چاهک‌های یک پلیت ۹۶ خانه‌ای کشت داده شد و پس از رسیدن به پراکنش سطحی ۸۰ درصد، محیط رویی با محیط جدید حاوی غلظت‌های مختلف نانوامولسیون (۶/۲، ۱۲/۵، ۲۵ و ۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) جایگزین گردید. بعد از گذشت زمان مورد نظر، پلیت‌ها از انکوباتور خارج و به هر چاهک ۲۵ میکرولیتر از محلول MTT (تهیه شده از شرکت سیگما) اضافه گردید. سپس پلیت‌ها مجدداً به انکوباتور بازگردانده و به مدت سه ساعت در دمای ۳۷ درجه نگه داشته شد. پس از گذشت ۴۸ ساعت از تیمار، مقدار فورمازان تشکیل شده پس از ۴ ساعت از افزودن MTT، در ۵۷۰ نانومتر با استفاده از دستگاه الیزا اندازه‌گیری شد.

### تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی با روش حذف رادیکال‌های

#### آزاد DPPH:

DPPH رادیکال آزاد ناپایدار می‌باشد که برای رسیدن به حالت پایدار، یک الکترون یا رادیکال هیدروژن دریافت می‌کند. به دلیل وجود الکترون منفرد در ساختار DPPH، این رادیکال در طول موج ۵۱۷ نانومتر دارای جذب است. زمانی که در حضور ترکیب آنتی‌اکسیدانی قرار گیرد که دارای فعالیت حذف رادیکال آزاد باشد، رنگ آن از بین رفته و جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر کاهش می‌یابد. این امر نشانگر فعالیت آنتی‌اکسیدانی ماده مورد نظر خواهد بود (۱۵، ۱۶). جهت ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی نانوامولسیون، ابتدا محلول ۰/۱ میلی مولار DPPH (تهیه شده از شرکت سیگما) را در اتانول ۹۵ درصد حل کرده و محلول آماده شده با نسبت یک به یک با نانوامولسیون مخلوط گردید. سپس محلول در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه قرار گرفت و در نهایت جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. در این تست از گلوکاتایون به عنوان یک آنتی‌اکسیدان استاندارد استفاده شد. درصد احیا و یا مهار DPPH توسط ترکیب آنتی‌اکسیدان از رابطه زیر قابل محاسبه می‌باشد:

$$\% \text{ DPPH} = \frac{A_{\text{DPPH}} - A_{\text{Sample}}}{A_{\text{DPPH}}} \times 100$$

### ارزیابی قابلیت خنثی سازی رادیکال‌های آزاد با آزمون

#### ABTS:

به منظور تهیه محلول رادیکال ABTS ابتدا ۲ میلی‌لیتر ABTS (۷ میلی مولار) را با ۱ میلی‌لیتر پتاسیم پرسولفات (۲/۴۵ میلی مولار) مخلوط کرده و به مدت ۱۶ ساعت در تاریکی و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس به محلول حاصل، آب اضافه کرده تا جذب در طول موج ۷۴۳ نانومتر به ۰/۷۶۶ برسد. غلظت محلول رقیق شده حدود ۰/۵۱۴ میلی مولار می‌باشد. سپس

سلولی را تحت کنترل خود درآوردند و با تحریک رشد بی‌رویه سلول‌ها سبب ایجاد تومور و انواع سرطان گردند (۵-۷). محققان متعددی در حال حاضر به بررسی آسیب‌آکسیداتیو توسط رادیکال‌ها بر روی DNA، پروتئین، لیپید و دیگر اجزاء سلول می‌پردازند (۸). استرس‌آکسیداتیو رادیکال‌های آزاد در انواع بیماری‌های انسانی دیگر نظیر آترواسکلروز، دیابت، فشار خون، التهاب، سرطان و ایدز دخیل است (۹). یکی از روش‌های مدرن درمان سرطان، شیمی‌درمانی است. بعضی از انواع سرطان، به دلیل پیچیدگی آن‌ها، نیاز به ترکیبی از درمان‌ها دارند که اغلب همراه با روش‌های درمانی، عوارض بسیار زیادی مانند خستگی، تهوع و استفراغ و غیره است. هدف نهایی دانشمندان، افزایش اثربخشی درمان‌های موجود، از بین بردن عوارض جانبی و بهبود کیفیت زندگی بیمار است (۱۰). میوه گیاه زیره سیاه دارای اثرات ضد سرطان، ضد اسپاسم، ضد باکتری و نیروبخش است. ترکیبات شیمیایی گیاه زیره شامل کارون، لیمونن، کارونول، دی‌هیدروکارونول، تیمول، گلوکوزید و فلاونوئید و همچنین میوه این گیاه شامل ترینوئید و آستروئید می‌باشد (۱۱، ۱۲). با توجه به اثرات مخرب و جانبی شیمی‌درمانی استفاده از مواد طبیعی در درمان سرطان بسیار حائز اهمیت است. به همین دلیل در این پژوهش اثر ضد سرطان و آنتی‌اکسیدانی نانوامولسیون اسانس زیره سیاه مورد مطالعه قرار گرفته است.

### مواد و روش‌ها

#### تهیه نانوامولسیون:

در تهیه نانوامولسیون اسانس زیره از اسانس زیره، توئین ۲۰ و توئین ۸۰ به عنوان امولسیون‌فایر، اتیلن‌گلیکول به عنوان حلال کمکی و آب مقطر استفاده شد. برای تهیه نانوامولسیون پایدار نسبت امولسیون‌فایر به اسانس از ۰/۲ تا ۱ تغییر داده شد و بر طبق نتایج حاصل در نسبت ۰/۴ پایدارترین امولسیون حاصل شد. کلیه نانوامولسیون‌ها در حضور امواج ماوراء صوت یا قدرت ۲۰۰ وات و به مدت ۱۵ دقیقه تهیه شد (۱۳، ۱۴).

#### کشت سلول:

سلول‌های سرطانی TUBO و L-929 از پژوهشکده بوعلی تهیه شده است. سلول‌های TUBO در محیط DMEM (تهیه شده از شرکت سیگما) با ۱۰٪ FBS و ۱٪ آنتی‌بیوتیک و نیز سلول‌های L929 در محیط RPMI با ۵٪ FBS و ۱٪ آنتی‌بیوتیک کشت داده شدند. در نهایت هر دو سلول در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد، ۵٪ CO<sub>2</sub> و رطوبت ۹۵٪ نگهداری شدند.

#### تست MTT:

تست MTT، کمی و رنگی می‌باشد که اساس آن بر پایه احیاء MTT آزمون نمک زرد رنگ محلول در آب و تشکیل کریستال‌های

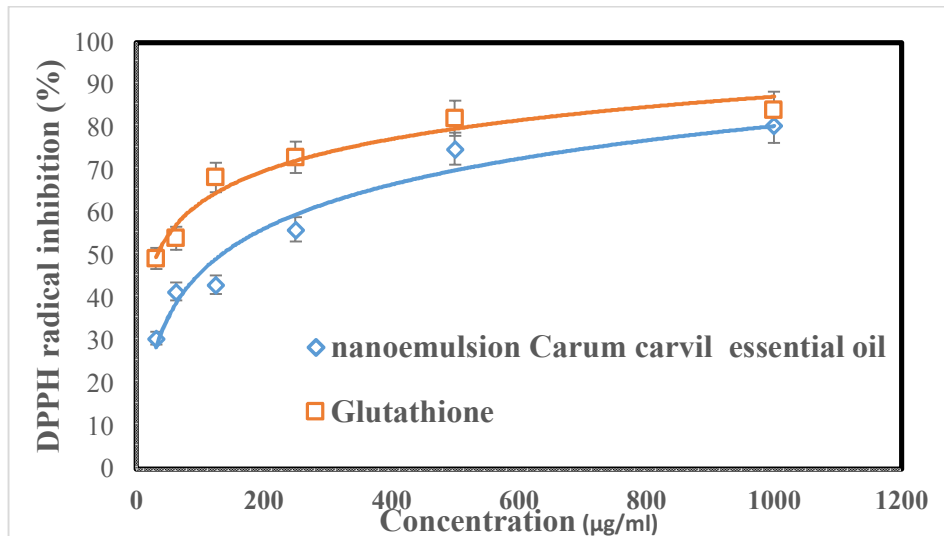
### بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی نانوامولسیون:

نتایج به دست آمده از تست‌های آنتی‌اکسیدانی (DPPH و ABTS) حاکی از آن است که نانوامولسیون زیره سیاه دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی قابل‌توجهی است. طبق شکل ۱ (الف و ب) خاصیت آنتی‌اکسیدانی نانوامولسیون وابسته به غلظت است، بدین معنا است که با افزایش غلظت قابلیت حذف رادیکال‌های آزاد نیز افزایش پیدا کرده است.  $IC_{50}$  محاسبه شده در تست‌های DPPH و ABTS به ترتیب ۱۲۵ و ۳۱/۲۵ میکرو گرم بر میلی‌لیتر می‌باشد.

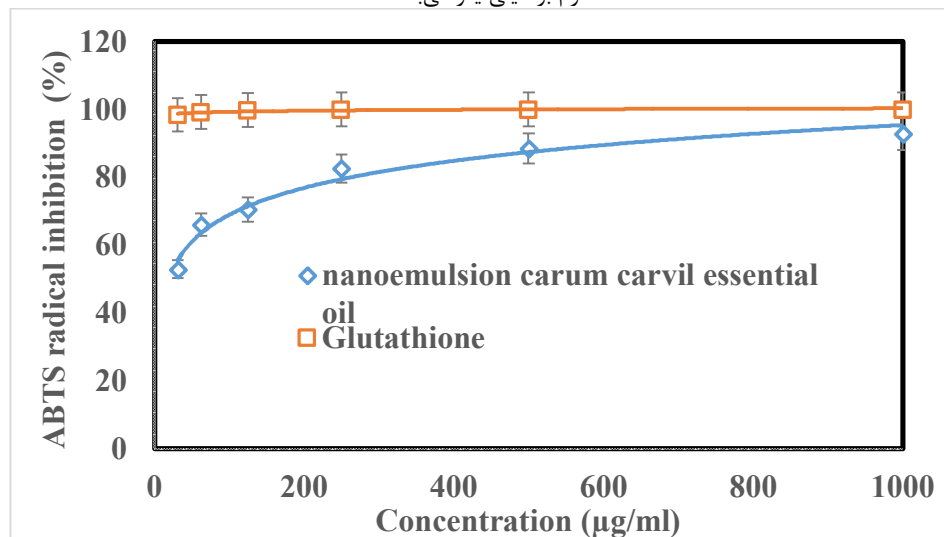
۱ میلی‌لیتر از محلول رقیق شده رادیکال ABTS (تهیه شده از شرکت سیگما) را با ۱۰۰ میکرولیتر محلول نانوامولسیون مخلوط کرده و جذب پس از ۳۰ دقیقه در طول موج ۴۲۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. این آزمون با کمی تغییرات براساس روش آرنو و همکاران انجام شد (۱۷). فعالیت آنتی‌اکسیدانی از رابطه‌ی ذیل محاسبه می‌گردد.

$$\text{درصد جذب رادیکال} \times 100 = \frac{\text{جذب واکنش-جذب کنترل}}{\text{کنترل جذب}}$$

### یافته‌ها



شکل ۱ (الف): فعالیت آنتی‌اکسیدانی نانوامولسیون روغن زیره سیاه توسط تست DPPH.  $IC_{50}$  محاسبه شده در این تست ۱۲۵ میکرو گرم بر میلی‌لیتر می‌باشد.

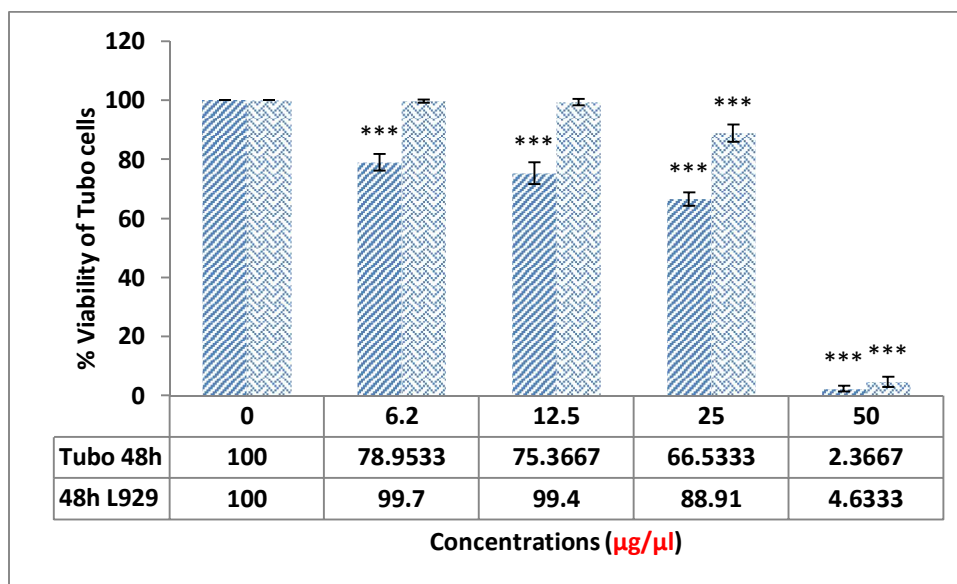


شکل ۱ (ب): فعالیت آنتی‌اکسیدانی نانوامولسیون روغن زیره سیاه توسط تست ABTS.  $IC_{50}$  محاسبه شده در این تست ۳۱/۲۵ میکرو گرم بر میلی‌لیتر می‌باشد.

**بررسی سمیت سلولی نانوامولسیون:**

نتایج نشان می‌دهد که نانوامولسیون اسانس زیره سیاه به طور قابل توجهی بر روی سلول‌های سرطانی TUBO اثر گذاشته و باعث کاهش بقا سلول‌ها شده است. همانطور که در شکل ۲ مشاهده می‌شود با افزایش غلظت نانوامولسیون اسانس زیره سیاه، زیستایی

سلول‌های TUBO کاهش یافته است که نشان‌دهنده اثر مهاری نانوامولسیون بر روی سلول‌های سرطانی است.  $IC_{50}$  حدوداً برابر با ۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر محاسبه گردید. نانوامولسیون بر روی سلول‌های نرمال در غلظت‌های پایین تأثیر معنی داری نداشته است و قادر به کاهش زیستایی سلول‌ها نبوده است.



**شکل (۲):** اثر سمیت نانوامولسیون زیره سیاه بر رشد سلول‌های سرطان پستان و نرمال در ۴۸ ساعت پس از تیمار. با افزایش غلظت، سمیت سلولی افزایش یافته است. تفاوت در سطح  $P < 0.05$ ،  $P < 0.01$  و  $P < 0.001$  معنی دار می‌باشد.

**آنالیز آماری:**

جهت ارزیابی میزان بقا سلول‌های تیمار شده و خاصیت آنتی‌اکسیدانی نانوامولسیون اسانس زیره سیاه از نرم افزار SPSS ورژن ۲۲ استفاده شد. آنالیز واریانس یک طرفه one way ANOVA و مقایسه میانگین‌ها با روش least significant differences) LSD انجام شد.

**بحث و نتیجه گیری**

بررسی تست MTT در مطالعه حاضر گویای اثرات سیتوتوکسیکسیسته نانوامولسیون اسانس زیره سیاه بر روی سلول‌های سرطانی پستان در مقایسه با سلول‌های نرمال است که این فعالیت نیز وابسته به غلظت می‌باشد. در تست MTT با افزایش غلظت، درصد بقا کاهش می‌یابد.  $IC_{50}$  در این تست ۲۵ میلی‌گرم/میلی‌لیتر می‌باشد. با توجه به نتایج تست‌های مختلف آنتی‌اکسیدانی، می‌توان بیان کرد که نانوامولسیون اسانس زیره سیاه توانایی مهار رادیکال‌های آزاد را دارا است و با مقایسه با مطالعات پیشین می‌توان این نتیجه را تأیید کرد. در هر دو تست با افزایش غلظت، مهار

رادیکال‌های آزاد نیز افزایش یافته است. در تست DPPH،  $IC_{50}$  برابر با ۱۲۵ میلی‌گرم/میلی‌لیتر و در تست ABTS،  $IC_{50}$  برابر با ۳۱/۲۵ می‌باشد.

یکی از مزایای استفاده از نانوامولسیون‌ها این است که می‌توانند بر مشکلات مختلف در فرمولاسیون دارو توسط داروهای کپسول شده غیرمحلول-آب با ساختارهای خود، به منظور افزایش دسترسی داروها در محیط‌های آبی، غلبه کنند. بنابراین، فارماکوکینتیک و فارماکودینامیک داروها به طور قابل توجهی بهبود می‌یابند. از سوی دیگر، نانوذرات به عنوان یک ذخیره دارویی عمل می‌کنند که منجر به حمل چند منظوره آن‌ها در درمان انواع بیماری‌ها می‌شود. علاوه بر این، توانایی تحویل مؤثر دارو با مقادیر مناسب، موجب کاهش عوارض جانبی داروها، کنترل جذب و محافظت آن‌ها از استرس اکسیداتیو و رویدادهای آزیمی می‌شود (۱۸).

روغن‌های ضروری میوه زیره سیاه و گشنیز توسط طیف سنجی جرمی-کروماتوگرافی گازی آنالیز شدند و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در محیط Invitro (تست DPPH) مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که روغن‌های ضروری آزمایش شده قادر به کاهش رادیکال‌های

B16F10 و نیز خاصیت آنتی‌اکسیدانی توسط تست DPPH ارزیابی گردیده‌است. نتایج نشان می‌دهد که اسانس گیاه بادرنجبویه به عنوان یک عامل ضدتوموری است و همچنین دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشد (۲۳). همچنین مطالعاتی بر روی فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس گیاه پونه کوهی صورت گرفته است. این بررسی توسط سه روش تیوباربیتوریک اسید (TBARS)،  $\beta$ -carotene bleaching (BCB) و DPPH انجام شده که نتایج هر سه روش نشان‌دهنده فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس گیاه پونه بوده است (۲۴). در مطالعه‌ای دیگر فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس‌های رزماری، گل میخک و دارچین در غلظت‌های ۰/۲۵ و ۰/۵ درصد بررسی شد. نتایج نشان‌دهنده اثر آنتی‌اکسیدانی قوی دارچین بوده است و بر طبق نتایج خاصیت آنتی‌اکسیدان اسانس گل میخک بیشتر از اسانس رزماری بوده است (۲۵).

مطالعات پیشین عنوان شده، تاییدی بر نتایج این پژوهش می‌باشد که نشان‌دهنده خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضدسرطانی نانوامولسیون اسانس زیره سیاه است.

### تشکر و قدردانی

بدینوسیله نویسندگان مقاله از کارشناسان آزمایشگاه زیستشناسی دانشگاه آزاد اسلامی مشهد کمال تشکر و قدردانی را دارند که در فراهم آوردن امکانات این تحقیق همکاری لازم را مبذول داشتند.

### References

- De Castro ML, Jimenez-Carmona M, Fernandez-Perez V. Towards more rational techniques for the isolation of valuable essential oils from plants. *Trends Analyt Chem* 1999;18(11):708-16.
- Pollien P, Ott A, Fay L, Maignial L, Chaintreau A. Simultaneous distillation-extraction: preparative recovery of volatiles under mild conditions in batch or continuous operations. *Flavour Fragr J* 1998;13(6):413-23.
- Adjei A, Doyle R, Reiland T, Swarbrick J, Boylan J. *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*, Vol. 6. New York: Marcel Dekker; 1992.
- McCord JM. Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. *N Engl J Med* 1985;312(3):159-63.

آزاد DPPH به صورت وابسته به دوز می‌باشند.  $IC_{50}$  برای زیره سیاه ۲/۵ میکروگرم/ میلی‌لیتر و برای گشنیز ۲/۰۵ میکروگرم/ میلی‌لیتر محاسبه گردید (۱۹). اثرات سمیت و آپوپتوزی روغن پوست دارچین بر روی سلول‌های فیبروبلاست نرمال (F2408) و فعال (5RP7) فیبروبلاست توسط تست MTT بررسی گردید. نتایج به دست آمده نشان‌دهنده اثرات سمیت بسیار قوی این ماده بوده و  $IC_{50}$  در هر دو سلول کمتر از ۲۰ گرم بر میلی‌لیتر گزارش شده است. همچنین مشاهدات مورفولوژیکی سلول‌ها نشان‌دهنده اثر قوی روغن پوست دارچین بر روی القا آپوپتوز خصوصاً در سلول‌های 5RP7 می‌باشد (۲۰). همچنین سمیت سلولی نانوامولسیون‌های لیپیدی حاوی کورکومین و محلول کورکومین توسط تست MTT بر روی سلول‌های B16F10 و لوسمی بررسی شده است.  $IC_{50}$  گزارش شده به ترتیب بین محدود ۳/۵ تا ۳/۱ و ۲۲/۲ تا ۵۳/۱ میکرومول می‌باشد (۲۱). مطالعات پیشین مذکور که بر روی نانوامولسیون‌ها و اسانس‌ها انجام شده است، تأیید کننده فعالیت ضدسرطانی این نانوامولسیون می‌باشد. در این تحقیق فعالیت آنتی‌اکسیدانی و سمیت سلولی نانوامولسیون روغن زیره سبز به ترتیب توسط تست‌های DPPH و MTT مورد بررسی قرار گرفت و با روغن زیره سبز مقایسه شد. نتایج نشان داد که فعالیت آنتی‌اکسیدانی و سمیت نانوامولسیون اسانس زیره سیاه به طور معنی داری بیشتر از اسانس زیره سبز بوده است (۲۲). در مطالعه‌ای دیگر سمیت سلولی اسانس بادرنجبویه توسط تست MTT بر روی سلول‌های سرطان انسانی A549، MCF7، Caco-2، HL-60، K562 و سلول‌های سرطانی موش

- Commoner B, Townsend J, Pake GE. Free radicals in biological materials. *Nature* 1954;174(4432):689.
- Gutteridge J, Halliwell B. Antioxidants in nutrition, health, and disease: OUP; 1994.
- Maxwell SR. Prospects for the use of antioxidant therapies. *Drugs* 1995;49(3):345-61.
- Beckman KB, Ames BN. The free radical theory of aging matures. *Physiol Rev* 1998;78(2):547-81.
- Halliwell B. Protection against oxidants in biological systems. The superoxide theory of oxygen toxicity. *Free Radic Biol Med* 1989.
- Ahlbom I, Cardis E, Green A, Linet M, Savitz D, Swerdlow A, et al. Review of the epidemiologic literature on EMF and health. *Environ. Health Perspect* 2001;109(Suppl 6):911.

11. De Carvalho CC, Da Fonseca MMR. Carvone: Why and how should one bother to produce this terpene. *Food Chem* 2006;95(3):413-22.
12. Matsumura T, Ishikawa T, Kitajima J. Water-soluble constituents of caraway: carvone derivatives and their glucosides. *Chem Pharm Bull* 2002;50(1):66-72.
13. Ghosh V, Saranya S, Mukherjee A, Chandrasekaran N. Cinnamon oil nanoemulsion formulation by ultrasonic emulsification: investigation of its bactericidal activity. *J Nanosci Nanotechnol* 2013;13(1):114-22.
14. Periasamy VS, Athinarayanan J, Alshatwi AA. Anticancer activity of an ultrasonic nanoemulsion formulation of *Nigella sativa* L. essential oil on human breast cancer cells. *Ultrason Sonochem* 2016;31:449-55.
15. Jiménez-Escrig A, Jiménez-Jiménez I, Sánchez-Moreno C, Saura-Calixto F. Evaluation of free radical scavenging of dietary carotenoids by the stable radical 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl. *J Sci Food Agric* 2000;80(11):1686-90.
16. Bondet V, Brand-Williams W, Berset C. Kinetics and mechanisms of antioxidant activity using the DPPH. free radical method. *LWT* 1997;30(6):609-15.
17. Arnao MB, Cano A, Acosta M. The hydrophilic and lipophilic contribution to total antioxidant activity. *Food Chem* 2001;73(2): 239-44.
18. Nishitani Yukuyama M, Tomiko Myiaki Kato E, Lobenberg R, Araci Bou-Chacra N. Challenges and future prospects of nanoemulsion as a drug delivery system. *Curr Pharm Desrf* 2017;23(3):495-508.
19. Samojlik I, Lakic N, Mimica-Dukic N, Đaković-Švajcer K, Bozin B. Antioxidant and hepatoprotective potential of essential oils of coriander (*Coriandrum sativum* L.) and caraway (*Carum carvi* L.)(Apiaceae). *J Agric Food Chem* 2010;58(15):8848-53.
20. Unlu M, Ergene E, Unlu GV, Zeytinoglu HS, Vural N. Composition, antimicrobial activity and in vitro cytotoxicity of essential oil from *Cinnamomum zeylanicum* Blume (Lauraceae). *Food Chem Toxicol* 2010;48(11):3274-80.
21. Anuchapreeda S, Fukumori Y, Okonogi S, Ichikawa H. Preparation of lipid nanoemulsions incorporating curcumin for cancer therapy. *Nanotechnology* 2012;2012.
22. Farshi P, Tabibiazar M, Ghorbani M, Hamishehkar H. Evaluation of Antioxidant Activity and Cytotoxicity of Cumin Seed Oil Nanoemulsion Stabilized by Sodium Caseinate-Guar Gum. *PHARM* 2017;23(4).
23. De Sousa AC, Gattass CR, Alviano DS, Alviano CS, Blank AF, Alves PB. *Melissa officinalis* L. essential oil: antitumoral and antioxidant activities. *J Pharm Pharmacol* 2004;56(5):677-81.
24. Kulisic T, Radonic A, Katalinic V, Milos M. Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil. *Food chem.* 2004;85(4):633-40.
25. Özcan MM, Arslan D. Antioxidant effect of essential oils of rosemary, clove and cinnamon on hazelnut and poppy oils. *Food chem* 2011;129(1):171-4.

## EFFECT OF *CARUM CARVI* ESSENTIAL OIL NANOEMULSION ON TUBO CANCER CELLS AND L929 NORMAL CELLS AND EVALUATION OF ANTIOXIDANT ACTIVITY

*Niloufar Khatamian*<sup>1</sup>, *Masoud Homayouni Tabrizi*<sup>2</sup>, *Pouran Ardalan*<sup>3</sup>

*Received: 14 Feb, 2019; Accepted: 26 May, 2019*

### Abstract

**Background & Aims:** Free radicals are one of the causes of cancer. In case of the disease, some cells of the body progress to the surrounding tissues and divide without stopping. The use of natural antioxidants plays a positive role in maintaining the health. Cancer and the presence of free radicals in the body motivated researchers to study substances that may eliminate them. The purpose of this study was to investigate the cytotoxicity and antioxidant effect of *Carum Carvi* essential oil nanoemulsion.

**Materials & Methods:** In this study, antioxidant activity was measured by DPPH and ABTS in different concentrations of nanoemulsion (200, 400, 600, 800 and 1000 µg/ml). Also, cytotoxicity was investigated by MTT method on breast cancer cells (TUBO) and normal cells (L929) at different concentrations of nanoemulsion.

**Results:** The results of the antioxidant, DPPH and ABTS tests with IC<sub>50</sub> indicated the antioxidant properties of *Carum Carvi* essential oil nanoemulsion. The IC<sub>50</sub> showed anticancer activity of the nanoemulsion, however low concentration of nanoemulsion has no significant effect on normal cells.

**Conclusion:** The results suggested that *Carum Carvi* essential oil nanoemulsion has the ability to inhibit the proliferation of cancer cells and also inhibit free radicals.

**Keywords:** Nanoemulsion, Antioxidant, Cancer, *Carum Carvi*, essential oil

**Address:** Department of Biology, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, Iran

**Tel:** +98 5138435000

**Email:** mhomayouni6@gmail.com

SOURCE: URMIA MED J 2019; 30(4): 321 ISSN: 1027-3727

<sup>1</sup> Department of Biology, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, Iran

<sup>2</sup> Department of Biology, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, Iran (Corresponding Author)

<sup>3</sup> Department of Chemistry, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, Iran