

Research Paper

Effect of Amygdalin on Murine Melanoma Cancer Cell Line and Normal Human Fibroblast Cells



Azam Moslehi¹, Tahereh Komeili Movahhed¹, Hoda Abolhasani¹, *Fatemeh Heidari¹

1. Cellular and Molecular Research Center, Qom University of Medical Sciences, Qom, Iran.



Citation Moslehi A, Komeili Movahhed T, Abolhasani H, Heidari F. [Effect of Amygdalin on Murine Melanoma Cancer Cell Line and Normal Human Fibroblast Cells (Persian)]. *Qom Univ Med Sci J.* 2023; 17:E1948.1. <https://doi.org/10.32598/qums.17.1948.1>

doi <https://doi.org/10.32598/qums.17.1948.1>

Received: 05 Mar 2023

Accepted: 08 May 2023

Available Online: 29 Dec 2023

ABSTRACT

Background and Objectives Melanoma is the most aggressive and fatal type of skin cancer caused by the uncontrolled proliferation of melanocytes. The ineffectiveness of existing therapies has encouraged researchers to use herbal medicines. Amygdalin is a natural cyanogenic glycoside that is found in fruits and seeds of different plants and has antiproliferative, antioxidant, and immune-regulating activities. In this study, we aim to evaluate the effect of amygdalin against murine melanoma cancer cell line and normal human fibroblast cells.

Methods The murine melanoma cancer cell line (B16F10) and human foreskin fibroblasts (HFF) cells were exposed to different concentrations of amygdalin and dacarbazine (a standard anticancer drug) for 24 and 48 hours. The half-maximal inhibitory concentration (IC_{50}) of amygdalin was obtained using the MTT assay and analyzed in GraphPad Prism and Excel applications.

Results Amygdalin had a high cytotoxic effect on the melanoma cell line within 48 hours of exposure, which is comparable to the cytotoxicity of dacarbazine at the same time. Amygdalin had no cytotoxic effect on HFF cells, while dacarbazine caused a high toxicity on HFF cells.

Conclusion Amygdalin, by inhibiting the proliferation of cancer cells in a dose-dependent manner, may prevent the adverse effects of chemical drugs on healthy cells and can be an appropriate treatment option for melanoma.

Keywords:

Amygdalin,
Melanoma, Skin,
Neoplasms

* Corresponding Author:

Fatemeh Heidari, Associate Professor.

Address: Cellular and Molecular Research Center, Qom University of Medical Sciences, Qom, Iran.

Tel: +98 (912) 7509194

E-Mail: fheidari@muq.ac.ir



Copyright © 2023 Qom University of Medical Sciences.
This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International license (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>).
Noncommercial uses of the work are permitted, provided the original work is properly cited.

Extended Abstract

Introduction

Melanoma is the most aggressive and fatal type of skin cancer caused by uncontrolled proliferation of melanocytes. The most common form of melanoma is cutaneous melanoma, but it can also involve mucosal surfaces, thoracic ducts, eyes, inner ear, and leptomeninges. The ineffectiveness of existing therapies has encouraged researchers to use herbal medicines. Amygdalin, which belongs to the cyanogenic glycoside family, is found in the seeds of plants such as apricots, peaches, and cherries. It has been shown that amygdalin has anti-tumor properties against many cancers such as colon, breast, and lung cancers. Amygdalin is a natural cyanogen glycoside with anti-proliferative, antioxidant, and immune-regulating activities. This study aimed to determine the cytotoxic effects of amygdalin against murine melanoma cancer cell line (B16F10) and human foreskin fibroblasts (HFF).

Methods

The B16F10 and HFF cells were grown in flasks containing Roswell Park Memorial Institute-1640. Both cell groups were treated with amygdalin at concentrations of 160, 80, 40, 20, 10, and 5×10^3 mM for 24 and 48 hours. To prepare serial dilutions of amygdalin, 0.457 mg of amygdalin was dissolved in 1 CC of distilled water. This value was considered as a concentration of 1000 and the concentration of other dilutions was calculated using the formula $M_1V_1=M_2V_2$. Then, the desired dilutions were prepared in a complete culture medium. The dilutions of the standard drug dacarbazine were also prepared by the same method. The culture medium on the cells was removed gently, and then the cells were exposed to different drug concentrations. The positive control (1 mM H_2O_2) and a negative control (complete culture medium) were used. Finally, after the end of the exposure time (24 and 48 hours), the half-maximal inhibitory concentration (IC_{50}) of amygdalin was obtained using the MTT assay test and analyzed in GraphPad Prism and Excel applications. It should be noted that the experiment was performed 3 times, and each repeated thrice. The percent viability for the B16F10 cell line and normal HFF cells were evaluated, and the data were compared with the negative and positive controls.

Results

Amygdalin induced dose-dependent cytotoxicity in the B16F10 cell line. It had high cytotoxic effect on the melanoma B16F10 cell line within 48 hours of exposure, which is comparable to the cytotoxicity of dacarbazine at

the same time. The IC_{50} value of dacarbazine against the B16F10 cell line was calculated as 2.2733 ± 16.18 μ mol after 48-h treatment, while the IC_{50} value against the HFF after 48 hours was calculated as 153.0 ± 6.52 μ mol. The results showed that amygdalin had no cytotoxic effect on normal cells, while dacarbazine caused a lot of toxicity on normal cells after exposure for 48 hours.

Conclusion

In our study, using the MTT test, it was determined that amygdalin decreased the viability of B16F10 cancer cells in a dose-dependent manner and did not show cytotoxic effects on healthy HFF cells. Therefore, in case of clinical use, amygdalin may be able to prevent the adverse effects of chemical drug use. These results are consistent with the data obtained from other studies which has been proposed that amygdalin has an antitumor effect on solid tumors including lung cancer, bladder cancer, and renal cell carcinoma. By affecting the cell cycle, amygdalin exhibited antitumor effect by inducing apoptosis and cytotoxicity. It was reported that amygdalin inhibited the proliferation of SNU-C4 cancer cells by suppressing the expression of cell cycle genes (ATP-binding cassette, exonuclease I, topoisomerase I, and sub-family F). The real-time PCR results revealed that the mRNA levels of these cycle genes in the SNU-C4 cell line were reduced by amygdalin treatment. We used the MTT test. The real-time PCR and cDNA microarrays were not used in our study. The results of Park et al. and the results obtained from this study support each other. In Dimitrov et al.'s study on the relationship of amygdalin with colorectal carcinoma (HT-29) and hepatocellular carcinoma (HepG2) cell lines, amygdalin concentrations were determined by reverse-phase high-performance liquid chromatography. They reported antigenotoxic, antimutagenic, and anticarcinogenic effects of amygdalin. The IC_{50} values obtained after our experiments may be useful in determining the starting dose in studies with experimental animals such as mice, and reducing the number of animals needed. We suggest that amygdalin can be conjunctive therapy for melanoma. However, more research is needed to clarify its medicinal mechanisms in terms of optimal dosage.

Ethical Considerations

Compliance with ethical guidelines

This study was approved by [Qom University of Medical Sciences](#) (Code: IR.MUQ.AEC.1401.003). All ethical principles were considered.

Funding

This study was funded by [Qom University of Medical Sciences](#).

Authors contributions

All authors contributed equally to preparing this paper.

Conflicts of interest

All authors declare no conflict of interest.

Acknowledgements

The authors would like to thank the Cellular and Molecular Research Center of [Qom University of Medical Sciences](#), who provided the necessary facilities to carry out the experiments.

مقاله پژوهشی

بررسی اثر آمیگدالین بر سلول‌های سرطانی ملانوما در مقایسه با سلول‌های سالم پوست

اعظم مصلحی^۱، طاهره کمیلی موحد^۱، هدی ابوالحسنی^۱، فاطمه حیدری^۱

۱. مرکز تحقیقات سلولی و ملکولی، دانشگاه علوم پزشکی قم، قم، ایران.

Use your device to scan
and read the article online**Citation** Moslehi A, Komeili Movahhed T, Abolhasani H, Heidari F. [Effect of Amygdalin on Murine Melanoma Cancer Cell Line and Normal Human Fibroblast Cells (Persian)]. *Qom Univ Med Sci J.* 2023; 17:E1948.1. <https://doi.org/10.32598/qums.17.1948.1>**doi** <https://doi.org/10.32598/qums.17.1948.1>

چکیده

زمینه و هدف: ملانوما، تهاجمی‌ترین و کشنده‌ترین انواع سرطان پوست است که به علت تکثیر کنترل نشده ملانوسیت‌ها ایجاد می‌شود. با توجه به ناکارآمد بودن روش‌های درمانی موجود، به استفاده از داروهای گیاهی توجه شده است. آمیگدالین یک ترکیب گلیکوزید سیانوزن طبیعی است که در میوه‌ها و مغز دانه‌های مختلف وجود دارد و دارای فعالیت‌های ضد تکثیری، آنتی‌اکسیدانی و تنظیم‌کننده ایمنی است. در این مطالعه، تأثیر آمیگدالین بر سلول‌های سرطانی ملانوما در مقایسه با سلول‌های سالم پوست بررسی شد.

روش بررسی: سلول‌ها در معرض غلظت‌های مختلف آمیگدالین و داروی استاندارد ضد سرطان داکاربازین قرار گرفتند. داده‌های به‌دست‌آمده (تست MTT در ۲۴ و ۴۸ ساعت) با استفاده از GraphPad Prism و Exell تجزیه و تحلیل شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد آمیگدالین بیشترین اثر سمیت سلولی را در مدت زمان ۴۸ ساعت مواجهه بر رده سلولی ملانوما داشته است. آمیگدالین بر سلول‌های سالم تأثیر سیتوتوکسیک نداشت، اما داروی ضد سرطان داکاربازین، سمیت بسیار زیادی ایجاد کرد.

نتیجه‌گیری: آمیگدالین در محدوده دُزهای درمانی با مهار رشد سلول‌های سرطانی شاید بتواند از عواض نامطلوبی که در صورت استفاده از داروهای شیمیایی در سلول‌های سالم بدن بروز می‌یابد، پیشگیری کرده و گزینه مناسبی برای درمان سرطان ملانوما باشد.

تاریخ دریافت: ۱۴ اسفند ۱۴۰۱

تاریخ پذیرش: ۱۸ اردیبهشت ۱۴۰۲

تاریخ انتشار: ۰۸ دی ۱۴۰۲

کلیدواژه‌ها:

آمیگدالین، ملانوما، پوست، سلول‌های توموری

* نویسنده مسئول:

دکتر فاطمه حیدری

نشانی: قم، دانشگاه علوم پزشکی قم، مرکز تحقیقات سلولی و ملکولی.

تلفن: ۰۹۱۹۴ ۷۵۰۹۱۲ (۹۱۲) +۹۸

رایانامه: fheidari@muq.ac.ir

Copyright © 2023 Qom University of Medical Sciences.

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International license (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>).

Noncommercial uses of the work are permitted, provided the original work is properly cited.

مقدمه

را القا کند؛ بنابراین به نظر می‌رسد این ترکیب بتواند برای درمان سرطان و کاهش دردهای ناشی از آن مفید واقع شود. این مطالعه به منظور بررسی سایتوتوکسیسیتهی آمیگدالین بر سلول‌های ملانومای موشی رده B16F10 و سلول‌های سالم فیبروبلاستی پوست سالم رده HFF انجام شد.

مواد و روش‌ها

کاشت سلول‌ها در پلیت‌های ۹۶ خانه

در این مطالعه از سلول‌های ملانومای موشی رده B16F10 و سلول‌های سالم فیبروبلاستی رده HFF که از انستیتو پاستور تهران خریداری شده بود، برای بررسی اثر سمیت آمیگدالین استفاده شد. ابتدا سلول‌ها در محیط کشت RPMI 1640 حاوی ۱۰ درصد FBS و ۱ درصد پنی‌سیلین / استرپتومایسین کشت داده شدند. بعد از اطمینان از سلامت سلول‌های کشت داده شده (مورفولوژی و تعداد کافی) در زیر میکروسکوپ، تریپسینه کردن و شمارش سلولی انجام شد. سپس ۵۰۰۰ سلول در هر چاهک پلیت ۹۶ چاهکی، ریخته شد و برای مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷°C و غلظت CO2 برابر ۵ درصد و شرایط رطوبتی ۹۵ درصد نگهداری شد.

آماده‌سازی رقت‌های سریالی آمیگدالین و داکاربازین

۰/۴۵۷ میلی‌گرم از آمیگدالین در یک سی‌سی آب مقطر حل شد. این مقدار به عنوان غلظت ۱۰۰۰ در نظر گرفته شد و با استفاده از فرمول $m1v1=m2v2$ سایر رقت‌ها محاسبه شد. سپس رقت‌های مورد نظر از دارو در محیط کشت کامل آماده شد. رقت‌های داروی استاندارد داکاربازین هم به روش فوق آماده شد.

مواجهه سلول‌ها با رقت‌های سریالی آمیگدالین و داکاربازین

بعد از تخلیه محیط کشت بر سلول‌ها، رقت‌های تهیه‌شده از آمیگدالین و داروی استاندارد داکاربازین بر سلول‌ها ریخته شد. در هر پلیت ۹۶ خانه، علاوه بر چاهک‌های مربوط به غلظت‌های مختلف دارویی، چاهک‌هایی هم به عنوان شاهد مثبت (محلول آب اکسیژنه یک میلی‌مولار در محیط کشت کامل که سلول‌ها را به‌طور کامل می‌کشد) و شاهد منفی (محیط کشت کامل بدون هیچ ترکیبی که باعث رشد طبیعی سلول‌ها می‌شود) در نظر گرفته شد. در نهایت، بعد از اتمام زمان مواجهه (۲۴ و ۴۸ ساعت)، مقادیر IC50 داروی آمیگدالین با استفاده از تست MTT به دست آمد. آزمایش ۳ بار و هر بار در ۳ تکرار انجام شد.

تهیه محلول MTT و مواجهه سلول‌ها با آن

مقدار مناسبی از پودر زرد رنگ و حساس به نور MTT توزین

ملانوما، تهاجمی‌ترین و کشنده‌ترین انواع سرطان پوست و پنجمین سرطان شایع در بزرگسالان است [۱، ۲] که در نتیجه تکثیر کنترل‌نشده ملانوسیت‌ها (سلول‌های تولیدکننده رنگدانه پوست) ایجاد می‌شود [۳]. رایج‌ترین شکل ملانوما، ملانومای پوستی است، اما می‌تواند سطوح مخاطی، مجاری قفسه سینه، چشم، گوش داخلی و لپتومننژ را نیز درگیر کند. هر چند ملانوما فقط ۵ درصد بدخیمی‌های پوستی را شامل می‌شود، اما موجب ۷۵ درصد از مرگ‌های ناشی از سرطان پوست می‌شود. ملانوما در گذشته بیماری نادری بوده، اما در ۵۰ سال اخیر، میزان بروز آن به‌طور چشمگیری افزایش یافته است [۲، ۴]. از عوامل مستعدکننده این بیماری می‌توان به قرار گرفتن طولانی‌مدت در معرض نور شدید خورشید، داشتن نژاد سفید، سابقه خانوادگی، ژنتیک، سابقه ملانوم قبلی و وجود خال‌های غیرطبیعی در بدن اشاره کرد [۵].

تشخیص زودهنگام این سرطان بسیار مهم است، به‌طوری‌که با تشخیص بیماری در مراحل اولیه، میزان مرگ‌ومیر ۱ درصد بوده، اما اگر دیر تشخیص داده شود، احتمال مرگ تا ۸۶ درصد افزایش می‌یابد؛ بنابراین تشخیص زودهنگام برای موفقیت درمان اهمیت بسیاری دارد. درمان بسته به محل، مرحله و مشخصات ژنتیکی فرد مبتلا شامل برداشتن توده از طریق جراحی، شیمی‌درمانی، رادیوتراپی، فوتوداینامیک‌تراپی، ایمونوتراپی یا درمان هدفمند است [۶].

هر چند در موارد پیشرفته و متاستاتیک، شیمی‌درمانی اولین گزینه درمان محسوب می‌شود و علائم بالینی بیمار را بهبود می‌بخشد، اما تأثیری در میزان بقای بیمار ندارد. اگرچه ترکیب جراحی با پرتودرمانی و شیمی‌درمانی پیش‌آگهی بهتری دارد، اما موارد مسمومیت و شکست چنین روش‌هایی نیز غیرمعمول نیست [۷].

امروزه محققان به استفاده از ترکیبات گیاهی برای درمان انواعی از سرطان‌ها توجه کرده‌اند. این ترکیبات به دلیل ارزان بودن، در دسترس بودن و عوارض جانبی کمتر، توجه محققان را به خود جلب کرده است. آمیگدالین یک ترکیب گلیکوزید سیانوزن طبیعی است که در میوه‌ها و مغز دانه میوه‌هایی مانند زردآلو، هلو و بادام تلخ وجود دارد و با دارا بودن فعالیت‌های ضد تکثیری، آنتی‌اکسیدانی و تنظیم‌کننده ایمنی ممکن است گزینه مناسبی برای درمان سرطان باشد [۸، ۹]. بسیاری از نام مستعار ویتامین B17 یا Laetrile برای آن استفاده می‌کنند. خوشبختانه تاکنون هیچ سمیتی در «دژ درمانی» برای آمیگدالین خالص گزارش نشده است [۸، ۱۰، ۱۱].

آمیگدالین می‌تواند به HCN و بنزالدئید تجزیه شود که HCN یک ترکیب ضد تومور بوده و بنزالدئید نیز می‌تواند عمل ضد درد

یافته‌ها

در این پژوهش ارزیابی اثر سمیت سلولی آمیگدالین بر رده‌های سلولی B16F10 و HFF انجام شد. اثر سمیت سلولی داکاربازین نیز برای مقایسه و غنی‌تر شدن پژوهش بررسی و همراه با نتایج حاصل گزارش شده است. سلول‌ها با غلظت‌های متفاوت آمیگدالین $10^3 \times (10, 20, 40, 80, 160)$ میکرومولار برای مدت ۲۴ و ۴۸ ساعت تیمار شدند. تصویر شماره ۱ نشان‌دهنده اثر سمیت سلولی آمیگدالین بر رده‌های سلولی B16F10 و HFF است. در غلظت‌های فوق درصد زنده‌مانی سلول‌های B16F10 در زمان ۲۴ ساعت به ترتیب برابر $92/74 \pm 1/46$ ، $87/8 \pm 0/04$ ، $63/81 \pm 2/63$ ، $67/08 \pm 2/86$ ، $51/94 \pm 1/29$ ، $43/38 \pm 0/19$ ، $38/9 \pm 0/66$ ، $34/58 \pm 1/74$ ، $31/31 \pm 1/99$ ، $29/13 \pm 0/7$ و در زمان ۴۸ ساعت به ترتیب برابر $37/2 \pm 2/37$ ، $31/02 \pm 2/37$ ، $29/13 \pm 0/7$ ، $29/13 \pm 0/7$ ، $29/13 \pm 0/7$ ، $29/13 \pm 0/7$ ، $29/13 \pm 0/7$ ، $29/13 \pm 0/7$ ، $29/13 \pm 0/7$ ، $29/13 \pm 0/7$ بود.

با بررسی نتایج آزمایش MTT، مشاهده شد که با افزایش غلظت آمیگدالین و با افزایش زمان تیمار، درصد سلول‌های زنده، نسبت به گروه کنترل به‌طور معناداری کاهش یافته است.

مقادیر IC50 (half maximal inhibitory concentration) (غلظت داروی مورد نیاز برای مهار ۵۰ درصد رشد سلولی) حاصل از آزمون غلظت‌های مختلف آمیگدالین و داروی داکاربازین بر رده‌های سلولی B16F10 و HFF توسط روش MTT در جدول شماره ۱ به‌طور خلاصه نشان داده شده است. غلظت‌های مختلف داروهای مورد مطالعه برای مدت ۲۴ و ۴۸ ساعت ارزیابی شده است.

با توجه به نتایج به‌دست‌آمده، آمیگدالین بیشترین اثر سمیت سلولی را در مدت ۴۸ ساعت مواجهه بر رده سلولی B16F10 نشان داده است. در این مطالعه اثر آمیگدالین و داکاربازین بر سلول‌های سالم HFF نیز در زمان‌های ۲۴ و ۴۸ ساعت بررسی شد. نتایج نشان داد آمیگدالین بر سلول‌های سالم تأثیر سیتوتوکسیک قابل ملاحظه‌ای ندارد، اما داروی ضد سرطان داکاربازین می‌تواند سمیت بسیار زیادی را پس از مواجهه ۴۸ ساعت ایجاد کند (جدول شماره ۱ و تصویر شماره ۱).

شده و در بافر فسفات (PBS, pH 7.2) استریل حل شد تا محلول ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به دست آید. این محلول توسط فیلتر سرنگی ۰/۲۲ میکرون فیلتر شد. سپس در زیر هود و بدون روشن کردن لامپ هود (تاریکی)، ۲۰ میکرولیتر از محلول آماده به هر چاهک اضافه شد. به منظور انجام واکنش، پلیت‌ها به مدت ۴ ساعت در انکوباتور 37°C قرار داده شد.

اتمام مواجهه سلول‌ها با محلول MTT و قرائت میزان جذب

بعد از گذشت ۴ ساعت از زمان انکوباسیون، محیط کشت حاوی محلول MTT روی چاهک‌ها به‌طور کامل خارج شد. سپس روی هر چاهک ۲۰۰ میکرولیتر DMSO اضافه شد تا کریستال‌های فورمازان که در نتیجه، فعالیت سلول‌های زنده با محلول MTT ایجاد شده بود را حل کند. پلیت‌ها به مدت ۳۰ دقیقه روی دستگاه تکان‌دهنده پلیت قرار داده شد. سپس جذب پلیت‌ها توسط دستگاه الیزا ریدر^۱ در طول موج 570nm قرائت شد.

آنالیز داده‌های حاصل از آزمایش MTT

داده‌های حاصل از تست MTT، توسط نرم‌افزارهای Graph-PRISM (version 6.01) و Exell آنالیز شد و درصد مهار رشد سلول‌ها با فرمول شماره ۱ محاسبه شد:

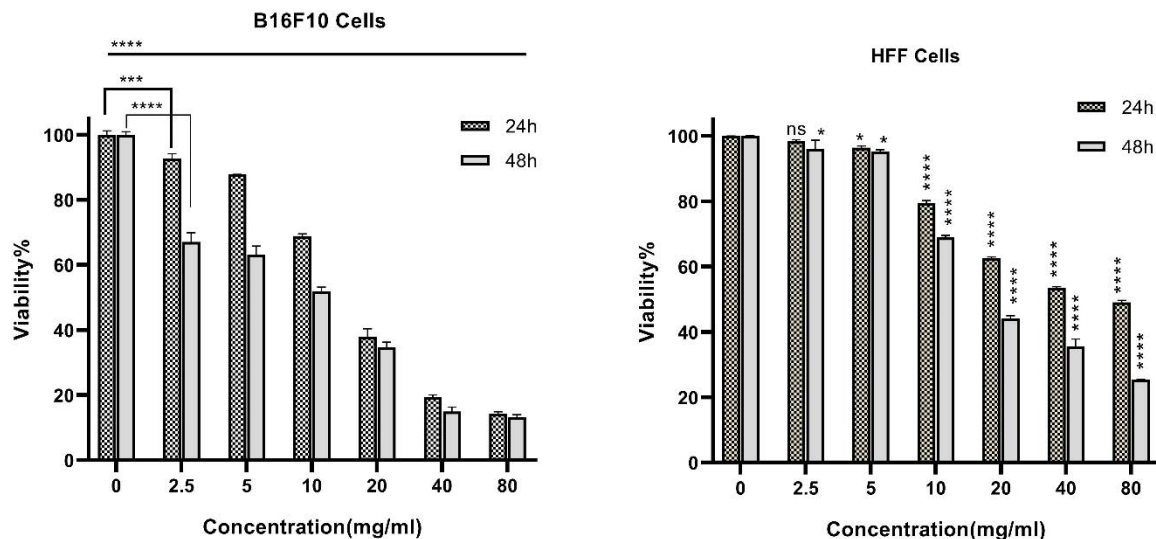
$$1. \% \text{ Growth Inhibition} = \frac{1 - (\text{Test V} - \text{Min V})}{(\text{Max V} - \text{Min V})} \times 100$$

در فرمول شماره ۱، Test V برابر میزان سلول‌های زنده برای ترکیبات آزمایش‌شده، Min V حداقل سلول‌های زنده که به عنوان شاهد مثبت است و Max V برابر با حداکثر سلول‌های زنده است که به عنوان شاهد منفی است، مقدار IC50 که برابر با غلظت داروی مورد نیاز برای مهار رشد ۵۰ درصد سلول‌هاست، توسط نرم‌افزار PRISM و با آنالیز رگرسیون غیرخطی محاسبه و رسم شد.

1. ELISA Reader

جدول ۱. مقادیر IC50 آمیگدالین و داروی داکاربازین با روش MTT Assay بر رده‌های سلولی B16F10 و HFF در زمان‌های ۲۴ و ۴۸ ساعت

رده سلولی	داکاربازین (μmol)		آمیگدالین $\times 10^3$ (μmol)	
	۴۸ ساعت	۲۴ ساعت	۴۸ ساعت	۲۴ ساعت
B16F10	$16/18 \pm 2/273$	$40/9 \pm 4/55$	$16/78 \pm 1/2$	$31/64 \pm 0/8$
HFF	$153/0 \pm 6/52$	$285/9 \pm 14/8$	$34/10 \pm 3/5$	$10/17 \pm 15/3$



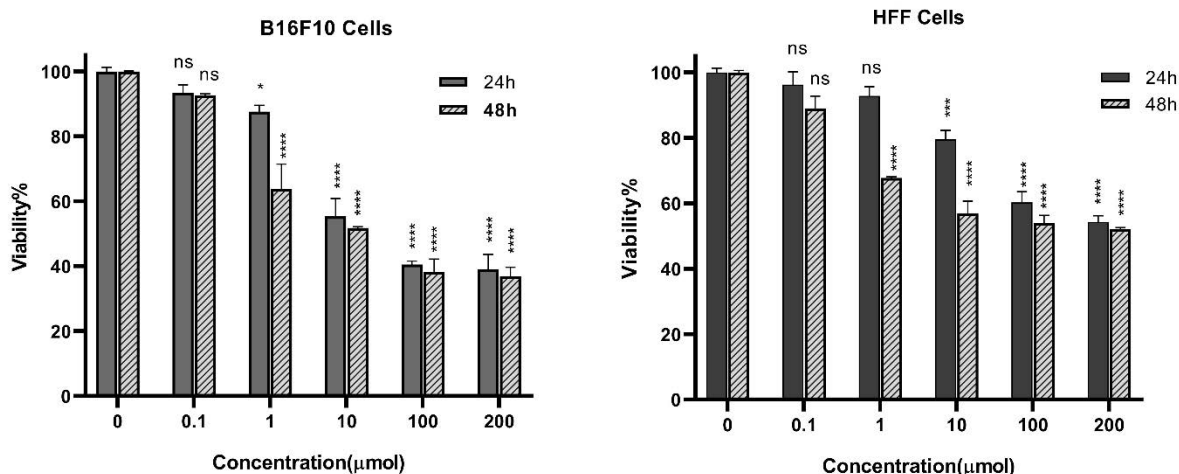
مجله
دانشگاه علوم پزشکی قم

تصویر ۱. درصد بقای سلول‌های B16F10 و HFF در برابر غلظت‌های مختلف داروی آمیگدالین پس از ۲۴ و ۴۸ ساعت. داده‌ها به صورت میانگین \pm انحراف معیار نمایش داده شد که حاصل حداقل ۳ بار آزمایش مجزاست. $P < 0.05$ ، $***P < 0.001$ ، $****P < 0.0001$ نشان‌دهنده اختلاف معنادار بین میانگین‌ها در گروه‌های آزمایش و کنترل (RPMI) است. (ns=non significant)

بحث

در این پژوهش، اثر آمیگدالین بر رده سلول سرطانی ملانوما و سلول‌های سالم پوست بررسی شد. اثر سمیت سلولی داکاربازین نیز به عنوان یک داروی استاندارد برای مقایسه بررسی شد و مقادیر IC_{50} به دست آمده از آنالیز نتایج برای مدت ۲۴ و ۴۸ ساعت بعد از تیمار نشان داد آمیگدالین بیشترین اثر سمیت

درصد بقای سلول‌های B16F10 و HFF در برابر غلظت‌های مختلف داروی آمیگدالین و داکاربازین به صورت مقایسه‌ای در زمان‌های ۲۴ و ۴۸ ساعت بعد از تیمار در **تصویر شماره ۲** آورده شد. داده‌ها به صورت میانگین \pm انحراف معیار نمایش داده شده که حاصل حداقل ۳ بار آزمایش مجزا هستند. در همه موارد $P < 0.05$ به عنوان اختلاف معنادار بین میانگین‌ها در گروه‌های آزمایش و کنترل در نظر گرفته شده است.



مجله
دانشگاه علوم پزشکی قم

تصویر ۲. درصد بقای سلول‌های B16F10 و HFF در برابر غلظت‌های مختلف داروی داکاربازین پس از ۲۴ و ۴۸ ساعت. داده‌ها به صورت میانگین \pm انحراف معیار نمایش داده شد که حاصل حداقل ۳ بار آزمایش مجزاست. $P < 0.05$ ، $***P < 0.001$ ، $****P < 0.0001$ نشان‌دهنده اختلاف معنادار بین میانگین‌ها در گروه‌های آزمایش و کنترل (RPMI) است. (ns=non significant)

در مطالعات دیگر نشان داده شد آمیگدالین دارای اثر ضد توموری در تومورهای جامد مانند سرطان ریه، سرطان مثانه و کارسینوم سلول کلیه بوده و با تأثیر بر چرخه سلولی، القای آپوپتوز و سمیت سلولی و تنظیم عملکرد ایمنی می‌تواند اثرات ضد توموری از خود نشان دهد. با این حال، تحقیقات بیشتری برای روشن شدن سازوکارهای دارویی آن از نظر دُز بهینه، امکان استفاده ترکیبی آمیگدالین با سایر داروهای ضد تومور و حتی سنتز مصنوعی اجزای فعال در آمیگدالین، به منظور افزایش فعالیت‌های ضد توموری آن لازم است انجام شود [۱۸، ۱۹].

بدین منظور، در مطالعه‌ای که چن و همکاران از یک رده سلول سرطانی گرفته‌شده از سرویکس انسان استفاده کردند، در گروه درمان‌شده با آمیگدالین، تغییرات تیپیک آپوپتوز دیده شد که سازوکار آن افزایش فعالیت کاسپاز-۳ (یک عامل مهم در روند آپوپتوز) و کاهش فعالیت Bcl2 (یک پروتئین ضد آپوپتوز) بود [۲۰].

در مطالعه دیگری که مکارویک و همکاران در سال ۲۰۱۴ به منظور بررسی اثر مهار آمیگدالین بر رشد سلول‌های سرطانی مثانه در محیط آزمایشگاه انجام دادند، اثر آمیگدالین بر ۳ رده سلول سرطانی مثانه بررسی شد. آن‌ها دریافتند که آمیگدالین به صورت وابسته به دُز موجب کاهش رشد و تکثیر در هر ۳ رده سلولی و توقف چرخه سلولی می‌شود. همچنین این ماده از طریق کاهش فعالیت سیکلین A و Cdk2 مانع رشد تومور می‌شود. علاوه بر آن، در این مطالعه مشخص شد آمیگدالین علاقه‌ای از توکسیسیتی در این سلول‌ها ایجاد نمی‌کند [۲۱].

در مطالعه حاضر نیز آمیگدالین بر سلول‌های سالم تأثیر سیتوتوکسیک نداشت که احتمالاً به دلیل پایین‌تر بودن فعالیت آنزیم بتا گلوکوزیداز در این سلول‌ها نسبت به سلول‌های توموری باشد. در مطالعات نشان داده شد آمیگدالین بسته به دُز و زمان قرار گرفتن در معرض سلول‌ها، با فعال‌سازی کاسپاز-۳ از طریق کاهش پروتئین آنتی آپوپتوز Bcl-2 و افزایش پروتئین پروآپوپتوز Bax در سلول‌های سرطانی پروستات توانایی القای آپوپتوز را دارد.

بسته به سطح سیانید داخل سیتوپلاسم، آمیگدالین می‌تواند به عنوان ضد سرطان عمل کند. با عمل آنزیم گلوکوزیداز، تجزیه آمیگدالین باعث افزایش سیانید و بنزالدئید می‌شود. بنزالدئید که از آمیگدالین تجزیه‌شده آزاد می‌شود، می‌تواند با فعال کردن کاسپازهای ۳، ۸ و ۹ سیتوپلاسم آپوپتوز را القا کند. سیانید با مهار فعالیت سیتوکروم C اکسیداز میتوکندریایی و افزایش تولید ROS و در نهایت، آپوپتوز سلول‌های توموری می‌شود [۲۲].

این نتایج با داده‌های حاصل از مطالعه حاضر هم‌خوانی داشت و در مطالعه حاضر نیز آمیگدالین در محدوده دُزهای درمانی، تأثیر سیتوتوکسیک بر سلول‌های سالم نداشت؛ بنابراین در

سلولی را بر رده سلولی B16F10 بعد از ۴۸ ساعت مواجهه نشان داده است که این میزان با قدرت سمیت سلولی داروی داکاربازین در همان زمان قابل مقایسه است، اما بر سلول‌های سالم تأثیر سیتوتوکسیک نداشته است، درحالی‌که داروی ضد سرطان داکاربازین سمیت زیادی را پس از مواجهه ۴۸ ساعت در سلول‌های سالم نیز ایجاد کرده است (جدول شماره ۱).

اثر ضد سرطانی آمیگدالین یکی از موضوعاتی است که در سال‌های اخیر مورد توجه محققان قرار گرفته است. از عملکردهای ضد سرطانی آن می‌توان به تجزیه مواد سرطان‌زا در بدن، مسدود کردن منابع تغذیه سلول‌های تومور و مهار رشد سلول‌های سرطانی و القای آپوپتوز اشاره کرد. تحقیقات نشان داده است خوردن آمیگدالین باعث ایجاد سم سیانید می‌شود، زیرا مولکول آمیگدالین دارای گروه نیتریل است و به دلیل اثر بتاگلوکوزیداز در بدن انسان می‌تواند به صورت آنیون سیانید آزاد شود. این ماده، به خصوص در سرطان‌های پستان، پروستات، ریه، روده بزرگ و رکتوم مورد توجه قرار گرفته است [۱۲-۱۴].

مکارویک و همکاران در مطالعه‌ای چندین رده سلولی سرطان پروستات را در معرض غلظت‌های مختلف آمیگدالین قرار دادند و دریافتند که تکثیر سلولی به‌طور قابل ملاحظه‌ای در سلول‌هایی که در فاز G2/M و فاز S قرار داشتند، مهار شد. از طرفی، بیان پروتئین‌های چرخه سلولی مانند Cyclin A، CKD2، CKD1 و Cyclin B پس از تجویز آمیگدالین به‌طور چشمگیری کاهش یافت. این نتایج نشان داد آمیگدالین با تنظیم چرخه سلولی سلول‌های سرطانی توانسته از تکثیر سلولی جلوگیری کند [۱۵].

در مطالعه دیگری که پس از تیمار سلول‌های سرطانی با دُز ۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر آمیگدالین به مدت ۲۴ ساعت انجام شد، نتایج نشان داد آمیگدالین، در سرطان پروستات و سرطان کولورکتال می‌تواند با تنظیم پروتئین‌ها یا ژن‌های مرتبط با چرخه سلولی از تکثیر سلول‌های بدخیم تومور جلوگیری کند، بر چرخه سلولی تأثیر بگذارد و تکثیر سلولی را مهار کند [۱۶].

در مطالعه‌ای که توسط اعمازاده و همکاران بر سلول‌های سرطانی پانکراس انجام شد، دو عصاره اتانولی هسته زردآلوی تلخ و شیرین و آمیگدالین به صورت وابسته به غلظت و زمان باعث مهار رشد سلول‌های سرطانی پانکراس شد. در واقع، تیمار با آمیگدالین و عصاره اتانولی هسته زردآلوی تلخ و شیرین از طریق مسیر میتوکندریایی باعث القای آپوپتوز در سلول‌های سرطانی پانکراسی شده بود [۱۷]. در مطالعه حاضر نیز تأثیر آمیگدالین بر مهار رشد سلول‌های سرطانی به صورت وابسته دُز بود و با افزایش غلظت آمیگدالین، مهار رشد بیشتری دیده شد. این مطالعات می‌تواند نشان‌دهنده توانایی غلظت‌های بالاتر بر میزان پیشگیری از رشد و تکثیر سلول‌های سرطانی باشد.

صورت استفاده بالینی ممکن است بتواند از عواض نامطلوبی که در صورت استفاده از داروهای شیمیایی در سلول‌های سالم بدن بروز می‌کند، پیشگیری کند.

ملاحظات اخلاقی

پیروی از اصول اخلاق پژوهش

این طرح با کد اخلاق IR.MUQ.AEC.1401.003 در دانشگاه علوم پزشکی قم تصویب شد. اصول اخلاق پژوهش در این مقاله طبق پروتکل‌های اخلاق در پژوهش رعایت شده است.

حامی مالی

دانشگاه علوم پزشکی قم حامی مالی این مقاله بوده است.

مشارکت نویسندگان

همه نویسندگان در مراحل مختلف انجام پژوهش مشارکت داشته‌اند.

تعارض منافع

بنابر اظهار نویسندگان، این مقاله تعارض منافع ندارد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله از مرکز تحقیقات سلولی و ملکولی و معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی قم که امکانات لازم را برای انجام پروژه تأمین کردند، کمال تشکر را دارند.

References

- [1] Kalhor E, Noori A, Saboori Rad S, Sadrnia MA. [Using eligibility traces algorithm to specify the optimal dosage for the purpose of cancer cell population control in melanoma patients with a consideration of the side effects (Persian)]. *J Soft Comput Inf Technol*. 2021; 10(1):72-92. [\[Link\]](#)
- [2] Domingues B, Lopes JM, Soares P, Pópulo H. Melanoma treatment in review. *Immunotargets Ther*. 2018; 7:35-49. [\[DOI:10.2147/ITT.S134842\]](#) [\[PMID\]](#) [\[PMCID\]](#)
- [3] Fidanzi C, D'Erme AM, Janowska A, Dini V, Romanelli M, Manzo Margiotta F, et al. Epidemiology of melanoma: The importance of correctly reporting to the cancer registries. *Eur J Cancer Prev*. 2022; 31(4):385-7. [\[DOI:10.1097/CEJ.0000000000000747\]](#) [\[PMID\]](#)
- [4] Inthiyaz S, Altahan BR, Ahammad SH, Rajesh V, Kalangi RR, Smirani LK, et al. Skin disease detection using deep learning. *Adv Eng Softw*. 2023; 175:103361. [\[DOI:10.1016/j.advengsoft.2022.103361\]](#)
- [5] Mahdaviard M, Najafzadeh N, Ali Niapour A, Jafari A. [Cytotoxicity of ZnO and Ag/ZnO nano-composites on malignant melanoma cell line (A375) (Persian)]. *Arak Med Univ J*. 2014; 17(6):74-83. [\[Link\]](#)
- [6] Jenkins RW, Fisher DE. Treatment of advanced melanoma in 2020 and beyond. *J Invest Dermatol*. 2021; 141(1):23-31. [\[DOI:10.1016/j.jid.2020.03.943\]](#) [\[PMID\]](#) [\[PMCID\]](#)
- [7] Cella DF, Tulsy DS, Gray G, Sarafian B, Linn E, Bonomi A, et al. The functional assessment of cancer therapy scale: Development and validation of the general measure. *J Clin Oncol*. 1993; 11(3):570-9. [\[DOI:10.1200/JCO.1993.11.3.570\]](#) [\[PMID\]](#)
- [8] Barakat H, Aljutaily T, Almujaydil MS, Algheshairy RM, Al-homaid RM, Almutairi AS, et al. Amygdalin: A review on its characteristics, antioxidant potential, gastrointestinal microbiota intervention, anticancer therapeutic and mechanisms, toxicity, and encapsulation. *Biomolecules*. 2022; 12(10):1514. [\[DOI:10.3390/biom12101514\]](#) [\[PMID\]](#) [\[PMCID\]](#)
- [9] Shi J, Chen Q, Xu M, Xia Q, Zheng T, Teng J, et al. Recent updates and future perspectives about amygdalin as a potential anticancer agent: A review. *Cancer Med*. 2019; 8(6):3004-11. [\[DOI:10.1002/cam4.2197\]](#) [\[PMID\]](#) [\[PMCID\]](#)
- [10] Saleem M, Asif J, Asif M, Saleem U. Amygdalin from apricot kernels induces apoptosis and causes cell cycle arrest in cancer cells: An updated review. *Anticancer Agents Med Chem*. 2018; 18(12):1650-5. [\[DOI:10.2174/1871520618666180105161136\]](#) [\[PMID\]](#)
- [11] Moertel CG, Fleming TR, Rubin J, Kvols LK, Sarna G, Koch R, et al. A clinical trial of amygdalin (Laetrile) in the treatment of human cancer. *N Engl J Med*. 1982; 306(4):201-6. [\[DOI:10.1056/NEJM198201283060403\]](#) [\[PMID\]](#)
- [12] Tsaour I, Thomas A, Monecke M, Zugelder M, Rutz J, Grein T, et al. Amygdalin exerts antitumor activity in taxane-resistant prostate cancer cells. *Cancers*. 2022; 14(13):3111. [\[DOI:10.3390/cancers14133111\]](#) [\[PMID\]](#) [\[PMCID\]](#)
- [13] Ramachandran V, Hosalli KR, Vijayakumar I, Mani L, Tiwari R, Tiwari G. A review on antitumor action of amygdalin on various types of cancers. *Res J Pharm Technol*. 2022; 15(11):5373-80. [\[DOI:10.52711/0974-360X.2022.00906\]](#)
- [14] Cecarini V, Selmi S, Cuccioloni M, Gong C, Bonfili L, Zheng Y, et al. Targeting proteolysis with cyanogenic glycoside amygdalin induces apoptosis in breast cancer cells. *Molecules*. 2022; 27(21):7591. [\[DOI:10.3390/molecules27217591\]](#) [\[PMID\]](#) [\[PMCID\]](#)
- [15] Makarević J, Tsaour I, Juengel E, Borgmann H, Nelson K, Thomas C, et al. Amygdalin delays cell cycle progression and blocks growth of prostate cancer cells in vitro. *Life Sci*. 2016; 147:137-42. [\[DOI:10.1016/j.lfs.2016.01.039\]](#) [\[PMID\]](#)
- [16] Park HJ, Yoon SH, Han LS, Zheng LT, Jung KH, Uhm YK, et al. Amygdalin inhibits genes related to cell cycle in SNU-C4 human colon cancer cells. *World J Gastroenterol*. 2005; 11(33):5156-61. [\[DOI:10.3748/wjg.v11.i33.5156\]](#) [\[PMID\]](#) [\[PMCID\]](#)
- [17] Aamazadeh F, Ostadrahimi A, Rahbar Saadat Y, Barar J. Bitter apricot ethanolic extract induces apoptosis through increasing expression of Bax/Bcl-2 ratio and caspase-3 in PANC-1 pancreatic cancer cells. *Mol Biol Rep*. 2020; 47(3):1895-904. [\[DOI:10.1007/s11033-020-05286-w\]](#) [\[PMID\]](#)
- [18] Prajapati M, Deshmukh R, Harwansh RK. Recent trends in nanoparticulate delivery system for amygdalin as potential therapeutic herbal bioactive agent for cancer treatment. In: Prajapati M, Deshmukh R, Harwansh RK, editors. *Current drug delivery*. Sharjah: Bentham Science Publishers; 2024. [\[Link\]](#)
- [19] He XY, Wu LJ, Wang WX, Xie PJ, Chen YH, Wang F. Amygdalin - A pharmacological and toxicological review. *J Ethnopharmacol*. 2020; 254:112717. [\[DOI:10.1016/j.jep.2020.112717\]](#) [\[PMID\]](#)
- [20] Chen Y, Ma J, Wang F, Hu J, Cui A, Wei C, et al. Amygdalin induces apoptosis in human cervical cancer cell line HeLa cells. *Immunopharmacol Immunotoxicol*. 2013; 35(1):43-51. [\[DOI:10.3109/08923973.2012.738688\]](#) [\[PMID\]](#)
- [21] Makarević J, Rutz J, Juengel E, Kaulfuss S, Reiter M, Tsaour I, et al. Amygdalin blocks bladder cancer cell growth in vitro by diminishing cyclin A and cdk2. *Plos One*. 2014; 9(8):e105590. [\[DOI:10.1371/journal.pone.0105590\]](#) [\[PMID\]](#) [\[PMCID\]](#)
- [22] Chang HK, Shin MS, Yang HY, Lee JW, Kim YS, Lee MH, et al. Amygdalin induces apoptosis through regulation of Bax and Bcl-2 expressions in human DU145 and LNCaP prostate cancer cells. *Biol Pharm Bull*. 2006; 29(8):1597-602. [\[DOI:10.1248/bpb.29.1597\]](#) [\[PMID\]](#)