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

ملیکا ناظمی[1*]، یزدان مرادی[2]، همایون حسین زاده[2]، فرحناز لکزایی[2]

*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 دریافت: بهمن ۱۳۹۳ تاریخ پذیرش: مهر ١٣٩٤

چکیده

اسفنج ها ساده ترین و قدیمی ترین جانداران پرسلولی می باشند. این موجودات فاقد هر گونه ساختار دفاعی مکانیکی هستند بنابراین برای حفظ بقا، در طی سالیان متمادی توانایی تولید متابولیت های ثانویه ی خود را به عنوان عامل دفاعی شیمیایی تکامل بخشیده اند. یکی از مهمترین کاربردهای متابولیت های ثانویه ی اسفنج ها، استفاده از ترکیبات شیمیایی با خواص بیولوژیک به عنوان دارو می باشد. در این تحقیق نمونه ای از اسفنج با نام علمی *Dysidea pallescens* از عمق ۱۵ تا ۲۰ متری جزیره هنگام توسط عملیات غواصی جمع آوری شد. سپس به منظور بررسی اثرات سیتوتوکسیک عصاره های دی اتیل اتری و متانولی آن با استفاده از آزمون XTT روی سلول های سرطانی اپیدرموییدِ دهان انسان (KB/ C152) و لنفوسیتی (HUT-78/ C185) انجام گردید. نتایج نشان داد که عصارهٔ 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 سلول های لنفوسیتی جلوگیری می کند. عصارهٔ دی اتیل اتری دارای در غلظت ۳۲۵میکروگرم بر میلی لیتر، متانولی ۳۷۵ میکروگرم بر میلی لیتر و ترکیب تجاری سیتوتوکسیک سیکلوسپورین برابر۱۳۵ میکروگرم بر میلی لیتر از رشد ۵۰ درصد سلول های اپیدرموییدِ دهان انسان جلوگیری می کند.

لغات 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 میکرواورگانیسم های همزیست آن ها جداسازی شده‌اند (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 بیوفیلم 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[1]انجام گرفت مشخص شد که از سال ۱۹۶۰ تا کنون پنجاه درصد داوهای 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 ;1994). 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

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

[1] United States Food and Drug Administration

عصاره گیری با استفاده از روش Bligh & Dyer در سال ۱۹۵۹انجام 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 مدّت ۲۴ ساعت در آزمایشگاه در دمای اتاق (۲۵°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(۲۵°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(b)، نمونه برداری اسفنج *D. pallescens* در عمق ۲۰ متری جزیره هنگام.

بررسی خواص سیتوتوکسیک

سلول های سرطانی اپیدرموییدِ دهان انسان (KB/ C152) و لنفوسیتی (HUT-78/ C185) از بخش کشت سلولی انستیتو پاستور ایران به صورت فلاسک تهیّه شدند و به محیط کشت RPMI -۱۶۴۰ منتقل شد. ابتدا محیط کشت RPMI -۱۶۴۰ در pH ۷/۳ تهیّه گردید و توسط فیلتر میلی پور ۰/۲۲ میکرون استریل شد. سپس به محیط کشت به نسبت ۲۰۰ میکرو گرم بر میلی لیتر، پنی سیلینG و ۸۰ میکرو گرم بر میلی لیترجنتامایسین و نیز به نسبت ۱۰ درصد سرم جنین گاو فیلتر شده به محیط اضافه شد. روزانه سلول های اپیدرموییدِ دهان و لنفوسیت انسانی به وسیلهٔ 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 تریپنیزاسیون سلول های اپیدرموییدِ دهان و لنفوسیت انسانی از سطح فلاسک جدا شده و به مدّت ۵ دقیقه در ۱۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شدند. سپس سلول ها با تراکم ۲۵×۱۰^{۳} 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 مدّت تراکم سلولی توسّط میکروسکوپ معکوس بررسی شده و بعد از ۴۸ ساعت که سلول ها رشد کردند و به دیواره پلیت متّصل 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 های۱۰،۴،۲،۱، ۱۰۰،۵۰،۲۰، ۳۰۰،۲۰۰ و ۴۰۰ میکرو گرم بر میلی لیتراضافه 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

این آزمون از ترکیب سیکلوسپورین به عنوان کنترل مثبت استفاده شد و میزان IC۵۰ (میزان ممانعت از رشد سلول های سرطانی) ۵۰٪ از سلول های بر اساس درصد کشندگی طبق فرمول زیر محاسبه شد (Roehm, *et al.*, 1991).

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

نتایج

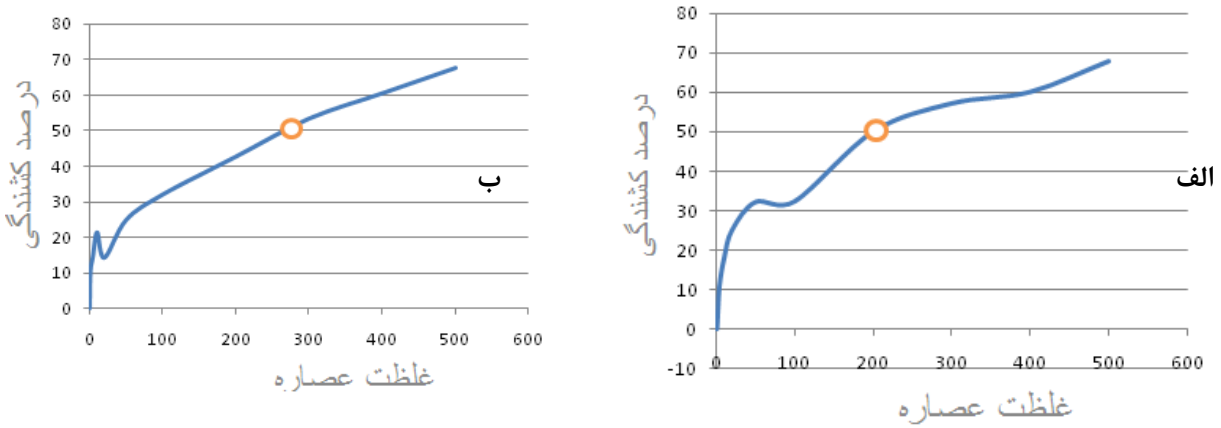
بررسی اثر سیتوتوکسیک عصاره های اسفنج *D. pallescens*

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

جدول۱: میزان درصد کشندگی عصاره های اسفنج *Dysidea pallescens* روی سلول HUT-78/ C185.

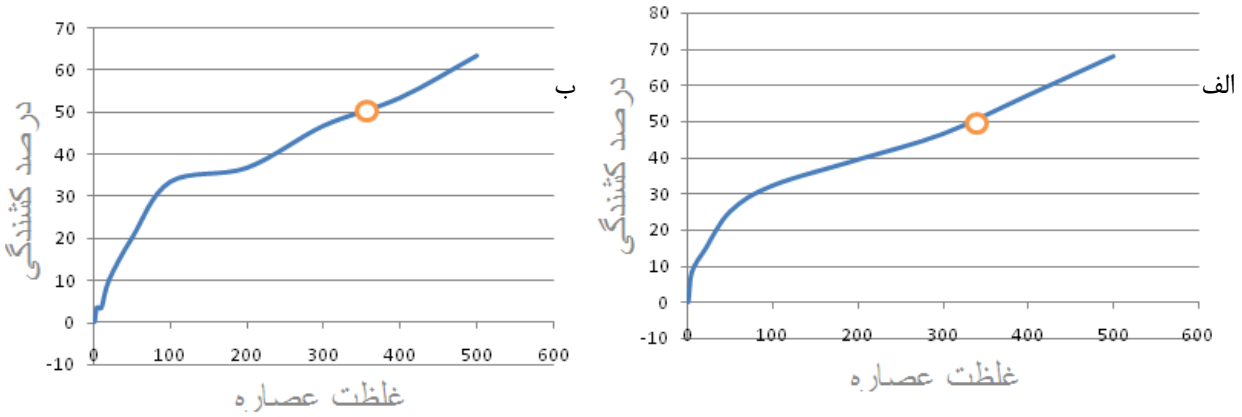
غلظت ماده موثر	درصد کشندگی دی اتیل اتری		درصد کشندگی متانول		درصد کشندگی سیکلوسپورین	
	HUT-78/ C185	KB	HUT-78/ C185	KB	HUT-78/ C185	KB
۰µg/ml (شاهد منفی)	۰	۰	۰	۰	۰	۰
۱µg/ml	۰	۰	۰	۰	۱۰/۷۱	۳/۳۳
۴µg/ml	۱۰/۷۱	۰	۷/۱۴	۳/۳۳	۱۴/۲۸	۱۳/۳۳
۱۰µg/ml	۱۷/۸۵	۶/۶۶	۷/۱۴	۳/۳۳	۲۱/۴۲	۲۰
۲۰ µg/ml	۲۵	۱۳/۳۳	۱۴/۲۸	۱۰	۱۴/۲۸	۲۶/۶۷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

نتایج IC_{50} عصاره های اسفنج و شاهد (سیکلوسپورین) روی سلول های سرطانی اپیدرموییید دهان انسان (KB/ C152) و لنفوسیتی (HUT-78/ C185) با غلظت های مختلف عصاره های اسفنج *D. pallescens* در شکل های ۲ تا ۴ نشان داده شده است.



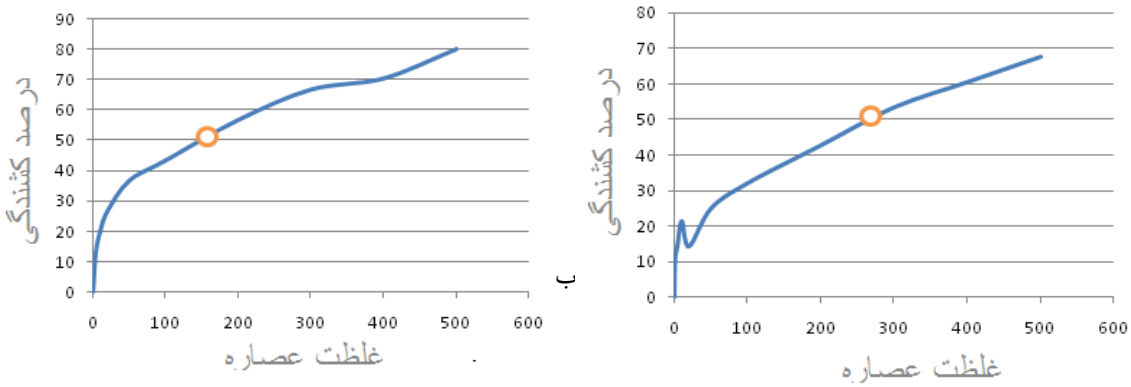
شکل ۲: تعیین میزان IC_{50} عصاره دی اتیل اتری (الف) و متانولی (ب)اسفنج *Dysidea pallescens* روی سلول HUT-78.

همان طور که از نمودار ۱ و ۳ برداشت می شود؛ عصارهٔ دی اتیل اتری دارای اثرات ممانعت کنندگی از رشد پنجاه درصد ($IC_{۵۰}$) برابر ۲۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر، متانولی ۳۳۵میکروگرم بر میلی لیتر و اثر ممانعت کنندگی از رشد پنجاه درصد ($IC_{۵۰}$) ترکیب تجاری سیتوتوکسیک سیکلوسپورین برابر ۲۷۵ میکروگرم بر میلی لیتررویسلول های سرطانیلنفوسیتی (HUT-78/ C185) می باشد.



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

همان طور که از نمودار ۲ و ۳ برداشت می شود؛ عصارهٔ دی اتیل اتری دارای اثرات ممانعت کنندگی از رشد پنجاه درصد ($IC_{۵۰}$) برابر ۳۲۵ میکروگرم بر میلی لیتر، متانولی۳۷۵ میکروگرم بر میلی لیترو اثر ممانعت کنندگی از رشد پنجاه درصد ($IC_{۵۰}$) ترکیب تجاری سیتوتوکسیک سیکلوسپورین برابر 135میکروگرم بر میلی لیترروی سلول های سرطانی اپیدرموید دهان انسان (KB/ C152) می باشد.



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

بحث

زیست فناوری دریایی یکی از راه های توسعه و پیشرفت تولید محصولات جدید از جانداران دریایی می باشد، این تولیدات می تواند در زمینه های متنوع ای مانند سلامت و بهداشت(ترکیبات فعال زیستی با کاربرد دارویی)، غذا و انرژی(آنتی اکسیدان ها) و انرژی صنعتی(سوخت زیستی) کاربرد داشته باشد(Osinga, *et al.*,1999). یکی از مهمترین کاربردهای زیست فناوری دریا، فناوری سرخ می باشد، که محصولات این گروه در پزشکی و تشخیص های آزمایشگاهی استفاده می شوند و نام کلی بیوفارما یا زیست دارو به آنها داده شده است. هدف محققینی که در این زمینه فعّالیّت می کنند آن است که، متابولیت های ثانویه که در جانداران دریایی سنتز می شود را استخراج و پس از انجام آزمایش های بالینی آن ها را به صورت دارو در اختیار بیماران قرا دهند(Blunt *et al.*, 2007). هرچند که این علم سابقه ای کمتر از سی سال دارد امّا در این مدّت 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 متعلّق به بی‌مهرگان و در این بین اسفنج‌ها در مقام اول می‌باشند. خواص بیولوژیک متابولیت‌های ثانویه در اسفنج‌ها ضدسرطانی، سیتوتوکسیک، ضدباکتریایی، ضدقارچ، ضدویروسی،ضد مالاریا، ضدالتهابی، آرام بخش، افزایش مقاومت بدن، شل کننده عضلات، و ... می‌باشد (Sipkema *et al.*,2005).

یکی از بیماری های شایع و علت اصلی مرگ و میر در کشورهای پیشرفته سرطان است، در سال های اخیر دانشمندان برای درمان این بیماری تلاش های بسیاری انجام داده اند(Kraljevic *et al.*, 2006). بررسی های شیمیایی و بیولوژیکی دریاها و به ویژه اسفنج ها را منبع غنی از ترکیبات ضدسرطانی نشان داده است (Sipkema *et al.*, 2005).

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

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

نتایج آزمایش ها نشان می دهد که عصاره دی اتیل اتری استخراج شده از اسفنج *D. pallescens* در غلظت ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر منجر به مرگ پنجاه درصد سلول های HUT-78 و در غلظت ۳۲۵ میکروگرم بر میلی لیتر منجر به مرگ پنجاه درصد سلول های KB شده است. عصاره های متانولی تهیه شده از اسفنج *D. pallescens* در غلظت ۳۳۵ میکروگرم بر میلی

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، امّا بررسی های انجام شده بر روی سایر نمونه ها نشان می دهد که درغلظت 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 سلول‌های 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 عصارهٔ متانولی دارای IC50 =۱۷۵ µg/ml، عصاره دی اتیل اتری دارای IC50 =۱۳۵ µg/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[2] برزیل روی سلول های سرطانی روده(HCT- 8)، خون (Hl-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 µg/ml و ۱۶/۹۹ روی سلول های سرطانی خون و در غلظت ۴۶/ µg/ml ۸۵ و ۱۸/۹۷ روی سلول های سرطان روده منجر به مرگ ۵۰ درصد (IC50) این سلول ها می گردد (Ferreira *et al*., 2007).

به نظر می‌رسد 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 عصارهٔ دی اتیل اتری به میزان قابل توجّهی دارای مقادیر ترکیبات سیتوتوکسیک می باشد. نتایج فوق نشان می دهد که عصارهٔ دی اتیل اتری می تواند به عنوان داروهای ضد سرطانی استفاده شود و جهت مراحل آتی خالص سازی و تعیین ساختار ترکیب فعّال این عصاره و بررسی اثر آن برروی 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, 5th 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.

[2] 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 Letícia, 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 mrugs; 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 Copmponents Soluble in Methanol and Diethyl ether of *Dysidea pallescens* from Hengam Island, Persian Gulf

Nazemi M.[1*]; Moradi Y.[2]; Sadrian M.[2]; Lekzaee F[2]

*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 pallescens***,** 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 cytotoxity 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