

## بررسی خواص سیتوتوکسیک ترکیبات طبیعی قابل انحلال در متانول و دی اتیل اتر اسفنج *Dysidea pallescens* از جزیره هنگام، خلیج فارس

ملیکا ناظمی<sup>۱\*</sup>، یزدان مرادی<sup>۲</sup>، همایون حسین زاده<sup>۲</sup>، فرحناز لکزایی<sup>۲</sup>

\*Melikanazemi@yahoo.com

۱- پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بندرعباس، ایران  
۲- موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

تاریخ پذیرش: مهر ۱۳۹۴

تاریخ دریافت: بهمن ۱۳۹۳

### چکیده

اسفنج‌ها ساده‌ترین و قدیمی‌ترین جانداران پرسلولی می‌باشند. این موجودات فاقد هر گونه ساختار دفاعی مکانیکی هستند بنابراین برای حفظ بقا، در طی سالیان متمادی توانایی تولید متابولیت‌های ثانویه خود را به عنوان عامل دفاعی شیمیایی تکامل بخشیده‌اند. یکی از مهمترین کاربردهای متابولیت‌های ثانویه اسفنج‌ها، استفاده از ترکیبات شیمیایی با خواص بیولوژیک به عنوان دارو می‌باشد. در این تحقیق نمونه‌ای از اسفنج با نام علمی *Dysidea pallescens* از عمق ۱۵ تا ۲۰ متری جزیره هنگام توسط عملیات غواصی جمع‌آوری شد. سپس به منظور بررسی اثرات سیتوتوکسیک عصاره‌های دی اتیل اتری و متانولی آن با استفاده از آزمون XTT روی سلول‌های سرطانی اپیدرمویید دهان انسان (KB/ C152) و لنفوسیتی (HUT-78/ C185) انجام گردید. نتایج نشان داد که عصاره دی اتیل اتری و متانولی در غلظت ۲۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر و ترکیب تجاری سیتوتوکسیک سیکلوسپورین در غلظت ۲۷۵ میکروگرم بر میلی لیتر از رشد بیش از ۵۰ درصد سلول‌های لنفوسیتی جلوگیری می‌کند. عصاره دی اتیل اتری دارای در غلظت ۳۲۵ میکروگرم بر میلی لیتر، متانولی ۳۷۵ میکروگرم بر میلی لیتر و ترکیب تجاری سیتوتوکسیک سیکلوسپورین برابر ۱۳۵ میکروگرم بر میلی لیتر از رشد ۵۰ درصد سلول‌های اپیدرمویید دهان انسان جلوگیری می‌کند.

**کلمات کلیدی:** اسفنج، سیتوتوکسیک، عصاره متانولی، عصاره دی اتیل اتری، جزیره هنگام، خلیج فارس.

\*نویسنده مسئول

## مقدمه

اسفنج ها قدیمی ترین گروه جانداران می باشند (بلوچ، ۱۳۸۰). قدمت حیات اسفنج ها در آب های کره زمین به بیش از ۸۰۰ میلیون سال می رسد، و امروزه آن ها در دریاها و برخی از زیستگاه های آب شیرین حضور دارند. پراکنش اسفنج ها از رودخانه ها و نهرها، استخرهای صخره ای تا اعماق اقیانوس ها، آب های منجمد قطبی تا آب گرم حاره ای می باشد (Barnes, 1987).

قدمت حیات اسفنج ها، استرس ها و فشارهای محیطی منجر شده تا این جانداران ساده پروسلولی برای ادامه زندگی به منظور مقابله با شکارچیان، مقابله با جاندارانی که روی سطح آن ها قرار گرفته و حیاتشان را تهدید نموده و همچنین کنترل باکتری های داخلی که بیش از ۵۰ درصد توده زیستی اسفنج ها را شامل شده، به منبع غنی از ترکیبات طبیعی و متابولیت های ثانویه تبدیل گردند (Blunt et al., 2007).

تحقیقات انجام شده نشان می دهد که تعداد بسیاری از هزاران ترکیب استخراج و شناسایی شده (متابولیت های ثانویه) دارای خواص بیولوژیک هستند (Raviña, 2010). بسیاری از این ترکیبات استخراج شده که دارای خواص دارویی هستند از اسفنج ها و میکرواورگانیزم های همزیست آن ها جداسازی شده اند (Piel, 2006). در مطالعه انجام شده توسط مولر و همکاران در سال ۲۰۰۴ مشخص شد که طی چهار دهه اخیر از ۵۰۰ گونه اسفنج که مورد بررسی و آزمایش قرار گرفته بودند بیش از ۵۰۰۰ ترکیب با خواص بیولوژیک جداسازی و شناسایی شده است (Muller et al., 2004).

یکی از خواص اسفنج ها اثرات سیتوتوکسیک می باشد، از آنجایی که اسفنج ها برای ادامه حیات نیاز به پمپ کردن آب دارند و از طرفی توانایی تصفیه بیوفیلیم و یا دور کردن بارناکل ها، خزه ها و مرجان هایی که سطح آن ها را بپوشاند و سبب مرگشان می شود را ندارند، در روند تکاملی برای ادامه حیات موادی را از خود ترشح می کنند که خواص سیتوتوکسیک دارند. به این ترتیب آن ها توانسته اند با جانداران مهاجمی که سطح آن ها را پوشانده و به نحوی مانع عمل فیلتر آب شده، مقابله کنند و در رقابت بر سر حیات پیروز شوند، امروز با پیشرفت علم

از این ترکیبات شیمیایی که خاصیت از بین بردن سلول های زنده را دارد به عنوان داروهای ضدسرطانی استفاده می شود (Raveendran & Limna Mol, 2009). تحقیقات انجام شده نشان می دهد که بیش از ۱۰ درصد از گونه های اسفنج که مورد مطالعه و بررسی قرار گرفته اند خواص سیتوتوکسیک از خود نشان می دهند (Zhang et al., 2003).

در یک بررسی آماری در ایالات متحده آمریکا که توسط وزارت غذا و دارو انجام گرفت مشخص شد که از سال ۱۹۶۰ تا کنون پنجاه درصد داروهای ضدسرطانی از منابع طبیعی، گیاهان خشکی زی تولید شده اند و از سال ۱۹۹۶ تا کنون پنجاه درصد تحقیقات انجام شده در رابطه با خواص ضدسرطانی و سیتوتوکسیک تولیدات طبیعی مربوط به دریاها و اقیانوس ها، و بخش اعظم آن از اسفنج ها و مرجان ها می باشد (Flam, Alejandro, 1999). بررسی های انجام شده آزمایشگاهی روی موش و رده های سلولی سرطانی نشان می دهند که ۱۲۴ ترکیب از جانداران دریایی خواص ضدسرطان از خود نشان داده اند (Joseph & Sujatha, 2011).

با توجه به اثرات سیتوتوکسیک موجود در متابولیت های ثانویه اسفنج ها، در این پژوهش برای نخستین بار در کشور به بررسی اثرات سیتوتوکسیک متابولیت های ثانویه نیمه قطبی- غیرقطبی و قطبی اسفنج گونه *Dysidea pallescens* جمع آوری شده از جزیره هنگام، در خلیج فارس، پرداخته شده است.

## مواد و روش کار

نمونه های اسفنج در اردیبهشت ماه سال ۱۳۹۰ از عمق ۱۵ تا ۲۰ متر شمال جزیره هنگام، واقع در خلیج فارس با موقعیت جغرافیایی "۵۵°۵۴'۵۵" - "۵۵°۵۴'۴۰" شرقی و "۲۶°۴۱'۱۵" - "۲۶°۳۶'۴۳" شمالی توسط عملیات غواصی، از بسترهای سنگی تهیه شدند (شکل ۱).

### بررسی خواص سیتوتوکسیک

سلول های سرطانی اپیدرمویید دهان انسان (KB/ C152) و لنفوسیتی (HUT-78/ C185) از بخش کشت سلولی انستیتو پاستور ایران به صورت فلاسک تهیه شدند و به محیط کشت RPMI-۱۶۴۰ منتقل شد. ابتدا محیط کشت RPMI-۱۶۴۰ در pH ۷/۳ تهیه گردید و توسط فیلتر میلی پور ۰/۲۲ میکرون استریل شد. سپس به محیط کشت به نسبت ۲۰۰ میکرو گرم بر میلی لیتر، پنی سیلین G و ۸۰ میکرو گرم بر میلی لیتر جنتامایسین و نیز به نسبت ۱۰ درصد سرم جنین گاو فیلتر شده به محیط اضافه شد. روزانه سلول های اپیدرمویید دهان و لنفوسیت انسانی به وسیله میکروسکوپ معکوس مورد بررسی قرار گرفتند تا سرعت رشد، سلامت، آلودگی سلول ها در محیط کشت تازه منتقل شده به منظور ادامه آزمایش مورد تأیید قرار گیرد. پس از آن که تعداد سلول ها (فلاسک های کشت سلولی) افزایش داده شد به منظور بررسی اثر سیتوتوکسیک عصاره های متانولی، دی اتیل اتری و آبی از روش XTT استفاده گردید (Roehm, et al., 1991).

برای آزمون XTT ابتدا توسط عمل ترپینیزاسیون سلول های اپیدرمویید دهان و لنفوسیت انسانی از سطح فلاسک جدا شده و به مدت ۵ دقیقه در ۱۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شدند. سپس سلول ها با تراکم  $25 \times 10^3$  در هر کدام از پلیت های ۹۶ حفره ای کشت سلولی توزیع گردیدند و از محیط کشت RPMI-۱۶۴۰ به مقدار ۲۰۰ میلی لیتر به هر حفره اضافه شد و ۲۴ ساعت در انکوباتور قرار داده شد تا سلول های در میکروپلیت ها رشد نمایند، در طول این مدت تراکم سلولی توسط میکروسکوپ معکوس بررسی شده و بعد از ۴۸ ساعت که سلول ها رشد کردند و به دیواره پلیت متصل شدند محیط کشت سلول ها عوض شد و محیط کشت جدید به مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره های دی اتیل اتری و متانولی و آبی با غلظت های ۱، ۲، ۴، ۱۰، ۲۰، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰، ۴۰۰ و ۲۰۰ میکرو گرم بر میلی لیتر اضافه گردید و آزمون سه بار تکرار شد. به منظور شاهد منفی در تعدادی از چاهک ها محیط کشت RPMI-۱۶۴۰ بدون ترکیب افزودنی اضافه شد. در

عصاره گیری با استفاده از روش Bligh & Dyer در سال ۱۹۵۹ انجام شد، ابتدا اسفنج ها شسته شدند و سپس با استفاده از قیچی در اندازه های ۱ سانتی متری بریده شدند، نمونه های خرد شده، یک کیلو گرم وزن تر اسفنج، به ارلن حاوی ۲۰۰۰ میلی لیتر دی اتیل اتر منتقل گردید، سپس با استفاده از پنبه و فویل در ارلن به خوبی بسته شد و به مدت ۲۴ ساعت در آزمایشگاه در دمای اتاق ( $25^{\circ}\text{C}$ ) قرار داده شد. حلال غیرقطبی به دست آمده را به دستگاه روتاری وارد نموده تا حلال (دی اتیل اتر) تبخیر شود.

به منظور بررسی ترکیبات قطبی، به اسفنج های خرد شده ۲۰۰۰ میلی لیتر متانول افزوده و به مدت ۷۲ ساعت در آزمایشگاه در دمای اتاق ( $25^{\circ}\text{C}$ ) قرار داده شدند سپس حلال قطبی به دست آمده به دستگاه روتاری منتقل گردید تبخیر شود.



شکل ۱: محل نمونه برداری که با علامت قرمز مشخص شده است (a)، نمونه برداری اسفنج *D. pallescens* در عمق ۲۰ متری جزیره هنگام.

### نتایج

#### D. بررسی اثر سیتوتوکسیک عصاره های اسفنج *D. pallescens*

نتایج درصد کشندگی عصاره های اسفنج *D. pallescens* و شاهد (سیکلوسپورین) روی سلول های سرطانی اپیدرمویید دهان انسان (KB/ C152) و لنفوسیتی (HUT-78/ C185) در جدول ۱ نشان داده شده است.

این آزمون از ترکیب سیکلوسپورین به عنوان کنترل مثبت استفاده شد و میزان IC<sub>50</sub> (میزان ممانعت از رشد سلول های سرطانی) ۵۰٪ از سلول های بر اساس درصد کشندگی طبق فرمول زیر محاسبه شد (Roehm, et al., 1991).

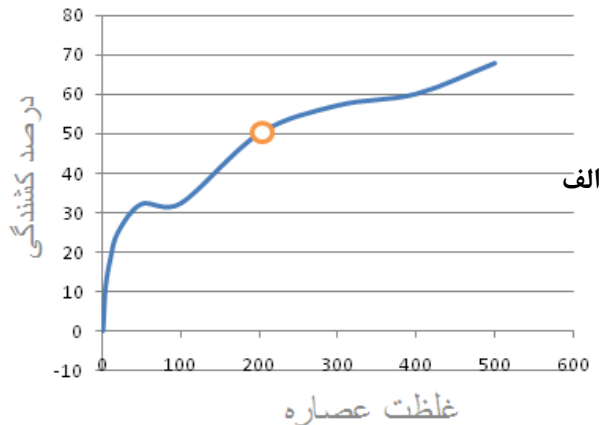
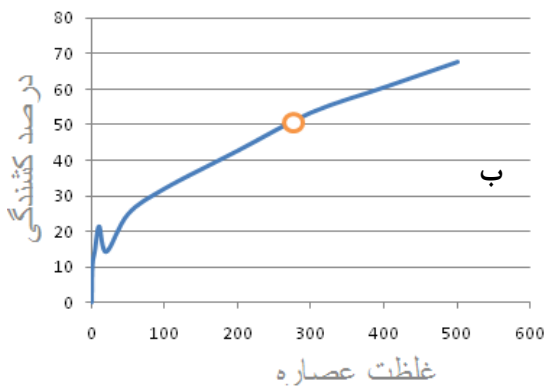
$$\text{درصد کشندگی} = \frac{\text{OD نمونه} - \text{OD کنترل منفی}}{\text{OD کنترل منفی}} \times 100$$

جدول ۱: میزان درصد کشندگی عصاره های اسفنج *Dysidea pallescens* روی سلول HUT-78/ C185

درصد کشندگی سیکلوسپورین		درصد کشندگی متانول		درصد کشندگی دی اتیل اتری		غلظت ماده موثر
KB	HUT-78/ C185	KB	HUT-78/ C185	KB	HUT-78/ C185	
.	.	.	.	.	.	۰ μg/ml (شاهد منفی)
۳/۳۳	۱۰/۷۱	.	.	.	.	۱ μg/ml
۱۳/۳۳	۱۴/۲۸	۳/۳۳	۷/۱۴	.	۱۰/۷۱	۴ μg/ml
۲۰	۲۱/۴۲	۳/۳۳	۷/۱۴	۶/۶۶	۱۷/۸۵	۱۰ μg/ml
۲۶/۶۷	۱۴/۲۸	۱۰	۱۴/۲۸	۱۳/۳۳	۲۵	۲۰ μg/ml
۳۶/۶۷	۲۵	۲۰	۲۱/۴۲	۲۳/۳۳	۳۲/۱۴	۵۰ μg/ml
۴۳/۳۳	۳۲/۱۴	۳۳/۳۳	۲۵	۳۰	۳۹/۲۸	۱۰۰ μg/ml
۵۶/۶۷	۴۲/۸۵	۳۶/۶۶	۳۹/۲۸	۳۶/۶۶	۵۰	۲۰۰ μg/ml
۶۷/۶۷	۵۳/۵۷	۴۶/۶۶	۴۶/۴۲	۴۶/۶۶	۵۷/۱۴	۳۰۰ μg/ml
۷۰/۳۳	۶۰/۷۱	۵۳/۳۳	۵۳/۵۷	۶۰	۶۰/۰۷	۴۰۰ μg/ml
۸۰	۶۷/۸۵	۶۳/۳۳	۵۷/۱۴	۶۳/۳۳	۶۷/۸۵	۵۰۰ μg/ml

مختلف عصاره های اسفنج *D. pallescens* در شکل های ۲ تا ۴ نشان داده شده است.

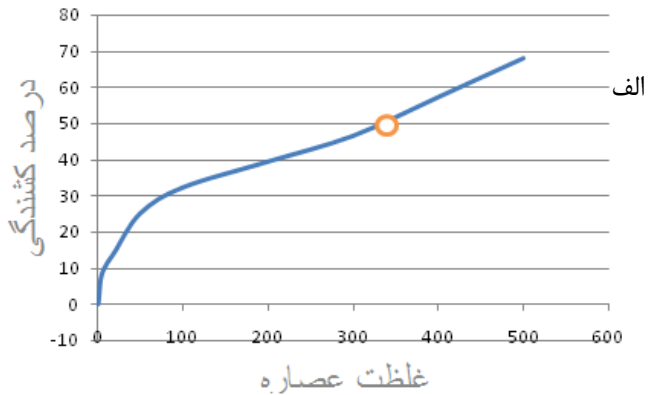
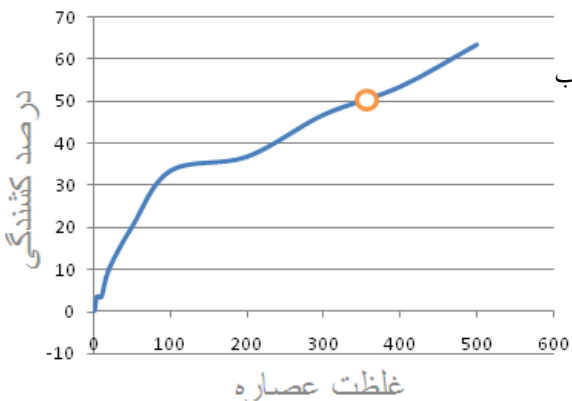
نتایج IC<sub>50</sub> عصاره های اسفنج و شاهد (سیکلوسپورین) روی سلول های سرطانی اپیدرمویید دهان انسان (KB/ C152) و لنفوسیتی (HUT-78/ C185) با غلظت های



شکل ۲: تعیین میزان  $IC_{50}$  عصاره دی اتیل اتری (الف) و متانولی (ب) اسفنج *Dysidea pallescens* روی سلول HUT-78.

پنجاه درصد ( $IC_{50}$ ) ترکیب تجاری سیتوتوکسیک سیکلوسپورین برابر ۲۷۵ میکروگرم بر میلی لیتر روی سلول های سرطانی لنفوسیتی (HUT-78/ C185) می باشد.

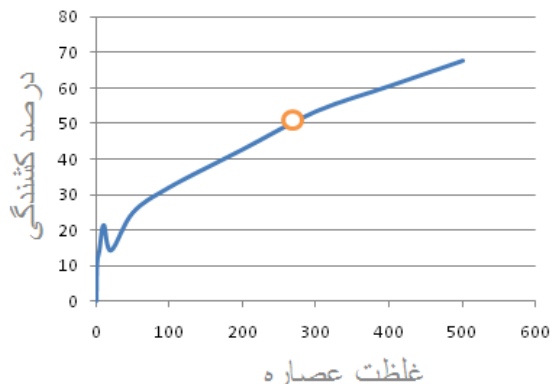
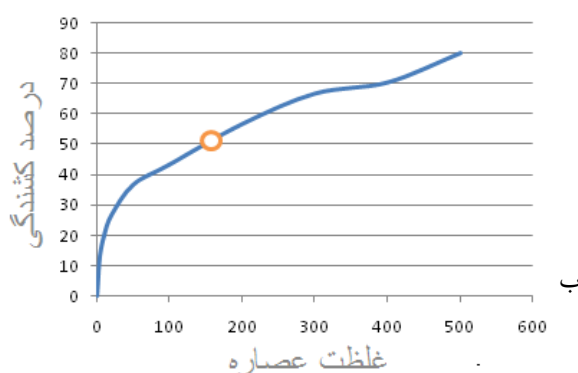
همان طور که از نمودار ۱ و ۳ برداشت می شود؛ عصاره دی اتیل اتری دارای اثرات ممانعت کنندگی از رشد پنجاه درصد ( $IC_{50}$ ) برابر ۲۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر، متانولی ۳۳۵ میکروگرم بر میلی لیتر و اثر ممانعت کنندگی از رشد



شکل ۳: تعیین میزان  $IC_{50}$  عصاره دی اتیل اتری (الف) و متانولی (ب) اسفنج *Dysidea pallescens* روی سلول KB.

از رشد پنجاه درصد ( $IC_{50}$ ) ترکیب تجاری سیتوتوکسیک سیکلوسپورین برابر ۱۳۵ میکروگرم بر میلی لیتر روی سلول های سرطانی اپیدرموئید دهان انسان (KB/ C152) می باشد.

همان طور که از نمودار ۲ و ۳ برداشت می شود؛ عصاره دی اتیل اتری دارای اثرات ممانعت کنندگی از رشد پنجاه درصد ( $IC_{50}$ ) برابر ۳۲۵ میکروگرم بر میلی لیتر، متانولی ۳۷۵ میکروگرم بر میلی لیتر و اثر ممانعت کنندگی



شکل ۴: تعیین میزان  $IC_{50}$  سیکلوسپورین HUT-78 (الف) و KB (ب).

یکی از بیماری‌های شایع و علت اصلی مرگ و میر در کشورهای پیشرفته سرطان است، در سال‌های اخیر دانشمندان برای درمان این بیماری تلاش‌های بسیاری انجام داده‌اند (Kraljevic et al., 2006). بررسی‌های شیمیایی و بیولوژیکی دریاها و به ویژه اسفنج‌ها را منبع غنی از ترکیبات ضدسرطانی نشان داده است (Sipkema et al., 2005).

یکی از خواص بیولوژیک متداول موجود در ترکیبات طبیعی اسفنج‌ها، سیتوتوکسیک است. قرار گرفتن بسیاری از موجودات زنده دریایی، مانند بنتوزها، برای ادامه حیات روی اسفنج‌ها مستقر می‌گردند از آنجا که اسفنج‌ها هیچ نوع مکانیسم دفاعی و فرار نداشته‌اند لذا در طی مسیر تکاملی و به منظور ادامه بقا تولید ترکیبات شیمیایی که خاصیت از بین بردن سلول‌های زنده را دارد شرح نموده (Raveendran & Limna Mol, 2009).

به همین منظور در این تحقیق علمی این اثر بیولوژیک (سیتوتوکسیک) در رابطه با عصاره‌های دی اتیل اتری و متانولی اسفنج *D. pallescens* با استفاده از روش XTT روی سلول‌های سرطانی اپیدرمویید دهان انسان (KB/ C152) و لنفوسیتی (HUT-78/ C185) انجام گردید.

نتایج آزمایش‌ها نشان می‌دهد که عصاره دی اتیل اتری استخراج شده از اسفنج *D. pallescens* در غلظت ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر منجر به مرگ پنجاه درصد سلول‌های HUT-78 و در غلظت ۳۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر منجر به مرگ پنجاه درصد سلول‌های KB شده است. عصاره‌های متانولی تهیه شده از اسفنج *D. pallescens* در غلظت ۳۳۵ میکروگرم بر میلی

## بحث

زیست فناوری دریایی یکی از راه‌های توسعه و پیشرفت تولید محصولات جدید از جانداران دریایی می‌باشد، این تولیدات می‌تواند در زمینه‌های متنوع‌ای مانند سلامت و بهداشت (ترکیبات فعال زیستی با کاربرد دارویی)، غذا و انرژی (آنتی‌اکسیدان‌ها) و انرژی صنعتی (سوخت زیستی) کاربرد داشته باشد (Osinga, et al., 1999). یکی از مهمترین کاربردهای زیست فناوری دریا، فناوری سرخ می‌باشد، که محصولات این گروه در پزشکی و تشخیص‌های آزمایشگاهی استفاده می‌شوند و نام کلی بیوفارما یا زیست دارو به آنها داده شده است. هدف محققینی که در این زمینه فعالیت می‌کنند آن است که، متابولیت‌های ثانویه که در جانداران دریایی سنتز می‌شود را استخراج و پس از انجام آزمایش‌های بالینی آن‌ها را به صورت دارو در اختیار بیماران قرار دهند (Blunt et al., 2007). هرچند که این علم سابقه‌ای کمتر از سی سال دارد اما در این مدت زمان کم نزدیک به ۱۵۰۰۰ ترکیب طبیعی از جانداران دریایی استخراج و شناسایی شده است که از این تعداد ۴۵ ترکیب با خواص دارویی در مراحل آزمایشی پیش بالینی و بالینی قرار دارند (Newman & Cragg, 2004). بیشترین ترکیبات طبیعی استخراج شده از جانداران دریایی متعلق به بی‌مهرگان و در این بین اسفنج‌ها در مقام اول می‌باشند. خواص بیولوژیک متابولیت‌های ثانویه در اسفنج‌ها ضدسرطانی، سیتوتوکسیک، ضدباکتریایی، ضدقارچ، ضدویروسی، ضد مالاریا، ضدالتهایی، آرام‌بخش، افزایش مقاومت بدن، شل‌کننده عضلات، و ... می‌باشد (Sipkema et al., 2005).

۵۰ درصد (IC50) این سلول ها می گردد (Ferreira et al., 2007).

به نظر می رسد ترکیب یا ترکیبات اصلی سیتوتوکسیک اسفنج *D. pallescens* تهیه شده از جزیره هنگام از نوع غیرقطبی بوده که به میزان بیشتری در حلال دی اتیل اتری وارد شده است. با توجه به نتایج به دست آمده عصاره دی اتیل اتری به میزان قابل توجهی دارای مقادیر ترکیبات سیتوتوکسیک می باشد. نتایج فوق نشان می دهد که عصاره دی اتیل اتری می تواند به عنوان داروهای ضد سرطانی استفاده شود و جهت مراحل آتی خالص سازی و تعیین ساختار ترکیب فعال این عصاره و بررسی اثر آن بر روی موجودات آزمایشگاهی انجام گردد.

### منابع

- بلوچ، م.، ۱۳۸۲. جانورشناسی ۱، جلد اول، تهران، دانشگاه پیام نور، ۴۹ صفحه.
- ناظمی، م.، احمدی، م.، پیشه ورزاده، ف. و احمد زاده، الف.، ۱۳۹۰. بررسی خواص سیتوتوکسیک متابولیت های ثانویه اسفنج *Iophon spp.* مجله علوم زیستی زنجان، صفحات ۱۳۴-۱۲۱.
- Alejandro, M. and Mayer, S., 1999. Antitumor and cytotoxic compounds. The Pharmacologist. 41, 159- 164.
- Barnes, R.D., 1987. Invertebrate Zoology, 5<sup>th</sup> edition. Saunders College Publishing, USA.
- Bligh, E.G. and Dyer, W.J., 1959. A rapid method of total lipid extraction, Canadian Journal of Biochemistry and Physiology. 37, 911- 917.
- Blunt, J.W., Copp, B.R., Hu, W.P., Munro, M.H., Northcote, P.T. and Prinsep, M. R., 2007. Marine Natural Products. 24, 31-86.

لیترمنجر به مرگ پنجاه درصد سلول های HUT-78 و در غلظت ۳۷۵ میکرو گرم بر میلی لیترمنجر به مرگ پنجاه درصد سلول های KB شده است. لازم به ذکر است که عصاره های آبی روی هیچ یک از سلول های سرطانی مورد بررسی اثر سیتوتوکسیک از خود نشان نداده است.

در بسیاری از مطالعات انجام شده که بر روی عصاره های استخراج شده از سایر اسفنج ها انجام شده است، غلظت های پایین خواص سیتوتوکسیک از خود نشان نداده اند. هرچند که گزارشی در رابطه با خواص سیتوتوکسیک اسفنج *D. pallescens* به دست نیامده است، اما بررسی های انجام شده بر روی سایر نمونه ها نشان می دهد که در غلظت های پایین ترکیبات خالص استخراج شده از عصاره ها که مورد آزمایش قرار گرفته اند خواص سیتوتوکسیک را از خود نشان می دهند.

بر اساس آزمایش انجام شده که با استفاده از آزمون MTT assay روی سلول های کارسینوم اپیتلیوم دهانی انسان (KB) توسط عصاره های متانولی و دی اتیل اتری و آبی تهیه شده از اسفنج *Iophon sp.* اجرا شد، مشخص گردید که عصاره متانولی دارای  $IC_{50} = 175 \mu g/ml$ ، عصاره دی اتیل اتری دارای  $IC_{50} = 135 \mu g/ml$  می باشد، اما عصاره آبی اثر سیتوتوکسیک از خود نشان نمی دهد (ناظمی و همکاران، ۱۳۹۰).

بررسی خواص سیتوتوکسیک عصاره آبی- متانولی اسفنج های جمع آوری شده از پارک دریایی پدرا دی ریسکا دی میو<sup>۲</sup> برزیزل روی سلول های سرطانی روده (HCT- 8)، خون (HI-60)، سینه (MDA-MB435) و گلیوبلاستوما (SF-295) با استفاده از آزمون MTT نشان می دهد که عصاره اسفنج *Agelas clathrodes* و *Hyattella intestinalis* در غلظت ۲۳/۴۶ و ۶۳/۳۶ میکروگرم بر میلی لیتر روی سلول های گلیوبلاستوما، ۵۸/۰۱ و ۳۷/۸۲ میکروگرم بر میلی لیتر روی سلول های سرطان سینه، ۴۸/۵۱  $\mu g/ml$  و ۱۶/۹۹ روی سلول های سرطانی خون و در غلظت ۴۶/۴۶  $\mu g/ml$  و ۱۸/۹۷ روی سلول های سرطان روده منجر به مرگ

<sup>2</sup> Pedra da Risca do Meio

- Ferreira, E.G., Wilke, D.V., Jimenez, P.C., Portela, T.A., Silveira, E.R., Eduardo, H., Cláudia, P., Manoel, O. de Moraes, and Leticia, V., 2007.** Cytotoxic activity of hydroethanolic extracts of sponges (Porifera) collected at Pedra da Risca do Meio Marine State Park, Ceará State, Brazil. *Porifera Research: Biodiversity, Innovation and Sustainability*. 34, 313-318.
- Flam, F., 1994.** Chemical prospectors scour the seas for promising drugs. *Science*. 266, 1324-1325.
- Joseph, B. and Sujatha, S., 2011.** Pharmacologically important natural products from marine sponges. *Natural Products*. 4, 5-12.
- Kraljevic, S., Sedic, M., Scott, M., Gehrig, P., Schlapbach, R. and Pavelic, K., 2006.** Casting light on molecular events underlying anti-cancer drug treatment: what can be seen from the proteomics point of view? *Cancer Treatment Reviews*. 32, 619-629.
- Muller, W.E., Grebenjuk, W.E., Le Pennec, G., Schroeder, H., Brummer, F. and Hentschel, I., 2004.** Sustainable production of bioactive compounds by sponges-cell culture and gene cluster approach: a review. *Marine Biotechnology*. 6, 105-117.
- Newman, D.J. and Cragg, G.M., 2004.** Marine natural products and related compounds in clinical and advanced preclinical trials. *Journal Natural Products*. 67, 1216-1238.
- Osinga, R., Beukelaer, P.B. and Meijer, E.M., 1999.** Marine bioprocess engineering: from ocean to industry. *Trends Biotechnol.* 17, 303-304.
- Piel, A.J., 2006.** Bacterial symbionts: prospects for the sustainable production of invertebrate-derived pharmaceuticals. *Medical Chemistry*. 13, 39-50.
- Raveendran, T.V. and Limna Mol, V.P., 2009.** Natural product antifoulants. *Science*. 97, 508-520.
- Raviña, E., 2010.** The evolution of drug discovery: from traditional medicines to modern drugs; Wiley-WCH: Weinheim, Germany.
- Roehm, N.W., Rodgers, G.H., Glasebrook, A.L. and Hatfield, S.M., 1991.** An improved colorimetric assay for cell proliferation and viability utilizing the tetrazolium salt XTT. *Immunology Methods*. 142(2), 257-265.
- Sipkema, D., Maurice, C.R., Franssen, R.O. and Johannes, T., 2005.** Marine sponges as pharmacy. *Marine Biotechnology*. 7, 142-162.
- Zhang, W., Zhang, X., Cao, J. and Zhao, Xu. Q., 2003.** Optimizing the formation of in vitro sponge primmorphs from the Chinese sponge *Stylotella agminata*. *Biotechnology*. 100, 161-168.



---

**Cytotoxic Activity of Natural Copponents Soluble in Methanol and Diethyl ether of *Dysidea palleescens* from Hengam Island, Persian Gulf**

Nazemi M.<sup>1\*</sup>; Moradi Y.<sup>2</sup>; Sadrian M.<sup>2</sup>; Lekzaee F<sup>2</sup>

\*Melikanazemiyahoo.com

1-Persian Gulf and Oman Sea Ecological Research Institiute, Iranian Fisheries Science Research Institute (IFSRI), Agriculture research Education and Extension Organization

2-Iranian Fisheries Science Research Institute, Agriculture research Education and Extension Organization

Received: February 2015

Accepted: October 2015

**Keywords:** Sponge, Cytotoxic, Methanol extract, Diethyletter extract, Hengam Island, Persian Gulf.

**Abstract**

Sponges are the most primitive of the multicellular, These organisms don't have any mechanical defense system, so their early appearance in evolution has given them a lot of time for the development of advanced secondary metabolites as chemical defense system. Sponges have the potential to provide drugs from chemical components against diseases. In this investigation the sponge samples, which it is *Dysidea palleescens*, were collected at depth of 15- 20 meter, from locations on the coastline of Island Hengam in Persian Gulf of Iran. For identifying natural components, methanol and diethyletter were used as extraction solvents, after removal of the solvents, the in vitro cytotoxic activity was identified. In vitro cytotoxicity screening, by XTT assay, against KB/ C152 and HUT-78/ C185 cell line, was conducted in this study in 1 - 500 µg/ml . IC50 for diethyletter and methanol extract was 200 µg/ml in HUT-78 , IC50 for diethyletter extract was 325µg/ml and methanol extract 325µg/ml in KB.

---

\* Corresponding author