مقاله پژوهشی

بررسی سمیت حاد و دوز کشنده پرودیجیوسین بر روی موش سوری

مریم نیاکانی[۱]، حسن ملکی‌نژاد[۲*]، احمد مجد[۱]، پرویز پاکزاد[۳]

۱- گروه سلولی و مولکولی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد واحد تهران شمال، تهران ایران
۲- گروه فارماکولوژی و سم‌شناسی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه، ایران
۳- گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد واحد تهران شمال، تهران، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۹/۰۱/۲۴ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۹/۰۴/۱۵

چکیده

زمینه و هدف: آزمایش‌های سم‌شناسی حاد اولین قدم برای تعیین میزان خطر یک ترکیب شیمیایی برای انسان و حیوانات است. در این راستا مطالعات سمیت حاد برای تولید دارو به‌ویژه داروهای جدید از ضرورت بالائی برخوردار است. تعیین LD50 برای آزمایش‌های بالینی یک ماده جدید به‌عنوان دارو از ضروریات پروسه معرفی یک دارو است. پرودیجیوسین یک ماده استخراج‌شده از سراشیا مارسسنس است که دارای خواص ضد توموری و ضد قارچی است و یکی از کاندیدهای درمان سرطان است. لذا در این پژوهش سمیت حاد پرودیجیوسین به روش درون تنی با استفاده از کمترین تعداد حیوانات آزمایشگاهی تعیین شد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، از دوزهای مختلف پرودیجیوسین بر روی موش سوری نر به‌صورت تزریق داخل صفاقی استفاده شد. در ۲۴ ساعت بعد از تزریق ضمن بررسی رفتار حیوانات دریافت‌کننده ماده موردنظر، از یکسری ارگان‌ها ازجمله قلب، کبد، کلیه و طحال، روده و ریه نمونه‌برداری شد و بعد از تهیه بلوک پارافینی و برش زدن توسط میکروتوم، با هماتوکسیلن – ائوزین رنگ‌آمیزی شدند و با میکروسکوپ نوری بررسی شدند.

نتایج: نتایج حاصل از این بررسی نشان داد که LD50 برای پرودیجیوسین برابر با ۴۵۰۰ mg/kg است و یافته‌های هیستوپاتولوژی نشان‌دهنده آسیب‌های جزئی در بافت‌های کبد، کلیه و طحال است درحالی‌که هیچ آسیب قابل‌توجهی در قلب، ریه و روده دیده نشد.

نتیجه‌گیری: بر اساس نتایج حاصل از مطالعه حاضر که برای اولین بار بر روی مدل حیوانی انجام گرفت می‌توان گفت که پرودیجیوسین به‌عنوان ماده مؤثر دارای حاشیه امنیت بالایی است و انجام مطالعات بعدی در سلسله تحقیقات پیش بالینی و بالینی در جهت روشن‌سازی امکان استفاده از ترکیب فوق به‌عنوان دارو در انسان و حیوانات قابل توجیه خواهد بود.

کلمات کلیدی: سمیت حاد، پرودیجیوسین، LD50، سراشیا مارسسنس، موش سوری

مقدمه

امروزه بیشتر داروهای ضد سرطان قابل‌دسترس، به‌طور شیمیایی سنتز شده‌اند و اثرات جانبی بیشتری بر فرد بیمار دارند و اغلب آن‌ها علاوه بر سلول‌های سرطانی، سلول‌های سالم و طبیعی را نیز از بین می‌برند و متأسفانه پس از مدتی کارایی خود را نیز از دست می‌دهند. بر این اساس اخیراً محققان بر روی داروهایی با منشأ طبیعی باهدف جایگزینی آن‌ها با داروهای سنتتیک شیمیایی تمرکز کرده‌اند و یافتن ترکیبات درمانی جدید با منشأ طبیعی و حداقل عوارض درمانی که بتوانند به‌صورت هدفمند سلول‌های سرطانی را از بین ببرند، اهمیت بالایی پیداکرده است. در این میان استفاده از متابولیت‌های ثانویه باکتریایی نظر بسیاری از محققان را به خود جلب کرده است. یکی از این ترکیبات، ۲-متیل ۳-پنتیل ۶-متوکسی پرودیجیونین (پرودیجیوسین) است که از دیواره سلولی باکتری سراشیا مارسسنس استخراج می‌شود. این ترکیب دارای خواص ضد تکثیری بر روی انواع مختلفی از سلول‌های بدخیم است (۱-۳). خانواده پرودیجیوسین که در ساختار مولکولی همه آن‌ها اسکلت پیرولیل پیرومتن دیده می‌شود، رنگ‌دانه‌هایی هستند که

*نویسنده مسئول: **حسن ملکی‌نژاد**، گروه فارماکولوژی و سم‌شناسی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه، ایران
Email: hassanmalekinejad@yahoo.com
https://orcid.org/ 0000-0002-9847-7928

ازلحاظ زیستی فعال بوده و دارای ویژگی‌هایی مانند القاء آپوپتوز و فعالیت ضد توموری می‌باشند (۴). این خانواده شامل پرودیجیوسین، آندسیل پرودیجیوسین و سیکلو پرودیجیوسین هست که در اکثر رده‌های سلولی سرطانی اثر سمی دارند (۵) و نشان داده‌شده است که این ترکیبات بر سلول‌های سالم و طبیعی اثر سمی اندکی دارند (۱-۲). به خاطر این سیتوتوکسیتی انتخابی، خانواده پرودیجیوسین‌ها به‌عنوان عوامل ضد سرطانی، امیدهای فراوانی را به وجود آورده‌اند (۶-۷).

مقدار مواد دارویی طبیعی و شیمیایی مورداستفاده در جوامع انسانی در حال افزایش است. بااین‌حال این مواد دارویی ممکن است منجر به سمیت حاد و یا مزمن در موجودات زنده شوند. بسته به ماهیت مواد این اثرات می‌تواند خفیف یا شدید باشند. سمیت حاد به‌عنوان اثرات ناخواسته‌ای تعریف می‌شود که پس از تجویز یک یا چند ماده در مدت ۲۴ ساعت مشاهده می‌شود (۸-۹). ارزیابی LD50 (دوزی که ۵۰٪ جمعیت مورد آزمایش را می‌کشد) به‌عنوان یکی از مهم‌ترین پارامترهای اندازه‌گیری سمیت حاد و یک روش اولیه برای غربال عمومی سمیت مواد شیمیایی و دارویی استفاده می‌شود (۸).

آزمایش LD50 در سال ۱۹۷۰ برای استانداردسازی داروهای بیولوژیک استفاده شد. به دلایل علمی، اقتصادی و اخلاقی لازم است به‌صورت دوره‌ای ارزیابی مجدد کلیه مراحل آزمایش سم‌شناسی ازجمله تست LD50 انجام شود. LD50 برای پیش‌بینی دوز کشنده انسانی و پیش‌بینی علائم مسمومیت پس از تجویز حاد در انسان بسیار مهم است (۱۰).

ارزیابی سمیت مواد یک روش بسیار مهم است که معمولاً قبل از اجازه تولید به‌عنوان دارو و ورود به بازار فروش انجام می‌شود (۸)؛ بنابراین با توجه به مزایای ذکرشده از پرودیجیوسین و نیز عوارض جانبی بالای داروهای شیمی‌درمانی، (۷) هر فراورده اعم از طبیعی یا شیمیائی قبل از اینکه به‌صورت یک‌شکل دارویی مورداستفاده قرار گیرد باید ازلحاظ مطالعات سم‌شناسی نیز موردمطالعه قرار گیرد و ازآنجاکه دوز لازم برای کشتن ۵۰ درصد جمعیت موردمطالعه در مدل حیوانی موش سوری موردتحقیق قرار نگرفته لذا در این پژوهش، برای اولین بار دوز کشنده ۵۰٪ پرودیجیوسین روی موش موردبررسی قرار گرفت. در ارزیابی‌ها و مطالعاتی که در مدل‌های حیوانی مورداستفاده قرار می‌گیرد علاوه بر آنکه باید در کاهش تعداد حیوان موردمطالعه همت شود و مدل بهسازی گردد به نکات کلیدی دیگری ازجمله انجام‌پذیری مکرر، صحت نتایج، سادگی انجام آزمایش، زمان‌بر نبودن و اقتصادی بودن هم باید موردتوجه جدی قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

پرودیجیوسین:

پرودیجیوسین از شرکت سیگما – آلدریچ CAS 82-89-3 خریداری شد. آب مقطر جهت تزریق و سرنگ انسولین، پنبه و الکل از داروخانه تهیه شدند.

موش‌های سوری نر با نژاد Mus musculus با وزن ۳۳-۳۰ گرم از دانشگاه علوم پزشکی ارومیه تهیه گردید و در مرکز نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی ارومیه در شرایط دمایی ۲ ± ۲۲ درجه سانتی‌گراد و سیکل روشنایی / تاریکی ۱۲ ساعته و دسترسی آزاد به غذا و آب نگهداری شدند.

تعیین سمیت حاد

برای تعیین LD50 ماده موردنظر بر اساس متد Enegide و همکاران (۲۰۱۳)، به روش زیر آزمایش انجام گرفت:

مرحله اول: در این مرحله چهار عدد حیوان در ۴ گروه یک تایی تقسیم‌بندی شدند و دوزهای ۵۰، ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ mg/kg BW از داروی موردنظر به حیوانات به روش داخل صفاقی تزریق شد. حیوانات به مدت ۱ ساعت و پس‌ازآن ۱۰ دقیقه به فاصله هر دو ساعت یک‌بار به مدت ۲۴ ساعت تحت نظر قرار گرفتند. علائم رفتاری و تلفات ناشی از مسمومیت ثبت شدند. بر اساس پروتکل اگر در این مرحله تلفاتی مشاهده نشد و علائم رفتاری خاصی مبنی بر مسمومیت دیده نشد مرحله دوم آزمایش پیگیری شد.

مرحله دوم: در این مرحله از ۳ عدد حیوان استفاده شد که در ۳ گروه دسته‌بندی شدند و دوزهای ۱۰۰۰، ۱۵۰۰ و ۲۰۰۰ mg/kg BW به حیوانات مختلف تزریق شدند و حیوانات به مدت ۱ ساعت مدام و تا ۲۴ ساعت به‌صورت دوره‌ای تحت نظر قرار گرفتند. علائم رفتاری و تلفات ناشی از مسمومیت ثبت گردید. چون علائم رفتاری خاصی و تلفاتی وجود نداشت آزمایش وارد مرحله سوم شد.

مرحله سوم: این مرحله شامل ۳ عدد حیوان است که در ۳ گروه دسته‌بندی‌شده‌اند و هر گروه شامل یک حیوان است. دوزهای بالا و مختلفی از ماده مورد آزمایش mg/kg ۳۰۰۰، ۴۰۰۰ و ۵۰۰۰ به حیوانات مختلف تجویز شد و حیوانات به مدت ۱ ساعت و پس‌ازآن ۱۰ دقیقه به فاصله هر دو ساعت یک‌بار به

مدت ۲۴ ساعت تحت نظر قرار گرفتند و علائم رفتاری و تلفات ناشی از مسمومیت ثبت شد.

سپس با استفاده از فرمول زیر میزان LD50 تعیین گردید:

$$LD50=[M_0 + M_1]/2$$

بالاترین میزان از ماده که باعث بروز تلفات نشده است = M_0

کمترین میزان از ماده که باعث بروز تلفات شده است = M_1

این روش اگرچه دارای ۳ مرحله است اما کمترین تعداد حیوان را استفاده می‌کند (۹).

بعدازاین مرحله ارگان‌های اصلی شامل قلب، ریه، کبد، طحال و کلیه، روده به‌دقت جدا و در فرمالین ۱۰ درصد برای آزمایش‌های آسیب‌شناسی نگهداری گردید. از ارگان‌های اصلی بلوک پارافینی تهیه و پس از برش زدن توسط میکروتوم با هماتوکسیلن – ائوزین رنگ‌آمیزی شدند و با میکروسکوپ نوری بررسی شدند. هم‌زمان با تهیه نمونه‌های ذکرشده برای آنالیز هیستوپاتولوژیکی از گروه کنترل (n=3 که فقط حلال ترکیب مورد آزمایش را دریافت کرده بودند) برای مقایسه استفاده شد.

نتایج

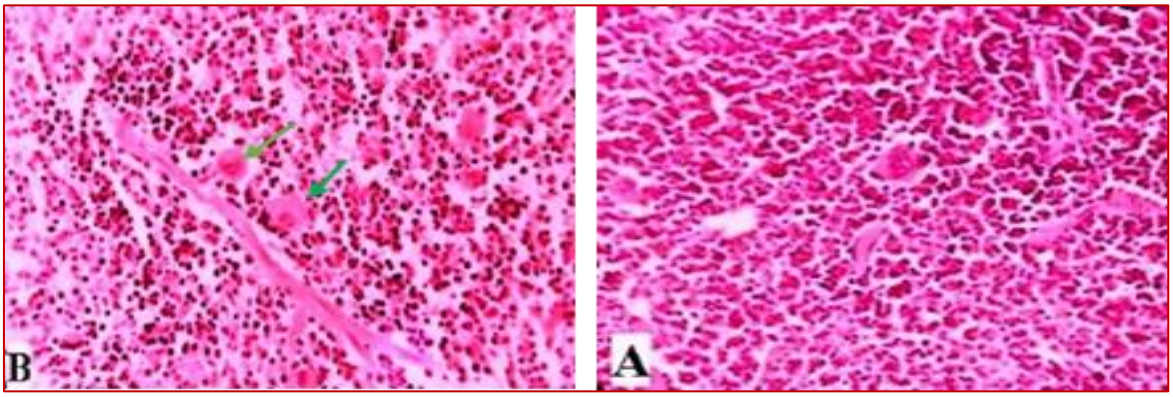
حداکثر دوز قابل‌تحمل و LD50:

حداکثر دوز قابل‌تحمل پرودیجیوسین در موش ۴۰۰۰mg/kg و LD50 آن طبق روش به‌کاربرده ۴۵۰۰ mg/kg در موش سوری به دست آمد.

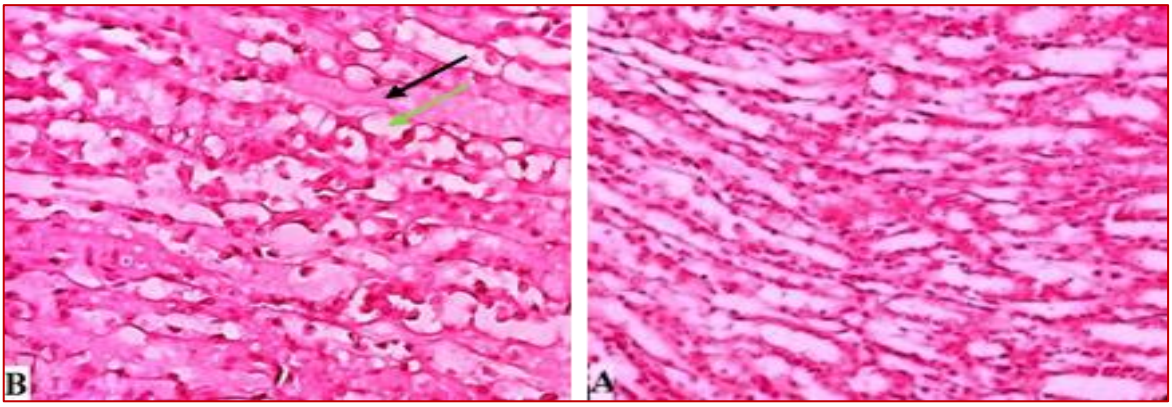
یافته‌های مطالعات آسیب‌شناسی:

در بررسی میکروسکوپی، نمونه‌های کلیه، قلب، ریه، طحال، کبد، دوازدهه موش دریافت‌کننده پرودیجیوسین بررسی شدند.

در قلب و ریه و روده تغییرات پاتولوژیک دیده نشد و با گروه کنترل تفاوتی نداشتند. در طحال، کپسول و تیغه‌های کپسولی وارده شده به پارانشیم نرمال است ولی افزایش غیرطبیعی ماکروفاژهای درشت دیده شدند (شکل ۱). در کلیه ادم‌های گسترده‌ای در پارانشیم کلیه و لابه‌لای نفرون‌ها دیده شدند و کپسول کلیه نسبتاً نازک به نظر می‌رسد. لوله‌های پروگزیمال نرمال بوده ولی واکوئولاسیون در لوله‌های دیستال در بخش

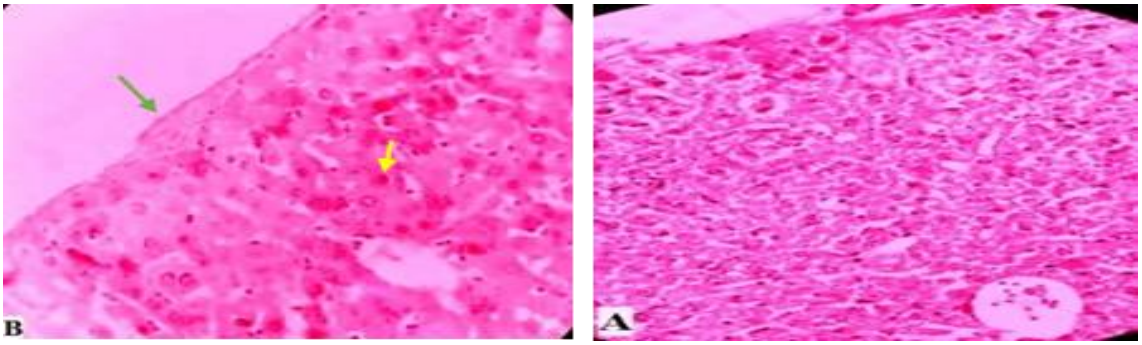


شکل ۱- تغییرات هیستوپاتولوژی بافت طحال. A گروه کنترل و B گروه دریافت‌کننده پرودیجیوسین. پیکان سبزرنگ نشان‌دهنده ماکروفاژهای درشت است.



شکل ۲- تغییرات هیستوپاتولوژی بافت کلیه: A گروه کنترل و B گروه دریافت‌کننده پرودیجیوسین. پیکان سبزرنگ نشان‌دهنده لوله‌های کف‌آلود در مرکز کلیه و پیکان سیاه نشان‌دهنده ادم است.

قشری دیده شدند. لوله‌های جمع کننده در بخش مرکزی به‌صورت کف‌آلود و واکوئله دیده شدند (شکل ۲). در کبد کپسول نسبتاً نازک دیده می‌شود و در بعضی از قسمت‌های پارانشیم هسته‌های متراکم و فشرده‌شده سلول‌های هپاتوسیت دیده می‌شوند (شکل ۳).



شکل ۳- تغییرات هیستوپاتولوژی بافت کبد: A گروه کنترل و B گروه دریافت‌کننده پرودیجیوسین. پیکان سبزرنگ نشان‌دهنده کپسول و پیکان زردرنگ نشان‌دهنده هسته‌های متراکم است.

بحث و نتیجه‌گیری

بسیاری از رنگ‌های شیمیائی که امروزه در روند تولید مواد غذایی، مواد رنگی، آرایشی و دارویی به کار می‌روند دارای اثرات مضر هستند. به‌منظور مقابله با این تأثیرات زیان‌آور گرایشی جهانی نسبت به تولید رنگ‌دانه‌ها از منابع طبیعی ایجادشده است (۱۱، ۱۲). رنگ‌دانه‌های طبیعی از دو منبع مهم گیاهان و میکروارگانیسم‌ها حاصل می‌شوند (۱۲، ۱۳). رنگ‌دانه‌های مجاز خوراکی و طبیعی با منشأ گیاهی اشکالات متعددی از قبیل بی‌ثباتی در برابر نور، گرما، pH، حلالیت کم و اغلب عدم دسترسی آسان در طول سال را در پی‌دارند (۱۴، ۱۵). تولید رنگ‌دانه از میکروارگانیسم‌ها با توجه به رشد سریع و آسان، محیط کشت ارزان، استخراج راحت‌تر، عدم وابستگی به شرایط جوی و گستردگی تنوع رنگ بیشتر نسبت به سایر منابع زیستی دارای مزایای بیشتری است (۱۶، ۱۷). بسته به نوع ترکیبات، آن‌ها عملکردهای متفاوت و متنوعی برای میزبان دارند به‌طور مثال: عمل حفاظتی کارتنوئیدها در برابر فتواکسیدانت‌های کشنده، حفاظت ملانین در برابر استرس‌های محیطی و فلاوین‌ها به‌عنوان کوفاکتور در کاتالیز آنزیم‌ها قابل‌توجه می‌باشند (۱۹-۱۶). دراین‌بین پرودیجیوسین، رنگ‌دانه حاوی پیرول که معمولاً در باکتری سراشیا یافت می‌شود خواص ضد باکتریایی، ضد قارچی، ضد توموری و ضد سرطانی را به‌خوبی نشان داده است (۲۰، ۲۱).

امروزه استفاده از مواد طبیعی به‌عنوان عوامل ضد سرطانی، امیدهای فراوانی را به وجود آورده‌اند؛ بنابراین با توجه به مزایای ذکرشده از پرودیجیوسین و نیز عوارض جانبی بالای داروهای شیمی‌درمانی (۶)، در این پژوهش، برای اولین بار، دوز کشنده مؤثر پرودیجیوسین دیواره سلولی باکتری سراشیا مارسسنس بر روی موش سفید کوچک آزمایشگاهی موردبررسی قرار گرفت تا مقدمه‌ای برای تحقیقات بعدی و معرفی ماده فوق برای مطالعات کلینیکی و پیش بالینی فراهم شود.

نتایج بررسی نشان داد که پرودیجیوسین دارای LD50 برابر با ۴۵۰۰ mg/kg است. بر اساس طبقه‌بندی Lomis and Hayes (۱۹۹۶) ماده موردمطالعه در ردیف ترکیبات با سمیت خفیف طبقه‌بندی می‌شود (۱۹). مشخص نمودن LD50 یک ترکیب نه‌تنها در ارزیابی خطر ناشی از آن ماده ضروری است بلکه در تعیین دوزهای درمانی و مقادیر ماده موردنظر در مطالعات سمیت مزمن نیز حائز اهمیت است. بر اساس یافته‌های مطالعه حاضر ماده موردنظر به‌عنوان خطر جدی تلقی نشده و همین امر امکان مطالعات آتی را میسر می‌سازد.

از دیگر نتایج تحقیق حاضر می‌توان به عدم اثر قابل‌توجه و پاتولوژیک پرودیجیوسین بر بافت‌های حیاتی ازجمله قلب و ریه‌ها اشاره کرد. در توجیه یافته فوق می‌توان عنوان نمود که: یا سیستم قلبی و عروقی و همچنین سیستم تنفسی از بافت‌های هدف ماده مورد آزمایش نبوده است و یا اینکه به علت داشتن شاخص درمانی بالا بافت‌های حیاتی در تست سمیت حاد پرودیجیوسین

علائم بالینی و آزمایشگاهی که نشان‌دهنده آسیب باشد، نشان ندادند. البته به‌غیراز دوز عوامل دیگری هم در تعیین میزان سمیت یک ماده دخالت دارند که می‌توان به جنس حیوان، روش در معرض قرار گرفتن حیوان، جیره غذائی و وضعیت سلامت ارگان‌ها اشاره کرد.

از طرف دیگر، نتایج تحقیق حاضر نشان‌دهنده تغییرات هرچند جزئی در بافت‌های کبد، کلیه و طحال است. این تغییرات را شاید به حساسیت بالای ارگان‌های فوق‌الذکر به ترکیب موردمطالعه، میزان بالای درصد خون‌رسانی به این بافت‌ها و به دنبال آن قرار گرفتن بیشتر در معرض ترکیب موردتحقیق و به‌ویژه به نقش فیزیولوژیک ارگان‌های فوق در متابولیسم و دفع داروها و مواد زنوبیوتیک نسبت داد (۲۲). نقش کبد و کلیه‌ها در متابولیزاسیون داروها و مواد زنوبیوتیک و کمک به دفع آن‌ها از طریق صفرا و ادرار شاید توجیه‌کننده اثرات خفیف پاتولوژیک ناشی از سمیت حاد پرودیجیوسین در موش‌های سوری باشد.

ازآنجایی‌که قبلاً هیچ بررسی برای تعیین LD50 پرودیجیوسین انجام‌نشده است این اولین گزارش از تعیین سمیت حاد این ماده است و نتیجه حاصله نشان می‌دهد که پرودیجیوسین دارای حاشیه امنیت خوبی بر اساس روش Enegide و همکاران است (۹) و ازآنجایی‌که پرودیجیوسین استخراج‌شده از *سراشیا مارسسنس* بر اساس گزارش‌های پیشین دارای خواص ضد توموری، ضد قارچی و ضد سرطانی است (۲۳، ۲۴)، اثرات ضد قارچی ترکیب فوق بر روی قارچ‌هایی مثل: *Didymella applanata* (۲۵)، *Fusarium oxysporum* (۲۶)، *Trichophyton* (۲۷) و *Candida albicans* (۲۸) گزارش‌شده است. همچنین گزارش‌های متعددی از اثرات ضد سرطانی پرودیجیوسین بر روی رده سلول‌های سرطانی معده (HTG-1) (۲۹)، پروستات (PC3) (۳۰)، سلول‌های کارسینومای نازوفارنژیال انسانی (CNE2) (۳۱) و سرطان سینه (۳۲) وجود دارد؛ بنابراین می‌توان مطالعات بعدی پیش بالینی و بالینی را جهت معرفی یک ترکیب جدید با توانائی‌های منحصربه‌فرد انجام داد.

تشکر و قدردانی

از تمامی کسانی که در انجام این تحقیق، نویسندگان مقاله را یاری نمودند نهایت تشکر و قدردانی را داریم. این مقاله برگرفته از رساله دکتری دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال با شماره ۱۵۷۳۰۵۱۳۹۶۲۰۱۱ است که دارای کد اخلاق با شناسه IR.UMSU.REC.1398.163 است.

تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافعی توسط نویسندگان بیان‌نشده است.

References

1. Sumathi C, MohanaPriya D, Swarnalatha S, Dinesh MG, Sekaran G. Production of prodigiosin using tannery fleshing and evaluating its pharmacological effects. Sci World J. 2014; 2014:1-8.
2. Francisco R, Pe´rez-Toma´s R, Gime`nez-Bonafe´ P, Soto-Cerrato V, Gime´nez-Xavier P, Ambrosio S. Mechanisms of prodigiosin cytotoxicity in human neuroblastoma cell lines. Eur J Pharmacol.2007; 572:111–9.
3. Ho TF, Peng YT, Chuang SM, Lin SC, Feng BL, Lu CH, et al. Prodigious down-regulates survivin to facilitate paclitaxel sensitization in human breast carcinoma cell lines. Toxicol Appl Pharm. 2009; 235(2):253-60.
4. Ho TF, Ma CJ, Lu CH, Tsai YT, Wei YH, Chang JS, et al.Undecylprodigiosin selectively induces apoptosis in human breast carcinoma cells independent of p53. Toxicol Appl Pharm. 2007; 225(3):318-28.
5. Chang CC, Chen WC, Ho TF, Wu HS, Wei YH. Development of natural anti-tumor drugs by microorganisms. J Biosci Bioeng. 2011; 111(5):501-11.
6. Pandey R, Chander R, Sainis KB. Prodigiosins as anticancer agents: living upto their name. Curr. Pharm. 2009; 15(7):732-41.
7. Steller H. Mechanisms and genes of cellular suicide. Science. 1995; 267(5203):1445-9.

8. Zbinden G, Flury-Roversi M. Significance of the LD 50-test for the toxicological evaluation of chemical substances. Arch Toxicol. 1981; 47(2):77-99.
9. Akhila JS, Shyamjith D, Alwar MC. Acute toxicity studies and determination of median lethal dose. Curr. Sci. 2007; 93(7):917-20.
10. Chinedu E, Arome D, Ameh FS. A new method for determining acute toxicity in animal models. Toxicol Int. 2013; 20(3):224.
11. Unagul P, Wongsa P, Kittakoop P, Intamas S, Srikitikulchai P, Tanticharoen M. Production of red pigments by the insect pathogenic fungus Cordyceps unilateralis BCC 1869. J Ind Microbiol Biotechnol. 2005; 32(4):135-40.
12. Samaan N, Zhong Q, Fernandez J, Chen G, Hussain AM, Zheng S, et al. Design, synthesis, and evaluation of novel heteroaromatic analogs of curcumin as anti-cancer agents. European journal of medicinal chemistry. 2014; 75:123-31
13. Mizukami H, Konoshima M, Tabata M. Variation in pigment production in Lithospermum erythrorhizon callus cultures. Phytochemistry. 1978; 17(1):95-7.
14. Räisänen R, Nousiainen P, Hynninen PH. Dermorubin and 5-chlorodermorubin natural anthraquinone carboxylic acids as dyes for wool. Text. Res. J. 2002; 72(11):973-6.
15. Kim CH, Kim SW, Hong SI. An integrated fermentation–separation process for the production of red pigment by Serratia sp. KH-95. Process Biochemistry. 1999; 35(5):485-90.
16. Darshan N, Manonmani HK. Prodigiosin and its potential applications. J Food Sci Technol. 2015; 52(9):5393-407
17. Parekh S, Vinci VA, Strobel RJ. Improvement of microbial strains and fermentation processes. Appl. Microbiol. Biotechnol. 2000; 54(3):287-301.
18. Mumtaz R, Bashir S, Numan M, Shinwari ZK, Ali M. Pigments from Soil Bacteria and Their Therapeutic Properties: A Mini Review. Current microbiology. 2019; 76(6):783-90.
19. Pérez-Tomás R, Montaner B, Llagostera E, Soto-Cerrato V. The prodigiosins, proapoptotic drugs with anticancer properties. Biochem Pharmacol. 2003; 66(8):1447-52.
20. Loomis TA, Hayes AW. Loomis's Essentials of Toxicology. California: Academic Press; 1996. p.282.
21. Rahul S, Chandrashekhar P, Hemant B, Bipinchandra S, Mouray E, Grellier P, et al. In vitro antiparasitic activity of microbial pigments and their combination with phytosynthesized metal nanoparticles. Parasitology international. 2015; 64(5):353-6.
22. Bertz RJ, Granneman GR. Use of in vitro and in vivo data to estimate the likelihood of metabolic pharmacokinetic interactions. Clin Pharmacokinet. 1997; 32(3):210-58.
23. Lopes SC, Blanco YC, Justo GZ, Nogueira PA, Rodrigues FL, Goelnitz U, et al. Violacein extracted from Chromobacterium violaceum inhibits Plasmodium growth in vitro and in vivo. Antimicrob Agents Chemother. 2009; 53(5):2149-52.
24. Li D, Liu J, Wang X, Kong D, Du W, Li H, et al. Biological Potential and Mechanism of Prodigiosin from Serratia marcescens Subsp. lawsoniana in Human Choriocarcinoma and Prostate Cancer Cell Lines. International journal of molecular sciences. 2018; 19(11):3465.
25. Duzhak AB, Panfilova ZI, Duzhak TG, Vasyunina EA, Shternshis MV. Role of prodigiosin and chitinases in antagonistic activity of the bacterium Serratia marcescens against the fungus Didymella applanata. Biochemistry (Moscow). 2012; 1; 77(8):910-6.
26. Suryawanshi RK, Patil CD, Borase HP, Salunke BK, Patil SV. Studies on production and biological potential of prodigiosin by Serratia marcescens. Applied biochemistry and biotechnology. 2014; 1; 173(5):1209-21.
27. Nakashima T, Kato Y, Yamaguchi K, Oda T. Evaluation of the anti-Trichophyton activity of a prodigiosin analogue produced by γ-proteobacterium, using stratum corneum epidermis of the Yucatan micropig. Journal of infection and chemotherapy. 2005; 1; 11(3):123-8.
28. Khanafari A, Assadi MM, Fakhr FA. Review of prodigiosin, pigmentation in Serratia marcescens. Online Journal of Biological Sciences. 2006; 6(1):1-3.
29. Díaz Ruiz C, Montaner B, Tomás P, Ricardo E. Prodigiosin induces cell death and morphological changes indicative of apoptosis in gastric cancer cell line HGT-1. Histology and Histopathology. 2001; 16(2). 415-421.

30. Li D, Liu J, Wang X, Kong D, Du W, Li H, et al. Biological Potential and Mechanism of Prodigiosin from Serratia marcescens Subsp. lawsoniana in Human Choriocarcinoma and Prostate Cancer Cell Lines. International journal of molecular sciences. 2018; 19 (11):3465.
31. Liu Y, Zhou H, Ma X, Lin C, Lu L, Liu D, et al. Prodigiosin inhibits proliferation, migration, and invasion of nasopharyngeal cancer cells. Cellular Physiology and Biochemistry. 2018; 48(4):1556-62.
32. Wang Z, Li B, Zhou L, Yu S, Su Z, Song J, et al. Prodigiosin inhibits Wnt/β-catenin signaling and exerts anticancer activity in breast cancer cells. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2016; 15; 113(46):13150-5.

Original Article

Assessment of Acute Toxicity and Lethal Dose of Prodigosin in Mice

Niakani M[1], Malekinejad H[2*], Majd A[1], Pakzad P[3]

1. Department of Cellular and Molecular Biology, Faculty of Biological Sciences, North Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
2. Department of Pharmacology & Toxicology, Faculty of Pharmacy, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran
3. Department of Microbiology, Faculty of Biological Sciences, North Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Received: 12 Apr 2020 Accepted: 05 Jul 2020

Abstract

Background & Objective: Acute toxicity assessment is the first priority in the determination of any related risk to the biologically unknown chemicals to human and animals. LD50 determination as an accepted model of acute toxicity assay in animal models for a new drug in clinical trials is one of the important requirements of the drug launching process. Prodigiosin is a substance extracted from Serratia marcescens and has antitumor and antifungal activities. Thus, in this study, acute toxicity of prodigiosin was determined using the lowest number of laboratory animals.

Materials & Methods: In this experimental study, different doses of prodigiosin were administered intraperitoneally in male mice. Twenty four hours after injection, alongside examining behavior of the animals receiving the prodigiosin, some organs including the heart, liver, kidney, spleen, intestine and lung were sampled, and after paraffin block preparation and microtome cutting, they were stained with hematoxylin-eosin and examined by light microscopy.

Results: The results of this study indicated that LD50 for prodigiosin is 4500 mg / kg, when administered intraperitoneally and histopathological findings indicate very slight and minor damage to the liver, kidney and spleen, while no remarkable damage on other organs including the heart, lung and intestine was observed.

Conclusion: Based on the results of current study and estimated LD50 level, it is suggested that prodigiosin can be categorized as a safe compound with the least histopathological impact on the vital organs.

Keywords: Acute toxicity, Prodigiosin, LD50, Serratia marcescens, Mice

***Corresponding Author: Malekinejad Hasasan**, Department of Pharmacology & Toxicology, Faculty of Pharmacy, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran
Email: hassanmalekinejad@yahoo.com
https://orcid.org/ 0000-0002-9847-7928