



بررسی اثرات ضد سرطانی سس کوئی ترین لاکتون سیناروپیکرین بر روی سلول های سرطانی

مری (KYSE30)

سولماز نصیرزاده^۱، مهرداد ایرانشاهی^{۲،۳}، احمدرضا بهرامی^{۱،۴،۵}، ابوالفضل شاکری^۲، مریم مقدم متین^{۵،۱،۴*}

۱. گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
۲. گروه فارماکوتوزی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران
۳. مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران
۴. گروه تحقیقاتی بیوتکنولوژی سلولی و مولکولی، پژوهشکده زیست فناوری، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
۵. گروه تحقیقاتی سلول های بنیادی و پزشکی بازساختی، سازمان جهاد دانشگاهی خراسان رضوی، مشهد، ایران

چکیده

داروهای گیاهی در دهه های اخیر به دلیل انتشار نتایج مطالعات و تحقیقات فراوان بر روی گیاهان دارویی و ترکیبات فعال آنها، که حاکی از داشتن خواص شگفت آور و ویژگی های درمانی متنوع می باشد بسیار مورد توجه قرار گرفته اند. سس کوئی ترین لاکتون ها یکی از بزرگترین گروه های ترکیبات فعال گیاهی می باشند که در بسیاری از گیاهان به ویژه خانواده آستراسه یافت می شوند و خواص درمانی مختلفی از جمله خاصیت ضدسرطانی را نشان داده اند. یکی از اعضای این خانواده سیناروپیکرین می باشد که برای بررسی خاصیت ضد سرطانی آن، مطالعات مختلفی بر روی انواع رده های سلولی سرطانی انجام شده است. با توجه به شیوع سرطان مری و قرار گرفتن کشور ایران بر روی کمربند سرطان مری و همچنین نبود مطالعه درباره اثرات سیناروپیکرین بر این سرطان، در این مطالعه اثر ضدسرطانی سیناروپیکرین بر روی سلول های سرطانی سنگفرشی مری (KYSE30) در مقایسه با سلول های فیروبلست سالم انسانی (HDF) مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج به دست آمده نشان دهنده اثرات ضد سرطانی سیناروپیکرین بر سلول های سرطانی مری در مقایسه با سلول های HDF بود. با نگاهی بر نتایج مطالعات قبلی و همین طور نتایج مطالعه حاضر به نظر می رسد می توان این ترکیب را به عنوان یک داروی ضد سرطان در سطح مطالعات پیش بالینی مورد بررسی قرار داد.

کلمات کلیدی: سس کوئی ترین لاکتون، سیناروپیکرین، سرطان مری، KYSE30، اثرات ضد سرطانی

مقدمه

سس کوئی ترین لاکتون ها (SLs) یک گروه بزرگ و متنوع از محصولات طبیعی هستند که در بیش از ۱۰۰ خانواده گیاهان گلدار یافت شده اند. در میان این گیاهان، بیشترین تعداد SLs با بیش از ۳۰۰۰ ساختار از خانواده کامپوزیته (آستراسه) استخراج شده است. بعضی از گیاهان مهم دارویی از این خانواده مانند *Arnica montana*، *Artemisia annua* و *Tanacetum parthenium* حاوی SLs به عنوان ترکیب اصلی فعال هستند (Heinrich et al., 1998) بیشترین SLs از برگ ها و گل های گیاهان جدا شده اند، در حالی که این اجزا ۰.۵٪ وزن خشک گیاه را تشکیل می دهند (Sarfetti et al., 1980). SLs از نظر شیمیایی به چهار دسته عمده تقسیم می شوند: ۱- germacranolides - ۲ eudesmanolides - ۳ guaianolides - ۴ pseudoguanolides (Merfort, 2002). SLs به دلیل خواص زیستی ویژه، به خصوص فعالیت های ضد توموری و سمیت سلولی، توجه زیادی را به سمت خود جلب کرده اند (Lee et al., 1971). سیناروپیکرین یک ترکیب سس کوئی ترین لاکتون است (Akoa et al., 2013) که در گروه guainolide از SLs طبقه بندی می شود (Ha et al., 2003; Choi et al., 2005). و برای



اولین بار از کنگر فرنگی جداسازی شد (Suchy et al., 1960). پژوهشگران ثابت کرده‌اند که سیناروپیکرین فعالیت‌های زیستی بسیار متنوعی را باعث می‌شود که از آن جمله می‌توان به سمیت سلولی قابل توجه بر سلول‌های توموری رده‌های انسانی (Choi et al., 2005) و فعالیت ضدباکتریایی (Bachelier et al., 2006) فعالیت ضدالتهابی (Cho et al., 2000) اشاره کرد. کارسینومای مری (EC) هشتمین سرطان شایع و ششمین سرطان کشنده در سراسر جهان است. این بیماری در مراحل اولیه علائم خاصی نداشته و این مساله یکی از محدودیت‌های اصلی روش‌های بالینی برای تشخیص زودهنگام این سرطان می‌باشد. تخمین میزان بقا ۵ ساله برای این سرطان در سطح جهانی بین ۱۰ تا ۲۵ درصد می‌باشد. فرکانس بالای از سرطان مری در بخش‌های خاصی از چین، ایران، آفریقای جنوبی، فرانسه و ایتالیا و ... گزارش شده است (Stoner et al., 2011). از نظر بالینی، این بیماری ناهمگون به دو نوع آدنوکارسینوما مری (EAC) و کارسینوم سلول سنگفرشی مری (ESCC) تقسیم شده (Zhang et al., 2015) و ویژگی‌های بالینی و مولکولی این دو نوع سرطان تفاوت‌های بسیار مهمی با یکدیگر دارند (Torre et al., 2015). بیش از نود درصد سرطان‌های مری در جهان از نوع ESCC می‌باشند که اغلب به وسیله‌ی افزایش تکثیر سلول‌های اپیتلیال مری پیشروی کرده و منجر به هایپرپلازی سلول بازال، دیسپلازی و کارسینوما درجا می‌شود. عوامل خطر عمده برای کارسینوم سلول سنگفرشی در این مناطق به نظر می‌رسد شامل وضعیت تغذیه‌ای نامناسب، مصرف کم میوه ها و سبزیجات و نوشیدنی‌های داغ باشد (Torre et al., 2015). با توجه به شیوع بالای سرطان مری در ایران لزوم تحقیقات گسترده در جهت یافتن درمان‌های موثر احساس می‌شود. مطالعات وسیعی در زمینه بررسی اثرات مختلف سیناروپیکرین انجام شده است اما تا کنون اثر این ترکیب بر روی سرطان مری بررسی نشده است، از این رو در این پژوهش اثر ضد سرطانی ترکیب سیناروپیکرین بر روی سلول‌های سرطانی مری (KYSE30)، در مقایسه با سلول‌های فیبرلاست طبیعی انسانی (HDF) بررسی شده است.

مواد و روش‌ها

کشت سلول

در مطالعه‌ی حاضر، سلول‌های KYSE30 تهیه شده از انستیتو پاستور (تهران، ایران)، در محیط کشت RPMI-1640 حاوی ۱۰٪ سرم جنینی گاو (FBS) کشت داده شده و در داخل انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد و ۵٪ CO₂ رشد داده شدند.

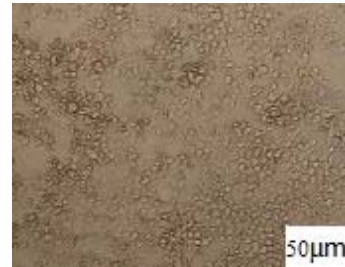
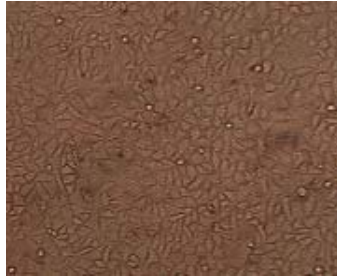
سنجش سمیت سلولی

برای بررسی میزان مرگ و میر سلول‌های KYSE30 تیمار شده با ماده سیناروپیکرین از آزمون MTT استفاده شد. ابتدا سلول‌ها در ظروف ۹۶ خانه‌ای با تعداد ۹۰۰۰ سلول در هر چاهک کشت شده و پس از گذشت ۲۴ ساعت با غلظت‌های ۵۰، ۲۵، ۱۲، ۶، ۳، ۱، ۰٫۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر ترکیب سیناروپیکرین تیمار شدند و سپس میزان بقای سلولی در زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از تیمار اندازه‌گیری شد. داخل هر چاهک ۲۰ میکرولیتر محلول MTT افزوده شده و به مدت ۴ ساعت در داخل انکوباتور نگهداری شدند. سپس چاهک‌ها تخلیه شده و داخل هر چاهک ۱۵۰ میکرولیتر DMSO اضافه شد و جذب نوری با دستگاه ELISA reader در طول موج ۵۴۰ نانومتر خوانده شد. به منظور تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها از نرم افزار Graph pad prism6 استفاده شد.

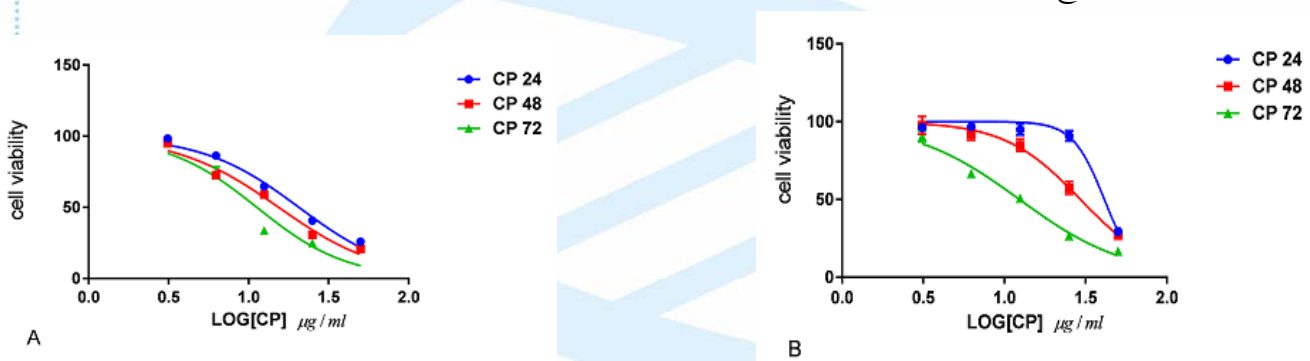


نتایج

پس از تیمار سلولها با سیناروپیکرین ریخت شناسی سلولها با میکروسکوپ مشاهده و ثبت گردید.



شکل ۲. ریخت شناسی سلولهای KYSE30، سمت چپ قبل از تیمار و سمت راست بعد از تیمار با غلظت ۲۵ میکروگرم بر میلی لیتر سیناروپیکرین بعد از ۲۴ ساعت پس از انجام آزمون MTT و تجزیه و تحلیل داده ها با نرم افزار PRISM، IC_{50} سیناروپیکرین بعد از ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت بر روی سلولهای KYSE30، به ترتیب حدود ۱۱، ۱۵ و ۲۰ و برای سلولهای HDF به ترتیب حدود ۱۲، ۲۹ و ۴۱ میکروگرم بر میلی لیتر به دست آمد. نتایج آزمون در شکل ۱ نشان داده شده است.



شکل ۱. نمودار دوز-پاسخ سیناروپیکرین در A: سلولهای KYSE30 و B: سلولهای HDF، CP: Cynaropicrin

بحث

در این مطالعه برای اولین بار اثر ماده سیناروپیکرین بر روی سلولهای سرطانی مری بررسی شد و نتایج نشان دهنده اثر قوی این ماده بر روی این سلولها در مقایسه با سلولهای فیروپلاست طبیعی بود. مطالعات قبلی توسط Ha et al., Ha (2003) Cho et al., 2000) و Bruno et al., 2005) و نیز افراد دیگر در زمینه اثرات ضد سرطانی سیناروپیکرین بر روی رده های سلولی سرطانی انسانی از جمله سرطان پستان، ریه، معده، ملانوما انسانی و غیره انجام شده است. در تمامی موارد سیناروپیکرین اثر شگفت انگیز نشان داده است، بنابراین با توجه به سوابق و نتایج مطالعه حاضر می توان سیناروپیکرین را به عنوان ماده ای که پتانسیل استفاده به عنوان یک داروی ضدسرطان در سطح پیش بالینی را دارد معرفی کرد.



Investigating the anti-cancer effects of sesquiterpene lactone cynaropicrin on KYSE30 human esophageal carcinoma cells

Solmaz nasirzadeh¹, Mehrdad Iranshahi^{2,3}, Ahmad Reza Bahrami^{1,4,5}, Abolfazl Shakeri², Maryam M. Matin^{1,4,5*}

1. Department of Biology, Faculty of Science, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
 2. Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran
 3. Biotechnology Research Center, School of Pharmacy, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran
 4. Cell and Molecular Biotechnology Research Group, Institute of Biotechnology, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
 5. Stem Cell and Regenerative Medicine Research Group, Iranian Academic Center for Education, Culture and Research (ACECR), Khorasan Razavi Branch, Mashhad, Iran
- Email: nasirzadeh@um.ac.ir

Abstract:

Herbal Medicines have been widely considered in recent decades due to the publication of numerous studies and researches on medicinal herbs and their active compounds, which suggests having great properties and different treatment features. Sesquiterpene Lactones are one of the largest active compound groups found in many plants, especially the Asteraceae family, and have shown therapeutic properties in various fields, including anti-cancer properties. Cynaropicrin is a member of this family which has been studied to identify its properties, especially anti-cancer properties, on various cancer cell lines. Considering the prevalence of esophageal cancer and the presence of Iran on the esophageal cancer belt, as well as the lack of a study about the effects of cynaropicrin on this cancer, this study investigated the anticancer effects of cynaropicrin on squamous cell carcinoma (KYSE30) in comparison with healthy human fibroblasts (HDF) cells. The results showed the anticancer effects of cynaropicrin on esophagus cancer cells, compared to HDF cells. With respect to the previous studies on cynaropicrin and results of the present study, it seems that this compound can be considered as an anticancer drug in the pre-clinical studies level.

Keywords: Sesquiterpene Lactone, Cynaropicrin, esophagus cancer, kyse30, anticancer effects

Akao, Y., Tanaka, Y. T., Tanaka, K., Kojima, H., Hamada, T., Masutani, T. & Tsuboi, M. (2013). Cynaropicrin from *Cynara scolymus* L. suppresses photoaging of skin by inhibiting the transcription activity of nuclear factor-kappa B. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 23:518–523.

Bachelier, A., Mayer, R. & Klein, C. D. (2006). Sesquiterpene lactones are potent and irreversible inhibitors of the antibacterial target enzyme MurA. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters* 16(21): 5605-5609.

Bruno, M., Rosselli, S., Maggio, A., Raccuglia, R. A., Bastow, K. F. & Lee, K.-H. (2005). Cytotoxic activity of some natural and synthetic guaianolides. *Journal of Natural Products* 68(7): 1042-1046

Choi, S. Z., Choi, S. U. & Lee, K. R. (2005). Cytotoxic sesquiterpene lactones from *Saussurea calciccola*. *Archives of Pharmacal Research* 28(10): 1142-1146.

Cho, J. Y., Baik, K. U., Jung, J. H. & Park, M. H. (2000). In vitro anti-inflammatory effects of cynaropicrin, a sesquiterpene lactone, from *Saussurea lappa*. *European Journal of Pharmacology* 398(3): 399-407

Ha, T. J., Jang, D. S., Lee, J. R., Lee, K. D., Lee, J., Hwang, S. W., Jung, H. J., Nam, S. H., Park, K. H. & Yang, M. S. (2003). Cytotoxic effects of sesquiterpene lactones from the flowers of *Hemisteptia lyrata* B. *Archives of Pharmacal Research* 26(11): 925-928.

Heinrich, M., Robles, M., West, J.E., Ortiz de Montellano B.R. & Rodriguez, E (1998) Ethnopharmacology of Mexican asteraceae (compositae). *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* ;38(1):539-65.

Lee, K.H., Huang, E.S., Piantados, i. C., Pagano, J.S. & Geissman, T.A (1971) Cytotoxicity of sesquiterpene lactones. *Cancer Research* ;31(11):1649-54.

Sarfatti, G., Heywood, V.H., Harborne, J.B & Turner, B.L (1980) The Biology and chemistry of the Compositae, Vol. 1 and 2

Suchy, M., Herout, V. & Sorm, F. (1960). On terpenes. CXVI. Structure of cynaropicrin. *Collection of Czechoslovak Chemical Communications* 25(11): 2777-2782.

Stoner, G. D. & Gupta A (2001) Etiology and chemoprevention of esophageal squamous cell carcinoma. *Carcinogenesis* 22: 1737-1746.



دومین همایش بین المللی و دهمین همایش ملی
بیوتکنولوژی جمهوری اسلامی ایران

۷-۹ شهریور ماه ۱۳۹۶
کرج، سالن همایش های موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر

Zhang, L., Zhou, Y., Cheng, C., Cui, H., Cheng, L., Kong, P., Wang, J., Li, Y., Chen, W., Song, B. & Wang, F (2015) Genomic analyses reveal mutational signatures and frequently altered genes in esophageal squamous cell carcinoma. *The American Journal of Human Genetics*. 96(4):597-611.

Torre, L.A., Bray, F., Siegel, R.L., Ferlay, J., Lortet-Tieulent, J. & Jemal, A (2015) Global cancer statistics, 2012. *CA: a Cancer Journal for Clinicians* ;65(2):87-108.

Merfort, I (2002) Review of the analytical techniques for sesquiterpenes and sesquiterpene lactones. *Journal of Chromatography* ;967(1):115-30.



**2nd International and 10th National Biotechnology
Congress of Islamic Republic of Iran**

۵

August 29-31, 2017 / Seed and plant Improvement Institute, Karaj, Iran
<http://biotechcongress.ir> / biotechcongress@gmail.com

