مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد
دوره ۲۰ ، شماره ۱، فروردین و اردیبهشت ۱۳۹۱
صفحه: ۸۱-۷۳

Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences
Vol. 20, No. 1, Mar-Apr 2012
Pages: 73-81

تولید مایکوفنولیک اسید در محیط کشت جامد با استفاده از سویه‌های استاندارد پنی‌سیلیوم برویکامپکتوم

مجید ریاضی پور*[۱]، دکتر محمد باقر صالحی[۲]، علیمحمد زند[۳]، محمد جواد باقری پور۴، عسگر امامقلی[۵]، زهرا متقیان[۶]، محمد علی افشاری[۷]، رضا کچویی[۸]، رضا گلمحمدی[۹]

۱- دانشیار قارچ شناسی، مرکز تحقیقات بیولوژی مولکولی و گروه انگل و قارچ شناسی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا...(عج) تهران
۲- دکترای بیوتکنولوژی، مرکز تحقیقات زیست شناسی، دانشگاه امام حسین(ع) تهران
۴،۳- پژوهشگر مرکز تحقیقات زیست شناسی، دانشگاه امام حسین(ع) تهران
۶،۵- پژوهشگر گروه انگل و قارچ شناسی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا...(عج) تهران
۷- مربی گروه انگل و قارچ شناسی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا...(عج) تهران
۸- استادیار قارچ شناسی، مرکز تحقیقات بیولوژی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا...(عج) تهران
۹- کارشناس، مرکز تحقیقات بیولوژی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا...(عج) تهران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۱/۳۰ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۱۰/۱

چکیده

مقدمه: مایکوفنولیک اسید مایکوتوکسینی است که توسط پنی سیلیوم برویکامپکتوم تولید و در صنایع دارویی برای سنتز داروهای سرکوب کننده سیستم ایمنی مورد استفاده قرار می گیرد. هدف این مطالعه آن بود تا با استفاده از سویه‌های استاندارد پنی‌سیلیوم برویکامپکتوم امکان تولید آزمایشگاهی مایکوفنولیک اسید با استفاده از محیط کشت جامد را مورد بررسی قرار دهد.

روش بررسی: سه سویه استاندارد پنی‌سیلیوم برویکامپکتوم از کلکسیون‌های میکروبی تهیه شد. برای القای تولید مایکوفنولیک اسید از دانه‌های جو بعنوان محیط کشت استفاده شد و روش‌های گرمای خشک، گرمای مرطوب و روش تابش گاما برای استریل کردن محیط کشت مورد آزمایش قرار گرفت. از محیط کشت در فواصل زمانی مختلف نمونه برداری و میزان مایکوفنولیک اسید آن با روش HPLC اندازه‌گیری شد.

نتایج: سویه پنی‌سیلیوم برویکامپکتوم تهیه شده از فنلاند بیشتر از دو سویه دیگر(آلمانی و ایرانی) قادر به تولید مایکوفنولیک اسید بود. میزان تولید مایکوفنولیک اسید تا روز دهم به صورت خطی افزایش و پس از آن به حالت نسبتا ثابت در آمد. استفاده از اشعه گاما برای استریل کردن سوبسترا روشی مناسب و استفاده از کیسه‌های سلوفان روشی آسان و ارزان برای کشت قارچ ارزیابی شد.

نتیجه‌گیری: با استفاده از روش‌ها و محیط‌های کشت ساده و ارزان قیمت می‌توان مایکوفنولیک اسید را تولید و ماده اولیه برای سنتز داروهای سرکوبگر ایمنی همچون مایکوفنولات موفتیل و مایکوفنولات سدیم را فراهم نمود.

واژه‌های کلیدی: پنی‌سیلیوم برویکامپکتوم، تولید آزمایشگاهی، مایکوفنولیک اسید

* (نویسنده مسئول)؛ تلفن ۲۶۱۲۷۲۵۸ ، پست الکترونیک : mriazipour@yahoo.com

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25]

مقدمه

مایکوفنولیک اسید یک متابولیت ثانویه قارچی است که توسط برخی از گونه‌های پنی سیلیوم بویژه سویه‌هایی از گونه برویکامپکتوم(P.brevicompactu) تولید می‌شود(۱). از استری کردن مایکوفنولیک اسید دارویی به نام مایکوفنولات موفتیل(Mycophenolate mofetil=MMF) با اسم تجاری CellCept® بدست می آید که پس از ورود به بدن مجددا به مایکوفنولیک اسید یعنی متابولیت فعال خود تبدیل می‌شود. این دارو سرکوب کننده ایمنی است و بطور قدرتمندی تکثیر لنفوسیت‌های T و B را مهار می‌کند(۲). مایکوفنولات موفتیل اصولا برای جلوگیری از رد پیوند معرفی شد و امروزه برای این منظور استفاده می‌شود(۶-۳). اما برای درمان بیماری‌های دیگر نیز کاربرد روز افزون دارد(۹-۷). این دارو که از سال ۱۹۹۵ به بازار آمده است، نسبت به دیگر داروهای سرکوب کننده سیستم ایمنی(مثل آزاتیوپرین) مزیت دارد(۱۰).

در مورد جنبه‌های بالینی و کاربرد درمانی مایکوفنولیک اسید مطالعات متعددی در ایران انجام شده است و بطور رایج برای درمان بیماران دریافت کننده پیوند(۱۲-۱۰) و نیز برای درمان سایر بیماری‌ها(۱۵-۱۳) استفاده می‌شود اما تلاش برای تولید این دارو در کشورمان تنها در یک مورد گزارش شده است(۱۶).

اگر چه مصرف داروهای سرکوب کننده سیستم ایمنی از افزایش روز افزونی برخوردار است اما متاسفانه در کشور ما برای تولید داخلی آنها اقدام خاصی انجام نمی‌شود. بعنوان نمونه سالانه مقادیر زیادی از مایکوفنولات موفتیل به کشور ما وارد و در شرکت‌های داروسازی داخلی صرفا بسته‌بندی و به صورت قرص وکپسول به بازار عرضه می گردد در حالی که به نظر می‌رسد تولید ماده اولیه این دارو یعنی مایکوفنولیک اسید با استفاده از امکانات بومی امکان پذیر باشد و هدف مطالعه حاضر آن است تا امکان تولید آزمایشگاهی مایکوفنولیک اسید را مورد ارزیابی قرار دهد.

روش بررسی

این مطالعه بصورت تجربی و در شرایط آزمایشگاهی انجام شد. برای انجام این مطالعه سه سویه پنی‌سیلیوم برویکامپکتوم خریداری و مورد استفاده قرار گرفت: سویهVTT D- 061157 (فنلاند)، سویه DSMZ 2215 (آلمان) و یک سویه از مرکز دفع آفات نباتات(ایران). سویه‌های ایرانی و آلمانی به صورت کشت روی محیط تازه و سویه فنلاندی به صورت پودر لیوفیلیزه دریافت گردید. سویه‌ها، برای بازیافت روی پلیت حاوی محیط کشت PDA(Potato Dextrose Agar) (مرک، آلمان) کشت و تا زمان رشد در دمای آزمایشگاه نگهداری شدند.

با توجه به نتایج بدست آمده از مطالعات قبلی(۱۷) محیط کشت انتخابی برای القای تولید مایکوفنولیک اسید دانه‌های جو بود که به صورت جو درسته پوست کنده و یا بلغور جو مورد استفاده قرار گرفت. ظروف مختلف شامل ارلن‌های آزمایشگاهی، بطری‌های شیشه‌ای، بطری‌های پلاستیکی و نیز کیسه‌های، سلوفان برای کشت دادن قارچ تجربه شد. برای استریل کردن محیط کشت از روش‌های تابش گاما، حرارت خشک و اتوکلاو استفاده شد. تابش گاما در سازمان انرژی اتمی ایران انجام شد. برای این کار ظروف حاوی محیط کشت در معرض دوز ۲۵ کیلوگری از اشعه گاما قرار گرفتند تا هر گونه آلودگی میکروبی از آنها حذف گردد. برای استریل کردن با روش خشک، محیط کشت در ظروف شیشه‌ای تقسیم و به مدت ۴ ساعت در فور با حرارت ۱۸۰ درجه سانتی‌گراد قرار می‌گرفت. به دانه‌هایی که با دو روش فوق استریل شده بودند آب مقطر استریل برای تامین رطوبت محیط کشت اضافه می‌شد. در روش اتوکلاو، ابتدا دانه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در آب معمولی خیس خورده، سپس به مدت ۱۵ دقیقه جوشانده و آبکشی می‌شد. در نهایت دانه‌ها در مقادیر مختلف در ظروف کشت تقسیم و به مدت ۲ ساعت در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد اتوکلاو می‌شد.

کشت تازه‌ای از سویه مورد آزمایش روی پلیت حاوی محیط کشت PDA(مرک، آلمان) تهیه و به مدت ۷ روز در دمای محیط رشد داده شد. سپس ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر استریل حاوی ۰/۰۱ درصد توئین ۸۰(مرک، آلمان) به پلیت کشت اضافه و پس از معلق شدن کونیدی‌های قارچ در آن به لوله استریل منتقل گردید. غلظت سوسپانسیون با استفاده از لام نئوبار به گونه‌ای تنظیم می‌شد که در هر میلی‌لیتر آن ۱۰۷ ×

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25]

۱کونیدی وجود داشته باشد. یک میلی‌لیتر از این سوسپانسیون به ظروف حاوی محیط کشت استریل تلقیح و پس از مخلوط کردن گرماگذاری می‌شد.

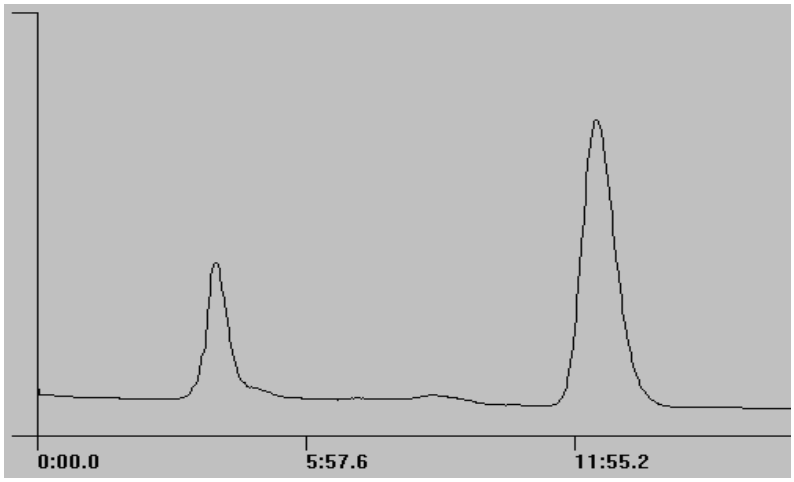
پس از اتمام دوره انکوباسیون، محتویات ظروف کشت مخلوط می‌شد تا کاملاً یکنواخت گردد. سپس استون(مرک، آلمان) بعنوان حلال عصاره‌گیری به آن اضافه و با استفاده از شیکر(KS 260, IKA® Germany) با دور ۱۵۰ در دقیقه مخلوط می‌شد. برای جدا کردن حلال از محیط کشت از روش صاف کردن با پارچه تنظیف و پس از آن واتمن شماره ۱(واتمن، انگلیس) استفاده شد. برای اندازه‌گیری مایکوفنولیک اسید، روش کروماتوگرافی مایع با کارکرد بالا(HPLC) مورد استفاده قرار گرفت. برای این کار مایکوفنولیک اسید خالص(گلوری بیوتک، تایوان) بعنوان استاندارد(استوک ۱ میلی‌گرم در میلی لیتر در استون) و دستگاه HPLC مدل ۲۰۰۰(سسیل، انگلستان) با این شرایط بکار رفت: ستون: اکتا دسیل– سیلیکا به ابعاد۲۵۰ × ۴/۶ میلی‌متر، فاز حامل: آب: اتانول: اسید فسفوریک(۵۰: ۵۰: ۰/۱)، سرعت عبور فاز حامل: یک میلی‌لیتر دردقیقه، طول موج دتکتورUV : ۳۰۴ نانومتر، دامنه حساسیت دتکتور: ۰۵ /۰، میزان تزریق نمونه: ۲۰ میکرولیتر، دما: ۲۵ درجه سانتیگراد.

آزمایشات به صورت دوتایی و با سه بار تکرار انجام و نتایج به صورت میانگین محاسبه شد. وجود اختلاف بین گروه‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یکطرف(ANOVA) بررسی شد و برای آزمون اختلاف میانگین‌ها آزمون t بکار رفت. P <۰/۰۵ برای معنی‌دار بودن اختلافات در نظر گرفته شد.

نتایج

شکل ۱ تصویر منحنی کالیبراسیون بدست آمده از دستگاه HPLC را برای اندازه‌گیری مایکوفنولیک اسید نشان می‌دهد. شرایط بکار رفته در این مطالعه باعث پدیدار شدن پیک مربوط به مایکوفنولیک اسید در دقیقه ۱۲ می‌شد.

مایکوفنولیک اسید محلول در استون(۱ میلی‌گرم در میلی لیتر) به دستگاه HPLC مدل ۲۰۰۰ CESIL تزریق و از اتانول: آب: اسید فسفریک(۵۰ : ۵۰ : ۰/۱) بعنوان فاز متحرک استفاده شده است.پیک سمت چپ مربوط به استون است.



شکل ۱: پیک مایکوفنولیک اسید استاندارد (راست) در HPLC

جدول ۱ و نمودار ۱ میانگین تولید مایکوفنولیک اسید به وسیله سویه‌های بکار رفته در این مطالعه را نشان می‌دهد. چنان که نمودار نشان می‌دهد سویه ایرانی تهیه شده از مرکز دفع آفات نسبت به دو سویه دیگر قدرت تولید بسیار کمی داشت(P<۰/۰۱) و سویه فنلاندی بیشترین مقدار تولید را به خود اختصاص داد. بنابر این برای ادامه آزمایشات این سویه انتخاب و مورد استفاده قرار گرفت. نمودار ۲ میزان تولید مایکوفنولیک اسید توسط این سویه را روی دو نوع محیط تهیه

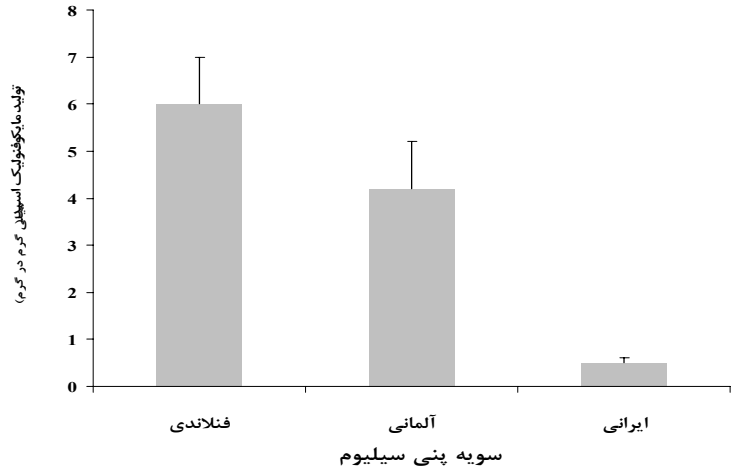
[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25]

شده از جو نشان می‌دهد.

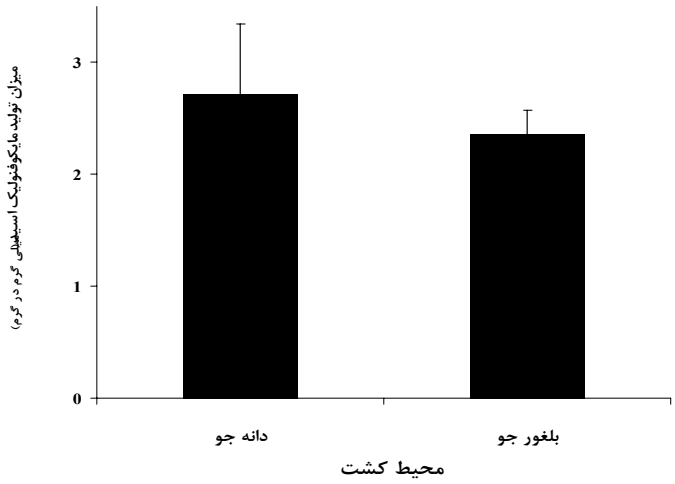
میزان تولید در سویه ایرانی بطور معنی‌داری کمتر از دو سویه دیگر است($P<0/01$) و میانگین تولید در سویه فنلاندی اندکی بیشتر از سویه آلمانی است اما این اختلاف معنی‌دار نیست

جدول ۱ : نتایج تولید مایکوفنولیک اسید در سه سویه پنی سیلیوم برویکامپکتوم

سویه	میانگین تولید (میلی گرم در گرم)	انحراف معیار
ایرانی	۰/۵	۰/۱
آلمانی	۴/۲	۱
فنلاندی	۶	۱



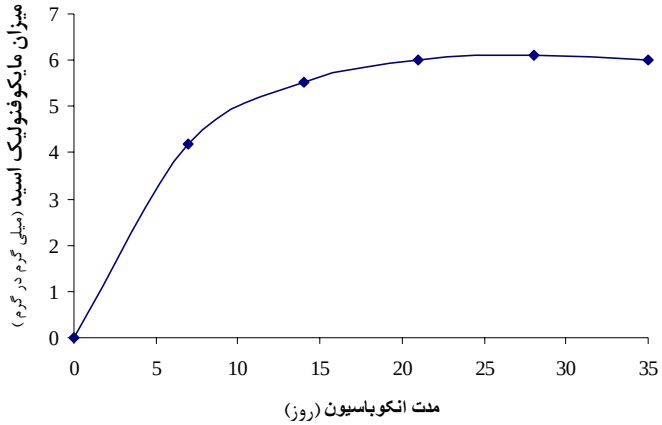
نمودار۱: مقایسه میزان تولید مایکوفنولیک اسید در سه سویه پنی سیلیوم برویکامپکتوم



نمودار ۲: میزان تولید مایکوفنولیک اسید به وسیله پنی‌سیلیوم برویکامپکتوم (سویه VTT D-061157) روی دو نوع محیط کشت تهیه شده از جو

بررسی رابطه بین میزان تولید مایکوفنولیک اسید و طول مدت زمان انکوباسیون نشان داد که تا روز دهم میزان تولید این ماده بطور خطی افزایش پیدا می‌کند و از آن پس به حالت نسبتا ثابت در می‌آید(نمودار۳).

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25]



نمودار۳: میزان تولید مایکوفنولیک اسید بوسیله پنی سیلیوم برویکامپکتوم(سویه VTT D-061157) در روزهای مختلف پس از گرماگذاری

بحث

در این مطالعه برای تولید آزمایشگاهی مایکوفنولیک اسید از قارچ پنی‌سیلیوم برویکامپکتوم استفاده شد. در حال حاضر این قارچ بهترین گونه مولد این ماده به حساب می‌آید و در مطالعاتی که در سال‌های اخیر برای تولید مایکوفنولیک اسید انجام شده است نیز این گونه بکار رفته است(۱۸-۱۶). چندین جنس از قارچ‌ها مایکوفنولیک اسید را بعنوان متابولیت ثانویه خود تولید می‌کنند اما جنس پنی سیلیوم از این نظر اهمیت بیشتری دارند و مطالعات انجام شده بیانگر آن است که در جنس پنی‌سیلیوم نیز گونه‌های متعددی وجود دارند که قادر به تولید این ماده هستند. لافونت، با مطالعه ۱۶ استرین پنی‌سیلیوم روکوفورتی که از پنیر جدا شده بودند نشان داد که همگی قادر به تولید مایکوفنولیک اسید هستند(۱۹) و وینوکوروا، با بررسی قارچ‌های جنس پنی‌سیلیوم، نشان داد که از ۳۶ گونه پنی‌سیلیوم ۱۴ گونه قادر به سنتز مایکوفنولیک اسید هستند اما حداکثر میزان تولید به دو استرین پنی‌سیلیوم برویکامپکتوم تعلق دارد(۱).

سویه‌های پنی‌سیلیوم برویکامپکتوم از نظر میزان تولید مایکوفنولیک اسید اختلافات قابل توجهی نشان می‌دهند. بنابراین وقتی هدف نهایی تولید صنعتی این ماده باشد لازم است از سویه‌هایی که قادر به تولید مقادیر بالایی از مایکوفنولیک اسید هستند استفاده شود. سویه‌های بکار رفته در این مطالعه همگی غیرصنعتی بوده از کلکسیون‌های میکروبی تهیه شده بود. از سه سویه آزمایش شده سویه VTT D-061157 نسبت به دو سویه دیگر میزان تولید بیشتری نشان داد. از دو قارچ دیگر سویه تهیه شده از فنلاند نسبت به سویه آلمانی تولید بیشتری داشت اما این اختلاف معنی‌دار نبود(نمودار۱). بدیهی است اگر تولید انبوه این ماده برای رفع نیازهای داخلی کشور مورد نظر باشد لازم است یافتن یا ایجاد سویه‌های مناسب با روش‌های علمی دنبال گردد و یا از شرکت‌هایی که در حال حاضر به تولید مایکوفنولیک اسید می‌پردازند سویه های صنعتی تهیه گردد.

اصولا برای کشت میکروارگانیسم‌ها و تولید محصولات میکروبی دو استراتژی متفاوت استفاده از کشت مایع(یا غوطه‌ور) و استفاده ازکشت جامد بکار می‌رود. اگر چه روش کشت مایع از گذشته برای تولید مایکوفنولیک اسید بوسیله قارچ‌ها مورد استفاده قرارگرفته است(۱۶،۱۸،۲۰) اما در سال‌های اخیر بعلت مزایایی که کشت جامد دارد(۲۱) این روش مورد توجه بیشتری قرار گرفته است(۱۷،۲۲). برخی از این مزایا عبارتند از: میزان تولید بالاتر، پایداری بیشتر محصولات تولیدی و هزینه تولید کمتر(۲۳). در این مطالعه نیز بعلت مزایای کشت جامد، برای کشت دادن سویه مورد مطالعه و تولید مایکوفنولیک اسید از این روش استفاده شد.

دانه‌های جو پوست کنده سوبسترای انتخابی برای رشد دادن پنی‌سیلیوم برویکامپکتوم و تولید مایکوفنولیک اسید بود. مطالعه Alani نیز نشان داد که میزان تولید مایکوفنولیک اسید در بلغور جو نسبت به دیگر محیط‌ها بیشتر است(۱۷). در مطالعه Alani،

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25]

وقتی جو بصورت بلغور بعنوان محیط کشت استفاده شد میزان تولید مایکوفنولیک اسید در آن نسبت به وقتی که دانه‌های جو مورد استفاده قرار می‌گرفت بیشتر بود اما در مطالعه ما تفاوت معنی‌داری بین دانه‌های جو و بلغور جو مشاهده نشد(نمودار۲). Alani در مطالعه خود از روش هوادهی فعال برای تهویه محیط کشت در طی دوران انکوباسیون استفاده کرد اما در مطالعه حاضر هوادهی به روش طبیعی انجام می‌شد. به نظر می‌رسد هنگامی که محدودیت هوادهی وجود نداشته باشد دانه‌های بلغور بعلت سطح تماس بیشتر با قارچ نسبت به دانه‌های کامل شرایط مطلوب‌تری را برای رشد فراهم می‌کنند. اگر چه در مقایسه با محیط‌های تجاری بکار بردن جو برای رشد دادن پنی‌سیلیوم برویکامپکتوم و تولید مایکوفنولیک اسید یک روش ارزان به حساب می‌آید اما به نظر ما برای تولید انبوه این ماده لازم است از سوبستراهای بازهم ارزانتر استفاده شود. این کار مستلزم طراحی مطالعات لازم برای تست کردن محصولات کشاورزی ارزان قیمت و مواد زائد و نیز ترکیب کردن سوبستراهای مختلف ارزان قیمت برای دستیابی به فرمولی ارزان و کارآمد است.

نتایج این مطالعه نشان داد که روز دهم پس از انکوباسیون بهترین زمان برای برداشت محیط کشت و استحصال مایکوفنولیک اسید است(نمودار۳). بررسی رابطه بین زمان گرماگذاری و میزان تولید مایکوفنولیک اسید از این نظر اهمیت دارد که برخی از مطالعات نشان می‌دهد طولانی شدن زمان انکوباسیون نه تنها تولید بیشتر این ماده را بدنبال ندارد بلکه در مواردی باعث کاهش میزان آن نسبت به قبل می‌شود. مطالعه Muller، نشان داد که در ذرت علوفه‌ای تلقیح شده با پنی‌سیلیوم روکوفرتی میزان مایکوفنولیک اسید پس از ۳۶ روز به حد قابل اندازه‌گیری می‌رسد و پس از آن که مقدار آن حداکثر به ۳/۵۶ میلی‌گرم در کیلوگرم رسید، با افزایش زمان انکوباسیون از میزان آن کاسته می‌شود(۲۴). در مطالعه Alani، نیز تولید مایکوفنولیک اسید از روز اول شروع و تا روز ششم پیوسته افزایش یافت سپس روند تولید تا روز دهم به کندی ادامه داشت و از آن به بعد رو به کاهش گذاشت(۱۷).

یکی از مشکلات اصلی در رشد دادن پنی‌سیلیوم برویکامپکتوم و تولید مایکوفنولیک اسید، آلودگی اولیه سوبسترا به میکروارگانیسم‌های ناخواسته بود بطوری که آلودگی به سایر قارچ‌ها و بویژه باکتری‌ها در موارد متعدد مانع از رشد قارچ مطلوب(پنی سیلیوم برویکامپکتوم) و یا مانع از تولید مایکوفنولیک اسید می‌گردید. برای استریل کردن محیط‌های کشت و جلوگیری از این مشکل، سه روش مختلف اتوکلاو کردن، حرارت دادن خشک و تابش اشعه گاما را مورد آزمایش قرار گرفت. به نظر ما استفاده از اشعه گاما روشی مطمئن و کم هزینه برای حذف کامل میکروارگانیسم‌های مزاحم محسوب می‌شود و برای تولید انبوه مایکوفنولیک اسید یا هر محصول میکروبی توصیه می‌شود. البته استریلیزاسیون سوبسترای مورد استفاده، عمدتا با روش اتوکلاو کردن انجام شد زیرا بهره‌مندی از خدمات سازمان انرژی اتمی و رفت و آمد به آن سازمان کاری وقت‌گیر و هزینه بر بود که با توجه به کم بودن حجم سوبسترا، استفاده از روش استریل کردن با حرارت مرطوب ترجیح داده شد اما با توجه به مشکلاتی که استفاده از حرارت مرطوب بویژه برای استریل کردن حجم زیادی از سوبسترا دارد در چنین مواردی استفاده از استریلیزاسیون با اشعه را توصیه می‌نماییم. استفاده از حرارت خشک اگر چه روش راحت و کم هزینه‌ای است اما گویا به علت سوختگی سوبسترا، کاهش رشد و تولید را بدنبال داشت و در مواردی بعلت کارایی کمتر باعث آلودگی محیط کشت به میکروب‌های مزاحم می‌شد.

در این مطالعه برای کشت دادن پنی‌سیلیوم برویکامپکتوم استفاده از ظروف مختلف کشت را مورد آزمایش قرار گرفت. از بین ظروف مختلف آزمایش شده شامل: ارلن، بطری‌های شیشه‌ای و پلاستیکی، کیسه‌های نایلونی و دیگر ظروف؛ استفاده از نایلون‌های جنس سلوفان بر بقیه برتری دارد. هزینه اندک، امکان تنظیم قطر دهانه نایلون به منظور هوادهی بهتر، سهولت باز کردن دانه‌های جو بهم چسبیده پس از اتوکلاو کردن، امکان مخلوط کردن بهتر محیط کشت و سوسپانسیون تلقیح، سهولت تخلیه محیط کشت پس از طی شدن دوران انکوباسیون و عدم نیاز به شستشو، از جمله مزایای استفاده از نایلون‌ها سلوفانی است و استفاده از آن را در مطالعات مشابه پیشنهاد می‌گردد.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25]

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که امکان تولید مایکوفنولیک اسید در داخل کشور با استفاده از روش‌ها و محیط‌های کشت ساده و ارزان قیمت وجود دارد و می‌توان با این کار ماده اولیه برای سنتز داروهای سرکوبگر ایمنی همچون مایکوفنولات موفتیل و مایکوفنولات سدیم را فراهم نمود. با توجه به اینکه سویه قارچ مولد و نیز نوع سوبسترا بر میزان تولید تاثیری قابل توجه دارند، جستجوی سویه‌های دارای تولید بالا و نیز سوبستراهای دارای کارایی بیشتر و در عین حال ارزان قیمت‌تر باید مورد توجه قرار گیرد.

سپاسگزاری

از مرکز تحقیقات بیولوژی مولکولی دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا...(عج) برای تامین مالی این مطالعه صمیمانه قدردانی می‌گردد.

References:

1- Vinokurova NG, Ivanushkina NE, Kochkina GA, Arinbasarov MU, Ozerskaia SM. ***Production of mycophenolic acid by fungi of the genus Penicillium link***. Prikl Biokhim Mikrobiol 2005; 41(1): 95-8.

2- Morath C, Schwenger V, Beimler J, Mehrabi A, Schmidt J, Zeier M, et al. ***Antifibrotic actions of mycophenolic acid.*** Clin Transplant 2006; 20 (Suppl 17): 25-9.

3- Boudjema K, Camus C, Saliba F, Calmus Y, Salamé E, Pageaux G, et al. ***Reduced-dose tacrolimus with mycophenolate mofetil vs. standard-dose tacrolimus in liver transplantation: a randomized study.*** Am J Transplant 2011; 11(5): 965-76.

4- Ortega F, Sánchez-Fructuoso A, Cruzado JM, Gómez-Alamillo JC, Alarcón A, Pallardó L, et al. ***Gastrointestinal quality of life improvement of renal transplant recipients converted from mycophenolate mofetil to enteric-coated mycophenolate sodium drugs or agents: mycophenolate mofetil and enteric-coated mycophenolate sodium.*** Transplantation 2011; 92(4): 426-32.

5- Meier-Kriesche HU, Merville P, Tedesco-Silva H, Heemann U, Kes P, Haller H, et al. ***Mycophenolate mofetil initiation in renal transplant patients at different times posttransplantation: the TranCept Switch study.*** Transplantation 2011; 91(9): 984-90.

6- Langone AJ, Chan L, Bolin P, Cooper M. ***Enteric-coated mycophenolate sodium versus mycophenolate mofetil in renal transplant recipients experiencing gastrointestinal intolerance: a multicenter, double-blind, randomized study.*** Transplantation 2011; 91(4): 470-8.

7- Moder KG. ***Mycophenolate mofetil: new applications for this immunosuppressant.*** Ann Allergy Asthma Immunol 2003; 90(1): 15-19.

8- Hochstadt A, Rozman Z, Zandman-Goddard G. ***Mycophenolate mofetil as a novel treatment for lupus nephritis***. Harefuah 2011; 150(6): 542-7.

9- George J. ***Mycophenolate mofetil in primary glomerular diseases.*** J Assoc Physicians India 2011; 59: 103-6.

10- Miladipour AH, Ghods A. ***Comparing the effects of mycophenolate mofetil and azathioperine in prevention of***

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25]

acute rejection of renal transplantation. KAUMS J(FEYZ) 2002; 6 (1): 44-8.[Persian]

11- Pour Reza Gholi F, Rahbar K, Einollahi B, Lesan Pezeshki M, Firoozan A, Khatami MR. ***An open randomized multicenter study of the addition of MMF vs. AZT to Cyclosporine and Prednisolone for the prevention of acute allograft rejection.*** Iran J Urology 2002; 32(8): 43-7.[Persian]

12- Otukesh H, Sharifian M, Basiri A, Simfroosh N, Hoseini R, Sedigh N. ***Mycophenolate mofetil in pediatric renal transplantation.*** Transplant Proc 2005; 37(7): 3012-5.

13- Sanad Gol H, Zakeri Z, Najafi I, Akbarian M. ***The efficacy of mycophenolate mofetil on treatment of new Lupus Nephritis.*** J Hormozgan Univ Med Sci 2005; 2(9): 93-9.[Persian]

14- Esmaili N, Chams-Davatchi C, Valikhani M, Farshidfar F, Parvaneh N, Tamizifar B. ***Treatment of pemphigus vulgaris with mycophenolate mofetil as a steroid-sparing agent.*** Eur J Dermatol 2008; 18(2): 159-64.

15- Nikibakhsh AA, Mahmoudzadeh H, Karamiyar M, Aghayar A, Norouzi M. ***User of mycophenolate mofetil in case with severe henoch-schonlein nephritis***. Urmia Med J 2009; 1(20): 71-4. [Persian]

16- Ardestani F, Fatemi SSA, Yakhchali B, Hosseyni SM, Najafpour G. ***The effect of methionine and acetate concentrations on mycophenolic acid production by penicillium bervicompactum MUCL 19011 in submerged culture.*** World Academy of Science, Engineering and Technology 2009; 5: 467-70.

17- Alani F, Grove JA, Anderson WA, Moo-Young M. ***Mycophenolic acid production in solid-state fermentation using a packed-bed bioreactor.*** Bioch Engineering J 2009; 44(2-3): 106-10

18- Xua ZN, Yang ST, ***Production of mycophenolic acid by Penicillium brevicompactum immobilized in a rotating fibrous-bed bioreactor.*** Enzyme Microbial Technol 2007; 40(4): 623-8.

19- Lafont P, Debeaupuis JP, Gaillardin M, Payen J. ***Production of mycophenolic acid by penicillium roqueforti strains.*** Appl Environ Microbiol 1979; 37(3): 365-8.

20- Guerrizio L, Mercantini R, Oddo N, Tonolo A. ***On mycophenolic acid production in submerged culture***. Ann Ist Super Sanita 1969; 5(3-4): 206-8.

21- Viniegra-González G, Favela-Torres E, Aguilar CN, Rómero-Gomez SJ, D'ıaz-God'ınez G, Augur C. ***Advantages of fungal enzyme production in solid state over liquid fermentation systems.*** Bioch Engineering J 2003; 13(2-3): 157-67.

22- Sadhukhan AK, Ramana Murthy MV, Ajaya Kumar R, Mohan EVS, Vandana G, Bhar C, et al. ***Optimization of mycophenolic acid production in solid state fermentation using response surface methodology.*** Lett Appl Microbiol 2000; 31(3): 247-50.

23- Hölker U, Lenz J. ***Solid-state fermentation- are there any biotechnological advantages?.*** Curr Opin Microbiol 2005; 8(3): 301-6.

24- Muller HM, Amend R. ***Formation and disappearance of mycophenolic acid, patulin, penicillic acid and PR toxin in maize silage inoculated with Penicillium roqueforti.*** Arch Tierernahr 1997; 50(3): 213-25.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25]

Lab Scale Production of Mycophenolic Acid on Solid- phase Culture by Standard Strains of Penicillium Brevicompactum

Riazipour M(PhD)[*1], Salehi MB(PhD)[2], Zand A(MSc)[3], Bagheripour MJ(MSc)[4], Emamgholi A(BSc)[5], Mottaghiyan Z(BSc)[6], Afshari MA(MSc)[7], Kachuei R(PhD)[8], Golmohammadi R(BSc)[9]

[1,8,9]Molecular Biology Research Center, Department of Parasitology and Mycology, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

[2,3,4]Biology Research Center, Imam Hossein University, Teharn Iran

[5,6,7]Department of Parasitology and Mycology, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Received: 19 Apr 2011 ***Accepted:*** 22 Dec 2011

Abstract

Introduction: Mycophenolic acid(MPA), a fungal mycotoxin, is produced by Penicillium brevicompactum and is used for the synthesis of immunosuppressive drugs in pharmaceutical industries. The present study was conducted to evaluate the possibility of mycophenolic acid(MPA) production by standard strains of P. brevicompactum at laboratory level.

Methods: Three strains of P. brevicompactum were provided from microbial culture collections. To stimulate MPA production, barley was used as culture medium, and dry heat, wet heat, and gamma radiation were used to sterilize the culture medium. Samples were taken from the culture medium at different intervals, and their MPA level was assessed by HPLC method.

Results: P. brevicompactum strain which was prepared from Finland(VTT D-061157) was able to produce MPA more than two other strains(from Germany and Iran). The amount of MPA enhanced linearly until day 10, and after that became relatively constant. Gamma radiation was a suitable method to sterilize the substrate, and nylon bags were evaluated as an easy and cheap container for growing the fungus.

Conclusion: Production of MPA with simple and cheap culture media to provide primary substance for immunosuppressive drugs such as mycophenolate mofetile and sodium mycophenolate would be possible.

Keywords: Laboratory Production; Mycophenolic Acid; Penicillum Brevicompactum

This paper should be cited as:

Riazipour M, Salehi MB, Zand A, Bagheripour MJ, Emamgholi A, Mottaghiyan Z, et al. ***Lab scale production of mycophenolic acid on solid- phase culture by standard strains of penicillium brevicompactum.*** J Shahid Sadoughi Univ Med Sci; 20(1): 73-81.

Corresponding author: Tel: +98 21 26127258, Email: mriazipour@yahoo.com

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25]