بررسی تخمیر جدایی و شناسایی سیکلوسپورین A با کاربرد زلکرومانتوگرافی، روش ضایع فلوریسک و تیف سنجی

(Ph.D.) ناصر خدایی (Ph.D.) سید منوچهر غریبی (Ph.D.) رحمی پوری نجفی

1 دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان
2 دانشیور استرالیا، فرانکفورت
3 دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

خلاصه
ساخت و هدف: قرار ناقض Mول سیکلوسپورین A از طریق کونیدیوم نوزندل متی سیکلوسپورین A T. Inflatum است. سیکلوسپورین A از متابولیت‌های قارچ باکترولومی سیکلوسپورین A به شکل سیستم ایمنی و تکثیر آنتی‌بیوتیک در تولید کننده می‌باشد. هدف این تحقیق افزایش تولید سیکلوسپورین A با روش چشی، توسط اشعه مایع پنیش و نواحی کرومانتوگرافی کردن م sigurom حس می‌کند و به دقت آزمایش تولید می‌تواند کردن محیط کنت برای اکتیوریت می‌کند.

مواد و روش‌ها: میکرو‌سیکلوسپورین A نمونه‌های T. Inflatum (915 DSM) با کمک نخ، کننده گروه خاکی‌کننده، روش استخراج سیکلوسپورین A در محیط و تعدد تولید توسط اشتها تولید می‌شود.

کلمات کلیدی: سیکلوسپورین A، تخییر، کرومانتوگرافی، جهش، آتاترک پتشت تولیدی
کشت از جمله سیلکوسپورین A توسط یافته‌ای بیهکتیار نشان داد که در آزمایش‌های صحرایی، کم‌درجه و کریستال‌ها دارای اثرات ضد قارچی توجه به روش‌های نیکترین نیز می‌باشد که از روش‌های شناسایی این ماده به شمار می‌آید [11].

میکروفیت کشت کامل جامد برای چشمه سیلکوسپورین است. به صورت به‌طور معمول گروه دکسترین (40 گرم) و باکتریون (5 گرم) کارخانه‌های مصرفی درجه سه اسید بسیار در فرآیند استرس از طریق دزیمی‌سیراکسمیون 

استریلیزه شده بود اضافه گردید.

میکروفیت کشت مLAS (2/3) و کارخانه (200 میلی لیتر). نیتروژن سیستم (3 گرم) آنتیزیمینی آنتیزیمینی (8 گرم) AB مصرفی می‌باشد.

روش تهیه اولیه. آسییرل لیپین‌ایزولیز (Prelnuclease) را در لیسینار بارنولوکه تیغل‌بندی در تجهیزات به‌طور کامل، با مقداری کمی از آن دی‌سیبی‌سین تهیه شده سیلبانیوس روز میکروفیت کشت آگر محتوا ۲/عصاره مالت و ۱/۴ عصاره مخمر به صورت خشک کشت شد و باید ۱۵ روز در انکووانو قرار داده شد.

روش کشت روز میکروفیت جامد. از تی. وینفیرم (T. Inflatum) عصاره مالت و ۲/۴ عصاره مخمر و ۲/۰ آگر در pH=۵/۷ کشت تهیه و باید بین ۱۲ روز در حرارت ۲۵ جای‌بوده آگر در pH=۵/۷ اکتوگون گردید. میکروفیت روز میکروفیت جامد به وسیله سرم نیپیولوژی و حیوان نیش‌هاي استریلیزه شدهٔ

مواد و روش‌ها

مواد. از جمعیت میکروپیوس‌های سیلکوسپورین A (915 DSM)
الروش استخراج سیکلوسپورین A محتوای تخمیر
پس از 13 روز کشت، ایندیا به روش سنتروفورس سرعت
2-5 میلی‌متر در دقیقه خور بی‌نیم‌زد و میسیلوی اصلی
با صاف کردن به سبلی فیل بوختر از محتوای چگلا
شد؛ پس از خروج آب آب از آنها، وزن مسیلوی انداس گیری
شد. ایندیا مسیلویی‌ها جدا شده در مسیلوی 90٪ با
سیرومیتی، جهر و لعید که پس از خروج محبت‌نامه آنها
پس از ماندن در روناری، نماینده [8] تغییر و
چری در دمای توسط پر و ثانفی ارگونشان.
روش زلیفتراستورون. برای جداسازی
سیکلوسپورین A از نمایه‌های جدید دهانه
چربی از سایر سیکلوسپورین‌ها و ترکیب‌ها می‌باشد، سیکلوسپورین‌های
فرامتوکزیفی که نیایه‌ای به کار گرفته شد. برای تهیه
سیکلوسپورین A در از پودر نماینده LH20 استفاده
(مسیلوی در مانوان). در سانتی یا اسپین 180 (سانتی‌متر
ریخته شد، پس از ایجاد یک کیلو
سانتی‌متری، فراکسیون‌های چربی اکسید آن لیشتم به
کمک شویده محتوی 25٪ از استرات جهت داده شد.
حجم فراکسیون‌های جدا شده 3 میلی لیتر بود که در آن
سیکلوسپورین A و دی‌های گردید.
روش رای‌سیکلوسپورین A (روش
ضدقارچی). برای تشخیص وجود سیکلوسپورین در
مولول‌های از ابزار میکروئیتری انتشار در آگر
استفاده گردید. این روش از سیکل‌رده‌ها
ابعاد ± 1 میلی‌متر طول و ± 1 میلی‌متر قطر داخلی
1 میلی‌متر قطر خارجی به عنوان میکروئیتر استفاده شد.
ایندا یک کی می‌تواند مغزی در بین دهان و استریلی
ضخامت یکسان ریخته شد و بعد سیکلوسپورین آزمایش
قرار آمیزه‌ای، به مقدار 1000 میلی‌متر قطر
سیکلوسپورین که صورت یک‌یا دو میکروئیتر
و با خواص ارائه در بین دهان ریخته شد، سپس از صف
شان در انتهای میکروئیتری، سیکل‌رده‌ها در عمل به
میلی‌متر فاز گرفته، سپس نمایه‌های جدا شده از
سیکلوسپورین A در عناصر سیکل‌رده‌ها. بعد پریت‌ها در

نتایج
1- تولید کلی. محصول کشت Rani T. Inflatum. محتوای مایه
روی 24° C محیط دار، امکان مالات در اکوکوبی
40 پس از 6 روز به‌ریز کلی مایه سیکل‌رده مایه سطح بلیط
دامنه که پس از روز تحریر آنها در میلی‌متر رشد
2- روش استخراج سیکلوسپورین A محتوای تخمیر
پس از 13 روز کشت، ایندیا به روش سنتروفورس سرعت
2-5 میلی‌متر در دقیقه خور بی‌نیم‌زد و میسیلوی اصلی
با صاف کردن به سبلی فیل بوختر از محتوای چگلا
شد؛ پس از خروج آب آب از آنها، وزن مسیلوی انداس گیری
شد. ایندیا مسیلویی‌ها جدا شده در مسیلوی 90٪ با
سیرومیتی، جهر و لعید که پس از خروج محبت‌نامه آنها
پس از ماندن در روناری، نماینده [8] تغییر و
چری در دمای توسط پر و ثانفی ارگونشان.
روش زلیفتراستورون. برای جداسازی
سیکلوسپورین A از نمایه‌های جدید دهانه
چربی از سایر سیکلوسپورین‌ها و ترکیب‌ها می‌باشد، سیکلوسپورین‌های
فرامتوکزیفی که نیایه‌ای به کار گرفته شد. برای تهیه
سیکلوسپورین A در از پودر نماینده LH20 استفاده
(مسیلوی در مانوان). در سانتی یا اسپین 180 (سانتی‌متر
ریخته شد، پس از ایجاد یک کیلو
سانتی‌متری، فراکسیون‌های چربی اکسید آن لیشتم به
کمک شویده محتوی 25٪ از استرات جهت داده شد.
حجم فراکسیون‌های جدا شده 3 میلی لیتر بود که در آن
سیکلوسپورین A و دی‌های گردید.
روش رای‌سیکلوسپورین A (روش
ضدقارچی). برای تشخیص وجود سیکلوسپورین در
مولول‌های از ابزار میکروئیتری انتشار در آگر
استفاده گردید. این روش از سیکل‌رده‌ها
ابعاد ± 1 میلی‌متر طول و ± 1 میلی‌متر قطر داخلی
1 میلی‌متر قطر خارجی به عنوان میکروئیتر استفاده شد.
ایندا یک کی می‌تواند مغزی در بین دهان و استریلی
ضخامت یکسان ریخته شد و بعد سیکلوسپورین آزمایش
قرار آمیزه‌ای، به مقدار 1000 میلی‌متر قطر
سیکلوسپورین که صورت یک‌یا دو میکروئیتر
و با خواص ارائه ارائه در بین دهان ریخته شد، سپس از صف
شان در انتهای میکروئیتری، سیکل‌رده‌ها در عمل به
میلی‌متر فاز گرفته، سپس نمایه‌های جدا شده از
سیکلوسپورین A در عناصر سیکل‌رده‌ها. بعد پریت‌ها در
آن 192 - 220 نانومتر بود (شکل A). از سیکلوسپورین D با غلظت 8 μg/ml در طیف یافته سیکلوسپورین A (حداکثر جذب یک واحد بود. از استفاده تام 6 μg/ml به شکل Amax = 220 نانومتر بود. طیف فراکسیون جدایی شده از سیکلوسپورین A در طیف یافته ملاحظه می‌گردد. 

شکل B نیز در شکل B ملاحظه می‌گردد.

عکس A: تصویر هاله عدم عضوم و پوشیدن استرات فراکسیون D. عکس B: تصویر هاله عدم عضوم و پوشیدن استرات T. inflatum. 

2- طیف‌سنجی، ردپایی و شناسایی سیکلوسپورین A

الف- نتایج طیف‌سنجی فرایندهای متعدد: ابتدا طیف یافته UV/vis با غلظت 100 μg/ml از استوانه در 150-400 نانومتر تهیه شد که حداقل جذب
بحث

سیکلوسپورین A با خاصیت مهار کندن سیستم ایمنی، یکی از داروهای مهم برای بیماران یدکه بیماران مزمن مبتنی بر خونریزی، پیش‌بازیزی و آرتیروتیوم ونندیز مصرف می‌گردد. هدف از تحقیق حاضر بررسی تأثیر سیکلوسپورین A بر سیستم پایش UV می‌باشد. در اغلب مطالعات برای Tolypocladium inflatum تولید سیکلوسپورین A از قارچ ناقص برای تخمیر استفاده می‌گردد [14]. برای Tolypocladium inflatum تکثیر و اکتلوز از چگونگی رشد سیکلوسپورین از روی کشت جامد استفاده می‌شود و برای افزایش تولید از روی کشت با شعاع UV کمک گرفته می‌شود. با UV اگر رشد مطلق به دست می‌دهد [8]. اشاعه UV
مباحث


Assessment, isolation and identification of cyclosporin A by gel chromatography, fungicidal activity and spectroscopy

M. Gharavi*1 (Ph.D), N. Khodai2 (Ph.D), R. Bahri Najafi3 (Ph.D)
1- School of Pharmacy, Isfahan University of Medical Science, Isfahan, Iran
2- Pasteur Institute, Tehran, Iran
3- School of Pharmacy, Shiraz University of Medical Science, Shiraz, Iran

Introduction: T. inflatum (Tolypocladium inflatum) is a primitive fungi that reproduces via conidiums. Spors grow up on malt extract culture at 6-32°C at wet or dry medium. Of course it is found of some others culture which are contain aminoacids, mineral or organic matter. Cyclosporin A (Cy A) is the metabolite of t. inflatum. Cy A is an immunsuppressive drug. The aim of this study was to promote production of Cy A by mutation via ultraviolet radiation (UVR) and to find out a suitable medium for auxotrophs.

Material and Methods: Tolypocladium inflatum (DSM 915), malt extract and sabourd 4% dextrose agar, Bactopeptamine, casein hydrolysate and yeast extract dehydrated. The fungi was cultivated for 10-20 days duration on a medium contains 2% malt extract, 4% yeast extract and 20% agar at pH 5.7. Extraction was carried out by gel chromatography. For mutation of the fungi, UVR was used, and for identification of Cy A fungicidal, ultraviolet, visible and infra-red spectroscopy were methods of choice.

Results: White velvety colonies were collected from the medium of agar and malt extract. Samples and fractions of gel chromatography extraction showed antifungal activity on aspergillus niger. Ultraviolet visible spectroscopy gave λmax similar to that of standared and infra-red spectra was similar to the standared spectra.

Conclusion: Auxotrophic strains were cultivated on synthetic and raw mediums. Finally the high production of Cy A was produced of sugar factroy and hogwash of corn oil pressing factroy, at a dark place.

Keywords: Cyclosporin; Fermentation; Chromatography; Mutation; Fungicidal activity

* Corresponding author. Fax: 0311-6680011; Tel: 0311-7922582