

ارزیابی نانوحامل هیبریدی پلاسمونیک و ترکیبات ضد سرطانی خیار دریایی در درمان سرطان

ستاره پویا^۱، مهناز محمدی^{۲*}

تاریخ دریافت ۱۴۰۳/۱۱/۲۹ تاریخ پذیرش ۱۴۰۴/۰۱/۲۴

چکیده

پیش‌زمینه و هدف: خیارهای دریایی متعلق به شاخه‌ی خارپوستان هستند. خیارهای دریایی قابل‌استفاده در صنایع شایلات، غذایی، دارویی و پزشکی می‌باشند. از سوی دیگر استفاده از نانوذرات فلزی در سیستم تحویل دارو (نانودارو)، چند سالی است که به نوآوری فرم‌های دوز با بهبود اثرات درمانی و ویژگی‌های فیزیوشیمیایی کمک می‌کند. هدف از تحقیق حاضر، بررسی و مقایسه‌ی فعالیت سمیت سلولی عصاره‌ی الکلی خیار دریایی گونه *Holothuria leucospilota* بر اساس ترکیبات موجود در آن و استفاده از نانوحامل هیبریدی پلاسمونیک در دوزهای مختلف برای درمان سرطان روده‌ی بزرگ است.

مواد و روش کار: این تحقیق به شکل *Invitro* انجام گرفت. نمونه‌های *Holothuria leucospilota* در سال ۱۳۹۷ از منطقه جزر و مدی جزیره‌ی لارک جمع‌آوری و به ظروف پلاستیکی حاوی آب دریا منتقل شد و بعد از شناسایی به‌منظور اثرات ضد سرطانی عصاره‌ی استخراجی حاصل از خلال متانول و نانوذره طلا (خریداری‌شده از شرکت نانو مینای ایرانیان) بر روی رده‌ی سلولی سرطانی روده‌ی بزرگ (HCT116)، با استفاده از روش MTT مطالعه شد. برای آنالیز آماری از فن آنالیز واریانس یک‌طرفه استفاده شد.

یافته‌ها: نتایج تأثیر سمیت عصاره‌ها در سه زمان ۲۴ و ۴۸ و ۷۲ ساعت حاکی از وابستگی سمیت به افزایش غلظت عصاره و نانوذره و همچنین افزایش بازه زمانی بود. بطوریکه بهترین نتیجه باگذشت ۷۲ ساعت، با غلظت ۵۰۰ میکروگرم از عصاره و ۹ نانوگرم از نانوذره، به دست آمد. مقدار IC₅₀ گزارش شده در این بازه ۱۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود.

بحث و نتیجه‌گیری: به دلیل اثربخشی قابل‌ملاحظه‌ی سمیت سلولی عصاره‌ی متانولی بر روی رده‌ی سلول سرطانی، ترکیبات این‌گونه می‌توانند پس از تخلیص به‌عنوان کاندیدای مناسبی جهت تولید داروی ضد سرطان استفاده گردند. همچنین می‌توان از نانوحامل هیبریدی پلاسمونیک که به دلیل خصوصیات قابل‌توجهی در امر از بین بردن سلول‌های سرطانی نقش بسزایی داشته، به‌طور گسترده از آن‌ها در صنعت پزشکی و داروئی بهره‌مند شد.

کلیدواژه‌ها: خیار دریایی، سمیت سلولی، نانو حامل هیبریدی پلاسمونیک، ترکیبات ضد سرطانی

مجله مطالعات علوم پزشکی، دوره سی و پنجم، شماره دوازدهم، ص ۹۹۴-۱۰۰۴، اسفند ۱۴۰۳

آدرس مکاتبه: تهران، اسلامشهر، میدان نماز، خیابان صیاد شیرازی، جنب فرمانداری دانشگاه آزاد اسلامی، تلفن: ۰۲۱۵۶۳۵۸۱۰۵

Email: mh_mohamadi@yahoo.com, m-mohamadi@iaau.ac.ir

مقدمه

سال ۲۰۲۱ بروز التهاب مزمن در بدن با شروع تقسیم سلول‌های سرطانی، پیشرفت و متاستاز آن به سایر نواحی همراه است. ترشح س در این مراحل هم می‌تواند منجر به مهار رشد سلول‌های سرطانی شود و از طرف دیگر محرک تشدید یا حتی تضعیف پاسخ به درمان سلول‌های سرطانی شوند (۳). سرطان روده عموماً از تشکیل پولیپ‌ها در مخاط روده آغاز می‌شود. پولیپ‌ها تجمعاتی از سلول‌ها هستند که در دیواره داخلی روده بزرگ ظاهر می‌شوند. این ضایعات ممکن است در ابتدا خوش‌خیم باشند، اما بسته به ویژگی‌های بافتی و اندازه‌شان، پتانسیل تبدیل به ضایعات بدخیم را دارند (۴). اگرچه

در سال‌های اخیر سرطان به یکی از مهم‌ترین دلایل مرگ‌ومیر در سطح جهان تبدیل شده است، به‌طوری‌که این بیماری در میان پنج عامل اصلی مرگ‌ومیر و سه اولویت اصلی سازمان جهانی بهداشت (WHO) قرار دارد (۱). طبق آمارهای ارائه‌شده توسط این سازمان، شیوع سرطان کولون در کشورهای توسعه‌یافته در مقایسه با کشورهای در حال توسعه بالاتر گزارش شده است (۲). بر اساس مطالعات پیشرفت به سمت سرطان با اختلال در عملکرد سیستم ایمنی بدن همراه است. طبق مطالعات انجام شده توسط رویو در

^۱ کارشناس ارشد گروه بیوتکنولوژی، واحد علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران ایران^۲ استادیار گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد اسلامشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، اسلامشهر، تهران، ایران (نویسنده مسئول)

تمام پولیپ‌های روده بزرگ به سرطان تبدیل نمی‌شوند، ولی اغلب موارد سرطان کولون از پولیپ‌های کوچک و غیر سرطانی منشأ می‌گیرند (۵).

اقیانوس‌ها به‌عنوان مخازن غنی از تنوع زیستی زمین شناخته می‌شوند و موجودات دریایی به‌طور گسترده در تحقیقات علمی برای تولید ترکیبات دارویی و غیر دارویی مورد استفاده قرار می‌گیرند (۶). ازجمله این موجودات، خیارهای دریایی هستند که به شاخه خارپوستان و رده Holothuroidea تعلق داشته و حدود ۱۴۰۰ گونه زنده از آن‌ها شناسایی شده است (۷، ۸). متابولیت‌های ثانویه استخراج‌شده از این جانداران دارای خواص زیست فعال متعددی ازجمله اثرات ضد باکتریایی، ضد قارچی، ضدویروسی و ضد سرطانی هستند (۹).

مطالعات دو دهه اخیر نشان داده‌اند که ترکیبات موجود در خیار دریایی به دلیل ویژگی‌هایی مانند فعالیت ضد توموری، تعدیل سیستم ایمنی و خاصیت ضد میکروبی، پتانسیل درمانی در بیماری‌های مختلف دارند (۱۰). از این موجودات در طب سنتی برای درمان اختلالاتی مانند آسم، فشارخون، آرتریت، زخم‌ها، ناتوانی جنسی، مشکلات کلیوی، بیماری‌های پوستی و یبوست استفاده می‌شود (۱۱، ۱۲). همچنین، خیارهای دریایی دارای اثرات ضدالتهابی، ضد آئیزوژنیک، ضد ترومبوتیک، آنتی‌اکسیدانی و ترمیم‌کننده زخم هستند (۱۳-۲۱). این خواص ناشی از حضور ترکیبات زیست‌فعال مانند ساپونین‌ها (تری‌ترین گلیکوزیدی)، کندرویتین سولفات، گلیکوزامینوگلیکان‌ها، پلی‌ساکاریدهای سولفات، استرول‌ها (گلیکوزیدشده و سولفات)، فنول‌ها، سربروزیدها، لکترین‌ها، پپتیدها، گلیکوپروتئین‌ها، گلیکواسفنگولیپیدها و اسیدهای چرب ضروری است (۲۲، ۲۳).

نانوذرات پلاسمونیک ذراتی هستند که چگالی الکترونی آن‌ها می‌تواند با تابش الکترومغناطیسی با طول‌موج‌هایی که به‌مراتب بزرگ‌تر از ذره هستند به دلیل ماهیت رابط دی الکتریک-فلز بین محیط و ذرات درهم‌تنیده شوند. نانوذرات ازجمله رایج‌ترین عناصر در علم و فناوری نانو هستند و خواص جالب‌توجه آن‌ها باعث شده کاربردهای بسیار متنوعی در صنایع شیمیایی، پزشکی و دارویی، الکترونیک، و کشاورزی داشته باشند. کلیه مواد رایج هم چون فلزات، نیمه‌هادی‌ها، شیشه، سرامیک و پلیمرها توانایی رسیدن به ابعاد نانو را دارا می‌باشند (۲۴). در حقیقت نانوذرات، از آنجاکه پلی بین حالت حجیم ماده و حالت اتمی یا مولکولی هستند، موردتوجه قرار گرفته‌اند. نانوذرات نقره، دی‌اکسید تیتانیوم، کربن، دی‌اکسید سیلیسیوم، روی و طلا جزو پرمصرف‌ترین نانوذرات ساخت دست بشر هستند (۲۵). امروزه در بیوتکنولوژی از نانوذرات طلا به دلیل خاصیت سمی پایین و توانایی سوار کردن و اتصال دادن لیگاند‌های

مختلف روی سطح نانوذره و ویژگی‌های منحصربه‌فرد دیگر، استفاده زیادی می‌شود. ازجمله برای شناسایی DNA، RNA، پروتئین، شناسایی سلول‌های سرطانی، دارورسانی هدفمند و ساده، شناسایی جهش‌ها و س، ایمنی‌شناختی، کاربرد در تست الایزا و اتصال به آنتی‌بادی‌های اولیه و ثانویه، تصویربرداری زیستی دقیق استفاده می‌شود (۲۶). در حال حاضر روش‌های معمول تشخیص و درمان سرطان ازجمله جراحی، بافت‌برداری، شیمی‌درمانی و پرتودرمانی قادر به تمایز میان سلول‌های نرمال و سلول‌های سرطانی نمی‌باشند. فناوری نانو قابلیت زیادی در افزایش پیشگیری، تشخیص، تصویربرداری و درمان سرطان دارد. با استفاده از این فناوری می‌توان یک تومور را شناسایی کرد. اثرات پاتوفیزیولوژیکی آن را تشخیص داد، داروها، ژن‌ها یا عوامل تصویربرداری را طی مسیرشان پیگیری کرد، عوامل خارجی جهت آزادسازی دارو را نشان داد و پاسخ به درمان را بررسی کرد (۲۷).

هدف از این پژوهش بررسی اثر سمیت سلولی نانوحامل هیبریدی پلاسمونیک و عصاره الکلی خیار دریایی و اثر توأم نانوحامل هیبریدی پلاسمونیک و عصاره خیار دریایی بر روی رده سلولی سرطانی روده بزرگ انسانی (HCT116) است. مطالعه حاضر برای نخستین بار بر روی خیار دریایی گونه‌ی *Holothurial leucospilata* انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری نمونه‌های خیار دریایی گونه *H. leucospilata* نمونه‌های موردنظر از منطقه جزر و مدی جزیره‌ی لارک جمع‌آوری و پس از ورود به آزمایشگاه، به‌منظور شناسایی مولکولی، در الکل مطلق فیکس گردید. شناسایی اولیه از طریق استخراج اسپیکول‌ها و با کمک کلید شناسایی FAO انجام شد. (۲۸).

روش عصاره‌گیری:

مقدار ۱۴۰ گرم از نمونه مرطوب توزین شده و به مدت ۲۴ ساعت و در سه مرحله متوالی با استفاده از متانول مورد عصاره‌گیری قرار گرفت. عصاره کل پس از فیلتراسیون با کاغذ صافی، در دستگاه روتاری اواپراتور تحت شرایط خلأ کامل تغلیظ شد. سپس غلظت‌های مختلفی از عصاره (۲۵، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۵۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) تهیه گردید.

سنتز نانوحامل هیبریدی پلاسمونیک:

نانوذرات طلای کروی با اندازه‌ی ۵/۳ نانومتر که به‌صورت محلول آبی با غلظت اولیه ۴۵ نانومولار تهیه شده بود، مورد استفاده قرار گرفت. برای آماده‌سازی نانوذرات، محلول اولیه در میکروتیوب‌های

کوچک تقسیم و سپس با سانتیفریوژ در دور ۱۱۰۰۰ به مدت ۷ دقیقه تغلیظ شد. پس از دورریز محلول رویی، رسوب نانوذرات با افزودن حلال مناسب به حجم اولیه بازگردانده شد و در نهایت رقت‌های موردنظر از آن تهیه گردید.

کشت سلول‌های اپیتلیال:

در این مطالعه از رده سلولی سرطان کولون انسان (HCT116) استفاده شد که به صورت فلاسک و ویال از بانک سلولی پژوهشگاه گوارش دانشگاه شهید بهشتی تهیه گردید. پس از احیای سلول‌های منجمد شده، آن‌ها را به فلاسک حاوی محیط کشت DMEM مکمل با ۱۰٪ سرم جنینی گاوی (FBS) و ۱٪ آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین/استرپتومایسین منتقل کرده و در انکوباتور با شرایط دمایی ۳۷ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۹۰٪ و غلظت ۵٪ دی‌اکسید کربن مطابق دستورالعمل شرکت سازنده کشت داده شدند. محیط کشت هر ۳-۴ روز یکبار تعویض گردید.

آزمون سنجش سمیت سلولی (MTT):

سلول‌ها در پلیت‌های ۹۶ چاهکی کشت داده شده و به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند تا به کف چاهک‌ها متصل شوند. پس از تخلیه محیط کشت، به هر چاهک ۹۰ میکرولیتر از غلظت‌های مختلف عصاره خیار دریایی (۲۵، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰، ۲۵۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) همراه با ۱۰ میکرولیتر FBS اضافه شد و سلول‌ها به مدت ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت در معرض این غلظت‌ها قرار گرفتند. پس‌ازاین دوره، محیط کشت تخلیه شده و ۱۰۰ میکرولیتر محلول MTT با غلظت ۰.۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به هر چاهک اضافه گردید. پلیت به مدت ۴ ساعت در انکوباتور قرار گرفت. سپس محلول MTT خارج شده و ایزوپروپانول برای حل کردن کریستال‌های بنفش تشکیل شده اضافه شد. میزان جذب محلول حاصل در طول‌موج ۵۴۵ نانومتر توسط دستگاه الیزا خوانده شد. چاهک‌های با تراکم سلولی بالاتر، جذب نوری (OD) بیشتری نسبت به چاهک‌های با تراکم کمتر نشان دادند. نتایج حاصل با نمونه شاهد (محیط کشت RPMI حاوی ۱۰ میکرولیتر FBS مقایسه شد) (۲۹).

به منظور بررسی اثر نانو حامل هیبریدی پلاسمونیک در کشت سلول، از سلول‌های رده HCT116، استفاده شد. برای این منظور رده‌ی سلولی به صورت جداگانه در فلاسک‌های T25 به همراه محیط کشت کامل (DMEM، ۱۰ درصد سرم جنین گاو دکمپلانه و ۱ درصد محلول پنسیلین _ استرپتومایسین) وارد و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در انکوباتور کشت سلولی انکوبه

گردید. پس از به دست آمدن تراکم سلولی ۸۰ درصد نمونه در معرض ۱ درصد از محلول تریپسین EDTA قرار گرفته و پس از ۳ دقیقه انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در انکوباتور کشت سلولی و مشاهده سلول‌های کنده شده از کف پلیت، نمونه در دور RPM ۵۰۰۰ به مدت ۵ دقیقه سانتیفریوژ و سپس رسوب سلولی به وسیله افزودن محیط کشت تریپسین زدایی شد. سپس سوسپانسیون سلول‌ها پس از افزودن رنگ تریپان بلو به وسیله لام نتوبار شمارش شدند و آزمون سمیت سلولی با روش MTT انجام شد. بررسی اثر سمیت سلولی عصاره الکلی خیار دریایی با غلظت‌های مختلف (۷۵، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰، ۲۵۰، ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) به همراه غلظت‌های مختلف نانوذره (۰.۵۶، ۱.۲۵، ۲.۲۵، ۴.۵، ۹، ۹ نانوگرم بر میلی‌لیتر) بر روی رده‌ی سلولی HCT116 با تیمارهای ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت صورت گرفت (۳۱، ۲۹).

آنالیز آماری: به منظور محاسبه درصد سمیت سلولی، هر یک از رقت‌های عصاره‌ها در برنامه‌ی EXCEL از فرمول زیر استفاده شد:

$$\text{Cytotoxicity}\% = ((\text{جذب کنترل} / \text{جذب نمونه}) - 1) \times 100$$

$$\text{Viability}\% = 100 - \text{Toxicity}\%$$

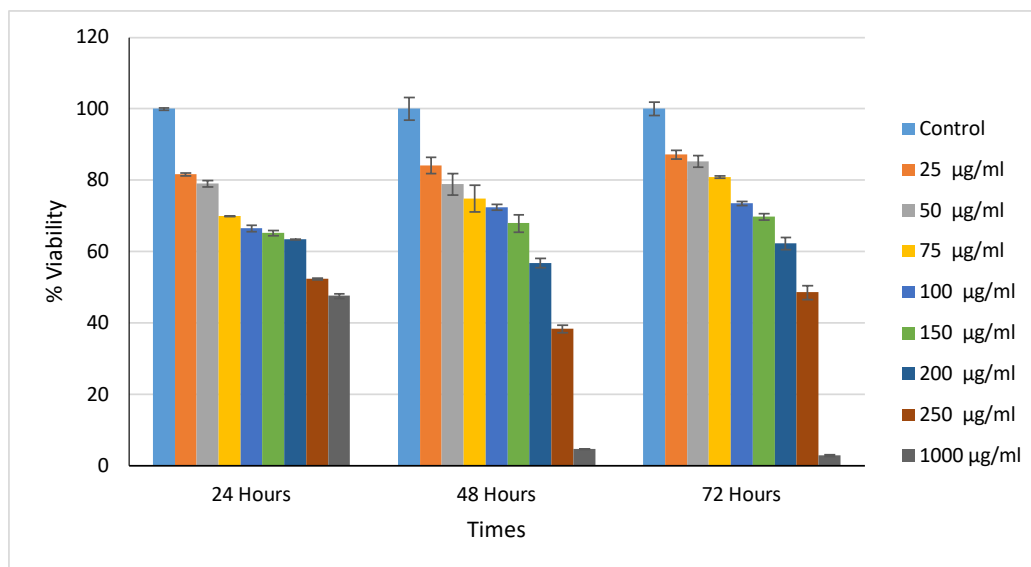
سمیت سلولی عصاره به صورت غلظت داروی مهارکننده رشد سلول تا ۵۰٪ (IC₅₀) بیان شده و پس از مقایسه با شاهد (با تیمار ۰.۱٪ DMSO) محاسبه و با استفاده از فرمول اندازه‌گیری شد:

$$\% \text{ مهار سلول (CI)} = [1 - (\text{تراکم نوری نمونه} / \text{تراکم نوری کنترل})] \times 100$$

سپس جهت تعیین IC₅₀ (حداقل غلظتی که باعث ایجاد ۵۰٪ سمیت سلولی شود) با استفاده از درصد سمیت سلولی، باز هم از نرم‌افزار Excel استفاده کردیم. سپس برای آنالیز آماری از فن آنالیز واریانس یک‌طرفه استفاده شد. در صورتیکه نتایج آن معنی‌دار بشود، می‌بایست از آزمون‌های تعقیبی برای مقایسه دویه‌دو استفاده شود. برای این منظور از آزمون توکی استفاده شد. برای هر یک از غلظت‌ها و زمان‌ها مقادیر میانگین و انحراف معیار گزارش شد.

یافته‌ها

آزمون سمیت سلولی عصاره الکلی خیار دریایی بر روی رده سلولی HCT116 روده‌ی بزرگ: بررسی اثر سمیت سلولی عصاره الکلی خیار دریایی با غلظت‌های مختلف (۲۵، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰، ۲۵۰، ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) بر روی رده سلولی HCT116 با تیمارهای ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت صورت گرفت. مقادیر سمیت سلولی به دست آمده از هر رقت در سه زمان گفته شده به شکل جدول و نمودار ۱ آمده است.



نمودار (۱): مقایسه درصد بقای سلول‌های سرطانی بر اساس بازه زمانی (Time) ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعته در غلظت‌های مختلف عصاره الکلی خیار دریایی

جدول (۱): درصد بقای رده سلولی HCT116 در مقابل عصاره الکلی خیار دریایی در روش رنگ سنجی MTT

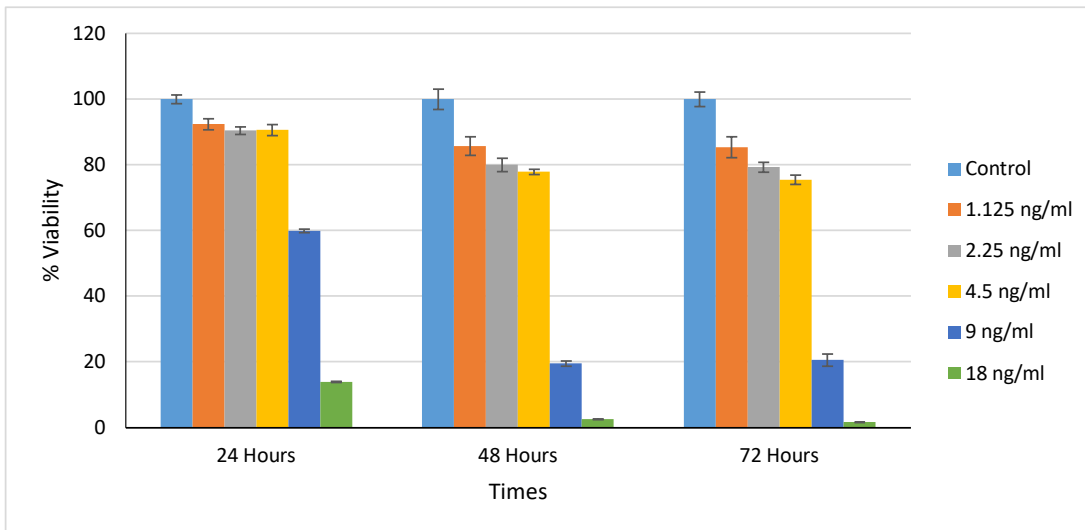
%Viability			concentrations of H.L(µg/ml)
h۷۲	h۴۸	h۲۴	
۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۰
۸۷/۲۱	۸۴/۱۴	۸۱/۶۹	۲۵
۸۵/۲۹	۷۸/۸۵	۷۹/۰۲	۵۰
۸۰/۸۹	۷۴/۸۸	۶۹/۹۵	۷۵
۷۳/۴۹	۷۲/۴۲	۶۶/۵۱	۱۰۰
۶۹/۷۵	۶۷/۹۲	۶۵/۲۵	۱۵۰
۶۲/۲۸	۶۸/۸۲	۶۳/۳۸	۲۰۰
۴۸/۵۹	۳۸/۴۱	۵۲/۴۲	۲۵۰
۲/۹۶	۴/۶۶	۴۷/۵۷	۱۰۰۰

جدول (۲): نتایج آنالیز واریانس و آزمون‌های تعقیبی

گروه‌ها	تعداد	میانگین	انحراف معیار	خطای استاندارد	P Value
Control	۸	۲۳۱/۲۵	۳۱۹/۸۰	± ۱۱۳/۰۶	۰/۸۹۴
۲۴h	۹	۳۰/۴۶	۱۵/۸۳	± ۵/۲۷	۰/۰۵۷
۴۸ h	۹	۳۵/۷۶	۲۸/۱۸	± ۹/۳۹	۰/۰۶۷
۷۲ h	۸	۲۴/۰۶	۱۶/۰۲	± ۵/۶۶	۰/۰۵۷

تیمارهای ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت صورت گرفت. مقادیر سمیت سلولی به دست آمده از هر رقت در سه زمان گفته شده به شکل جدول ۳ و نمودار ۲ آمده است.

آزمون سمیت سلولی نانو حامل هیبریدی پلاسمونیک بر روی رده سلولی HCT116 روده‌ی بزرگ: بررسی اثر سمیت نانو حامل هیبریدی پلاسمونیک با غلظت‌های مختلف (۱.۱۲۵، ۲.۲۵، ۴.۵، ۹، ۱۸ نانوگرم بر میلی‌لیتر) بر روی رده‌ی سلولی HCT116 با



نمودار (۲): مقایسه درصد بقای سلول‌های سرطانی بر اساس بازه زمانی (Time) ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعته در غلظت‌های مختلف نانو حامل هیبریدی پلاسمونیک

جدول (۳): درصد بقای رده سلولی HCT116 در مقابل نانو حامل هیبریدی پلاسمونیک در روش رنگ سنجی MTT

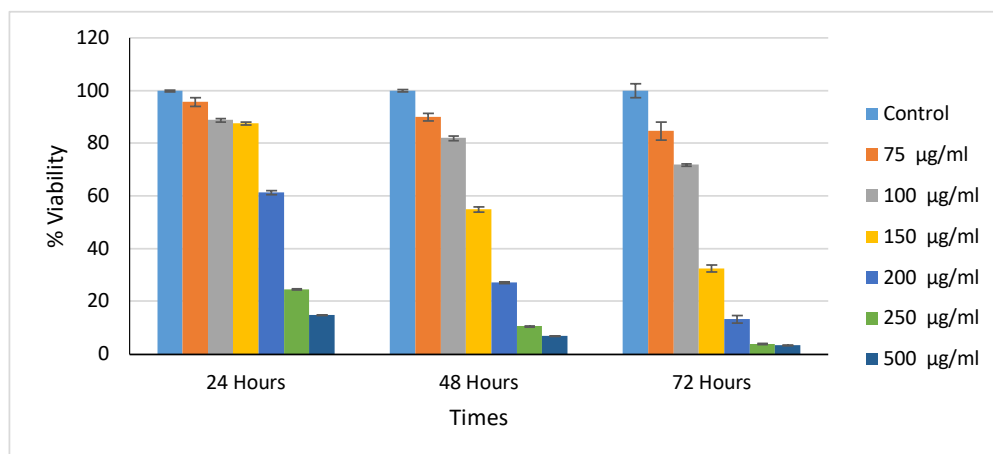
%Viability			concentrations of GNP (ng/ml)
h۷۲	h۴۸	h۲۴	
۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۰
۸۵/۳۷	۸۵/۷۳	۹۲/۳۹	۱/۱۲۵
۷۵/۴۷	۸۰/۰۱	۹۰/۴۸	۲/۲۵
۷۵/۴۷	۷۷/۸۶	۹۰/۶۰	۴/۵
۲۰/۵۵	۱۹/۵۳	۵۹/۹۲	۹
۱/۷۰	۲/۵۲	۱۳/۹۱	۱۸

جدول (۴): نتایج آنالیز واریانس و آزمون‌های تعقیبی

P Value	خطای استاندارد	انحراف معیار	میانگین	تعداد	گروه‌ها
۰/۸۹۴	± ۳/۰۶	۶/۸۶	۶/۹۷	۵	Control
۰/۷۹۹	± ۱۳/۳۷	۳۲/۷۶	۲۵/۴۴	۶	۲۴ h
۰/۴۱۱	± ۱۶/۲۴	۳۹/۷۹	۳۹/۰۵	۶	۴۸ h
۰/۳۹۷	± ۱۶/۱۳	۳۹/۵۱	۳۹/۵۹	۶	۷۲ h

و ۷۲ ساعت صورت گرفت. مقادیر سمیت سلولی به دست آمده از هر رقت در سه زمان گفته شده به شکل جدول ۵ و نمودار ۳ آمده است. بهترین نتیجه با گذشت ۷۲ ساعت، با غلظت ۵۰۰ میکروگرم از عصاره و ۹ نانوگرم از نانوذره، به دست آمد. مقدار IC_{50} گزارش شده در این بازه ۱۲۵ میکروگرم بر میلی لیتر بود (نمودار ۴).

آزمون سمیت سلولی عصاره الکلی خیار دریایی به همراه نانو حامل هیبریدی پلاسمونیک بر روی رده سلولی HCT116 روده‌ی بزرگ: بررسی اثر سمیت عصاره الکلی با غلظت‌های مختلف (۷۵، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰، ۲۵۰، ۵۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر) به همراه غلظت‌های مختلف نانوذره (۰.۵۶، ۱.۲۵، ۲.۲۵، ۴.۵، ۹، ۹ نانوگرم بر میلی لیتر) بر روی رده سلولی HCT116 با تیمارهای ۴۸، ۲۴



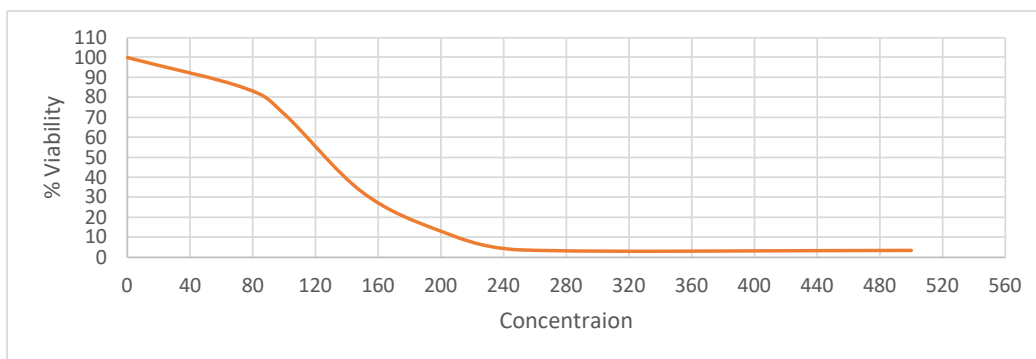
نمودار (۳): مقایسه درصد بقای سلول‌های سرطانی بر اساس بازه زمانی (Time) ۴۸، ۲۴ و ۷۲ ساعته در غلظت‌های مختلف عصاره الکلی خیار دریایی به همراه نانو حامل هیبریدی پلاسمونیک

جدول (۵): درصد بقای رده سلولی HCT116 در مقابل عصاره الکلی خیار دریایی همراه با نانو حامل هیبریدی پلاسمونیک

%Viability			Concentration of H.L.(µg/ml) + HCT116(ng/ml)
h۷۲	h۴۸	h۲۴	
۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۰
۸۴/۷۰	۸۹/۹۳	۰۹۵/۶۷	۷۵ + /۶۵
۷۱/۸۸	۸۲/۰۳	۸۸/۸۰	۱۰۰ + ۱/۲۵
۳۲/۵۱	۵۴/۹۱	۸۷/۶۲	۱۵۰ + ۲/۲۵
۱۳/۲۰	۲۷/۲۳	۶۱/۲۹	۲۰۰ + ۴/۵
۳/۸۶	۱۰/۵۲	۲۴/۵۵	۲۵۰ + ۹
۳/۴۰	۶/۸۶	۱۴/۷۳	۵۰۰ + ۹

جدول (۶): نتایج آنالیز واریانس و آزمون‌های تعقیبی

گروه‌ها	تعداد	میانگین	انحراف معیار	خطای استاندارد	P Value
Control	۶	۲۱۶/۸۳	۱۵۸/۰۷	± ۶۴/۵	۰/۰۰۲
۲۴ h	۷	۲۸/۶۲*	۲۹/۲۹	۱۱ ± /۰۷	۰/۰۰۲
۴۸ h	۷	۴۶/۹۳*	۳۸/۷۶	± ۱۴/۶۵	۰/۰۰۵
۷۲ h	۷	۵۵/۷۷*	۴۰/۶۴	± ۱۵/۳۶	۰/۰۰۸



نمودار (۴): این تصویر نشان‌دهنده قدرت مهار ۵۰ درصدی (IC_{50}) عصاره خیار دریایی به همراه نانو حامل هیبریدی پلاسمونیک در ۷۲ ساعت اولیه است. مقدار IC_{50} برابر است با ۱۲۵ $\mu g/ml$

بحث و نتیجه‌گیری

این پژوهش با بررسی تأثیر هم‌زمان سه عامل کلیدی - رده سلولی HCT116، عصاره الکلی خیار دریایی و نانوحامل هیبریدی پلاسمونیک - در کنار پارامتر زمانی تماس با سلول‌های سرطانی، به تحلیل مکانیسم‌های سمیت سلولی پرداخت. نتایج نشان داد افزایش غلظت عصاره از ۲۵ به ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر منجر به رشد قابل‌توجه سمیت سلولی شد که مؤید اثر دوز-وابسته این ترکیبات است. هم‌زمان، افزایش دوز نانوحامل هیبریدی پلاسمونیک نیز کاهش چشمگیر فعالیت سلول‌های سرطانی را تا حد بقای ۱۷۰ درصد به همراه داشت. علاوه بر این، اثر زمان-وابسته برای هر دو عامل عصاره و نانوذره مشاهده شد، به‌طوری‌که افزایش مدت انکوباسیون از ۲۴ به ۷۲ ساعت، افزایش معنادار مرگ سلولی را نشان داد. ترکیب بهینه این عوامل (غلظت بالای عصاره، دوز مناسب نانوذره و زمان ۷۲ ساعته) بالاترین میزان سمیت (۹۶.۶۰ درصد) را ایجاد کرد. به نظر می‌رسد ویژگی‌های رزونانسی نانو حامل‌های هیبریدی پلاسمونیک، با تقویت سطح مؤثر آنتی‌ژن‌ها و ایجاد اثر سینرژیک با ترکیبات فعال خیار دریایی، نقش کلیدی در افزایش سمیت انتخابی علیه سلول‌های سرطانی ایفا کرده‌اند (۳۲، ۳۳).

خیارهای دریایی به دلیل حضور ترکیباتی مانند تری‌ترین‌های گلیکوزیدی، همواره در طب سنتی و پژوهش‌های مدرن موردتوجه بوده‌اند. مطالعاتی نظیر تحقیق Han و همکاران (۲۰۰۹) بر روی گونه *Holothuria Scarba*، تأثیر قابل‌توجه ترکیبات استخراجی بر رده‌های سلولی سرطانی خون و ریه را نشان داده‌اند (۳۶). همسو با این یافته‌ها، پژوهش Hua Hhan و همکاران (۲۰۱۰) بر گونه *Pentacta quadrangularis* نیز اثربخشی عصاره‌های دریایی را بر سرطان کولون و سایر تومورها تأیید کرده است (۳۷). علاوه بر این، اسفنگولیپیدهای منحصربه‌فرد خیارهای دریایی، با مکانیسم‌هایی

نظیر القای آپوپتوز، پتانسیل مهار رشد سلول‌های سرطانی روده بزرگ را در مطالعاتی مانند پژوهش سگورا و همکاران (۲۰۰۶) نشان داده‌اند (۳۹).

در حوزه نانوتکنولوژی، نانوذرات طلا به دلیل ویژگی‌هایی چون پایداری، سمیت پایین برای سلول‌های سالم، و قابلیت اتصال به لیگاندهای هدفمند، به‌عنوان ابزاری امیدبخش در درمان سرطان مطرح شده‌اند (۳۵). خاصیت رزونانس پلاسمون سطحی در این نانوذرات، امکان تبدیل نور به انرژی حرارتی و تخلیه انتخابی سلول‌های توموری را فراهم می‌کند (۴۱). همچنین، کاربردهای تشخیصی این نانوذرات، مانند روش ارائه‌شده توسط شاوکی و همکاران (۲۰۱۰) برای شناسایی ویروس هپاتیت C، گواهی بر کارایی آن‌ها در حوزه پزشکی است (۴۲).

با توجه به موقعیت اکولوژیکی منحصربه‌فرد خلیج فارس و دریای عمان، احتمال کشف ترکیبات زیست فعال با پتانسیل درمانی برتر نسبت به سایر مناطق آبی وجود دارد. این غنای زیستی می‌تواند به‌عنوان پایه‌ای برای توسعه صنعت داروسازی داخلی و کاهش وابستگی به واردات مورد بهره‌برداری قرار گیرد. هرچند نتایج آزمایشگاهی حاضر امیدوارکننده است، توسعه داروهای مبتنی بر این ترکیبات نیازمند مطالعات تکمیلی از جمله آزمون‌های سمیت در مدل‌های حیوانی، بررسی فارماکوکینتیک، و مطالعات بالینی است. همچنین، ارزیابی تأثیرات اکولوژیکی برداشت خیارهای دریایی و امکان تولید صنعتی ترکیبات فعال، از ملاحظات ضروری پیش از تجاری‌سازی است.

یافته‌های این پژوهش نشان می‌دهد که ترکیب عصاره الکلی خیار دریایی و نانوحامل هیبریدی پلاسمونیک، پتانسیل بالایی در القای سمیت انتخابی علیه سلول‌های سرطانی روده بزرگ دارد. با این حال، تبدیل این یافته‌ها به کاربردهای بالینی مستلزم مراحل

حمایت مالی تحقیق

این پژوهش هیچ‌گونه حمایت مالی دریافت نکرده است.

تضاد منافع

در این پژوهش هیچ‌گونه تعارض منافی توسط نویسندگان گزارش نشده است.

ملاحظات اخلاقی

این تحقیق، برگرفته از پایان‌نامه‌ای، با کد اخلاق IR.IAU.PS.REC.1398.25 است. تمام منشور اخلاقی در آن رعایت و در دانشگاه آزاد واحد علوم پزشکی تهران انجام گرفته است.

بعدی شامل تخلیص ترکیبات فعال، بررسی مکانیسم‌های مولکولی دقیق، و ارزیابی اثربخشی در مدل‌های پیچیده‌تر است. همسویی نتایج با پژوهش‌های پیشین (۳۶، ۳۷، ۳۹، ۴۲) بر اهمیت توسعه سیستم‌های دارورسانی نوین مبتنی بر منابع دریایی و نانوتکنولوژی تأکید می‌کند. سرمایه‌گذاری در راستای بهره‌برداری از ذخایر زیستی بومی و تقویت همگرایی بین فناوری نانو و زیست‌فناوری دریایی، می‌تواند افق‌های جدیدی در درمان سرطان و تقویت اقتصاد دانش‌بنیان کشور ایجاد کند.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله مراتب سپاس و قدردانی خود را از کلیه کسانی که در این پژوهش ما را یاری نموده‌اند، اعلام می‌نماییم.

References:

1. National report on registration of cancer cases. Ministry of Health, Treatment and Medical Education. Health Deputy. Disease Management Center. Non-infectious deputy. Cancer Department 2006.
2. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics. CA Cancer J Clin 2017;67: 7-30. <https://doi.org/10.3322/caac.21387>
3. Mahmoud Lou R, Hosseinzadeh P, Hosseini F, Houshmand L. Evaluation of the relationship between hematological markers and thyroid cancer in patients with thyroid mass. UMSU Med J 2025;35(11): 873-81.
4. Silva AC, Hara AK, Leighton JA, Heppell TP. CT colonography with intravenous contrast material: varied appearances of colonorectal carcinoma. Radiographics 2017;67: 7-30.
5. Song L, Li Y. SEPT9: A specific circulating biomarker for colorectal cancer. Adv Clin Chem 2015;72: 171-204. <https://doi.org/10.1016/bs.acc.2015.07.004>
6. Lindequist U. Marine-Derived Pharmaceuticals - Challenges and Opportunities. Biomol Ther 2016;24(6): 561-71. doi: 10.4062/biomolther.2016.181 <https://doi.org/10.4062/biomolther.2016.181>
7. McElroy S. Beche-de-mer species of commercial value-an update. SPC Beche-de-mer Inf Bull 1990;2: 2-7.
8. Pawson L. Phylum Echinodermata. Zootaxa 2007;749-64. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.1668.1.31>
9. Bryan PJ, McClintock JB, Marion K, Watts SA, Hopkins TS. Feeding deterrence and chemical defense in echinoderm body wall tissues from the Northern gulf of Mexico. Am Zool 1992;32: 100.
10. Susanto E, Suhaeli Fahmi A, Hosokawa M, Miyashita K. Variation in Lipid Components from 15 Species of Tropical and Temperate Seaweeds. Mar Drugs 2019;17(11): 630. <https://doi.org/10.3390/md17110630>
11. Yaacob H, Kim K, Shahimi M, Aziz Z, Sahil S. Malaysian sea cucumber (Gamat): A prospect in health food and therapeutic. Proc Asian Food Technol Semin 1997.
12. Fagbohun OF, Joseph JS, Oriyomi OV, Rupasinghe HPV. Saponins of North Atlantic Sea Cucumber: Chemistry, Health Benefits, and Future Prospectives. Mar Drugs 2023;21(5): 262. <https://doi.org/10.3390/md21050262>
13. Tian F, Zhang X, Tong Y, Yi Y, Zhang S, Li L, et al. PE, a new sulfated saponin from sea cucumber, exhibits anti-angiogenic and antitumor activities in

- vitro and in vivo. *Cancer Biol Ther* 2005;4(8): 874-82. <https://doi.org/10.4161/cbt.4.8.1917>
14. Roginsky A, Singh B, Ding XZ, Collin P, Woodward C, Talamonti M, et al. Frondanol (R)-A5p from the Sea Cucumber, *Cucumaria frondosa* Induces Cell Cycle Arrest and Apoptosis in Pancreatic Cancer Cells. *Pancreas* 2004;29(4): 335. <https://doi.org/10.1097/00006676-200411000-00048>
 15. Zhou L, Gao N, Sun H, Xiao C, Yang L, et al. Effects of Native Fucosylated Glycosaminoglycan, Its Depolymerized Derivatives on Intrinsic Factor Xase, Coagulation, Thrombosis, and Hemorrhagic Risk. *Coagul Fibrinolysis* 2020;607. <https://doi.org/10.1055/s-0040-1708480>
 16. Dharmaraj S, Sivaraman J. Partial characterization and anticancer activities of purified lycoprotein extracted from green seaweed *Codium decortatum*. *J Funct Foods* 2016;25: 323-32. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2016.06.010>
 17. Silchenko AS, Stonik VA. Progress in the Studies of Triterpene Glycosides From Sea Cucumbers (Holothuroidea, Echinodermata) Between 2017 and 2021. *Nat Prod Commun* 2021.
 18. Hamaguchi P, Geirsdottir M, Vrac A, Kristinsson H, Sveinsdottir H, et al. In vitro antioxidant and antihypertensive properties of Icelandic sea cucumber (*Cucumaria frondosa*). *Inst Food Technol Annu Meet* 2010;14: 56-61.
 19. Althunibat OY, Hashim R, Taher M, Daud JM, Ikeda MA, Zali B. In vitro antioxidant and antiproliferative activities of three Malaysian sea cucumber species. *Eur J Sci* 2009;37(3): 376-87.
 20. Chou MC, Lee YJ, Wang YT, Cheng SY. Cytotoxic and Anti-Inflammatory Triterpenoids in the Vines and Leaves of *Momordica charantia*. *Int J Mol Sci* 2022;23: 1071. <https://doi.org/10.3390/ijms23031071>
 21. San Miguel-Ruiz JE, Garcia-Arraras JE. Common cellular events occur during wound healing and organ regeneration in the sea cucumber *Holothuria glaberrima*. *BMC Dev Biol* 2007;7: 115. <https://doi.org/10.1186/1471-213X-7-115>
 22. Li X, Li S, Liu J, Lin L, et al. A regular fucan sulfate from *Stichopus herrmanni* and its peroxide depolymerization: Structure and anticoagulant activity. *Carbohydr Polym* 2021;256: 117513. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.117513>
 23. Goad L, Garneau FX, Simard JL, ApSimon J, Girard M. Isolation of Δ^9 (11) sterols from the sea cucumber *psolus fabricii*. Implications for holothurin biosynthesis. *Tetrahedron Lett* 1985;26(29): 3513-6. [https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(00\)98678-7](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(00)98678-7)
 24. Moritz M, Geszke-Moritz M. The newest achievements in synthesis, immobilization and practical applications of antibacterial nanoparticles. *Chem Eng J* 2013;228: 596-613. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2013.05.046>
 25. Pritchard BP, Altarawy D, Didier B. New basis set exchange: An open, up-to-date resource for the molecular sciences community. *J Chem Inf Model* 2019;59(11): 4814-20. <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.9b00725>
 26. Pal A. Photochemical synthesis of gold nanoparticles via controlled nucleation using a bioactive molecule. *Mater Lett* 2004;58(3-4): 529-34. [https://doi.org/10.1016/S0167-577X\(03\)00540-8](https://doi.org/10.1016/S0167-577X(03)00540-8)
 27. Ouled Ltaief O, Ben Amor I, Hemmami H, Hamza W, Zeghoud S, Ben Amor A, et al. Recent developments in cancer diagnosis and treatment using nanotechnology. *Ann Med Surg (Lond)* 2024 Jun 17;86(8):4541-54. <https://doi.org/10.1097/MS9.0000000000002271>
 28. Clark AM, Rowe FWE. Monograph Of Shallow Water Indo West Pacific Echinoderms. Trustees of the British Museum (Natural History). Pitman Press, London 1971: 124-46.

29. Khorramizadeh M, Falak R. Fundamentals and preliminary principles of cell culture techniques. 2018;49: 70-80.
30. Ausubel FM. Current protocol in molecular biology. New York: Willy-Liss 1996: 1-14.
31. Freshney R. The culture environment: substrate, gas phase, medium and temperature. Culture of animal cells: a manual of basic technique. 1994: 71-101.
32. Kim SK, Himaya S. Triterpene glycosides from sea cucumbers and their biological activities. Adv Food Nutr Res 2012;65: 297. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-416003-3.00020-2>
33. Qomshezadeh GA, Saghi I. Nanotechnology Monthly 2008;1-83.
34. Zarrabi MF, Safari Z, Akbarzadeh A. Preparation and biological, catalytic and medical applications of gold nanoparticles. New J Cell Mol Biotechnol 2013;4(13): 551-5.
35. Raffei S. Investigating the effect of gold, silver and magnesium nanoparticles on foot-and-mouth disease virus in cell culture. Master's Thesis, Department of Microbiology, Shahid Chamran University, Ahvaz 2013.
36. Yang WS, Qi XR, Xu QZ, Yuan CH, Yi YH. A new sulfated triterpene glycoside from the sea cucumber *Colochirus quadrangularis*, and evaluation of its antifungal, antitumor and immunomodulatory activities. Bioorg Med Chem 2021;41: 1. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2021.116188>
37. Han H, Xu QZ, Yi YH, Gong W, Jiao BH. Two new cytotoxic disulfated holostane glycosides from the sea cucumber *Pentacta quadrangularis*. Chem Biodivers 2010;7(1): 158-67. <https://doi.org/10.1002/cbdv.200800324>
38. Hossain Z, Sugawara T, Hirata T. Sphingoid bases from sea cucumber induce apoptosis in human hepatoma HepG2 cells through p-AKT and DR5. Oncol Rep 2013;29: 1251-7. <https://doi.org/10.3892/or.2013.2223>
39. Sugawara T, Zaima N, Yamamoto A, Sakai S, Noguchi R, et al. Isolation of sphingoid bases of sea cucumber cerberosides and their cytotoxicity against human colon cancer cells. Biosci Biotechnol Biochem 2006;70(12): 2906-12. <https://doi.org/10.1271/bbb.60318>
40. Lima KM, Junior RFA, Araujo AA, Oliveira AL, L CS, et al. Environmentally compatible bioconjugated gold nanoparticles as efficient contrast agents for colorectal cancer cell imaging. Sens Actuators B Chem 2014;196: 306-13. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2014.02.008>
41. Janic B, Brown SL, Neff R, Liu F, Mao G. Therapeutic enhancement of radiation and immunomodulation by gold nanoparticles in triple negative breast cancer. Cancer Biol Ther 2021;22(2): 124-35. <https://doi.org/10.1080/15384047.2020.1861923>
42. Shawky SM, Bald D, Azzazy HM. Direct detection of unamplified hepatitis C virus RNA using unmodified gold nanoparticles. Clin Biochem 2010;43(13-14): 1163-8. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2010.07.001>

EVALUATION OF HYBRID PLASMONIC NANOCARRIERS AND SEA CUCUMBER ANTICANCER COMPOUNDS IN CANCER TREATMENT

Setareh Poua¹, Mahnaz Mohammadi^{2*}

Received: 13 July, 2025; Accepted: 16 September, 2025

Abstract

Background & Aims: Sea cucumbers belong to the phylum Echinodermata and have applications in fisheries, food, pharmaceuticals, and medical industries. Additionally, the use of metal nanoparticles in drug delivery systems (nanodrugs) has contributed to innovations in dosage forms by improving therapeutic effects and physicochemical properties over the past several years. The aim of this study is to investigate and compare the cytotoxic activity of the alcoholic extract of the sea cucumber species *Holothuria leocuspilota*, based on its bioactive compounds, and to evaluate the effectiveness of plasmonic hybrid nanocarriers at different doses in treating colon cancer.

Materials & Methods: This study was conducted in vitro. Samples were collected from the intertidal zone of Lark Island in 2018, transferred to plastic containers containing seawater, and analyzed for their anticancer effects. The extract, obtained using methanol as a solvent, was tested alongside gold nanoparticles against the colon cancer cell line (HCT116).

Results: Toxicity assessments conducted at 24, 48, and 72 hours revealed that cytotoxic effects increased proportionally with both extract and nanoparticle concentration, as well as with the duration of exposure. The best result was observed after 72 hours at a concentration of 500 micrograms of extract and 9 nanograms of nanoparticles. The IC₅₀ value recorded during this period was 125 micrograms/ml.

Conclusion: Due to the significant cytotoxicity of the methanol extract against the cancer cell line, these compounds hold potential as viable candidates for anticancer drug development following further purification. Additionally, the plasmonic hybrid nanocarrier, which has demonstrated remarkable anticancer properties, could be extensively utilized in medical and pharmaceutical applications.

Keywords: sea cucumber, cytotoxicity, *hybrid nanocarrier*, plasmonics, anticancer compounds

Address: Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Islamshahr Branch, Islamic Azad University, Islamshahr, Tehran, Iran

Tel: +982156358105

Email: mh_mohamadi@yahoo.com, m-mohamadi@iiu.ac.ir

SOURCE: STUD MED SCI 2025; 35(12): 1004 ISSN: 2717-008X

This is an open-access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution-noncommercial 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/) which permits copy and redistribute the material just in noncommercial usages, as long as the original work is properly cited.

¹ MSc, Department of Biotechnology, Tehran Medical Sciences Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

² Assistant Professor, Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Islamshahr Branch, Islamic Azad University, Islamshahr, Tehran, Iran (Corresponding Author)