

بررسی تخمیر، جدا سازی و شناسایی سیکلوسپورین A با کاربرد ژل کروماتوگرافی، روش ضد قارچی و طیف سنجی

سید منوچهر غروی^{۱*} (Ph.D)، ناصر خدائی^۲ (Ph.D)، رحیم بحری نجفی^۳ (Ph.D)

۱ - دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

۲ - انستیتو پاستور ایران، تهران

۳ - دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز

خلاصه

سابقه و هدف: قارچ ناقص *T. Inflatum* مولد سیکلوسپورین A از طریق کونیدیوم تولید می کند. اسپوره های آن در محیط های مناسب مرطوب یا جامد محتوی عصاره مالت و در حرارت بین 30°C - 6°C رشد می نمایند. سیکلوسپورین ها از متابولیت های قارچ ماکرولیدی می باشند. مهم ترین اثر درمانی سیکلوسپورین A، تضعیف سیستم ایمنی و تشکیل آنتی بادی در رد کردن پیوند اعضا می باشد. هدف این تحقیق، افزایش تولید سیکلوسپورین A به روش جهش، توسط اشعه ماورای بنفش و فراهم کردن محیط کشت برای آگزوتروف های به دست آمده است.

مواد و روش ها: *Tolypocladium* (915 DSM)، محیط کشت عصاره مالت و سابورد دکستروز ۴ درصد، با کتوپیتامین، کازئین هیدرولاز و عصاره مخمر دهیدراته شدند. قارچ روی محیط جامد محتوی ۲٪ عصاره مالت، ۴٪ عصاره مخمر و ۲٪ آگار دکستروز در $\text{pH}=7/5$ کشت و در حرارت 24°C نگهداری شد. استخراج سیکلوسپورین ها پس از سونیکیت کردن توسط ژل کروماتوگرافی انجام گرفت. برای افزایش تولید سیکلوسپورین A جهش با اشعه فرابنفش و برای ردیابی، از روش اسپکتروفتومتری فرابنفش، تحت قرمز و روش ضدقارچی استفاده گردید. یافته ها: حاصل کشت روی محیط آگار - عصاره مالت در حرارت 24°C ، کلنی های سفید مخملی بود. نمونه ها و فراکسیون های جدا شده با ژل کروماتوگرافی دارای اثر ضدقارچی روی *آسپرژیلوس نیجر* بودند. طیف سنجی با اشعه فرابنفش مرئی، حداکثر جذب (مطابق $220-230\text{nm}$ λ_{Max}) مشابه استاندارد نشان داد و طیف فروقرمز نیز مطابق با طیف استاندارد سیکلوسپورین A بود.

نتیجه گیری: آگزوتروف های حاصل از موتاسیون قارچ، در محیط های صنعتی و محیط خام کشت شدند. بهترین کشت و تولید با استفاده از عصاره مالت همراه با پس آب کارخانه روغن کشی از ذرت در تاریکی امکان پذیر است.

کلمات کلیدی: سیکلوسپورین A، تخمیر، کروماتوگرافی، جهش، اثرات ضدقارچی

مقدمه

در سال ۱۹۷۰ سوش های جدیدی از قارچ ناقص که دارای مرحله کونیدی بود از خاک های نروژ *Wisconsin* آمریکا و *Hardanger vidda* به دست آمد. در

طبقه بندی جدید آن را *Tolypocladium inflatum* *gams* می نامند که کد آن NRRL 8044 است [۷]. این قارچ ها از طریق اسپوره های غیرجنسی (کونیدیوم) تولید می نمایند [۱۲]. اسپورها در محیط های