فصلنامه علمی پژوهشی فیزیولوژی و تکوین جانوری
شماره پیاپی 23، جلد 6، شماره 4، پائیز 92، صفحه 15 تا 25

بررسی سیتو توکسیسیته عصاره آبی گیاه عروسک پشت پرده (*Physalis alkekengi*) بر روی رده سلولی U937

پروین تراب زاده[1]، مهروز دزفولیان[1]
دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج، دانشکده علوم،استادیارگروه میکروبیولوژی.کرج.ایران. torabzadeh@kiau.ac.ir

تاریخ دریافت:92/6/6 تاریخ پذیرش: 92/9/17

چکیده

زمینه و هدف: گیاه عروسک پشت پرده(*Physalis alkekengi*) از جمله گیاهان دارویی است که در طب سنتی ایران و اکثر نقاط جهان کاربرد داشته و از آن به عنوان تب بر، فعالیت آنتی توموری، ضد التهابی، ضد درد، ضد باکتری و ضد ویروس استفاده می شود. هدف از این تحقیق بررسی اثرات سیتوتوکسیسیته عصاره آبی این گیاه بر روی سلول های U 937 است.

روش کار: ابتدا عصاره ی آبی گیاه تهیه گردید. سپس در سه دوز مختلف، پایین، متوسط و زیاد از این عصاره بر روی کشت سلولی U937 اثر داده شد و با روش MTT Assay میزان زنده ماندن سلول ها بررسی شد. نتایج حاصل اختلاف معنی داری را در میزان زنده ماندن سلول های U937 در بین گروه های کنترل و تیمار غلظت های مختلف نشان می دهد.LC50 سلول های U937 28.125 mg/ml بود.

یافته ها: نتایج آزمایش ها نشان داد عصاره آبی گیاه مذکور بر روی سلول های U 937 خاصیت سیتوتوکسیسیته ی خوبی را دارا می باشد .

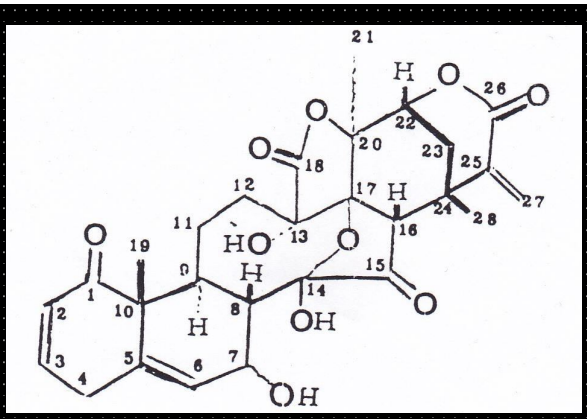
واژه های کلیدی: عروسک پشت پرده، سرطان، خواص سیتوتوکسیک، سلول های U937 .

مقدمه

فیزالین‌ها از جمله ترکیبات اساسی گیاه عروسک پشت پرده هستند که به گروه تری ترپنوئیدها تعلق دارند. ولی از نظر ساختمانی نه تنها یک نوع استروئید نرمال نبوده، بلکه یک نوع تری ترپنوئید نرمال نیز نمی باشد و از این نظر بسیار جالب توجه هستند(14). این ماده برای اولین بارتوسط Dessaigne و همکارانش در سال 1852 از برگ های گیاه *Physalis alkekengi* کشف گردید، بیش از 15 نوع فیزالین مختلف به نام های A,B,C,D,E,F,G,H,I,J,K,L,M,N,O از گیاه *P.alkekengi* و سایر گونه‌های جنس *Physalis* شناسایی شده است. فیزالین ها ترکیباتی جامد، زرد رنگ، بی شکل و دارای طعم تلخ می باشند و نقطه ی ذوب آن ها بین 200-300 درجه سانتی‌گراد می باشد.

این ترکیبات در حلال‌هایی نظیر استن، کلروفرم، اتانول، اتر و آمونیاک محلول می باشند(2). فیزالین ها ساختمان حلقوی سیکلوپنتانو فنانترن داشته و در تمام آن ها حلقه‌ی گامالاکتون وجود دارد. این مواد، استروئید های 28 کربنی می باشند که از نظر ساختمان شیمیایی بسیار مورد توجه محققین بوده، به ویژه این که در اسکلت کربنی آن ها 2 شکل جالب بیوژنتیکی وجود دارد: 1- پیوند بین کربن 13 و 14 در مولکول شکسته شده و در یک حلقه، 9 کربن وجود دارد. 2- با ایجاد پیوند کربن بین کربن 16 و 24، یک گروه کربوکسیل 6 عضوی جدید به وجود آمده است(شکل 1)(9).

Archive
www.SID.ir



Matsuura و همکارانش در سال 1970 فیزالین های A, B, C را از گیاه *P.alkekengi* و Chiang و همکارانش در سال 1992 فیزالین های D،F را از گیاه *P.angulata* استخراج نمودند(23، 8). انواع فیزالین های E ,F ,G , H و I نیز توسط Row و همکارانش در سال 1980 از گونه های *P.angulata* و *P.lancifolia* استخراج شده است(27، 26). Kawai و همکارانش قبلاً فیزالین های A و B استخراج شده از گیاه *P.alkekengi* را با فرمول عمومی 13 و14 سکو، 16 و24 سیکلو استروئید معرفی نمود. آن ها در سال 1987 فیزالین، در سال 1988 فیزالین M و در سال 1992 نیز انواع فیزالین های N، O را از همین گیاه استخراج و گزارش نمودند(18-22). فیزالین J توسط Row و همکارانش در سال 1978 از گیاه *P.angulata* استخراج گردید(26). این ماده در سال 1373 برای اولین بار در ایران فیزالین D،F از گیاه P.alkekengi استخراج و شناسایی گردید(1) (شکل1). برای فیزالین ها و ترکیبات شیمیایی وابسته به آن ها نظیر ویتانولید ها، هیدرو فیزالین ها و فیزالو لاکتون ها خواص زیستی متعددی گزارش شده است که مهم ترین آن ها به شرح زیر می باشد: نقش مهاری فیزالین های F، B بر روی سلول های لوسمی انسان در محیط Invitro مشخص شده است(7، 6). برای ترکیبات شیمیایی گیاه *P.angulata* اثرات ضد درد در دردهای سیستم گوارشی، دردهای روماتیسمی و گلو درد، نقش ضد التهابی در التهاب کبد و دهانه رحم، هم چنین نقش مدر و تب بر، گزارش شده است. به علاوه به نقش عصاره آبی این گیاه در تعدیل سیتوتوکسیسیته سلول های کشنده طبیعی طحال موش (Killer cells) و اثر آنتی توموری فیزالین F این گیاه بر روی 5 نوع سلول توموری انسان اشاره شده است(7، 6). ترکیبات ویتانولیدی گیاه *P.peruviana* که از نظر شیمیایی وابسته به فیزالین‌ها است، رشد لارو حشرات را مهار می کنند(11). فعالیت سیتوتوکسیسیته ضعیف فیزالین M استخراج شده از گیاه *P.alkekengi* بر روی سلول های سرطانی Hela توسط Kawai و همکارانش در سال 1988 تائید شده است(18). نقش آنتی توموری ویتانگولاتین A که نوعی ترکیب ویتانولیدی استخراج شده از بخش های هوایی گیاه *P.angulata* می باشد و از طریق مهار آنزیم توپو ایزومراز II عمل می کند، به وسیله Chen در سال 1990 گزارش شده است(8). فعالیت ضد توموری و ضد باکتریایی و ضد ویروسی ترکیبات موجود در *P.alkekengi* مورد بررسی قرار گرفته است(10، 4، 3). اثر ضد باکتریایی و ضد توموری عصاره آبی گیاه *P.alkekengi* توسط Frisbey و همکارانش در سال 1953 و Hartwell در سال 1971 بررسی و گزارش شده است(15، 12). سلول های U937 یک مدل رده سلولی هستند که در

Archive of SID

www.SID.ir

تحقیقات زیست پزشکی از آن استفاده می شود.این سلول ها از بافت لنفومای یک بیمار مرد 37 ساله جدا شده است که دارای خصوصیات رفتاری مونوسیتی می باشد و در پاسخ به محرک های خاص سازش یافته و خصوصیات یک ماکروفاژ را نشان می دهد. بنابراین با توجه به خواص درمانی این گیاه هدف از این تحقیق بررسی اثرات سیتو توکسیسیته این گیاه بر روی سلول های U937 است.

مواد و روش ها

رده های سلولی مورد استفاده

رده های سلولی مورد استفاده U937 ، L929 و Hela هستند،که به صورت منجمد و یا در محیط کشت از بانک سلولی انستیتو پاستور ایران خریداری شدند. سلول های منجمد که در ویال های مخصوص می باشند به یخ خشک منتقل و آزمایشگاه کشت سلول دانشگاه آزاد واحد کرج در ازت مایع نگهداری شدند. در تمام مدت انجام تحقیقات برای تکثیر سلول های مورد استفاده در آزمایش ها از فلاسک های 25 و 80 سانتی متر مربع استفاده گردید. سلول ها در ظروف پتری (پنج سانتی متری) استریل به صورت سه گانه و به تعداد 80000 در هر میلی لیتر کشت و به مدت 24 ساعت سلول ها در انکوباتور CO_2 با 37 درجه سانتی گراد قرار گرفتند.

روش تهیه عصاره آبی

برای تهیه عصاره آبی گیاه، مقدار 30 گرم پودر میوه گیاه به وسیله آسیاب برقی تهیه و به آن 200 میلی لیتر آب مقطر افزوده و سوسپانسیون حاصل را به آهستگی به مدت یک ساعت جوشانده و پس از صاف نمودن با کاغذ صافی، محلول صاف شده در دمای تاحد اکثر 60 درجه سانتی گراد تغلیظ نموده تا حجم نهایی آن به 20 میلی لیتر برسد. در این حالت هر میلی لیتر از محلول تهیه شده عصاره 1/5گرم پودر میوه گیاه است(30).

تهیه محیط کشت RPMI 1640

بر اساس دستور العمل شرکت Gibco، 10/44 گرم از پودر RPMI 1640 را با یک لیتر آب مقطر اتوکلاو شده به کمک همزن مغناطیسی کاملاً حل نموده، سپس به آن 2 گرم بی کربنات سدیم اضافه و برای تعیین pH و انجام تست های میکروبیولوژی، محیط کشت تهیه شده با استفاده از فیلتر Millipore با قطر 0/2 میکرون استریل گردید. در زمان استفاده از محیط کشت RPMI1640، 100 µg/ml پنی سیلین، استرپتومایسین 100 µg/ml و 10% FBS به آن اضافه شد(سیستم کمپلمان FBS به وسیله قرار دادن آن در بن ماری 56 درجه سانتی گراد به مدت یک ساعت غیر فعال شده است.).

کشت داخل پلیت 96 خانه ای

در زیر هود لامینار استریل شده، سلول‌های فیبروبلاست کشت شده در داخل فلاسک ریخته و تریپسین/EDTA به مقداری که روی سلول ها را اندکی بپوشاند به آن اضافه می گردد. فلاسک به مدت 10 دقیقه داخل انکوباتور CO_2 قرار می شود (تریپسین باعث تخریب مولکول های چسبنده سلول به کف پلیت می شود. زمان اعمال باید کم باشد تا به خود سلول ها آسیبی نرسد). پس از این مدت محتویات فلاسک در زیر میکروسکوپ برای مشاهده سلول ها به صورت شناور گذاشته می شود. سپس به اندازه دو برابر میزانی که تریپسین/ EDTA، محیط کشت10% RPMI + FBS اضافه می گردد(پروتئین موجود در سرم FBS، باعث غیر فعال شدن تریپسین می‌شود). سپس سوسپانسیون محتوای سلول را به فالکون 15 میلی لیتر منتقل و با دور 2000 به مدت 5 دقیقه سانتریفیوژ می شود. رویه

Archive of SID

www.SID.ir

محلول دور ریخته و 2 میلی لیتراز محیط کشت RPMI FBS +10% به فالکون اضافه می گردد.

شمارش سلول ها

قبل از انتقال سلول ها به پلیت 96 خانه ای باید آن ها شمارش گردد، زیرا هر WELL پلیت دارای گنجایش 200میکرولیتر باید دارای 80 هزار سلول باشد که کف well را کاملاً می پوشاند. برای این کار یک قطره از محلول سلولی را با یک قطره رنگ در داخل میکروتیوب کاملاً مخلوط و با لام نئوبار شمارش و توسط فرمول زیر متوسط سلول ها به دست می آید.

$$\frac{\text{تعداد سلولها در ۲ml محیط}}{۸۰۰۰۰} = \frac{۲۰۰۰(\text{ml میزان محیط})}{X}$$

X میزانی از سوسپانسیون است که برای هر well باید برداشته شود تا در هر well به میزان 80 هزار سلول است. سپس به هر well به میزان لازم محیط کشت اضافه، تا به حجم 200 میکرو لیتر برسد. پلیت را به مدت 24 ساعت در انکوباتور CO2 قرار داده تا سلول ها به کف پلیت بچسبد و به شکل دوکی در آیند.

MTT Assay

برای تعیین میزان تکثیر سلول ها از روش رنگ سنجی کمی استفاده شد که در آن نمک زرد رنگ تترازولیوم 3- (4,5 –Dimethylthiazol-2-yl)- tetrazolium (2,5- Diphenyltetrazolium-bromide) به وسیله آنزیم سوکسینیک دهیدروژناز میتوکندری متابولیزه شده و به فورمازان ارغوانی رنگ تبدیل می شود. محصول فورمازان تنها در صورت سلامت میتوکندری ها ساخته می شود. برای انجام این روش از محلول MTT10X استفاده شد و از این محلول با رقیق کردن توسط 1X PBS برای ساختن محلول 1X MTT استفاده گردید.

روش کار: مقدار 100 میکرولیتر از این محلول به سلول ها اضافه شد. سلول ها به مدت 2 ساعت در تاریکی و در داخل انکوباتور CO_2 دار در دمای 37 درجه سانتی گراد قرار گرفتند، سپس رنگ موجود از چاهک ها تخلیه و 100 میکرولیتر ایزوپروپانول ساخت شرکت مرک آلمان به سلول ها اضافه شد. پس از 10 دقیقه OD سلول ها در دستگاه الایزا ریدر در طول موج 490 نانومتر خوانده شدند .

تست تغییرات سیتوپلاسمی

تست تغییرات سیتوپلاسمی به منظور بررسی تغییرات سیتوپلاسم، به ویژه تغییرات هسته انجام می شود. در طی انجام تست MTT، سلول های کنترل هم چنان سالمند و با افزایش MTT به بنفش تغییر رنگ می دهند. ولی اگر نمونه های آزمایشی که به سلول های سرطانی تلقیح می شوند باعث مرگ آن ها از طریق آپوپتوزیس شده باشند، با افزایش MTT، محلول بی رنگ باقی مانده و اگر صورتی شد نشانه آغاز آپوپتوز می باشد. البته، آپوپتوز با نکروز تفاوت دارد. در نکروز، سیتوپلاسم جمع شده و فضای سلول حالت پراکندگی دارد. اما در حالت آپوپتوزیس، میتوکندری کارایی نداشته، هسته قطعه قطعه شده و اندامک ها تدریجاً از بین رفته و هضم می شوند. در آپوپتوزیس پیشرفته تر، هسته مشاهده نمی شود. وضعیت سیتوپلاسم و هسته در آپوپتوزیس، بدون رنگ آمیزی سلول توسط میکروسکوپ نوری مشخص و قابل مشاهده نیست و در این حالت سلول ها سالم به نظر می رسند. در حالی که با استفاده از رنگ آمیزی هماتوکسیلین – ائوزین، تغییرات سیتوپلاسم و هسته در آپوپتوزیس قابل رویت می باشد. این رنگ آمیزی مطابق روش زیر انجام شده است:

1- خالی کردن تمام مایع رویی داخل چاهک

2- قرار دادن 100 میکرولیتر فرمالدهید 10٪ در چاهک به مدت 10 دقیقه و سپس خالی کردن آن

Archive of SID

www.SID.ir

3- قرار دادن50 میکرولیتر PBS در چاهک به مدت 5 دقیقه و سپس خالی کردن آن

4- قرار دادن50 میکرولیتر رنگ هماتوکسیلین در چاهک به مدت 1 دقیقه و خالی کردن آن

5- شستشوی چاهک با استفاده از PBS 10%

6- قرار دادن 50 میکرولیتر رنگ ائوزین در چاهک به مدت 5 دقیقه و سپس خالی کردن آن

7- شستشوی چاهک با استفاده از PBS 10٪ ، تا حدی که از رنگ قرمز چاهک کاسته شود .

8- مشاهده سلول های رنگ آمیزی توسط میکروسکوپ نوری

تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل آماری داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ی 8 وآزمون ANOVA یک طرفه انجام شد.

نتایج

MTT Assay سلول های L929

بعد از انجام تست MTT Assay، OD های به دست آمده برای سلول های تیمار شده با غلظت های مختلف عصاره آبی گیاه به صورت زیر بود: غلظت های به کار برده شده به ترتیب 10، 20، 30 و 40 میکرولیتر می باشد(جدول1).

جدول 1 - تست MTT Assay سلول های فیبروبلاست (L 929)

کنترل	غلظت 40 µl	غلظت 30 µl	غلظت 20 µl	غلظت 10 µl
0/333	0/488	0/659	0/544	0/634
0/629	0/545	0/474	0/566	0/560
0/365	0/466	0/461	0/462	0/510

نتایج حاصل، میزان زنده ماندن سلول های L929 در بین گروه کنترل و غلظت های مختلف اختلاف معنی داری را نشان می دهد(نمودار1و2). با توجه به نتایج MTT Assay سلول های L929، در همه ی گروه های تجربی، کاهش نشان داد و در دوز 75 و mg/ml112/5 تعداد سلول های زنده، کاهش بیشتری نسبت به دوز mg/ml 37/5 نشان داد (نمودار1). با توجه به افزایش دوز عصاره آبی، میزان زنده ماندن سلول ها نیز کاهش پیدا می کرد. LC 50 برای سلول های L 929، mg/ml18/75 نشان داده شد (نمودار 2).

MTT Assay سلول های Hela

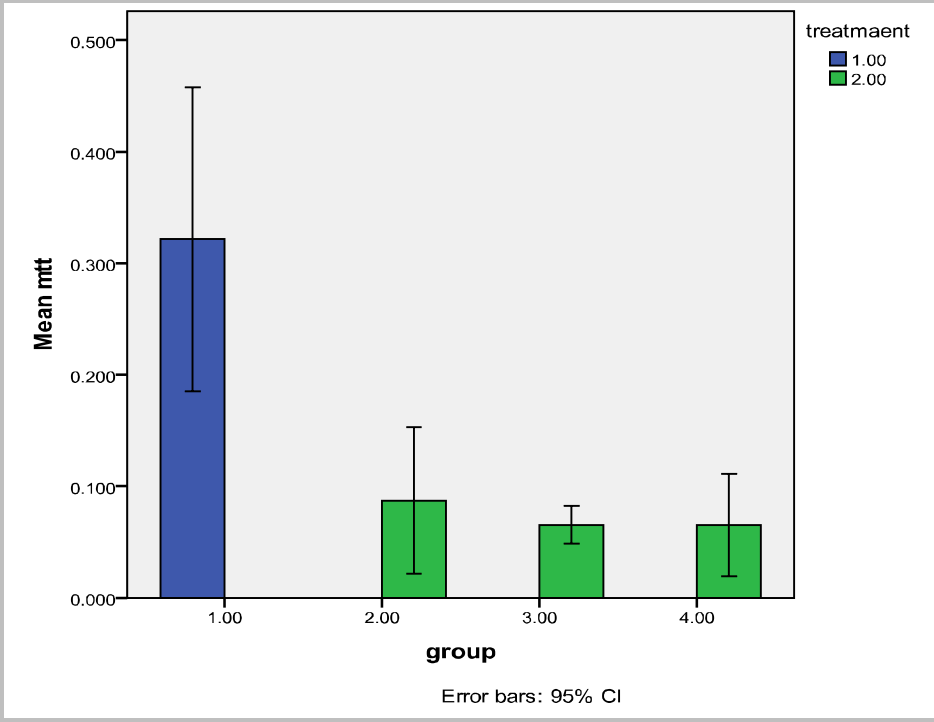
بعد از انجام تست MTT Assay ، OD های به دست آمده برای سلول های تیمار شده با غلظت های مختلف عصاره آبی گیاه به صورت زیر بود: غلظت های به کار برده شده به ترتیب 10 ، 20، 30 و 40 میکرولیتر می باشد(جدول 2).

جدول 2 - تست MTT Assay سلول های Hela

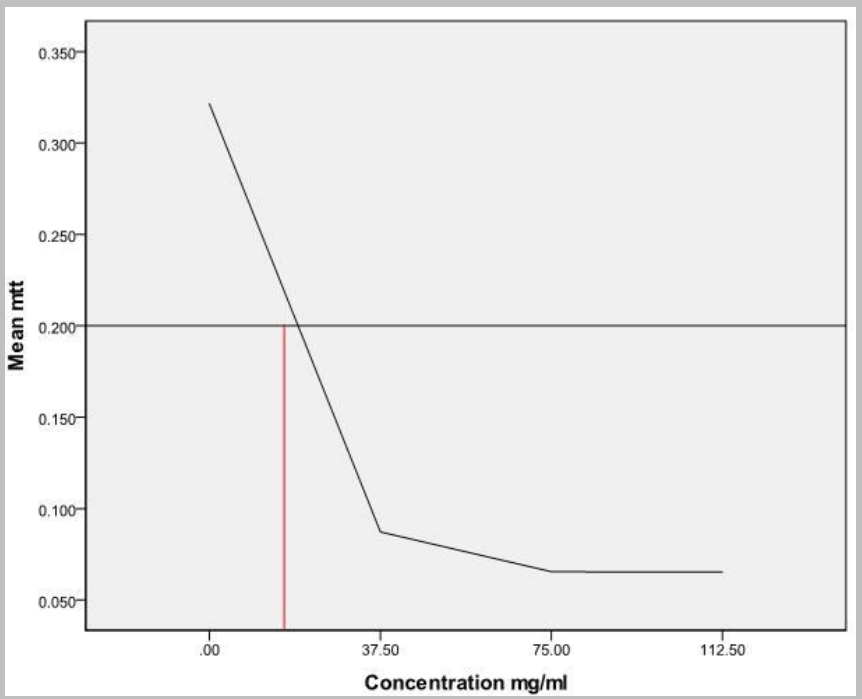
کنترل	غلظت 40 میکرولیتر	غلظت30 میکرولیتر	غلظت 20 میکرولیتر	غلظت 10 میکرولیتر
0/729	0/905	0/876	0/824	0/580
0/677	0/857	0/927	0/912	0/421
0/684	0/886	0/932	0/831	0/416

Archive of SID

www.SID.ir



نمودار1-مقایسه گروه های مختلف بررسی شده بر روی سلول های L929 . گروه 1 : گروه کنترل می باشد که فقط تحت تاثیر محیط کشت به همراه 10 % FBS بوده است . گروه های 2 الی 4 به ترتیب غلظت های 37/5 ، 75 و 112/5 mg/ml از عصاره آبی می باشد.



نمودار 2- تاثیرات سایتوتوکسیسیتی عصاره بر روی سلول های L929 . LC 50 برای این ماده به منظور تاثیرات کشندگی بر روی سلول 18/75 mg/ml می باشد.

www.SID.ir

نتایج حاصل، میزان زنده ماندن سلول های Hela در بین گروه کنترل و غلظت های مختلف اختلاف معنی داری را نشان می دهد(نمودار3 و4). نتایج MTT Assay سلول های Hela نشان داد که در همه ی دوزها، کاهش معنی داری نسبت به گروه کنترل در تعداد سلول های زنده وجود دارد. با توجه به نمودار3، این کاهش را در دوز 75 بیشتر از 37/5، و در دوز 112/5 بیشتر از 75 mg/ml نشان می دهد . LC 50 سلول های Hela، 25 mg/ml بود (نمودار 4). نتایج MTT Assay سلول های Hela نسبت به L 929 بهتر بود.

MTT Assay سلول های U937

بعد از انجام تست MTT Assay، ODهای به دست آمده برای سلول های تیمار شده با غلظت های مختلف عصاره آبی گیاه به صورت زیر بود: غلظت های به کار برده شده به ترتیب 10، 20، 30 و 40 میکرولیتر می باشد. نتایج حاصل ، میزان زنده ماندن سلول های U 937 در بین گروه کنترل و غلظت های مختلف اختلاف معنی داری را نشان می دهد(جدول 3، نمودار5 و6) . نتایج MTT Assay سلو ل های U 937 در همه ی گروه های تجربی، کاهش معنی داری نسبت به گروه کنترل نشان داد(نمودار5) LC50 برابر با 28/125 mg/ml بود (نمودار6). در مقایسه LC50 سلول های نام برده، رده ی سلولی L 929 از همه کمتر بود و این نشان دهنده ی آن است که این سلول ها نسبت به این عصاره، حساسیت بیشتری نشان می دهند.

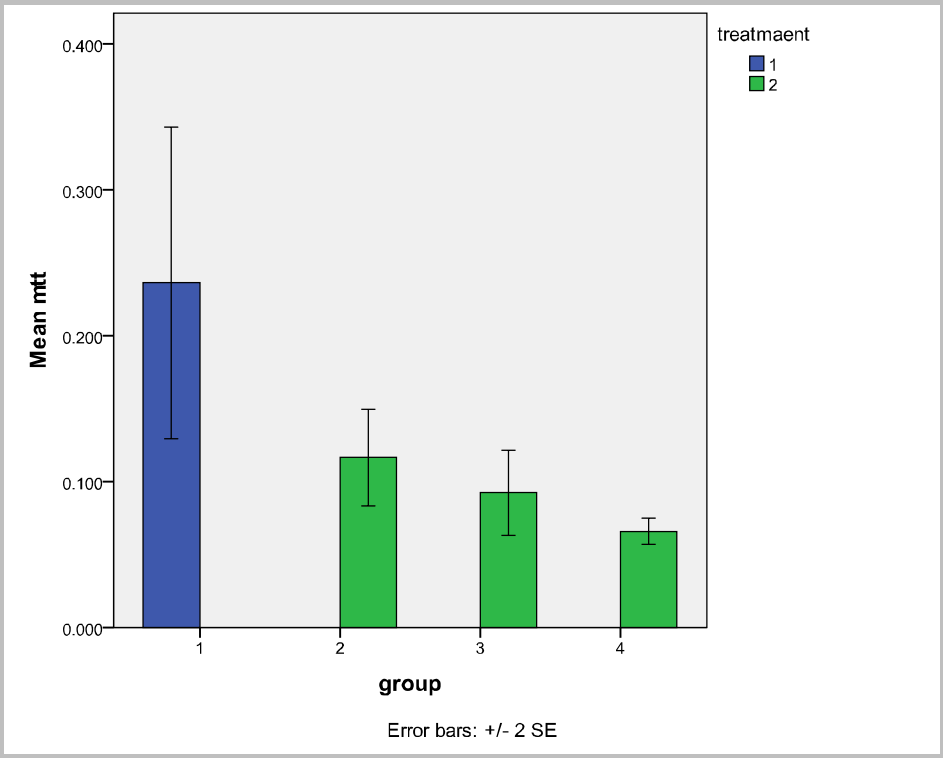
بحث و نتیجه گیری

گیاه عروسک پشت پرده (*Physalis alkekengi*)از جمله گیاهان دارویی است که در طب سنتی ایران و اکثر نقاط جهان کاربرد داشته و از آن به عنوان تب بر، فعالیت آنتی توموری، نقش ضد التهابی، ضد درد، ضد باکتری و ضد ویروس استفاده می شود. در این تحقیق نتایج اثرات سیتوتوکسیسیته عصاره آبی اختلاف معنی داری را در میزان زنده ماندن سلول هایU937، L929 و Hela در بین گروه‌های کنترل و تیمار غلظت های مختلف نشان می دهد.

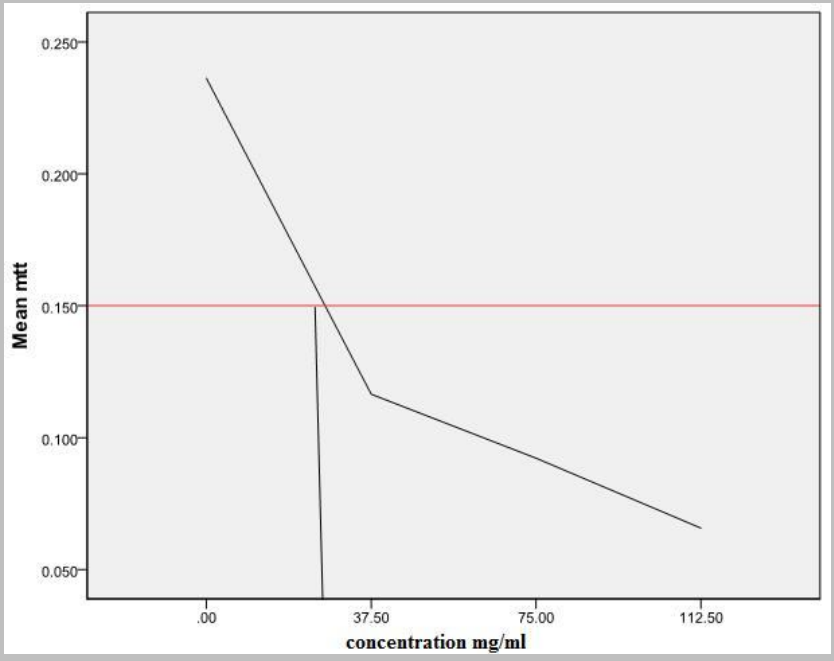
وجود اختلاف معنی دار در میزان زنده ماندن سلول ها در جلوگیری از تقسیم و تمایز سلولی می باشد. به طوری که برخی از بررسی ها برای فیزالین ها و عصاره ی آبی گیاه عروسک پشت پرده، نقش آنتی توموری و سیتوتوکسیسیته از طریق تخریب DNA و مهار آنزیم توپوایزومراز II توضیح می دهند(17، 7-4). Basey و Chiang و همکارانش نقش ضد توموری و سیتوتوکسیسیته فیزالین F،B را در گروه سلول های سرطانی هپاتوما و کم خونی های حاد انسان بررسی نموده اند. این عمل از طریق مهار کننده توپوایزومراز II انجام می گیرد(7-4). Kawai و همکارانش در سال 1988 از شکل ساختمانی فیزالین F چنین نتیجه گرفتند که عملکرد گروه epoxy برای فیزالین F در محل کربن 5 و 6 باشد(18). در حالی که گروه 5α-OH و 6β-OH در فیزالین D غیر فعال می باشد. گروه epoxy از باند دوگانه بین کربن 5 و 6 در اثرات ضد توموری بسیار فعال تر می باشد. گروه کربونیل در کربن 27 (C-27) علت خاصیت سیتوتوکسیک برای فیزالین ها می باشد. غیر فعال بودن فیزالین L را به عدم پیوستگی در بخش سیکلوهگزانون نسبت می‌دهند. فیزالین M سیتوتوکسیسیته ی ضعیفی را در برابر سلول های توموری نشان می دهد و علت آن پیوند دوگانه ی کربن 2و3 به جای کربن 3 و 4 و اتصال بخش سیکلوهگزان در حلقه ی A در فعالیت ضد توموری فیزالین ها بسیار مهم می باشد. در بررسی میزان کشندگی عصاره آبی گیاه عروسک پشت پرده بر روی سلول های Hela و L 929 و U 937 آزمایش شد.

Archive of SID

www.SID.ir



نمودار5- تاثیرات گروه های مختلف بررسی شده بر روی سلول های U937 . گروه 1 : گروه کنترل می باشد که فقط تحت تاثیر محیط کشت به همراه 10 % FBS بوده است . گروه های 2 الی 4 به ترتیب غلظت های 37/5، 75 و 112/5 mg/ml از عصاره آبی می باشد.



نمودار 6- تاثیرات سایتوتوکسیسیتی عصاره بر روی سلول های U937 . LC 50 برای این ماده به منظور تاثیرات کشندگی بر روی سلول mg/ml 28/125 می باشد.

www.SID.ir

رقت های مختلفی از عصاره بر روی سلول ها اثر داده شد و نمودار فراوانی زنده ماندن سلول ها پس از تیمار ، رسم شده است که بر اساس جدول OD های موجود ، تفاوت معنی داری بین سلول های کنترل با دیگر سلول ها که تحت تیمار بودند وجود داشت. میزان کشته شدن سلول های Hela بالا بود . در نتیجه می توان گفت که عصاره آبی گیاه عروسک پشت پرده ، خاصیت کشندگی بر روی سلول های سرطانی Hela دارد که به دلیل حضور رسپتور های اختصاصی روی سلول های سرطانی است . برای تایید این نتیجه آزمایش دیگری طراحی شد که رنگ آمیزی هسته و هم چنین سیتوپلاسم بود . در این بررسی با مشاهده سلول های کنترل و تحت تیمار زیر میکروسکوپ ، معلوم شد که هسته در سلول های تحت تاثیر عصاره آبی ، یا به صورت چند قسمتی در آمده بودند و یا اینکه هسته کاملا از بین رفته است که نشان دهنده ی وقوع آپوپتوزیس می باشد . ولی در سلول های کنترل ، هسته رنگ شده و کاملا مشخص بود .در نتیجه خاصیت کشندگی عصاره آبی گیاه عروسک پشت پرده بر روی سلول های U937 , L 929 , Hela تایید شد. این نتایج نشان می دهند که احتمالاً ترکیبات موجود در عصاره ی آبی گیاه نقش مهاری بر روی رشد و نمو و تقسیم و تمایز سلولی دارند. برخی از محققین برای ترکیبات فیزالین و آلکالوئیدی این گیاه اثر آنتی توموری و آنتی نئوپلاستیکی را گزارش نموده اند(11، 10، 7، 6، 3). این تأثیر ممکن است ناشی از اثر مستقیم ترکیبات موجود در عصاره بر روی DNA باشد، زیرا بررسی های Ma,Fuwa در 1991 اثر مهاری آلکالوئیدهای عصاره ی *P.minima* را بر روی DNA سلول های توموری موش گزارش کرده است(25). از آن جایی که فیزالین ها ساختمان شبه استروئیدی دارند، قادرند به راحتی از غشای سلول ها عبور کرده، با گیرنده های استروئیدی داخل سیتوپلاسم پیوند شوند و به رسپتور خود در داخل هسته وارد و به بخشی از DNA متصل شود و در سنتز پروتئین و یا آنزیم اختلال ایجاد کند و موجب بروز بی نظمی در رشد و نمو و تقسیم سلولی گردد. با توجه به تحقیق حاضر و نتایجی که از آن به دست آمد می توان چنین تفسیر نمود در عصاره آبی میوه گیاه عروسک پشت پرده ترکیباتی وجود دارد که دارای ساختمان استروئیدی می باشند که به راحتی می تواند از غشاء سلول عبور کرده و توسط گیرنده های خود به DNA متصل شده و در سنتز و یا مهار سنتز یک پروتئین یا آنزیم ، شرکت کنند . با توجه به ساختمان فیزالین F، Chiang و همکارانش در سال 1992 وجود گروه اپوکسی در فیزالین F را محصول ارائه این اثرات معرفی کردند(7). در پایان می توان امیدوار بود از این گیاه به عنوان یک داروی ضد سرطان و بدون داشتن عوارض جانبی استفاده کرد. البته باید به زمان و مقدار مصرف عصاره توجه داشت.

تشکر و قدردانی

ضمن تشکر از مسئولین محترم دانشگاه آزاد واحد کرج، کلیه هزینه های اجرایی این طرح، از طرف معاونت محترم پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج پرداخت شده است.

منابع

1- تراب زاده، پروین. 1373. پایان نامه کارشناسی ارشد،بررسی اثرات بیولوژیک عصاره آبی گیاه عروسک پشت پرده بر روی رشد و نمو جنین های موش نژاد Balb/cدر روز های 3و4و5و6 حاملگی.

Archive of SID

www.SID.ir

2- آئینه چی، یعقوب. 1368. ترجمه روش های نوین تجزیه شیمیایی گیاهان.

3. Alluri, R.R., Miller, R.J., Shelver, W.II., Khalil, W. (1976). Dihidroxyphysalin B : a new Physalin from *Physalis minima* leaves. Lioydia, 39(6); 405-407.

4. Basey, K., Mcgow, B.A., Woolley, J.G. (1990). Phygrin, an alkaloid from *Physalis* species. Phytochemistry, 31(12); 4173-4176.

5. Basey, K., Mcgow, B.A., Woolley, J.G. (1973). Alkaloids of *Physalis alkekengi*. Phytochemistry , 12;2557-2559 .

6.Chiang, H.C., Jaw, S.M., Chen, P.M., Kan, W.S. (1992). Antitumor agent , physalin F from *Physalis angulata* L. Anticancer Res, 12(3) ; 837-843.

7.Chiang, H.C., Chen, P.M. (1992) . Inhibitory effects cells in vitro. Anticancer research , 12 ;1155-1162 .

8.Chen, C.H. (1990) . Constituents of formosan folk medicine. Withangulatin A. a new withanolide from *Ohysalis angulata*. Heterocycles , 31(7); 1371-1375.

9. Christen, P.(1986). Withanolides, plant steroids of unsual structure . Parm.Acta, 61/q; 242-246.

10. Dornberger, K. (1986). Investigation on the potential antineoplastic constituents of *Physalis alkekengi* L.Var. francheti Mast. Pharmazie , 41(4); 265-268 .

11. Elliger, C.A., Waiss, A.C.(1989). Insect growth inhibitors from *Petunia* and other *Solanaceous* plants. Acs. Symp. Ser,387(Insectic. Plant origin); 188-205

12. Frisbey, A., Roberts, J.M., Jennigs , J.C., Gollshall R.Y., lucas, E.H.(1953). Mich. Agric. Exp. Sta. Quart. Bull,35;392 .

13. Heywood, A .(1985). The flowering plant on the world. London , Croom helm , 229.

14. Harbone , I.B.(1973). Phytochemical Methods.(1979)

15. Hartwell, J.l. (1971). Plants use against cancer A survey. Lioyda, 34;232.

16. Heywood ,A. (1985) . The flowering plant on the world. London , Croom helm, (299) .

17. Juang, J.K. (1989) . A new compound , withangulatin A,promotes type DNA topoisomerase – mediated DNA damage. Biochem. Biophys. Res.Commun., 31,159(3); 1128-34.

18. Kawai, M., Ogura, T.,Nakanishi, M.,Matssura, T.(1988). Structure of Phsalin M isolated from *Physalis alkekengi* Var. francheti. Bull. Chem. Soc. Jpn., 61; 2696-2698 .

19. Kawai, M. (1987). A new Physalin from *Physalis alkekengi*: structure pf *Physalin* L.Phytochemistery , 26(12); 3313-3317 .

20. Kawai, M. (1969). Bitter principles of *Physalis alkekengi* var. francheti : x-ray analysis of 5-acetoxy-6 – bromo hexa hydro physalin A. Tetrahedron letters, 14; 1087-1088.

21. Kawai, M. (1992). Physalins N and O from *Physalis alkekengi*. Phytochemistry, 31(12); 4299-4302 .

22. Kawai, M. (1989). Isolation of (25S)-25,27-dihydro physalin A from *Physalis alkekengi* Var.francheti. Chem. Express , 4(2); 97-100 .

23. Matssura, T . (1970). Structure of physalin A and B , 13,14-seco-16,24-cyclo-steroides from *Physalis alkekengi* var. francheti. J., Chem . Sco.(c), 664-670 .

24. Matssura, T. (1969).Bitter principles of *Physalis alkekengi* var francheti. Tetrahedron letters, 14;1083-1086.

25. Ma, Fuwa . (1991). Inhibitory effects of the *Physalis minima* alkaloid on the DNA synthesis of S-180 ascitic tumor cell of mice in vitro. Shaanxi Yixue Zazhi , 20 (11); 689-691.

26. Row, R. L. (1979). New Physalins from *Physalis angulata* and *Physalis lancifolia*. Structure and reactions of Physalins D, I, G and K. Phytochemistry, 19; 1175-1181.

27. Row, R.l. (1978). The structure of Physalins F and J from *Physalis angulata* & *Lancifolia*. Phytochemistry, 17;1647-1650.

28. Row, R.L. (1980) . New physalin from *Physalis angulata* and *Physalis lancifolia* : structure and reactuions of Physalins D, I, G and K. Phytochemistry, 19;1175-1181 .

29. Row, R.L. (1978). New Physalins from *Physalis angulata* and *Physalis lancifolia*. Part2. The structure of Physalin F and J. Phytpchemistry, 17(19);1647-1650 .

30. Vessal, M., Mehrani, H.A., Hossein Omrani, G. (1991). Effects of an aqueous extract of *Physalis alkekengi* fruit on estrus cycle.reproduction and uterine ceratine kinase BB-isozyme in Rats. Journal of Ethnopharmacology, 34; 69-78 .

31. Vessal, M., Mehrani, H.A., Yazdani, G. (1995) . Comparison of the effects of an aqueous extract of *Physalis alkekengi* fruits and/or various doses of 17B-estradiol on rat estrous cycle and uterine glucose G-phosphate

Archive of SID

www.SID.ir

dehydrogenase activity. Comp. Bichem . physiol, 112(2); 244-236.

.