ارزیابی سمیت سلولی عصاره‌های خیار دریایی *Holothuria parva* بر رده سلولی سرطان سینه (MCF-7) و سلول‌های نرمال

زهرا احسان‌پور[۱]، بیتا ارچنگی[۲*]، منا سلیمی[۳]، محمدعلی سالاری[۴]، حسین ذوالقرنین[۵]

۱- کارشناس ارشد، گروه بیولوژی دریا، دانشکده علوم دریایی و اقیانوسی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، استان خوزستان، خرمشهر، پست الکترونیکی: z.ehsanpour@gmail.com

۲- استادیار، گروه بیولوژی دریا، دانشکده علوم دریایی و اقیانوسی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، استان خوزستان، خرمشهر، پست الکترونیکی: bita.archangi@gmail.com

۳- استادیار، انستیتو پاستور تهران، گروه فیزیولوژی و فارماکولوژی، پست الکترونیکی: salimi_mona@yahoo.com

۴- استادیار، گروه بیولوژی دریا، دانشکده علوم دریایی و اقیانوسی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، استان خوزستان، خرمشهر، پست الکترونیکی: salari@kmsu.ac.ir

۵- دانشیار، گروه بیولوژی دریا، دانشکده علوم دریایی و اقیانوسی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، استان خوزستان، خرمشهر، پست الکترونیکی: zolgharnein@kmsu.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۳/۹/۲۸ ** نویسنده مسوول* *تاریخ پذیرش: ۹۴/۳/۷*

© نشریه علمی ـ پژوهشی اقیانوس‌شناسی ۱۳۹۴، تمامی حقوق این اثر متعلق به نشریه اقیانوس‌شناسی است.

چکیده

خیارهای دریایی متعلق به شاخه خارپوستان و رده Holothuroidea گروه بزرگ و متنوعی از جانوران دریایی با حدود ۱۴۰۰ گونه در جهان را شامل هستند. تاکنون حضور ترکیباتی با اثر درمانی ضد اکسیدانی، ضد باکتریایی، ضد قارچی، ضد ویروسی و ضد سرطانی در خیارهای دریایی به اثبات رسیده است. در تحقیق حاضر، اثرات ضد سرطانی عصاره‌های استخراجی *Holothuria parva* با استفاده از حلال‌هایی با قطبیت متفاوت شامل هگزان، کلروفرم، متانول و آب، بر رده سلولی سرطانی سینه (MCF-7) و سلول‌های نرمال مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج تاثیر سمیت عصاره‌ها در سه زمان ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت بر رده سلولی سرطانی به‌صورت IC_{50} (در محدوده mg/mL ۰/۰۰۰۰۱– ۰/۵) گزارش شد. در این میان بهترین تاثیر مربوط به عصاره آبی بر رده MCF-7 در زمان ۷۲ ساعت بود. بنابراین به‌دلیل اثر بخشی قابل ملاحظه سمیت سلولی عصاره آبی بر رده سلولی سرطان سینه، ترکیبات این گونه دریایی می‌توانند پس از تخلیص به‌عنوان کاندیدای مناسبی جهت تولید داروهای با خاصیت ضد سرطان سینه استفاده شوند.

کلمات کلیدی: *خیار دریایی، Holthuria parva، تعیین سمیت، ضد سرطان، خلیج فارس.*

۱. مقدمه

در طول دهه‌های اخیر، ترکیبات زیست فعال بسیاری از موجودات و منابع مختلف دریایی، استخراج شده‌اند که بسیاری از آنها کاندیدای مناسبی به‌عنوان دارو و همچنین یک محصول موفق تجاری در بسیاری از حوزه‌های مختلف صنعتی، به‌خصوص داروسازی، کشاورزی و صنایع غذایی محسوب می‌شوند. با این حال در محیط دریا، نقش بی‌مهرگان دریایی از جمله خارتنان بسیار

چشم‌گیر است. در حقیقت، از هر ۱۳ ترکیب طبیعی دریا یا آنالوگ آنها که امروزه در پروتکل‌های درمانی به‌عنوان داروهای جدید استفاده می‌شود، ۱۲ مورد از بی‌مهرگان دریایی مشتق شده است (San Miguel-Ruiz and Garcia-Arraras, 2007). تاکنون حضور ۲۸ گونه از خیارهای دریایی در خلیج فارس و دریای عمان گزارش شده است که در این میان خانواده Holothuriidae از غنای گونه‌ای بالاتری نسبت به خانواده‌های دیگر برخوردار است (فاطمی، ۱۳۹۰).

خیارهای دریایی به‌دلیل تحمل محدوده وسیعی از تغییرات اقلیمی دارای پراکنش جهانی گسترده‌ای هستند. گونه مورد بررسی نیز در نقاط مختلفی از آب‌های جنوب کشور از منطقه بین جزر و مدی تا مناطق عمیق، از جمله در سواحل قشم، بندر بستانه و بندر دیر حضور دارد. به‌طور کلی گونه مذکور در محدوده اقیانوس هند به وفور یافت می‌شود (فاطمی، ۱۳۹۰).

خیارهای دریایی از دیرباز به‌دلیل کاربرد در طب سنتی و مصارف تغذیه‌ای در آسیا و خاورمیانه مورد توجه بوده‌اند. هم اکنون فعالیت‌های زیستی و دارویی منحصر به فردی از جمله فعالیت‌های ضد رگ‌زایی (Sarfaraj et al., 2012)، ضد سرطان و ضد التهاب (Pingru et al., 2000)، ضد انعقاد و ضد تومور (Mokhlesi et al., 2012)، ضد میکروب (Aminin et al., 2010)، ضد ویروس و ضد قارچ (Hamaguchi et al., 2010)، ضد فشارخون (Dang et al., 2007)، آنتی اکسیدان و تنظیم کننده‌ی سامانه ایمنی (خرمی زاده، ۱۳۸۸) و التیام دهنده‌ی زخم‌ها (Roginsky et al., 2004) را به‌دلیل حضور ترکیبات زیست فعال شناخته شده از گونه‌های متعددی از آنها، به خیارهای دریایی نسبت می‌دهند. در پژوهش حاضر، گونه *Holothuria parva* جهت بررسی پتانسیل ضد سرطانی ترکیبات استحصالی بر رده سلولی سرطان سینه مورد مطالعه قرار گرفت.

۲. مواد و روش‌ها

۲-۱. نمونه‌برداری

ابتدا نمونه‌برداری در محدوده پراکنش گونه *Holothuria parva* انجام شد. بدین منظور، نمونه‌های مورد نظر در سال ۱۳۹۲ از سواحل بستانه، در بندر لنگه و از نواحی بین جزر و مدی جمع‌آوری گردید. سپس خیارهای دریایی در ظروف پلاستیکی حاوی آب دریا قرار گرفته و به آزمایشگاه منتقل شد. ابتدا نمونه‌ها جهت تایید گونه‌ای و شناسایی ریخت‌شناختی با کلیدهای موجود (Bordbar et al., 2011) مورد بررسی قرارگرفتند. لازم به ذکر است که شناسایی مولکولی گونه *Holothuria parva* نیز برای اولین بار در ایران هم‌زمان در این تحقیق انجام شد که در مقاله دیگری گزارش شده است.

۲-۲. مراحل عصاره‌گیری

مقدار ۱۴۰ گرم وزن خیس نمونه توزین شده و با اتانول ۸۰٪ به مدت ۲۴ ساعت برای ۳ بار پیوسته عصاره‌گیری انجام شد. عصاره تام به‌دست آمده پس از صاف شدن با کاغذ صافی در دستگاه تبخیر کننده گردان و تحت خلا کاملا خشک گردید. میزان ۱۰۰ میلی‌گرم از عصاره خشک بدست آمده توزین و در یک میلی‌لیتر Dimethyl sulfoxide (DMSO) حل شده و از آن سری رقت‌های (۰/۰۰۰۰۱–۰/۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) تهیه گردید (Silchenko et al., 2005). باقیمانده عصاره خشک، جهت تهیه فراکشن‌های مختلف به‌ترتیب با حلال‌های هگزان، کلروفرم، متانول و آب عصاره‌گیری شد. به‌دلیل وجود تشابهی که در ساختار شیمیایی ترکیبات موجود در عصاره وجود دارد، باید در انتخاب روش جداسازی دقت زیادی اعمال شود. برای مثال، انتخاب روش کروماتوگرافی، وابستگی زیاد به نوع ترکیبی دارد که هدف جداسازی است. از سوی دیگر با استفاده از این روش می‌توان از حضور ترکیبات مشابه موجود در عصاره نیز آگاهی پیدا کرد. بنابر این در جداسازی ترکیبات فراری مثل اسانس‌ها و ترپن‌ها که در خیارهای دریایی خانواده Holothuriidae به وفور یافت شده‌اند. بهترین روش، استفاده از کروماتوگرافی لایه نازک Thin Layer (Chromatography) است (خرمی‌زاده، ۱۳۸۸). در تحقیق حاضر از این روش به‌منظور اطمینان از وجود ترکیبات در عصاره تام گونه مورد مطالعه استفاده شد. در این مطالعه رده سلولی سرطان بدخیم سینه انسان (MCF-7; Human Breast Adenocarcinoma) مورد استفاده قرار گرفت که به‌صورت فلاسک و ویال، از بانک سلولی انستیتو پاستور ایران تهیه شد.

۲-۳. روش آزمون MTT

روش آزمون MTT با توجه به دستورالعمل استاندارد انجام شد (Shin et al., 2004). بدین ترتیب که ابتدا سوسپانسیون

سلولی منفرد از سلول‌های MCF-7 تهیه شده و پس از شمارش سلول‌ها، پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور CO_2 انکوبه شدند. پس از این زمان، محیط کشت را با محیط جدید تعویض نموده و تیمارها به میزان یک میکرولیتر و با ۳ بار تکرار برای هر رقت به چاهک‌ها اضافه شد تا غلظت نهایی عصاره‌ها به ۰/۰۰۰۰۱-۰/۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر رسید. بیشترین غلظت DMSO در هر چاهک ۰/۵٪ بوده که در هر بار تیمار به‌صورت شاهد (کنترل منفی و کنترل مثبت) مورد بررسی قرار گرفت. پلیت‌ها به انکوباتور منتقل گردید و پس از زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت انکوباسیون محیط کشت قبلی خارج و میزان ۲۰ میکرولیتر محلولMTT به همراه ۱۸۰ میکرولیتر محیط کشت جدید، به هر چاهک افزوده شد. مجددا پلیت‌ها به مدت ۴ ساعت به انکوباسیون منتقل گردید. پس از این زمان، پلیت‌ها خارج شده و پس از تخلیه کامل محیط کشت، ۲۰۰ میکرولیتر DMSO به هر چاهک افزوده شد. پلیت، روی شیکر انکوباتور تا زمان حل کامل بلورهای فورمازان ارغوانی توسط حلال DMSO، قرار داده شد. جذب نمونه‌ها توسط دستگاه قرائت‌گر الایزا در طول موج ۵۴۵ نانومتر ثبت و نسبت به جذب ۶۳۰ نانومتر سنجیده شد.

۲-۴. *آنالیز آماری*

به‌منظور محاسبه درصد سمیت سلولی هر یک از عصاره‌ها در رقت‌های مختلف با فرمول ۱ محاسبه شد.

$$\%Cytotoxicity = (1-(\text{جذب نمونه}/\text{جذب کنترل})) \times 100 \quad (۱)$$

سپس جهت تعیین IC_{50} (حداقل غلظتی که باعث ایجاد ۵۰٪ سمیت سلولی شود) با استفاده از درصد سمیت سلولی، از نرم افزار Graph pad prism, version 6 جهت رسم منحنی سیگموئیدی غلظت در مقابل لگاریتم درصد سمیت استفاده گردید.

۳. نتایج

نتیجه کروماتوگرافی لایه نازک عصاره تام، حضور ۳ ترکیب با قطبیت متفاوت را نشان داد که در طول فاز ثابت از یکدیگر جدا شدند.

الف- آزمون تعیین سمیت عصاره‌های مختلف بر رده سلولی سرطان سینه MCF-7

برای هر پلیت از رده سلولی آدنوکارسینومای سینه انسان (MCF-7) پس از طی دوره های تیمار ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت، آزمونMTT انجام شد. از آنجایی که برای حل کردن عصاره‌ها از حلال DMSO استفاده شده بود، در هر پلیت یک گروه سلول به‌عنوان کنترل حلال با DMSO تیمار شدند.

با افزایش غلظت عصاره‌ها از ۰/۰۰۰۰۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر به ۰/۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر درصد سمیت سلولی افزایش نشان داد، به‌طوری که روند وابسته به غلظت در تمامی عصاره‌ها دیده شد. همچنین روند وابسته به زمان نیز در تمامی عصاره‌ها مشاهده گردید، به نحوی که با افزایش مدت زمان تیمار سلول‌ها با عصاره‌ها، سمیت افزایش یافته و بیشترین اثر سمیت پس از طی زمان ۷۲ ساعت مشاهده شد.

پس از تهیه سری رقت (۰/۵-۰/۰۰۰۰۰۱) از عصاره تام، هگزانی، کلروفرمی، متانولی و آبی هر یک به‌طور جداگانه، تیمارهای ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعته آنها بر رده سلولی MCF-7 صورت گرفت. مقادیر سمیت سلولی به‌دست آمده از هر رقت در ۳ زمان، برای عصاره آبی به عنوان نمونه در شکل ۱ نشان داده شده است.

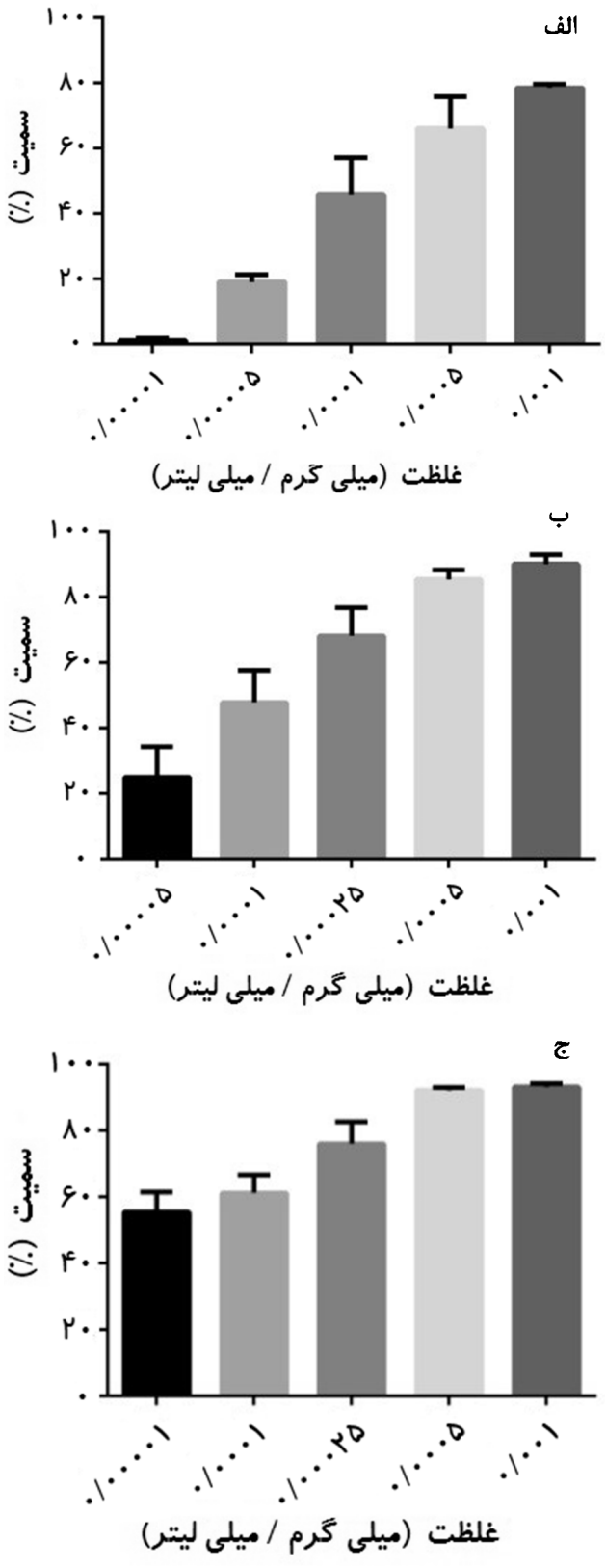
همان‌گونه که در جدول ۱ مشخص شده است، در بین عصاره‌های مختلف، عصاره آبی دارای بیشترین اثر و کمترین میزان IC_{50} در تمامی زمان‌های ۴۸، ۲۴ و ۷۲ ساعت بود. در حقیقت عصاره متانولی در زمان ۷۲ ساعت بر رده سلولی MCF-7 دارای بیشترین اثر سمیت سلولی بود.

جدول ۱: میزان IC_{50} (میلی‌گرم عصاره/ میلی‌لیتر) فعالیت کشندگی سلولی عصاره‌های مختلف *H. parva* بر رده سلولی MCF-7 در تیمارهای ۲۴، ۴۸، ۷۲ ساعته. مقادیر به همراه میانگین ±mg/mL خطای استاندارد محاسبه شده است. هر داده حاصل حداقل ۳ تکرار است.

رده سلولی	زمان	عصاره تام	عصاره هگزانی	عصاره آبی	عصاره کلروفرمی	عصاره متانولی
MCF-7	۲۴ h	۰/۰۰۳ ± ۱/۳	۰/۰۰۷± ۱/۰۹	۰/۰۰۰۱ ±۱/۲	۰/۰۰۷ ± ۶/	۰/۰۰۷±۱
	۴۸ h	۰/۰۰۲ ± ۰/۰۹	۰/۰۰۵ ± ۱/۵	۰/۰۰۰۱ ± ۱/۵	۰/۰۰۱ ±۱/۰۹	۰/۰۰۴±۱/۰۹
	۷۲ h	۰/۰۰۱ ± ۱/۵	۰/۰۰۱ ± ۱/۵	۰/۰۰۰۰۱± ۰/۵	۰/۰۰۰۷± ۱	۰/۰۰۱±۱/۳

۴. بحث و نتیجه‌گیری

خیارهای دریایی، از جمله موجودات دریایی غنی از ترکیبات بالقوه دارویی هستند که امکان تولید بسیاری از محصولات جدید دارویی از آنها وجود دارد.



شکل ۱: مقایسه مقادیر سمیت سلولی عصاره آبی بر رده سلولی MCF-7 در تیمارهای الف) ۲۴، ب) ۴۸ و ج) ۷۲ ساعته. هر داده حاصل حداقل ۳ تکرار± میزان خطای استاندارد است. محاسبه مقادیر P-value ارتباط معنی‌داری را نشان می‌دهد.

امروزه مشخص شده است که خیارهای دریایی به‌عنوان یکی از موجودات دریایی، دارای اثرات ضد سرطانی در برابر سرطان-هایی از قبیل سرطان سینه، پروستات، کلون، خون، ریه، کبد و غیره هستند، هر چند مکانیزم‌های بروز این اثرات هنور به‌طور عمیق بررسی نشده است (San Miguel-Ruiz and Garcia-Arraras, 2007).

طبق بررسی‌های انجام شده، تاکنون هیچ گونه تحقیقی در مورد گونه *Holothuria parva* جهت تعیین خواص دارویی و درمانی انجام نشده است. بنابراین ترکیبات به‌دست آمده از این گونه نیز در انحصار ملی خواهد بود.

۴-۱. سه فاکتور مورد بررسی در خیار دریایی گونه *Holothuria parva*

در این پژوهش با فرض حضور ترکیبات تری ترپن گلیکوزیدی که عامل سمیت محسوب می‌شوند، سه فاکتور نوع رده سلولی، زمان مجاورت عصاره با سلول و نوع عصاره به‌عنوان شاخص‌هایی برای درک رفتار سمیت سلولی ایجاد شده توسط عصاره‌ها در نظر گرفته شد (جدول ۱).

بررسی تاثیر مدت زمان انکوباسیون برای عصاره‌های مختلف تام، هگزانی، کلروفرمی، متانولی و آبی بر رده سلولی MCF- 7 وابستگی به زمان را به خوبی نشان داد به‌نحوی که با افزایش زمان انکوباسیون، افزایش در میزان اثرات سمیت سلولی مشاهده گردید و بیشترین میزان سمیت پس از مدت زمان انکوباسیون ۷۲ ساعت و روی این رده سلولی دیده شد. از این میان بیشترین سهم کشندگی مربوط به عصاره آبی و پس از آن عصاره کلروفرمی (در زمان ۲۴ ساعت) بود. تاثیر سمیت سایر عصاره‌های تام، هگزانی و متانولی در این زمان یکسان بود (جدول ۱).

Zou (2003)، Wu (2006)، Han (2010, 2012) نیز روی MCF-7 تاثیر فراکشن‌های مختلف انواع خیار دریایی را بررسی نموده و تاثیر سمیت مثبت آنها را بر این رده سلولی مشاهده نمودند.

Han و همکاران (۲۰۱۲) عصاره تام اتانولی خیار دریایی *Holothuria scabra* را تخلیص نمودند که در نتیجه آن سه ترکیب تری ترپن گلیکوزیدی جدید را شناسایی کردند که نتایج سمیت آنها بر ۵ رده سلولی سرطانی از جمله سرطان سینه MCF-

7 نیز انجام شد. در این تحقیق میزان IC_{50} به‌دست آمده بین ۰/۹۳ تا ۲/۶۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود که با نتایج تحقیق حاضر مشابهت نشان داد (Han et al., 2010).

Liu و همکاران (۲۰۰۸) خیار دریایی گونه *Bohadschia argus* Jaeger را جهت بررسی ترکیبات با سمیت سلولی مورد تحقیق قرار دادند. در این بررسی عصاره تام اتانولی گونه خالص شده و سپس دو ترکیب تری ترپن گلیکوزیدی استحصال و ساختمان آنها تعیین گردید. سپس سمیت این ترکیبات بر چهار رده سلولی سرطانی از جمله سرطان سینه (MCF-7) در مقایسه با داروی کنترل اتوپوزید بررسی شد که مطالعه حاضر نیز موید این نتایج بود (Han et al., 2012).

تاکنون تحقیقات محدودی در زمینه استحصال ترکیبات با منشا جانداران دریایی توسط محققین داخلی صورت گرفته است. به‌عنوان نمونه‌ای از کارهای مشابه در ایران، می‌توان به فعالیت‌های Mokhlesi و همکاران (۲۰۱۲) اشاره نمود گونه *Holothuria leucospilota* متعلق به سواحل بستانه در خلیج فارس را مورد بررسی قرار دادند. این گروه نمونه‌های اندام کورین، مایع سلومی و دیواره بدن خیار دریایی را به‌طور مجزا عصاره‌گیری نمودند. روش آنها بدین صورت بود که سه عصاره اتیل استاتی، متانولی و متانولی- آبی را به‌دست آورده و تاثیر ضد باکتریایی، ضد قارچی و سمیت آنها را بررسی کردند. طبق نتایج حاصل از این بررسی، عصاره‌ها فاقد اثرات ضد باکتریایی بوده ولی دارای اثرات ضد قارچی و سمیت سلولی قابل توجهی بودند. بدین صورت که عصاره اتیل استاتی فاقد اثر سمیت بوده در حالی که عصاره‌های متانولی و آبی- متانولی دارای تاثیر مهارکنندگی قوی بودند. بر همین اساس بیشترین میزان فعالیت سمیت به‌ترتیب مربوط به عصاره متانولی دیواره بدن، عصاره متانولی اندام کورین، عصاره متانولی- آبی دیواره و عصاره متانولی مایع سلومی گزارش شد (Mokhlesi et al., 2011). مخلصی و همکاران (۲۰۱۱) گونه *Bohadschia mormorata* را به روش فوق بررسی نموده و نتایج مشابه در مورد اثرات ضد باکتریایی و ضد قارچی و سمیت این گونه را بدست آوردند، با این تفاوت که ترتیب سمیت عصاره‌ها برای این گونه مربوط به عصاره متانولی اندام کورین، عصاره متانولی دیواره بدن و عصاره متانولی مایع سلومی بوده است (Liu et al., 2008).

Zhang (2006, 2007, 2008) و Han (2010, 2012)، تاثیر سمیت عصاره‌های مختلف گونه‌های متعدد خیار دریایی را بر چندین نوع رده سلولی سرطان خون مثل HL-60, P-388 و MOLT-4 مشاهده نمودند.

با توجه به توضیحات داده شده و مقایسه نتایج تحقیق حاضر با نتایج به‌دست آمده از تحقیقات دیگر، در رده سلولی سرطان سینه، عصاره آبی پس از مدت زمان ۷۲ ساعت بیشترین اثر سمیت سلولی را روی سلول سرطانی داشت (جدول ۱). گمان می‌رود که ترکیبات بالقوه قطبی در این عصاره وجود داشته باشد که این امر احتمال حضور ترکیبات تری ترپن گلیکوزیدی قطبی را قوی‌تر می‌کند (Tian et al., 2005). در این‌صورت، باید استدلال منطقی جهت مشاهده تاثیر سمیت در فراکشن کلروفرمی که حلال مناسب ترکیبات غیر قطبی است وجود داشته باشد. لذا این مشاهده به احتمال بالای حضور ساختار ترکیبات تری ترپن گلیکوزیدی دلالت می‌نماید. در حقیقت این ترکیبات دارای ساختار دوگانه هستند و وجود بخش گلیکوزیدی متصل به آن سبب افزایش میزان قطبیت آنها گردیده است (Han et al., 2009). اما به‌دلیل ناپایداری این بخش قندی احتمال شکستگی مولکول‌های قند طی مراحل عصاره‌گیری یا در طی مراحل تکوینی جانور و در نتیجه کاهش قطبیت وجود دارد (Han et al., 2010). لذا تاثیر سمیت در عصاره کلروفرمی نیز مشاهده شد.

از سوی دیگر، به‌دلیل ساختار استروئیدی این ترکیبات و حضور گیرنده‌های استروئیدی در سطح غشای سلول های MCF-7، انتظار اعمال اثر بیشتر بر این رده می‌رفت که طبق نتایج به‌دست آمده در این تحقیق و مشاهده بیشترین اثر بر این رده، بار دیگر احتمال حضور ترکیباتی با ساختار استروئیدی در این عصاره تقویت شد.

شایان ذکر است که بررسی تاثیر میزان سمیت سلولی عصاره‌ها بر رده سلولی نرمال در مدت زمان ۷۲ ساعت تیمار سلولی با عصاره‌ها جهت مقایسه میزان تاثیرات نامطلوب عصاره‌ها نشان دهنده تاثیر پذیرفتن و کاهش بقای سلول‌های طبیعی با افزایش غلظت عصاره‌ها بود. این بررسی به‌منظور افزایش ضریب اطمینان از بیشترین توان کشندگی اعمال شده از جانب عصاره‌ها بر سلول‌های طبیعی در بیشترین بازه زمانی (۷۲ ساعت) انجام شد، چرا که در این زمان بیشترین میزان سمیت سلولی توسط تمامی عصاره‌ها بر رده سلولی اعمال شده بود. اگرچه نتایج تاثیر سمیت بالای عصاره‌ها بر رده سلولی نرمال را نشان داد، اما به‌دلیل چند برابر بودن مقدار IC50 به‌دست آمده از عصاره آبی بر رده سلولی نرمال نسبت به رده سلولی MCF-7 می توان این عصاره را

به‌عنوان پیش ماده دارویی در درمان سرطان جهت بررسی‌های بیشتر پیشنهاد نمود.

بدون شک با مطالعات بیشتر بر سمیت و فعالیت خیارهای دریایی به‌خصوص گونه مورد مطالعه، امکان توسعه داروهای جدید به‌ویژه در زمینه درمان سرطان وجود دارد. به‌دلیل خواص اثبات شده ترپن گلیکوزیدها، این ترکیبات می‌توانند گزینه مناسبی برای توسعه داروهای جدید باشند. لذا پس از جداسازی و شناسایی ترکیبات موجود در عصاره‌ها، بررسی مکانیسم‌های اعمال اثر سمیت برای درک بهتر اثر بخشی دارو و هدایت مطالعات بعدی جهت کاربردی شدن تحقیقات مورد نیاز است، در عین حال که مطالعه روی اختصاصیت نوع رده‌های سلولی سرطانی در پاسخ به تولیدات طبیعی و تدبیر تمهیداتی برای کاهش میزان تاثیرپذیری سلول‌های طبیعی باید مد نظر قرار گیرد.

با توجه به موقعیت بوم‌شناختی خلیج‌فارس و دریای عمان، احتمال وجود ترکیباتی با پتانسیل درمانی چشم گیرتری نسبت به سایر محیط‌های آبی وجود دارد. همچنین غنای محیط‌های آبی ایران بستر مناسبی برای پژوهش به‌منظور پیشبرد اهداف اقتصادی کشور است که این خود انگیزه و دلیلی برای برنامه‌ریزی و سرمایه گذاری جهت بذل توجه بیشتر به پژوهش‌های آتی در این زمینه محسوب می‌شود.

منابع

خرمی‌زاده، م.، فلک، ر.، ۱۳۸۸. مبانی و اصول مقدماتی تکنیک‌های کشت سلولی. چاپ اول. انتشارات دانشگاه علوم پزشکی تهران. صفحات ۱۳۷-۱۱۷.

فاطمی، ع.؛ قوام مصطفوی، پ.؛ همیز، ز.، ۱۳۹۰. شناسایی خیارهای دریایی از نوع (Holothuroidea) در پهنه های جزر و مدی جزیره قشم (خلیج فارس، ایران). نشریه اقیانوس شناسی. سال دوم، شماره ۷. صفحات ۶۵-۵۷.

Aminin, D.; Chaykina, E.; Agafonova, I.; Avilov, S.; Kalinin, V.; Stonik, V., 2010. Antitumor activity of the immunomodulatory lead Cumaside. International Immunopharmacology, 10(6): 648-654.

Beauregard, A.; Truong, T.; Zhang, H.; Lin, W.; Beck, G., 2001. The detection and isolation of a novel antimicrobial peptide from the echinoderm cucumaria frondosa. Phylogenetic Perspectives on the Vertebrate Immune System, Springer: 55-62.

Bordbar, S.; Anwar, F.; Saari, N., 2011. High-value components and bioactives from sea cucumbers for functional foods - A review. Marine Drugs, 9(10): 1761-1805.

Clark, A.M.; Rowe, F.W.E., 1971. Monograph of shallow water Indo- West Pacific echinoderms. Trustees of the British Museum (Natural History). Pitman Press, London.

Dang, N.H.; Thanh, N.V.; Kiem, P.V.; Huong, L.M.; Minh, C.V.; Kim, Y.H., 2007. Two new triterpene glycosides from the Vietnamese sea cucumber *Holothuria scabra*, 30(11): 1387-1391.

Hamaguchi, P.; Geirsdottir, M.; Vrac, A.; Kristinsson, H.; Sveinsdottir, H.; Fridjonsson, O.; Hreggvidsson, G. 2010. In vitro antioxidant and antihypertensive properties of Icelandic sea cucumber (*Cucumaria frondosa*). Institute of Food Technologists Annual Meeting, Chicago, IL, Abstract.

Han, H.; Li, L.; Yi, Y.H.; Wang, X.H.; Pan, M.X., 2012. Triterpene glycosides from sea cucumber *Holothuria scabra* with cytotoxic activity. Chinese Herbal Medicines, 4(3): 183-188.

Han, H.; Xu, Q.; Yi, Y.H.; Gong, W.; Jiao, B.H., 2010. Two new cytotoxic disulfated holostane glycosides from the sea cucumber *Pentacta quadrangularis*. Chemistry and Biodiversity, 7(1): 158-167.

Han, H.; Yi, Y.; Xu, Q.; La, M.; Zhang, H., 2009. Two new cytotoxic triterpene glycosides from plantae medicine, 75: 1608-1612.

Liu, B.S.; Yi, Y.H.; Li, L.; Sun, P.; Yuan, W.H.; Sun, G.Q.; Han, H.; Xue, M., 2008. Argusides B and C, Two new cytotoxic triterpene glycosides from the sea cucumber *Bohadschia argus* Jaeger. Chemistry and Biodiversity, 5(7): 1288-1289.

Diphenyl- 5 – Thienyl - (2) - Tetrazolium Chloride Diphenyl – 5 – Thienyl - (2) - Tetrazolium Chloride. Antimicrobial Agents Chemotherapy, 48(11): 4457-4459.

Silchenko, A.S.; Stonik, V.A.; Avilov, S.A.; Kalinin, V.I.; Kalinovsky, A.I.; Zaharenko, A.M.; Smirnov, A.V.; Mollo, E.; Cimino, G., 2005. Holothurins B2, B3, and B4, new triterpene glycosides from mediterranean sea cucumbers of the genus holothurians. Journal of Natural Production, 68: 564–567.

Tian, F.; Zhang, X.; Tong, Y.; Yi, Y.; Zhang, S.; Li, L.; Sun, P.; Lin, L.; Ding, J., 2005. PE, a new sulfated saponin from sea cucumber, exhibits anti-angiogenic and anti-tumor activities in vitro and in vivo. Cancer Biology and Therapy, 4(8): 874-882.

Wu, J.; Yi, Y.H.; Tang, H.F.; Zou, Z.R.; Wu, H.M., 2006. Structure and cytotoxicity of a new lanostane type triterpene glycoside from the sea cucumber *Holothuria hilla*. Chemistry and Biodiversity, 3(11): 1249-1254.

Zhang, S.Y.; Yi, Y.H.; Tang, H.F., 2006. Bioactive triterpene glycosides from the sea cucumber *Holothuria fuscocinerea*. Journal of Natural Products, 69(10): 1492-1495.

Zhang, Y.; Yi, Y., 2011. Studies on antitumor activities of triterpene glycoside colochiroside A from sea cucumber *Colochirus ancepes*, 36(4): 504-7.

Zou, Z.R.; Yi, Y.H.; Wu, H.M.; Wu, J.H.; Liaw, C.C.; Lee, K.H., 2003. Intercede sides AC, three new cytotoxic triterpene glycosides from the sea cucumber *Mensamaria intercedens* lampert. Journal of Natural Products, 66(8): 1055-1060.

Mokhlesi, A.; Saeidnia, F.E.; Gohari, A.R.; Shahverdi, A.R.; Nasrolahi, A.; Farahani, F.; Khoshnood, R.; Es ' haghi, N., 2012. Biological activities of the sea cucumber *Holothuria leucospilota*. Asian Journal of Animal and Veterinary Advances, 7(3): 243-249.

Mokhlesi, A.; Saeidnia, S.; Gohari, A.; Mollazadeh-Moghaddam, A.; Es'haghi, N., 2011. Antibacterial antifungal and cytotoxic activities of *Bohadschia marmorata*, a sea cucumber from north coastal of Persian Gulf. Pharmacology, Online 3: 1029-1038.

Pingru, W.; Yue, C.; Jinrui, F.; Wenjin, S., 2000. Studies on the chemical constituents from sea cucumber *Mensamaria intercedens* isolation, properties and antitumor activities of the glycoprotein from *Mensamaria intercedens*. Chinese Journal of Marine Drugs, 5: 001.

Roginsky, A.; Singh, B.; Ding, X.Z.; Collin, P.; Woodward, C.; Talamonti, M.; Bell, R.J.; Adrian, T., 2004. Frondanol (R)-A5p from the sea cucumber, *Cucumaria frondosa* induces cell cycle arrest and apoptosis in pancreatic cancer cells. Pancreas, 29(4): 335.

San Miguel-Ruiz, J.E.; Garcia-Arraras, J.E., 2007. Common cellular events occur during wound healing and organ regeneration in the sea cucumber *Holothuria glaberrima*. BMC Developmental Biology, 7(1): 115.

Sarfaraj, H.M.; Sheeba, F.; Saba, A., 2012. Marine natural products: A lead for Anti-cancer. Indian Journal of Marine Science, 41: 27-39.

Shin, J.; Choi, J.; Lee, J.; Kim, H., 2004. Evaluation of a colorimetric antifungal susceptibility test by using 2,3-