(مقالهٔ پژوهشی)

بررسی اثرات سیتوتوکسیک در متابولیت‌های تولیدشده به‌وسیلهٔ اکتینومیست‌ها

سهیلا صرامی[1]، جواد حامدی[2و3*]، فاطمه محمدی‌پناه[2و3]، سید مهدی رضایت سرخ آبادی[4]

۱- کارشناس ارشد میکروبیولوژی.
۲- دانشیار میکروبیولوژی
۳-استادیار میکروبیولوژی
۴- استاد سم‌شناسی.

۱- گروه میکروبیولوژی، واحد علوم دارویی، دانشگاه آزاد اسلامی تهران، تهران، ایران.
۲- بخش زیست فناوری میکربی، دانشکدهٔ زیست‌شناسی، پردیس علوم، دانشگاه تهران، تهران، ایران.
۳- مرکز کلکسیون میکروارگانیسم‌ها، مرکز پژوهشی فناوری و فراورده‌های میکروبی دانشگاه تهران، تهران، ایران.
۴- گروه سم‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم دارویی، تهران، ایران.

* نویسندهٔ مسؤول:
جواد حامدی؛ بخش زیست فناوری میکربی، دانشکدهٔ زیست‌شناسی، پردیس علوم، دانشگاه تهران، تهران، ایران.
تلفن: ۰۰۹۸۹۱۲۲۱۸۱۲۵۰
Email: jhamedi@ut.ac.ir

چکیده

زمینه و هدف: با توجه به افزایش شیوع و گستردگی سرطان، امروزه نیاز به داروهای شیمی‌درمانی سرطان هرچه بیشتر احساس می‌شود. محصولات طبیعی باکتریایی منبعی بسیار غنی برای ترکیبات جدید با فعالیت‌های زیستی مختلف هستند. در میان باکتری‌ها، اکتینومیست‌ها پتانسیل قابل توجهی را در تولید داروهای ضد سرطان دارند. در این پژوهش، اکتینومایست‌های مولد ترکیبات سیتوتوکسیک غربالگری شده‌اند.

روش بررسی: ۴۰ سویه اکتینومایست مختلف جداشده از مناطق مختلف کشور از مرکز کلکسیون میکروارگانیسم‌های دانشگاه تهران دریافت شد و پس از احیاء، مراحل پیش تخمیر و تخمیر و استخراج متابولیت‌های ترشحی آنها انجام شد. میزان سمیت عصاره‌ها بر آرتمیا، به‌عنوان آزمون سریع و ساده برای غربالگری ترکیبات ضد سرطان سنجیده و عصاره ها در سه گروه بسیار سمی (۴۰-۵۹ درصد)، نیمه سمی (۲۰-۳۹ درصد)، غیر سمی (۰-۱۹ درصد) دسته‌بندی شد.

یافته‌ها: از بین ۴۰ سویهٔ مطالعه‌شده، که تولید آنها مورد بررسی قرار گرفت، ۲۳ سویه بسیار سمی ،۱۶ سویه نیمه سمی و ۱سویه با سمیت کم بوده‌اند.

نتیجه‌گیری: در این پژوهش نشان داده شد که اکتینومیست‌های جداشده از مناطق مختلف ایران می‌توانند منبعی مناسب برای تولید ترکیبات سیتوتوکسیک باشند. این ترکیبات می‌توانند به‌عنوان ترکیبات ضد سرطان برای کارهای بعدی در نظر گرفته شوند.

کلید واژگان: اکتینومیست، آزمون کشندگی آرتمیا، ترکیبات سیتوتوکسیک، ترکیبات فعال زیستی، غربالگری.

دریافت مقاله: ۱۳۹۲/۸/۸ **دریافت مقالهٔ اصلاح‌شده:** ۱۳۹۳/۱/۱۷ **اعلام قبولی:** ۱۳۹۳/۱۲/۱۵

مقدمه

سرطان نوعی بیماری است که در آن کنترل طبیعی مکانیسم‌های بقا، تکثیر و تمایز سلول‌ها کم و یا از بین می‌رود (۱). در سال ۲۰۰۲، حدود ۱۱ میلیون مورد سرطان جدید و ۷ میلیون مرگ ناشی از سرطان در جهان گزارش شده است و تقریباً ۲۵ میلیون نفر با سرطان زندگی کرده‌اند (۲). در ایران نیز سرطان‌ها بعد از بیماری‌های قلبی و عروقی و حوادث رانندگی، سومین عامل مرگ و میر به حساب می‌آیند و سالانه بیش از ۷۰۰۰۰ مورد به تعداد بیماران سرطانی افزوده می‌شود و بیش از ۴۰۰۰۰ نفر نیز به کام مرگ می‌روند. در حال حاضر بیش از ۲۰۰۰۰۰ بیمار سرطانی در کشور وجود دارد (۳).

با توجه به شیوع سرطان و مقاومت دارویی سرطان در مقابل شیمی درمانی، کشف داروهای جدید ضرورت دارد. در این میان، ترکیبات زیستی که از موجودات زنده استخراج می‌شود، یکی از اصلی‌ترین منابع برای یافتن داروهای ضد سرطان است. در بین میکروارگانیسم‌ها، اکتینومایست‌ها به‌علت داشتن ژنوم بزرگتر به نسبت میکروارگانیسم‌های دیگر، توان بیشتری برای تولید زیست داروها دارند. زیست داروهای اکتینومایستی، متعلق به گروهی از ترکیبات موسوم به متابولیت‌های ثانویه هستند. این ترکیبات معمولاً وزن مولکولی کمتر از ۳۰۰۰ دالتون و تنوع ساختاری زیادی و ساختارهای پیچیده‌ای دارند. سنتز متابولیت‌های ثانویه با هدایت چندین کیلو باز از DNA و طی مسیرهای بیوشیمیایی پیچیده انجام می‌شوند (۴).

تاکنون حدود ۲۳۰۰۰ متابولیت ثانویه فعال در میکروارگانیسم‌ها گزارش شده، که بیش از ۱۰۰۰۰ از این ترکیبات (حدود ۴۵ درصد) از کل ترکیبات کشف شده توسط اکتینومایست‌ها تولید می‌شود. بسیاری از این متابولیت‌های ثانویه آنتی‌بیوتیک‌های قوی هستند که باعث می‌شوند تا این میکروارگانیسم‌ها در صنعت داروسازی مورد توجه و استفاده قرار گیرند. علاوه بر این، اکتینومیست‌ها داروهای ضد سرطان مانند آنتراسیکلیک‌ها [دانومایسین (Daunomycin)، دوکسی روبیسین (Doxorubicin) و آلکاروبیسین (Aclarubicin)]، پپتیدها [بلئومایسین (Bleomycin) و اکتینومایسین D (ActinomycinD)،)]، اسیدهای آروماتیک [میترومایسین (Mithramycin)]، آنتی‌متابولیت‌ها [(پنتوزومایسین (Pentostatin)، کارزینومایسین (Carzinophilin) و میتومایسین (Mitomycins)] را تولید می‌کنند (۵). غربالگری برای یافتن ترکیبات ضد سرطان در طی سال‌های اخیر نیز ادامه یافته است. لی (Li) و همکاران (۲۰۱۱) از *Streptomyces* sp.(172614) یک ترکیب آنالوگ استاروسپورین به نام -500}-100 [(methoxycarbonyl)amino]-200-methyl}-phenylaminocarbonylstaurosporine را شناسایی کردند که بر سلول‌های سرطان کولون مؤثر است (۶). شلیزنرت (Schleissnert) و همکاران (۲۰۱۱) نیز با غربالگری اکتینومیست‌های دریازی توانستند باکتری، *Streptomycesalbus* POR-04-15-053 را که مولد ترکیبات سیتوتوکسیک علیه سه ردهٔ سلولی سرطان ریه، روده و تخمدان است گزارش کنند (۷). شعبان (Shaaban) و همکاران (۲۰۱۱) نیز از سویه *Streptomyces cyanogenus* S-136، پنج لندومایسین جدید را گزارش کردند (۸).

ارزیابی میزان سمیت ترکیبات علیه آرتمیا به‌عنوان روشی ساده و سریع برای تشخیص ترکیبات سیتوتوکسیک در جهت داروهای ضد سرطان کاربرد فراوانی دارد. این آزمون بسیار ساده است و می‌تواند ترکیبات سمی را برای سیستم‌های جانوری شناسایی کند. این آزمون می‌تواند برای تشخیص وجود باقی‌ماندهٔ آفت‌کش‌ها، میکوتوکسین‌ها،

آلاینده‌های قوی، بی‌حس‌کننده‌ها، سموم موجود در محیط دریایی استفاده شود (۹-۱۱). همچنین نتایج حاصل از آزمون سمیت‌سنجی با آرتمیا روشی معیاری مقدماتی برای فعالیت سیتوتوکسیک ترکیبات علیه سرطان به‌کار می‌رود. نتایج این تست ارتباط نزدیکی با ارزیابی اثر عصاره‌ها بر روی انواع سلول‌های توموری انسانی دارد (۱۲، ۱۳).

در ایران پژوهش‌های معدودی بر روی توانمندی‌های اکتینومیست‌ها از نظر تولید ترکیبات ضد سرطان ایران انجام شده است. صفائیان و همکاران (۱۳۸۱) با غربالگری اکتینومیست‌های خلیج فارس، تولید ترکیبات سیتوتوکسیک علیه آرتمیا را گزارش دادند (۱۴)، ولی تاکنون پژوهشی در مورد فعالیت سیتوتوکسیکی اکتینومیست‌های خاکزی مولد ترکیبات ضد سرطان در ایران گزارش نشده است. با توجه به توانایی‌های بیوسنتزی بالای اکتینومیست‌ها در تولید داروهای ضد سرطان، این تحقیق با هدف غربالگری اکتینومیست‌های بومی خاکزی ایران به‌عنوان منبع غنی از ترکیباتی دارویی از نظر تولید ترکیبات ضد سرطان انجام گرفته است.

روش بررسی

تعداد ۴۰ سویه اکتینومیست جداشده از خاک‌های مناطق مختلف ایران که در کلکسیون میکروارگانیسم‌های دانشگاه تهران (UTMC) در دمای ۷۰- درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری می‌شوند، به‌صورت تصادفی انتخاب شدند. ابتدا ۵۰ میکرولیتر از هر ویال باکتری به محیط ISP2 (۱۵) منتقل شد و سپس پلیت‌ها به‌مدت ۱۴ روز در دمای ۲۷ درجهٔ سانتی‌گراد به‌منظور ایجاد اسپور نگهداری شدند.

تولید و استخراج متابولیت ثانویه

مقدار ۱ میلی‌لیتر از سوسپانسیون اسپوری کشت اکتینومایست‌ها با غلظت حدود 10^8 تا 10^7 اسپور در هر ml به فلاسک‌های ارلن مایر ۲۵۰ ml دارای ۵۰ ml محیط پیش‌کشت اضافه شد و به‌مدت ۴۸ ساعت در دمای ۲۸ درجهٔ سانتی‌گراد در شیکر با دور ۲۲۰rpm گرماگذاری شد. برای هر سویه دو فلاسک پیش‌کشت تهیه شد. پس از طی دورهٔ انکوباسیون، به‌صورت آسپتیک از فلاسک‌ها نمونه‌برداری شد. بعد از بررسی نمونه در صورت عدم آلودگی، مشاهدهٔ هیف‌های در حال رشد و عدم مشاهدهٔ اسپور، مقدار ۵ درصد (v/v) به هر یک از فلاسک‌های ارلن مایر دارای محیط تخمیر اضافه و به‌مدت ۸ روز در دمای ۲۷ درجهٔ سانتی‌گراد در شیکر با دور ۲۲۰rpm گرماگذاری شد (۱۶، ۱۷).

بعد از پایان دورهٔ تخمیر و اطمینان از آلوده نبودن کشت، pH هر فلاسک اندازه‌گیری شد و مایع رویی محیط تخمیر با سانتریفوژ در ۴۰۰۰rpm به‌مدت ۲۰ دقیقه جدا شد. سپس مایع رویی با اتیل استات به میزان دو برابر حجم مایع تخمیر(۱:۲ v/v) به‌مدت دو ساعت مخلوط گردید. فاز آلی از فاز آبی با کمک دکانتور جدا شد، حلال فاز آلی حاوی ترکیب استخراج‌شده به کمک دستگاه روتاری اواپوراتور در فشار کم و در دمای ۳۹ درجهٔ سانتی‌گراد تبخیر شد (۱۸).

ارزیابی میزان سمیت عصاره‌های کشت بر آرتمیا

برای کشت آرتمیا، در یک بیوراکتور ۱/۵ لیتری با سیستم ایرلیفت، مقدار ۰/۱ گرم از کیست های آرتمیا (تهیه-شده از شرکت Ocean Nutrition) به‌همراه ۵۰۰ میلی-لیتر آب نمک دریایی مصنوعی (دارای ترکیبات ۲۳/۳۷۵ گرم NaCl، ۴/۹۲۵ گرم $MgSO_4.7H_2O$، ۱/۱۱ گرم $2H_2O.CaCl_2$، ۰/۲۰۲۵ گرم KBr، ۰/۷۴۵ گرم KCl ، ۴/۰۶۲۵ گرم $MgCl_2.6H_2O$ در یک لیتر آب مقطر) اضافه شد (۱۹، ۲۰). دمای بیوراکتور در ۲۸ درجهٔ سانتی-گراد تنظیم شد. ضمناً بیوراکتور در معرض نور مداوم یک لامپ ۱۰۰ وات قرار گرفت. پس از حدود ۴۸ ساعت کیست‌ها به لارو تبدیل شدند.

برای ارزیابی میزان سمیت ابتدا مقدار ۰/۰۰۴ گرم از هر عصاره در یک میلی‌لیتر DMSO حل شد. این محلول به‌عنوان غلظت ذخیره در نظر گرفته شد و از آن رقت‌های ۵ µg/ml، ۱۰، ۲۰ و ۴۰ تهیه و در میزان سمیت در هر یک از این غلظت‌ها ۲ بار سنجیده شد. محلول دی کرومات پتاسیم به‌عنوان شاهد مثبت و محلول DMSO به‌عنوان شاهد منفی به کار رفت. در ابتدای آزمون تعداد لاروهای مرده در شروع آزمایش و بعد از ۶ و ۱۸ ساعت با استفاده از استریومیکروسکوپ شمرده شد. میزان سمیت با استفاده از رابطهٔ زیر محاسبه شد: M=A-B-N/G-N.100 که در آن: M درصد لاروهای مرده بعد از زمان معین، A تعداد لاروهای مرده بعد از زمان معین، B میانگین تعداد لاروهای مرده در شاهد منفی بعد از زمان معین، N تعداد لاروهای مرده در زمان و G تعداد کل لاروهای آرتمیا است. درصد مرگ بیش از ۲۰، ۴۰ و ۶۰ درصد به‌ترتیب عنوان فعالیت سمی کم، متوسط و زیاد در نظر گرفته شد (۹، ۱۰، ۱۱، ۱۹، ۲۰).

برای نمونه‌های دارای سمیت زیاد میزان LC_{50} بر اساس معادلهٔ خط با استفاده از نرم‌افزار Excel ۲۰۱۰ محاسبه شد. ارزیابی میزان معناداری (حدود اطمینان ۹۵ درصد) با نسخهٔ ۱۹ نرم‌افزار SPSS انجام شد.

یافته‌ها

در این تحقیق میزان سمیت متابولیت‌های ثانویه ۴۰ اکتینومیست جداشده از خاک‌های ایران (نگهداری‌شده در کلکسیون میکرو ارگانیسم‌های دانشگاه تهران) بر آرتمیا مورد بررسی قرار گرفت. نتیجهٔ LC50 ۲۳ عصارهٔ کشت اکتینومیست‌های: UTMC 531، UTMC 1007، UTMC 1006، UTMC 528، UTMC 705، UTMC 709، UTMC 863، UTMC 925، UTMC 906، UTMC 726، UTMC 608، UTMC 899، UTMC 929، UTMC 919، UTMC 651، UTMC 518، UTMC 527، UTMC 676، UTMC 638، UTMC 877، UTMC 517، که سمیت آنها زیاد بوده است، در جدول (۱) آورده شده است. شانزده سویه شامل: UTMC 703، UTMC 103، UTMC 102، UTMC 507، UTMC 515، UTMC 101، UTMC 708، UTMC 522، UTMC 529، UTMC 732، UTMC 616، UTMC 639، UTMC 861، UTMC 862، UTMC 550، UTMC 428 (جدول ۲)، میزان سمیت متوسطی (۲۰-۳۹ درصد کشندگی) داشته‌اند. ضمناً سویه UTMC 508 در حداکثر غلظت مطالعه (۴۰ µg/ml)، اثر سیتو توکسیک ناچیزی (۱۲/۵ درصد کشندگی) نشان داده است. لازم به‌ذکر است که مرگ ۱۰۰ درصد آرتمیاهای موجود در چاهک‌های دارای دی کرومات پتاسیم (کنترل مثبت) بعد از ۳۰ دقیقه مشاهده شد.

جدول ۱: فهرست جدایه‌های اکتینومایست خاک‌زی که اثر سمیت زیادی (بیش از ۴۰ درصد) بر آرتمیا داشته‌اند

غلظت / کد باکتری	۴۰ (µg/ml)	۲۰ (µg/ml)	۱۰ (µg/ml)	۵ (µg/ml)	ضریب اطمینان ۹۵٪		LC50 (µg/ml)
					حد بالا	حد پایین	
UTMC 521	٪۵۷/۵	٪۴۰	٪۲۲/۵	٪۱۲/۵			۳۲/۱۹
UTMC 1007	٪۵۷/۵	٪۳۲/۵	٪۴۲/۵	٪۱۲/۵			۳۲/۵
UTMC 1006	٪۵۷/۵	٪۳۷/۲۵	٪۴۷/۵	٪۱۷/۵	۱۱/۷۴۳۱	۶۷/۵۳۱۹	۳۰/۵
UTMC 528	٪۵۵	٪۱۲/۵	٪۲۳/۷۵	٪۱۵			۴۰/۶۴
UTMC 705	٪۵۵	٪۳۲/۵	٪۴۵	٪۲۰	۱۳/۹۰۴۷	۶۲/۲۴۵۳	۳۴/۵۴
UTMC 709	٪۵۵	٪۳۲/۵	٪۴۵	٪۱۰	۴/۷۸۰۲	۶۶/۴۹۴۸	۳۰/۰۰
UTMC 863	٪۵۵	٪۱۷/۵	٪۴۵	٪۱۲/۵	-۰/۵۱۴۳	۶۵/۴۱۴۳	۳۸/۹۰
UTMC 925	٪۵۲/۵	٪۲۲/۵	٪۲۷/۵	٪۱۷/۵			۴۰/۵
UTMC 906	٪۵۰	٪۲۰	٪۱۲/۵	٪۱۰			۴۱/۷۴
UTMC 726	٪۵۰	٪۳۰	٪۲۵	٪۵			۳۸/۶۶
UTMC 608	٪۵۰	٪۲۲/۵	٪۳۷/۵	٪۱۲/۵	۴/۳۱۲۸	۵۶/۸۳۷۲	۴۲/۳۷
UTMC 899	٪۵۰	٪۳۲/۵	٪۳۵	٪۱۲/۵			۳۴/۶۰
UTMC 929	٪۵۰	٪۲۸	٪۳۲/۵	٪۲۰			۴۲/۰۰
UTMC 919	٪۴۷/۵	٪۲۲/۵	٪۲۱/۵	٪۱۰			۴۳/۶۲
UTMC 651	٪۴۷/۵	٪۱۷/۵	٪۳۵	٪۱۷/۵	۶/۰۴۴۰	۵۲/۶۰۶۰	۴۹/۴۳
UTMC 518	٪۴۵	٪۲۵	٪۲۱/۲۵	٪۲۵			۵۱/۶۱
UTMC 527	٪۴۵	٪۷/۵	٪۱۰	٪۲۲/۵	-۶/۰۷۲۲	۴۸/۴۷۲۲	۴۹/۴۳
UTMC 676	٪۴۵	٪۱۷/۵	٪۲۵	٪۵			۴۶/۷۶
UTMC 638	٪۴۵	٪۲۵	٪۲۵	٪۲۰			۴۶/۶۷
UTMC 877	٪۴۲/۵	٪۲۲/۵	٪۳۰	٪۱۲/۵			۵۲/۲۲
UTMC 517	٪۴۰	٪۲۷/۵	٪۲۵	٪۱۲/۵			۵۳/۳۱
UTMC 719	٪۴۰	٪۱۲/۵	٪۳۲/۵	٪۱۰			۶۱/۳۱

جدول ۲: فهرست جدایه‌های اکتینومایست خاک‌زی که اثر سمیت متوسطی (بین ۲۰-۴۰ درصد) بر آرتمیا داشته‌اند

غلظت / کد باکتری	۴۰ (µg/ml)	۲۰ (µg/ml)	۱۰ (µg/ml)	۵ (µg/ml)
UTMC 703	٪۲۲/۵	٪۲۲/۵	٪۲۰	٪۷/۵
UTMC 103	٪۳۲/۵	٪۱۵	٪۱۷/۵	٪۱۷/۵
UTMC 102	٪۳۷/۵	٪۱۷/۵	٪۱۲/۵	٪۱۵
UTMC 507	٪۳۵	٪۱۵	٪۱۵	٪۲۵
UTMC 515	٪۳۰	٪۱۲/۵	٪۲۰	٪۲۵/۵
UTMC 101	٪۳۲/۵	٪۲۵	٪۲۲/۵	٪۲/۵
UTMC 708	٪۳۷/۵	٪۱۲/۵	٪۱۵	٪۱۰
UTMC 522	٪۳۰	٪۱۵	٪۱۷/۵	٪۱۰
UTMC 529	٪۲۵	٪۲/۵	٪۱۷/۵	٪۲/۵
UTMC 732	٪۲۷/۵	٪۲۰	٪۳۰	٪۷/۵
UTMC 616	٪۲۲/۵	٪۲۰	٪۳۲/۵	٪۲۵
UTMC 639	٪۲۷/۵	٪۱۲/۵	٪۳۰	٪۱۵
UTMC 861	٪۲۰	٪۲۰	٪۲۲/۵	٪۱۲/۵
UTMC 862	٪۳۵	٪۸/۷۵	٪۳۵	٪۱۲/۵
UTMC 550	٪۲۷/۵	٪۲۰	٪۲۲/۵	٪۱۷/۵
UTMC 428	٪۳۷/۵	٪۲۵	٪۴۷/۵	٪۱۵

جدول ۳: فهرست جدایه اکتینومایست خاک‌زی که اثر سمیت کمی (حداقل ۲۰ درصد) آرتمیا داشته‌است

غلظت / کد یاکتری	۴۰(µg/ml)	۲۰ (µg/ml)	۱۰ (µg/ml)	۵ (µg/ml)
UTMC 508	٪۱۲/۵	٪۷/۵	٪۱۰	٪۷/۵

بحث

نتایج آزمون ارزیابی میزان سمیت بر آرتمیا نشان می‌دهد که اکتینومیست‌های جدا شده از مناطق مختلف ایران، منبعی مناسب برای تولید ترکیبات زیستی با اثرات توکسیک بوده و بنابراین می‌تواند به‌عنوان ترکیبات توانمند برای یافتن ترکیبات ضد سرطان مورد مطالعهٔ فراتر قرار بگیرند. همان‌گونه که قبلاً گفته شد تاکنون پژوهشی در زمینهٔ غربالگری اکتینومیست‌های خاکزی مولد ترکیبات ضد سرطان در ایران انجام نشده است، ولی صفائیان و همکاران (۱۳۸۱) در گزارش خود، LC_{50}، ۰/۵ mg/ml را برای جدایه خود گزارش کردند (۱۴). در پژوهش کساوان (Kesavan) و همکاران (۲۰۱۱) نیز که برای یافتن اکتینومیست‌های دریایی مولد ترکیبات سیتوتوکسیک با استفاده از آرتمیا انجام شد، ۴

سویه دارای LC_{50} کمتر از ۵۰۰ µg/ml گزارش شد، ولی در این پژوهش، همهٔ سویه‌های ذکرشده در جدول (۱)، LC_{50} ۱۰۰۰ تا ۶۰۰۰ برابر کمتری نسبت به جدایه صفائیان و همکاران (۱۴) و نیز جدایه‌های کساوان و همکاران (۱۳) داشته‌اند. لازم به‌ذکر است که LC_{50} معادل ۱۰۰۰ µg/ml برای ترکیبات با منبع طبیعی، به‌معنای تأیید اثرات کشندگی و سیتوتوکسیک آن متابولیت طبیعی است (۹). مقایسهٔ این غلظت با یافته‌های این پژوهش با هشت سویهٔ اول جدول (۱) شامل UTMC 521،UTMC 1007، UTMC 1006، UTMC 528، UTMC 705،UTMC 709، UTMC 863، UTMC 925 که اثرات سیتوتوکسیک بالای ۵۰ درصد داشته‌اند، نشان می‌دهد که این جدایه‌ها می‌توانند کاندیدای مناسبی برای پژوهش‌های فراتر از جمله ارزیابی فعالیت بر روی دودمان‌های سلولی باشند.

منابع

1-Edward Chu, Alan C. Cancer Chemotherapy. In: Katzung B, Masters S, Trever A. Basic and Clinical Pharmacology. 11th ed .NewYork: McGraw-Hill; 2009. p. 1035-40.

2-Kamangar F, Dores GM, Anderson WF. Patterns of cancer incidence, mortality, and prevalence across five continents: defining priorities to reduce cancer disparities in different geographic regions of the world. J Cin Oncol 2006;24(14):2137-50.

3-Mohaghegh F, Hamta A, Shariatzadeh SM. [The study of cancer incidence and cancer registration in Markazi province between 2001-2006 and comparison with national statistics, Iran]. Arak Med Univ J 2008;11(2):84-93. [In Persian]

4- Betina V. Microbial primary and secondary metabolism. In: Betina V. Bioactive secondary metabolites of microorganisms. Amsterdam: Elsevier; 1994. p. 20-3.5-Olano C, Mendez C, Salas J. Antitumor compounds from marine Actinomycetes .Mar Drugs 2009;7(2):210-48.

6-Li XB, Tang JS, Gao H, Ding R, Li J, Hong K, et al. A new staurosporine analog from Actinomycetes Streptomyces sp.(172614) .J Asian Nat Prod Res 2011;13(8) :765-9.

7-Schleissner C, Perez M, Losada A, Rodriguez P, Crespo C, Zúñiga P, et al. Antitumor Actinopyranones produced by Streptomyces albus POR-04-15-053 isolated from a marine sediment. J Not Prod 2011;74(7):1590-6.

8-Shaaban KA, Srinivasan S, Kumar R, Damodaran C, Rohr J. Landomycins P-W, cytotoxic angucyclines from Streptomyces cyanogenus S-136. J Nat Prod 2011;74(1):2-11.

9-Meyer BN, Ferrigni NR, Putnam JE, Jacobsen LB, Nichols DE, Mclaughlin JL. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active Plant constituents. Planta Med 1982;45(5):31-4.

10-Manilal A, Sujith S, Seghal Kiram G, Selvin J, Shakir C. Cytotoxic potentials of red alga, laurencia brandenii collected from the Indian coast. Glob J Pharmacol 2009;3(2):90-4.

11-Krishnaraju AV, Rao TVN, Sundararaju D, Vanisree M, Tsay HS, Subbaraju G. Assessment of bioactivity of Indian medicinal plants using brine shrimp (*Artemia Salina*) lethality assay. Int J Appl Sci Eng 2005;3(2):25-34.

12-Erdogan TF. Brine Shrimp lethality bioassay of fumaria densiflora Dc. and fumaria officinalis L. Extracts. Hacettepe Univ J Faculty Pharm 2009;28(2):125-32.

13-SudhaKesavan S, Vijayalakshmi S, Usha Nandhini S, Bhavani Latha M, Masilamani Selvam M. Application of brine shrimp bioassay for screening cytotoxic Actinomycetes .Int J Pharmacy Pharmaceutical Sci Res 2011;1(3):104-7.

14-Safaiyan Sh, Nohi A, Oryan Sh, Asmar M, Rostaiyan A. Study of *Sinularia erecta*, a coral of Persian Gulf and taxonomic study of isolated *Streptomyces* that produce cytotoxic compound. J Mar Sci 2002;1(2):51-9 [In Persain].

15-Atlas RM. Handbook of Microbiological Media. 4th ed. New York: Taylor & Francis; 2010. p. 884.

16-Wink J. The Actinomycetals, Electronic manual, Aventis Pharma, Frankfurt, Germany; 2002.

17-Hamedi J, Mohammadipanah F, Amoozegar MA, Dehghan S. Isolation of a New Moderately Halophilic Broad-spectrum Antibiotic Producing Actinobacter. Jundishapur J Natural Pharmaceutical Products 2007;2(2):94-104.

18-Usha Rakshanya J, Hemashenpagam N, Kanchana Devi D. Purification of secondary metabolites from Soil Actinomycetes. Int J Microbiol Res 2011;3(3):148-56.

19-McLachlan J. Some consideration of the growth of marine algae in artificial media. Can J Microbiol 1964;10:769-82.
20-Goldman JC, McCarthy JJ. Steady state growth and ammonium uptake of a fast-growing marine diatom. Limnol Oceanogr 1978;23(4):695-703.
21-Taha A, Alsayed H. Brine shrimp bioassay of ethanol extracts of Sesuvium verrucosum, salsola baryosma and zygophyllum quatarense medicinal plants from Bahrain. Phytother Res 2000;14(1):48-50.
22-Mohammadipanah F. Screening of soil actinomycetes for new bioactive metabolites and identification of the producing strains [dissertation]. Tehran: Univ. Tehran; 2011. p. 59-61.
23-Anderson JE, Goetz CM, Mclaughlin JL, Suffness M. A blind comparison of simple bench-top bioassays and human tumour cell cytotoxicities as antitumor prescreens. Phytochemical Anal 1991;2(3):107-11.

Study of Cytotoxic Effects of Metabolites Produced by Actinomycetes

Soheila Sarrami[1], Javad Hamedi[2,3*], Fatemeh Mohammadipanah[2,3], Seyed Mahdi Rezayat Sorkhabadi[1]

1-MS in Microbiology.
2-Associate Professor of Microbiology.
3-Assistant of Microbiology
4-Professor of Pharmacology.

1-Department of Microbiology, Faculty of Emerging Technologies, Pharmaceutical Sciences Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
2-Department of Microbial Biotechnology, School of Biology , College of Science, University of Tehran, Tehran, Iran.
3-Microorganisms Collection, Technology and Products Research Center University of Tehran Microbial, —Tehran, Tehran, Iran.
4-Department of Toxicology, Islamic Azad University, Department of Pharmaceutical Sciences, Tehran, Iran.

**Corresponding author:*
Javad Hamedi; Department of Microbial Biotechnology, School of Biology, College of Science, University of Tehran, Tehran, Iran.
Tel:+989122181250
Email: jhamedi@ut.ac.ir

Abstract

Background and Objective: Due to increasing prevalence of cancer, low efficiency or high toxicity of the current drug, novel cancer chemotherapy drugs are required. Natural bacterial products are among the richest sources of new compounds with different biological activity including anticancer properties. There are lots of commercialized naturally derived anticancer drug originated from actinomycetes. In the presented research, we aimed at mining *Actinomycetes* strains which are capable in production of potent anticancer compounds.

Subjects and Methods: Forty indigenous *Actinomycete* strains were received and recovered from University of Tehran Microorganisms Collection (UTMC). Sporulation, seeding and fermentation of indigenous strains were carried out. Then, total produced secondary metabolites of each strain were investigated for their toxicity against eukaryotic cells on the model organism, *Artemia franciscana.*

Results: High (40-59%), medium (20-39%) and no toxicity effects were observed in 23, 16 and a single extract of the investigated strains, respectively.

Conclusion: This study has shown that soil-dwelling *Actinomycetes* of Iran are a rich source of cytotoxic compounds with potentially anticancer activity. The introduced strains which produce potent cytotoxic compounds can be considered as reasonable candidates for further studies to find anticancer drugs.

Keywords: *Actinomycete*, *Artemia* Lethality Assay, Cytotoxic compounds, Screening, *Artemia franciscana.*

►*Please cite this paper as:*
Sarrami S, Hamedi J, Mohammadipanah F, Rezayat Sorkhabadi SM. Study of Cytotoxic Effects of Metabolites Produced by Actinomycetes. Jundishapur Sci Med J 2014;13(3):347-355

Received: Oct 30, 2013 **Revised: April 6, 2014** **Accepted: May 5, 2014**