مقاله
پژوهشی

ارزیابی فعالیت ضد باکتریایی و سمیت سلولی عصاره اتانولی پیاز گیاه سوسن چلچراغ بر رده سلول سرطانی Hela

باقر سید علی پور[1*]، نسیمه دلفان آذری[2]، محمود اسدی[3]، مجتبی محسنی[4]

[1]استادیار، گروه زیست سلولی و مولکولی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران
[2]کارشناسی ارشد، گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن، تنکابن، ایران
[3]استادیار، گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن، تنکابن، ایران
[4]استادیار، گروه زیست سلولی و مولکولی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران
***نویسنده مسئول:** مازندران، دانشگاه مازندران، دانشکده علوم پایه، گروه زیست سلولی و مولکولی
پست الکترونیک: b.alipour81@gmail.com

چکیده

زمینه و هدف: *فرآورده‌های طبیعی استخراج شده از گیاهان دارویی می‌تواند نقش مهمی در درمان سرطان داشته باشد. این مطالعه به منظور بررسی فعالیت ضد باکتریایی و سمیت سلولی عصاره اتانولی Lilium ledebourii بر رده سلول سرطانی Hela طراحی گردید.*

مواد و روش کار: *در این مطالعه تجربی، عصاره اتانولی پیاز گیاه سوسن چلچراغ استخراج شد و سمیت سلولی آن بر رده سلولی Hela بررسی شد. رده سلولی Hela با غلظت‌های مختلف عصاره (۱۰-۰/۱۵۶ میلی‌گرم بر لیتر) به مدت ۷۲ ساعت تیمار شد و برای بررسی مهار رشد، از آزمون MTT استفاده شد. همچنین فعالیت ضد باکتریایی عصاره این گیاه با روش انتشار از دیسک علیه باکتری‌های سودوموناس آئروژینوزا، باسیلوس سوبتیلیس، استافیلوکوکوس اورئوس و اشریشیا کلی انجام شد. نتایج حاصله توسط نرم‌افزار SPSS مورد تجزیه و تحلیل قرارگرفت.*

یافته ها: *یافته‌ها نشان داد عصاره اتانولی در غلظت‌های مختلف، رشد سلول‌های Hela را بطور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل کاهش داد. بالاترین درصد مهار رشد در غلظت ۱/۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به میزان ۸۷/۴۲ درصد محاسبه شد. همچنین نتایج نشان داد عصاره اتانولی پیاز سوسن چلچراغ دارای فعالیت ضد باکتریایی است. در میان باکتری های مذکور، بیشترین فعالیت ضد باکتریایی عصاره علیه استافیلوکوکوس اورئوس و کمترین فعالیت علیه سودوموناس آئروژینوزا می‌باشد.*

نتیجه‌گیری: *نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که عصاره اتانولی گیاه سوسن چلچراغ دارای فعالیت ضد باکتریایی و سمیت سلولی علیه رده سلولی Hela می‌باشد. لذا به منظور پیدا کردن مکانیسم اساسی این فعالیت، تحقیقات بیشتری باید انجام شود.*

واژه های کلیدی: *Lilium ledebourii، استافیلوکوکوس اورئوس، سودوموناس آئروژینوزا، عصاره اتانولی، آزمون MTT، رده سلولی هِلا*

وصول: ۹۳/۱۱/۱۹
اصلاح: ۹۳/۱۲/۱۲
پذیرش: ۹۴/۲/۱۴

مجله دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی سال ۹۵؛ دوره ۸ (۱): ۷۰-۵۹
Journal of North Khorasan University of Medical sciences 2016;8(1):59-70

[Downloaded from journal.nkums.ac.ir on 2026-11-17]

مقدمه

سرطان عامل بزرگی در مرگ و میر انسان ها بوده و درمان های امروزی آن اغلب چندان موثر نبوده و با اثرات جانبی نامطلوب همراه هستند. بنابراین با در نظر گرفتن عدم پاسخ مطلوب به درمان و رشد سریع بیماری تلاش برای یافتن دارو های موثرتر با سمیت کمتر ضروری است [۱]. بـه کمـک پیشـرفت‌هـای تکنولـوژی در بیوانفورماتیک و تکنیک‌های مولکولی، اطلاعات زیادی بدست آمد که درتشخیص زودرس بیماری سرطان کمک خواهـد کـرد و همچنـین غربالگری به موقع برای بعضی از سرطان ها کمک موثری در تشخیص زودرس آن می نمایـد. امروزه تلاش‌های فراوانی جهت یافتن روش‌های مناسب برای درمان این بیماری صورت پذیرفته که از آن جمله می‌توان به کشف داروهای جدید ضد سرطان که بیش از نیمی از آنها از گیاهان استخراج شده اند، اشاره نمود. در دهه‌های اخیر، گیاهان به عنوان یکی از منابع اصلی مواد فعال بیولوژیکی، برای تهیه داروهای طبیعی جهت درمان سرطان اهمیت جهانی پیدا کرده اند [۲]. عقیده بر این است که اثرات ضد سرطانی گیاهان از طریق مهار آنزیم-های محرک سرطان، کمک به ترمیم DNA، تحریک تولید آنزیم‌های ضد توموری در سلول، افزایش ایمنی بدن و القاء اثرات آنتی‌اکسیدانی ایجاد می‌شوند [۳]. سرطان گردن رحم ششمین سرطان شایع در بین همه انواع سرطان‌ها و دومین سرطان شایع در بین زنان است. سلول Helaرده ای از سلول سرطانی انسانی است که در سال ۱۹۵۱ از سرطان گردن رحم جدا شد و اکنون در بسیاری از مطالعات بر روی سلول‌های سرطانی مورد استفاده قرار می‌گیرد [۴]. سلول‌های HeLa به عنوان نخستین رده سلولی انسانی شناخته شد که در مقایسه با سایر رده‌های سلولی دارای رشد برجسته و قابل توجهی می‌باشد [۵]. اگر چه درمان‌های رایج کنونی توانسته‌اند پیش آگهی مبتلایان به این سرطان را بهبود بخشند، امّا بسیاری از این تومورها به اقدامات درمانی کنونی پاسخ نمی‌دهند. بنابراین در مورد سرطان گردن رحم نیز همانند سایر سرطان‌ها، تلاش برای یافتن داروهای مؤثرتر و با عوارض جانبی کمتر ادامه دارد.

درصد زیادی از مردم دنیا برای درمان بیماری ها تمایل به استفاده از دارو های سنتی دارند و این امر انگیزه ای شد تا عصاره گیاهی سوسن چلچراغ بعنوان یک گیاه بومی ایران برای درمان سرطان و عفونت باکتری بررسی شود. خانواده Liliaceae شامل حدود ۲۵۰ جنس و نزدیک به ۳۰۰۰ گونه گسترده در سراسر جهان هستند و اندام های زیرزمینی آنها پیاز، غده و یا ریزوم می باشد. سوسن چلچراغ با نام علمی *Lilium Ledebourii* (Baker) Boiss گونه ای کمیاب از گیاهان تیره سوسنیان می باشد. عامل ارتفاع برای رویش این گونه بسیار مهم است و تنها در ارتفاعات ۱۷۰۰ تا ۲۱۰۰ متر از سطح دریا و در شرایط وجود زمستانهای سخت می روید. تیمار سرمای حدود ۵ درجه سانتی گراد طی مدت تقریبا ۳ ماه برای پیاز این گیاه و توان رویش در فصل بهار ضروری است [۶]. ساپونین ها حاوی اگلیکون های تری ترپونیدی یا استروئیدی هستند که یک یا چند زنجیره قندی به آنها متصل می شوند. خصوصیات بیولوژیک ساپونین ها به آکلیکون ها و یا به تعداد واحد قندی وابسته است [۸،۷]. ساپونین ها درجنت غیر یونی متعلق به گروه گلیکوزیدهای هستند که دارای فعالیت سیتوتوکسیک، همولیتیک، ضد التهاب، ضد قارچ، ضد مخمر، ضد باکتری، ضد ویروسی می باشند [۱۱-۹]. خواص ضد سرطانی عصاره گیاه سیر *Allium sativom* از خانواده Liliacea وجود ساپونین ها و همچنین آلیسین که ترکیباتی با خواص ضدسرطانی اند مشخص شده است [۱۲]. مطالعات انجام شده نشان داد که ریزوم گیاه Boiss (Baker) *Lilium ledebourii* حاوی اسید های چرب لینولیک اسید – اولئیک اسید –پالمیتک اسید – استرولها (پیماریک اسید) و همچنین وجود ساپونین ها نیز در ریزوم این گیاه مشخص شده است [۱۳]. با توجه به وجود ترکیبات ساپونین در گیا هان خانواده Liliacea و خاصیت سیتوتوکسیک و ضد باکتری در گونه های مختلف جنس (Lilium) و عدم مطالعه بر گونه ی ایرانی جنس مذکور انجام مطالعات بر روی این گونه جالب توجه است. لذا بر آن شدیم تا عصاره اتانولی پیاز گونه بومی ایران (Baker) Boiss *Lilium ledebourii* را به منظور مهار رشد سلول های سرطانی (HeLa) در شرایط برون تنی توسط آزمون

[Downloaded from journal.nkums.ac.ir on 2026-11-17]

رنگ سنجی MTT و همچنین فعالیت آنتی باکتریایی آن را مورد ارزیابی قرار دهیم.

روش‌کار

در این مطالعه تجربی، گیاه *Lilium ledebourii* (Baker) Boiss در اواخر خرداد ماه ۱۳۹۲ از منطقه ی رودبارک در شهرستان کلاردشت استان مازندران جمع آوری گردید. جهت عصاره گیری ابتدا فلس های پیازگیاه مورد نظر را جدا و پس از خشک شدن در معرض هوا، با استفاده از دستگاه آسیاب به صورت پودر در آمده و ۲۵ گرم از پودر در اتانول ۹۶ درصد خیسانده و در یک دوره حداقل سه روزه همراه با تحریک مکرر به منظور حل شدن ماده حل شونده در دمای اتاق نگهداری شد. پس از گذشت سه روز مخلوط عصاره و الکل با استفاده از کاغذ صافی صاف گردید و در نهایت با استفاده از دستگاه روتاری حلال اضافی تبخیر شد و آنچه باقی ماند به عنوان عصاره خالص در نظر گرفته شد و برای تهیه غلظت های مختلف استفاده شد. عصاره گیاه توسط ترازو حساس دیجیتالی توزین گردید و بخاطر اینکه عصاره گیاه *Lilium ledebourii* (Baker) Boiss مستقیما در محیط کشت RPMI-1640 حل نمی شد ابتدا ۴۸۰ میلی گرم عصاره گیاه بعد از توزین توسط ترازو حساس دیجیتالی در ۱۰۰ میکرو لیتر حلال دی متیل سولفوکساید (DMSO) حل شد. میزان DMSO در محلول نهایی موجود در چاهک های کشت سلول کمتر از یک درصد محاسبه گردید. در ضمن DMSOتا غلظت کمتر از یک درصد فاقد سمیت است و غلظت این حلال از این حیث مهم می باشد. سپس در محیط کشت سلولی (RPMI-1640) رقت‌های مختلف مورد نیاز تهیه شد. رقت‌های به کار رفته در این تحقیق شامل ۰/۱۵۶، ۰/۳۱۲، ۰/۶۲۵، ۱/۲۵، ۲/۵، ۵، ۷/۵ و ۱۰ میلی گرم در میلی لیتر می‌باشند.

رده سلولی Hela (NCBI C115) از بانک سلولی انستیتو پاستور ایران خریداری شد و در محیط کشت مایع RPMI1640، حاوی ۱۰ درصد سرم جنین گاو غیر فعال شده (FBS)، پنی سیلین (۱۰۰ واحد در هر میلی لیتر) و استرپتومایسین (۱۰۰ میلی گرم در میلی لیتر) کشت داده شد. سلول‌ها در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و در اتمسفر حاوی ۵ درصد CO_2 و ۹۵ درصد رطوبت در فلاسک‌های استریل قرار گرفتند. محیط کشت‌های آماده در پلیت‌های ۹۶ تایی با تعداد سلول‌های ۳۰۰۰ ریخته شد و پس از ۲۴ ساعت که سلول‌ها مورفولوژی طبیعی یافتند در معرض عصاره اتانولی در رقت‌های ۰/۱۵۶ تا ۱۰ میلی گرم در میلی لیتر به مدت ۷۲ ساعت قرار گرفتند. همزمان نمونه کنترل فاقد عصاره نیز به صورت سه‌تایی مانند نمونه‌های حاوی عصاره در نظر گرفته شد. روش‌های متنوعی برای تخمین تعداد سلول بر اساس حضور یک آنزیم یا سوبسترای سلولی خاص یا جذب و سپس استخراج یک رنگ معرفی شده‌اند. در این آزمایش بررسی زنده بودن سلول‌ها توسط تست MTT (۵، ۴، ۳ دی متیل تیازول ۲ یل ۵، ۲ دی فنیل تترازولیوم) مورد ارزیابی قرار گرفت. MTT افزوده شده به محیط کشت توسط فعالیت دهید روژناز سلول‌های زنده به رنگ فورمازان تبدیل می‌شود. چون محتوای دهیدروژناز سلول‌های یک نوع نسبتاً ثابت است، میزان فورمازان تولید شده متناسب با تعداد سلول است. به طور خلاصه سلول‌ها به تعداد ۳ هزار در هرچاهک ۹۶ تایی پلیت سلولی قرار گرفت و پس از ۷۲ ساعت از اضافه کردن عصاره به سلول‌ها، به هر چاهک ۲۰ میکرولیتر از محلول ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر MTTاضافه شد. سپس پلیت ها به مدت ۴ ساعت انکوبه شدند. بعد از گذشت ۴ ساعت پلیت ها از انکوباتور خارج گشته، محیط رویی آنها دور ریخته شده و به هر چاهک ۱۰۰ میکرولیتر DMSO اضافه گردید تا فورمازان حاصل حل گردد. پس از ۱۰ دقیقه و تکان دادن پلیت ها با استفاده از تکان دهنده پلیت، جذب نوری در ۵۷۰ نانومتر توسط دستگاه ELISA Plate Reader خوانده شد. جهت مشاهده بررسی تغییرات مورفولوژیک سلول های Hela پس از تیمار با عصاره اتانولی در رقت‌های ۰/۱۵۶ تا ۱۰ میلی گرم در میلی لیتر به مدت ۷۲ ساعت توسط میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی ۴۰X مورد بررسی قرار گرفتند.

چاهک های حاوی سلول و بدون عصاره به عنوان چگالی نوری کنترل و چاهک های بدون سلول و تنها محیط RPMI1640 به همراه سرم جنین گاوی به عنوان Blank در نظر گرفته شد.

در صد حیات سلولی با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

[Downloaded from journal.nkums.ac.ir on 2026-11-17]

$$\%OD = \frac{OD \text{ پلانک} - OD \text{ چاهک های تحت تاثیر عصاره}}{OD \text{ پلانک} - OD \text{ کنترل}} \times 100$$

با توجه به مقادیر جذب نوری بدست آمده بوسیله دستگاه ELISA-reader درصد مهار رشد مربوط به هر غلظت با بکارگیری فرمول زیر محاسبه شد:

$$\text{درصد مهاررشدسلولی} = 100 - \frac{\text{میانگین درصد OD برای هرگروه تیمار}}{\text{میانگین درصد OD برای گروه کنترل}} \times 100$$

در نهایت داده‌ها پس از جمع آوری بااستفاده از روش T-Students Test تجزیه و تحلیل شد. اختلاف در سطح احتمال کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

فعالیت ضد باکتریایی عصاره اتانولی پیاز گیاه سوسن چلچراغ به روش انتشار از دیسک بررسی شد [۱۴]. میکروارگانیسم‌های استاندارد شامل دو باکتری گرم مثبت باسیلوس سوبتیلیس (PTCC 1156) و استافیلوکوکوس اورئوس (ATCC 25923) و دو باکتری گرم منفی اشریشیا کلی (PTCC 1533) و سودوموناس آئروژینوزا (PTCC 1707) بود. باکتری‌ها در محیط کشت مایع مولر-هینتون (مِرک، آلمان) رشد داده شدند. سپس کشت متراکم و یکنواختی از باکتری‌ها به کمک سوسپانسیون باکتریایی معادل نیم مک‌فارلند توسط سوآب پنبه‌ای استریل در سطح مولر-هینتون آگار (مِرک، آلمان) تهیه شد. دیسک‌های کاغذی استریل با قطر ۶ میلی‌متر (پادتن طب، ایران) و آغشته به ۳۰ میکرولیتر از غلظت‌های مختلف (شامل ۵۰۰-۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) عصاره اتانولی حل شده در DMSO، به طور مجزا در سطح آگار قرار داده شد. از دیسک آغشته به ۳۰ میکرولیتر حلال DMSO به‌عنوان شاهد منفی و دیسک آنتی‌بیوتیک کلرامفنیکل به عنوان شاهد مثبت استفاده شد. پلیت‌ها به مدت ۴۸- ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، انکوبه شد. فعالیت ضد باکتریایی عصاره گیاهی با اندازه‌گیری قطر هاله عدم رشد (میلی‌متر) سنجیده شد.

برای بررسی اثر غلظت های مختلف عصاره بر رده سلولی Hela، تجزیه و تحلیل داده ها با استفاده از روش Student T-Test انجام و سپس با استفاده از نتایج حاصل از داده ها نمودارهای مربوطه توسط نرم افزار Excel رسم شده است. اختلاف در سطح احتمال کمتر از پنج صدم معنی‌دار در نظر گرفته شد. تجزیه و تحلیل نتایج آزمون باکتریایی با استفاده از نرم افزار آماری SPSS نسخه ۱۶ و آزمون آنالیز واریانس یک طرفه یا آنووا انجام شد. همچنین برای تعیین گروه های دارای اختلاف معنی دار از آزمون مقایسه میانگین LSD استفاده شد و اختلاف در سطح احتمال کمتر از پنج صدم معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته ها

اثر سمیت سلولی عصاره اتانولی گیاه *Lilium ledebourii*(Baker) Boiss بر رده سلول سرطانی HeLa: برای بررسی اثر غلظت های مختلف عصاره اتانولی گیاه *Lilium ledebouri* (Baker) Boiss (۱۰، ۷/۵، ۵، ۲/۵، ۱/۲۵، ۰/۶۲۵، ۰/۳۱۲ و ۰/۱۵۶ میلی گرم در میلی لیتر) غلظت های مورد نظر از عصاره تهیه شده و اثرات سمیت سلولی هر ترکیب با کمک روش MTT بر رده سلولهای سرطانی HeLa مورد بررسی قرار گرفت. همان طوری که در جدول ۱ نشان داده شده است این عصاره دارای اثرات سمیت سلولی در غلظت های مورد نظر بر رده سلول سرطانی HeLa می باشد.

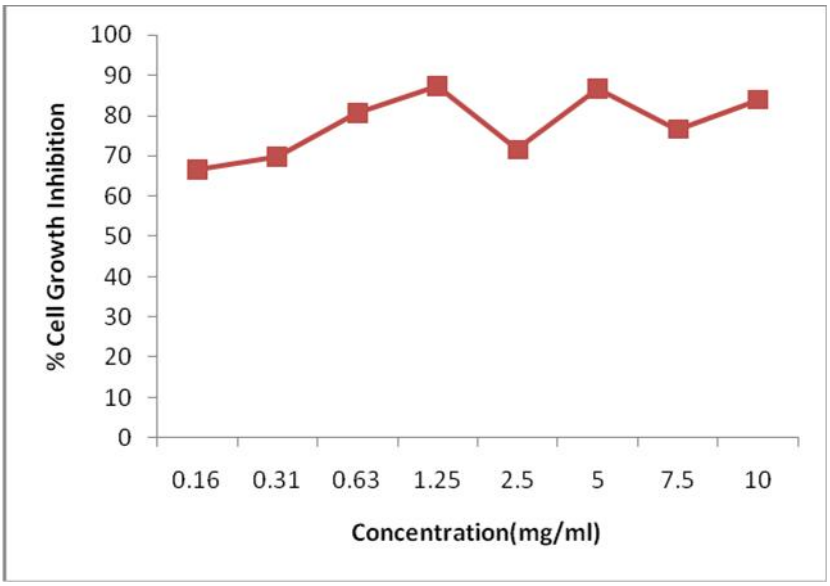
در این مطالعه فعالیت ضد باکتریایی عصاره اتانولی پیاز گیاه سوسن چلچراغ در غلظت‌های مختلف به صورت هاله عدم رشد علیه باکتری‌های سودوموناس آئروژینوزا، باسیلوس سوبتیلیس، استافیلوکوکوس اورئوس و اشریشیا کلی بررسی شد. همچنین از آنتی‌بیوتیک کلرامفنیکل به عنوان شاهد مثبت و حلال DMSO به عنوان شاهد منفی استفاده شد. همانطوری که در جدول ۲ مشاهده می‌شود نتایج حاصل از آزمون آنالیز واریانس نشان داد میانگین قطر هاله عدم رشد باکتری‌های سودوموناس آئروژینوزا، باسیلوس سوبتیلیس، استافیلوکوکوس اورئوس و اشریشیا کلی در غلظت‌های مختلف عصاره گیاه سوسن چلچراغ یکسان نمی‌باشد. بطوریکه بر اساس آزمون مقایسه میانگین LSD، میانگین قطر هاله عدم رشد باسیلوس سوبتیلیس در غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر در مقایسه با غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر تفاوت معنی داری را نشان نداد و در بقیه غلظت‌ها میانگین قطر هاله عدم رشد این باکتری اثری مشاهده نشد. بر اساس آزمون مقایسه میانگین LSD، میانگین قطر هاله عدم رشد استافیلوکوکوس اورئوس در غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر

[Downloaded from journal.nkums.ac.ir on 2026-11-17]

جدول۱: اثر غلظت‌های مختلف عصاره گیاه *Lilium ledebourii* بر میزان جذب نوری و مهار رشد سلول‌های Hela

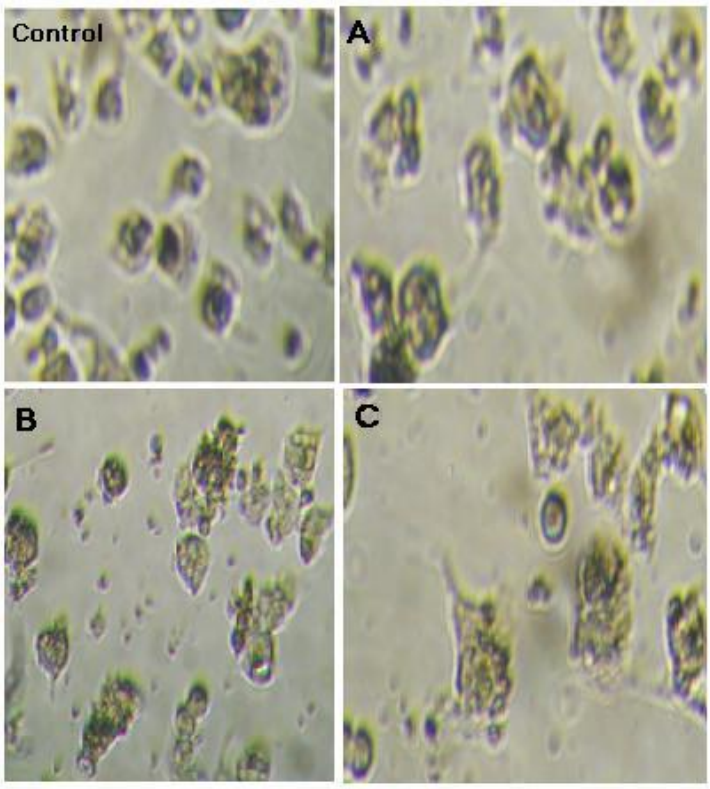
Concentration (mg/ml) Lilium ledebourii	Absorbance	%Inhibition
۰/۱۵۶	۰/۲۳ ± ۰/۰۲۸	۶۶/۶۰
۰/۳۱۲	۰/۱۱۵± ۰/۲۴۱	۶۹/۹۲
۰/۶۲۵	۰/۰۷۶± ۰/۰۰۸*	۸۰/۶۶
۱/۲۵	۰/۱۱۰ ± ۰/۰۳۶*	۸۷/۴۲
۲/۵	۰/۱۰۷± ۰/۰۲۰	۷۱/۴۲
۵	۰۸۴ ± ۰/۰۱۳*	۸۶/۶۴
۷/۵	۰/۰۶۷ ± ۰/۰۱۶*	۷۶/۶۵
۱۰	۰/۱۰۵ ± ۰/۰۲۷*	۸۴/۰۰
Control	۰/۰۶۹ ± ۰/۰۱۲	-
Blood	۰/۰۸۸ ± ۰/۰۱۴	۴۹/۷۸

مقادیر بدست آمده، به صورت Mean±SD می باشد و تفاوت میانگین ها در سطح ($p<۰/۰۵$ در نظر گرفته شد ($p<۰/۰۵$ *).
تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از روش Students T-Test انجام شد.



نمودار۱: در صد مهار رشد سلولی عصاره اتانولی پیاز گیاه سوسن چلچراغ بر رده سلولی HeLa به وسیله آزمون MTT

[Downloaded from journal.nkums.ac.ir on 2026-11-17]



شکل ۱: ارزیابی تغییرات مورفولوژیک رده سلولی Hela بعد از ۷۲ ساعت تیمار شدن با غلظت های مختلف عصاره پیاز گیاه سوسن چلچراغ A= ۱/۲۵ mg/ml ، B= ۵ mg/ml، C= ۱۰ mg/ml می باشند. ثبت مورفولوژی با میکروسکوپ نوری با بزرگ نمایی ۴۰ X پس از ۷۲ ساعت انجام شد.

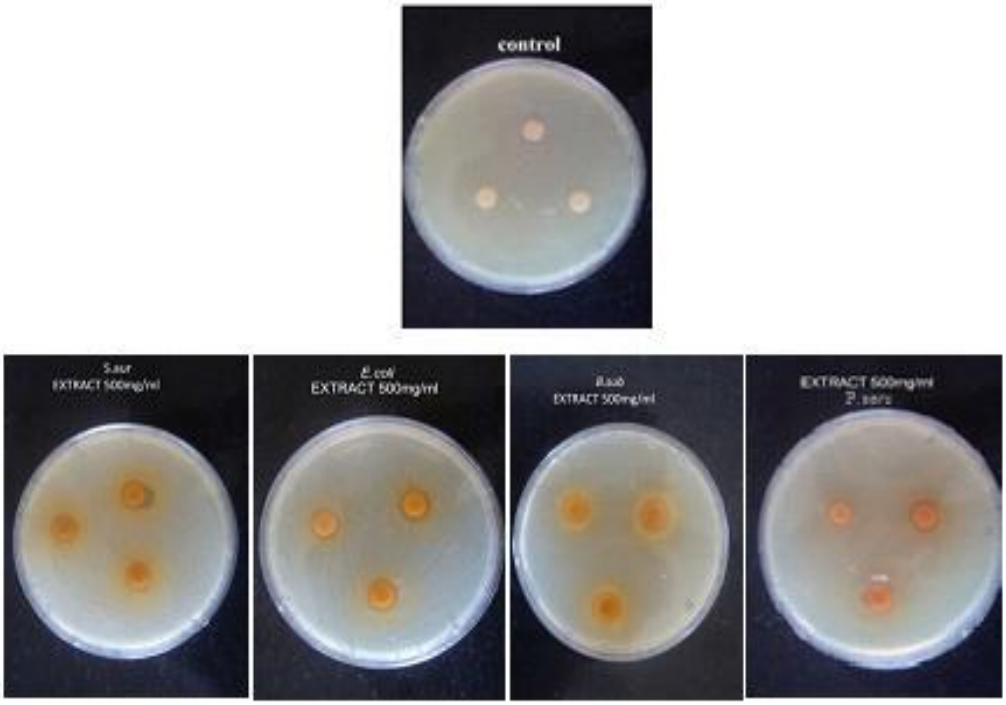
جدول ۲: آزمون مقایسه میانگین LSD هاله عدم رشد (میلی‌متر) عصاره اتانولی گیاه سوسن چلچراغ در غلظت‌های مختلف بر علیه باکتری‌های سودوموناس آئروژینوزا، باسیلوس سوبتیلیس، استافیلوکوکوس اورئوس و اشریشیا کلی (سه بار تکرار).

باکتری	هاله عدم رشد (میلی‌متر)					
	mg ml^{-1}۵۰۰	mg ml^{-1}۲۵۰	mg ml^{-1}۱۰۰	mg ml^{-1}۵۰	mg ml^{-1}۱۰	Chloramphenicol (30 µg/disc)
اشریشیا کلی	^{a}۹/۳۳±۰/۵۷	^{b}۷/۶۶±۰/۵۷	^{b}۸±۰/۵۷	^{ab}۸/۳۳±۰/۵۷	ب ت	^{a}۲۰/۶۶±۱
باسیلوس سوبتیلیس	^{a}۹/۶۶±۰/۳	^{a}۹/۶۶±۰/۳	ب ت	ب ت	ب ت	^{a} ۲۰/۳۳±۱
استافیلوکوکوس اورئوس	^{a} ۱۱/۳۳±۲/۱۷	^{b}۶±۲/۱۷	^{ab}۹±۲/۱۷	^{ab}۸±۲/۱۷	^{ab}۸/۶±۲/۱۷	^{a}۲۱/۶۶±۱
سودوموناس آئروژینوزا	^{a}۸/۶۶±۲/۸۵	^{a}۷/۶۶±۲/۸۵	^{b}۵±۲/۸۵	^{b}۵ ±۲/۸۵	^{ab}۴/۶۶±۲/۸	ب ت

ب ت: بدون تاثیر

میانگین‌هایی با حروف مشترک در هر ردیف اختلاف معنی‌داری با هم ندارند (p<۰/۰۵)

[Downloaded from journal.nkums.ac.ir on 2026-11-17]



شکل ۲: هاله عدم رشد ایجاد شده توسط عصاره اتانولی به روش انتشار از دیسک علیه باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس، اشریشیاکلی، باسیلوس سوبتیلیس و سودوموناس آئروژینوزا در غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر.

بیشتر از سایر غلظت‌ها بود و نسبت به غلظت ۲۵۰ میلی گرم در لیتر تفاوت معنی داری داشت ($p<۰/۰۵$) در حالی که میانگین قطر هاله عدم رشد این باکتری در غلظت ۲۵۰ نسبت به ۱۰۰، ۵۰ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر تفاوت معنی‌دار نداشت. بر اساس آزمون مقایسه میانگین LSD، میانگین قطر هاله عدم رشد سودوموناس آئروژینوزا در غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر در مقایسه با غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر تفاوت معنی‌داری را نشان نداد اما با سایر غلظت‌ها تفاوت معنی‌داری را نشان داد ($p<۰/۰۵$). بر اساس آزمون مقایسه میانگین LSD، میانگین قطر هاله عدم رشد اشریشیا کلی در غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر در مقایسه با غلظت ۲۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر اختلاف معنی‌داری نشان داد ($p<۰/۰۵$).

بحث

در این مطالعه با مواجهه کردن رده سلولی Hela با غلظت های مختلف عصاره اتانولی پیاز گیاه سوسن چلچراغ مشاهده گردید که این عصاره به طور وابسته به غلظت می تواند موجب سمیت سلولی شود. در سال های اخیر استفاده از ترکیبات طبیعی برای مقابله با سرطان با توجه به عوارض جانبی کم و تاثیرات امید بخش مورد توجه واقع گشته است. مطالعات متعددی جهت بررسی اثرات ضد سرطانی وضد میکروبی گیاهان دارویی بومی در کشورهای مختلف مورد ارزیابی قرار گرفته است. دارو درمانی هنوز یکی از روش های مورد استفاده در درمان سرطان بوده و مراکز تحقیقاتی مختلف در دنیا و ایران در تلاش برای دستیابی به داروهای موثر با اثر انتخابی بر سلول های

[Downloaded from journal.nkums.ac.ir on 2026-11-17]

سرطانی و اثر کمتر بر سلول های سالم می باشند. در این راستا گیاهان دارویی منبع بسیار بزرگ و امید بخشی جهت کشف داروهای جدید می باشند. مطالعات نشان داد گیاهان متعلق به جنس Lilium دارای ترکیبات بسیار مفید و موثر می باشد که دارای خاصیت ضد سرطانی و ضد باکتریایی هستند. عصاره حاصل از گلها و پیاز تازه و خشکیده گونه سوسن سفید *Lilium candidum* از خانواده Liliacea دارای خواص درمانی برای سوختگی ها، رفع التهابات و همچنین بی نظمی های رحمی می باشد [۱۵]. نتایج این مطالعه نشان می‌دهد عصاره اتانولی پیاز گیاه سوسن چلچراغ بر روی سلولهای HeLa در غلظت ۱۰، ۷/۵، ۵، ۱/۲۵، ۰/۶۲۵ میلی گرم در میلی لیتر رشد سلولها را به طور معنی داری در سطح ۵ درصد نسبت به گروه کنترل، بعد از ۷۲ ساعت کاهش داده است (جدول۱). همچنین دارای اثرات سمیت سلولی بر روی سلولهای HeLa به ترتیب به میزان ۸۴/۰۰، ۷۶/۶۵، ۸۶/۶۴، ۷۱/۴۲، ۸۷/۴۲، ۸۰/۶۶، ۶۹/۹۲، ۶۶/۶۰ درصد می باشد. بالاترین درصد مهار رشد در غلظت mg/ml ۱/۲۵ به میزان ۸۷/۴۲٪ بوده است. به طور کلی نتایج نشان می دهد که عصاره اتانولی گیاه باعث مهار رشد سلول های HeLa شده است و رشد سلول ها را به طور معنا داری نسبت به گروه کنترل کاهش داده است (جدول ۱)، همچنین مشخص شده است که عصاره اتانولی *Lilium ledebourii* به طور وابسته به غلظت باعث مهار رشد این سلول ها شده، به طوری که با افزایش غلظت درصد مهار رشد افزایش پیدا کرده است (نمودار ۱). آنالیز فیتوشیمیایی گونه سوسن سفید *Lilium candidum* از خانواده Liliacea حضور چندین نوع ساپونین در عصاره گل و پیاز را نشان داد [۱۵]. فریس[1] و همکارانش برای اولین بار فعالیت ساپونین ها بر سلول های سرطانی را مطالعه و اعلام کردند که ساپونین ها فعالیت ضد سرطانی دارند [۱۶]. فرانسیس[2] و همکارانش نشان دادند ساپونین ها فعالیت های فارماکولوژیکال دارند که باعث نفوذپذیری غشای سلول، تحریک آزاد شدن هورمون لوتئین و اثر سمیت سلولی روی سلول های توموری دارند [۱۷]. رن و همکارانش اثرات ساپونین ها را به تشکیل واکنش آنها با غشای سلولی نسبت دادند که باعث از بین رفتن غشای سلولی در سلول های سرطانی می شود [۱۸]. تحقیقات نشان داد ساپونین ها باعث آپوپتوز در سلول های سرطان معده در انسان می شوند و چرخه سلولی در سرطان سینه را در فاز G1 مهار می کنند. ساپونین ها چرخه سلولی را در سلول های سرطانی در مرحله G2/M مهار می کند و باعث القاء آپوپتوز در مسیرهای وابسته به میتوکندری می شوند [۱۹]. مطالعه فیتوشیمیایی بر روی پیاز گیاه *Lilium callosum* نشان داد که گلیکوزید های استروئیدی جدید به نام Callosum A و ساپونین های استروئیدی همانند Atropuroside A و Atropuroside B دارای فعالیت سایتوتوکسیک ضد سرطان می باشند [۲۰]. بنابراین وجود گلیکوزید های استروئیدی و ساپونین در گیاهان خانواده Liliacea بخصوص در پیاز آن و همچنین تائید فعالیت سایتوتوکسیک عصاره گیاهی بر رده سلو ل های MCF-7 ، MAD-MB43 و Hela در گونه های دیگر این خانواده، در این تحقیق به این نتیجه رسیدیم اثر مهاری عصاره پیاز گیاه سوسن چلچراغ می تواند به علت وجود ترکیبات ساپونین و گلیکوزید های استروئیدی باشد.

در سال‌های اخیر تحقیقات فراوانی در زمینه اثرات ضد میکروبی گیاهان مختلف صورت گرفته است. در مطالعه حاضر بررسی تأثیر عصاره گیاه سوسن چلچراغ بر تعدادی از باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت انجام شد. پس از تاثیر عصاره گیاه *Lilium ledebourii* بر باکتری‌های مورد نظر، نتایج نشان داد که تمام باکتری‌ها به عصاره گیاه مورد نظر واکنش نشان داده و عصاره در غلظت‌های بالاتر، به میزان بیشتری از رشد باکتری‌ها جلوگیری کرده است و این تأثیر با افزایش غلظت عصاره به صورت معنی‌داری افزایش پیدا کرد. بیشترین تاثیر عصاره مربوط به استافیلوکوکوس اورئوس (گرم مثبت) است و کمترین تاثیر مربوط به سودوموناس آئروژینوزا (گرم منفی) می‌باشد. همانگونه که در نتایج مطالعه حاضر مشاهده شد عصاره اتانولی این گیاه اثرات قابل توجهی علیه باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس و باسیلوس سوبتیلیس نشان داد و فعالیت ضد باکتریایی عصاره بر باکترهای گرم

1 - Fries
2 - Francis

[Downloaded from journal.nkums.ac.ir on 2026-11-17]

منفی ضعیف‌تر بود به طوری که سودوموناس آئروژینوزا بیشترین مقاومت را نشان داد. این مقاومت احتمالا به حضور لیپوپلی‌ساکاریدها در دیواره سلولی باکتری‌های گرم منفی مربوط می‌شود و مانع از رسیدن ترکیبات فعال عصاره به غشاء سیتوپلاسمی باکتری گرم منفی می‌شود [۲۱]. تحقیقات پریسیلا[1] و همکارانش نشان داد که باکتری‌های گرم منفی نسبت به عوامل شیمیایی مقاوم‌تر از انواع گرم مثبت‌ها هستند [۲۲]. این نتایج با نتایج بعضی محققان در ارتباط با عدم تاثیر عصاره گیاهی یا تاثیر کمتر برخی گیاهان بر رشد باکتری سودوموناس آئروژینوزا مطابقت دارد [۲۴،۲۳]. همچنین بارلی[2] و همکارانش گزارش کردند ساپونین اسخراج شده از گونه *Allium minutiflorum* دارای خواص ضد میکروبی بسیار بالایی می‌باشد [۲۵]. بنابراین خواص ضد میکروبی عصاره اتانولی را می‌توان به حضور متابولیت‌های ثانویه به خصوص فلاونوئیدها و ساپونین‌ها نسبت داد. ساپونین‌ها به علت داشتن خصوصیات فعال سطحی و به عنوان دترجنت غیر یونی در بخش‌های لیپیدی دیواره باکتری توزیع شده و موجب تغییر و تخریب ساختمان و نفوذپذیری بیشتر آن‌ها می‌شود و در نهایت منجر به مرگ باکتری می‌شود. بنابراین نتایج تحقیق حاضر موید آن است که فعالیت ضد میکروبی عصاره اتانولی گیاه سوسن چلچراغ وابسته به نوع میکروارگانیسم، غلظت عصاره و نوع ترکیبات موجود در پیاز است که با نتایج بسیاری از تحقیقات همخوانی دارد [۲۶].

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد عصاره اتانولی گیاه سوسن چلچراغ دارای اثرات سِیتوتوکسِیک بر رده سلول سرطانِی Hela و همچنین اثرات ضد باکتری می باشد که این تاثیر در مورد باکتری گرم مثبت بیشتر از گرم منفی است. به نظر می‌رسد اثرات ضد سرطانی و ضد میکروبی عصاره اتانولی پیاز این گیاه مربوط به حضور متابولیت‌های ثانویه به خصوص گلیکوزید های استروئیدی، فلاونوئید ها و ساپونین می باشد. با توجه به طبیعی بودن فراورده گیاهی و هزینه پایین آن وارد کردن این مکمل گیاهی در رژیم غذایی ممکن است در درمان سرطان دهانه رحم و همچنین از بین بردن باکتری های مورد نظر موثر باشد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان نامه دوره کارشناسی ارشد خانم نسیم دلفان آذری با کد تصویب پروپوزال ۱۵۹۳۰۵۰۶۹۱۲۰۲۲ می باشد که با هزینه شخصی خودش به اتمام رسید. بدین وسیله از جناب اقای دکتر بهمن اسلامی که در جمع آوری و شناسایی نمونه و همچنین از کارشناس آزمایشگاه سرکار خانم محمدی که در کارهای آزمایشگاهی ما را یاری نمودند نهایت تشکر به عمل می آید.

1 - Priscila
2 - Baril

[Downloaded from journal.nkums.ac.ir on 2026-11-17]

References

1. Srivastava V, Negi AS, Kumar JK, Gupta MM, Khanuja SP, Plant-based anticancer molecules: a chemical and biological profile of some important leads, Bioorg Med Chem 2005; 13(21):5892-908.
2.Singh P, Raj R, Kumar V, Mahajan M P, Bedi PMS, Kaur T ,"et al", 1,2,3-Triazole tethered b-lactam-Chalcone bifunctional hybrids: Synthesis and anticancer evaluation, European Journal of Medicinal Chemistry, 2012; 47: 594-600.
3. Sakarkar DM, Deshmukh VN, Ethnopharmacological review of traditional medicinal plants for anticancer activity, Int J Pharm Tech Res 2011; 3(1):298-308.
4. Scherer WF , Syverton JT, Gey GO, Studies on the propagation in vitro of poliomyelitis viruses, IV. Viral multiplication in a stable strain of human malignant epithelial cells (strain HeLa) derived from an epidermoid carcinoma of the cervix, J Exp Med 1953; 97(5):695-710.
5. Bentley GR, The Evolution of the human breast, Am J Phys Anthropol, 2001; 32:30.
6. Ghahreman A, Flora of Iran, Published by Research Institute of Forests and Rangelands (RIFR), Tehran, 1997; 16: No. 1944[Persian].
7. Sparg SG, Light ME, Van Staden J, Biological activities and distribution of plant saponins, Journal of Ethnopharmacology, 2004; 94(2-3): 219-243.
8. Chwalek M, Lalun N, Bobichon H, Pl´e K, Voutquenne- Nazabadioko L, Structure-activity relationships of some hederagenin diglycosides: haemolysis, cytotoxicity and apoptosis induction, Biochimica et Biophysica Acta, 2006;1760(9): 1418-1427.
9. Leung YM, Ou YJ, Kwan CY, Loh TT, Specific interaction between tetrandrine and Quillaja saponins in promoting permeabilization of plasmamembrane in human leukemic HL-60 cells, Biochimica et Biophysica Acta, 1997;1325(2): 318–328.
10. Sen S, Makkar HPS, Muetzel S, Becker K, Effect of Quillaja saponaria saponins and Yucca schidigera plant extract on growth of Escherichia coli, Letters in Applied Microbiology, 1998; 27(1): 35–38.
11. Bachran C, Sutherland M, Heisler I, Hebestreit P, Melzig MF, Fuchs H, The saponin-mediated enhanced uptake of targeted saporin-based drugs is strongly dependent on the saponin structure, Experimental Biology and Medicine, 2006;231(4): 412-420.
12.Rahman MM, Fazlic V , Saad NW, Antioxidant properties of raw garlic (Allium sativum) extract, International Food Research Journal, 2012; 19(2):589-591.
13. farsam H, Amanlou M , Amani Gh, Nezamivand Gh, Salehi M, Shafiee S ,anatomical and phytochemical study of Lilium ledebourii(Baker) Boiss ., a rare endemic species in iran, Drug journal pharmaceutical science, 2003; 11(4):) 164 - 170[Persian].
14. Kirby-Bauer, Susceptibility test with single, high-concentration antimicrobial disks, Antimicrobial Agents Chemotherapy, 1979; 3(3):418-424.
15. Vachalkova A, Eisenreichova E, Mucaji P, Potential carcinogenic and inhibitory activity of compounds isolated from Lilium candidum L, Neoplasma 2000; 47: 313-318.
16.Fries SL, Standaert FG,Witcomb ER, Nigrelli RF, Chanley JD, Sobotka H, Some pharmacologic properties of holothurin A,a glicosidic mixture from the sea cucumber,Ann N Y Acad Sci.1960;90:893-901.
17.Francis G, Kerem Z, Makkar HP, Backer K, The biological action of saponins in animal systems:a review, Br J Nutr.2002;10(2):140-151.
18. Ren W, Qiao Z, Wang H, Zhu L, Zhang L, Flavonoids: Promising anticancerAgents, Medicinal Research Reviews 2003; 23(4):519-534.
19.Gutterman JU, Lai HT, Yang P, Haridas V, Gaikwad A, Marcus S, Effects of the tumor inhibitory triterpenoid avicin G on cell integrity, cytokinesis and protein ubiquitination in fission yeast, Proc Natl Acad Sci U S A, 2005;102(36):12771–12776.
20. Wang X, Wu GU, A new steroidal glycoside and potential anticancer cytotoxic activity of compounds isolated from the bulbs of Lilium callosum, Journal of Chemical Research 2014; 38(10) : 577-638.
21. Olaleye M, Cytotoxicity and Antibacterial Activity of Methanolic Extract of Hibiscus Sabdaviffa, J Med Plan Res 2007;1(1):9-13.

[Downloaded from journal.nkums.ac.ir on 2026-11-17]

22.Priscila G ,Alzira MS, Thereza CV, chemical resistans of the gram negativ bacteria to different sanitizers in a water purification system, BMC Infectious Disease 2006; 6 : 131.
23. Duraipandiyan V, Ayyanar M, Ignacimuthu S, Animicrobial Activity of Some Ethnomedicinal Plants Used by Paliyar Tribe from Tamil Nadu, India, BMC Complement Altern Med 2006;6:35.
24. Mothana R, Lindequist U, Geraenert R, Bednarski P, Studies of the in Vitro Anticancer, Antimicrobial and Antioxidant Potentials of Selected Yemeni Medicinial Plants from the Island Soqotra, BMC Complement Altern Med 2009;9:7.
25.Baril E ,Bonanomi G ,Antignani V ,Zolfaghari B ,sajjadi E ,Scala F and lanzotti V, Saponins from allium minutiflorum with antifungal activity, Phytochemestry 2006; 68 : 596-603.
26. Arabski M, Węgierek-Ciuk A, Czerwonka G, Lankoff A, Kaca W, Effects of Saponins against Clinical E. coli Strains and Eukaryotic Cell Line, Journal of Biomedicine and Biotechnology 2011; 2012: 286216- 286222.

[Downloaded from journal.nkums.ac.ir on 2026-11-17]

Original Article

Evaluation of antibacterial activity and cytotoxicity of ethanolic extract of Lilium ledebourii bulbs on HeLa cell line

Seyedalipour B[1], Delfan-Azari N[2], Asadi M[3], Mohseni M[4]*

[1]Assistant professor, Department of Cellular and Molecular Biology, faculty of Basic Sciences , University of Mazandaran, Babolsar, Iran
[2] MSc, Department of Biology, Islamic Azad University, Tonekabon Branch, Tonekabon, Iran.
[3]Assistant professor , Department of Biology, Islamic Azad University, Tonekabon Branch, Tonekabon, Iran.
[4] Assistant professor, Department of Cellular and Molecular Biology, faculty of Basic Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran
***Corresponding Author:** Department of Cellular and Molecular Biology, faculty of Basic Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran
E mail: b.alipour81@gmail.com

Journal of North Khorasan University of Medical sciences 2016;8(1):59-70

Abstract

Background & Objectives: *Natural products extracted from medicinal plants can play an important role in cancer treatment. This study was designed to investigate antibacterial activity and cytotoxicity of ethanolic extract of Lilium ledebourii (Baker) Boiss bulbs on HeLa cell line.*

Materials & Methods: *In this experimental study, ethanolic extract of Lilium ledebourii bulbs was prepared and its cytotoxicity on HeLa cell line was investigated. Hela cell line was treated with various concentrations of extract (0.156-10.0 mg ml^{-1}) for 72 hours and growth inhibition was assayed using MTT test. In addition, antibacterial activity of the extract was examined using disc diffusion method against Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus and Bacillus subtilis. Statistical analysis was performed using SPSS software.*

Results: *The results showed that the ethanolic extract at different concentrations significantly reduced the growth of HeLa cell compared to the control group. The most pronounced growth inhibition was %87.42 at the concentration of 1.25 mg ml^{-1}. In addition, the results indicated that ethanolic extract of Lilium ledebourii bulbs possessed antibacterial activity. Among the aforementioned bacteria, the highest antibacterial activity was seen against S. aureus and the lowest activity against P. aeruginosa.*

Conclusion: *The results of this study revealed that the ethanolic extract of Lilium ledebourii bulbs possesses antibacterial activity and cytotoxicity against Hela cell line. In order to find the underlying mechanism of this activity, further research should be done.*

Keywords: *Lilium ledebourii, Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus, Ethanolic extract, MTT test, HeLa cell line*

Recivied:8 Feb 2015
Revised:3 Mar 2015
Accepted:4 May 2015

[Downloaded from journal.nkums.ac.ir on 2026-11-17]