Applied molecular biology
Vol.4, issu.6, Spring. 2025
P.P:37-52

Evaluation of Antioxidant Compounds of *Physalis alkekngi* Extract and Its Toxic Effect on Lung Cancer Cells

Mahdieh Houshni*[1], Refaeil Azadian Dalasm[2], Rabi Atabaki[3], Mahdi Soleimani moghaddam[4]
1. Assistant Professor, Department of Biology, Tonekabon Branch, Islamic Azad University,Tonekabon, Iran.
(Corresponding Author: mhoshani@yahoo.com, orcid: 0009-0000-5244-154)
2. Assistant Professor, Department Educational Sciences, Farhangian University, Tehran, Iran.
3. Assistant Professor, Department of Biology, Farzanegan Campus, Semnan Unoversity, Semnan, Iran.
4. Assistant Professor, Department of Physics, University of Mazandaran, Babolsar, Iran.
Article history:
Received:06/05/2025 Revised:21/05/2025 Accepted:11/05/2025

Abstract

Introduction: 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. Today, the use of medicinal plants is important because of their low side effects. Therefore, the aim of this study is to investigate the antioxidant compounds and anticancer properties of the extract of the *Physalis alkekengi*.

Materials and methods: For this purpose, the leaves, calyx, and fruits of the plant were collected from the Tonekabon region and then samples were extracted. After culturing and propagating the A549 lung cancer cells, the cells were exposed to different concentrations of the extracts (31.5 to 2000 µg/ml) and then incubated for 24, 48, and 72 hours. Then, the MTT colorimetric method was used to determine the cytotoxicity of the extract. The total phenol, flavonoid, anthocyanin, and carotenoid content of the extracts were also measured.

Results: The results showed that the highest of phenols, flavonoids and total anthocyanins were found in the leaf extract, 3.91±0.183, 1.29±0.001 and 0.121±0.003 mg/g DW, respectively. Also, the highest percentage of cell growth inhibition was obtained at a concentration of 2 mg/ml for leaf, calyx and fruit extracts, 94.49, 94.97 and 95.54%, respectively, within 72 hours.

Conclusion: The results of this study suggest that extracts of the plant are rich in antioxidant compounds and may also have anticancer properties. Therefore, with further pharmacological studies in the future, the compounds of this plant can be used in the treatment of cancer.

Keywords: Antioxidant compounds, MTT test, Lung cancer, *Physalis alkekengi*

زیست‌شناسی مولکولی کاربردی
سال چهارم/ شماره ۶/ بهار ۱۴۰۴
صفحات: ۳۷-۵۷

ارزیابی ترکیبات آنتی‌اکسیدانی عصاره گیاه عروسک پشت پرده (*Physalis alkekngi*) و اثر سمیت آن بر سلول‌های سرطانی ریه

مهدیه هوشنی[1*]، رافائیل آزادیان دلسم[2]، ربیع اتابکی[3]، مهدی سلیمانی مقدم[4]
۱. استادیار گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن، تنکابن، ایران.
(نویسنده مسئول: mhoshani@yahoo.com (orcid: 0009-0000-5244-1543)
۲. استادیار گروه علوم تربیتی، دانشگاه فرهنگیان، تهران، ایران.
۳. استادیار گروه زیست‌شناسی، پردیس فرزانگان، دانشگاه سمنان، سمنان، ایران.
۴. استادیار، گروه فیزیک، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران.
تاریخ بارگزاری: ۱۴۰۴/۰۲/۱۶ تاریخ بازنگری: ۱۴۰۴/۰۲/۳۱ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۳/۱۲

چکیده

مقدمه: سرطان ریه از سرطان‌های شایع است و شیمی‌درمانی یکی از روش‌های درمان سرطان است اما به‌دلیل بروز عوارض جانبی غیرقابل تحمل می‌شود. امروزه استفاده از گیاهان دارویی به‌دلیل داشتن عوارض جانبی پایین حائز اهمیت است؛ بنابراین هدف این مطالعه بررسی ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و خاصیت ضدسرطانی عصاره گیاه عروسک پشت پرده می‌باشد.

مواد و روش‌ها: بدین‌منظور، برگ، غلاف گل و میوه گیاه عروسک پشت پرده از منطقه تنکابن جمع‌آوری و در سایه خشک و پودر شدند و در ادامه عصاره‌گیری نمونه‌ها انجام شد. پس از کشت و تکثیر سلول‌های سرطانی ریه رده سلولی A549، سلول‌ها در مجاورت غلظت‌های مختلف عصاره (µg/ml ۲۰۰۰ تا ۳۱/۵) قرار گرفتند و به مدت ۲۴،

۴۸ و ۷۲ ساعت انکوبه شدند؛ سپس جهت تعیین سمیت سلولی عصاره‌ها از روش رنگ‌سنجی MTT استفاده شد. همچنین میزان فنل، فلاونوئید، آنتوسیانین و کاروتنوئید کل عصاره‌ها نیز اندازه‌گیری شد.

نتایج: نتایج نشان داد که بیشترین میزان فنل، فلاونوئید و آنتوسیانین کل در عصاره برگ به‌ترتیب ۰/۱۸۳±۳/۹۱، ۰/۰۰۱± ۱/۲۹ و ۰/۰۰۳±۰/۱۲۱ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک گیاه به‌دست آمد. همچنین بیشترین درصد مهار رشد سلول‌ها در غلظت ۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر برای عصاره‌های برگ، غلاف گل و میوه به‌ترتیب ۹۴/۴۹، ۹۴/۹۷ و ۹۵/۵۴ درصد در مدت زمان ۷۲ ساعت به‌دست آمد.

نتیجه‌گیری: نتایج این پژوهش پیشنهاد می‌کند که عصاره‌های گیاه عروسک پشت پرده غنی از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی است و احتمالاً دارای خاصیت ضدسرطانی نیز می‌باشد؛ بنابراین، با بررسی‌های فارماکولوژی بیشتر در آینده می‌توان از ترکیبات این گیاه در درمان سرطان استفاده کرد.

کلمات کلیدی: ترکیبات آنتی‌اکسیدان، تست MTT، سرطان ریه، عروسک پشت پرده.

مقدمه

سرطان دومین عامل مرگ‌ومیر بعد از بیماری‌های قلبی و عروقی در بسیاری از جوامع از جمله ایران است. سرطان ریه شایع‌ترین سرطان در دنیاست و به‌عنوان یک اپیدمی در نظر گرفته می‌شود. در سال ۲۰۰۲ میلادی بیش از ۱/۳ میلیون نفر مبتلا به این بیماری بودند، ۲۹ درصد از کل مرگ‌های ناشی از سرطان، مربوط به سرطان ریه است[۱]. این بیماری اگر درمان نشود، رشد سلولی می‌تواند در یک فرایند به نام متاستاز به بیرون از ریه گسترش پیدا کند و به بافت‌های اطراف یا سایر اعضای بدن برسد[۲]. به‌طورکلی سرطان‌های ریه از نظر آسیب‌شناختی و براساس سلول‌ها و رفتارهای این سرطان‌ها نسبت به درمان و پیش‌آگاهی بیماران به دو دسته بزرگ، سرطان ریه با سلول‌های کوچک و سرطان ریه با سلول‌های غیرکوچک تقسیم می‌شوند[۳]. درمان‌های مرسوم سرطان باعث اثرهای جانبی جدی می‌شود به‌طوری‌که دسترسی به دارویی با اثربخشی

بالا، سمیت کم که به‌طور اختصاصی بر سلول‌ها تأثیر گذاشته و ارزان باشد یکی از دغدغه‌های مهم جوامع دارویی دنیا و حوزه درمان است. در این زمینه، درمان به‌واسطه گیاهان دارویی می‌تواند یکی از پایه‌های اصلی کنترل و درمان سرطان باشد و به نظر می‌رسد داروهای گیاهی به علت عدم وجود عوارض جانبی، اهمیت بیشتری در پیشگیری از انواع سرطان دارند. معرفی داروهای مورد استفاده در طب سنتی می‌تواند سرآغاز مناسبی برای تدوین پروژه‌های تحقیقاتی جهت دستیابی به داروهای نوین باشد[۴]. گیاهان دارویی با داشتن ترکیبات آنتی‌اکسیدان آنزیمی و غیرآنزیمی می‌توانند باعث خنثی‌سازی و مهار رادیکال‌های آزاد و گونه‌های فعال اکسیژن شوند[۵]. آسیب‌های ناشی از گونه‌های فعال اکسیژن 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[۶]. مطالعات نشان داده است که برخی از ترکیبات آنتی‌اکسیدان نظیر فنل‌ها و فلاونوئیدها قادر به اعمال اثر ضدآپوپتوتیک یا به‌طورکلی مهار فرایندهای تکثیر سلولی هستند[۷ و ۸].

گیاه عروسک پشت پرده با نام علمی *Physalis alkekengi* متعلق به خانواده سیب‌زمینی، دارای ۸۰ گونه در دنیا و دو گونه در ایران است. گیاهی علفی، یک ساله یا چند ساله به ارتفاع ۳۰ تا ۶۰ سانتی‌متر که به صورت خودرو در استان‌های مازندران، گیلان و گلستان می‌روید. از این گیاه برای درمان بیماری‌هایی نظیر سنگ کلیه، مجاری ادراری، نقرس و هپاتیت استفاده می‌شود[۹ و ۱۰]؛ بنابراین با توجه به این‌که گیاه عروسک پشت پرده در مناطق مختلفی از کشور عزیزمان به‌صورت خودرو می‌روید و تاکنون مطالعه مدونی در مورد اثرات ضدسرطانی این گیاه در ایران صورت نگرفته است و ازسوی‌دیگر به‌دلیل عوارض جانبی داروهای شیمیایی، هدف اصلی از انجام این پژوهش بررسی ترکیبات آنتی‌اکسیدانی عصاره بخش‌های گیاه عروسک پشت پرده و اثر مهاری آن بر رشد سلول‌های سرطانی ریه است تا شاید بتوان بهره‌برداری اقتصادی از این گیاه انجام داد و در آینده امیدوار بود که در صورت انجام سایر تست‌های مربوط به عوارض جانبی و نیز تست‌های invivo، از این گیاه به‌عنوان یک داروی ضدسرطان استفاده کرد.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری گیاه و عصاره‌گیری به روش خیساندن

برگ، غلاف گل و میوه گیاه عروسک پشت پرده از منطقه‌ای در نزدیکی شهرستان تنکابن در بهار ۱۴۰۲ از ارتفاع ۱۰۰ متری جمع‌آوری شد. سپس نمونه‌ها در سایه و در مجاورت هوا خشک و سپس آسیاب شدند. مقدار ۵۰ گرم از هر نمونه در ۲۰۰ml اتانول 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 ۴۰°C توسط دستگاه روتاری تبخیر گردید. باقیمانده برای انجام آزمایشات در یخچال با درجه حرارت ۴°C نگهداری شد[۱۱].

اندازه‌گیری محتوای فنل، فلاونوئید، آنتوسیانین و کاروتنوئید کل عصاره‌ها

برای اندازه‌گیری محتوای فنل کل، به ۱۰۰µl از عصاره گیاه، ۲ml کربنات سدیم ۲٪، ۲/۸ml آب مقطر و ۱۰۰µl معرف فولین‌سیوکالچو ۵۰٪ اضافه شد. بعد از گذشت نیم‌ساعت جذب آن‌ها در طول موج ۷۲۰nm 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[۱۲].

برای سنجش میزان فلاونوئید کل، به ۵۰۰µl از هر عصاره، ۱/۵ml متانول ۸۰٪، ۱۰۰µl محلول آلومینیوم کلراید ۱۰٪، ۱۰۰µl محلول استات پتاسیم ۱ مولار و ۲/۸ml آب مقطر اضافه شد. جذب مخلوط بعد از گذشت ۴۰ دقیقه در طول موج ۴۱۵nm نسبت به شاهد اندازه‌گیری گردید. برای رسم منحنی استاندارد از کوئرستین استفاده شد. میزان فلاونوئید کل عصاره‌ها براساس میلی‌گرم معادل کوئرستین بر گرم وزن خشک گیاه گزارش شد[۱۳].

برای سنجش میزان آنتوسیانین کلف مقدار ۰/۰۵ گرم از بافت خشک گیاهی با ۵ml 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 سانتریفیوژ گردید. فاز رویی را برداشته و جذب محلول‌ها در طول

موج‌های ۵۳۰nm و ۶۵۷ نسبت به شاهد اندازه‌گیری شد. از محلول اسید کلریدریک ۱٪ متانول به‌عنوان شاهد استفاده گردید. میزان آنتوسیانین برای هر عصاره با استفاده از رابطه‌ی زیر محاسبه شد[۱۴].

$$A = A_{۵۳۰} - (۰/۲۵ \times A_{۶۵۷})$$

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

برای سنجش کاروتنوئید کل، مقدار ۰/۱ گرم از هر نمونه در 5ml استون سابیده شد و سپس میزان جذب نوری عصاره‌ها، پس از صاف کردن با کاغذ صافی، در طول موج‌های ۶۶۲nm، ۶۴۵ و ۴۷۰ نسبت به شاهد توسط دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. میزان کاروتنوئید کل با استفاده از فرمول‌های زیر محاسبه شد و بر اساس میکروگرم بر گرم بافتِ تر گیاه گزارش شده است[۱۵].

$$Ca=۱۱/۲۴ A_{۶۶۲} - ۲/۰۴ A_{۶۴۵}$$

$$Cb= ۲۰/۱۳ A_{۶۴۵} - ۴/۱۹ A_{۶۶۲}$$

$$Ct= ۱۰۰۰ A ۴۷۰ - ۱/۹ A Ca - ۶۳/۱۴Cb / ۲۱۴$$

که در آن‌ها Ca: میزان کلروفیل a، Cb: میزان کلروفیل b، Ct: میزان کاروتنوئید کل، $A_{۴۷۰}$: جذب در طول موج ۴۷۰ نانومتر (مربوط به کاروتنوئیدها)، $A_{۶۴۵}$: جذب در طول موج ۶۴۵ نانومتر (مربوط به کلروفیل a)، $A_{۶۶۲}$: جذب در طول موج ۶۶۲ نانومتر (مربوط به کلروفیل b) هستند.

بررسی اثر عصاره اتانولی عروسک پشت پرده در رشد و زیستایی سلول‌های سرطانی ریه رده سلولی A549

سلول‌های سرطانی ریه رده سلولی A549 از انستیتو پاستور ایران خریداری شد. این رده سلولی در محیط حاوی RPMI 1640 غنی شده با سرم جنین گاوی (FBS) ۱۰٪ و آنتی‌بیوتیک‌های استرپتومایسین (۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر) و پنی‌سیلین (۱۰۰ واحد در میلی‌لیتر) در انکوباتور کشت سلول، در دمای ۳۷°C، ۵٪ CO_2 و رطوبت ۹۵٪، کشت و نگهداری شد. برای این منظور مقدار 45ml از محیط کشت RPMI 1640، 4/5 ml

سرم FBS و µ۵۰۰1 آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین/ استرپتومایسین (جهت جلوگیری از رشد قارچ) با هم مخلوط شدند تا محیط کشت کامل برای رشد رده سلولی فراهم شود. تمام مراحل فوق در زیر هود لامینار و در محیطی کاملاً استریل انجام گرفت. برای پاساژ دادن رده سلولی ابتدا تمام محیط کشت حاوی رده سلولی داخل فلاسک را به یک فالکون انتقال داده و آن را به مدت ۸ دقیقه با ۱۲۵۰rpm سانتریفیوژ شد. سپس به رسوب حاصل مقدار ۵ میلی‌لیتر محیط کشت کامل اضافه شده و عمل پیپتاژ به آرامی انجام گرفت تا رسوب در محیط کشت حل شود و در نهایت بعد از شمارش سلول برای تعیین میزان تراکم آن‌ها، به داخل یک فلاسک جدید انتقال داده شد و سپس فلاسک به انکوباتور CO_2دار با میزان رطوبت ٪۹۵ و دمای ۳۷°C انتقال داده شد.

به منظور بررسی اثر عصاره اتانولی گیاه عروسک پشت پرده بر رشد و زیستایی سلولی‌های سرطانی از آزمون رنگ‌سنجی MTT (۵، ۴، ۳ دی‌متیل تیازول ۲ - ایل ۵، ۲ دی‌فنیل تترازولیوم) استفاده شد. برای این منظور تعداد 10^4 سلول در هر چاهک در پلیت‌های ۹۶ چاهکی قرار داده شد. بعد از ۲۴ ساعت، غلظت‌های ۳۱/۲۵، ۶۲/۵، ۱۲۵، ۲۵۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از عصاره اتانولی عروسک پشت پرده به هر چاهک برای زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت اضافه شد. در هر بازه زمانی، جذب نمونه‌ها توسط دستگاه الایزا در طول موج ۵۴۰nm مورد بررسی قرار گرفت. درصد زیستایی سلول‌های سرطانی توسط فرمول زیر محاسبه شد[۱۶].

۱۰۰ × جذب کنترل/ جذب نمونه = درصد زیستایی

تجزیه و تحلیل آماری

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

نتایج

نتایج نشان داد که عصاره‌های برگ، غلاف گل و میوه گیاه عروسک پشت پرده غنی از ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی و آنتوسیانینی است، به‌طوری‌که بیشترین میزان فنل، فلاونوئید و آنتوسیانین کل در عصاره برگ به‌ترتیب به میزان ۶/۹۱±۰/۱۸۳، ۰/۰۰۱± ۱/۲۹۴ و ۰/۰۰۳± ۰/۱۲۱ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک گیاه به‌دست آمد. همچنین نتایج نشان داد که بیشترین میزان کاروتنوئید کل به‌ترتیب در عصاره‌های میوه و غلاف گل به میزان ۱/۰۲± ۱۰/۲۳ و ۱/۱۵± ۸/۴۱ میکروگرم بر گرم وزن تر گیاه به‌دست آمد (جدول ۱).

جدول ۱. محتوای فنل، فلاونوئید، آنتوسیانین و کاروتنوئید کل عصاره برگ، غلاف گل و میوه گیاه عروسک پشت پرده. داده‌ها به صورت میانگین ± خطا استاندارد است.

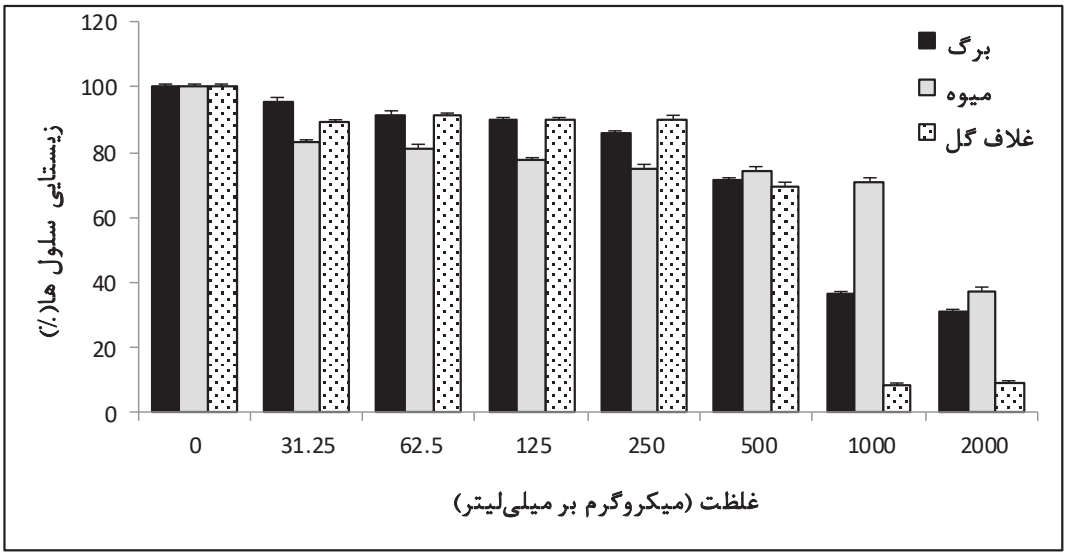
عصاره‌های گیاهی	فنل کل (mg g^{-1} DW)	فلاونوئید کل (mg g^{-1} DW)	آنتوسیانین کل (mg g^{-1} DW)	کاروتنوئید کل (µg g^{-1} FW)
برگ	۳/۹۱ ±۰/۱۸۳	±۰/۰۰۱ ۱/۲۹	۰/۱۲۱ ±۰/۰۰۳	۴/۵۸ ±۰/۹۱۲
غلاف گل	۱/۱۸ ±۰/۰۴۴	±۰/۰۷۳ ۰/۷۲۷	۰/۰۶۳ ±۰/۵۴۳	۸/۴۱ ±۱/۱۵
میوه	۱/۳۴ ±۰/۰۰۱	±۰/۰۰۳ ۰/۰۵۵	۰/۰۲۵ ±۰/۱۸۳	۱۰/۲۳ ±۱/۰۲

DW : وزن خشک گیاه FW: وزن تر گیاه

بررسی درصد زیستایی سلول‌های سرطانی توسط عصاره‌های گیاه عروسک پشت پرده طی ۲۴ ساعت

نتایج به‌طورکلی نشان داد که غلظت‌های مختلف برگ، غلاف گل و میوه گیاه عروسک پشت پرده باعث مهار رشد سلول‌های سرطانی شده است؛ به‌طوری‌که در هر سه عصاره بیشترین اثر مهاری در غلظت ۲۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر عصاره به‌ترتیب ۶۸/۸،

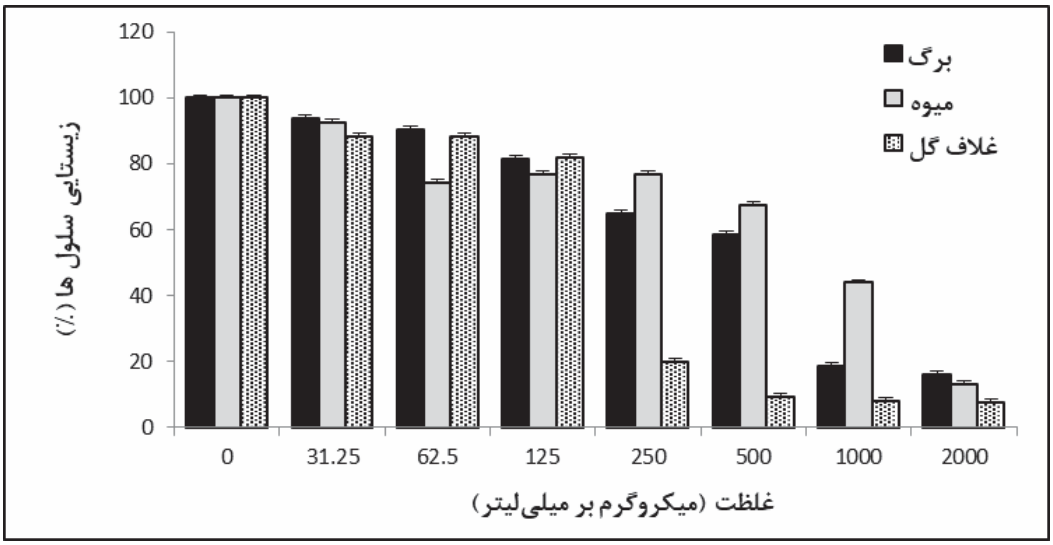
۶۲/۳۸ و ۹۱/۰۳ درصد به‌دست آمد؛ بنابراین نتایج نشان داد که درصد اثر مهاری عصاره غلاف گل بیشتر از عصاره میوه و برگ بود (شکل ۱).



شکل ۱. نمودار مقایسه غلظت‌های مختلف عصاره برگ، غلاف گل و میوه گیاه عروسک پشت پرده بر زیستایی سلول‌های سرطانی در طی ۲۴ ساعت.

بررسی درصد زیستایی سلول‌های سرطانی توسط عصاره‌های گیاه عروسک پشت پرده طی ۴۸ ساعت

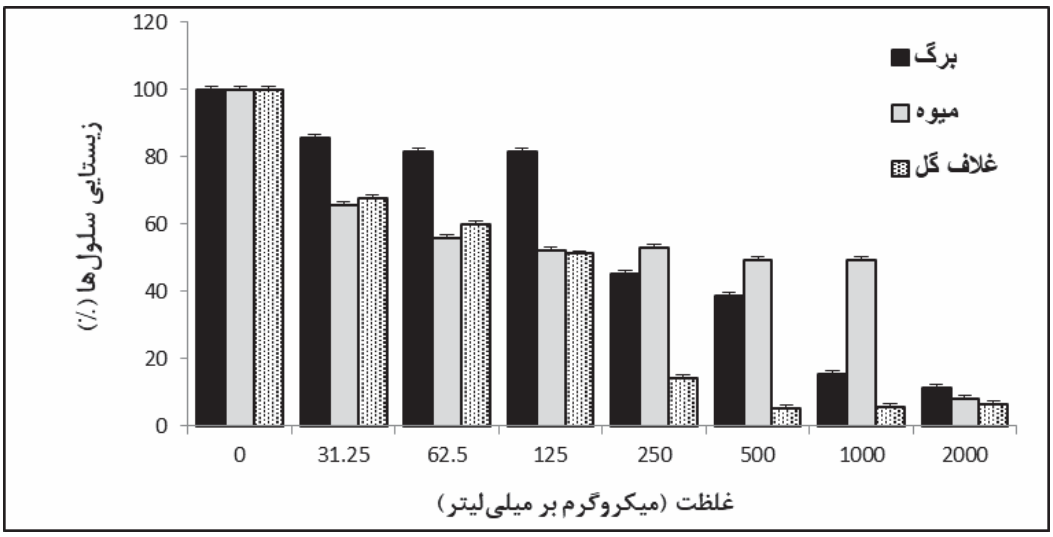
براساس نتایج به‌دست‌آمده مشخص شد که بیشترین درصد مهار زیستایی سلول‌های سرطانی در غلظت ۲۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر برای عصاره‌های برگ، غلاف گل و میوه به ترتیب ۸۳/۷۴، ۸۶/۷۷ و ۹۲/۳۱ درصد به‌دست آمد. همچنین نتایج نشان داد که کاهش رشد سلول‌های سرطانی در غلظت‌های ۲۵۰ تا ۲۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر عصاره غلاف گل و در مقایسه با عصاره برگ و میوه بسیار قابل‌ملاحظه بود (شکل ۲).



شکل ۲. مقایسه غلظت‌های مختلف عصاره برگ، غلاف گل و میوه گیاه عروسک پشت پرده بر زیستایی سلول‌های سرطانی در طی ۴۸ ساعت.

بررسی درصد زیستایی سلول‌های سرطانی توسط عصاره‌های گیاه عروسک پشت پرده طی ۷۲ ساعت

نتایج به‌طورکلی نشان داد که غلظت‌های مختلف عصاره برگ، میوه و غلاف گل عروسک پشت پرده باعث مهار رشد سلول‌های سرطانی شده است؛ به‌طوری‌که بیشترین درصد مهار برای هر سه عصاره در غلظت ۲۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر به‌دست آمد و درصد اثر مهاری عصاره غلاف گل بیشتر از عصاره برگ و میوه مشاهده شد. همچنین نتایج نشان داد که کاهش رشد سلول‌های سرطانی در غلظت‌های ۲۵۰ تا ۲۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر عصاره غلاف گل در مقایسه با سایر عصاره‌ها بسیار چشمگیر بود، به‌طوری‌که در غلظت‌های ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر عصاره غلاف گل درصد مهار سلول‌های سرطانی ۹۴/۹۷، ۹۴/۴۹ و ۹۳/۵۴ درصد به‌دست آمد (شکل ۳).



شکل ۳. مقایسه غلظت‌های مختلف عصاره برگ، غلاف گل و میوه گیاه عروسک پشت پرده بر زیستایی سلول‌های سرطانی در طی ۷۲ ساعت.

بحث

در سال‌های اخیر استفاده 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. دارو درمانی هنوز یکی از روش‌های مورد استفاده در درمان سرطان بوده و مراکز تحقیقاتی مختلف در دنیا و ایران در تلاش دستیابی به داروهای مؤثر با اثر انتخابی بر سلول‌های سرطانی و اثر کمتر بر سلول‌های سالم است. در این راستا گیاهان دارویی منبع بسیار بزرگ و امیدبخشی جهت کشف داروهای جدید هستند[۳ و ۱۷]؛ بنابراین گیاه دارویی عروسک پشت پرده از رویشگاه طبیعی خود جمع‌آوری و مطالعه شد. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که غلظت‌های مختلف عصاره اتانولی گیاه عروسک پشت پرده باعث مهار رشد سلول‌های سرطانی ریه رده A549 شده است و رشد سلول‌ها را به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل کاهش داده است. همچنین مشخص شده است عصاره عروسک پشت پرده به‌طور وابسته به غلظت، باعث مهار رشد این سلول‌ها شده، به‌طوری‌که با افزایش غلظت عصاره، درصد مهار رشد افزایش پیدا کرده است؛ در نتیجه

بیشترین درصد مهار رشد سلول‌ها در غلظت ۲۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر برای عصاره‌های برگ، غلاف گل و میوه به‌ترتیب ۹۴/۴۹، ۹۴/۹۷ و ۹۵/۵۴ درصد در مدت زمان ۷۲ ساعت به‌دست آمد (شکل ۳). علاوه بر این نتایج نشان داد که عصاره بخش‌های مختلف گیاه عروسک پشت پرده دارای فعالیت اکسیدانی بالایی است و این فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌تواند با ترکیبات آنتی‌اکسیدانی غیرآنزیمی محلول در آب مربوط باشد. مطالعات نشان داده است که ترکیبات آنتی‌اکسیدان 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[۱۸ و ۱۹]. ترکیبات آنتی‌اکسیدان مثل فنولیک اسیدها، پلی‌فنل‌ها و فلاونوئیدها رادیکال‌های آزادی نظیر هیدروپراکسید، سوپراکسید و پراکسید هیدروژن را جمع‌آوری 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[۲۰]. همچنین آنتی‌اکسیدان‌ها می‌توانند از طریق فعال‌کردن مسیر آپوپتوز وابسته به اتوفاژی و فعال کردن فاکتور رونویسی BOX_2 باعث القا مسیر آپوپتوز و کاهش رشد سلول‌های توموری شوند[۲۱]. در اکثر این تحقیقات یک همبستگی بین میزان ترکیبات فنلی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها با تأثیر آن‌ها بر سلول‌های سرطانی وجود دارد. این ترکیبات از مسیرهای مختلفی بر سلول‌های سرطانی اثر می‌گذارند؛ به‌طوری‌که در اکثر مطالعات، ترکیبات موجود در عصاره گیاهی باعث القا آپوپتوز در سلول‌های سرطانی می‌شوند. این اثر از طریق افزایش بیان ژن کاسپاز ۳ صورت می‌گیرد. همچنین ترکیبات موجود در عصاره دارای خاصیت سیتوتوکسیک هستند و از این طریق باعث مرگ سلول سرطانی می‌شوند. پژوهش‌های مشابه‌ای در مورد در خاصیت ضدسرطانی گیاه عروسک پشت پرده بر روی سلول‌های سرطانی خون و پستان انجام شد؛ نتایج این پژوهش‌ها بیانگر این بود که احتمالاً وجود ترکیبات آنتی‌اکسیدان عاملی برای کاهش شرایط اکسیداتیو و مقابله با بیماری سرطان است[۲۲ و ۲۳]. علاوه بر این در برخی از گزارش‌ها نیز ترکیبات موجود در عصاره باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نظیر

سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، گلوتاتیون پراکسیداز و ترکیبات آنتی‌اکسیدان غیرآنزیمی شده و از این مسیر باعث از بین رفتن رادیکال‌های آزاد و در نتیجه کاهش تولید سلول‌های سرطانی جدید می‌شوند[۲۴، ۲۵ و ۲۶]. در تحقیق حاضر مسیرهای بیوشیمیایی و مکانیسم عمل عصاره‌های گیاه عروسک پشت پرده در مهار سلول‌های سرطان ریه مورد بررسی قرار نگرفته است؛ بنابراین در این مورد نمی‌توان اظهارنظر کرد، اما چیزی که در این پژوهش به اثبات رسیده این است که عصاره‌های برگ، غلاف گل و میوه عروسک پشت پرده حاوی مقدار زیادی از ترکیبات آنتی‌اکسیدان است که احتمالاً می‌تواند با مهار رشد سلول‌های سرطانی مرتبط باشد.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که عصاره برگ، غلاف گل و میوه گیاه عروسک پشت پرده غنی از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی است و احتمالاً دارای خاصیت ضدسرطانی نیز است. طبق نتایج به‌دست آمده، خاصیت ضدسرطانی عصاره‌ها وابسته به غلظت و زمان بود به‌طوری‌که بالاترین مهار زیستایی سلول‌های سرطانی توسط عصاره‌های برگ، کاسهٔ گل و میوه در غلظت ۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در مدت زمان ۷۲ ساعت به‌دست آمد؛ بنابراین، با انجام تست‌هایی مانند تست‌های آپوپتوزی و بررسی‌های فارماکولوژی بیشتر در آینده می‌توان از ترکیبات این گیاه در درمان سرطان بهره جست و شاید بتوان امیدوار بود که از این گیاه به‌عنوان یک داروی ضدسرطان بدون داشتن عوارض جانبی استفاده کرد.

References

1. Silvestri, G. A., Alberg, A.J, Ravenel J., (2009). "The changing epidemiology of lung cancer with a focus a screening". *Barit Med*, 399 (1), p.451-454.
2. Velasco, G., Hernández-Tiedra, S., Dávila, D., Lorente, M., (2016). "The use of cannabinoids as anticancer agents". *Prog Neuro-Psychopharmacol Biol Psychiatry*, 64, p.259-266.
3. Aggarwal, A., Lewison, G., Idir, S., Peters, M., Aldige, C., Boerckel, W., Boyle, P., Trimble, E.L., Roe, P., Sethi, T., Fox, J., Sullivan, R. (2016)." The state of lung cancer research: a global analysis*". J. Thorac Oncolo*, 1, p.1-34.

4. Alzoghaibi, M. A., (2013). "Concepts of oxidative stress and antioxidant defense in Crohn's disease". *World J Gastroenterol*, 19, p.6540-6547.
5. 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*, 4 (1), p.9-14.
6. Balmus, I. M, Ciobica, A., Trifan. A., Stanciu, C., (2016). "The implications of oxidative stress and antioxidant therapies in inflammatory bowel disease": *AMEM*, p.22, 3-17.
7. Bonnefont-Rousselot, D., Collin, F., (2010). "Melatonin: action as antioxidant and potential applications in human disease and aging". *Toxicol,* 278(1), p.55-67.
8. Goodman, M., Bostick, R. M., Kucuk, O., Jones, D. P., (2011). "Clinical trials of antioxidants as cancer prevention agents: past, present, and future". *Free Radic Biol Med*, 51 (5), p.1068-1084.
9. Bahmani, M., Rafieian-Kopaei, M., Naghdi, N., Mozaffari Nejad, A. S, Afsordeh, O., (2016). "Physalis alkekengi: A review of Its Therapeutic Effects". *J Chem Pharm Sci*, 3, p.1472-1475.
10. Esmailpoor, A., Ghasemian, A., Dehnavi., E., Peidayesh, H., Maryam Teimouri, M., (2019). "Physalis alkekengi hydroalcoholic extract enhances the apoptosis in mouse model of breast cancer cells". *Gene Rep*, 15, p.100366.
11. Pourmorad, F., Hosseinimehr, S. J., Shahabimajd, N., (2006). "Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants". *Afr J Biotechnol*, 5, p.1142-1145.
12. 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, p.178-182.
13. 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, p.571-577.
14. 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, p.841-851.
15. Lichtenthaler, H. K., (1987). "Chlorophylls and carotenoids; pigments of photosynthetic membranes". *Method Enzymol*, 148, p.350-382.
16. 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), p.475-481.
17. Pavaloiu, R. D., Sha'at. F., Bubueanu, C., Deaconu, M., Neagu, C., Sha'at, M., Anastasescu, M., Mihailescu, M., Matei, C., Nechifor, G. h., Berger, D., (2020).

"Polyphenolic Extract from Sambucus ebulus L. Leaves Free and Loaded into Lipid Vesicles". *Nanomatrials*, 10 (56), p.1-17.

18. 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". *J Maz Uni Med Sci,* 5, p.230-225. [In Persian]
19. Suphachai, C. h., (2014). "Antioxidant and anticancer activities of *Moringa oleifera* leaves". *J Med Plant Res,* 8(7), p.318-325.
20. Al-Rimawi, F., Khalid, M., Salah, Z., Zawahreh, M., Alnasser, A., Shifaa, O., Alshammari, S. M., Wedian, F., Karimulla, S. h., Almutairi, A., OwijanAlanazi, H., Nafdi, H. A., Bitew Mekonnen, A., Bourhia, M., (2024). "Anticancer, antioxidant, and antibacterial activity of chemically fngerprinted extract from Cyclamen persicum Mill". *Sci Rep*, p.14, 1-10.
21. Li, Y., Ma, C., Qian, M., Wen, Z., Jing, H., Qian, D., (2014). "Butein induces cell apoptosis and inhibition of cyclooxygenase2 expression in A549 lung cancer cells". *Mol Med Rep*, 9 (2), p.763-767.
22. Torabzadeh, P., Dezfulian, M., (2013). "Cytotoxicity study of aqueous extract of Physalis alkekengi on U937 cell line". *Plasma Biomark J*, 6 (4), p.15-25. [In Persian]
23. Izadi, M., Teimouri, M., Safari, M., (2019). "Effect of hydroalcoholic extract of Physalis alkekengi on the growth of a tumor of breast cancer associated with positive steroid receptor in mice". *J Dev Biol,* 11 (4), p.17-24. [In Persian]
24. Manikandan, R., Beulaja, M., Arulvasu, C., Sellamuthu, S., Dinesh, D., Prabhu, D., (2012). "Synergistic anticancer activity of curcumin and catechin: an in vitro study using human cancer cell lines". *Microsc Res Tech*, 75 (2), p.112-116.
25. Tungmunnithum, D., Tongboonyou, A., Pholboon, A., Yangsabai, A., (2018). "Flavonoids and other phenolic compounds from medicinal plants for pharmaceutical and medical aspects: An overview". *Medicines*, 5(3), p.93.
26. Sabzali, S., Arman, R., Panahi, J., Havasian, M. R., Haghani, K., Bakhtiyari, S,. (2013). "Investigation on the inhibitory effects of hydro-alcoholic extract of Thymbra spicata on the growth of lung cancer cell Line SK-Mes-1". *JIUMS,* 22, p.153-158. [In Persian]