مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد
دوره بیست و هشتم، شماره دو، اردیبهشت ۱۳۹۹
تاریخ دریافت:۱۳۹۸/۶/۰۲
تاریخ پذیرش:۱۳۹۸/۱۰/۱۴

بررسی اثرات آنتی‌اکسیدانی و سایتوتوکسیک لیپوزوم های حاوی عصاره میوه آناناس بر سرطان ملانومای پوست (رده سلولی A375)

راضیه غلامیان[۱]، نرگس نیکونهاد لطف‌آبادی*[۲]، بی‌بی فاطمه حقیرالسادات[۳]

مقاله پژوهشی

مقدمه: استفاده از نانو حامل‌های حاوی ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و سایتوتوکسیک گیاهی می‌تواند جایگاه ویژه‌ای در درمان ملانوما داشته باشد. هدف این مطالعه بررسی اثرات آنتی‌اکسیدانی و سایتوتوکسیک لیپوزوم‌های حاوی عصاره میوه آناناس بر سرطان پوست می‌باشد.

روش بررسی: در مطالعه تجربی حاضر، وزیکول‌های لیپوزومی با استفاده از کلسترول، فسفاتیدیل کولین سویا و پلی اتیلن گلیکول تهیه شده و عصاره میوه آناناس درون لیپوزوم‌ها بارگذاری شد. بررسی شاخصه‌های فیزیکوشیمیایی با استفاده از دستگاه‌های زتاسایزر، FTIR و AFM انجام شد. در پایان میزان سمیت غلظت‌های مختلف عصاره و لیپوزوم حاوی عصاره بر سلول‌های A-375 ملانوما با استفاده از آزمون MTT سنجیده شد، جهت بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره و لیپوزوم حاوی عصاره از تست DPPH استفاده شد. آنالیزهای آماری با استفاده از نرم افزارهای Excel و نرم افزار SPSS version 22 انجام شده و از تست‌های آماری Duncan و Student's T-test برای نتیجه گیری آماری استفاده گردید.

نتایج: بر طبق این پژوهش لیپوزوم حاوی عصاره آناناس دارای راندمان انکپسولاسیون ۴۰٪، اندازه ۸۹/۹ nm و شارژ سطحی ۸/۸mV- هست. آنالیز FTIR و AFM نیز عدم برهمکنش عصاره با سامانه مربوطه و مورفولوژی کروی سامانه و پراکندگی و توزیع مناسب آن را تایید می‌کند. میزان سمیت عصاره آناناس در شرایط کپسوله نسبت به شرایط کپسوله نشده بر رده سلولی A-375 بیشتر است.

نتیجه‌گیری: عصاره میوه آناناس بر روی رده سلولیA-375 ملانوما خاصیت سایتوتوکسیک دارد و نانوحامل لیپوزومی حاضر می‌تواند حامل مناسبی جهت رسانش عصاره و مانع رشد و تکثیر این سلول‌ها باشد.

واژه‌های کلیدی: آنتی‌اکسیدان، لیپوزوم، آناناس، ملانوما، سایتوتوکسیک

ارجاع: غلامیان راضیه، نیکونهاد لطف‌آبادی نرگس، حقیرالسادات بی‌بی فاطمه. **بررسی اثرات آنتی‌اکسیدانی و سایتوتوکسیک لیپوزوم‌های حاوی عصاره میوه آناناس بر سرطان ملانومای پوست (رده سلولی A375)**. مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد ۱۳۹۹؛ ۲۸ (۲): ۲۴-۲۴۱۱.

۱- کارشناسی ارشد ژنتیک، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه علم و هنر، یزد، ایران.
۲- استادیار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه علم و هنر، یزد، ایران.
۳- استادیار، گروه علوم و فن‌آوریهای نوین، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران.
*(نویسنده مسئول)؛ تلفن: ۰۳۵-۳۸۲۶۴۰۸۵، پست الکترونیکی: nikounahad_1976@yahoo.com، صندوق پستی : ۸۹۱۶۷۱۳۳۳۵

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-20]

[DOI: 10.18502/ssu.v28i2.3480]

مقدمه

ملانوما (گونه‌ای از سرطان بوده) که قدرت تهاجم بالا و متاستاز سریع به سایر اندام‌ها را دارد (۱). دوره بقای افراد مبتلا به ملانومای متاستازی حدود ۶ الی ۱۰ماه است و کمتر از ۱۰٪ آن‌ها می‌توانند تا ۵ سال زنده بمانند (۲). عوامل متعددی در سرطانی شدن ملانوسیت ها و ایجاد ملانوما دخیل هستند. بیش از ۶۵٪ ملانوما وابسته به نورآفتاب است و این عامل مهم‌ترین عامل در ایجاد ملانوما می‌باشد، عوامل دیگر مانند پوست روشن، موی بور یا قرمز، خال‌های بزرگ مادرزادی، سرکوب سیستم ایمنی، چند شکلی‌های ژنی، مصرف الکل، کک و مک‌های متعدد، فاکتورهای ژنتیکی و پیشینه خانوادگی نیز در ایجاد این بیماری دخیل هستند (۳). فاکتورهای زیادی وجود دارد که پوست در معرض آن‌ها قرار می‌گیرد از جمله دود، میکروارگانیسم‌ها و یا اشعه ماوراء بنفش که می‌توانند باعث ایجاد پاسخ‌های بیولوژیکی شده و از طریق تولید گونه‌های اکسیژن فعال (Reactive Oxygen Species) منجر به آسیب پوست شوند (۴). در مقابل این عوامل، آنتی اکسیدان‌ها ترکیب‌هایی هستند که به مهار بسیاری از واکنش‌های اکسیداسیون که توسط رادیکال‌های آزاد ایجاد می‌شوند، کمک نموده و بدین وسیله آسیب وارده به سلول‌ها و بافت‌ها را مهار کرده یا به تأخیر می‌اندازند. از جمله مکانیسم‌های عملکردی آن‌ها واکنش جمع آوری گونه‌ای رادیکال آزاد اکسیژن و نیتروژن می‌باشد (۵). شواهد گسترده ای برای استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها در سرطان وجود دارد (۶). ارزش پتانسیلی آنتی اکسیدان‌ها، محققان را بر آن داشته تا به جستجوی ترکیب‌های طبیعی با فعالیت آنتی اکسیدانی بالا و سمیت کم بپردازند. مطالعات اخیر نشان داده که تعدادی از محصولات گیاهی شامل: پلی فنل‌ها، فلاونوئیدها، کومارین‌ها، کورکومین‌ها، ترپن‌ها و انواع عصاره‌های گیاهی، فعالیت آنتی اکسیدانی از خود نشان می‌دهند (۷). امروزه مزیت استفاده از داروهای گیاهی بر همگان آشکار است که این گونه داروها عوارض بسیار ناچیزی دارند، در صورتی که داروهای شیمیایی عوارض متعددی دارند. در جهان ماشینی امروز، محیط پیرامون انسان‌ها مملو از مواد جهش زا و سرطان زا می‌باشد اما گیاهان با به دام انداختن رادیکال‌های آزاد و داشتن خاصیت آنتی‌اکسیدانی در جلوگیری از ایجاد چنین بیماری‌هایی بسیار مؤثر می باشند (۸). از سویی دیگر به علت محدودیت‌های مدیریت فعلی سرطان (جراحی، شیمی درمانی و پرتودرمانی)، داروهای سایتوتوکسیک موجود در مکان‌های خاص به راحتی در دسترس کشورها نیستند و هم‌چنین استفاده از آن‌ها با تعدادی از عوارض ناخواسته و عوارض جانبی همراه است. لذا، بخش عمده‌ای از بیماران ترجیح می‌دهند که به حمایت از مکمل و طب جایگزین روی آورند (۹). از جمله گیاهان دارویی که در ایران تاکنون توجه زیادی به آن نشده است، آناناس می‌باشد. آناناس با نام علمی Ananas comosus ونام انگلیسی pineapple متعلق به خانواده برومولیاسه وزیر خانواده برومولویده می‌باشد. این میوه یکی از پرطرفدارترین میوه‌های استوایی است (۱۰). از نظر ترکیبات شیمیایی در هر صد گرم قسمت قابل مصرف میوه رسیده وخام به‌صورت متوسط: ۸۵گرم آب، ۴/ ۰گرم پروتین، ۰/۲ گرم چربی، ۱۳ گرم مواد قندی، ۱۷ میلی گرم کلسیم، ۸ میلی گرم فسفر، ۰.۵میلی‌گرم آهن، ۱ میلی‌گرم سدیم، ۱۴۶ میلی‌گرم پتاسیم، ۰۹میلی‌گرم تیامین، ۰/۰۳ میلی‌گرم ریبوفلاوین، ۰/۲ میلی‌گرم نیاسین، آنزیم برومیلین، وانیلین، اسیدهای آزاد آلی، ۱۷ میلی‌گرم ویتامین C ، ۷۰ واحد بین المللی ویتامین A، B و B2 وجود دارد. آنزیم برومیلین به دست آمده از عصاره آناناس به صورت گسترده در طب سنتی استفاده می‌شود این ماده علاوه بر این موارد، دارای فعالیت‌هایی نظیر تنظیم کننده سیستم ایمنی، اثرات ضد التهابی (۱۱)، و اثرات ضد سرطانی است. رئیسی و همکاران در سال ۱۳۹۵، اثرات ضدسرطانی آناناس را بر سرطان پستان بررسی نموده و به نتایج ارزشمندی در راستای نابودی این سلول‌ها دست یافتند (۲). با توجه به قابلیت‌های برومیلین و تعداد اندک مطالعات انجام شده پیرامون سلول‌های سرطانی، هنوز مطالعات بیشتری لازم است تا بتوان قابلیت‌های این ترکیب را بررسی کرد. از اصلی‌ترین مشکلاتی

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-20]

[DOI: 10.18502/ssu.v28i2.3480]

که برای درمان سرطان وجود دارد این است که داروهای درمانی در بافت‌های توموری باقی نمی‌مانند و این داروها بافت‌های سالم بدن را نیز تحت تاثیر قرار می‌دهند (۱۲). درمان‌های مختلفی که امروزه برای سرطان وجود دارد مثل پرتودرمانی و یا سایر داروهای رایج، همگی برای سلول‌های سالم بدن نیز سمی هستند و علاوه بر هزینه‌های بالا عوارض جانبی بالایی دارند (۱۳). بنابراین احساس می‌شود که نیاز مبرمی به روش‌های جدید برای درمان سرطان به عنوان روش‌های درمانی هدفمند سرطان وجود دارد که بتواند جایگزین خوبی برای روش‌های شیمی‌درمانی فعلی باشد (۱۴). به کمک نانوذره‌ها می‌توان داروها را به‌صورت هدفمند به سلول‌های توموری انتقال داد و به این ترتیب فقط این سلول‌ها را تحت تاثیر قرار داد، ضمن اینکه به کمک نانوداروها میتوان مشکلات حلالیت برخی داروهای ضد سرطان را نیز حل کرد، انواع داروهای هیدروفوب یا هیدروفیل را انتقال داد و نیز از ایجاد مقاومت دارویی در سلول‌های سرطانی جلوگیری کرد و نیز نانوذره ها می توانند مدت زمان بیشتری در تماس با سلول‌های توموری باشند و اثربخشی بیشتری داشته باشند (۱۲،۱۴). سیستم‌های تحویل دارو با اندازه نانو جزء بهترین ابزارها برای افزایش اختصاصیت دارو و نیز کاهش سمیت سیستمیک آن می‌باشند (۱۵). لیپوزوم‌ها وزیکول‌های کروی هستند که می‌توانند یک یا چند دولایه لیپیدی داشته باشند. ساختار این غشاهای لیپیدی ممکن است از لیپیدی‌های طبیعی یا مصنوعی باشند. این نانو ذره‌ها می‌توانند داروهای هیدروفیل را در هسته آبی خود و داروهای هیدروفوب را در دو لایه لیپیدی خود محصور کنند و به این ترتیب هر دو نوع دارو را انتقال دهند. از طرفی زیست سازگاری و زیست تجزیه‌پذیری این نانو ذره‌ها سبب شده تا آن‌ها حامل‌های کم نظیری برای انتقال ترکیبات دارویی باشند. لیپوزوم‌ها براساس نوع طراحی که شده‌اند می‌توانند اندازه‌ای در حدود چند ده نانومتر تا چند میکرومتر داشته باشند (۱۶،۱۷). از دیگر مزایای لیپوزوم‌ها می‌توان به زیست سازگار بودن آن‌ها در بدن، عدم برانگیختن پاسخ ایمنی، ایجاد بیشترین اثر درمانی به علت کاهش سمیت دارو، افزایش پایداری لیپوزوم‌های حاوی دارو و کاهش تماس بافت‌های حساس با داروهای سمی را نام برد (۱۸). هدف از انجام این مطالعه، ارزیابی قابلیت نانوحامل‌های لیپوزومی در حفظ سمیت و رسانش عصاره میوه آناناس در شرایط کشت سلولی سلول‌های سرطان پوست، رده A375 می باشد.

روش بررسی

عصاره‌گیری از میوه آناناس

میوه آناناس تهیه شده و پس از شسته شدن به حلقه‌های نازک برش زده شد و در مکان سایه روشن به دور از آلودگی خشک شد. سپس از میوه خشک شده، پودر یکنواخت تهیه گردید. جهت عصاره گیری میوه آناناس از روش خیساندن در دمای ۴ درجه سانتیگراد استفاده شد. به ازای هر ۷ گرم پودر آناناس، ۵۰ میلی‌لیتر اتانول ۸۵٪ استفاده شد. عصاره حاصله در بن ماری ۳۷ درجه سانتیگراد قرار داده شد تا حلال به طور کامل تبخیر شود. عصاره خشک بدست آمده تا زمان استفاده، درون یخچال نگهداری شد.

رسم نمودار استاندارد عصاره میوه آناناس در ایزوپروپیل و بافر PBS

جهت رسم منحنی استاندارد و به دست آوردن معادله خط، غلظت‌های مختلفی از عصاره تهیه و جذب آن‌ها در طول موج۸۰۰-۲۰۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. سپس با توجه به غلظت‌های مورد استفاده و جذب مربوطه، منحنی استاندارد با استفاده از نرم‌افزار اکسل رسم شده و معادله آن جهت تعیین غلظت های مجهول مورد استفاده قرار گرفت. لازم به ذکر است که در دو بافر PBS و ایزوپروپیل، به ترتیب جهت محاسبه رهایش و محاسبه لود، منحنی استاندارد به دست آورده شد.

تهیه نانوذره لیپوزومی حاوی عصاره میوه آناناس

لیپوزوم حاوی عصاره آناناس به روش آب پوشانی لایه نازک و با ترکیبی شامل فسفاتیدیل‌کولین سویا (۷۰٪)، کلسترول (۳۰٪) و پلی‌اتیلن‌گلیکول (PEG) (۲٪) و عصاره آناناس (۲میلی‌گرم) تهیه شد. ابتدا فسفاتیدیل کولین سویا، کلسترول و PEG در حلال کلروفرم و در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه بر روی روتاری همگن شده و تحت شرایط

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-20]

[DOI: 10.18502/ssu.v28i2.3480]

خلاء، نیم خلاء در مدت زمان ۴۵ دقیقه، فیلم نازک خشک تهیه شد. فیلم حاصل به مدت ۲۴ ساعت در یخچال قرار داده شد تا تمامی کلروفرم باقی‌مانده تبخیر شود. سپس عمل هیدراته کردن با افزودن محلول حاوی عصاره میوه (۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به بالن اضافه و طی مدت ۵۰-۴۵ دقیقه و در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد انجام شد. سپس نانو ذرات تهیه شده با استفاده از سونیکیت پروبی برای مدت یک ساعت،کاهش سایز داده شد. سامانه آماده شده ابتدا از فیلتر ۰/۴ و سپس ۰/۲ عبور داده شد. در این مرحله نانو ذره لیپوزومی حاوی دارو بدست آورده شد. سامانه حاوی عصاره بدست آمده شامل لیپوزوم حاوی دارو و مقداری نیز داروی آزاد موجود در محیط است که بایستی با ایجاد شیب غلظت مناسب داروی آزاد خارج از سامانه جداسازی شود. بدین منظور از روش کیسه دیالیز استفاده شد.

بازده درون‌گیری نانو حامل‌های لیپوزومی

برای بررسی میزان دارو (عصاره آناناس) درون حامل لیپوزومی سنتز شده از ایزوپروپیل به عنوان حل کننده غشای لیپوزوم‌ها و برون‌ریزی داروی انباشت شده استفاده شد. لذا رقت های متفاوت حجمی (V/V) ایزوپروپیل: لیپوزوم حاوی دارو (۱:۵،۱:۱۰،۱:۲۰،۱:۴۰،۱:۱۰۰) تهیه شد، و پس از قرار دادن رقت‌های تهیه شده به مدت ۱ ساعت درون یخچال (جهت تاثیرگذاری کامل ایزوپروپیل بر روی سامانه)، با استفاده از دستگاه اسپکتروسکوپی، جذب آن‌ها در طول موج ۴۰۰-۲۰۰ نانومتر خوانده و غلظت داروی انباشت شده درون نانو حامل‌های لیپوزومی با استفاده از معادله کالیبراسیون عصاره – ایزوپروپیل محاسبه گردید. با استفاده از رابطه ذیل میزان درون‌گیری دارو درون حامل محاسبه شد.

$$\text{Entrapment Efficiency (EE\%)} = \frac{\text{Encapsulated Drug Concentration}}{\text{Primary used Drug}} \times 100$$

تعیین درصد برهایش عصاره میوه آناناس در نانو حامل لیپوزومی

تعیین میزان رهایش عصاره از نانولیپوزوم با تکنیک انتشار انجام شد. جهت شبیه سازی رهایش دارو از حامل لیپوزومی در محیط in vivo از PBS و روش کیسه دیالیز استفاده شد. در زمان‌های مشخص (۰/۵، ۱، ۳، ۵، ۷، ۱۲، ۴۸،۲۴، ۷۲ ساعت) نمونه‌برداری از محیط اطراف کیسه دیالیز صورت گرفته و در انتها با بهره‌برداری از معادله کالیبراسیون عصاره -PBS، نسبت به محاسبه غلظت داروی آزاد شده در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و PH= ۷ جهت بررسی رهایش برای سلول سالم و در دمای ۴۲ درجه سانتی‌گراد و۵۴/۴ =pH جهت بررسی رهایش برای سلول سرطانی در زمآن‌های مختلف و رسم نمودار آن اقدام شد.

آنالیز طیف‌سنجی مادون قرمز فوریه (FTIR)

برای بررسی گروه‌های عاملی و برهمکنش سطح نانولیپوزوم حاوی دارو از دستگاه طیف‌سنجی مادون قرمز استفاده گردید. طیف‌سنجی مادون قرمز بر اساس جذب تابش و بررسی جهش‌های ارتعاشی مولکول‌ها و یون‌های چند اتمی صورت می‌گیرد. این تست به‌عنوان روشی خوب، برای تعیین ساختار و اندازه‌گیری گونه های شیمیایی و نیز برای شناسایی ترکیبات آلی، مورد استفاده قرار می‌گیرد. جهت اطمینان از حضور ترکیبات بیوشیمیایی در عصاره آناناس به‌دست آمده و لیپوزوم حاوی عصاره از روش FTIR استفاده شد. طیف FTIR به منظور بررسی گروه‌های عاملی محلول عصاره، نانولیپوزوم حاوی عصاره و نانولیپوزوم خالی در محدوده طول موج $4000-400 cm^{-1}$ اسکن شدند.

تصویربرداری از نانولیپوزوم‌ها

قبل از کاربرد واژه لیپوزوم ضروری است که از شکل ساختار تولید شده و برخی خصوصیات آن اطمینان حاصل شود. بهترین روش برای بررسی ساختار، مشاهده میکروسکوپی است. در این پژوهش جهت بررسی مورفولوژی لیپوزوم‌های ساخته شده از میکروسکوپ نیروی اتمی (AFM) (مدل JPK، ساخت آلمان) استفاده شد.

تعیین اندازه نانوذرات و ضریب پراکندگی

پراکندگی دینامیکی نور یا DSL تکنیکی برای اندازه گیری اندازه ذرات یا مولکول‌ها در محدوده میکرون تا نانومتر در داخل محلول است. در این تکنیک نور لیزر به ذراتی که در داخل

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-20]

[DOI: 10.18502/ssu.v28i2.3480]

محلول و دارای حرکت براونی هستند تابیده می‌شود و نور پس از برخورد با این ذرات دچار تفرق با شدت‌های مختلف می‌شود. سپس این نور توسط دستگاه آنالیز می‌شود. کابردهای عمومی تکنیک DLS عبارتند از تعیین اندازه ذرات و ترسیم نمودار پراکندگی آن‌ها و اندازه‌گیری پتانسیل زتا. محدوده توزیع اندازه ذرات و پیک اندازه آن‌ها با استفاده از دستگاه تفرق دینامیکی نور (DLS) تعیین می‌شود. بدین منظور از دستگاه نانوسایزر (HORIBA SZ-100)استفاده شد. در نتیجه اندازه نانولیپوزوم‌های خالی و حاوی دارو با بررسی نتایج حاصل از این دستگاه به‌دست آمد.

تعیین پتانسیل زتای نانولیپوزوم‌ها

پتانسیل زتای یک ذره، بار کلی است که یک ذره در یک محیط ویژه کسب می‌کند و این خاصیت از ویژگی‌های فیزیکی ذرات است و پارامتر خوبی برای نشان دادن میان کشش مغناطیسی بین ذرات به شمار می‌رود. میزان بار سطحی و پتانسیل زتای نانولیپوزوم‌ها ی حامل دارو (عصاره) از طریق دستگاه زتا سایزر (HORIBA SZ-100)در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد اندازه‌گیری شد.

خاصیت آنتی‌اکسیدانی (DPPH)

جهت بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی از روش به دام‌اندازی رادیکال آزاد ۲و ۲ دی فنیل -۱- پیکریل هیدرازیل (2-2 diphenyl-1- picrylhydrazil) (DPPH) استفاده شد. تغییر رنگ ایجاد شده به روش اسپکتروفتومتری اندازه گیری شد. ۱ میلی‌لیتر از محلول ۰/۱ میلی مولارDPPH به ۱ میلی‌لیتر از عصاره و نانولیپوزوم حاوی عصاره در رقت‌های (۱، ۰/۷، ۰/۵، ۰/۲، ۰/۰۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) اضافه و به خوبی تکان داده شده و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق و مکان تاریک قرار داده شد. سپس جذب مخلوط در طول موج ۵۱۷ نانومتر با بلانک متانول و محلول DPPH اندازه‌گیری شده و مهار رادیکال‌های آزاد با فرمول زیر محاسبه گردید:

$$I\% = \frac{\text{جذب بلانک} - \text{جذب نمونه}}{\text{جذب بلانک}} \times 100$$

در فرمول مربوط به این تست،*I%* نشان دهنده مهار رادیکال آزاد DPPH و منظور از جذب بلانک همان جذب نمونه کنترل می‌باشد.

تعیین سمیت سلولی و میزان بقاء

سلول‌های A-375 جزء رده های سلولی ملانومای انسانی از نوع سلول‌های چسبان است. این رده سلولی به صورت فلاسک از مرکز ذخایر ملی ژنتیک ایران (تهران، ایران) تهیه شده و صحت سلول‌ها و هم‌چنین عدم آلودگی فلاسک تایید شد. برای کشت سلول‌ها از محیط کشت DMEM High Glucose غنی شده با ۱۰٪ FBS و ۲میلی مولار L-Glutamine، استفاده شده و سلول‌ها در انکوباتور (۳۷ درجه سانتیگراد با ۵٪ CO2 و رطوبت ۹۵٪) نگهداری شدند. پس از انجام ۳ پاساژ موفق، سلول‌ها به تعداد 10^4 سلول در هر چاهک از پلیت ۹۶ تایی کشت داده شدند. پس از ۲۴ ساعت از کشت سلول‌های A375، سلول‌های A-375 در معرض غلظت‌های مختلفی از عصاره آناناس، لیپوزوم‌های فاقد عصاره و لیپوزوم‌های حاوی عصاره، طی مدت زمان ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت قرار داده شدند. سپس، جهت ارزیابی سمیت سلولی القا شده توسط ترکیبات فوق و میزان درصد بقای سلول‌ها، از آزمون MethyThiazolTetrazolium (MTT) استفاده شد. پس از گذشت زمان‌های مورد نظر به هر چاهک مقدار کافی محلول ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر MTT اضافه شد. پلیت‌ها به مدت ۳ ساعت انکوبه شدند و پس از طی زمان لازم محیط کشت حاوی MTT به دقت خارج شده و به هر چاهک ۱۰۰ میکرولیتر DMSO اضافه گردید تا بلورهای فورمازان حاصل حل شوند. پس از گذشت مدت زمان ۱۵۰ دقیقه جذب نوری در ۵۷۰ نانومتر توسط دستگاه الایزا ریدر (BioTek ساخت شرکت ویراژن) خوانده شد. درصد بقای سلول‌ها با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید.

$$\text{Cellular Viability (\%)} = \frac{Blank\ OD - Treatment\ OD}{Blank\ OD - Negative\ Control\ OD} \times 100$$

تجزیه و تحلیل آماری

نتایج تست‌ها پس از ۴ بار تکرار و به صورت Mean ± SD ارائه شده است. محاسبه غلظت IC50 با استفاده از نرم افزار Origin انجام گردید. آنالیزهای آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS Version. 22 انجام شده و از تست‌های آماری Duncan و Student's T-test برای تحلیل آماری داده‌ها استفاده گردید.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-20]

[DOI: 10.18502/ssu.v28i2.3480]

ملاحظات اخلاقی

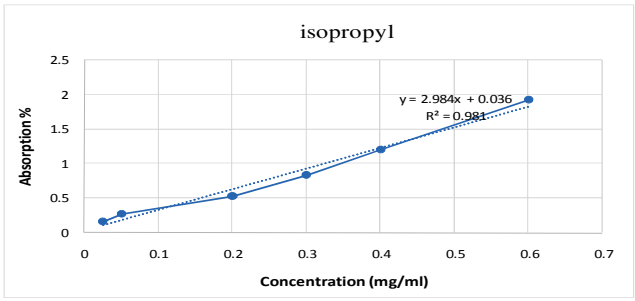
پروپوزال این تحقیق توسط دانشگاه علم و هنر یزد تایید شده است (کد اخلاق IR.SSU.RSI.REC.1398.038)

نتایج

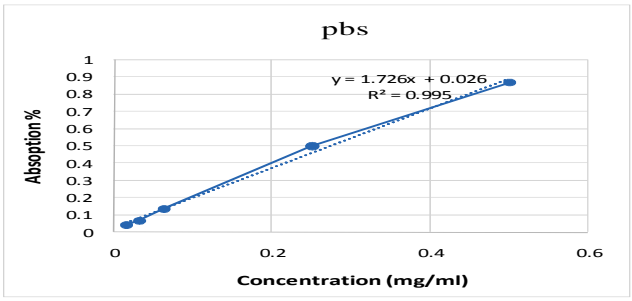
راندمان بارگیری و بررسی پروفایل رهایش عصاره

راندمان انکپسولاسیون نانولیپوزوم‌های حاصل از این پژوهش با بررسی نمودار کالیبراسیون عصاره میوه آناناس در ایزوپروپیل (نمودار ۱)، حدود ۴۰ درصد بوده است. هم‌چنین با استناد به نمودار کالیبراسیون عصاره میوه آناناس در بافر PBS (نمودار ۱)، نمودار رهایش عصاره از نانوسامانه لیپوزومی در دمای°C ۳۷ و ۴۲°C رسم گردید (نمودار ۱). با توجه به نمودار رهایش، نانوسامانه دارای عصاره در دمای 0C ۳۷ و ۴20C آهسته رهش با رهایش کنترل شده بوده است.

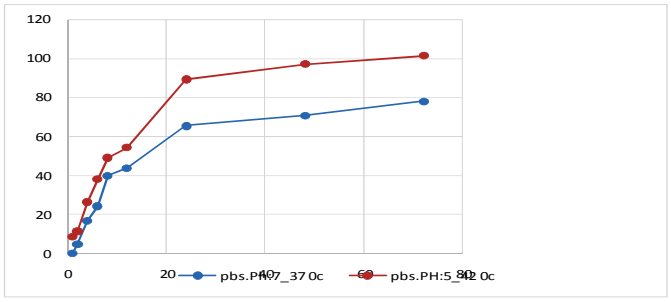
(a)



(b)



(c)



نمودار ۱: (a) نمودار کالیبراسیون آناناس با ایزوپروپیل، (b) نمودار کالیبراسیون آناناس با بافر PBS، (c) نمودار رهایش عصاره میوه آناناس از نانو سامانه لیپوزومی در دمای ۳۷ °C و ۴۲ ° C

نتایج حاصل از آنالیز طیف مادون قرمز (FTIR)

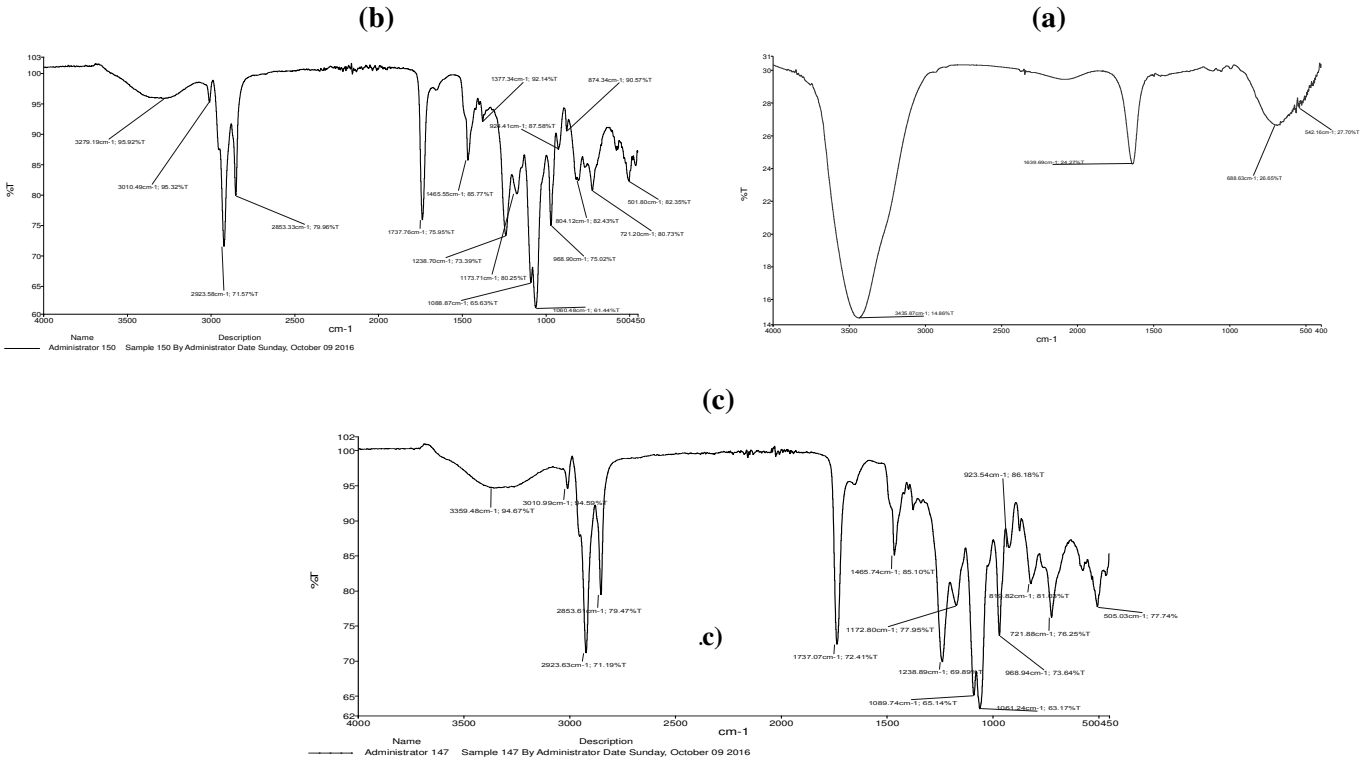
آنالیزFTIR عصاره آناناس (تصویر ۱. a) نشان می‌دهد که طول موج ۳۴۳۵/۸۷cm^{-1}مشخصه گروه OH، طول موج cm^{-} ۱۶۳۹/۶۹^{1} مشخصه C=C که متعلق به گروه آلکن‌ها هستند، طول موج ۶۸۸/۶۳cm^{-1} نشان دهنده آروماتیک‌ها است. هم‌چنین با بررسی آنالیز FTIR لیپوزوم بلانک (تصویر۱.b) و لیپوزوم حاوی عصاره آناناس (تصویر ۱.c)، مشخص می‌شود که طول موج ۳۲۷۹/۱۹cm^{-1} مشخصه گروه عاملی OH، طول موج‌های ۳۰۱۰/۴۹cm^{-1} و ۲۹۲۳/۵۸cm^{-1}و ۲۸۵۳/۳۳ cm^{-1} مشخصه پیوند C-H از گروه آلکان‌ها، طول موج ۱۷۳۷/۷۶cm^{-1} مشخصه پیوند=OC، پیک‌های موجود در ناحیه ۱۳۰۰-۱۰۰۰ مربوط به گروه C-O، طول موج ۸۷۴/۳۴cm^{-1} و ۷۲۱/۲۰ مشخصه حلقه‌های آروماتیک C-H است. همان‌طور که مشاهده می‌شود عدم وجود هیچ‌گونه پیک اضافی در سامانه‌های حاوی عصاره نشان دهنده عدم تداخل و نیز عدم تشکیل پیوندهای کووالانسی عصاره با سامانه‌های لیپوزومی مربوطه است و این مهم نشان می‌دهد که عصاره موقعیت دارویی خود را به خوبی حفظ کرده است (تصویر ۱).

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-20]

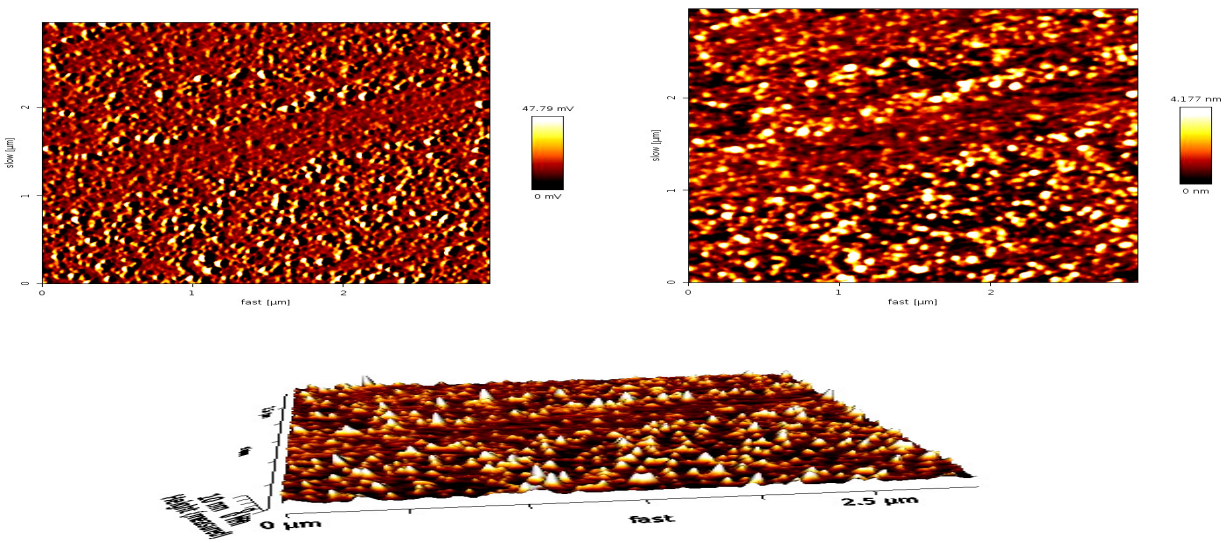
[DOI: 10.18502/ssu.v28i2.3480]

تصویر برداری از نانولیپوزوم ها با میکروسکوپ نیروی اتمی

با توجه به تصاویر AFM نانوذرات لیپوزومی آناناس (تصویر ۲)، لیپوزوم‌های تشکیل شده دارای مورفولوژی کروی با حدود کاملاً مشخص می‌باشند و شکل‌ها نشان می‌دهد که نانو ذرات حاوی آناناس از نظر مورفولوژی سطحی (کروی بودن، صافی و کلوخه نشدن) نرمال هستند.



تصویر ۱: (a) آنالیز FTIR عصاره خالص آناناس، (b) آنالیز FTIR سامانه‌لیپوزومی خالی (بلانک)، (c) آنالیز FTIR نانولیپوزوم حاوی عصاره آناناس



تصویر ۲: تصاویرAFM از نانوسامانه لیپوزومی حاوی عصاره میوه آناناس

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-20]

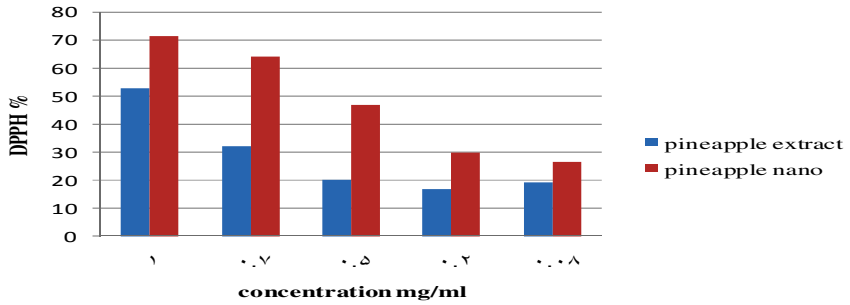
[DOI: 10.18502/ssu.v28i2.3480]

اندازه و بار سطحی نانوسامانه بلانک و نانوسامانه حاوی عصاره

اندازه نانوذره لیپوزومی در این پژوهش قبل از لود عصاره ۸۲/۴ نانومتر بوده که بعد از لود عصاره آناناس، سایز نانودره افزایش یافته و به مقدار ۸۹/۹ نانومتر رسیده است که این افزایش سایز می‌تواند نشان دهنده بارگذاری عصاره در نانو ذره باشد. لیپوزوم‌ها به علت دارا بودن ساختار فسفولیپیدی به صورت عادی دارای بار منفی هستند. شارژ سطحی نانولیپوزوم تنها (بلانک) توسط دستگاه زتاسایزر اندازه‌گیری شد. میانگین بار به‌دست آمده ۳۵- بوده که با توجه به این مقدار شارژ سطحی آنیونی می‌باشد. بعد از لود عصاره آناناس پتانسیل زتای لیپوزوم به ۸/۸- رسیده و افزایش نشان داده که این مهم اشاره به بار مثبت عصاره آناناس دارد.

بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی (تست DPPH) برای عصاره میوه آناناس و نانوسامانه حاوی عصاره میوه آناناس

همان‌گونه که در نمودار (۲) مشخص است ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره خالص آناناس و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی نانوسامانه حاوی عصاره آناناس با غلظت استفاده شده در این تست رابطه مستقیم دارند یعنی در غلظت‌های بالاتر میزان DPPH بیشتر است، اما این مهم حائز اهمیت است که میزان تست DPPH نانوسامانه حاوی عصاره نسبت به عصاره تنها در غلظت‌های مشترک، بیشتر است.



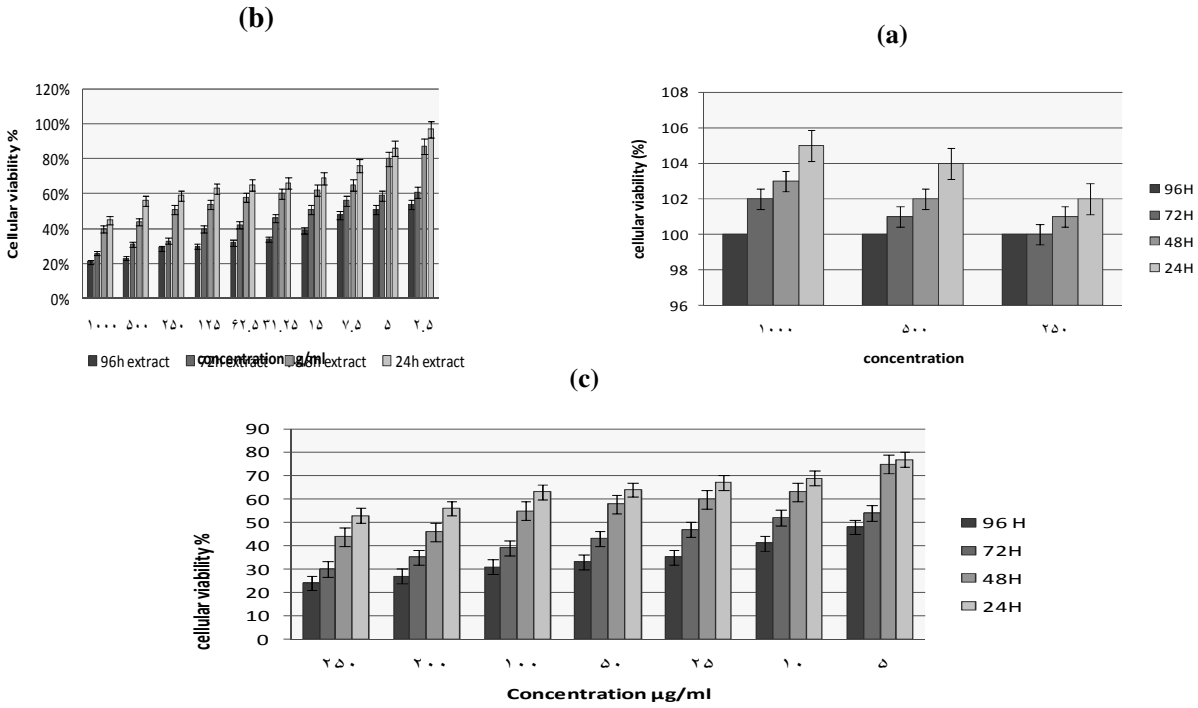
نمودار ۲: تست بررسی خواص آنتی اکسیدانی عصاره میوه آناناس و لیپوزوم حاوی عصاره میوه آناناس.

بررسی سمیت سلولی (MTT) عصاره میوه آناناس و نانوسامانه حاوی عصاره آناناس

نتایج حاصل از سمیت سلولی نشان می‌دهد که سمیت عصاره آزاد و لیپوزومه وابسته به غلظت و زمان است، به گونه‌ای که کمترین بقای سلول‌های سرطانی رده A375 تیمار شده با عصاره میوه آناناس و نانوذره لیپوزومی حاوی این عصاره مربوط به غلظت ۱۰۰۰میکروگرم بر میلی‌لیتر است و با کاهش غلظت عصاره و نانولیپوزوم های حاوی عصاره از میزان سمیت کاسته و بر میزان بقای سلول‌ها افزوده می‌شود. با توجه به نمودار بقای سلول‌های رده A375 تحت تاثیر نانولیپوزوم‌های بلانک (نمودار a۳) مشخص می‌شود که میزان بقای سلول‌ها در غلظت‌های مختلف لیپوزوم‌های بلانک بیش از ۹۰ درصد است که خود نشان دهنده عدم سمیت نانولیپوزوم‌های فاقد عصاره بر سلول‌ها است. طبق نمودار b۴ و c۴ کمترین بقای سلول‌ها تحت تاثیر عصاره آزاد و عصاره لیپوزومه مربوط به بیشترین غلظت تیمار شده در بازه زمانی ۹۶ ساعت می باشد که غلظت ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر برای تیمار با عصاره آزاد و غلظت ۲۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر برای تیمار با عصاره لیپوزومه است، میزان بقای سلول‌ها در بازه زمانی ۹۶ ساعت در غلظت مشترک ۲۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر برای تیمار با عصاره آزاد برابر ۲۹ درصد و برای تیمار با عصاره لیپوزومه برابر ۲۴ درصد است که دارای تفاوت معناداری ($p< ۰/۰۵$) است. هم‌چنین بیشترین درصد زنده‌مانی سلول‌های تیمار شده با عصاره آزاد و لیپوزومه طی کمترین غلظت استفاده شده یعنی غلظت ۲/۵ میگروگرم بر میلی‌لیتر برا تیمار با عصاره آزاد و غلظت ۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر برای تیمار با عصاره لیپوزومه در بازه زمانی ۲۴ ساعت بوده که به‌ترتیب برای عصاره آزاد و لیپوزومه برابر ۹۷ و ۷۷ درصد می‌باشد که این ارقام دارای تفاوت معناداری ($p< ۰/۰۵$) می‌باشند.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-20]

[DOI: 10.18502/ssu.v28i2.3480]



نمودار ۳) میزان بقای سلول. (a) سلول‌های تیمار شده با لیپوزوم بلانک در سه غلظت (۱۰۰۰و ۵۰۰و ۲۵۰ µg/ml)، (b) سلول‌های تیمار شده با غلظت‌های مختلف عصاره آناناس، (c) سلول‌های تیمار شده با غلظت‌های مختلف لیپوزوم حاوی عصاره آناناس. اختلافات مشاهده شده در میزان بقا در میان غلظت‌های مختلف هر تیمار و تیمارهای مختلف معنی‌دار می‌باشند ($p<0.05$).

بحث

با توجه به فراگیر بودن ملانوما خصوصاً در مناطق آفتاب گیر چه در ایران و چه در خارج از کشور و عوارض استفاده از داروهای شیمیایی و هم‌چنین نگرانی اقتصادی مربوط به آن نیاز مبرمی برای استفاده از روش‌های درمانی نوین ایجاد کرده است. امروزه کارایی نانوذرات در انتقال موثرتر دارو و درمان بهتر سرطان در سطح In vitro وIn vivo تایید شده است. از سوی دیگر بررسی ترکیبات موجود در عصاره‌های گیاهی و تأیید اثرات ضدسرطانی آن‌ها محققان را بر آن داشته تا توجه ویژه به این ترکیبات در جهت درمان گروه‌های متفاوت سرطانی داشته باشند. طبق تحقیقاتی که Michael و همکاران در سال ۲۰۰۷ بر روی خواص آنتی‌اکسیدانی آناناس بر روی ملانوما انجام دادند مشخص شد که بروملین جزئ اصلی فعال در میوه آناناس بوده و از دسته آنزیم های پروتئولیتیک محسوب می‌شود. پژوهش این محقق نشان‌دهنده باز داری واضح بروملین از تکثیر سلولی. است (۶). هم‌چنین قابل ذکر است طبق تحقیقاتی که توسط Bhui و همکاران در سال ۲۰۱۰ روی خاصیت سایتوتوکسیک آناناس در القای آپاپتوز در سلول‌های سرطان سینه انجام شد، مشخص شد که سلول‌های سرطانی MCF-7 که تحت تیمار با بروملین به‌دست آمده از میوه آناناس بودند، پاسخ مهاری تاخیر رشد القای اتوفاژی را نشان دادند که این مساله به علت نقش بروملین بر تنظیم فسفریلاسیون خارج سلولی است (۲۰). در پژوهش حاضر بارگذاری عصاره آناناس به جهت افزایش شاخصه‌های سایتوتوکسیک آن در نانولیپوزوم‌های ساخته شده از فسفاتیدیل کولین سویا و در راستای عملکرد بهتر این عصاره صورت گرفت و با انجام تست DPPH نیز خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره و از طریق تست‌های بیوشیمیایی وجود ترکیبات مختلف آنتی‌اکسیدانی در این عصاره تأیید شد. از آنجا که ترکیبات گیاهی در مقایسه با ترکیبات شیمیایی عوارض جانبی کمتری دارند لذا شناسایی استراتژی‌های نوین به‌منظور بهبود سیستم دارورسانی گیاهان دارویی که بتواند جایگزین مناسبی برای سیستم‌های دارورسانی

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-20]
[DOI: 10.18502/ssu.v28i2.3480]

شیمیایی باشد قادر است بسیاری از چالش‌های ایجاد شده در علم پزشکی را مرتفع سازد. پژوهش پیش رو نشان می‌دهد نانو سامانه‌های تهیه شده با درصد انکپسولاسیون ۴۰٪ برای آناناس، آهسته رهش هستند و حداکثر رهایش عصاره آناناس در شرایط دمایی و pH سلول‌های نرمالو سرطانی ۷۰/۹۶ است. بررسی آنالیز FTIR و مقایسه FTIRهای حاصل از عصاره آناناس، لیپوزوم بلانک و لیپوزوم‌های حاوی عصاره نشان دهنده این امر است که عصاره موقعیت دارویی خود را به خوبی حفظ کرده و با نانو حامل لیپوزومی برهمکنش نداشته است. آنالیز نانوذرات با دستگاه DSL تایید کننده این امر است که نانولیپوزوم بلانک ضمن برخورداری از سایز ۸۲/۴ نانومتر، یکنواخت و از نظر بار، آنیونی بوده و از سمیت پایینی برای سلول برخوردار است. اندازه نانولیپوزوم بعد از لود عصاره آناناس به ۸۹/۹ نانومتر رسید که نشان دهنده سایز مناسب این نانولیپوزوم‌های حاوی دارو می‌باشند. پتانسیل زتای نانوذره بعد از لود عصاره آناناس از ۳۵- به ۸/۸- رسید که این مسئله به‌خاطر حضور ترکیبات کاتیونی نظیر عناصری چون Mg، K، Ca و ZN در عصاره این میوه است. همین مسئله میزان لود عصاره آناناس را تحت تاثیر قرار داده است به‌طوری که میزان لود عصاره آناناس ۴۰٪ می‌باشد. تصاویر حاصل از میکروسکوپ فلورسانس (AFM) نشان دهنده این مهم است که نانوذرات مربوط به عصاره ضمن برخورداری از اندازه و توزیع مناسب، دارای شکل کروی نیز می‌باشند. تست DPPH مربوط به عصاره و نانوحامل‌های حاوی آن نشان دهنده ظرفیت بالای آنتی‌اکسیدانی عصاره آناناس بوده و اینکه در ارتباط با عصاره در حالت کپسوله ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بیشتر از حالت عصاره تنها می‌باشد. بررسی اثر سایتوتوکسیک عصاره آناناس و لیپوزوم‌های حاوی عصاره آناناس بر سلول‌های رده A375 ملانوما نشان می‌دهد که میزان سمیت سلولی در تمام غلظت‌ها و زمان‌ها برای عصاره و لیپوزوم مربوط به آن‌ها متناسب با دوز و زمان بوده است به طوری‌که عصاره و لیپوزوم حاوی عصاره آناناس با افزایش غلظت و زمان سبب کاهش بیشتر میزان بقا می‌شود. در سال ۱۳۹۷ عسکری و همکاران وزیکول‌های نیوزومی حاوی عصاره پوست انار با اندازه ۱۴۳/۶ نانومتر و شارژ سطحی ۴۰/۹- را به‌منظور اثرگذاری بر سلول‌های MCF7 تهیه نمودند (۱۹). اندازه کمتر نانوذره ساخته شده در پژوهش اخیر به علت رسانش بهتر دارو به سلول و جنس لیپوزومه آن به علت مشابهت بیشتر با غشای سلولی از مزیت‌های این پژوهش است. رئیسی و همکاران در سال ۱۳۹۵ اثر ضد سرطانی عصاره آناناس (برومیلین) را بر روی رده سلولی سرطان پستان (4T1) بررسی کردند. آنها رده سلولی سرطان پستان (4T1) را تحت تاثیر غلظت‌های مختلف برومیلین و در زمان‌های متفاوت ۲، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت در انکوباتور قرار داد و در نهایت رشد و تکثیر آن‌ها را به روش MTT مورد بررسی قرار داد. نتایج نشان داد که رشد و بقای سلول‌های 4T1 وابسته به غلظت‌های مختلف برومیلین و در زمان‌های متفاوت به‌طور قابل توجهی کاهش یافت اما در زمان انکوباسیون کوتاه دو ساعته منجر به افزایش رشد و بقای سلول‌های سرطانی شد و این مسئله نشان می‌دهد برومیلین در زمان‌های طولانی انکوباسیون دارای اثرات سمیت سلولی بر رشد و تکثیر سلول‌های4T1 می‌باشد (۲). از مزیت پژوهش حاضر نسبت به پژوهش رئیسی استفاده از دامنه وسیع‌تری بازه های زمانی و نیز استفاده از تیمار عصاره و نانولیپوزوم حاوی عصاره است که بالطبع تاثیر بهتری دارد و نیز استفاده از ۲ نوع تیمار (عصاره آناناس و نانولیپوزوم حاوی عصاره آناناس می‌باشد). نشاسته‌گیر و همکاران در سال ۱۳۹۵ از نانولیپوزوم‌های پوشش داده شده با کیتوزان برای ریزپوشانی اسانس روغنی پرتقال و گسترش دانش در زمینه نانوحامل ها به عنوان اجزا عملگرا در حوزه پیشگیری از بروز سرطان استفاده کردند. آن‌ها همچنین رفتار رهایش پایداری فیزیکی و حرارتی نانولیپوزوم‌ها را بررسی کردند. در تحقیق انجام شده قطر متوسط کلیه نانوحامل‌ها کمتر از ۲۵۰ نانومتر و شاخص پاشیدگی کمتر از ۰/۲ بود نانولیپوزوم‌های بدون پوشش دارای اندازه ذرات کمتر از ۱۰۰ نانومتر و پس از فرآیند پوشش‌دهی بین۲۵۰-۱۰۰ نانومتر بودند. پتانسیل زتا در لیپوزوم‌های بدون پوشش منفی و پس از فرآیند پوشش‌دهی مثبت بود. راندمان ریزپوشانی اسانس روغنی در نانولیپوزوم‌های بدون پوشش و

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-20]

[DOI: 10.18502/ssu.v28i2.3480]

پوشش داده شده به ترتیب بین ۸۹-۷۲ و ۶۲-۷۰ درصد بود. راندمان ریزپوشانی در نانوحامل‌های تولید شده با نسبت هسته پوسته ۱:۳و همچنین نسبت لستین به کیتوزان ۱:۲۰ بالاتر بود. تصاویر حاصل از میکروسکوپ الکترونی اتمی تشکیل نانولیپوزوم‌ها و صحت فرآیند پوشش‌دهی را تایید کرد. کینتیک رهایش اسانس روغنی پرتقال در شرایط مشخص بررسی شد اختلاف سرعت رهایش بین پوشش داده شده و پوشش داده نشده معنی‌دار بود. پایداری فیزیکی نانولیپوزوم‌های پوشش داده شده نسبت به بدون پوشش بسیار بالا بود (۲۱). اندازه کوچکتر نانولیپوزوم ساخته شده درپژوهش اخیر و منفی بودن پتانسیل زتا قبل و بعد از لود عصاره در نانولیپوزوم و جنس ساختار نانوذره این پژوهش که لیپوزومه هست و استفاده از عصاره به جای اسانس از مزیت‌های این پژوهش است.

Lu و همکاران در سال ۲۰۱۱ نانولیپوزوم‌های حاوی پلی‌فنل‌های چای را تهیه کرده، خصوصیات فیزیکوشیمیایی آن‌ها را بررسی کردند. اندازه متوسط لیپوزوم‌های حاوی پلی‌فنل چای ۱۶۰.۴ نانومتر و مقدار پتانسیل زتا ۶۷/۲- بود. نتایج نشان داد که لیپوزوم‌های حاوی پلی‌فنل چای تهیه شده پایدار و مناسب برای کاربرد گسترده بود (۲۲). اندازه کوچکتر لیپوزوم‌های ساخته شده در پژوهش حاضر و استفاده از دو نوع تیمار سلول‌ها هم با عصاره و هم با نانولیپوزوم حاوی عصاره است که بالطبع تاثیر بهتری دارد.

نتیجه‌گیری

با استناد به نتایج به‌دست آمده ازاین پژوهش و نتایج مشابه آن در تحقیقات انجام شده می‌توان این گونه نتیجه گرفت که علت بالای خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره به علت ترکیبات فلاونوئید و آنزیم برومیلین موجود در عصاره بوده که با آنتی‌اکسیدان‌ها واکنش داده و اثرات مخرب آن‌ها را کاهش می‌دهد و خاصیت سیتوتوکسیک آن به علت نقش برومیلین عصاره در کارکرد آنزیم‌های دخیل در سیکل سلولی سلول‌های سرطانی است، و لیپوزومه کردن عصاره به علت نفوذ بهتر به داخل سلول موجب اثربخشی بهتر آن می‌شود. در این پژوهش با توجه به تایید خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره و لیپوزوم حاوی عصاره و خواص سامانه استفاده شده از لحاظ سایز و بار و خاصیت مورفولوژی و همچنین نتایج حاصل از بررسی بقای سلول‌ها در اثر تیمار با عصاره آناناس و نانوسامانه حاوی این عصاره و تایید خاصیت کشندگی این عصاره و نانوسامانه حاوی عصاره مذکور برای سلول‌های ملانوما رده A375 و کاهش بیشتر بقای سلول‌های نامبرده در اثر تیمار با نانوسامانه حاوی عصاره نسبت به عصاره خالص و با توجه به آهسته رهش بودن سامانه استفاده شده، می‌توان پیشنهاد نمود که نانوسامانه تهیه شده در این پژوهش با برخورداری از ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی مناسب می‌تواند جهت کاربردهای متعدد از جمله استفاده به‌عنوان ترکیبات آنتی‌اکسیدان و سایتوتوکسیک علیه سلول‌های سرطانی رده A375 مورد استفاده قرار گیرد.

سپاس‌گزاری

این مطالعه حاصل پایان‌نامه دانشجویی است. بدین‌وسیله نویسندگان مراتب تشکر و قدردانی خود را از حمایت‌های دانشگاه علم و هنر و شرکت دانش‌بنیان ریز زیست‌فناوران فردانگر در راستای انجام این مطالعه ابراز می‌دارند.

حامی مالی: ندارد.

تعارض درمنافع: وجود ندارد.

References:

1-Tomic T, Botton T, Cerezo M, Robert G, Luciano F, Puissant A, et al. ***Metformin Inhibits Melanoma Development through Autophagy and Apoptosis Mechanisms***. Cell Death Dis 2011; 2(9): e199.

2-Raeisi F, Raeisi E, Shahbazi-Gahrouei D, Heidarian , Amiri M, Gholami M. ***Cytotoxicity Effect of Pineapple Extract on Breast Cancer Cells (4T1)***. J Isfahan Med Sch 2016; 34(394): 946-51. [Persian]

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-20]

[DOI: 10.18502/ssu.v28i2.3480]

3-Bandarchi B, Ma L, Navab R, Seth A, Rasty G. ***From Melanocyte to Metastatic Malignant Melanoma.*** Dermatol Res Pract 2010; 2010: 1-8.

4-Giampieri F, Alvarez-Suarez JM, Mazzoni L, Forbes-Hernandez TY, Gasparrini M, Gonzàlez-Paramàs AM, et al. ***Polyphenol-Rich Strawberry Extract Protects Human Dermal Fibroblasts against Hydrogen Peroxide Oxidative Damage and Improves Mitochondrial Functionality***. Molecules 2014; 19(6): 7798-816.

5-Nikkhah E, Khayami M, Heidari M. ***Evaluation of Nitric Oxide Scavenging Activity of Anthocyanins from Black Berry (Morus Nigra L.), Strawberry (Fragaria Vesca L.) and Berry(Morus Alba L. Var. Nigra) Extracts***. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants 2009; 25(1): 120-8. [Persian]

6-Michael A, Hedayati B, Dalgleish AG. ***Disease Regression in Malignant Melanoma: Spontaneous Resolution or a Result of Treatment with Antioxidants, Green Tea ,and Pineapple Cores? A Case Report***. Integr Cancer Ther 2007; 6(1): 77-9.

7-Roussis IG, Lambropoulos I, Soulti K. ***Scavenging Capacities of Some Wines and Wine Phenolic Extracts.*** Food Technology and Biotechnology 2005; 43(4): 351-8.

8- Zeng L-B, Zhang Z-R, Luo Z-H, Zhu J-X. ***Antioxidant Activity and Chemical Constituents of Essential Oil and Extracts of Rhizoma Homalomenae.*** Food chemistry 2011; 125(2): 456-63.

9-Afrin S, Giampieri F, Gasparrini M, Forbes-Hernandez TY, Varela-López A, Quiles JL, et al . ***Chemopreventive and Therapeutic Effects of Edible Berries: A Focus on Colon Cancer Prevention and Treatment.*** Molecules 2016; 21(2): 169-209.

10-Septembre-Malaterre A, Stanislas G, Douraguia E, Gonthier M-P. ***Evaluation of Nutritional and Antioxidant Properties of the Tropical Fruits Banana, Litchi, Mango, Papaya, Passion Fruit and Pineapple Cultivated in Réunion French Island.*** Food chem 2016; 212: 225-33.

11-Tysnes BB, Maurert HR, Porwol T, Probst B, Bjerkvig R, Hoover F. ***Bromelain Reversibly Inhibits Invasive Properties of Glioma Cells.*** Neoplasia 2001; 3(6): 469-79.

12-Sinha R, Kim GJ, Nie S, Shin DM. ***Nanotechnology in Cancer Therapeutics: Bioconjugated Nanoparticles for Drug Delivery.*** Mol Cancer Ther 2006; 5(8): 1909-17.

13-Castano AP, Mroz P, Hamblin MR. ***Photodynamic Therapy And Anti-Tumour Immunity.*** Nat Rev Cancer 2006; 6(7): 535-45.

14-Brannon-Peppas L, Blanchette JO. ***Nanoparticle and Targeted Systems for Cancer Therapy.*** Advanced drug delivery reviews 2012; 64(supplement): 206-212.

15- Nishiyama N, Kataoka K. ***Current State, Achievements, and Future Prospects of Polymeric Micelles as Nanocarriers for Drug and Gene Delivery.*** Pharmacol Ther 2006; 112(3): 630-48.

16-Bozzuto G, Molinari A. ***Liposomes as Nanomedical Devices.*** Int J Nanomedicin 2015; 10: 975-99.

17-Samad A, Sultana Y, Aqil M. ***Liposomal Drug Delivery Systems: An Update Review.*** Curr Drug Deliv 2007; 4(4): 297-305.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-20]

[DOI: 10.18502/ssu.v28i2.3480]

18- Deshpande PP, Biswas S, Torchilin VP. ***Current Trends in the Use of Liposomes for Tumor Targeting.*** Nanomedicine(Lond) 2013; 8(9): 1-32 .

19- Askari M, Nikoonahad Lotfabadi N. ***Evaluation of Niosomal Nano-Carriers Capabilities on Toxicity Preservation and Delivery of Pomegranate Peel Extract in Cell Culture Conditions (MCF-7 Cell Line of Breast Cancer).*** DMed 2018; 26 (5): 9-20. [Persian]

20- Bhui K, Tyagi S, Prakash B, Shukla Y. ***Pineapple Bromelain Induces Autophagy, Facilitating Apoptotic Response in Mammary Carcinoma Cells.*** BioFactors 2010; 36(6): 474-82.

21- Mohebbi M, Khodaparast MH, Vendi M, Neshastehgir MH. ***Preparation of Nano-Liposomes Containing Orange Oily Essential Oil Using a Thermal Method.*** Journal of Innovation in Food Science and Technology 2018; 10(2): 115-22. [Persian]

22- Lu Q, Li D-C, Jiang J-G. ***Preparation of a Tea Polyphenol Nanoliposome System and its Physicochemical Properties***. J Agric Food Chem 2011; 59(24): 13004-11.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-20]

[DOI: 10.18502/ssu.v28i2.3480]

Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences
Vol 28| NO 2 | May 2020

Received: 8 Jan 2019
Accepted: 11 Sep 2019

Evaluation of Antioxidant and Cytotoxic Effects of Liposomes Containing Pineapple Fruit Extract on Melanoma Skin Cancer (A375 Cell Line)

Raziah Gholamian[1], Narges Nikoonahad Lotfabadi[*2], Bibi Fatemeh Haghiralssadat[3]

Original Article

Introduction: The use of The use of nanoparticles containing antioxidant and cytotoxic plant compounds can have a special place in the treatment of melanoma. The aim of this study was to evaluate the antioxidant and cytotoxic effects of pineapple fruit extract on skin cancer.

Methods: In the present experimental study, liposomal vesicles were prepared using cholesterol, soy phosphatidylcholine, and polyethylene glycol, and pineapple fruit extract was loaded in liposomes. Physicochemical characteristics were evaluated using zeta sizer, FTIR and AFM. Finally, the toxicity of different concentrations of extract and liposome-containing extract was evaluated in A-375 melanoma cell line using MTT assay. DPPH test was used to evaluate the antioxidant properties of the extract and liposomes containing extract. Statistical analysis was performed using Excel and SPSS (Ver 22) software and Duncan and Student's T-tests were used for statistical conclusion.

Results: According to this study showed the encapsulation efficiency of pineapple extract containing liposome, liposome size and its surface charge were 40%, 89.9 nm and -8.8 mV, respectively. FTIR analysis and AFM micrographs also confirm that there is no interaction of the extract with its nanosystem, the spherical morphology of the liposomes and its appropriate distribution and dispersion. The toxicity level of pineapple extract is higher when had been encapsulated rather than the non-encapsulated extract on the A-375 cell line.

Conclusion: Pineapple fruit extract has cytotoxic effects on A-375 cell line and the present liposomal nanocarrier can be a suitable carrier for the delivery of the extract and inhibit the growth and proliferation of these cells.

Keywords: Antioxidant, Liposome, Pineapple, Melanoma, Cytotoxic

Citation: Gholamian R, Nikoonahad Lotfabadi N, Haghiralssadat F. **Evaluation of Antioxidant and cytotoxic effects of liposomes containing pineapple fruit extract on Melanoma skin cancer (A375 cell line).** J Shahid Sadoughi Uni Med Sci 2020; 28(2): 2411-24

[1]Biology Department, Faculty of Sciences, Science and Arts University, Yazd, Iran.

[2]Biology Department, Faculty of Sciences, Science and Arts University, Yazd, Iran.

[3]Department of Advanced Medical Sciences and Technology, School of Paramedicine, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran.

***Corresponding author: Tel:** 035-38264085**, email:** nikounahad_1976@yahoo.com

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-20]

[DOI: 10.18502/ssu.v28i2.3480]