DOI: 10.48305/jims.v42.i792.1037

مجله دانشکده پزشکی اصفهان — سال چهل و دوم/شماره‌ی ۷۹۲/هفته‌ی چهارم دی ۱۴۰۳

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۵/۱۴ — تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۷/۰۷ — تاریخ چاپ: ۱۴۰۳/۱۰/۲۹

بررسی فیتوشیمیایی و سمیت سلولی ترکیبات جدا شده از مرجان دریایی *Sarcophyton pisnilata* جمع‌آوری شده از خلیج فارس بر روی سلول سرطانی HeLa

ثمین موسوی[۱]، محمدرضا سلطانی محمدی[۱]، افسانه یگدانه[۱]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: موجودات دریایی، منبع مهمی از متابولیت‌های فعال زیستی هستند. این موجودات ترکیبات منحصر به فردی با فعالیت زیستی خاص تولید می‌کنند. پژوهش‌ها نشان داده‌اند که مرجان‌ها می‌توانند نقش بالقوه در توسعه‌ی داروها به خصوص داروهای ضد سرطان داشته باشند. همچنین خلیج فارس، یکی از بزرگ‌ترین پناهگاه‌های موجودات دریایی مانند مرجان‌ها، اسفنج‌ها دریایی، انواع ماهی‌های خوراکی و غیر خوراکی و بسیاری از موجودات دریایی دیگر است.

روش‌ها: مرجان دریایی *S. pisnilata* جمع‌آوری و با استفاده از حلال متانول: اتیل استات به نسبت (۱:۱) عصاره‌گیری شد. جداسازی ترکیبات مختلف مرجان با استفاده از روش‌های مختلف کروماتوگرافی مانند ستون سیلیکاژل فاز نرمال و کروماتوگرافی با کارآیی بالا (HPLC) انجام گرفت. کروماتوگرافی ستون‌های سیلیکاژل با استفاده از حلال هگزان: اتیل استات به عنوان فاز متحرک و به صورت گرادیانت شستشو داده شد. سپس ساختار ترکیبات جدا شده با روش‌هایی مانند NMR و همچنین طیف‌های سنجش جرمی (MS) مشخص شد و سمیت سلولی آن‌ها علیه سلول سرطانی HeLa با استفاده از روش استاندارد MTT انجام گرفت.

یافته‌ها: سه ترکیب از دسته ترکیبات سولفوکینووسیل دی آسیل گلیسرید (SQDG) شناسایی شد. همچنین ترکیبات ۱ الی ۳ اثرات سیتوتوکسیک را بر روی سلول سرطانی مذکور نشان دادند، مقادیر IC_{50} آن‌ها به ترتیب (۲/۳) ± ۱۲/۲، (۳/۷) ± ۲۵/۸، (۲/۶) ± ۱۴/۹، (۱/۲) ± ۹/۸ و (۱/۲) ± ۵/۶ میکرومولار، بود.

نتیجه‌گیری: ترکیبات جدا شده از مرجان *Sarcophyton pisnilata*، فعالیت سایتوتوکسیک قوی را در برابر سلول Hela در شرایط برون‌تنی از خود نشان داد.

واژگان کلیدی: سلول HeLa؛ کروماتوگرافی؛ کروماتوگرافی با کارآیی بالا؛ ضد سرطان؛ اسید چرب

ارجاع: موسوی ثمین، سلطانی محمدی محمدرضا، یگدانه افسانه. **بررسی فیتوشیمیایی و سمیت سلولی ترکیبات جدا شده از مرجان دریایی Sarcophyton pisnilata جمع‌آوری شده از خلیج فارس بر روی سلول سرطانی HeLa**. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۴۰۳؛ ۴۲ (۷۹۲): ۱۰۳۷-۱۰۴۴.

مقدمه

زیستگاه دریایی، یکی از منابع مهم متابولیت‌های زیست فعال است. ترکیبات جدا شده از موجودات دریایی به دلیل شرایط فیزیکی و شیمیایی منحصر به فرد محیط دریا از متابولیت‌های طبیعی روی خشکی متفاوت است (۱). بنابراین، موجودات دریایی مانند مرجان‌های دریایی، اسفنج‌ها، قارچ‌ها و مرجان‌ها ترکیبات قوی با ویژگی‌های ساختاری و شیمیایی خاص تولید می‌کنند. بیش از ۲۴۰۰ ترکیب تنها از مرجان‌های دریایی مناطق مختلف اقیانوس به عنوان یکی از منابع دریایی جدا شده است (۲).

تحقیقات بسیاری نشان داده‌اند که مرجان‌های دریایی، حاوی منابع قابل توجهی برای تولید داروهای طبیعی هستند. آن‌ها حاوی انواع مهمی از دستجات متابولیت‌های ثانویه مانند ترپنوئیدها، استروئیدها، آمینو اسیدها، تانن‌ها، ترکیبات فنلی، گلیکولیپیدها، پلی‌سولفیدهای حلقوی و غیره هستند (۳-۵). مکانیسم‌های منحصر به فرد فرآورده‌های طبیعی دریایی منجر به جداسازی ترکیبات جدید و تعیین ساختار ترکیبات با فعالیت‌های ضد التهابی، ضد میکروبی، ضد ویروسی، آنتی‌اکسیدانی، ضد توموری، ضد افسردگی و ضد آلزایمری آن‌ها شده است (۶-۹).

در سال‌های اخیر، توجه به ترکیب لیپیدی تولید شده در مرجان‌های دریایی به طور قابل توجهی افزایش یافته است.

۱- گروه فارماکوگنوزی و مرکز تحقیقات علوم دارویی اصفهان، دانشکده‌ی داروسازی و علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

نویسنده‌ی مسؤول: افسانه یگدانه: گروه فارماکوگنوزی و مرکز تحقیقات علوم دارویی اصفهان، دانشکده‌ی داروسازی و علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

Email: yekdaneh@pharm.mui.ac.ir

گلیکوگلیسرولیپیدها یکی از گروه‌های مهم ترکیبات لیپیدی موجود در مرجان‌های دریایی هستند. این دسته ترکیبات به دلیل فعالیت‌های بیولوژیکی خاص خود مانند فعالیت‌های ضد توموری، ضد التهابی و بهبود دهنده‌ی عملکرد روده معروف هستند (۱۰، ۱۱). مرجان‌های دریایی سه نوع اصلی گلیکولیپیدها را سنتز می‌کنند: مونوگالاکتوزیل دی‌اسیل گلیسریدها (MGDG)، دی‌گالاکتوسیل دی‌آسیل گلیسریدها (DGDG) و سولفوکینووسیل دی‌آسیل گلیسریدها (SQDG). تعدادی از مرجان‌های دریایی قادر به تبدیل اسیدهای چرب غیراشباع ساده به اکسی لیپین‌های پیچیده هستند (۱۲) و این مشتقات برای حفظ هموستاز بدن در دستگاه‌های مختلف بدن پستانداران بسیار مفید هستند. علاوه بر این، گلیکولیپیدها به طور غیر طبیعی در بیماری‌هایی مانند پسوریازیس، تصلب شرایین، بیماری‌های قلبی، آسم، زخم‌ها و سرطان تولید می‌شوند (۱۳).

با توجه به این موارد، خالص‌سازی، جداسازی، شناسایی و بررسی فعالیت زیستی مشتقات گلیکوگلیسرولیپید مرجان‌های دریایی به عنوان یک حوزه‌ی جالب و جدید در زمینه‌ی شیمی دریا به حساب می‌آید.

جنس سارکوفیتون (*Sarcophyton*) دارای حدود ۲۵۰ گونه از خانواده Alcyonacea است و در تمام اقیانوس‌های گرمسیری و معتدل زمین گسترده است. تاکنون گلیسرولیپیدهای متعددی از گونه‌های مختلف مرجان سارکوفیتون در سراسر جهان استخراج شده است. داده‌های اخیر نشان می‌دهد که بیش از ۱۵۰ گونه مرجان دریایی در مناطق مختلف ساحلی ایران وجود دارد (۱۴). اما بر خلاف این تعدد گونه، تنها مطالعات کمی در خصوص بررسی فیتوشیمیایی مرجان‌های دریایی در این منطقه به ویژه گونه‌های سارکوفیتون انجام شده است. بنابراین، انجام یک مطالعه‌ی کامل در ارتباط با بررسی فیتوشیمیایی و اثرات بیولوژیک این مرجان دریایی الزامی می‌باشد.

روش‌ها

مواد مصرفی

ستون‌های کروماتوگرافی: سیلیکاژل فاز نرمال با مش‌های متفاوت، کاغذهای TLC سیلیکاژل فاز نرمال، معرف سریم سولفات، دستگاه HPLC Agilent 1100) مجهز به ستون فاز نرمال (YMC Co., Ltd., Kyoto, Japan)) و پمپ آب ۵۱۵ و آشکارساز UV-Vis ، دستگاه NMR Bruker AV-400 (1H)) و (AV-100 (13C)، دستگاه HR-ESI-MS (Waters Q-TOF Micro YA019)، دستگاه EI-MS (Varian MAT 112 یا MAT 312)، دستگاه GC-MS (Agilent Technologies 6890N GC و یک آشکارساز MSD 5973Network و ستون مویینه HP-5MS به مشخصات ۳۰ متر در ۰/۲۵ میلی‌متر در ۰/۲۵ میکرومتر ساخته Agilent Technologies.

جمع‌آوری نمونه‌ی دریایی

مرجان‌های دریایی، جنس سارکوفیتون در پاییز ۱۴۰۱ از سواحل شهر بوشهر، استان بوشهر در خلیج فارس جمع‌آوری شدند. نمونه‌ی هرباریومی توسط مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی بوشهر شناسایی شد با کد ۲۶۶۲ و نام علمی *Sarcophyton pisnilata* در هرباریوم دانشکده داروسازی و علوم دارویی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان (استان اصفهان، ایران)، کدگذاری و نگهداری گردید.

استخراج و فراکشنه‌سازی لیپیدها

پودر به دست آمده از مرجان دریایی *S. pisnilata* با حلال اتیل استات و متانول به نسبت ۱:۱ حجمی/حجمی عصاره‌گیری شد. عصاره‌گیری به روش ماسراسیون در دمای اتاق انجام شد. عصاره‌ها صاف، خشک و به روش فراکشن‌سازی کوپچان (Kupchan) با استفاده از حلال‌های هگزان، دی کلرومتان، بوتانول و آب فراکشنه شدند. فراکشن هگزانی توسط دستگاه MPLC فراکشنه گردید. سیلیکا ژل به عنوان فاز ثابت و ستون با سیستم حلالی هگزان: اتیل استات به صورت گرادیان از هگزان ۱۰۰ درصد به اتیل استات خالص به عنوان فاز متحرک شسته شد. ترکیبات استخراج شده از ستون با استفاده از کاغذ TLC مورد ارزیابی و پس از حصول اطمینان از خالص بودن لکه استخراج شده توسط دستگاه NMR تعیین ساختار گردید. بدین منظور از ۱۴ فراکشن بده دست آمده از فراکشن هگزانی، فراکشن شماره ۱۴ بر روی ستون سیلیکاژل فاز نرمال مجدداً قرار گرفت و به طور متوالی با حلال کلروفرم: متانول به صورت گرادیان با افزایش غلظت متانول از ۵ درصد به ۵۰ درصد شستشو داده شد و در نهایت با استفاده از متانول ۱۰۰٪ ستون سیلیکاژلی شسته شد. فراکشن‌های حاصل به زیرفراکشن‌های مختلف تقسیم شدند و در مرحله‌ی آخر توسط دستگاه HPLC جداسازی نهایی صورت گرفت و ترکیبات ۱ الی ۳ به عنوان ماده‌ی خالص جدا کردید و در یخچال جهت استفاده در آزمون‌های بعدی نگهداری گردید.

سنجش سمیت سلولی در شرایط آزمایشگاهی

رده‌ی سلولی سلول‌های اپی‌تلیال دهلنه‌ی رحم (HeLa)، به عنوان رده‌ی سرطانی از انستیتو پاستور ایران در استان تهران تهیه شد. سلول‌ها در انکوباتور با ۵ درصد گاز دی‌اکسید کربن در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شدند. سلول‌های HeLa در محیط RPMI (Roswell Park Memorial Institute) تیمار شدند و سپس به محیط‌ها ۱۰ درصد FBS و پنی‌سیلین-استرپتومایسین (به ترتیب ۱۰۰ واحد بر میلی‌لیتر و میکروگرم بر ۱۰۰ میلی‌لیتر) اضافه گردید.

ترکیبات ۱ الی ۳ برای بررسی اثرات سیتوتوکسیک آن‌ها انتخاب شدند. سمیت سلولی برون تنی نمونه‌ها در مقابل سلول‌های HeLa با

استفاده از روش MTT (3-(4,5-dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide) مورد ارزیابی قرار گرفت. به طور خلاصه، یک سوسپانسیون سلولی ۲×۱۰^{۵} سلول در هر میلی‌لیتر در صفحات پلیت ۹۶ خانه‌ای کاشته شد و یک شبانه‌روز انکوبه شد تا امکان اتصال سلولی بین آن‌ها فراهم شود. ترکیبات خالص شده در حلال دی‌متیل سولفوکسید (DMSO) حل شدند (غلظت نهایی DMSO کمتر از ۱ درصد بود) و ۲۰ میکرولیتر از غلظت‌های مختلف نمونه به چاهک‌ها اضافه شد و به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد در انکوباتور انکوبه گردید. سپس به سلول‌ها ۲۰ میکرولیتر محلول MTT (۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) اضافه گردید و سپس در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۳ ساعت انکوبه شدند. در ادامه محیط کشت حذف شد و برای انحلال بلورهای MTT–فورمازان تشکیل شده، مقدار ۱۵۰ میکرولیتر DMSO اضافه شد و در نهایت جذب، در طول موج ۵۷۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتری اندازه‌گیری شد. درصد بقای سلولی طبق رابطه‌ی زیر محاسبه شد (۱۵–۱۷):

$$\text{درصد بقای سلول} = \frac{\text{جذب در چاهک‌های تیمار شده منهای جذب در چاهک‌های شاهد}}{\text{جذب در کنترل منفی یا تیمار نشده منهای جذب در چاهک‌های شاهد}} \times ۱۰۰$$

یافته‌ها

ترکیب ۱:

اطلاعات حاصل از طیف ^{1}H-NMR با قدرت دستگاه ۴۰۰ MHz و اطلاعات حاصل از طیف ^{13}C-NMR با قدرت دستگاه ۱۰۰ MHz با استفاده از حلال CDCl3 ترکیب ۱ به صورت جدول ۱ محاسبه شد.

جدول ۱. اطلاعات ترکیب ۱ حاصل از طیف ^{1}H-NMR و ^{13}C-NMR

شماره کربن	^{13}C-NMR	^{1}H-NMR
۱	۱۷۳/۱۶	-
۲	۳۴/۴۴	(2H,*t*, *J*=7 Hz) ۲/۳۵
۳	۲۴/۹۱	(2H, *q*, *J*=7 Hz)۱/۶۳
۴-۷	۲۲/۶۴، ۲۹/۱۴، ۲۹/۶۸، ۳۱/۸۹	(28H, *m*)۱/۲۳ -۱/۳۵
۸-۱۱	۲۷/۳	(2H, *m*)۱/۹
۱۲-۱۷	۱۳۱	(1H, *m*)۵/۲
۱۸	۱۴/۰۳	(3H, *t*, *J*=7 Hz)۰/۸
′۱	۶۵/۳۲	(1H, *dd*, *J*=5, 12 Hz)۴/۱۴ (1H, *dd*, *J*= 12, 5 Hz)۴/۱۱
′۲	۷۱/۵۸	(1H, *q*, *J*= 5 HZz)۳/۸۸
′۳	۶۲/۶۴	(1H, *dd*, *J*= 5, 12 Hz)۳/۶۴ (1H, *dd*, *J*= 5, 12 Hz)۳/۵۶

ترکیب ۲:

اطلاعات حاصل از طیف ^{1}H-NMR با قدرت دستگاه ۴۰۰ MHz و اطلاعات حاصل از طیف ^{13}C-NMR با قدرت دستگاه ۱۰۰ MHz با استفاده از حلال DMSO-d6 ترکیب ۲ به صورت جدول ۲ محاسبه شد.

جدول ۲. اطلاعات ترکیب ۲ حاصل از طیف ^{1}H-NMR و ^{13}C-NMR

شماره کربن	^{13}C-NMR	^{1}H-NMR
۱	۱۷۳/۱۶	-
۲	۳۴/۱۶	۲/۳۵ (2H,*t*, *J*=7 Hz)
۳	۲۴/۹۱	۱/۶۳ (2H, *q*, *J*=7 Hz)
۴-۱۷	۲۲/۶۴، ۲۹/۱۴، ۲۹/۶۸، ۳۱/۸۹	۱/۲۳ – ۱/۳۵ (28H, *m*)
۱۸	۱۴/۰۳	۰/۸ (3H, *t*, *J*=7 Hz)
′۱	۶۵/۳۲	۴/۱۴ (1H, *dd*, *J*=5, 12 Hz) ۴/۱۱ (1H, *dd*, *J*= 12, 5 Hz)
′۲	۷۱/۵۸	۳/۸۸ (1H, *q*, *J*= 5 HZz)
′۳	۶۲/۶۴	۳/۶۴ (1H, *dd*, *J*= 5, 12 Hz) ۳/۵۶ (1H, *dd*, *J*= 5, 12 Hz)

ترکیب ۳:

اطلاعات حاصل از طیف ^{1}H-NMR با قدرت دستگاه ۴۰۰ MHz و اطلاعات حاصل از طیف ^{13}C-NMR با قدرت دستگاه ۱۰۰ MHz با استفاده از حلال DMSO-d6 ترکیب ۳ به صورت جدول ۳ محاسبه شد.

جدول ۳. اطلاعات ترکیب ۳ حاصل از طیف ^{1}H-NMR و ^{13}C-NMR

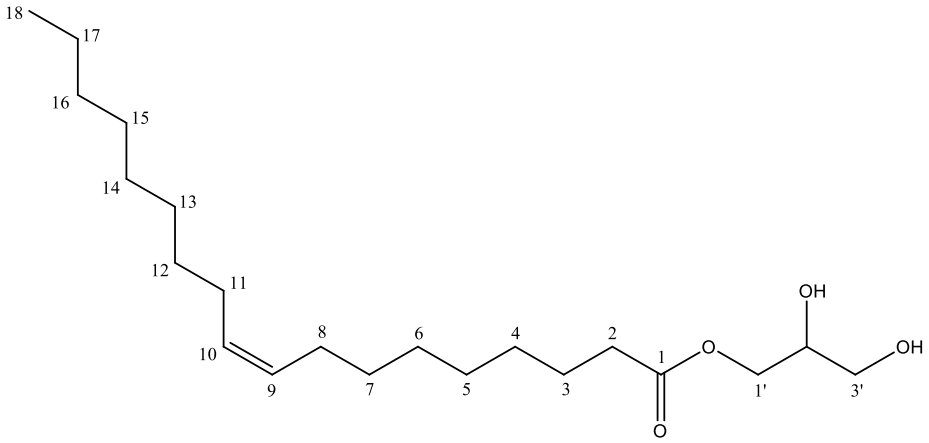
شماره کربن	^{13}C-NMR	^{1}H-NMR
۱	۶۲/۵	۴/۳۲ (1H, *dd*, *J*=2.4, 12 Hz) ۴/۱۲ (1H, *dd*, *J*=7.6, 12 Hz)
۲	۶۸/۵	۵/۱۲ (1H, *m*)
۳	۶۹/۶	۳/۸۶ (1H, *dd*, *J*=6, 10.8 Hz) ۳/۴۱ (1H, *dd*, *J*=6, 10.8 Hz)
۱‴	۹۸/۲	۴/۵۶ (1H, *d*, *J*=3.6 Hz)
۲‴	۶۴/۵	۳/۱۸ (1H, *dd*, *J*=6, 9.6 Hz)
۳‴	۷۱/۵	۳/۳۶ (1H, *t*, *J*=9.2 Hz)
۴‴	۷۲/۸	۲/۹۲ (1H, *t*, *J*=9.2 Hz)
۵‴	۷۴/۲	۳/۷۵ (1H, *ddd*, *J*=4.8, 5.6, 10.4 Hz)
۶‴	۵۴/۶	۲/۵۸ (1H, *dd*, *J*=6.14 Hz) ۲/۵۷ (1H, *dd*, *J*=6.2, 13.9 Hz)
″۲، ′۲	۳۱/۲	۲/۲۵ (4H, *m*)
″۳، ′۳	۲۴/۴	۱/۴۹ (4H, *m*)
′۷، ′۴، ′۱۳، ′۱۲، ″۴ -″۱۳	۲۸/۹- ۲۹	۱/۲- ۱/۳ (*m*)
′۹، ′۱۰	۱۲۹/۴- ۱۲۹/۵	۵/۳۱ (2H, *t*, *J*=4.8 Hz)
″۱۶، ′۱۶	۱۳/۹	۰/۸۴ (6H, *t*, *J*=6.8 Hz)
″۱۵، ′۱۵	۲۲/۰	۱/۲- ۱/۳ (*m*)
″۱۴، ′۱۴	۳۳/۴- ۳۳/۵	۱/۲- ۱/۳ (*m*)
′۸، ′۱۱	۲۸/۴	۱/۹۷ (4H, *m*)
″۱، ′۱	۱۷۲/۳- ۱۷۲/۵	-

تجزیه و تحلیل دقیق داده‌های ^{1}H-NMR و ^{13}C-NMR از جمله COSY، DEPT، HSQC و HMBC، تخصیص تمام سیگنال‌های ^{1}H-NMR و ^{13}C-NMR را به ساختارهای پیش‌بینی شده متحمل می‌داند (شکل ۱-۳).

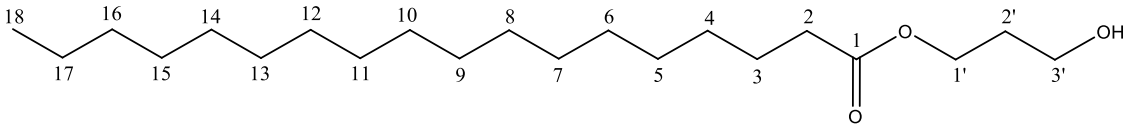
با بررسی سمیت سلولی ترکیبات جدا شده بر روی رده‌ی سلولی سرطان دهانه‌ی رحم (HeLa)، همانطور که در جدول ٤ نشان داده شده است، ترکیب ۳ به عنوان قوی‌ترین ترکیب معین گردید.

جدول ٤. سمیت سلولی ترکیبات جدا شده از مرجان دریایی *S.pisnilata* به روش MTT بر روی رده‌ی سلولی HeLa

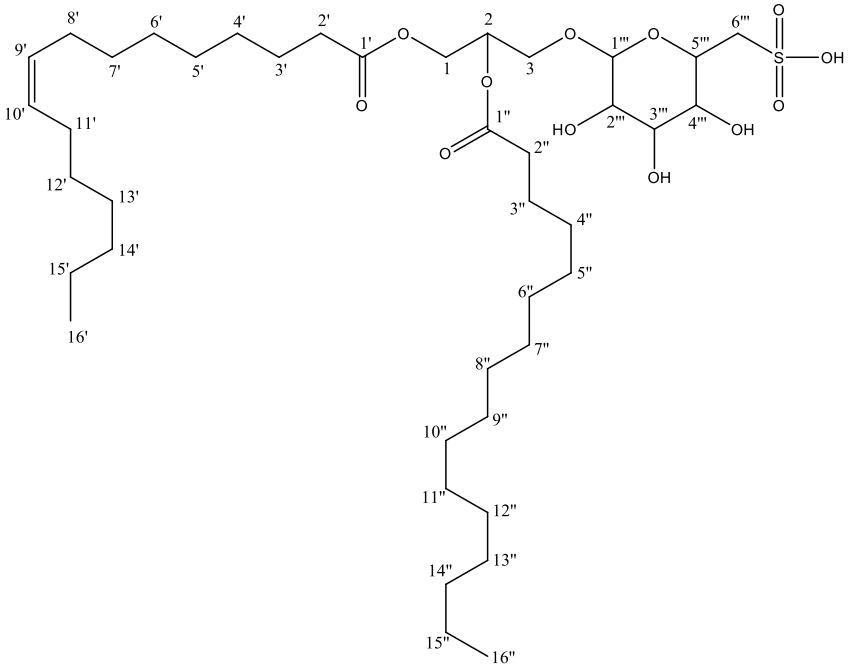
نمونه	ترکیب ۱	ترکیب ۲	ترکیب ۳
IC_{50} (µg/ml)	۱۲/۲ ± ۲/۳	۹/۸ ± ۱/۲	۵/۶ ± ۱/۲



شکل ۱. ساختار ترکیب ۱ (2′,3′-dihydroxypropyl oleate)



شکل ۲. ساختار ترکیب ۲ (3′-hydroxypropyl stearate)



شکل ۳. ساختار ترکیب ۳

بحث

سرطان دهانه رحم، یکی از مهم‌ترین سرطان‌ها در سراسر جهان می‌باشد. این سرطان، چهارمین سرطان شایع پس سرطان سینه، سرطان کولورکتال و سرطان ریه در زنان است (۲۰). در زنان بین سنین ۲۰ تا ۳۹ سال، سرطان دهانه‌ی رحم به عنوان دومین عامل مرگ و میر ناشی از سرطان می‌باشد و باعث مرگ زودرس در این گروه سنی می‌شود (۲۱).

با توجه به ارتباط مستقیم بین ابتلا به (Human papillomavirus) HPV و سرطان دهانه‌ی رحم و همچنین افزایش نرخ HPV، سبب شده است که تشخیص این سرطان در مراحل آخر قابل رؤیت باشد و حتی آزمایشات سرولوژی نیز این سرطان را تشخیص نمی‌دهند. به هر تقدیر انجام اقدامات غربالگری و پیشگیرانه، سنگ بنای ریشه‌کنی سرطان دهانه‌ی رحم است. با وجود مشخص شدن چندین سویه‌ی کم خطر و پرخطر HPV همچنان به عنوان شایع‌ترین عامل ارتباط سرطان دهانه‌ی رحم شناخته می‌شود (۲۲). واکسن HPV برای واکسیناسیون روتین کودکان نوجوان ۱۱ یا ۱۲ ساله توصیه می‌شود، واکسن‌های جبرانی تا سن ۲۶ سالگی برای کسانی که واکسینه نشده‌اند، توصیه می‌شود (۲۳).

یکی از مهم‌ترین علل مرگ و میر در بین انسان‌ها، سرطان است و توجه زیادی برای جلوگیری از پیشرفت آن لازم است. برخی منابع دریایی توانسته‌اند با جلوگیری از تکثیر سلول‌های سرطانی یا با تقویت آپوپتوز در کنترل پیشرفت این بیماری مؤثر باشند (۲۴).

یکی از منابع ضد سرطان، دریایی مرجان‌ها هستند. اعتقاد بر این است که مرجان‌ها خواص ضد سرطانی زیادی دارند و می‌توانند به عنوان یک منبع عالی برای تحقیقات در خصوص سرطان به شدت مورد استفاده قرار گیرند (۲۵). از جمله خواص درمانی مرجان‌ها، فعالیت‌های ضد التهابی، ضد سرطانی و آنتی‌اکسیدانی می‌باشد (۲۶). مرجان‌ها با مکانیسم‌های مختلفی فعالیت ضد سرطانی خود را اعمال می‌کنند؛ یکی از این مسیرها، فعال کردن آبشار پرو آپوپتوز می‌باشد که منجر به آپوپتوز یا مرگ سلولی می‌شود و در نتیجه باعث کاهش رشد و بقای سلول‌های سرطانی می‌شوند (۲۷). لازم به ذکر است که اگرچه شیمی‌درمانی دارای عوارض جانبی مختلفی است اما تاکنون هیچ گونه عوارض جانبی از مرجان‌ها گزارش نشده است و شاید بتوان آن‌ها را به عنوان بهترین عوامل ضد سرطان دانست (۲۸).

ترکیبات ضد سرطان جدا شده از مرجان دریایی، چرخه‌ی سلولی را مهار می‌کنند اما مکانیسم برنامه‌ریزی شده مبتنی بر مرگ سلولی مانند آپوپتوز بر توقف چرخه‌ی سلولی و حتی نکروز برتری دارد، زیرا باعث ایجاد التهاب در سایر بافت‌های سالم نمی‌شود (۲۹). آپوپتوز، به عنوان یک مرگ برنامه‌ریزی شده‌ی سلولی شامل دو مسیر بیرونی و درونی می‌شود. مسیر بیرونی، به گیرنده متکی است و با فعال کردن کاسپاز ۸، آپوپتوز را آغاز می‌کند، در حالی که مسیر درونی از طریق آزادسازی سیتوکروم c توسط میتوکندری رخ می‌دهد و با فعال کردن کاسپاز ۳، آپوپتوز را آغاز می‌کند (۳۰).

در مطالعات دیگر، ترکیبات استخراج شده از مرجان *Sarcophyton glaucum* سمیت سلولی بالایی را در برابر رده‌های سلولی HepG2، HTC-116 و HeLa نشان دادند (۳۲). ترکیبات مرجان نرم *Sarcophyton crassocaule* نیز فعالیت سیتوتوکسیک قابل توجهی را علیه رده‌های سلولی سرطانی Daoy، HEp-2، MCF-7 و WiDr از خود نشان داد (۳۳). مواد استخراج شده از مرجان *Sarcophyton ehrenbergi* نیز سمیت سلولی قوی را در برابر رده‌ی سلولی P-388 نشان دادند (۳٤).

مطالعات بسیاری دیگری نیز در ارتباط با سمیت سلولی ترکیبات جدا شده از مرجان جنس سارکوفیتون با سلول‌های سرطانی بافت‌های مختلف وجود دارد.

در این مطالعه ۳ ترکیب SQDG برای اولین بار از مرجان دریایی *Sarcophyton pisnilata* از سواحل خلیج فارس ایران جداسازی شد. ترکیب ۳، فعالیت سیتوتوکسیک قوی را در برابر ی سلولی HeLa، در شرایط برون‌تنی نشان داد. با این حال، سنجش MTT می‌تواند تنها به عنوان نشان‌دهنده‌ی عملکرد میتوکندری باشد و تنها در تعیین مکانیسم‌های سمیت کمک کند. اما، آزمایش‌های تأییدی دیگری از جمله مسیرهای درونی و بیرونی در خصوص بررسی دقیق سیتوتوکسیسیتی ترکیبات مورد نیاز است.

نتیجه‌گیری

مرجان‌ها با توجه به قدمت زیاد بر روی زمین و توانایی زنده ماندن آن‌ها در دوران مختلف زمین‌شناسی و تطابق آن‌ها با شرایط مختلفی که در طول سال‌ها بر روی زمین به وجود آمده است؛ نشان‌دهنده‌ی دارا بودن ترکیبات خاص و منحصر به فرد می‌باشد. دریای خلیج فارس در جنوب ایران نیز به دلیل دارا بودن موقعیت جغرافیایی خاص، میزبان بسیاری از گونه‌های گیاهی و جانوری اختصاصی می‌باشد که برخی از آن‌ها انحصاری این ناحیه هستند. پس استخراج ترکیبات از گونه‌های انحصاری این ناحیه و بررسی اثرات فارماکولوژیکی آن‌ها به خصوص بررسی اثرات ضد سرطانی آن‌ها می‌تواند گام مهم و بلندی به سوی کنترل این بیماری شایع و خطرناک باشد.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از تمامی کسانی که ما را در انجام این پژوهش یاری رساندند، سپاسگزاری به عمل می‌آید.

References

1. Yegdaneh A, Putchakarn S, Yuenyongsawad S, Ghannadi A, Plubrukarn A. 3-oxoabolene and 1-oxocurcuphenol, aromatic bisabolanes from the sponge Myrmekioderma sp. Nat Prod Commun 2013; 8(10): 1355-7.
2. Blunt JW, Copp BR, Hu WP, Munro MHG, Northcote PT, Prinsep MR. Marine natural products. Nat Prod Rep 2009; 26(2): 170-244.
3. Jalalipour M, Yegdaneh A, Talebi A, Minaiyan M. Salvia officinalis leaf extracts protect against acute colitis in rats. Res Pharm Sci 2022; 17(4):350-9.
4. Smit AJ. Medicinal and pharmaceutical uses of seaweed natural products: A review. J Appl Phycol 2004; 16(4): 245-62.
5. Akbari V, Safaiee F, Yegdaneh A. Bioassay-guided fractionation and antimicrobial activities of Padina australis extracts. Jundishapur J Nat Pharm Prod 2020; 15(4): e68304.
6. Akbari V, Zafari S, Yegdaneh A. Anti-tuberculosis and cytotoxic evaluation of the seaweed Sargassum boveanum. Res Pharm Sci 2018; 13(1): 30-7.
7. Ghannadi A, Plubrukarn A, Zandi K, Sartavi K, Yegdaneh A. Screening for antimalarial and acetylcholinesterase inhibitory activities of some Iranian seaweeds. Res Pharm Sci 2013; 8(2): 113-8.
8. Sharifi M, Yegdaneh A, Sajjadi SE, Shushizadeh M. Identification and quantification of Phthalate pollution in Holothuria atra: A sea cucumber from the Persian Gulf (Iran). Jundishapur J Nat Pharm Prod 2017; 12(4).
9. Mesripour A, Rabian N, Yegdaneh A. The effect of different partitions of seaweed Sargassum plagyophylum on depression behavior in mice model of despair. J Complement Integr Med 2019; 16(4): 20180207.
10. Ibrahim M, Salman M, Kamal S, Rehman S, Razzaq A, Akash SH. Algae-based biologically active compounds. Amsterdam, Netherlands: Elsevier; 2017. p. 155-271.
11. Samuel P, Prince L, Prabakaran P. Ocean: the inviolated source of pharmaceutical leads and drug metabolites. World J Sci Technol 2011; 1(10): 74-91.
12. Tang H-F, Yi Y-H, Yao X-S, Xu Q-Z, Zhang S-Y, Lin H-W. Bioactive steroids from the brown alga Sargassum carpophyllum. Journal of Asian Natural Products Research 2002; 4(2): 95-101.
13. Chan WL, Pejnovic N, Liew TV, Lee CA, Groves R, Hamilton H. NKT cell subsets in infection and inflammation. Immunol Lett 2003; 85(2): 159-63.
14. Ireland C, Copp B, Foster M, McDonald L, Radisky D, Swersey J. In: Marine biology. Attaway D, Zeborsky O, editors. Plenum Press: New York; 1993. p. 1-43.
15. Nezafatian E, Farhadian O, Yegdaneh A, Safavi M, Daneshvar E, Bhatnagar A. Enhanced production of bioactive compounds from marine microalgae Tetraselmis tetrathele under salinity and light stresses: A two-stage cultivation strategy. Bioresour Technol 2023; 376: 128899.
16. Safaeian L, Sajjadi SE, Javanmard SH, Montazeri H, Samani F. Protective effect of Melissa officinalis extract against H2O2-induced oxidative stress in human vascular endothelial cells. Res Pharm Sci 2016; 11(5): 383-9.
17. Mesripour A, Rafieian-Kopaei M, Bahrami B. The effects of Anethum graveolens essence on scopolamine-induced memory impairment in mice. Res Pharm Sci 2016; 11(2): 145-51.
18. Yunoki K, Sato M, Seki K, Ohkubo T, Tanaka Y, Ohnishi M. Simultaneous quantification of plant glyceroglycolipids including sulfoquinovosyldiacylglycerol by HPLC–ELSD with binary gradient elution. Lipids 2009; 44(1): 77-83.
19. Kind T, Meissen JK, Yang D, Nocito F, Vaniya A, Cheng Y-S, et al. Qualitative analysis of algal secretions with multiple mass spectrometric platforms. J Chromatogr A 2012; 1244: 39-47.
20. Arbyn M, Weiderpass E, Bruni L, de Sanjosé S, Saraiya M, Ferlay J, et al. Estimates of incidence and mortality of cervical cancer in 2018: a worldwide analysis. Lancet Glob Health 2020; 8(2): e191-e203.
21. Zur Hausen H. Papillomaviruses and cancer: from basic studies to clinical application. Nat Rev Cancer 2002; 2(5): 342-50.
22. Erickson BK, Alvarez RD, Huh WK. Human papillomavirus: what every provider should know. Am J Obstet Gynecol 2013; 208(3): 169-75.
23. Agorastos T, Chatzigeorgiou K, Brotherton JM, Garland SM. Safety of human papillomavirus (HPV) vaccines: a review of the international experience so far. Vaccine 2009; 27(52): 7270-81.
24. Huheihel M, Ishanu V, Tal J, Arad SM. Activity of Porphyridium sp. polysaccharide against herpes simplex viruses in vitro and in vivo. J Biochem Biophys Methods 2002; 50(2-3): 189-200.
25. Ruiz-Torres V, Encinar JA, Herranz-Lopez M, Perez-Sanchez A, Galiano V, Barrajon-Catalan E, et al. An updated review on marine anticancer compounds: The use of virtual screening for the discovery of small-molecule cancer drugs. Molecules 2017; 22(7): 1037.
26. Wei W-C, Sung P-J, Duh C-Y, Chen B-W, Sheu J-H, Yang N-S. Anti-inflammatory activities of natural products isolated from soft corals of Taiwan between 2008 and 2012. Mar Drugs 2013; 11(10): 4083-126.
27. Su TR, Lin JJ, Chiu CC, Chen JYF, Su JH, Cheng ZJ, et al. Proteomic investigation of anti-tumor activities exerted by sinularin against A 2058 melanoma cells. Electrophoresis 2012; 33(7): 1139-52.
28. Newman DJ, Cragg GM. Natural products as sources of new drugs over the last 25 years. J Nat Prod 2007; 70(3): 461-77.
29. Mesripour A, Rafieian-Kopaei M, Bahrami B. The effects of Anethum graveolens essence on scopolamine-induced memory impairment in mice. Res Pharm Sci 2016; 11(2): 145-51.
30. Niknejad H, Khayat-Khoei M, Peirovi H, Abolghasemi H. Human amniotic epithelial cells induce apoptosis of cancer cells: a new anti-tumor therapeutic strategy. Cytotherapy 2014; 16(1): 33-40.
31. Neoh C-A, Wang RY-L, Din Z-H, Su J-H, Chen Y-K, Tsai F-J, et al. Induction of apoptosis by sinulariolide from soft coral through mitochondrial-related and p38MAPK pathways on human bladder carcinoma cells. Mar Drugs 2012; 10(12): 2893-911.

32. Hegazy M-EF, El-Beih AA, Moustafa AY, Hamdy AA, Alhammady MA, Selim RM, et al. Cytotoxic cembranoids from the Red Sea soft coral Sarcophyton glaucum. Nat Prod Commun 2011; 6(12): 1809-12.
33. Lin W-Y, Lu Y, Su J-H, Wen Z-H, Dai C-F, Kuo Y-H, et al. Bioactive cembranoids from the dongsha atoll soft coral Sarcophyton crassocaule. Mar Drugs 2011; 9(6): 994-1006.
34. Wang S-K, Hsieh M-K, Duh C-Y. Three new cembranoids from the Taiwanese soft coral Sarcophyton ehrenbergi. Mar Drugs 2012; 10(7): 1433-44.

DOI: *10.48305/jims.v42.i792.1037*

Journal of Isfahan Medical School **Vol. 42, No. 792, 4th Week, January 2025**

Received: 04.08.2024 Accepted: 28.09.2024 Published: 18.01.2025

Phytochemical Investigation and Cytotoxicity of Isolated Compounds from Marine Coral *Sarcophyton Pisnilata* Collected from the Persian Gulf on Hela Cancer Cells

Samin Mousavi[1], Mohammadreza Soltani Mohahammadi[1], Afsaneh Yegdaneh[1]

Original Article

Abstract

Background: Marine organisms are an important source of bioactive metabolites. These organisms produce unique compounds with specific biological activities. Research has shown that corals can play a potential role in drug development, especially anti-cancer drugs. The Persian Gulf is one of the largest shelters for marine organisms such as corals, sea sponges, all kinds of edible fish, non-edible fish, and many other aquatic creatures.

Methods: Marine coral *Sarcophyton pisnilata* was collected and extracted using methanol: ethyl acetate solvent (1:1). Separation and isolation of different coral compounds was done by various chromatographic methods, such as normal-phase silica gel column and high-performance chromatography (HPLC). Silica gel column chromatography was performed using hexane: ethyl acetate solvent as the mobile phase and washed in a gradient manner. Then, isolated compounds were identified using different NMR identification methods, as well as mass spectrometry (MS) methods. Next, the cytotoxicity of these compounds was studied against HeLa cancer cells using the MTT assay method.

Findings: Three sulfoquinosyl diacylglyceride (SQDG) compounds were identified. Also, compounds 1 to 3 showed cytotoxic results on cancer cells, IC50 of them was 12.2 ± (2.3), 25.8 ± (3.7), 14.9 ± (2.6), 9.8 ± (1.2), and 5.6 ± (1.2) µM, respectively.

Conclusion: Isolated compounds from *Sarcophyton pisnilata* showed vigorous cytotoxic activity against Hela cells in vitro.

Keywords: HeLa cell; Chromatography; HPLC; Anticancer agents; Fatty acid

Citation: Mousavi S, Soltani Mohahammadi M, Yegdaneh A. **Phytochemical Investigation and Cytotoxicity of Isolated Compounds from Marine Coral *Sarcophyton Pisnilata* Collected from the Persian Gulf on Hela Cancer Cells.** J Isfahan Med Sch 2025; 42(792): 1037-44.

1- Department of Pharmacognosy and Isfahan Pharmaceutical Sciences Research Center, School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
Corresponding Author: Afsaneh Yegdaneh, Department of Pharmacognosy and Isfahan Pharmaceutical Sciences Research Center, School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran,
Email: yekdaneh@pharm.mui.ac.ir