دوماهنامه طبّ جنوب
پژوهشکده زیست-پزشکی خلیج فارس
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی بوشهر
سال بیست و پنجم، شماره ۴، صفحه ۲۹۶-۲۸۵ (مهر و آبان ۱۴۰۱)

Iran South Med J 2022; 25(4): 285-296

بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی و سمیت سلولی عصاره اتانولی اسپیرولینا پلاتنسیس

انیس کریمی (MSc)[۱*]، صمد اکبرزاده (PhD)[۲]، علی موحد (PhD)[۲]، هاجر جابری (PhD)[۲**]

[۱] کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی بوشهر، بوشهر، ایران
[۲] گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بوشهر، بوشهر، ایران

(دریافت مقاله: ۱۴۰۱/۲/۳۱- پذیرش مقاله: ۱۴۰۱/۶/۲۸)

چکیده

زمینه: اسپیرولینا پلاتنسیس یک ریزجلبک رشته‌ای و فتوسنتزکننده است که حاوی ۲۵ نوع ویتامین، مواد معدنی و ترکیبات زیست فعال مانند فلاونوئیدها و پلی‌فنل‌ها می‌باشد. هدف از این مطالعه، بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی و سمیت سلولی عصاره اتانولی اسپیرولینا پلاتنسیس است.

مواد و روش‌ها: میزان غلظت ترکیبات پلی‌فنلی، فلانوئیدی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره اتانولی اسپیرولینا، به‌ترتیب با روش فولین سیوکالتو، کلرید آلومینیوم و کاپراک اندازه‌گیری شد. سمیت سلولی عصاره بر سلول‌های سرطان کولورکتال **HCT116** و **SW742** با استفاده از روش **MTT** تعیین گردید. سلول‌ها به مدت ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت با غلظت‌های مختلف عصاره اتانولی اسپیرولینا (۱۰۰۰-۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) تیمار شدند.

یافته‌ها: فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره اتانولی اسپیرولینا پلاتنسیس، ۶/۶۳±۵۳/۷ میلی‌گرم اسید آسکوربیک بر گرم عصاره خشک بوده و دارای سطح بالایی از ترکیبات پلی‌فنلی و فلاونوئید می‌باشد. کاهش زنده مانی وابسته به دوز و زمان در سلول‌های **HCT116** و **SW742** پس از قرار گرفتن در معرض عصاره مشاهده شد. بعد از تیمار ۷۲ ساعته، میزان **IC50** برای رده سلول‌های **HCT116** و **SW742** به‌ترتیب ۰/۳۳±۱۴/۹۷ و ۲۶/۵۲±۱۳/۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر می‌باشد.

نتیجه‌گیری: نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که عصاره اتانولی اسپیرولینا به‌طور چشمگیری باعث کاهش زنده مانی سلول‌های سرطان کولورکتال شد. بنابراین این عصاره می‌تواند کاندیدی جهت تولید مواد ضدسرطان باشد.

واژگان کلیدی: اسپیرولینا پلاتنسیس، سرطان کولورکتال، عصاره اتانولی، آنتی اکسیدانت، سمیت سلولی

** بوشهر، خیابان معلم، گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بوشهر، بوشهر، ایران

E. mail: jaberiehajar@yahoo.com
***ORCID: 0000-0002-8197-8128**
****ORCID: 0000-0002-3251-4212**

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-08]

[DOI: 10.52547/ismj.25.4.285]

مقدمه

سرطان کولورکتال (CRC)[1] سومین سرطان رایج در بین زنان و مردان با شیوع ۱۰/۲ درصد است که سالانه بیش از ۱/۸ میلیون مورد جدید از این بیماری در سرتاسر جهان گزارش می‌شود (۱). مطالعات نشان می‌دهد که تا سال ۲۰۳۰ شیوع CRC به میزان ۹۰ درصد و ۱۲۴/۲درصد به‌ترتیب در مردان و زنان زیر ۵۰ سال افزیش یابد (۲).

مکانیسم عمل داروهای شیمی درمانی برای مبارزه با سلول‌های سرطانی متفاوت است و عمدتاً علاوه بر سلول‌های سرطانی بر سلول‌های سالم در حال تکثیر هم مؤثر هستند. این داروها موجب تهوع، کاهش جذب مواد مغذی، کم خونی، کاهش گلبول‌های سفید خون و پلاکت می‌شوند (۳ و ۴). تاکنون بیش از ۵۰ نوع داروی شیمی درمانی مانند کاربوپلاتین، سیس پلاتین، ۵- فلورواوراسیل و متوتروکسات برای درمان سرطان کولورکتال شناسایی شده است. این داروها به تنهایی یا در ترکیب با سایر روش‌ها مانند رادیوتراپی و جراحی در درمان سرطان مورد استفاده قرار می‌گیرند (۶-۴). مطالعات بسیاری برای توسعه روش‌های نوین درمان سرطان انجام شده است که بسیاری از این فناوری‌های جدید هزینه بسیار بالایی دارند. در سال ۲۰۱۷ در ایالات متحده آمریکا، هزینه سالانه درمان سرطان بیش از ۱۴۷/۳ میلیون دلار برآورد شد که با وجود بهترین و پرهزینه‌ترین روش‌ها، درمان‌های سرطان در بسیاری از بیماران ناموفق است (۷). بنابراین، نیاز به یافتن ترکیبات جایگزین برای کنترل سرطان احساس می‌شود.

امروزه ترکیبات طبیعی که از اکوسیستم دریا استخراج می‌شوند در پژوهش‌های مختلف مورد توجه قرار گرفته است (۸). اکوسیستم دریا بیش از ۸۰ درصد از تنوع زیستی جهان را شامل می‌شود که دارای کاربردهای گسترده‌ای در درمان انواع بیماری‌ها بویژه سرطان است (۷). جلبک‌ها از مهم‌ترین ارگانیسم‌های دریایی هستند که به سبب غنی بودن از ترکیبات زیست فعالی چون پلی‌فنل‌ها و فلاوونوئیدها دارای اثرات مهمی در بهبود وضعیت سلامتی هستند (۹). همچنین متابولیت‌های ثانویه استخراج شده از آن‌ها یک منبع بالقوه برای تولید ترکیبات ضدسرطانی است. به‌طور کلی جلبک‌های دریایی به دو دسته درشت جلبک و ریزجلبک تقسیم‌بندی می‌شوند. ریزجلبک‌ها که در قلمرو گیاهان قرار می‌گیرند به‌طور کلی شامل کلاس‌های جلبک سبز- آبی (Cyanophyceae)، جلبک سبز (Chlorophyceae)، جلبک طلایی (Chrysophyceae) و دیاتوم‌ها (Bacillariophyceae) می‌باشد (۱۰). اسپیرولینا پلاتنسیس گونه‌ای از جلبک‌های سبز- آبی، متعلق به خانواده سیانوباکتریوم است که به دلیل ارزش غذایی و دارویی بالا در جهان شناخته شده است (۱۱ و ۱۲). اسپیرولینا منبعی غنی از پروتئین، ویتامین‌ها، مواد معدنی، اسیدهای چرب غیراشباع، کارتنوئیدها و رنگدانه‌های طبیعی است (۱۳). خاصیت آنتی‌اکسیدانی، ضدسرطانی اسپیرولینا به دلیل وجود ترکیباتی همچون فیکوسیانین، پلی‌فنول‌ها، فلاوونوئیدها، ساپونین و تانین‌ها می‌باشد (۱۴). مطالعات گذشته نشان داده است که عصاره آبی اسپیرولینا فعالیت ضدتوموری سلول‌های کشنده طبیعی را در موش صحرایی تسهیل می‌کند (۱۵). همچنین فیکوسیانین جدا شده از اسپیرولینا با القا آپوپتوز در رده سلول‌های سرطان خون (K-562) موجب مرگ سلول سرطانی می‌شود. در مطالعه لی (Lee) و

[1] Colorectal Cancer

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-08]

[DOI: 10.52547/ismj.25.4.285]

همکاران، نشان داده شده است که عصاره جلبک‌های مختلف پتانسیل استفاده به عنوان داروهای ضد التهابی و ضدسرطانی را دارند (۱۶).

در مطالعه حاضر، میزان غلظت ترکیبات پلی‌فنلی، فلاونوئیدی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره اتانولی جلبک اسپیرولینا پلاتنسیس در محیط برون تنی (in vitro) بررسی گردید. علاوه بر این، فعالیت سمیت سلولی این عصاره بر دو رده سلول‌های سرطان کولورکتال HCT116 و SW742 مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

تهیه جلبک و عصارهٔ اتانولی اسپیرولینا پلاتنسیس

این مطالعه از نوع بنیادی- کاربردی می‌باشد. جلبک اسپیرولینا پلاتنسیس از مرکز زیست فناوری خلیج‌فارس- دانشگاه خلیج‌فارس به صورت پودر لیوفیلیزه تهیه شد. به ۲۰ گرم پودر جلبک اسپیرولینا، ۵۰۰ میلی‌لیتر از اتانول مطلق (Merck -آلمان) اضافه گردید و به مدت ۲۰ دقیقه در حمام سونیکاسیون در دمای اتاق قرار داده شد. در مرحله بعد، به مدت ۴۸ ساعت بر روی شیکر در دمای اتاق خیسانده شد. سپس، محلول مورد نظر سانتریفیوژ گردید (با دور rpm ۴۰۰۰، ۲۵ °C، ۲۰ دقیقه) و محلول رویی به‌وسیله دستگاه تقطیر در خلا چرخان (Rotary evaporator Heidolph- آلمان) در دمای ۳۷ °C تبخیر شد. عصاره غلیظ بدست آمده درون ظرف‌های پهن و شیشه‌ای خشک گردید و تا زمان استفاده در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید.

تعیین غلظت ترکیبات پلی‌فنلی عصاره اتانولی اسپیرولینا پلاتنسیس

میزان غلظت ترکیبات پلی‌فنلی با روش فولین سیوکالتو[2] اندازه‌گیری شد (۱۷). در این روش، معرف فولین سیوکالتو توسط ترکیبات پلی‌فنلی در محیط قلیایی احیا شده و کمپلکس آبی رنگ ایجاد می‌گردد. ۱۰۰ میکرولیتر عصاره با غلظت ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به ۷۵۰ میکرولیتر از محلول فولین سیوکالتو اضافه گردید و ۵ دقیقه در دمای اتاق و تاریکی انکوبه شد. سپس، ۷۵۰ میکرولیتر محلول کربنات سدیم ۲۰ درصد (Merck- آلمان) به آن‌ها اضافه و به آرامی مخلوط گردید. در مرحله بعد، نمونه‌ها به مدت ۹۰ دقیقه در دمای اتاق و تاریکی انکوبه گردید و سپس میزان جذب نمونه‌ها در طول موج ۷۶۰ نانومتر توسط دستگاه الایزا ریدر (Bio Tec- آمریکا) خوانش گردید. منحنی استاندارد اسید گالیگ (Sigma- آلمان) در غلظت‌های ۱۰۰-۱۰ میکروگرم/ میلی‌لیتر تهیه گردید و نتایج به صورت میلی‌گرم اسید گالیک در هر گرم وزن خشک عصاره بیان شد.

تعیین غلظت فلاونوئید در عصاره اتانولی اسپیرولینا پلاتنسیس

میزان غلظت فلاونوئید تام به روش کلرید آلومینیوم اندازه گیری شد (۱۸). در این روش، ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره با غلظت ۱ میلی‌گرم/ میلی‌لیتر و ۵۰۰ میکرولیتر از محلول‌های ۱ مولار کلرید آلومینیوم، اسید کلریدریک و استات سدیم (Merck- آلمان) به نمونه‌ها اضافه گردید. سپس ۱۰ دقیقه در دمای اتاق و در تاریکی انکوبه شدند و جذب نمونه‌ها در طول موج ۴۲۵ نانومتر خوانش گردید. منحنی استاندارد کوئرستین (Sigma- آلمان) در غلظت‌های ۵۰۰-۵۰ میکروگرم/ میلی‌لیتر تهیه شد و نتایج غلظت فلاونوئید به صورت میلی‌گرم کوئرستین در هر گرم وزن خشک عصاره بیان شد.

[2] Folin ciocalteu

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-08]

[DOI: 10.52547/ismj.25.4.285]

تعیین ظرفیت آنتی اکسیدانی عصاره اتانولی اسپیرولینا پلاتنسیس

ظرفیت آنتی اکسیدانی عصاره اتانولی اسپیرولینا به روش CUPRAC اندازه‌گیری شد (۱۹). در این روش، به ۱۰۰ میکرولیتر عصاره با غلظت ۱ میلی‌گرم/ میلی‌لیتر ۵۰۰ میکرولیتر از هر کدام از محلول‌های سولفات مس، آمونیوم استات و نئوکوپرین (Sigma- آلمان) اضافه گردید و به آرامی مخلوط شد. رنگ زرد نشان دهنده وجود آنتی‌اکسیدان‌ها در نمونه است که در طول موج ۴۵۰ نانومتر خوانش گردید. منحنی استاندارد اسید آسکوربیک (Sigma-آلمان) در غلظت‌های ۱۵۰-۱۰ میکروگرم تهیه گردید و نتایج به صورت میلی‌گرم اسید آسکوربیک در هر گرم وزن خشک عصاره بیان شد.

کشت سلول

رده‌های سلولی سرطانی کولورکتال SW742 و HCT116 و رده سلولی فیبروبلاست به‌عنوان سلول نرمال از انستیتو پاستور ایران تهیه گردید. سلول‌ها در محیط کشت کامل حاوی ۹۰ درصد محیط پایه، ۱۰ درصد سرم جنین گاوی (bioidea- ایران) و ۱(w/w) درصد آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین- استرپتومایسین (bioidea-ایران) کشت داده شد و در شرایط دمایی ۳۷ °C، رطوبت ۹۷ درصد و دی‌اکسیدکربن ۵ درصد در انکوباتور نگهداری شدند. برای رده سلولی SW742 و HCT116 از محیط کشت پایه RPMI-1640 (bioidea- ایران) و رده سلولی فیبروبلاست از محیط کشت پایه DMEM (bioidea- ایران) استفاده گردید.

بررسی اثر سمیت عصاره اتانولی اسپیرولینا پلاتنسیس بر زنده مانی سلول‌ها به روش MTT

برای بررسی تأثیر سمیت سلولی عصاره اتانولی جلبک اسپیرولینا بر رده‌های سلولی از روش MTT[3] استفاده شد. MTT رایج‌ترین روش برای بررسی فعالیت متابولیکی سلول به‌عنوان شاخص میزان تکثیر و سمیت سلولی است که در سال ۱۹۸۳ توسط موسمان (Mossman) معرفی گردید (۲۰). این روش براساس توانایی سلول زنده در تبدیل نمک تترازولیوم محلول به فورمازان نامحلول است (۲۱). سلول‌های سرطانی (SW742 و HCT116) به مدت ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت و سلول سالم فیبروبلاست پوست به مدت ۷۲ ساعت در معرض غلظت‌های مختلف عصاره اتانولی اسپیرولینا قرار گرفتند. در مرحله بعد، محیط کشت روی سلول‌ها خارج شد و سلول‌ها با ۱۰۰ میکرولیتر از محلول MTT (Sigma-آلمان) با غلظت ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به مدت ۴ ساعت در ۳۷c° انکوبه شدند. بلورهای فورمازان ایجاد شده با اضافه کردن ۲۰۰ میکرولیتر محلول DMSO به هر چاهک حل شدند (۲۲). جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۷۰ و ۶۳۰ نانومتر خوانش شد. در این روش، نتایج به صورت IC50[4]، یعنی غلظتی از ترکیب یا مولکول مورد استفاده که موجب ۵۰ درصد زنده ماندن سلول است، گزارش می‌شود.

شاخص انتخابی

شاخص انتخابی (SI)[5] نشان دهنده میزان سمیت انتخابی عصاره در برابر سلول سرطانی و سلول سالم

[3] 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-Diphenyltetrazoliumbromid)
[4] 50 % Inhibition concentration
[5] Selectivity Index

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-08]
[DOI: 10.52547/ismj.25.4.285]

است. اگر عدد SI بالاتر از ۲ باشد نشان دهندهٔ ایمن بودن عصاره برای سلول سالم است (۲۳). در این مطالعه، مطابق معادله زیر، میزان SI برای IC50 بدست آمده از انکوباسیون ۷۲ ساعت محاسبه گردید.

شاخص انتخابی (SI):

$$\frac{IC50 \text{ سلول سالم}}{IC50 \text{ سلول سرطانی}}$$

تجزیه و تحلیل آماری

برای تعیین IC50 و رسم منحنی از نرم‌افزار Graphpad Prism با ویرایش ۸ استفاده گردید. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SPSS ویرایش ۲۴ استفاده شد. در ابتدا وضعیت توزیع نرمال داده‌ها به‌وسیله آزمون Kolmogorov–Smirnov بررسی گردید. سپس برای مقایسه بین گروه‌ها از آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و به دنبال آن پس آزمون توکی استفاده شد. نتایج به صورت میانگین ± خطا استاندارد بیان شد $p<۰/۰۵$ به‌عنوان سطح معنی‌داری آماری در نظر گرفته شد. تمامی آزمایش‌های انجام شده با سه بار تکرار بر اساس موازین اخلاقی تأیید شده توسط کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی بوشهر با کد ۱۳۹۸. ۰۷۲. IR.BPUMS.REC انجام گردید.

یافته‌ها

نتایج غلظت پلی‌فنل، فلاونوئید و ظرفیت آنتی‌اکسیدان عصاره اتانولی اسپیرولینا پلاتنسیس

میزان غلظت ترکیبات پلی‌فنلی تام عصاره اتانولی اسپیرولینا، ۳۴۰/۶۲±۲۰/۳۳ میلی‌گرم اسیدگالیگ بر گرم عصاره خشک به‌دست آمد. غلظت فلاونوئید تام عصاره، ۲۷۴/۳۲±۱۳/۸۳ میلی‌گرم کوئرستین بر گرم عصاره خشک محاسبه گردید. میزان ظرفیت آنتی‌آکسیدانی عصاره اتانولی، ۵۳/۷±۶/۶۳ میلی‌گرم اسید آسکوربیک بر گرم عصاره خشک بدست آمد.

نتایج اثر عصاره اتانولی اسپیرولینا پلاتنسیس بر سمیت سلولی

اثرات سمیت سلولی عصاره اتانولی اسپیرولینا با استفاده از محاسبه IC50 بر رده‌های سلولی HCT116، SW742 و فیبروبلاست (رده سلولی سالم) در جدول ۱ مشخص شده است. این نتایج نشان می‌دهد که در دو رده سلول سرطانی با افزایش زمان انکوباسیون، میزان IC50 کاهش یافته و در نتیجه خاصیت ضد سرطانی و یا سمیت سلولی عصاره افزایش یافته است.

جدول ۱) مقادیر غلظت IC50 عصاره اتانولی جلبک اسپیرولینا بر رده‌های سلولی سرطان HCT116، SW742 و فیبروبلاست با انکوباسیون ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت

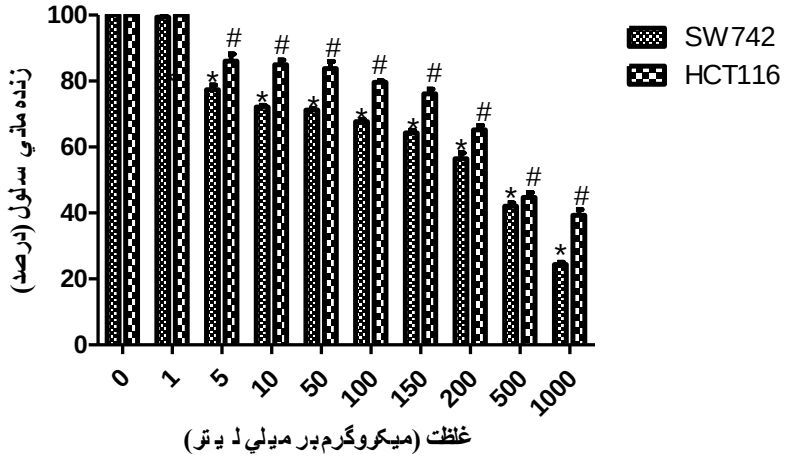
عصاره اتانول مطلق اسپیرولینا	IC_{50} (میکروگرم بر میلی‌لیتر)		
زمان انکوباسیون	HCT116	SW742	فیبروبلاست
۲۴ ساعت	۳۸۵/۹۹±۱۳/۶۶	۳۳۲/۴۱±۱۱/۶۴	–
۴۸ ساعت	۱۴۸/۱۵±۰/۲۳	۱۶۳/۱۳±۰/۴۳	–
۷۲ ساعت	۱۴/۹۷±۰/۳۳	۱۳/۲۶±۰/۵۲	۲۰/۴۹±۱/۷۴

همانطور که در نمودار ۱ مشخص شده است در زمان انکوباسیون ۲۴ ساعت، عصاره اتانولی اسپیرولینا موجب کاهش معنی‌دار درصد زنده مانی سلول‌های HCT116 و SW742 در غلظت‌های ۵، ۱۰، ۵۰،

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-08]

[DOI: 10.52547/ismj.25.4.285]

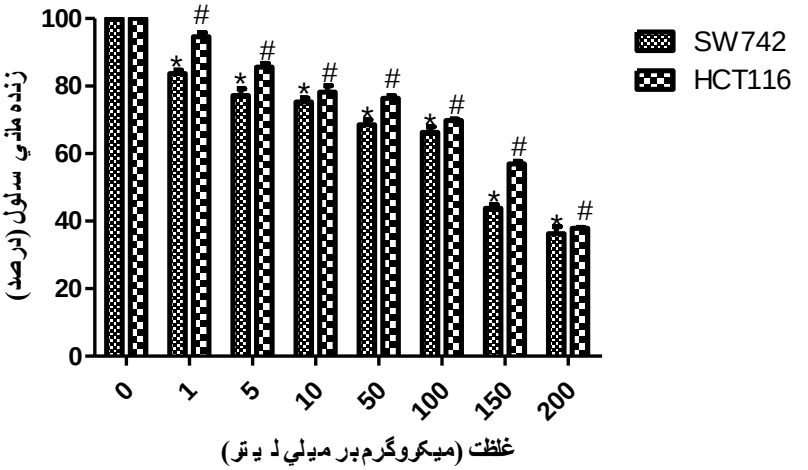
۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر نسبت به سلول‌های کنترل شده است (p<۰/۰۰۱). اگرچه در غلظت ۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر تفاوت معنی‌داری با سلول‌های کنترل ندارد (p=۰/۹۹۹).



نمودار ۱) تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره اتانولی اسپیرولینا در زمان انکوباسون ۲۴ ساعت بر درصد زنده مانی رده سلول‌های سرطانی کولورکتال HCT116 و SW742. *(p<۰/۰۵) در مقابل سلول‌های SW742 تیمار نشده. (#) معنی‌داری (p<۰/۰۵) در مقابل سلول‌های HCT116 تیمار نشده.

Fig 1) The effect of different concentrations of spirulina ethanolic extract during 24 hours incubation on the percentage of survival of HCT116 and SW742 colorectal cancer cells. *p<0.05 vs. the untreated SW742 cells and #p<0.05 vs. the untreated HCT116 cells.

در نمودار ۲ نشان داده شده است، عصاره اتانولی اسپیرولینا در زمان انکوباسیون ۴۸ ساعت موجب کاهش معنی‌دار درصد زنده مانی سلول‌های HCT116 و SW742 در غلظت‌های ۱، ۵، ۱۰، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر نسبت به سلول‌های کنترل شده است (p<۰/۰۰۱).



نمودار ۲) تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره اتانولی اسپیرولینا در زمان انکوباسون ۴۸ ساعت بر درصد زنده مانی رده سلول‌های سرطانی کولورکتال HCT116 و SW742. *(p<۰/۰۵) در مقابل سلول‌های SW742 تیمار نشده. (#) معنی‌داری (p<۰/۰۵) در مقابل سلول‌های HCT116 تیمار نشده.

Fig 2) The effect of different concentrations of spirulina ethanolic extract during 48 hours incubation on the percentage of survival of HCT116 and SW742 colorectal cancer cells. *p<0.05 vs. the untreated SW742 cells and #p<0.05 vs. the untreated HCT116 cells.

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-08]

[DOI: 10.52547/ismj.25.4.285]

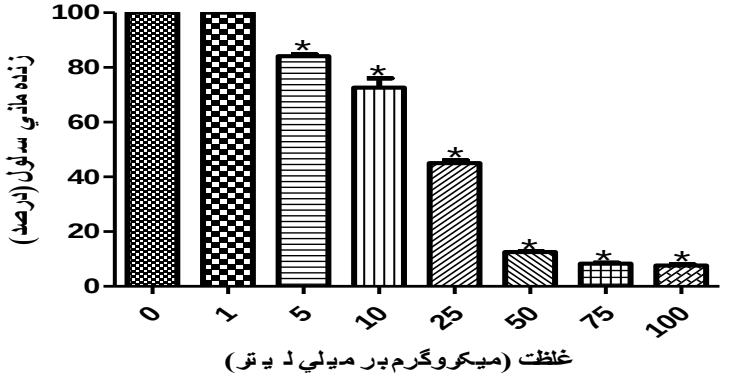
همچنین نمودار ۳ نشان می‌دهد که درصد زنده مانی سلول‌های سرطانی بعد از ۷۲ ساعت تیمار با غلظت‌های مختلف عصاره (۱، ۵، ۱۰، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰میکروگرم بر میلی‌لیتر) نسبت به سلول‌های کنترل کاهش معنی‌دار یافته است (p<۰/۰۰۱).



نمودار ۳) تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره اتانولی اسپیرولینا در زمان انکوباسون ۷۲ ساعت بر درصد زنده مانی رده سلول‌های سرطانی کولورکتال HCT116 و SW742. *(p<۰/۰۵) در مقابل سلول‌های SW742 تیمار نشده. (#) معنی‌داری (p<۰/۰۵) در مقابل سلول‌های HCT116 تیمار نشده.

Fig 3) The effect of different concentrations of spirulina ethanolic extract during 72 hours incubation on the percentage of survival of HCT116 and SW742 colorectal cancer cells. *p<0.05 vs. the untreated SW742 cells and #p<0.05 vs. the untreated HCT116 cells.

علاوه بر این، نمودار ۴ نشان می‌دهد که درصد زنده مانی سلول‌های فیبروبلاست بعد از ۷۲ ساعت تیمار با غلظت‌های مختلف عصاره (۵، ۱۰، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) نسبت به سلول‌های کنترل به‌طور معنی‌داری کاهش یافته است (p<۰/۰۰۱). اگرچه در غلظت ۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر تفاوت معنی‌دار با سلول‌های تیمار نشده مشاهده نگردید (p=۱).



نمودار ۴) تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره اتانولی اسپیرولینا در زمان انکوباسیون ۷۲ ساعت بر درصد زنده مانی رده سلولی سالم فیبروبلاست. *(p<۰/۰۵) در مقابل سلول‌های فیبروبلاست تیمار نشده.

Fig 4) The effect of different concentrations of spirulina ethanolic extract during 72 hours incubation on the percentage of survival of normal fibroblast cells. *p<0.05 vs. the untreated fibroblast cells.

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-08]

[DOI: 10.52547/ismj.25.4.285]

بحث

مطالعات نشان می‌دهد که مخلوطی از ترکیبات زیست فعال در یک عصاره، دارای اثرات افزاینده در فعالیت‌های ضدسرطانی در مقایسه با ترکیبات خالص هستند (۲۴). بنابراین در مطالعه حاضر، سلول‌های HCT116 و SW742 با غلظت‌های مختلف عصاره اتانولی اسپیرولینا در مدت زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت تیمار شدند. دو رده سلول سرطان کولورکتال SW742 و HCT116 هر دو از نظر ریخت‌شناسی شبیه سلول‌های اپیتلیال هستند. سلول‌های SW742 جز دوک B سرطان روده بزرگ هستند که غیرمتاستاتیک است اما HCT116 جز دوک D سرطان و متاستاتیک می‌باشد (۲۵ و ۲۶). نتایج حاصل از جدول ۱ و نمودارهای ۳-۱ نشان داده است که درصد زنده مانی سلول‌ها وابسته به غلظت عصاره و زمان در هر دو رده سلول‌های سرطانی HCT116 و SW742 کاهش می‌یابد. علاوه بر این، نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که عصاره اتانولی اسپیرولینا می‌تواند به علت داشتن ترکیبات پلی‌فنل و فلاونوئیدها دارای خاصیت آنتی‌اکسیدان باشد. در مطالعات گذشته مشخص شده است که مواد غذایی حاوی پلی‌فنل‌ها و بویژه فلاونوئیدها با ایجاد رادیکال‌های آزاد اکسیژن‌دار (ROS) در سلول‌های سرطانی موجب آپوپتوز و در نهایت مرگ سلولی می‌شوند (۲۷ و ۲۸). بنابراین ممکن است عصاره اتانولی اسپیرولینا پلاتنسیس به علت داشتن ترکیبات پلی‌فنلی و فلاونوئیدی و در نهایت تشکیل رادیکال‌های آزاد اکسیژن‌دار منجر به مرگ سلول‌های سرطانی شده است.

در طی دهه‌های اخیر، مطالعات نشان می‌دهد که عواملی مانند فاکتورهای ژنتیکی، سبک زندگی و تغذیه نقش مهمی در ایجاد سرطان دارند. به همین سبب در کشورهایی که از سبک زندگی غربی پیروی می‌کنند در حدود یک چهارم مرگ و میرها به دلیل سرطان رخ می‌دهد (۲۹). بررسی‌های متعدد نشان داده‌اند که استفاده از گیاهان بدلیل غنی بودن از آنتی‌اکسیدان‌ها، فیکوبیلی پروتئین‌ها و کاروتنوئیدها دارای اثرات بالقوه در درمان و پیشگیری از سرطان است (۳۲-۳۰). همچنین نتایج مطالعات مشخص کرده است که شیوع سرطان در جمعیت‌های آسیای شرقی نسبت به جمعیت‌های غربی کمتر است که این امر ممکن است به دلیل تأثیر رژیم غذایی به ویژه جلبک‌ها باشد (۳۳). امروزه یافتن ترکیبات ضدسرطانی با منشأ طبیعی بدلیل عملکرد انتخابی بر سلول‌های توموری و اثرات سمی کمتر بر سلول‌های سالم بسیار مورد توجه قرار گرفته است (۳۴ و ۳۵).

در طی مطالعات گذشته، اثر عصاره‌های مختلف اسپیرولینا بر سلول‌های سرطانی بررسی شده است که مشابه مطالعه ما، اثرات ضد سرطانی آن مشخص شده است. اگرچه تاکنون اثر عصاره اتانولی اسپیرولینا بر سلول‌های سرطان کولورکتال بررسی نشده است.

سزرونکا (Czerwonka) و همکاران متوجه شدند که عصاره آبی اسپیرولینا پلاتنسیس با القا آپوپتوز مانع تکثیر رده سلول سرطان ریه (A549) می‌شود (۳۶). همچنین، سمیسزک (Smieszek) و همکاران، نشان داده‌اند که عصاره فیلتر شده آبی اسپیرولینا موجب مرگ رده سلول‌های سرطان کولورکتال (Caco2) می‌شود که این اثر سمیت سلولی عصاره به علت افزایش رادیکال‌های آزاد اکسیژن‌دار (ROS) و نیتریک اکساید است (۳۷). علاوه بر این، مطالعه فلورس فلورس (Flores) و همکاران، مشخص کرده است که عصاره آبی، اتانولی و اتانولی ۷۰ درصد اسپیرولینا پلاتینسیس وابسته به غلظت و زمان موجب کاهش

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-08]

[DOI: 10.52547/ismj.25.4.285]

زنده مانی سلول‌ها سرطان خون (Kasumi-1 و K-562) می‌شود (۳۸).

یکی از ویژگی‌های مهمی که در مطالعات جدید برای کشف و شناسایی داروهای جدید در درمان سرطان در نظر گرفته می‌شود، اختصاصی بودن آن‌هاست تا بدیین ترتیب از عوارض ناشی از این داروها بر سلول‌های سالم جلوگیری شود. بنابراین در این مطالعه، میزان اختصاصیت (SI) عصاره اتانولی اسپیرولینا بر اساس IC50 به‌دست آمده از انکوباسیون ۷۲ ساعته برای هر سلول سرطانی نسبت به سلول سالم فیبروبلاست محاسبه گردید. میزان SI عصاره اتانولی اسپیرولینا برای رده SW742، ۱/۵۴ و برای رده سلول HCT116، ۱/۳۷ به‌دست آمد. SI مطلوب باید بالاتر از ۲ باشد و این نتایج نشان می‌دهد که عصاره اتانولی اسپیرولینا دارای اختصاصیت کمی صرفاً برای سلول‌های سرطانی می‌باشد.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که عصاره اتانولی اسپیرولینا پلاتنسیس به علت داشتن ترکیبات فنلی و فلاونوئیدها دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشد. همچنین این عصاره موجب مهار رشد و تکثیر سلول‌های سرطان کولورکتال می‌شود. بنابراین ترکیبات موجود در عصاره اتانولی اسپیرولینا پلاتنسیس می‌توانند پتانسیل استفاده در درمان سرطان را داشته باشند.

پیشنهادات پژوهشی

در مطالعات آینده پیشنهاد می‌شود که ترکیبات موجود در عصاره اتانولی اسپیرولینا شناسایی گردد. همچنین اثر عصاره اتانولی و ترکیبات مؤثر اسپیرولینا در مدل‌های سرطان در حیوانات بررسی گردد.

این مطالعه با بودجه معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی بوشهر پشتیبانی شد.

سپاس و قدردانی

نویسندگان مراتب قدردانی صمیمانه خود را از تمام افرادی که ما در انجام این مطالعه یاری کرده‌اند اعلام می‌دارند.

تضاد منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان مقاله بیان نشده است.

References:

1.Samad MA, Saiman MZ, Abdul Majid N, et al. Berberine Inhibits Telomerase Activity and Induces Cell Cycle Arrest and Telomere Erosion in Colorectal Cancer Cell Line, HCT 116. Molecules 2021; 26(2): 376. doi: 10.3390/molecules26020376

2.Segev L, Kalady MF, Plesec T, et al. The location of premalignant colorectal polyps under age 50: a further rationale for screening sigmoidoscopy. Int J Colorectal Dis 2020; 35(3): 529-35. doi: 10.1007/s00384-020-03504-2

3.Gill S, Loprinzi CL, Sargent DJ, et al. Pooled analysis of fluorouracil-based adjuvant therapy for stage II and III colon cancer: who benefits and by how much? J Clin Oncol 2004; 22(10): 1797-806. doi: 10.1200/JCO.2004.09.059

4.Potemin S, Kübler J, Uvarov I, et al. Intraoperative radiotherapy as an immediate adjuvant treatment of rectal cancer due to limited access to external-beam radiotherapy. Radiat Oncol 2020; 15(1): 11. doi: 10.1186/s13014-020-1458-y

5.Adeyemo D, Imtiaz F, Toffa S, et al. Antioxidants enhance the susceptibility of colon carcinoma cells to 5-fluorouracil by augmenting the induction of the bax protein. Cancer Lett 2001; 164(1): 77-84. doi: 10.1016/s0304-3835(00)00720-5

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-08]

[DOI: 10.52547/ismj.25.4.285]

6.Liao H-F, Chen Y-J, Yang Y-C. A novel polysaccharide of black soybean promotes myelopoiesis and reconstitutes bone marrow after 5-flurouracil-and irradiation-induced myelosuppression. Life Sci 2005; 77(4): 400-13. doi: 10.1016/j.lfs.2004.10.080
7.Dayanidhi DL, Thomas BC, Osterberg JS, et al. Exploring the diversity of the marine environment for new anti-cancer compounds. Front Mar Sci 2021; 7: 614766. doi:10.3389/fmars.2020.614766
8.Taheri A, Ghaffari M, Houshmandi S, et al. Investigation of the anticancer and antioxidant activity of the brown algae (Cystoseira indica) extract against the colorectal cancer cells. Feyz 2017; 21(4): 317-25. (Persian) URL: http://feyz.kaums.ac.ir/article-1-2904-en.html
9.Kusaykin M, Bakunina I, Sova V, et al. Structure, biological activity, and enzymatic transformation of fucoidans from the brown seaweeds. Biotechnol J 2008; 3(7): 904-15. doi: 10.1002/biot.200700054
10.Chacón-Lee TL, González-Mariño GE. Microalgae for "healthy" foods—possibilities and challenges. Compr Rev Food Sci Food Saf 2010; 9(6): 655-75. doi: 10.1111/j.1541-4337.2010.00132.x
11.Capelli B, Cysewski GR. Potential health benefits of spirulina microalgae. Nutrafoods 2010; 9(2): 19-26. doi:10.1007/BF03223332
12.Ciferri O. Spirulina, the edible microorganism. Microbiol Rev 1983; 47(4): 551–78. doi: 10.1128/mr.47.4.551-578.1983
13.De Oliveira MACL, Monteiro MPC, Robbs PG, et al. Growth and chemical composition of Spirulina maxima and Spirulina platensis biomass at different temperatures. Aquac Int 1999; 7(4): 261-75. doi:10.1023/A:1009233230706
14.el baky HA, El-Baz FK, El baroty G. Production of phenolic compounds from Spirulina maxima microalgae and its protective effects in vitro toward hepatotoxicity model. Afr J Pharm Pharmacol 2009; 3(4): 133-9. https://www.researchgate.net/publication/228677252_Production_of_phenolic_compounds_from_Spirulina_maxima_microalgae_and_its_protective_effects_in_vitro_toward_hepatotoxicity_model
15.Akao Y, Ebihara T, Masuda H, et al. Enhancement of antitumor natural killer cell activation by orally administered Spirulina extract in mice. Cancer Sci 2009; 100(8): 1494-501. doi: 10.1111/j.1349-7006.2009.01188.x
16.Lee JC, Hou MF, Huang HW, et al. Marine algal natural products with anti-oxidative, anti-inflammatory, and anti-cancer properties. Cancer Cell Int 2013; 13(1): 55. doi: 10.1186/1475-2867-13-55
17.Berker KI, Ozdemir Olgun FA, Ozyurt D, et al. Modified Folin–Ciocalteu antioxidant capacity assay for measuring lipophilic antioxidants. J Agric Food Chem 2013; 61(20): 4783-91. doi: 10.1021/jf400249k
18.Pękal A, Pyrzynska K. Evaluation of aluminium complexation reaction for flavonoid content assay. Food Anal Methods 2014; 7(9): 1776-82. doi:10.1007/s12161-014-9814-x
19.Özyürek M, Güçlü K, Tütem E, et al. A comprehensive review of CUPRAC methodology. Anal Methods 2011; 3(11): 2439-53. doi:10.1039/C1AY05320E
20.Kannaki TR, Priyanka E, Reddy MR. Co-administration of toll-like receptor (TLR)-3 and 4 ligands augments immune response to Newcastle disease virus (NDV) vaccine in chicken. Vet Res Commun 2019; 43(4): 225-30. doi: 10.1007/s11259-019-09763-x
21.Bahuguna A, Khan I, Bajpai VK, et al. MTT assay to evaluate the cytotoxic potential of a drug. Bangladesh J Pharmacol 2017; 12(2): 115-8. doi:10.3329/BJP.V12I2.30892
22.Eftekhar E, Naghibalhossaini F. Carcinoembryonic antigen expression level as a predictive factor for response to 5-fluorouracil in colorectal cancer. Mol Biol Rep 2014; 41(1): 459-66. doi: 10.1007/s11033-013-2880-0
23.Ogbole OO, Segun PA, Adeniji AJ. In vitro cytotoxic activity of medicinal plants from Nigeria ethnomedicine on Rhabdomyosarcoma cancer cell line and HPLC analysis of active extracts. BMC complementary Altern Med 2017; 17(1): 494. doi: 10.1186/s12906-017-2005-8
24.Liu RH. Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: mechanism of action. J Nutr 2004; 134(12): 3479S-85S. doi: 10.1093/jn/134.12.3479S
25.Leibovitz A, Stinson JC, McCombs WB, et al. Classification of human colorectal adenocarcinoma cell lines. Cancer Res 1976; 36(12): 4562-9. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1000501/

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-08]

[DOI: 10.52547/ismj.25.4.285]

26.Ahmed D, Eide PW, Eilertsen IA, et al. Epigenetic and genetic features of 24 colon cancer cell lines. Oncogenesis 2013; 2(9): e71. doi: 10.1038/oncsis.2013.35
27.Afrin S, Forbes-Hernandez TY, Gasparrini M, et al. Strawberry-tree honey induces growth inhibition of human colon cancer cells and increases ROS generation: A comparison with Manuka honey. Int J Mol Sci 2017; 18(3): 613. doi: 10.3390/ijms18030613
28.Gasparrini M, Afrin S, Forbes-Hernández TY, et al. Protective effects of Manuka honey on LPS-treated RAW 264/7 macrophages. Part 2: Control of oxidative stress induced damage, increase of antioxidant enzyme activities and attenuation of inflammation. Food Chem Toxicol 2018; 120: 578-87. doi: 10.1016/j.fct.2018.08.001
29.Pourhoseingholi MA, Fazeli Z, Fazeli-Bavandpour FS, et al. Study of mortality trends of colorectal cancer in Iran between 1995 and 2004. Med Sci J Islamic Azad Univ-Tehran Med Branch 2014; 23(4): 16-20. (Persian) URL: http://tmuj.iautmu.ac.ir/article-1-748-en.html
30.Yi J, Li S, Wang C, et al. Potential applications of polyphenols on main ncRNAs regulations as novel therapeutic strategy for cancer. Biomed Pharmacother 2019; 113: 108703. doi:10.1016/j.biopha.2019.108703
31.Ramakrishnan R. Anticancer properties of blue green algae Spirulina platensis–A review. Int J Med Pharm Sci 2013; 3: 159-68. https://www.semanticscholar.org/paper/ANTICANCER-PROPERTIES-OF-BLUE-GREEN-ALGAE-SPIRULINA-Ramakrishnan/98d158e394df726d05fc814ce8d4cdd88b03f4a2
32. Mansourabadi AH, Hematti M, Moradi A, et al. Evaluation of Curcumin and Quercetin Toxicity Effects on 4T1 Murine Breast Cancer Cell Line by MTT Method. Iran South Med J 2017; 20(1): 1-8. (persian) doi: 10.18869/acadpub.ismj.20.1.1
33.Shafaghi M, Salehzadeh A, Moshfegh A. Anticancer effects of Laurencia caspica extract on breast cancer T47D cell line. Aquatics Physiol Biotechnol 2016; 4(1): 69-83. (Persian) https://japb.guilan.ac.ir/article_1894_e2615e26a9d253fba4806e1f5e0b7aa3.pdf?lang=en
34.Dyshlovoy SA, Honecker F. Marine compounds and cancer: where do we stand? Mar Drugs 2015; 13(9): 5657-65. doi:10.3390/md13095657
35.Gamal-Eldeen AM, Ahmed EF, Abo-Zeid MA. In vitro cancer chemopreventive properties of polysaccharide extract from the brown alga, Sargassum latifolium. Food Chem Toxicol 2009; 47(6): 1378-84. doi: 10.1016/j.fct.2009.03.016
36.Czerwonka A, Kaławaj K, Sławińska-Brych A, et al. Anticancer effect of the water extract of a commercial Spirulina (Arthrospira platensis) product on the human lung cancer A549 cell line. Biomed Pharmacother 2018; 106: 292-302. doi: 10.1016/j.biopha.2018.06.116
37.Śmieszek A, Giezek E, Chrapiec M, et al. The influence of Spirulina platensis filtrates on caco-2 proliferative activity and expression of apoptosis-related microRNAs and mRNA. Mar Drugs 2017; 15(3): 65. doi: 10.3390/md15030065
38.Hernandez FYF, Khandual S, López IGR. Cytotoxic effect of Spirulina platensis extracts on human acute leukemia Kasumi-1 and chronic myelogenous leukemia K-562 cell lines. Asian Pac J Trop Biomed 2017; 7(1): 14-9. doi:10.1016/j.apjtb.2016.10.011

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-08]

[DOI: 10.52547/ismj.25.4.285]

Iran South Med J 2022; 25(4): 285-296

Original Article

Evaluation of Antioxidant and Cytotoxic Activity of Spirulina Platensis Ethanolic Extract

***A.karimi** (MSc)[1*], **S. Akbarzadeh** (PhD)[2], **A. Movahed** (PhD)[2], **H. Jaberie** (PhD)[2**]*

[1] *Student Research Committee, Bushehr University of Medical Sciences, Bushehr, Iran*
[2] *Department of Biochemistry, School of Medicine, Bushehr University of Medical Sciences, Bushehr, Iran*

(Received 21 May, 2022 Accepted 19 Sep, 2022)

Abstract

Background: Spirulina platensis (*S. platensis*) is a filamentous and photosynthetic microalgae that contains 25 kinds of vitamins and minerals and bioactive compounds such as flavonoids and polyphenols. The aim of this study was to evaluate the antioxidant and cytotoxic activities of ethanolic extract of *S. platensis*.

Materials and Methods: The polyphenolic content, flavonoid content and antioxidant activity of the ethanolic extract of *S. platensis* was evaluated by Folin-Ciocâlteu reagent, chloride aluminum method, and CUPRAC, respectively. The cytotoxicity of extract on HCT116 and SW742 colorectal cancer cells was determined using an MTT assay after 24, 48 and 72 h treatment with various concentrations of *S. platensis* extract (0-1000 µg/ml).

Results: The ethanolic extract of *S. platensis* showed an antioxidant activity of 53/7±6/63 mg of Ascorbic acid/g dried sample and was characterized with a high level of polyphenolic and flavonoid content. A dose and time dependent decrease in the viability of HCT116 and SW742 cells was detected following exposure to the extract. After 72 h treatment, IC50 value of HCT116 and SW742 cell lines was obtained as 14/79±0/33 µg/ml and 13/26±1/52 µg/ml, respectively.

Conclusion: The results of the present study showed that the ethanolic extract of *S. platensis* decreases colorectal cancer cell viability significantly. Therefore, this extract can be a candidate for producing anticancer agents.

Keywords: Spirulina Platensis, Colorectal Cancer, Ethanolic Extract, Antioxidant, Cytotoxicity

©Iran South Med J.All right sreserved

Cite this article as: karimi A, Akbarzadeh S, Movahed A, Jaberie H. Evaluation of Antioxidant and Cytotoxic Activity of Spirulina Platensis Ethanolic Extract. Iran South Med J 2022; 25(4): 285-296

[**]*Address for correspondence:* Department of Biochemistry, School of Medicine, Bushehr University of Medical Sciences, Bushehr, Iran. E. mail: jaberiehajar@yahoo.com
*ORCID: 0000-0002-8197-8128
**ORCID: 0000-0002-3251-4212

Website: http://bpums.ac.ir
Journal Address: http://ismj.bpums.ac.ir

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-08]

[DOI: 10.52547/ismj.25.4.285]