JAER

2025, 1(2): 51-58

Journal of Animal Environmental Reaserch

Journal homepage: http://www.journalaer.com

Research Article

Analysis of the Effects of *Sargassum tenerrimum* Algal Extract on Interleukin-12 Gene Expression in Lymphoblastic Leukemia C121 Cells

Maryam Nourniaei [1], Hoda Khaledi [2*], Ali Khodadadi [3], Seyedeh Maryam Mousavi [4], Rezvan Attari [5]

[1]Department Department of Biology, Faculty of Marine Science and Oceanography, Khorramshahr University of Marine Science and Technology, Khorramshahr, Iran

[2] Institute of Marine Sciences, Iranian National Institute for Oceanography and Atmospheric Science, Tehran, Iran

[3] Department of Immunology, Faculty of Medicine, Jondishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran

[4] Department of Biology, Faculty of Sciences, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

[5] Department of Biology, Faculty of Sciences, Guilan University, Rasht, Iran

Key Words

Marine algae
Anti-cancer
Persian Gulf
Marine extract
Real-Time PCR

Abstract

Introduction: Leukemia is the fifth most common cancer in the world. In addition to existing chemotherapy drugs, attention has been drawn to natural resources and their constituents for the treatment of various cancers. One of these resources is marine algae, which are rich in biologically active compounds with various functions. Therefore, the aim of the present study was to investigate the effect of *Sargassum tenerrimum* extract on the expression of the interleukin-12 (IL-12) gene in C121 cell line.

Materials & Methods: For this purpose, after sampling the algae in the spring from the intertidal zone of the coasts of Bushehr, transferring them to the laboratory and morphological identification of the algae, extraction was performed using methanol, chloroform and ethanol solvents. C121 cells were cultured in RPMI 1640 culture medium and treated with concentrations of 250, 500 and 750 micrograms per milliliter of *Sargassum tenerrimum* extract for 24 hours. After this time, the RNA of the cells was extracted and the expression of the interleukin-12 (IL-12) gene was evaluated using the Real-Time PCR method.

Results: The results showed that the expression of the IL-12 gene in the C121 cell line treated with all the studied concentrations (250, 500 and 750 micrograms per milliliter) of chloroform, hydroalcoholic and methanolic extracts of *Sargassum tenerrimum* was increased compared to the control group. The greatest effect on increasing the expression of this gene was observed in the concentrations of 500 micrograms per milliliter of chloroform and methanolic extract ($p<0.05$). The findings suggest that the type and concentration of the extract can have a significant effect on the IL-12-mediated immune response.

Conclusion: Based on the increase in IL-12 expression under the effect of *Sargassum tenerrimum* extract, it can be concluded that the extract of this alga has anti-cancer potential against lymphoblastic leukemia. Further research to find the active ingredient present in the extract and also to understand the mechanisms involved in it can help to realize its potential anti-cancer potential.

Article info

* Corresponding Author's email: hodakhaledi@inio.ac.ir

Received: 11 October 2024
Reviewed: 12 November 2024
Revised: 15 January 2025
Accepted: 18 February 2025

[Downloaded from www.journalaer.com on 2026-11-15]

[DOI: 10.22034/aer.1.2.51]

مقاله علمی - پژوهشی

بررسی تاثیر عصاره جلبک *Sargassum tenerrimum* بر بیان ژن اینترلوکین-۱۲ در سلول‌های C121 لوسمی لنفوبلاستیک

مریم نورنیایی[۱]، هدا خالدی*[۲]، علی خدادادی[۳]، سیده‌مریم موسوی[۴]، رضوان عطاری[۵]

[۱] گروه زیست شناسی، دانشکده علوم دریایی و اقیانوسی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر، ایران

[۲] پژوهشکده علوم دریایی، پژوهشگاه ملی اقیانوس‌شناسی و علوم جوی، تهران، ایران

[۳] گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور، اهواز، ایران

[۴] گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

[۵] گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

کلمات کلیدی

جلبک دریایی
ضد سرطان
خلیج فارس
عصاره دریایی
Real-Time PCR

چکیده

مقدمه: سرطان خون یا لوسمی به‌عنوان پنجمین سرطان شایع در جهان شناخته می‌شود. در کنار داروهای شیمیایی موجود، توجه به منابع طبیعی و ترکیبات موجود در آن‌ها جهت درمان انواع سرطان جلب شده است. یکی از این منابع، جلبک‌های دریایی هستند که سرشار از ترکیبات فعال زیستی دارای عملکردهای مختلف می‌باشند. بر همین اساس هدف از تحقیق حاضر بررسی اثر عصاره جلبک *Sargassum tenerrimum* در بیان ژن اینترلوکین-۱۲ در سلول‌های رده C121 بود.

مواد و روش‌ها: برای این منظور پس از نمونه‌برداری جلبک‌ها در فصل بهار از منطقه جذر و مدی سواحل بوشهر، انتقال آن‌ها به آزمایشگاه و شناسایی مورفولوژیک جلبک، عصاره‌گیری با استفاده از حلال‌های متانول، کلروفرم و هیدروالکل انجام شد. سلول‌های C121 در محیط کشت RPMI 1640 کشت داده شده و با غلظت‌های ۲۵۰، ۵۰۰ و ۷۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر عصاره سارگاسوم تریموم به‌مدت ۲۴ ساعت تیمار شدند. پس از گذشت این زمان، RNA سلول‌ها استخراج شده و بیان ژن اینترلوکین ۱۲ (IL-12) با استفاده از Real Time PCR ارزیابی شد.

نتایج: نتایج حاصل نشان داد که بیان ژن IL-12 در رده سلولی C121 تیمار شده با تمامی غلظت‌های مورد مطالعه (۲۵۰، ۵۰۰ و ۷۵۰ میکروگرم برمیلی‌لیتر) عصاره‌های کلروفرمی، هیدروالکلی و متانولی *Sargassum tenerrimum* نسبت به گروه کنترل افزایش می‌یابد. بیش‌ترین اثر را در افزایش بیان این ژن، غلظت‌های ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر عصاره کلروفرمی و متانولی داشتند ($p<0/05$). یافته‌ها نشان می‌دهد که نوع و غلظت عصاره می تواند تأثیر قابل توجهی بر پاسخ ایمنی با واسطه IL-12 داشته باشد.

بحث و نتیجه‌گیری: با توجه به افزایش بیان IL-12 تحت اثرعصاره سارگاسوم تریموم می‌توان نتیجه گرفت که عصاره این جلبک دارای پتانسیل ضدسرطانی علیه لوسمی لنفوبلاستیک است که تحقیقات بیش‌تر در جهت یافتن ماده موثره موجود در عصاره و هم‌چنین شناخت مکانیسم‌های دخیل در آن می‌تواند به بالفعل کردن پتانسیل بالقوه ضدسرطانی آن کمک نماید.

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول:
hodakhaledi@inio.ac.ir

تاریخ دریافت: ۲۰ مهر ۱۴۰۳
تاریخ داوری: ۲۲ آبان ۱۴۰۳
تاریخ اصلاح: ۲۶ دی ۱۴۰۳
تاریخ پذیرش: ۳۰ بهمن ۱۴۰۳

[Downloaded from www.journalaer.com on 2026-11-15]

[DOI: 10.22034/aer.1.2.51]

مقدمه

لوسمی لنفوبلاستیک حاد (ALL) نوعی سرطان است که مغز استخوان و خون را تحت تاثیر قرار می‌دهد و منجر به تولید بیش از حد سلول‌های لنفاوی نابالغ می‌شود(۱). ALL شایع‌ترین نوع سرطان در کودکان است که تقریباً یک سوم موارد سرطان کودکان را تشکیل می‌دهد (۲). درمان ALL طی سه دهه گذشته به‌طرز چشمگیری تغییر کرده است. با این حال، ALL عود کننده و/یا مقاوم به درمان هم‌چنان منجر به بقای بسیار کم بیماران و عوارض بالا مرتبط با درمان می‌شود و هنوز نیاز به درمان‌های جدید و موثرتر وجود دارد (۳). اینترلوکین ۱۲ (IL-12) یک سیتوکین است که نقش مهمی در پاسخ ایمنی به سرطان دارد(۴). IL-12 فعالیت ضدتوموری لنفوسیت‌های T سیتوتوکسیک (CTLs) و سلول‌های کشنده طبیعی (NK) را افزایش می‌دهد و منجر به افزایش القایی آپوپتوز در سلول‌های تومور می‌شود (۵). Real-time PCR (RT-PCR) ابزاری قدرتمند برای بررسی بیان ژن‌های دخیل در پاسخ ایمنی ازجمله IL-12 در ALL است (۶). چندین مطالعه از RT-PCR برای بررسی بیان IL-12 در ALL استفاده کرده‌اند (۷، ۸، ۹). در سال‌های اخیر، علاقه فزاینده‌ای به استفاده از ترکیبات طبیعی به‌عنوان عوامل بالقوه ضدسرطان به‌وجود آمده است (۱۰، ۱۱). مشخص شده است که متابولیت‌های ثانویه جلبک‌ها، دارای خواص ضدسرطانی از طریق تنظیم مسیرهای پیام‌رسانی سلولی مختلف هستند (۱۲، ۱۳). *S. tenerrimum* نوعی جلبک دریایی قهوه‌ای رنگ است که در اقیانوس هند به وفور یافت می‌شود و به‌طور سنتی در طب آیورودا برای درمان انواع بیماری‌ها از جمله سرطان استفاده می‌شود (۱۴). چندین مطالعه خواص ضدسرطانی *Sargassum tenerrimum* را بررسی کرده‌اند و نتایج امیدوارکننده‌ای را نشان داده‌اند (۱۵، ۱۶، ۱۷). با توجه به پتانسیل *S. tenerrimum* به‌عنوان یک عامل درمانی برای سرطان، بررسی اثر آن بر بیان IL-12 در ALL مهم است. از RT-PCR می‌توان برای اندازه‌گیری بیان IL-12 در پاسخ به درمان با عصاره *S. tenerrimu* استفاده کرد. بررسی اثر عصاره *S. tenerrimu* بر بیان IL-12 در ALL ممکن است بینش ارزشمندی در مورد پتانسیل آن به‌عنوان یک عامل درمانی برای این نوع سرطان ارائه دهد. مطالعات اخیر نشان داده‌اند که گونه‌های سارگاسوم می‌تواند بیان ژن‌های دخیل در پاسخ ایمنی به سرطان را تغییر دهد (۱۸). با این حال، مطالعه در مورد تأثیر عصاره *S. tenerrimu* بر بیان IL-12 در ALL وجود ندارد بنابراین با بررسی اثر عصاره *Sargassum tenerrimum* بر بیان ژن IL-12 در مدل سلولی ALL می‌توان به بررسی نقش احتمالی این عصاره به‌عنوان عامل درمانی جدید در درمان ALL پرداخت.

مواد و روش‌ها

نمونه‌گیری: در فصل بهار، نمونه‌برداری در منطقه جذر و مدی در ایستگاه منتخب واقع در شمال خلیج فارس در استان بوشهر (28°, 54′N, 50°, 49′E) انجام شد. پس از جمع آوری، نمونه ها بلافاصله در کیسه های پلی اتیلن استریل قرار داده و در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگه داری شدند تا ساختار سلولی نمونه ها حفظ شود و از تخریب آن‌ها در حین انتقال به آزمایشگاه جلوگیری شود (۱۹). شناسایی جلبک‌ها بر اساس ویژگی های مورفولوژیکی مانند رنگ، اندازه و عرض انجام شد. نمونه ها هم‌چنین زیر میکروسکوپ مورد بررسی قرار گرفتند و ویژگی های آن‌ها با گونه‌های شناخته شده با استفاده از یک کلید شناسایی معتبر مقایسه شد (۲۰). هم‌چنین از سایت مرجع Algaebase برای کمک به فرآیند شناسایی استفاده شد (۲۱). نمونه‌های جلبک دریایی با آب لوله‌کشی شسته شدند تا اپی فیت ها و ذرات شن و ماسه حذف شوند. سپس نمونه ها به‌مدت ۲ هفته در سایه خشک شدند (۲۲). نمونه‌های خشک شده با استفاده از آسیاب برقی پودر شدند (۲۳).

عصاره‌گیری: استخراج ترکیبات فعال زیستی از *S. tenerrimu* با استفاده از سه حلال متانول، کلروفرم و هیدروالکل انجام شد (۱۵، ۱۶، ۲۴). به‌طور خلاصه، ۱۰ گرم پودر جلبک به‌طور جداگانه با ۲۰۰ میلی لیتر از هر حلال مخلوط شد و مخلوط ها در ارلن های حاوی پودر جلبک و حلال در دمای اتاق به‌مدت ۴۸ ساعت بر روی هم‌زن (۱۰۰ دور در دقیقه) قرار داده شدند(۲۵). پس از ۴۸ ساعت، نمونه‌ها دو بار از طریق کاغذ صافی واتمن شماره ۱ فیلتر شدند و عصاره به دست آمده با استفاده از روتاری اواپراتور (تقطیر در خلاء) در دمای ۴۵ درجه سانتی گراد تغلیظ شدند. توده صمغی حاصل از عصاره حلال توزین شد و درصد بازدهی با مراجعه به نمونه خشک شده در هوا محاسبه شد. عصاره‌ها تا زمان تجزیه و تحلیل بیش‌تر در یخچال در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگه‌داری شدند (۲۶).

کشت سلول: سلول‌های C121، نوعی لوسمی لنفوبلاستیک، از انستیتو پاستور ایران تهیه و در محیط کشت RPMI 1640 همراه با ۱۰ درصد سرم جنین گاوی (FBS) و ۱ درصد پنی‌سیلین/استرپتومایسین نگه‌داری شدند. سپس سلول‌ها با تراکم 10^6 سلول در میلی‌لیتر در فلاسک‌های کشت بافت ۲۵ سانتی‌مترمربع کاشته شدند و در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد با ۵ درصد CO2 و رطوبت ۹۵ درصد به‌مدت ۲۴ ساعت انکوبه شدند تا امکان اتصال سلولی فراهم شود. پس از آن، محیط کشت با محیط کشت تازه جایگزین شد و سلول‌ها برای ۲۴ ساعت دیگر انکوبه شدند. سلول‌ها روزانه از نظر رشد و زنده ماندن سلولی با استفاده از میکروسکوپ معکوس مشاهده شدند و تراکم

[Downloaded from www.journalaer.com on 2026-11-15]
[DOI: 10.22034/aer.1.2.51]

سلولی با استفاده از روش حذف تریپان بلو تعیین شد. سلول‌ها هر ۲ تا ۳ روز یک بار تریپسینه و کشت می‌شوند تا امکان رشد و گسترش مداوم کشت فراهم شود (۲۷). اثر ۳ عصاره حلال متانولی، کلروفرمی و هیدروالکلی بر روی رده‌های سلولی C121 مورد بررسی قرار گرفت. سلول‌های C121 با تراکم ۷×۱۰^{۳} سلول در هر چاهک در صفحات ۹۶ چاهی کشت شدند و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد با ۵ درصد CO2 و رطوبت ۹۵ درصد به‌مدت ۲۴ ساعت انکوبه شدند تا امکان اتصال سلولی فراهم شود. عصاره‌های خشک‌شده در دی متیل سولفوکسید (DMSO) برای تهیه محلول‌های استوک حل شدند و سپس غلظت‌های مختلف (۲۵۰، ۵۰۰ و ۷۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) از هر عصاره در سه تکرار به سلول‌ها اضافه شد و سلول‌ها به‌مدت ۲۴ ساعت انکوبه شدند. گروه کنترل تنها با محیط کشت تیمار شد. پس از ۲۴ ساعت، Real-time PCR برای ارزیابی بیان اینترلوکین ۱۲ (IL-12) در سلول‌های C121 انجام شد.

استخراج RNA و سنتز cDNA: RNA کل از سلول‌های C121 با استفاده از معرف تریزول (Invitrogen) طبق دستورالعمل شرکت سازنده استخراج شد. به‌طور خلاصه، سلول‌های C121 با PBS شسته و با معرف تریزول هضم شدند. کلروفرم به توده سلولی لیز شده اضافه شد و مخلوط در سرعت ۱۲۰۰۰g به‌مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. فاز آبی به یک لوله جدید منتقل شد و ایزوپروپانول برای رسوب RNA به محلول اضافه شد. قرص RNA با اتانول ۷۵ درصد شسته و در آب RNase حل شد. غلظت و کیفیت RNA با استفاده از اسپکتروفتومتر NanoDrop ارزیابی شد. سنتز cDNA با استفاده از کیت پارس‌ژنوم (پارس توس) طبق پروتکل سازنده انجام شد. به‌طور خلاصه، ۱ میکروگرم از RNA کل با استفاده از پرایمرهای تصادفی هگزامر و M-MLV رونویسی معکوس به cDNA رونویسی شد. cDNA تا زمان استفاده در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شد.

Real-Time PCR: Real-time PCR برای ارزیابی بیان اینترلوکین ۱۲ (IL-12) در سلول‌های C121 انجام شد. پرایمرهای IL-12 و ژن مرجع GAPDH با استفاده از نرم‌افزار Primer3 طراحی و طبق دستورالعمل سازنده توسط کیت Exiqon سنتز شدند (جدول ۱). Real-time PCR با استفاده از SYBR Green PCR Master Mix (Applied Biosystems) و StepOnePlus Real-Time PCR System (Applied Biosystems) انجام شد. مخلوط واکنش حاوی ۱ میکرولیتر cDNA، ۱ میکرولیتر از هر پرایمر و ۱۰ میکرولیتر SYBR Green PCR Master Mix که با آب RNase به حجم کلی ۲۰ میکرولیتر رسانده شد. شرایط چرخه PCR به شرح زیر بود: واسرشتن اولیه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۰ دقیقه، به‌دنبال آن ۴۰ چرخه واسرشت در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۵ ثانیه، بازپخت در ۶۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱ دقیقه، و گسترش در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱ دقیقه.

تحلیل داده‌ها: بیان نسبی IL-12 با استفاده از روش $۲^{-\Delta\Delta CT}$ محاسبه شد ($\Delta Ct=Ct_IL\text{-}12\text{-}Ct_GAPDH$، و $\Delta\Delta Ct=\Delta Ct_treatment-\Delta Ct_control$) و تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از تحلیل واریانس یک طرفه (ANOVA) و به دنبال آن آزمون تعقیبی توکی برای مقایسه‌های چندگانه انجام شد. مقدار p کم‌تر از ۰/۰۵ از نظر آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار Graphpad Prism ورژن 9 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. فرایند محاسبه Fold Change به این شکل است:

۱. $\Delta Ct = Ct\ (IL\text{-}12) - Ct\ (Reference\ gene)$
۲. $\Delta\Delta Ct = \Delta Ct\ (Treated\ sample) - \Delta Ct\ (Control\ sample)$
۳. $Fold\ change = 2^{-\Delta\Delta Ct}$
۴. $Mean\ fold\ change = Average\ (2^{-\Delta\Delta Ct})$

جدول ۱: توالی پرایمرهای مورد استفاده در واکنش Rael time PCR
Table 1: Sequences of primers used in the Rael time PCR reaction

Gene	Forward primer	Reverse primer
IL-12	CACCATCGACAGAACAGTCC	**GAATCCAATTCCAAGAGGGA**
GAPDH	GTCTCCTCTGACTTCAACAGCG	**GTCTCCTCTGACTTCAACAGCG**

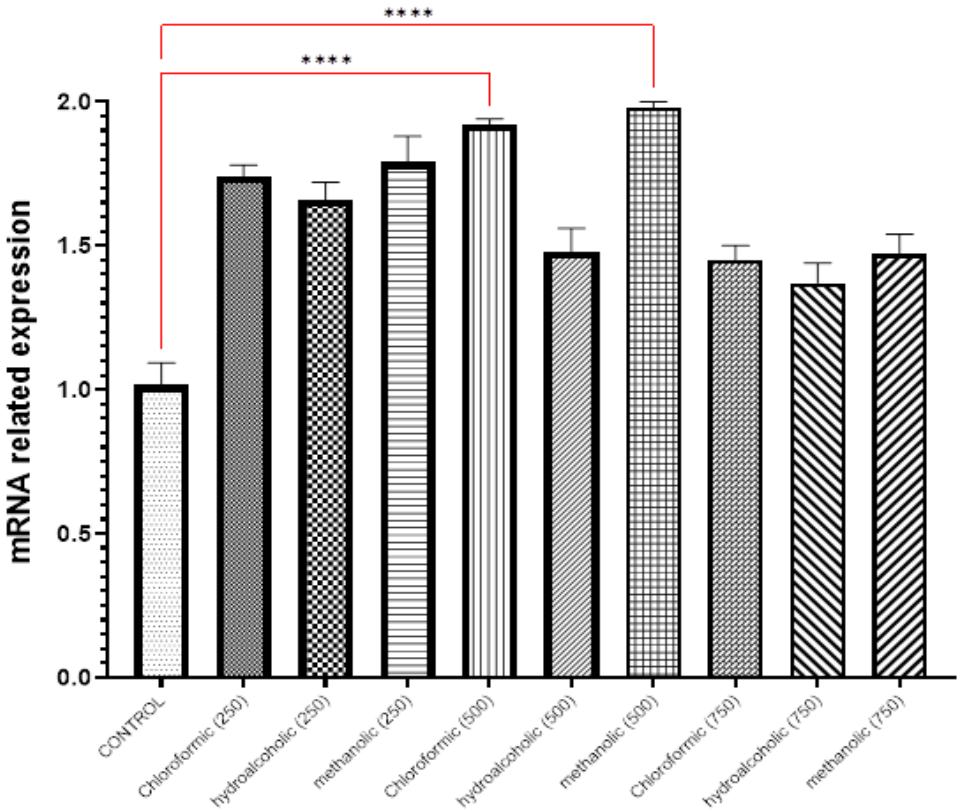
نتایج

تجزیه و تحلیل کمی و کیفی RNA: RNA استخراج شده از رده سلولی C121 از نظر کمیت و کیفیت با استفاده از دستگاه Nanodrop مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. نتایج نشان داد که غلظت RNA از ۲۰۰ تا ۵۰۰ نانوگرم در میکرولیتر با میانگین غلظت ۳۰۰ ng/µl متغیر بود. نسبت A260/A280 از ۱/۸ تا ۲/۰ متغیر بود که نشان‌دهنده خلوص بالای RNA است. کیفیت RNA بیش‌تر با الکتروفورز روی ژل آگارز ارزیابی شد. نمونه‌های RNA روی ژل آگارز ۱ درصد جدا شده و در زیر نور UV مشاهده شدند. تشکیل باندهای تک و شارپ در الکتروفورز بر روی ژل آگارز در همه نمونه‌ها نشان‌دهنده کیفیت بالای RNA است.

بیان IL-12: بیان ژن IL-12 در رده سلولی C121 تیمار شده با غلظت‌های مختلف (۲۵۰، ۵۰۰ و ۷۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر)

[Downloaded from www.journalaer.com on 2026-11-15]
[DOI: 10.22034/aer.1.2.51]

عصاره‌های کلروفرمی، هیدروالکلی و متانولی *Sargassum tenerrimum* با استفاده از روش Real-time PCR ارزیابی شد. بیان IL-12 با استفاده از روش $2^{-\Delta\Delta CT}$ تعیین شد، که تغییر برابری در بیان ژن را نسبت به نمونه کنترل محاسبه می‌کند. بیان IL-12 در نمونه کنترل ۱ تنظیم شد. بیان IL-12 با استفاده از آزمون واریانس یک طرفه (ANOVA) و سپس آزمون تعقیبی توکی برای مقایسه‌های چندگانه مقایسه شد. مقدار p کم‌تر از ۰/۰۵ از نظر آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد. نتایج در شکل ۱ خلاصه شده است. نتایج آزمون آنالیز واریانس نشان‌دهنده تأثیر معنی‌دار نوع عصاره بر بیان ژن IL-12 بود (F=۱۲/۳۵ ،p<۰/۰۰۱). آزمون تعقیبی توکی نشان داد که بیان IL-12 در عصاره متانولی ۵۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر در مقایسه با گروه کنترل به‌طور معنی‌داری بیش‌تر بود(p<۰/۰۵). بیان IL-12 هم‌چنین در عصاره‌های کلروفرمی و متانولی ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر در مقایسه با گروه کنترل به‌طور معنی‌داری بیش‌تر بود (p<۰/۰۵). با این حال، تفاوت معنی‌داری در بیان IL-12 بین گروه کنترل و سایر عصاره‌ها یا بین غلظت‌های مختلف عصاره‌ها وجود نداشت. نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که عصاره متانولی *Sargassum tenerrimum* با غلظت ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر می‌تواند به‌طور قابل توجهی بیان ژن IL-12 را در رده سلولی C121 افزایش دهد. سایر عصاره‌ها سطوح متوسطی از بیان IL-12 را نشان دادند، اما تفاوت معنی‌داری با گروه کنترل نداشتند. این یافته‌ها نشان می‌دهد که نوع و غلظت عصاره می‌تواند تأثیر قابل توجهی بر پاسخ ایمنی باواسطه IL-12 داشته باشد.



شکل ۱: مقایسه سطح IL-12 mRNA نرمال شده با GAPDH mRNA در رده سلولی C121 تیمار شده با عصاره *Sargassum tenerrimum*
(*: تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل با حد معنی‌داری P<۰/۰۵، **: تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل با حد معنی‌داری P<۰/۰۱)
Figure 1: Comparison of IL-12 mRNA levels normalized to GAPDH mRNA in C121 cell line treated with *Sargassum tenerrimum* extract (*: significant difference with the control group with a significance level of P<0.05, **: significant difference with the control group with a significance level of P<0.01)

بحث

امروزه جلبک‌های دریایی از جنبه‌های مختلفی مورد توجه قرار گرفته‌اند که یکی از این جنبه‌ها، پتانسیل درمانی جلبک‌ها می‌باشد. گونه‌های مختلفی از جلبک‌ها دارای خواص آنتی‌اکسیدانی، ضدتوموری و ضدمیکروبی می‌باشند. در تحقیق حاضر خاصیت ضدسرطانی عصاره‌های جلبک سارگاسوم تنریموم بر روی سلول‌های لوسمی لنفوبلاستیک رده C121 از طریق ارزیابی بیان ژن IL-12 موردبررسی قرار گرفت. نتایج

[Downloaded from www.journalaer.com on 2026-11-15]
[DOI: 10.22034/aer.1.2.51]

حاصل نشان داد که عصاره های *Sargassum tenerrimum* موجب افزایش قابل توجه بیان IL-12 در سلول‌های تحت تیمار نسبت به سلول‌های کنترل می‌شوند. در این تحقیق از ۳ نوع عصاره کلروفرمی، هیدروالکلی و متانولی در غلظت‌های ۲۵۰، ۵۰۰ و ۷۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر استفاده شد. بر اساس نتایج حاصل، بهترین نتیجه و بیش‌ترین افزایش بیان IL-12 در غلظت ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر عصاره‌های متانولی و کلروفرمی به‌دست آمد. غلظت ۲۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر هر ۳ عصاره نیز نتایج قابل‌قبولی را نشان داد. سیتوکین اینترلوکین ۱۲ (IL-12) پاسخ های ایمنی با واسطه سلول T کمک کننده ۱ (Th1) و تولیداینترفرون گاما (IFN-γ) را ارتقا می‌دهد (۲۸). تحریک IL-12 منجر به تمایز سلولی Th1 و ترشح IFN-γ می شود که ایمنی سلولی را در برابر پاتوژن های داخل سلولی فعال می کند و ممکن است اثرات ضدتوموری داشته باشد (۲۹). در تحقیق Pegram و همکاران، نشان داده شد که سلول‌های T مشتق شده از خون بند ناف با ترشح IL-12، دارای اثرات نوید بخشی در ایمونوتراپی لوسمی حاد لنفوبلاستیک سلول B هستند (۳۰). هم‌چنین Boieri و همکاران، گزارش کردند که سلول‌های NK فعال شده توسط IL-12، سلول‌های T مقاوم در لوسمی حاد لنفوبلاستیک را هدف قرار داده و موجب تاخیر در پیشرفت این بیماری می‌شوند (۳۱). در آزمایش Cocco و همکاران، نشان داده شد که اعضای سوپرخانواده IL-12 می‌توانند بلاست‌های B-ALL و T-ALL را هدف قرار داده و از گسترش آن‌ها در بدن جلوگیری کنند. این سایتوکاین‌ها به‌دلیل فعالیت چندگانه خود، به‌عنوان کاندیدهای درمانی مناسبی برای لوسمی لنفوبلاستیک مطرح شدند (۳۲). بنابراین به‌نظر می‌رسد که اگر ترکیبی قادر به افزایش بیان IL-12 در سلول‌های سرطانی باشد نیز می‌تواند به‌عنوان نرکیبی با پتانسیل ضدسرطانی مورد بررسی‌های بیش‌تر قرار گیرد. نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که غلظت‌های ۲۵۰ و ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر عصاره *Sargassum tenerrimum* در مقایسه با غلظت ۷۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر تأثیر بهتری بر بیان ژن IL-12 در رده سلولی C121 دارد. این تفاوت در اثر را می‌توان به ماهیت دو فازی پاسخ ایمنی نسبت داد، جایی که غلظت‌های بالای IL-12 می تواند اثر سرکوب کننده‌ای بر سلول های ایمنی، از جمله سلول های T، سلول‌های B و سلول‌های کشنده طبیعی داشته باشد (۳۳). چنین اثرات سرکوب کننده‌ای ممکن است به‌دلیل فعال شدن بیش از حد سلول‌های ایمنی رخ دهد که منجر به تولید سیتوکین‌های پیش التهابی بیش از حد می‌شود که منجر به آسیب بافتی و اختلالات خود ایمنی می‌شود (۳۴، ۳۵)، بنابراین، ممکن است غلظت ۷۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر عصاره به آستانه‌ای رسیده باشد که فراتر از آن اثر سرکوب کننده‌ای بر بیان ژن IL-12 ایجاد کند. با این حال، در غلظت‌های پایین‌تر (۲۵۰ و ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر)، عصاره ممکن است بیان ژن IL-12 را تحریک کرده و منجر به پاسخ ایمنی مفید شود. علاوه بر این، ممکن است غلظت بالای عصاره باعث ایجاد سمیت سلولی یا تداخل با فیزیولوژی طبیعی سلول‌ها شود که منجر به کاهش بیان ژن IL-12 شود. با این حال، مطالعات بیش تری برای بررسی مکانیسم‌های زیربنایی اثر مشاهده شده مورد نیاز است. این مطالعه نشان می‌دهد که عصاره متانولی و کلروفرمی *Sargassum tenerrimum* در مقایسه با عصاره هیدروالکلی تأثیر بهتری بر بیان ژن IL-12 دارد. این را می‌توان به این واقعیت نسبت داد که متانول و کلروفرم حلال‌های مناسب تری برای استخراج ترکیبات زیست فعال مانند پلی فنل ها، فلاونوئیدها و ترپنوئیدها از مواد گیاهی هستند (۳۶، ۳۷، ۳۸، ۳۹). گزارش شده است که این ترکیبات دارای خواص تعدیل‌کننده ایمنی، ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی هستند که می تواند تأثیر مشاهده شده بر بیان ژن IL-12 را توضیح دهد (۴۰، ۴۱). در تحقیق حاضر نشان داده شد که عصاره‌های به‌دست آمده از جلبک *Sargassum tenerrimum* چنین قابلیتی را داشته و تیمار سلول‌های C121 با این عصاره‌ها منجر به افزایش قابل توجه بیان IL-12 گردید. اثر ضدسرطانی عصاره جلبک سارگاسوم و ترکیبات جدا شده از آن بر روی سرطان روده در تحقیقات دیگری نیز بررسی و گزارش شده است. Masoudi و همکاران، به بررسی اثر عصاره‌های مختلف گیاه سارگاسوم تنریموم بر بیان ژن فاکتور رشد اندوتلیال عروقی (VEGF) در رده سلولی سرطان کولورکتال SW742 پرداخت. این مطالعه نشان داد که عصاره های هیدروالکلی در غلظت های ۵۰۰ و ۷۵۰ میلی گرم بر میلی لیتر و عصاره های کلروفرمی و متانولی در غلظت های ۷۰۰ میلی گرم بر میلی‌لیتر باعث کاهش قابل توجه بیان VEGF در سلول‌های SW742 شدند. این مطالعه پتانسیل ضدسرطانی عصاره *Sargassum tenerrimum* را با کاهش بیان VEGF و رگزایی نشان می‌دهد (۱۶). Somasundaram و همکاران، فوکوئیدان را از گونه *Sargassum cinereum* جداسازی کرده و نشان دادند که این ترکیب موجب مرگ سلول‌های رده HCT-15 سرطان کولون می‌گردد (۴۲). فوکوئیدان‌های دپلیمریزه شده *Sargassum tenerrimum* در تحقیق Ashayerizadeh و همکاران، از خود اثر آنتی‌اکسیدانی نشان داده است (۴۳). هم‌چنین Vasanthi و همکاران، نیز در شرایط in vitro فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های آبی و الکلی گونه‌های سارگاسوم را بررسی کرده و گزارش کردند که از میان عصاره‌های مربوط به گونه‌های مختلف سارگاسوم، عصاره آبی *Sargassum tenerrimum* دارای پتانسیل آنتی‌اکسیدانی بالایی می‌باشد (۴۴). Satyajit و همکاران، اثرات آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌توموری عصاره اتانولی *Sargassum tenerrimum* را در موش مبتلا به کارسینوم آسیت ارلیخ (Ehrlich Ascites Carcinoma) بررسی کردند. نتایج

[Downloaded from www.journalaer.com on 2026-11-15]
[DOI: 10.22034/aer.1.2.51]

حاصل نشان داد که پارامترهایی مانند وزن بدن، حجم تومور، تعداد سلول‌های تومور، میانگین زمان بقا و افزایش طول عمر در حیوانات تحت تیمار با دوز ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره نسبت به گروه کنترل تغییر کرده بود. هم‌چنین تفاوت‌های قابل‌توجهی در محتوای پروتئین کل، محتوای آنزیم‌های کبدی، سطح مالون دی‌آلدهید و آنزیم‌های مهارکننده رادیکال‌های آزاد در حیوانات گروه تحت تیمار باعصاره‌مشاهده شد. این مشاهدات عصاره *Sargassum tenerrimum* را به عنوان یک ترکیب آنتی‌اکسیدانی موثر با فعالیت ضدتوموری قابل توجه مطرح می‌کرد (۱۷). حضور آلکالوئیدهای Ephedrine، Cuscohygrine، Pyrvinium و Doxapram در عصاره کلروفرمی *Sargassum tenerrimum* گزارش شده است (۴۵). فوکوزانتین و آستازانتین نیز از دیگر ترکیبات آنتی‌اکسیدانی موجود در *Sargassum tenerrimum* هستند که پتانسیل آنتی‌توموری آن را افزایش می‌دهند (۴۶).

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج آزمایش حاضر و هم‌سو با سایر آزمایشات انجام شده در این زمینه می‌توان نتیجه گرفت که عصاره جلبک *Sargassum tenerrimum*، به‌ویژه عصاره‌های متانولی و کلروفرمی، می‌تواند به‌عنوان ترکیب امیدوارکننده با پتانسیل ضد سرطانی علیه لوسمی لنفوبلاستیک در نظر گرفته شود. هم‌چنین نتایج ما نشان داد که یکی از مکانیسم‌های اثر ضد سرطانی عصاره *Sargassum tenerrimum* می‌تواند افزایش بیان IL-12 باشد. ارزیابی‌های بیش‌تر جهت تعیین مکانیسم‌های دقیق و هم‌چنین شناسایی ماده موثره موجود در این عصاره‌ها، می‌تواند به بالفعل کردن پتانسیل بالقوه ضد سرطانی آن کمک نماید.

منابع

1. **Simonin, M., Gueguen, G. and Strullu, M., 2019.** Acute lymphoblastic leukaemias in children. *Pediatric Health, Medicine and Therapeutics*. 22: 96-107
2. **Hunger, S.P., Lu, X., Devidas, M., Camitta, B.M., Gaynon, P.S., Winick, N.J., Reaman, G.H. and Carroll, W.L., 2012.** Improved survival for children and adolescents with acute lymphoblastic leukemia between 1990 and 2005: a report from the children's oncology group. *Journal of clinical oncology*. 30(14): 1663-1669. doi: 10.1200/JCO.2011.37.8018
3. **DuVall, A.S., Sheade, J., Anderson, D., Yates, S.J. and Stock, W., 2022.** Updates in the Management of Relapsed and Refractory Acute Lymphoblastic Leukemia: An Urgent Plea for New Treatments Is Being Answered!. *JCO Oncology Practice*. 18(7): 479-487. doi: 10.1200/OP.21.00843
4. **Lippitz, B.E., 2013.** Cytokine patterns in patients with cancer: a systematic review. *The lancet oncology*. 14(6): e218-e228. doi: 10.1016/S1470-2045(12)70582-X
5. **Colombo, M.P. and Trinchieri, G., 2002.** Interleukin-12 in anti-tumor immunity and immunotherapy. *Cytokine & growth factor reviews*. 13(2): 155-168. doi: 10.1016/s13 59-6101(01)00032-6
6. **Leutenegger, C.M., Mislin, C.N., Sigrist, B., Ehrengruber, M.U., Hofmann-Lehmann, R. and Lutz, H., 1999.** Quantitative real-time PCR for the measurement of feline cytokine mRNA. *Veterinary immunology and immunopathology*. 71(3-4): 291-305. doi: 10.1016/s0165-2427(99)00100-2
7. **Nolan, T., Hands, R.E. and Bustin, S.A., 2006.** Quantification of mRNA using real-time RT-PCR. *Nature protocols*. 1(3): 1559-1582. doi: 10.1038/nprot.2006.236
8. **Chen, S.Y., Yang, X., Feng, W.L., Liao, J.F., Wang, L.N., Feng, L., Lin, Y.M., Ren, Q. and Zheng, G.G., 2015.** Organ-specific microenvironment modifies diverse functional and phenotypic characteristics of leukemia-associated macrophages in mouse T cell acute lymphoblastic leukemia. *The Journal of Immunology*. 194(6): 2919-2929. doi: 10.4049/jimmunol.1400451
9. **Ma, J., Wu, D., Hu, X., Li, J., Cao, M. and Dong, W., 2017.** Associations between cytokine gene polymorphisms and susceptibility to Helicobacter pylori infection and Helicobacter pylori related gastric cancer, peptic ulcer disease: A meta-analysis. *PloS one*. 12(4): e0176463. doi: 10.1371/journal.pone.0176463
10. **Khaledi, M., Moradipoodeh, B., Moradi, R., Baghbadorani, M.A. and Mahdavinia, M., 2022.** Antiproliferative and proapoptotic activities of Sea Cucumber H. Leucospilota extract on breast carcinoma cell line (SK-BR-3). *Molecular Biology Reports*. 49(2): 1191-1200. doi: 10.1007/s11033-021-06947-0
11. **Moghadasi, Z., 2017.** In vitro study on cytotoxic effect of methanolic extract from carpet anemone tentacles against brain and colon cell lines.*Journal of Animal Environment*. 9(3): 379-384. (In Presian)
12. **Kim, S.K. and Pangestuti, R., 2011.** Biological activities and potential health benefits of fucoxanthin derived from marine brown algae. *Advances in food and nutrition research*. 64: 111-128. doi: 10.1016/B978-0-12-387669-0.00009-0
13. **Shahhosseini, S., Kordjazi, M., Ahmad Nasrollahi, S., Ojagh, S.M., Naeimifar, A. and Sharifian, S., 2020.** Investigation of some antibacterial and antioxidant properties of brown algae aqueous extract (*Sargassum tenerrimum*) collected from the Persian Gulf coast. *Journal of Animal Environment*. 12(2): 411-418. (In Presian)
14. **Mandrekar, V.K., Gawas, U.B. and Majik, M.S., 2019.** Brominated molecules from marine algae and their pharmacological importance. *Studies in Natural Products Chemistry*. 61: 461-490. doi: 10.1016/B978-0-444-64183-0.00013-0
15. **Mahendran, S., Sankaralingam, S., Sethupathi, S.M., Kathiresan, D., Muthumani, M., Kousalya, L., Palpperumal, S. and Harinathan, B., 2022.** Evaluation of antioxidant and cytotoxicity activities of polyphenol extracted from brown seaweed *Sargassum tenerrimum* biomass. *Biomass Conversion and Biorefinery*. 14: 1-7. doi: 10.1007/s13399-022-02301-x
16. **Masoudi, M., Khaledi, H., Archangi, B., Khodadadi, A., Dinarvand, G. and Mousavi, S.M., 2022.** The effect of *Sargassum tenerrimum* seaweed extracts on VEGF gene expression in SW742 colorectal cancer cell line. *Daneshvar Medicine*. 30(3): 52-61. doi: 10.22070/daneshmed.2022.15747.1169 (In Presian)
17. **Patra, S., Muthuraman, M.S., Prabhu, A.T.J., Priyadharshini, R.R. and Parthiban, S., 2015.** Evaluation of antitumor and antioxidant activity of

[Downloaded from www.journalaer.com on 2026-11-15]

[DOI: 10.22034/aer.1.2.51]

pre-activated NK cells target resistant T cell acute lymphoblastic leukemia and delay leukemia development in vivo. *Oncoimmunology*. 6(3): e1274478. doi: 10.1080/2162402X.2016.1274478

32. **Cocco, C., Pistoia, V. and Airoldi, I., 2012.** Anti leukemic properties of IL-12, IL-23 and IL-27: differences and similarities in the control of pediatric B acute lymphoblastic leukemia. *Critical reviews in oncology/hematology*. 83(3): 310-318. doi: 10.1016/j.critrevonc.2011.11.006

33. **Vemulawada, C., Renavikar, P.S., Crawford, M.P., Steward-Tharp, S., Guo, H., Jian, Z. and Karandikar, N.J., 2022.** Disruption of IFNγ, PRF1, GZMB, or LYST results in reduced suppressive function in human CD8+ T cells. *The Journal of Immunology*. 212(11): 1722-1372. doi: 10.4049/jimmunol.2300388

34. **Yang, L., Xie, X., Tu, Z., Fu, J., Xu, D. and Zhou, Y., 2021.** The signal pathways and treatment of cytokine storm in COVID-19. *Signal transduction and targeted therapy*. 6(1): 255. doi: 10.1038/s41392-021-00679-0

35. **Neufeldt, C.J., Cerikan, B., Cortese, M., Frankish, J., Lee, J.Y., Plociennikowska, A., Heigwer, F., Prasad, V., Joecks, S., Burkart, S.S. and Zander, D.Y., 2022.** SARS-CoV-2 infection induces a pro-inflammatory cytokine response through cGAS-STING and NF-κB. *Communications biology*. 5(1): 45. doi: 10.1038/s42003-021-02983-5

36. **Wenji, K.Y., Rukmi, I. and Suprihadi, A., 2019.** In vitro Antifungal Activity of Methanolic and Chloroform Mint Leaves (*Mentha piperita* L.) Extracts Against Candida albicans. *Journal of Physics: Conference Series*. 1217(1): 012136. doi: 10.1088/1742-6596/1217/1/01213 6

37. **Sarkar, S., Gayen, K. and Bhowmick, T.K., 2022.** Green extraction of biomolecules from algae using subcritical and supercritical fluids. *Biomass Conversion and Biorefinery*. 15: 21603-21625. doi: 10.1007/s13399-022-02309-3

38. **Karimzadeh, K. and Zahmatkesh, A., 2021.** Phytochemical screening, antioxidant potential, and cytotoxic effects of different extracts of red algae (*Laurencia snyderiae*) on HT29 cells. *Research in Pharmaceutical Sciences*. 16(4): 400-413. doi: 10.4103/1735-5362.319578

39. **Truong, D.H., Nguyen, D.H., Ta, N.T.A., Bui, A.V., Do, T.H. and Nguyen, H.C., 2019.** Evaluation of the use of different solvents for phytochemical constituents, antioxidants, and in vitro anti-inflammatory activities of Severinia buxifolia. *Journal of food quality*. 1-9. https://doi.org/10.1155/2019/8178294

40. **Abbas, M., Saeed, F., Anjum, F.M., Afzaal, M., Tufail, T., Bashir, M.S., Ishtiaq, A., Hussain, S. and Suleria, H.A.R., 2017.** Natural polyphenols: An overview. *International Journal of Food Properties*. 20(8): 1689-1699. https://doi.org/10.1080/10942912.2016.1220393

41. **Chu, L.L., Zhou, J., Dhakal, D. and Sohng, J.K., 2021.** Recent Advances in Application of Synthetic Biology for Production of Bioactive Compounds. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 9: 819475. https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.819475

42. **Somasundaram, S.N., Shanmugam, S., Subramanian, B. and Jaganathan, R., 2016.** Cytotoxic effect of fucoidan extracted from *Sargassum cinereum* on colon cancer cell line HCT-15. *International journal of biological macromolecules*. 91: 1215-1223. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2016.06.084

43. **Ashayerizadeh, O., Dastar, B. and Pourashouri, P.,** *Sargassum tenerrimum* against Ehrlich ascites carcinoma in mice. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. 16(3): 915-921. doi: 10.7314/apjcp.2015.16.3.915

18. **Yende, S.R., Harle, U.N. and Chaugule, B.B., 2014.** Therapeutic potential and health benefits of *Sargassum* species. *Pharmacognosy reviews*. 8(15): 1-7. doi: 10.4103/0973-7847.125514.

19. **Golfakhrabadi, F., Khaledi, M., Nazemi, M. and Safdarian, M., 2021.** Isolation, identification, and HPTLC quantification of dehydrodeoxycholic acid from Persian gulf sponges. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 197: 113962. doi: 10.1016/j.jpba.2021.113962

20. **Bellinger, E.G. and Sigee, D.C., 2015.** Freshwater algae: identification, enumeration and use as bioindicators. 1st ed. USA: John Wiley & Sons.

21. **Guiry, M.D., 2021.** AlgaeBase: A global database for algae. *Current Science*. 121(1): 10-11.

22. **Salem, D.M. and Ismail, M.M., 2022.** Characterization of cellulose and cellulose nanofibers isolated from various seaweed species. *The Egyptian Journal of Aquatic Research*. 48(7): 307-313. doi: 10.1016/j.ejar.2021.11.001

23. **Vijayan, S.R., Santhiyagu, P., Ramasamy, R., Arivalagan, P., Kumar, G., Ethiraj, K. and Ramaswamy, B.R., 2016.** Seaweeds: A resource for marine bionanotechnology. *Enzyme and microbial technology*. 95: 45-57. doi: 10.1016/j.enzmictec.2016.06.009

24. **Kumar, P., Senthamilselvi, S. and Govindaraju, M., 2013.** GC-MS profiling and antibacterial activity of *Sargassum tenerrimum. Journal of pharmacy Research*. 6(1): 88-92. doi: 10.1016/j.jopr.2012.11.019

25. **Barbarino, E. and Lourenço, S.O., 2005.** An evaluation of methods for extraction and quantification of protein from marine macro-and microalgae. *Journal of Applied Phycology*. 17(5): 447-460. doi:10.1007/s10811-005-1641-4

26. **Hellio, C., Berge, J.P., Beaupoil, C., Le Gal, Y. and Bourgougnon, N., 2002.** Screening of marine algal extracts for anti-settlement activities against microalgae and macroalgae. *Biofouling*. 18(3): 205-215. doi: 10.1080/08927010290010137

27. **Sourani, Z., Pourgheysari, B., Beshkar, P., Shirzad, H. and Shirzad, M., 2016.** Gallic acid inhibits proliferation and induces apoptosis in lymphoblastic leukemia cell line (C121). *Iranian journal of medical sciences*. 41(6): 525-530.

28. **Trinchieri, G., 2003.** Interleukin-12 and the regulation of innate resistance and adaptive immunity. *Nature Reviews Immunology*. 3(2): 133-146. doi: 10.1038/nri1001

29. **Nastala, C.L., Edington, H.D., McKinney, T.G., Tahara, H., Nalesnik, M.A., Brunda, M.J., Gately, M.K., Wolf, S.F., Schreiber, R.D. and Storkus, W.J., 1994.** Recombinant IL-12 administration induces tumor regression in association with IFN-gamma production. *Journal of immunology* (Baltimore, Md.: 1950). 153(4): 1697-1706.

30. **Pegram, H.J., Purdon, T.J., Van Leeuwen, D.G., Curran, K.J., Giralt, S.A., Barker, J.N. and Brentjens, R.J., 2015.** IL-12-secreting CD19-targeted cord blood-derived T cells for the immunotherapy of B-cell acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia*. 29(2): 415-422. doi: 10.1038/leu.2014.215

31. **Boieri, M., Ulvmoen, A., Sudworth, A., Lendrem, C., Collin, M., Dickinson, A.M., Kveberg, L. and Inngjerdingen, M., 2017.** IL-12, IL-15, and IL-18

[Downloaded from www.journalaer.com on 2026-11-15]

[DOI: 10.22034/aer.1.2.51]

2020. Study of antioxidant and antibacterial activities of depolymerized fucoidans extracted from *Sargassum tenerrimum. International journal of biological macromolecules*. 151: 1259-1266. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2019.10.172

44. **Vasanthi, C., Appa Rao, V., Narendra Babu, R., Sriram, P. and Karunakaran, R., 2020.** In-vitro antioxidant activities of aqueous and alcoholic extracts of *Sargassum* species-Indian brown seaweed. *Journal of Food Processing and Preservation*. 44(11): e14877.

45. **Chitari, S., Dias, P.E. and Barros, U., 2018.** Report On The Identification Of Alkaloids From *Sargassum Tenerrimum.* 40(2):1-6.

46. **Waghmode, A.V., Narayankar, C.U., Nimbalkar, M.S. and Gaikwad, D.K., 2019.** Exploration of fucoxanthin and astaxanthin in macro alga (*Sargassum* sp.) by high performance liquid chromatography. *Indian Hydrobiol*. 18: 40-49.

[Downloaded from www.journalaer.com on 2026-11-15]

[DOI: 10.22034/aer.1.2.51]