بررسی و مقایسه اثرات ضد سرطانی عصاره متانولی پیاز یزدی (*Allium Jesdianum*) و پیاز تابستانه لرستانی (*Nectaroscordeum Coelzi*) بر روی رشد سلول‌های HeLa و K562

نیلوفر درستی*[1]، ساناز ضرابی[2]، شهلا احمدی[3]، رضا رستمی[4]، مرضیه رشیدی پور[2]

۱- استادیار، گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران.

۲- کارشناس ارشد، مرکز تحقیقات داروهای گیاهی رازی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم‌آباد، ایران.

۳- کارشناس ارشد، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی لرستان، خرم‌آباد، ایران.

۴- کارشناس، مرکز تحقیقات داروهای گیاهی رازی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم‌آباد، ایران.

یافته / دوره نوزدهم / شماره ۱ / بهار ۹۶ / مسلسل ۷۱

چکیده

دریافت مقاله: ۹۵/۱۰/۱۸ پذیرش مقاله: ۹۵/۱۲/۲۴

مقدمه: سرطان یک بیماری پیچیده با تغییرات ژنتیکی می‌باشد. از جمله روش‌های متعددی که برای بهبود و پیشگیری این بیماری بکار می‌رود شیمی درمانی است که با توجه به مقاومت دارویی، اثرات جانبی داروهای سنتزی و اثبات پتانسیل دارویی بالای گیاهان، هدف از این مطالعه بررسی اثرات سمیت دو گیاه پیاز تابستانه لرستانی و پیاز یزدی از دسته لیلیاسه و مقایسه اثرات آنها در برابر دو سلول سرطانی انسان از رده سلول خون K562 و گردنه رحم HeLa می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در یک مطالعه تجربی پس از تهیه عصاره متانولی دو گیاه پیاز تابستانه لرستانی و پیاز یزدی، اثر سمیت هر کدام بر روی رشد سلول‌های سرطانی انسان از نوع خونی K562 و گردنه رحم HeLa در مقایسه با داروی استاندارد سیکلوفسفامید در طی زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت با غلظت از ۳۱/۲۵ تا ۲۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر با استفاده از آزمون MTT مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: نتایج بیولوژیکی بدست آمده در محیط آزمایشگاهی حاکی از آن است که سمیت عصاره‌های متانولی گیاهان مطالعه شده در این تحقیق وابسته به دوز می‌باشد و افزایش غلظت موجب کاهش معنی‌دار سلول‌های سرطانی می‌شود. بر اساس داده‌های بدست آمده بیشترین سمیت ۴۸ ساعت پس از افزایش عصاره این گیاهان اتفاق می‌افتد. همچنین آزمون MTT نشان داد که عصاره متانولی پیاز تابستانه لرستانی اثر سمیت بیشتری در مقایسه با پیاز یزدی بر علیه سلول HeLa داشت. درصورتی‌که بر اساس این آزمون حساسیت سلول K562 به عصاره پیاز یزدی بیشتر از عصاره پیاز تابستانه بود ($P<0/01$). علاوه‌براین، عصاره گیاهان سمیت بیشتری در مقابل سلول‌های مطالعه شده از داروی سیکلوفسفامید نشان داد.

بحث و نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج بدست آمده عصاره متانولی پیاز یزدی و پیاز تابستانه لرستانی در غلظت‌های به‌کار رفته دارای اثرات سمیت بر روی سلول‌های K562 و HeLa می‌باشد. لذا می‌توان جهت مطالعات بیشتر در محیط بدن موجود زنده از عصاره این گیاهان استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی: سرطان، پیاز تابستانه لرستانی، پیاز یزدی، سلول K562، سلول HeLa، سمیت.

* آدرس مکاتبه: خرم‌آباد، دانشگاه لرستان، دانشکده علوم پایه، گروه شیمی.

پست الکترونیک: nilufardorosti@gmail.com

مقدمه

هرساله سرطان با بیش از ۱۱ میلیون مرگ و میر از مشکلات سلامت انسان پس از بیماری قلبی عروقی بشمار می‌آید. بر اساس آمار جهانی تا سال ۲۰۳۰، ۲۱/۴ میلیون نفر به این بیماری مبتلا خواهند شد (۳-۱). سرطان یک بیماری پیچیده با تغییرات ژنتیکی متعدد است. سرطان موضعی توسط جراحی خارج می‌گردد، اما سرطان پس از متاستاز توسط شیمی درمانی در ترکیب با جراحی یا رادیوتراپی خارج می‌شود. با وجود نقش مهمی که شیمی درمانی در پیشگیری و بهبود سرطان دارد اما موفقیت آن توسط مقاومت دارو و اثرات جانبی محدود می‌شود. معرف‌های شیمی درمانی به‌کار رفته شده ترکیباتی سمی و محدودیت‌های متعددی از جمله عدم گزینش‌پذیری نسبت به سلول‌های سرطانی، مشکل مقاومت دارویی و دارای ضریب درمانی پایین هستند. عدم گزینش‌پذیری مسئول اثرات جانبی محدودکننده دوز همراه با معرف‌های سمی می‌باشد؛ بنابراین، روش‌های درمانی نو با ترکیبات جدید درگیر در درمان تومور بایستی بکار برد. این روش‌های جدید، راه‌های متعددی برای پیداکردن داروهای ضدسرطان جدید می‌باشد (۴). سرطان گردنه رحم (Cervical Cancer) دومین سرطان شایع در زنان پس از سرطان پستان می‌باشد و سالانه تقریبا ۴۹۳ هزار مورد جدید آن تشخیص داده می‌شود. در کشورهای در حال توسعه پیش‌بینی می‌شود که تا سال ۲۰۲۰ این رقم به بیش از ۹۰٪ جمعیت مبتلا به سرطان خواهد رسید (۵). همچنین لوسمی (Leukemia) یکی از انواع مهم سرطان است که در طیف وسیعی از جمعیت به‌ویژه در کودکان مشاهده می‌گردد. سلول‌های سرطان خون منجر به جلوگیری از عملکرد سلول‌های طبیعی خون و در بسیاری موارد منجر به مرگ می‌شوند (۶). از این رو، توسعه درمان‌های نوآورانه و شناسایی داروهای مؤثرتر برای تحقیقات سرطان دارای اولویت بالایی می‌باشد. مطالعات در سرتاسر جهان حاکی از این است که داروهای با منشاء گیاهی توجه بسیاری از محققین و مردم را به علت اثرات جانبی کم یا نبود اثرات جانبی به خود جلب نموده‌اند. لذا تحقیقات وسیعی در سرتاسر دنیا در جهت کشف ترکیبات طبیعی که باعث مهار روند سرطان یا کاهش درد گردند در حال انجام می‌باشد (۱۰-۷). در بسیاری از مطالعات به نقش مهم طب مکمل در بسیاری از جوامع نیز اشاره شده است. گیاهان دارویی غالباً فعالیت آنتی اکسیدانی دارند (۱۳-۱۱) و بیش از درد و التهاب، بر روی تعداد زیادی از بیماری‌ها نظیر دیابت و سرطان که باعث افزایش رادیکال‌های آزاد و در نتیجه ایجاد درد می‌شوند، مؤثر هستند (۱۶-۱۴). درگذشته، گیاهان دارویی به علت سهولت دسترسی و عوارض جانبی کمتر، از جایگاه ویژه‌ای در علم پزشکی برای درمان بیماری‌های رایج بشری برخوردار بوده‌اند. طی بررسی‌های به عمل آمده، استان لرستان یکی از مناطق کشور با گسترش و پراکندگی گیاهان دارویی بسیار غنی می‌باشد (۱۷). خانواده Liliaceae یکی از مهم‌ترین دسته از گیاهان است که باارزش‌ترین گونه آن از حیث خوراکی و دارویی پیاز می‌باشد. پیاز یزدی (*Allium Jesdianum*) با نام محلی بن‌سرخ و پیاز تابستانه لرستانی (*Nectaroscordeum Coelzi*) با نام محلی انشک از این طبقه هستند (۱۷). پیاز یزدی گیاه گلداری است که در ارتفاعات ۲۶۰۰-۱۸۰۰ متری زاگرس به‌طور وحشی می‌روید (۱۸،۱۹) و برای درمان دردهای شکمی، روماتیسم، سنگ کلیه و استفراغ بکار می‌رود (۲۰). همچنین خواص ضد درد این گیاه گزارش شده است. پیاز تابستانه لرستانی گیاه دارای بالب‌هایی تقریباً کروی با قطر ۶-۳ سانتی‌متر و ارتفاع ۵-۳ سانتی‌متر با یک پوسته بیرونی به رنگ متمایل به قهوه‌ای است. برگ‌های راست، نوک تیز و صاف آن به رنگ سبز مایل به زرد می‌باشد. با ارتفاع ۷۰-۴۰ سانتی‌متر و

قطر ۱۰-۶ سانتی‌متر که حدود ۷-۳ سانتی‌متر آن زیر خاک رشد می‌کند. در طب سنتی به عنوان آرام‌بخش و برای درمان دردهای مفصلی و روماتیسم کاربرد دارد (۲۱). این گیاه به صورت سنتی برای درمان عفونت‌های میکروبی بکار می‌رود. برخی مطالعات تأثیر عصاره آبی این گیاه را علیه کاندیدا آلبیکنس بررسی نمودند (۲۲). با توجه به بررسی‌های به عمل آمده تاکنون در خصوص سمیت عصاره این گیاهان برعلیه سلول‌های سرطانی بندرت تحقیقی علمی صورت گرفته است. لذا هدف از مطالعه حاضر بررسی و مقایسه اثر سمیت عصاره پیاز یزدی و پیاز تابستانه لرستانی بر رده‌های سلول خونی K562 و سلول گردنه رحم HeLa به روش MTT و تعیین مرگ سلولی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

تهیه نمونه گیاه و عصاره

پیاز تابستانه لرستانی با نام علمی *Nectaroscordeum Coelzi* و نام محلی انشک و پیاز یزدی با نام علمی *Allium Jesdianum* و نام محلی بن‌سرخ از ارتفاعات سفیدکوه خرم‌آباد توسط گیاه‌شناس جمع‌آوری و در مرکز تحقیقات کشاورزی به ترتیب با شماره‌های ۱۱۲۵۳ و ۵۵۲۰ کدگذاری گردید. ۳۰ گرم پیاز یزدی و ۲۵ گرم پیاز تابستانه لرستانی توسط ۷۵ و ۵۰ میلی‌لیتر حلال هیدروالکلی متانول (۱:۳) خیسانده شد. محلول‌های بدست آمده جهت تغلیظ توسط دستگاه روتاری تحت تقطیر در خلاء قرار گرفته و حلال آنها تبخیر گردید. عصاره‌های بدست آمده در یخچال نگهداری شد و قبل از انجام آزمایشات غلظت مورد نظر از عصاره در آب مقطر تهیه گردید.

کشت سلولی

دو رده سلولی K562 (سلول خونی) و HeLa (سلول گردنه رحم) از انستیتو پاستور ایران خریداری گردید. پس از دفریز کردن در فلاسک‌های ۲۵ سانتی‌متر مربع کشت داده شدند. جهت کشت سلول K562 از محیط کشت RPMI حاوی ۱۰ درصد FBS و جهت کشت سلول HeLa از محیط کشت MEM حاوی ۱۰ درصد FBS به همراه L-گلوتامین استفاده گردید.

پس از پر شدن کف فلاسک به اندازه ۸۰-۵۰ درصد از سلول، با توجه به چسبنده بودن سلول HeLa به کف فلاسک، از تریپسین جهت جداسازی استفاده گردید. به این ترتیب که محیط کشت داخل فلاسک‌ها خارج و سلول‌ها توسط DMEM بدون سرم شستشو داده شدند. پس از آن تریپسین به مقداری که کف فلاسک‌ها را بپوشاند به فلاسک اضافه شد و به مدت ۳ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید.

سپس فلاسک‌ها از انکوباتور خارج و زیر میکروسکوپ بررسی شدند. سلول‌ها از کف پلیت جدا و به صورت تک سلول درآمدند. جهت خنثی نمودن تریپسین، به فلاسک محیط کشت DMEM حاوی FBS ۱۰٪ اضافه و دیواره فلاسک‌ها را با پر و خالی نمودن ملایم پیپت پاستور شستشو داده شد. سلول‌ها داخل لوله فالکون منتقل و سانتریفوژ شدند. پس از جدا نمودن محلول رویی و اضافه نمودن محیط کشت تازه سلول‌ها شمارش گردیدند.

سلول K562 ($10^3\times$ ۵ در هر چاهک) و سلول چسبنده HeLa ($10^3\times$ ۴ در هر چاهک) در پلیت‌های ۹۶ خانه برای مدت ۲۴ ساعت قبل از افزودن عصاره در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در اتمسفری از CO_2 ۵٪ قرار گرفتند.

پس از گذشت ۲۴ ساعت از انکوبه شدن سلول‌های ریخته شده در پلیت ۹۶ خانه، ۱۰۰ میکرولیتر از هر عصاره حل شده توسط آب دیونیزه به غلظت از ۳۱/۲۵ به ۲۵۰ میکروگرم بر لیتر درون هر چاهک اضافه گردید. علاوه‌براین، در این تحقیق داروی استاندارد سیکلوفسفامید به عنوان کنترل (غلظت ۳ تا ۱۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) و یک گروه بدون تیمار دارویی نیز

در کنار مطالعه مورد استفاده قرار گرفت. تمام آزمایشات با سه بار تکرار انجام شد.

آزمون MTT

محلول نمک دی‌متیل‌تیازول-۲-ایل-۲، ۵-دی فنیل-تترازولیوم بروماید در غلظت ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در بافر تهیه گردید. پس از انکوباسیون سلول‌ها با عصاره در زمان موردنظر، محیط رویی سلول‌ها خارج و به هر چاهک ۱۰۰ میکرولیتر از محلول MTT اضافه شد و مدت ۳ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید. پس از این زمان محتویات خارج و به آن ۲۰۰ میکرولیتر DMSO اضافه و پس از همگن شدن و ظهور رنگ بنفش در طول موج ۵۴۰ نانومتر توسط الایزا جذب‌ها خوانده شدند. در پایان با رسم منحنی، مقدار IC_{50} نمونه‌ها که بیانگر غلظتی از نمونه می‌باشد و توسط آن ۵۰ درصد رشد سلول‌ها مهار می‌شود، محاسبه گردید (۲۳).

یافته‌ها

در مطالعه تجربی حاضر عصاره متانولی دو گیاه پیاز تابستانه لرستانی و پیاز یزدی بر روی دو دسته سلول سرطانی انسانی از رده خونی (K562) و از رده گردنه رحم (HeLa) توسط روش MTT مورد بررسی و مقایسه قرار گرفت. داده‌های بدست آمده در جدول شماره ۱ آورده شده است.

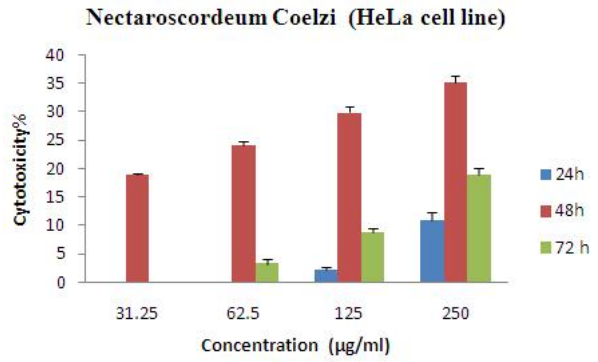
همچنین نتایج منفی احتمالاً بدلیل رشد سلول می‌باشد لذا داده‌های منفی در برخی غلظت‌ها و بعضی زمان‌ها در شکل‌ها گزارش نشده است. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که عصاره متانولی گیاهان پیاز تابستانه و پیاز یزدی برعلیه سلول HeLa سمیت وابسته به دوز داشته بطوریکه با افزایش غلظت از ۳۱/۲۵ به ۲۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر اثر سمیت بیشتری نشان داد (شکل ۱ و ۲).

همچنین پارامتر زمان در خصوص این سلول مورد بررسی و داده‌ها حاکی از این است که با افزایش زمان از ۲۴ ساعت به ۴۸ ساعت اثر سمیت بیشتری از عصاره‌های به‌کاررفته مشاهده گردید. از شکل‌های ۱ و ۲ بدست آمد که با سپری شدن ۷۲ ساعت، اثر سمیت عصاره‌های مطالعه شده کاهش یافته و سلول‌ها شروع به رشد نمودند.

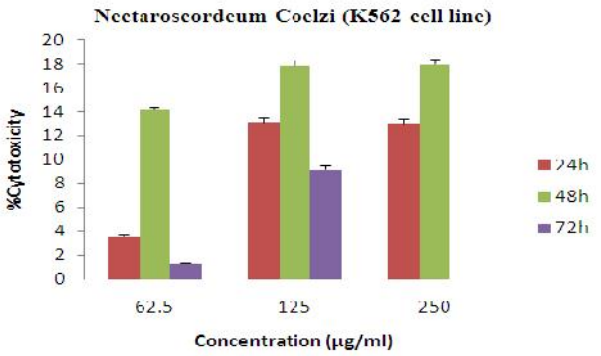
لذا با مطالعه زمان مشاهده گردید که بیشترین اثر سمیت ۴۸ ساعت پس از افزودن عصاره گیاه می‌باشد. بررسی‌های مقایسه‌ای عصاره‌های حاصل بیانگر این است که بیشترین اثر ضد سرطانی را عصاره گیاه پیاز تابستانه لرستانی در برابر سلول HeLa از خود نشان داد (شکل ۳).

علاوه براین، مطالعه و بررسی تأثیر عصاره گیاهان نامبرده بر روی سلول K562 نشان داد که حساسیت این سلول نیز به غلظت عصاره‌ها بستگی دارد (شکل ۴ و ۵). افزایش غلظت از ۳۱/۲۵ تا ۲۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر با مهار و کاهش بیشتر رشد سلول‌ها همراه است. بطوریکه بیشترین اثرات ضد سرطانی در بالاترین غلظت ۲۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر مشاهده گردید.

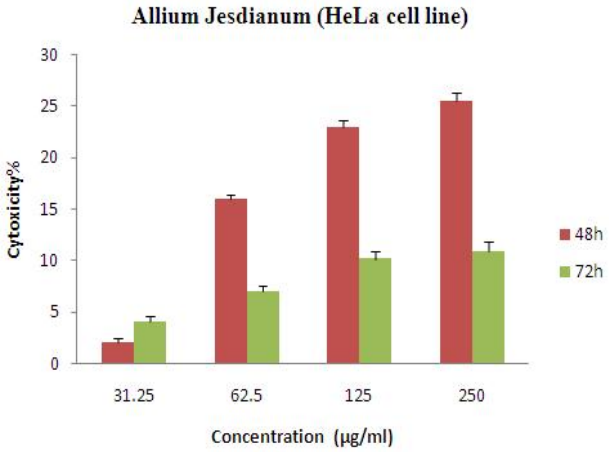
به‌طور مشابه همانطور که از شکل‌های ۴ و ۵ مشاهده می‌شود عصاره‌ها اثر سمیت بیشتری در زمان ۴۸ ساعت بر روی سلول‌های K562 دارند. علاوه براین، برخلاف سلول HeLa، عصاره گیاه پیاز یزدی تأثیر بیشتری در مقایسه با پیاز تابستانه از خود نشان داد (شکل ۶).



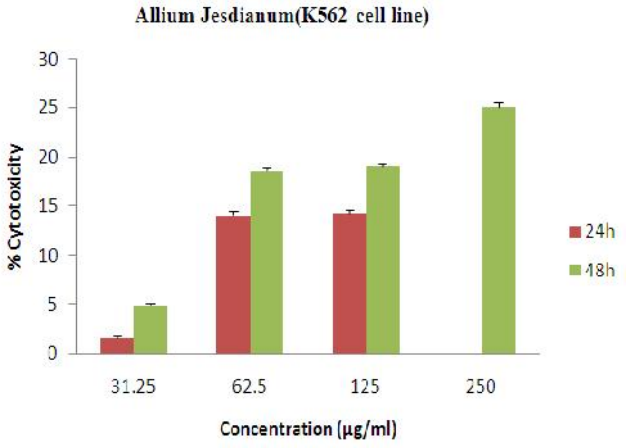
شکل ۱. اثر سمیت عصاره متانولی گیاه پیاز تابستانه لرستانی در برابر سلول سرطانی HeLa



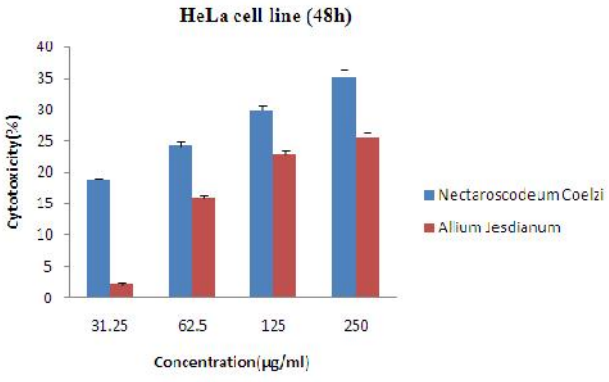
شکل ۴. اثر سمیت عصاره متانولی گیاه پیاز تابستانه لرستانی در برابر سلول سرطانی K562



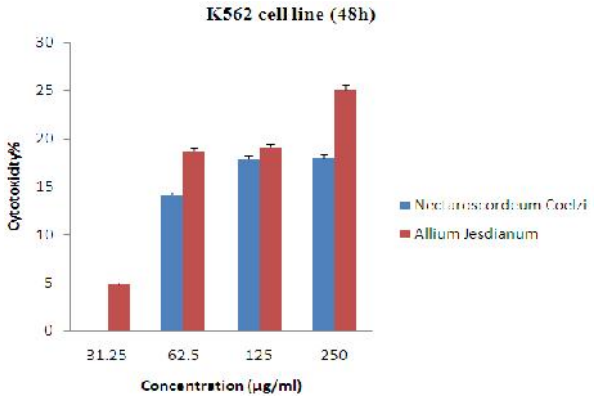
شکل ۲. اثر سمیت عصاره متانولی گیاه پیاز یزدی در برابر سلول سرطانی HeLa



شکل ۵. اثر سمیت عصاره متانولی گیاه پیاز یزدی در برابر سلول سرطانی K562



شکل ۳. اثر سمیت عصاره متانولی پیاز تابستانه لرستانی و پیاز یزدی در برابر سلول سرطانی HeLa ۴۸ ساعت پس از افزودن عصاره



شکل ۶. اثر سمیت عصاره متانولی گیاه پیاز تابستانه لرستانی و پیاز یزدی در برابر سلول سرطانی K562 ۴۸ ساعت پس از افزودن عصاره

جدول ۱. نتایج تست MTT بر رده‌های سلولی سرطان انسانی

	IC_{50}* ±SD				
	۲۴ ساعت	۴۸ ساعت	۷۲ ساعت	۲۴ ساعت	۴۸ ساعت	۷۲ ساعت
	HeLa			K562		
پیاز تابستانه لرستانی	۸۰۸/۴۷±۰/۵۷	۴۵۱/۱۶±۰/۲۵	۶۲۴/۲۸±۰/۴۱	۶۴۰/۷۸±۰/۴۷	۶۲۱/۲۷±۰/۴۵	۱۳۵۱/۵±۱/۱۶
پیاز یزدی	-	۴۹۳/۰۹±۰/۳۲	۱۶۱۶/۹۶±۱/۲۹	۷۲۱/۳۸±۰/۵۲	۵۷۶/۷۱±۰/۳۸	-
سیکلوفسفامید	۴۴/۹۷±۰/۱۲	۳۲/۵۵±۰/۲۰	۱۳۸/۳۷±۰/۳۱	۲۶۵/۳۲±۰/۲۳	۲۷/۸۸±۰/۱	۹۸/۳۶±۰/۱۹

* مقادیر IC_{50} عصاره گیاهان پیاز تابستانه و پیاز یزدی برحسب µg/ml و برای سیکلوفسفامید mg/ml می‌باشد ($P < ۰/۰۱$).

بحث و نتیجه گیری

بر اساس آمار سازمان بهداشت جهانی، حدود ۸۰٪ جمعیت کشورهای در حال توسعه از درمان‌های سنتی برای برطرف نمودن نیازهای اولیه مراقبت‌های بهداشتی خود استفاده می‌نمایند. ۷۸٪ ترکیبات ضد باکتری و ۷۴٪ ترکیبات ضدسرطان فرآورده‌های طبیعی هستند و یا از آنها مشتق می‌گردند (۲۴،۲۵). داروهای ضد سرطانی نظیر وینکریستین، آیرینوتکان و اتوپوزاید از منابع گیاهی، بلئومایسین و دکسوروبیسین از منابع دریایی استخراج شده‌اند (۲۶). گیاهان دارویی برای تحقیقات و توسعه داروها به صورت مستقیم و یا به عنوان ترکیب راهنما در سنتز داروها استفاده دارند. گزارش شده است که بیش از ۳۰۰۰ گیاه با ویژگی‌های ضدسرطان در سرتاسر جهان شناخته شده است (۲۷). بر اساس نتایج برخی دیگر از مطالعات، بیش از ۳۰٪ بیماران سرطانی از عصاره‌های گیاهی برای درمان استفاده می‌کنند (۲۸،۲۹). مطالعات زیادی برای پیشگیری، کاهش درد و درمان سرطان با بکار بردن گیاهان دارویی در حال انجام می‌باشد. در آسیا، حدود ۶۲-۴۰٪ از بیماران مبتلا به سرطان تمایل به استفاده از گیاهان سنتی آسیایی برای درمان دارند (۳۰،۳۱). مطالعه‌ای در بیمارستانی از تایلند بر روی بیماران سرطانی نشان داد که مزایای داروهای گیاهی به مراتب بیشتر از معایب آن می‌باشد (۳۲). از این رو بررسی و مطالعات اثرات ضد سرطانی گیاهان و فراهم نمودن اطلاعاتی برای محققین بسیار ضروری می‌باشد. در بررسی انجام شده در سال ۲۰۰۹ توسط هیراتا و همکاران در خصوص امکان افزایش اثر ضد سرطانی توسط گیاهان، عصاره چهار گونه سدابیان (*Citrus tachibna*، *Citrus canaliculata*، *Citrus tamurana*، *Citrus kinokuni*) در برابر سرطان روده سلول HT-29 مورد آزمایش و مقادیر IC_{50} ۵۷، ۳۱، ۴۵ و ۴۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر گزارش گردید (۳۳). در پژوهش انجام شده توسط صادقی و همکاران در سال ۲۰۱۳ در خصوص اثرات ضد سرطانی گیاه مرزه (*Satureja Intermedia*) در تالش اثرات سمّیت عصاره این گیاه بر روی سلول‌های سرطان مری (KSE30) و سرطان مثانه (S637) تأیید گردید (۳۴). در بررسی لاوی و همکاران در سال ۲۰۱۳ نیز مشخص گردید قارچ‌های خوراکی موجب افزایش اثرات مهارکنندگی برعلیه سلول‌های سرطانی HeLa و سرطان خون T4 می‌شود، اما موجب کشته شدن و مرگ سلول‌ها نخواهد شد (۳۵). ایران یکی از هفت کشور آسیایی در خصوص گیاهان دارویی می‌باشد. تحقیقات نشان داده است که داروی ایرانی با عنوان Spinal-Z برای درمان بسیاری از سرطان‌ها در انسان به‌ویژه سرطان خون مؤثر است. این دارو شامل عصاره دو گیاه دانه اسپند (*Peganum harmala* Linn Seed) و برگ بادرنجبویه (*Dracocephalum Kotschyii*) می‌باشد که خود تأییدی بر وجود پتانسیل ضد سرطانی گیاهان است (۳۶). فروزنده و همکاران در سال ۲۰۱۴ خاصیت ضد سرطانی عصاره هیدروالکلی دانه اسپند را در مقابل سلول HeLa گزارش نمودند

(۳۷). مطالعه حاضر اثر مهاری عصاره پیاز تابستانه و پیاز یزدی را در ۴۸ ساعت به‌خوبی نشان می‌دهد (جدول ۱). مقدار IC_{50} برابر با ۴۵۱/۱۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر برای پیاز تابستانه برعلیه سلول HeLa نسبت به پیاز یزدی با IC_{50} ۴۹۳/۰۹ میکروگرم بر میلی‌لیتر حاکی از اثر سمّیت بیشتر آن است. علاوه براین همانطور که در جدول نشان داده شده است، پیاز یزدی با IC_{50} برابر ۵۷۶/۷۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر در برابر سلول K562 اثر سمّیت بیشتری در مقایسه با پیاز تابستانه با IC_{50} برابر ۶۲۱/۲۷ میکروگرم بر میلی‌لیتر نشان داد. این نتایج بیانگر وابستگی IC_{50} عصاره به نوع سلول و متفاوت بودن آن در رده سلول های مختلف می‌باشد که در نتایج حاصل از تحقیقات دیگر محققین نیز گزارش شده است (۳۸). همچنین بررسی‌ها نشان دادند که اثرات سمیت داروی سیکلوفسفامید (IC_{50}: ۳۲/۵۵ و ۲۷/۸۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به ترتیب در برابر سلول‌های HeLa و K562) حاکی از تأثیر کمتر این دارو در مقایسه با عصاره گیاهان مطالعه شده در این تحقیق می‌باشد. استروئیدهای گلیکوزیدی منبع مهمی از پیاز یزدی هستند که موجب اثرات سایتوتوکسیک و سایتواستاتیک علیه سلول‌های توموری بدخیم می‌شود (۳۹). مرفین سیلریت و اتیل سینامیت نیز به عنوان مواد ضددرد برگ این گیاه تشخیص داده شده است (۴۰،۴۱). بر اساس مطالعات، عصاره الکلی پیاز تابستانه نیز حاوی آلکالوئیدها، ساپونین‌ها و تانن‌ها می‌باشد (۴۲) که به نظر می‌رسد این ترکیبات مؤثر در ویژگی ضد سرطانی هستند. نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که عصاره گیاه پیاز تابستانه و پیاز یزدی دارای اثرات ضد سرطانی بوده و دوز عصاره، زمان و نوع سلول بر روی میزان سمّیت آن تأثیر بسزایی دارد. این مطالعه اولین بررسی صورت گرفته در زمینه ویژگی‌های ضد سرطانی پیاز تابستانه لرستانی و پیاز یزدی است و لذا می‌توان آنها را گزینه‌ای مناسب جهت تحقیقات بیشتر معرفی نمود. یافته‌های موجود در این مطالعه می‌تواند راهگشای مطالعات دیگری در زمینه عصاره‌های متفاوت این گیاهان و سلول‌های سرطانی مختلف باشد تا مؤثرترین عصاره برای بهترین اثر بر روی سلول مناسب سرطانی کشف گردد.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از آقایان دکتر بهرام رسولیان و دکتر بهروز عزت‌پور از مرکز تحقیقات داروهای گیاهی رازی دانشگاه علوم پزشکی لرستان که این تحقیق با استفاده از امکانات آن مرکز انجام گرفت تشکر و قدردانی می‌گردد.

References

1. Zhang JY. Apoptosis-based anticancer drugs. Nat Rev Drug Disc. 2002; 1: 101-102.
2. Buolamwini JK. Novel anticancer drug discovery. Curr Opin Chem Biol. 1999; 3: 500-509.
3. Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin, DM. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008. Int J Cancer. 2010; 127: 2893-2917.
4. Chen Y, Hu L. Design of Anticancer Prodrugs for Reductive Activation. Med Res Rev. 2009; 29(1): 29-64.
5. Parkin DM, Bray F. The burden of HPV-related cancers. Vaccine. 2006; 24(3): 11-25.
6. Heinrich SD, Gallagher D, Warrior R, Phelan K, George VT, McEwen GD. The prognostic significance of the skeletal manifestations of acute lymphoblastic leukemia of childhood. J Pediatr Orthop.1994; 14(1): 105-111.
7. Roberge M, Cinel B, Anderson HJ, Lim L, Jiang X, Xu L, et al. Cell-based screen for antimitotic agents and identification of analogues of rhizoxin, eleutherobin, and paclitaxel in natural extracts. Cancer Res. 2000; 60: 5052-5058.
8. Huerta S, Arteaga JR, Irwin RW, Ikezoe T, Heber D, Koeffler HP. PC-SPES inhibits colon cancer growth in vitro and in vivo. Cancer Res. 2002; 62: 5204-5209.
9. Zhang DY, Wu J, Ye F, Xue L, Jiang S, Yi J, et al. Inhibition of cancer cell proliferation and prostaglandin E2 synthesis by Scutellaria baicalensis. Cancer Res. 2003; 63: 4037-4043.
10. Won HJ, Han CH, Kim YH, Kwon HJ, Kim BW, Choi JS, et al. Induction of apoptosis in human acute leukemia Jurkat T cells by Albizza julibrissin extract is mediated via mitochondria dependent caspase-3 activation. J Ethnopharmacol. 2006; 106: 383-389.
11. Kafash-Farkhad N, Asadi-Samani M, Rafieian-Kopaei M. A review on phytochemistry and pharmacological effects of Prangos ferulacea (L.) Lindl. Life Sci J. 2013; 10(8): 360-367.
12. Nasri H, Rafieian-Kopaei M. Oxidative stress and aging prevention. Int J Prev Med. 2013; 4(9): 1101-1102.
13. Baradaran A, Nasri H, Rafieian-Kopaei M. Oxidative stress and hypertension: possibility of hypertension therapy with antioxidants. J Res Med Sci. 2014; 19(4): 358-367.
14. Mirhoseini M, Baradaran A, Rafieian-Kopaei M. Medicinal plants, diabetes mellitus and urgent needs. J Herb Med Pharmacol. 2013; 2(2): 53-54.
15. Shirzad H, Taji F, Rafieian-Kopaei M. Correlation between antioxidant activity of garlic extracts and WEHI-164 fibrosarcoma tumor growth in BALB/c mice. J Med Food. 2011; 14(9): 969-974.
16. Shirzad H, Shahrani M, Rafieian-Kopaei M. Comparison of morphine and tramadol effects on phagocytic activity of mice peritoneal phagocytes in vivo. Int Immunopharmacol. 2009; 9(7): 968-970.
17. Ahmadi SH, Babakhalo P, Karimifar MA. Medicinal plants of Lorestan province. Yafteh. 2010, 11(1): 85-100.
18. Rechinger KH. Flora Iranica. 1992; 165: 223-225.

19. Rechinger KH. Flora Iranica. 2005; 182: 84-86.
20. Shafeezadeh F. Herbal medicine of Lorestan. 2003; 8(2): 49-50.
21. Kubec RS, Kim DM, McKeon R, Musah A. Isolation of S-n-butylcysteine sulfoxide and six n-butyl-containing thiosulfinates from Allium siculum. J Nat Prod. 2002; 65: 960-964.
22. Panahi J, Havasiyan MR, Gheitasi S, Pakzad I, Jaliliyan A, Hoshmandfar R, et al. The in-Vitro Inhibitory Effects of the Aqueous Extracts of Summer Onion on Candida Albicans. Sci J Ilam Univ Med Sci. 2013; 21(1): 54-59.
23. Dorosti N, Delfan B, Gholivand KH, Ebrahimi Valmoozi AA. Synthesis, crystal structure, biological evaluation, electronic aspects of hydrogen bonds, and QSAR studies of some new *N*-(substituted phenylurea) diazaphosphore derivatives as anticancer agents. Med Chem Res. 2016; 25(4): 769-789.
24. Yang H, Zheng S, Meijer L, Li SM, Leclerc S, Yu LL, et al. Screening the active constituents of Chinese medicinal herbs as potent inhibitors of Cdc25 tyrosine phosphatase, an activator of the mitosis-inducing p34cdc2 kinase. J Zhejiang Univ Sci. 2005; 6(7): 656-663.
25. Gordaliza M, Castro MA, Del Corral JM, Feliciano AS. Antitumor properties of podophyllotoxin and related compounds. Curr Pharm Des. 2000; 6(18):1811-1839.
26. Ghose KA, Herbertz T, Salvino MJ, Mallamo PJ. Knowledge-based chemoinformatic approaches to drug discovery. Drug Discov. 2006; 11(23): 1107-1114.
27. Alonso-Castro AJ, Villarreal ML, Salazar-Olivo LA, Gomez-Sanchez M, Dominguez F, Garcia-Carranca A. Mexican medicinal plants used for cancer treatment: Pharmacological, phytochemical and ethnobotanical studies. J Ethnopharmacol. 2011; 133: 945-972.
28. Gerson-Cwilich R, Serrano-Olvera A, Villalobos-Prieto A. Complementary and alternative medicine (CAM) in Mexican patients with cancer. Clin Trans Oncol. 2006; 8(3): 200-207.
29. Gómez-Martinez R, Tlacuilo-Parra A, Garibaldi-Covarrubias R. Use of complementary and alternative medicine in children with cancer in Occidental Mexico. Pediatr Blood Cancer. 2007; 49: 820-823.
30. Gozum S, Tezel A, Koc M. Complementary alternative treatments used by patients with cancer in eastern Turkey. Cancer Nurs. 2003; 26(3): 230-236.
31. Richardson MA, Sanders T, Palmer JL, Greisinger A, Singletary SE. Complementary/alternative medicine use in a comprehensive cancer center and the implications for oncology. J Clin Oncol. 2000; 18(13): 2505-2514.
32. Poonthananiwatkul B, Lim RH, Howard RL, Pibanpaknitee P, Williamson EM. Traditional medicine use by cancer patients in Thailand. J Ethnopharmacol. 2015; 168: 100-107.
33. Hirata T, Fujii M, Akita K, Anaka N, Ogawa K, Kuroyanagi M, et al. Identification and physiological evalution of the components from citrus fruits as potential drugs for anti-

copulence and anticancer. Bioorg Med Chem. 2009; 17(1): 25-28.
34. Sadeghi I, Yousefzadi M, Behmanesh M, Sharifi M, Moradi A. In vitro Cytotoxic and Antimicrobial Activity of Essential Oil From Satureja Intermedia. Iran Red Cres Med J. 2013; 15(1): 70-74.
35. Lovy A, Knowles B, Labbe R, Nolan L, Activity of Edible Mushrooms Against the Growth of Human T4 Leukemic Cancer Cells, HeLa Cervical Cancer Cells, and Plasmodium falciparum. J Herbs Spices Med Plants. 2013; 20(22): 49-57.
36. Sobhani AM, Ebrahimi SA, Mahmoudian M. An in vitro evaluation of human DNA topoisomerase I inhibition by Peganum harmala L. seeds extract and its beta-carboline alkaloids. J Pharm Sci. 2002; 5: 19-23.
37. Forouzandeh F, Salimi S, Naghsh N, Zamani N, Jahani S. Evaluation of anti-cancer effect of Peganum harmala L hydroalcholic extract on human cervical carcinoma epithelial cell line. J Shahrekord Univ Med Sci. 2014; 16(4): 1-8.
38. Yesil-Celiktas O, Sevimli C, Bedir E, Vardar-Sukan F. Inhibitory Effects of Rosemary Extracts, Carnosic Acid and Rosmarinic Acid on the Growth of Various Human Cancer Cell Lines. Plant Food Hum Nutr. 2010; 65: 158-163.
39. Mimaki Y, Kuroda M, Fukasawa T, Sashida Y. Steroidal glycosides from the bulbs of Allium jesdianum. J Nat Prod. 1999; 62(1): 194-197.
40. Ekaterina P. Study on quinolini antagonists of immunostimulator CPG-oligodexy nuclcotedis. Bioorg Med Chem. 1999; 24: 87-94.
41. Adams RP. Identification of essential oil Components by gas chromatography/mass spectroscopy. Allured Publishing Corporation: Illinoise. 1994: 235-237.
42. Jafari A, Razazan M, Eizadpanah S. Phytochemistry of Nectaroscordum Tripedale. 18th Iranian congress of physiology and pharmacology. Tehran. 2007.

Anticancer activity evaluation of methanolic extract of Allium Jesdianum and Nectaroscordeum Coelzi against HeLa and K562 cell lines

***Dorosti N*[*1], Zarabi S[2], Ahmadi Sh[3], Rostami R[4], Rashidi Pour M[2]**

1. Assistant Professor, Department of Chemistry, Faculty of Basic Science, Lorestan University, Khorramabad, Iran, nilufardorosti@gmail.com

2. MSc, Razi Herbal Medicines Research Centre, Lorestan University of Medical Sciences, Khorramabad, Iran

3. MSc, Agricultural Research Center of Lorestan, Khorramabad, Iran

4. Expert of Razi Herbal Medicines Research Centre, Lorestan University of Medical Sciences, Khorramabad, Iran

Received: *7 Jun 2017* **Accepted:** *14 Maech 2017*

Abstract

Background : Cancer is a complex disease with genetic alterations. One of the many ways to improve and prevent this patient is chemotherapy that due to the emergence of drug resistance, side effects of synthetic drugs and high medical potential of plants, the aim of this study was to investigate anticancer activity of the methanolic extract of *Allium Jesdianum* and *Nectaroscordeum Coelzi* (Liliaceae family) against human cancer HeLa and K562 cell lines.

Materials and Methods: In an experimental study, after acquiring methanolic *Allium Jesdianum* and *Nectaroscordeum Coelzi* extracts, their effects on HeLa and K562 cell lines were investigated and compared with cyclophosphamide standard drug at 24, 48, 72 hour after incubation and different concentrations of extracts ranging from 31.25 to 250 µg/ml using MTT assay.

Results: *In vitro* biological results indicated that inhibition of the titled cell lines in a dose dependent manner. Also, based on the data obtained, most toxicity is 48 hour after increase of plant extracts. *Nectaroscordeum Coelzi* extract treated HeLa cell line exhibited higher toxic effects than *Allium Jesdianum* extract, whereas *Allium Jesdianum* extract exhibit stronger cytotoxicity than *Nectaroscordeum Coelzi* extract at the tested concentrations on K562 cell lines. Additionally, the screening data reveal that the selected extracts were more potent in comparison with cyclophosphamide against the studied cell lines.

Conclusion: This study demonstrates effectiveness of methanolic *Allium Jesdianum* and *Nectaroscordeum Coelzi* extracts in cervical and leukemia cancer for the first time. Furthermore, the tested extracts can be used to investigate in vivo studies.

Keywords: Cancer, *Nectaroscordeum Coelzi*, *Allium Jesdianum*, K562, HeLa, Cytotoxicity.

***Citation:** Dorosti N, Zarabi S, Ahmadi Sh, Rostami R, Rashidi Pour M. Anticancer activity evaluation of methanolic extract of *Allium Jesdianum* and *Nectaroscordeum* Coelzi against HeLa and K562 cell lines. Yafteh. 2017;19(1): 31-41