

## اثر سمیت سلولی عصاره گیاه *Astragalus cystosus* بر روی رده‌ی سلول‌های HeLa با روش MTT

لیلا سادات الداعی<sup>۱،۲</sup>، عباسعلی دهپور جویباری<sup>۳</sup>، فرخنده نعمتی<sup>۳</sup>، رضا میردشتی<sup>۴</sup>، رحیم اکرمی<sup>۵</sup>

<sup>۱</sup> کارشناس ارشد زیست شناسی سلولی تکوینی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قائم شهر

<sup>۲</sup> کارشناس ارشد زیست شناسی سلولی تکوینی، دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، سبزوار، ایران

<sup>۳</sup> استادیار دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قائمشهر، گروه زیست شناسی، مرکز تحقیقات سلولی ملکولی، قائمشهر، ایران

<sup>۴</sup> کارشناس ارشد بیوشیمی، دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، سبزوار، ایران

<sup>۵</sup> کارشناس ارشد اپیدمیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، سبزوار، ایران

نشانی نویسنده مسئول: عباسعلی دهپور جویباری، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قائمشهر، گروه زیست شناسی، مرکز تحقیقات سلولی ملکولی

E-mail: dehpour@gmail.com

وصول: ۹۲/۱۲/۲۸، اصلاح: ۹۲/۵/۱۵، پذیرش: ۹۲/۶/۲۸

### چکیده

**زمینه و هدف:** درمان سرطان به وسیله گیاهان دارویی، از دیرباز مورد توجه محققان بوده است. در این میان، برخی گونه‌های گیاهی دارای موادی هستند که از طریق آپوپتوز و یا نکروز، موجب مهار یا از بین بردن سلول‌های سرطانی می‌گردند. هدف از این تحقیق، بررسی اثر ضد سرطانی این گیاه بر روی رده‌های سلولی HeLa بوده است.

**مواد و روش‌ها:** سلول‌های سرطانی سرویکس مورد استفاده در این تحقیق، از بخش تومور بانک انستیتو پاستور ایران تهیه شد. بعد از کشت سلول‌های سرطانی در محیط آزمایشگاه، غلظت‌های ۰/۱۵۶، ۰/۳۱۲، ۰/۶۲۵، ۱/۲۵، ۲/۵، ۵، ۷/۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از عصاره گیاه، بر روی این رده سلول‌های سرطانی تأثیر داده شد. بعد از ۷۲ ساعت، مرگ و میر سلول‌ها، با روش MTT مورد بررسی قرار گرفت. در آزمون‌های آماری، سطح معنی داری ۰/۰۵ در نظر گرفته شد و همچنین آزمون‌های تی تست با نرم افزار اکسل انجام گرفت.

**یافته‌ها:** یافته‌های این مطالعه، نشان می‌دهد که عصاره گیاه *Astragalus cystosus* بر روی رده سلولی سرطانی HeLa، دارای سمیت سلولی در اکثر غلظت‌ها بوده و بالاترین مهار آن، در غلظت‌های ۷/۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر است. درصد مهارکنندگی در غلظت‌های بالاتر مانند ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، برابر ۲۸/۹۸ درصد که بیشترین مقدار است، می‌باشد.

**نتیجه‌گیری:** باتوجه به این‌که عصاره گیاه *Astragalus cystosus*، دارای خاصیت سمیت سلولی در رده سلول‌های سرطانی سرویکس (HeLa) می‌باشد، با انجام مطالعات بیشتر بر روی مدل‌های حیوانی و پس از آن مطالعات کارآزمایی بالینی می‌تواند به عنوان یک ماده در درمان سرطان مورد استفاده قرار گیرد.

**واژه‌های کلیدی:** *Astragalus cystosus*، HeLa، سمیت سلولی، عصاره‌ی اتانولی

## مقدمه

امروزه، سرطان از جمله شایع‌ترین بیماری‌ها و یکی از عوامل اصلی مرگ و میر در جهان می‌باشد (۱). روش‌های درمانی مرسوم نیز، اکثراً شیمیایی و فیزیکی بوده که خود عوارض جانبی سوئی بر سایر اندام‌ها و بافت‌های مختلف بدن دارد. لذا، امروزه بسیاری از مراکز تحقیقاتی دنیا برای پیشگیری یا درمان انواع مختلف سرطان، به دنبال یافتن یک روش ایمن‌تر و کارآمدتر از طریق استفاده از گیاهان دارویی برآمده‌اند. یکی از این گونه‌ها، گیاه «گون» با نام علمی *Astragalus cystosus* می‌باشد که پراکندگی آن در کشور ما بسیار زیاد است و گیاه مذکور، یکی از گیاهان بومی و شناخته شده‌ی شهرستان سبزوار می‌باشد (۲).

بر طبق آخرین تحقیقات پزشکی انجام شده، اثرات ضد سرطانی گونه‌های دیگر این گیاه، در مجلات معتبر علمی - پژوهشی به چاپ رسیده است که فلاونوئیدهای موجود در گیاه «گون» گونه *A. complanatus* در محیط *In Vitro* می‌تواند رده‌های سلولی کارسینومای کبد را به سمت آپوپتوز سوق دهد (۳، ۴). همچنین در مطالعه‌ای دیگر که بر روی ۲۴ بیمار مبتلا به سرطان ریه غیر سلول کوچک (Non-Small Cell Lung Carcinoma) صورت گرفته، ۲۱ بیمار به عصاره‌ی این گیاه پاسخ درمانی مثبت نشان داده‌اند [۵]. از طرفی دیگر، برای گونه‌های «گون»، خواص سمیت سلولی به همراه ماده‌ای به نام Sawainsonine و مشتقات آن نیز وجود دارد (۶).

سمیت سلولی عصاره‌ی «گون» با روش MTT، بر روی رده‌ی سلول‌های HeLa بررسی شده‌است. در این مطالعه، با توجه به امکانات موجود، عصاره‌گیری به روش «پروکولسیون» که یکی از متداول‌ترین روش‌های عصاره‌گیری به‌شمار می‌آید، انجام گرفته‌است.

از آنجایی که هنوز درمان قطعی و بدون عوارض برای انواع مختلف سرطان وجود ندارد و اینکه این اثرات، فقط در مورد برخی از گونه‌های این گیاه گزارش

شده است، لذا با توجه به تفاوت‌های گیاه‌شناختی موجود در گونه‌های شناخته شده در ایران و خصوصاً خراسان با دیگر نقاط دنیا، بررسی و مطالعه‌ی اثرات ضد سرطانی گونه‌ی «گون»، دارای اهمیت پزشکی و اکولوژیک خاصی می‌باشد که در صورت مشاهده و تأیید این اثرات، امکان تهیه‌ی داروهای گیاهی بومی از این گونه‌ی گیاهی خاص به صورت بالقوه وجود دارد. این مطالعه با هدف بررسی اثر ضد سرطانی گیاه «گون» بر روی رده‌ی سلولی بافت سرویکس (HeLa) انجام گرفته شده‌است.

## مواد و روش‌ها

## سلول‌های HeLa

سلول‌های مورد استفاده در این تحقیق که از سلول‌های کارسینومای سرویکس انسان می‌باشد، از بخش بانک سلولی انستیتو پاستور ایران به صورت فلاسک خریداری شده است.

نحوه ذوب کردن و استحصال سلولی از نمونه‌های منجمد سلولی (۷)

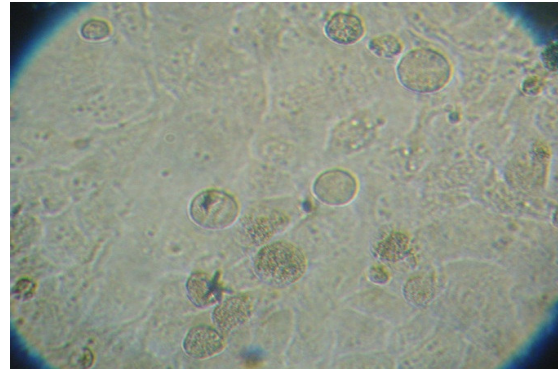
(۱) ۱۵ میلی لیتر از محیط RPMI 1640 حاوی ۱۰٪ FCS (۱۰۰ mg/ml) پنی سیلین و ۱۰۰ mg/ml استرپتومایسین) را در یک فلاسک کشت، برای مدت ۲ ساعت در یک آنکوباتور CO<sub>2</sub> دار قرار داده تا به حال تعادل به محیط برسد.

(۲) تحت شرایط ایمنی (استفاده از دستکش عایق و عینک) ویال منجمد سلولی را از تانک ذخیره ازل خارج می‌کنیم.

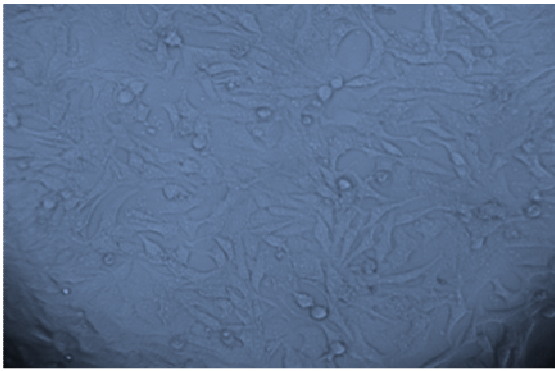
(۳) به منظور اجتناب از انفجار احتمالی ویال (به علت ورود احتمالی ازل مایع به داخل ویال)، در آن راه، بعد از ضد عفونی کردن سطح خارجی ویال با الکل ۷۰ درجه، در زیر هود شل می‌کنیم تا گاز ازل خارج شود.

(۴) مجدداً، در ویال را بسته و فوراً آن را در بن ماری ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد ذوب می‌کنیم. فرایند ذوب شدن بایستی حدوداً ظرف ۱ دقیقه تمام و از حرارت بیش از

تصویر (الف)



تصویر (ب)



### تهیه رقت‌های مختلف از عصاره گیاه

عصاره گیاهی مورد نظر توسط ترازوی حساس دیجیتال وزن و آنگاه در هر ۱۰۰ میکرولیتر DMSO به صورت محلول در آورده می شود. سپس در محیط کشت سلولی (RPMI 1640) رقت‌های مختلف مورد نیاز تهیه می گردد. رقت‌های مورد استفاده در این تحقیق شامل ۱۰، ۷/۵، ۵، ۲/۵، ۱/۲۵، ۰/۶۲۵، ۰/۳۱۲ و ۰/۱۵۶ mg/ml می باشند. میزان DMSO در محلول نهایی موجود در چاهک-های کشت سلول کمتر از ۱٪ محاسبه می گردد. گفتنی است DMSO تا غلظت کمتر از ۱٪ فاقد سمیت است و از این حیث، غلظت این حلال مهم می باشد.

### بررسی سمیت سلولی مواد با استفاده از آزمون MTT

رده سلولی مورد استفاده در محیط کشت RPMI 1640 که حاوی پنی سیلین (۱۰۰ IU/ML)، استرپتومایسین (۱۰۰ IU/ML)، گلوتامین (۲ mmol) و ۱۰٪ سرم جنین گاو (FBS) می باشد، در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد و در اتمسفر حاوی ۵٪ CO<sub>2</sub> انکوبه می شوند. سلول‌ها، در فلاسک‌های T شکل ۷۵cm<sup>2</sup> در ۱۵ میلی لیتر محیط و با تعداد اولیه  $10^6 \times 2-1$  سلول، شروع به رشد می کنند. بعد از گذشت سه روز و پوشیده شدن بستر فلاسک از سلول، لایه سلول چسبنده به کف فلاسک به روش آنزیمی و با استفاده از تریپسین-ورسن جدا و پس از انتقال به لوله آزمایش استریل به مدت ۱۰ دقیقه در دور ۱۲۰۰، سانتریفیوژ می شود.

سپس سلول‌ها در محیط کشت تازه با کمک پیت پاستور، دوباره معلق و از آن سوسپانسیون با استفاده از

حد به سلول‌ها اجتناب شود.

۵) قطره قطره محیط را به ویال می افزاییم و سپس محتویات آن را خارج و همراه با محیط در لوله‌های آزمایش استریل ۱۵ سی سی، سانتریفیوژ می کنیم. پس از سانتریفیوژ، محیط رویی را خارج می کنیم و دوباره، سلول‌ها را به صورت تعلیق در محیط درمی آوریم و به فلاسک از پیش آماده حاوی محیط و FBS منتقل و انکوبه می کنیم.

### جمع آوری گیاه و عصاره گیری

گیاه *Astragalus cystosus* در اواخر خرداد ماه ۱۳۹۱، از ارتفاعات روستای استاج واقع در شهرستان سبزوار جمع آوری شده است. بخش‌های مختلف گیاه، بعد از خشک شدن در سایه و در مجاورت هوا، پودر گردیده و برای تهیه عصاره مورد استفاده قرار گرفته است.

برای عصاره گیری، ابتدا گیاه مورد نظر را به صورت پودر درمی آوریم و به منظور حل شدن ماده‌ی حل شونده، به همراه حلال (اتانول ۸۰٪) و تحریک مکرر، در یک ظرف در بسته، برای یک دوره‌ی حداقل سه روزه در دمای اتاق نگهداری می کنیم. پس از حاصل شدن مخلوط کدر، مواد جامد مرطوب پرس شده و مایعات ترکیب شده، به وسیله فیلتراسیون و یا ظرف به ظرف کردن جدا می شود. آنگاه، حلال اتانول با استفاده از روتاری و با روش تقطیر در خلاء خارج می گردد. این عصاره، به عنوان عصاره‌ی خالص در نظر گرفته شده و براین اساس، غلظت‌های مختلف از آن تهیه می شود.

می شوند و سپس باقیمانده خارج و به هر چاهک ۱۰۰ میکرولیتر DMSO اضافه می گردد تا فورمازان حاصل حل شود. پس از ۱۰ دقیقه و با استفاده از تکان دادن پلیت‌ها، جذب نوری فورمازان در ۵۷۰ نانومتر با استفاده از خوانشگر پلیت خوانده می‌شود. چاهک‌های حاوی سلول Hela و بدون عصاره به عنوان کنترل و چگالی نوری چاهک‌های بدون سلول و تنها حاوی محیط کشت به عنوان Blank در نظر گرفته می‌گردد. درصد حیات سلولی، با استفاده از فرمول زیر محاسبه می‌شود:

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

### یافته‌ها

به‌طورکلی، با تأیید دادن غلظت‌های مختلف از عصاره گیاه «گون» (۱۰، ۷/۵، ۵، ۲/۵، ۱/۲۵، ۰/۶۲۵، ۰/۳۱۲ و ۰/۱۵۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) بر روی سلول‌های سرطانی بافت سرویکس (Hela)، مهارکنندگی رشد سلول‌ها قابل ملاحظه بوده، به شکلی که بالاترین مهارکنندگی در غلظت‌های ۷/۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، به ترتیب ۱۸/۳ و ۲۸/۹۸ درصد می‌باشد (جدول ۱).

میانگین جذب نوری در غلظت‌های ۷/۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به‌طور معنی داری با میانگین جذب نوری با گروه کنترل متفاوت می‌باشد و از این جهت،  $P < 0/05$  به دست آمده است.

میانگین جذب نوری در غلظت ۱۰ و ۷/۵ میلی -

سمپلر ۸ کاناله ۱۰۰ میکرولیتر درون چاهک‌های پلیت ۹۶ خانه ای با کف صاف (ویژه‌ی کشت سلولی) ریخته می‌شود. یک ستون از چاهک‌ها، بدون سلول و به عنوان Blank و فقط حاوی محیط کشت نگهداشته می‌شود. در یک ستون دیگر، حاوی محیط کشت و سلول‌های سالم (لنفوسیت و منوسیت) و درستون‌های دیگر، حاوی محیط کشت و سلول‌های رده‌ی سلولی در نظر گرفته می‌شود. یکی از این ستون‌ها که حاوی محیط کشت و سلول و فاقد عصاره می‌باشند، به عنوان شاهد (کنترل) در نظر گرفته می‌شود و یک ستون دیگر هم، حاوی محیط کشت و سلول و غلظت به کار رفته DMSO (کنترل منفی) می‌باشد تا اثر سمیت آن بر روی سلول‌ها بررسی گردد. پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت، درون انکوباتور، انکوبه می‌شوند تا سلول‌ها از استرس ناشی از تریپسینه شدن به حالت عادی باز گردند. پس از این زمان، رقت‌های مناسب از عصاره‌ی مورد نظر تهیه و ۱۰۰ میکرولیتر از هر رقت به صورت ستونی به چاهک‌های پلیت اضافه می‌شود. (به این ترتیب غلظت نهایی ترکیب مورد مطالعه در چاهک‌ها نصف می‌گردد. بنابراین غلظت‌ها به صورت ۲ برابر تهیه می‌گردد تا بعد از اضافه شدن به چاهک، به غلظت نهایی مورد نظر برسد). سپس سلول‌ها به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۳۷ درجه و در اتمسفر ۵٪ CO<sub>2</sub> در انکوباتور قرار داده می‌شوند. پس از گذشت ۷۲ ساعت به هر چاهک ۲۰ میکرولیتر از محلول MTT (۵ mg/ml) اضافه می‌گردد. پلیت‌ها به مدت ۳ تا ۴ ساعت، انکوبه

جدول ۱: طول موج نوری خوانده شده در سه پلیت مختلف و میانگین مهارکنندگی رشد سلول‌های سرطانی

غلظت عصاره گون (mg/ml)	میانگین جذب نوری ± انحراف معیار	میانگین مهارکنندگی %
۰/۱۵۶	۰/۱۱±۰/۰۷	۰/۵۲۶
۰/۳۱۲	۰/۰۹±۰/۰۱	۰/۵۶۶
۰/۶۲۵	۰/۰۷±۰/۰۰۴	۱۴/۰۳
۱/۲۵	۰/۰۵±۰/۰۱	۱۴/۲۸
۲/۵	۰/۰۴±۰/۰۰۷	۱۵/۰۱
۵	۰/۰۴±۰/۰۱	۱۶/۱
۷/۵	۰/۰۲۱±۰/۰۰۲	۱۸/۳
۱۰	۰/۰۲۶±۰/۰۰۲	۲۸/۹۸
بدون مداخله (کنترل)	۰/۲±۰/۰۲۱	.

زمینه گزارش شده‌اند. اگرچه، از سوی محققان، بررسی‌ها و مطالعاتی انجام گرفته، ولی تاکنون بررسی در مورد این گونه از گیاه *Astragalus Cystosus* انجام نگرفته است. طبق آخرین مطالعات انجام شده در سال ۲۰۱۲، با بررسی عصاره‌ی «دی‌کلرومتان» بر رده‌های سلول‌های کارسینومای پوششی، نشان داده شده که عصاره‌ی گیاه *Astragaluse gombiformis*، دارای اثرات سمیت سلولی قوی می‌باشد (IC50=85± 21.7 µg/ml). همچنین عصاره‌ی «متانولی»، بر سوش‌های باکتری‌هایی نظیر سالمونلا و پزودوموناس، اثرات ضد باکتریایی داشته است (۹).

در تحقیقی دیگر که بر روی گونه‌ی دیگر گیاه «گون» صورت گرفته است، لکتین موجود در *A. mongholicus* از گیاه استخراج و با تکنیک افینیتی کروماتوگرافی (*Chromatography Affinity*) تخلیص گردیده است. از سلول‌های توموری سرویکس انسانی (HeLa)، رده‌ی سلولی شبه استئوبلاستی انسانی و رده‌ی سلولی لوسمی انسانی استفاده گردیده تا اثرات AMML را که نوعی لکتین است، بر رشد سلولی آپوپتوزیس و چرخه‌ی سلولی مورد بررسی قرار بگیرد. در سلول‌های رده‌ی HeLa، حداکثر مهار رشد، (۹۲٪) و پس از آن در سلول‌های رده لوسمی، (۸۴٪) و رده‌ی سلولی شبه استئوبلاستی، (۴۸٪) مشاهده شده است. تغییرات ریخت-شناختی در رده‌ی HeLa، بسیار مشخص شده، شامل قطعه قطعه شدن هسته و ظهور اجسام آپوپتوتیک احاطه شده در غشاء می‌باشند (۱۰).

در مطالعه‌ی دیگر، مشخص گردیده که گونه‌ی *A. saponin* «گون» به وسیله‌ی تسریع پیام‌رسانی دو مولکول m Tor و ERK در مسیر خارجی آپوپتوز، می‌تواند سلول‌های سرطان کولون HT-29 را به سمت آپوپتوز هدایت کند (۱۱). هر چند این مطالعه و سایر مطالعات مشابه آن که اثرات ضد سرطانی گونه‌های «گون» را مورد بررسی قرار داده‌اند، دارای اثر مهارکنندگی در غلظت‌های بالا می‌باشند، اما مقدار درصدهای مهار

گرم بر میلی‌لیتر، به ترتیب ۰/۰۲۶ و ۰/۰۲۱ به دست آمده است که این، نشان دهنده‌ی مرگ سلولی بالا و اثر سمیت سلولی بیشتر نسبت به گروه کنترل می‌باشد. با بررسی جذب نوری خوانده شده از دستگاه الیزا در پلیت‌های مختلف، می‌توان سمیت سلولی غلظت‌های مورد استفاده-ی عصاره‌ی «گون» را بروی سلول‌های سرطانی مشاهده کرد.

ارتباط مهارکنندگی رشد سلول‌ها و غلظت‌های مورد استفاده در سلول‌های سرطانی در نمودار ۱ قابل مشاهده است. روند مهارکنندگی رشد سلول‌ها با افزایش غلظت گیاه، افزایش می‌یابد.

ضمناً، شکل‌های زیر مربوط به سلول‌های Hela بعد از ۷۲ ساعت تیمار با عصاره‌ی *Astragalus cystosus* (شکل الف) در مقایسه با گروه کنترل (بدون تیمار با عصاره) (شکل ب) می‌باشند. کاهش تعداد سلول‌ها و ظاهر حباب مانند غشاء در شکل الف مشاهده می‌شود.

## بحث

یافته‌های این مطالعه، نشان می‌دهند که عصاره‌ی گیاه *Astragalus cystosus* بر روی رده‌ی سلولی سرطانی Hela، دارای سمیت سلولی در اکثر غلظت‌ها بوده و بالاترین مهار آن در غلظت‌های ۷/۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر می‌باشد. همچنین جذب نوری در غلظت‌های بالاتر مانند ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، کمترین جذب نوری را نشان می‌دهد که خود، مشخص کننده‌ی از بین رفتن تعداد زیاد سلول می‌باشد.

در مطالعات دیگر، مهارکنندگی رشد سلول‌های سرطانی Hela، در غلظت‌های بسیار مشابه نیز مورد بررسی قرار گرفته است که گیاه *Consolida orientalis* در غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، درصد مهارکنندگی بالاتری داشته است. در این مطالعه، با افزایش غلظت عصاره، میزان مهارکنندگی افزایش یافته است (۸). گفتنی است، نتایج مشابه دیگری از مطالعات مختلف در این

بایستی مورد بررسی قرار گیرد که جداسازی و خالص سازی ترکیبات مؤثر عصاره و همچنین تعیین ساختار و مکانیسم فعالیت ضد سرطانی آن می تواند از مهمترین بخش های مطالعات بعدی باشد. اثر مهارکنندگی این عصاره، می تواند روی رده های دیگر سلول های سرطانی مورد بررسی قرار گیرد. همچنین بررسی فرایند پروتئومیکس و ژنومیکس روی رده های سلول های سرطانی، می تواند از دیگر محورهای پژوهش های آتی باشد.

با توجه به این که عصاره گیاه *Astragalus cystosus* دارای خاصیت سمیت سلولی در رده سلول های سرطانی سرویکس (Hela) می باشد، با انجام مطالعات بیشتر بر روی مدل های حیوانی و پس از آن مطالعات کار آزمایشی بالینی، می تواند به عنوان یک ماده در درمان سرطان مورد استفاده قرار گیرد.

### تشکر و قدرانی

از آقای مهندس فیله کش رئیس محترم اداره منابع طبیعی شهرستان سبزوار و همکارانشان در جمع آوری نمونه گیاهی تشکر و قدرانی می شود.

کنندگی، به دلیل نوع ترکیبات مؤثر، متفاوت می باشد. با توجه به عدم پاسخ مطلوب سرطان ها به درمان و پیشرفت سریع آن، تحقیق در زمینه تولید داروهای با کارایی بیشتر و سمیت کمتر ادامه دارد. ترکیبات گیاهی بسیاری با اثرات بیولوژیکی متنوع وجود دارند که بخشی از داروهای ضد سرطانی را در علم داروسازی نوین شامل میشوند. *Astragalus cystosus* به علت وجود فلاونوئیدها، ترپنوئیدها و لکتین ها از گیاهان این خانواده است که استفاده های دارویی، آرایشی و بهداشتی می شود. مهمترین ترکیباتی که در این خانواده شناسایی شده عبارتند از: لکتین ها، فلاونوئید ها، ترپنوئیدها، هیدروکربن ها، آلدئید ها و کتون ها (۱۲).

هر چند نتایج مطالعه ما، مهارکنندگی رشد سلول ها را در غلظت های مختلف نشان می دهد، اما بایستی به مواردی از محدودیت های مطالعه نیز اشاره کرد. گفتنی است روش های دقیق تر دیگری بر سنجش سمیت سلولی و عصاره گیری وجود دارد که به علت طولانی تر شدن زمان مطالعه و همچنین دردسترس نبودن امکانات آزمایشگاهی مورد نیاز مورد استفاده قرار نگرفته است.

هرچند این مطالعه، بررسی اولیه اثر مهارکنندگی عصاره گیاه «گون» را بروی سلول های سرطانی سرویکس نشان می دهد، اما ابعاد دیگری از این مطالعه نیز

### References

1. Parkin, D.M., P. Pisani, and J. Ferlay, Global cancer statistics. CA: A cancer journal for clinicians, 2008. 49(1): p. 33-64.
2. Mahmoodi, M., A. Maassoumi, and B. Hamzeh'ee, Geographic distribution of *Astragalus* (Fabaceae) in Iran. Rostaniha, 2009. 10. (1) Parkin DM, Pisani P, Ferlay J, Global cancer statistics. CA Cancer J Clin. 1999. 49(1):33-64.
3. Mahmoodi M, Maassoumi A, Hamzeh'ee B. Geographic distribution of *Astragalus* (Fabaceae) in Iran. Rostaniha, 2009;10:1[Persian].
4. Auyeung K, Law P, Ko JK. *Astragalus* saponins induce apoptosis via an ERK-independent NF- $\kappa$ B signaling pathway in the human hepatocellular HepG2 cell line. Int J Mol Med. 2009. 23(2):189-96.
5. Hu YW, Liu CY, Du CM, Zhang J, Wu WQ, Gu ZL. Induction of apoptosis in human hepatocarcinoma SMMC-7721 cells in vitro by flavonoids from *Astragalus complanatus*. J Ethnopharmacol, 2009. 123(2): 293-301.
6. Cassileth BR, Rizvi N, Deng G, Yeung KS, Vickers A, Guillen S, Woo D, Coletton M, Kris MG. Safety and pharmacokinetic trial of docetaxel plus an *Astragalus*-based herbal formula for non-small cell lung cancer patients. Cancer Chemother Pharmacol, 2009. 65(1): 67-71.
7. Rios J, Waterman PG, A review of the pharmacology and toxicology of *Astragalus*. Phytotherapy Research, 1998. 11(6): 411-8.

8. Khoramizade MR, Falak R. Basic Fundamentals of Cell Culture. tehran univercity of medical science, 2009;1: 188.
9. Demati A, Dj A, Irani M, mahdavi Sv, Mirzanezhad S, cytotoxicity activity of *Consolida orientalis* ethanolic extract against Hela cell line. biology of islamic azad university of Garmsar unit, 2012; 6: 53-8.
10. Teyeb H, Zanina N, Neffati M, Douki W, Najjar MF. Cytotoxic and antibacterial activities of leaf extracts of *Astragalus gombiformis* Pomel (Fabaceae) growing wild in Tunisia. Turk J Biol, 2012. 36(1): 53-8.
11. Yan Q, Li Y, Jiang Z, Sun Y, Zhu L, Ding Z. Antiproliferation and apoptosis of human tumor cell lines by a lectin (AMML) of *Astragalus mongholicus*. Phytomedicine, 2009. 16(6): 586-93.
12. Auyeung KK, Cho CH, Ko JK. A novel anticancer effect of *Astragalus* saponins: Transcriptional activation of NSAID-activated gene. Int J Cancer, 2009. 125(5): 1082-91.
13. Krasteva I, Platikanov S, Momekov G, Konstantinov S, Nikolov S. Phytochemical analysis and in vitro cytotoxic activity of volatiles from *Astragalus corniculatus*. Nat Prod Res, 2008. 22(11): 969-74.

Archive of SID

# The effects of cytotoxicity of *Astragalus cystosus* on the Hela Cells by using MTT Method

**Leila Sadat Aldaghi**

Cell biology MSc, Islamic Azad University of Ghaem Shar.  
Cell biology MSc, Sabzevar University of Medical Sciences, Sabzevar, Iran

**Abbas Ali Dehpour Jooybari**

Assistant Professor of biology, Islamic Azad University of Ghaem Shar.

**Farkhoneh Nemati**

Assistant Professor of biology, Islamic Azad University of Ghaem Shar.

**Reza Mir dashti**

Biochemical MSc, Sabzevar University of Medical Sciences

**Rahim Ekrami**

Epidemiology MSc., Sabzevar University of Medical Sciences

Received:18/05/2013, Revised:06/08/2013, Accepted:19/09/2013

## Corresponding Author:

Abbas Ali Dehpour Jooybari,  
Islamic Azad University of Ghaem  
Shar.  
E-mail: dehpour@gmail.com

## Abstract

**Background & objectives:** Cancer prevention and treatment by medicinal plants for a long was is one of the most challenging areas of research. Among them, some plants species could suppress or kill tumor cells via apoptosis or necrosis. One of these plants is *Astragalus*. The purpose of this study was investigating the anti-cancer effects of this plant.

**Material & method:** The cancer cell lines obtained from Pasteur Institute of Iran. The cells were cultured in RPMI 1640. Then the cells have effected from the presence of various concentrations (0.156, 0.312, 0.625, 1.25, 2.5, 5, 7.5 and 10 mg/ml) of *Astragalus cystosus*. After 72 hours the rate of cytotoxicity was determined by using MTT test. These statistical analyses carried out with a significant level of 0.05 and t-test with excel software.

**Findings:** These findings indicate that the extract of *Astragalus cystosus* on Hela cancer cell lines had cytotoxicity in all concentrations and the highest inhibition was 7.5 and 10 mg/ml concentrations. The rate of inhibition in higher concentrations such as 10mg/ml was equal to 28.98% which is the highest one.

**Conclusion:** Regarding that the extract of *Astragalus cystosus* had cytotoxicity on hela cancer cells, further studies can be performed on animal model and clinical trial so that *Astragalus* used as an anticancer drug.

**Keywords:** *Astragalus cystosus* , Hela, cytotoxicity, Ethanol extract