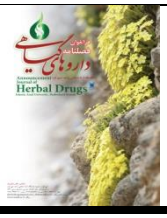
Archive of SID



فصل‌نامه داروهای گیاهی

journal homepage: www.jhd.iaushk.ac.ir

کاربرد الیسیتورها در افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه در سوسپانسیون‌های کشت سلول و اندام گیاهی

مریم محمدی فارسانی، دکتر عبدالله قاسمی پیربلوطی

1. دانشجوی دکترای فیزیولوژی گیاهی، پیام نور تهران شرق، *ایران*؛

* *مسئول مکاتبات* (mmohammadi0003@yahoo.com)

2. مرکز پژوهش های گیاهان دارویی و دام پزشکی سنتی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران؛

شناسه مقاله چکیده

تاریخ دریافت مقاله: 1392/10/27

تاریخ پذیرش مقاله: 1392/12/12

نوع مقاله: مروری

موضوع: فیتوشمی-فیزیولوژی گیاهی

کلید *واژگان:*

- ✓ *متابولیت ثانویه*
- ✓ *کشت سلول گیاهی*
- ✓ *الیسیتور*
- ✓ *مسیرهای سیگنال‌رسانی*

در زیست فناوری همواره به بررسی مسیرهای جایگزین برای تولید ترکیبات طبیعی توجه می‌شود. سیستم‌های کشت سلول و اندام گیاهی برای تولید متابولیت های ثانویه ای که اهمیت تجاری در صنایع غذایی و دارویی دارند قابل جایگزینی می‌باشند. با این حال، تقریباً تعداد کمی از محیط‌های کشت این ترکیبات را سنتز می‌کنند و میزان این سنتز و مدت زمانی که صرف می‌کند قابل مقایسه با استفاده از یک گیاه کامل می‌باشد. روش‌هایی شامل تغییر محیط کشت (افزودن مواد مغذی و هورمونی) و شرایط محیطی (تغییرات دما، pH و اسمزی) و همین طور از مواد استخراجی و ترکیبی نیز در این راهبردها استفاده می شده است. امروزه از دستکاری ژنتیکی مسیرهای بیوسنتتیک با استفاده از مهندسی متابولیکی که امروزه برای بهبود تولیدات متابولیت های مورد نیاز تکنیکی قدرتمند شده است استفاده می‌شود. نتایج مطالعات انجام شده نشان می‌دهد که هم الیسیتورهای زیستی و هم غیر زیستی سنتز متابولیت‌های ثانویه را در محیط کشت سلول‌های گیاهی افزایش می‌دهند.

1. مقدمه

گیاهان بخش مهمی از ژریم غذایی روزانه ما را تشکیل می‌دهند. ترکیبات سازنده و ارزش غذایی گیاهان سال‌هاست که مورد توجه و بررسی محققان قرار گرفته‌اند. گیاهان عالی، علاوه بر متابولیت‌های اولیه ضروری (مانند کربوهیدارت‌ها، لیپیدها و آمینواسیدها)، مقادیر وسیعی از ترکیبات با وزن مولکولی پایین تولید می‌کنند که متابولیت‌های ثانویه نامیده می‌شوند. متابولیت‌های ثانویه را می‌توان به عنوان گروهی از ترکیبات تعریف کرد که در فرآیندهای اولیه‌ی حیات گیاه نقش قابل توجهی ندارند، بلکه در سازگاری آن با محیط پیرامون دارای نقش هستند (Dixon, 2001; Oksman-Caldentey & Inze 2004). متابولیت‌های ثانویه ممکن است دارای خواص ضدباکتریایی، ضدقارچی و ضدویروسی باشند و به این ترتیب قادرند از گیاه در مقابل عوامل بیماری‌زا محافظت نمایند. از طرف دیگر، این ترکیبات نقش بسیار مهمی در جذب نور فرابنفش و حفاظت برگ‌ها در برابر آثار زیان‌بار این اشعه به عهده دارند (Li et al., 1993). به علاوه، این ترکیبات می‌توانند از خورده شدن گیاهان توسط جانوران (مانند حشرات) جلوگیری نمایند و یا

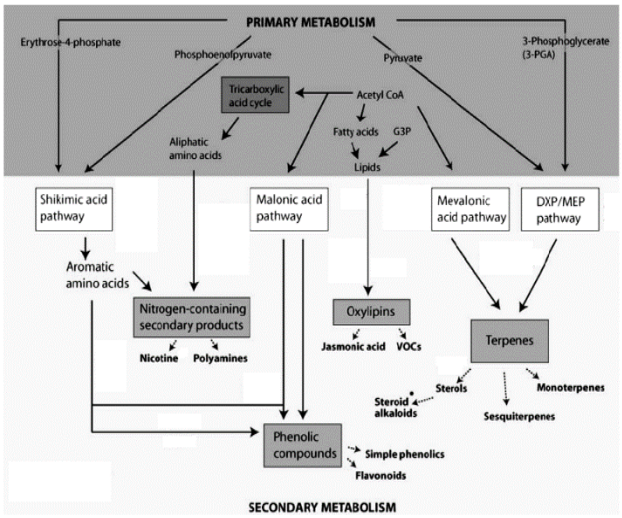
www.SID.ir

Archive of SID

حتی در مواردی سبب بروز اختلالات باروری در جانور تغذیه کننده گردند. تولید متابولیت‌های ثانویه اغلب کم بوده (کمتر از 1 درصد وزن خشک گیاه) و به مقدار قابل توجهی به مراحل تکوین و فیزیولوژیک گیاه بستگی دارد (Oksman-Caldentey & Inze, 2004).

2. طبقه‌بندی متابولیت‌های ثانویه و مسیرهای بیوسنتزی مرتبط با آن‌ها

پیش ماده‌های ساختاری متابولیت‌های ثانویه از متابولیت‌های اولیه حاصل می‌شوند. مسیرهای اصلی متابولیت‌های ثانویه در گیاه و ارتباط آن‌ها با متابولیسم اولیه به صورت شماتیک در شکل 1 نشان داده شده است (Wink, 1999; Alfermann *et al.*, 2005). به استثنای فرآیندهای اولیه بیوسنتز قند و اسیدهای آمینه، سه مسیر اصلی بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه شامل مسیرهای استات – مالونات، استات– موالونات و اسید شیکمیک می‌باشد (Wink, 1999; Alfermann *et al.*, 2005).



شکل 1. مسیرهای اصلی بیوسنتز متابولیت‌های ثانوی و ارتباط آن‌ها با متابولیسم اولیه (Wink, 1999; Alfermann *et al.*, 2005).

G3P: Glyceraldehyde 3-phosphate; VOC: Volatile Organic Compounds; 2-C-methyl-D-erythritol 4-phosphate/1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate pathway (MEP/DOXP pathway).

متابولیت‌های ثانویه عموماً براساس مسیرهای سنتزی آن‌ها طبقه‌بندی می‌شوند. ترکیبات فنولی[1]، ترپن‌ها–استروئیدها و آلکالوئیدها سه خانواده بزرگ از ترکیبات ثانویه گیاهی هستند (Bourgaud *et al.*, 2001). در جدول 1، انواعی از متابولیت‌های ثانویه و تعداد گزارش شده از این ترکیبات در گیاهان عالی نشان داده شده است.

جدول 1. شاسایی ترکیب‌های ثانویه شناسایی شده در گیاهان عالی (Wink, 1999).

نوع ترکیب ثانویه	تعداد
آلکالوئیدها	12000
اسیدهای آمینه غیر پروتئینی ($NPAA_s$)	600
آمین‌ها	100
گلیکوزیدها ی سیانوژنیک	100
سزکوئن ترپن ها	1000
مونوترپن ها	1000
دی ترپن ها	1000
تری ترپن ها، استروئیدها و ساپونین ها	4000
تترا ترپن ها	350
فلاونوئیدها	2000
پلی استیلن ها	1000
پلی کتیدها	750
فنیل پروپانوئیدها	500

3. کاربرد متابولیت‌های ثانویه گیاهی

از آنجایی که متابولیت‌های ثانویه فعالیت‌های زیستی متعددی دارند (شکل 2)، در صنعت داروسازی، شیمی خاک، عطرسازی و تولید چاشنی استفاده‌های فراوان دارند (Wink, 1999; Alfermann *et al.*, 2005). گیاهان دارای متابولیت‌های ثانویه، سالیان سال است که توسط بشر برای درمان عفونت‌ها و بیماری‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند. آلکالوئیدهایی همچون مورفین[2] (کشنده‌ی درد)، کودئین[3] (ضدسرفه)، پاپاورین[4] (مهارکننده‌ی فسفودی‌استراز)، افدرین[5] (تحریک کننده)، کوئینین[6] (ترکیب ضدمالاریا)، رسپرین[7] (کنترل‌کننده‌ی فشارخون)، گالانتامین[8]

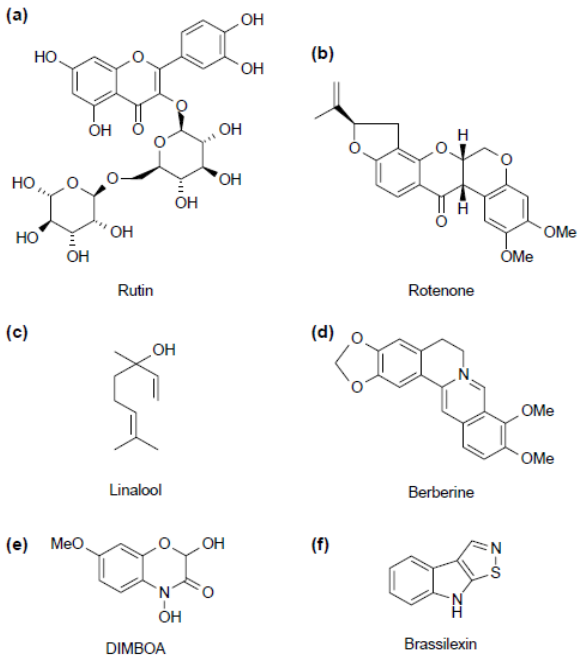
[1]. Phenolics

[2]. Morphine
[3]. Codeine
[4]. Papaverine
[5]. Ephedrine
[6]. Quinine
[7]. Reserpine
[8]. Galanthamine

www.SID.ir

Archive of SID

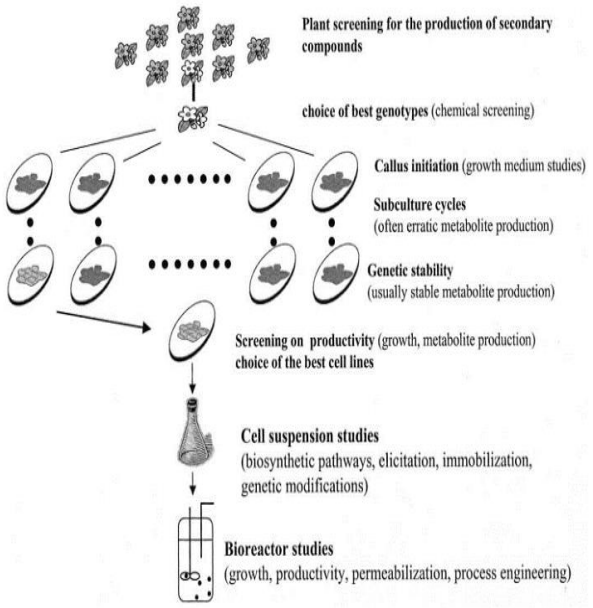
(مهارکننده‌ی استیل‌کولین استراز)، اسکوپولامین[1] (ضدتهوع)، بربرین[2] (برای درمان پسوریازیس)، کاپساسین[3] (برای درمان دردهای روماتیک)، کولشی‌سین[4] (برای درمان نقرس) و بسیاری از ترکیبات دیگر، از جمله متابولیت‌های ثانویه‌ای هستند که به عنوان دارو مورد استفاده قرار می‌گیرند. امروزه با وجود تکنیک‌های بیوتکنولوژی به ویژه کشت سلول، اندام و بافت گیاه؛ این امکان وجود دارد که بتوانیم ترکیبات مفید و مورد نیاز خود را در گیاهان تولید نماییم (Rao & Ravishankar, 2002; Zhoua & Wu, 2006). محققین با استفاده از این روش‌ها سعی می‌کنند تا تولید متابولیت‌های ثانویه را در گیاهان افزایش دهند (Bourgaud *et al.*, 2001).



شکل 2. برخی از متابولیت‌های ثانویه گیاهان و فعالیت‌های مرتبط با آن‌ها. (a) Rutin یک ترکیب به دست آمده از گیاه *Forsythia intermedia* است که به عنوان یک گرده افشان جذب کننده‌ی ویروس‌ها شناخته شده است. (b) Rotenone از گیاه *Derris elliptica* به دست آمده و به نظر می‌رسد در دور کردن حشرات تغذیه کننده از گیاه دارای نقش است. (c) Linalool از گیاه *Clarkia breweri* به دست آمده و به نظر می‌رسد که دارای خاصیت گرده‌افشانی است. (*d* و *e*) Berberine به دست آمده از گیاه *Berberis wilsoniae* و DIMBOA به دست آمده از گیاه *Zea mays* نیز به عنوان توکسین‌های دفاعی عمل می‌کند. (*f*) Brassilexin به دست آمده از گونه *Brassica* spp. نیز به عنوان یک ترکیب ضدقارچی عمل می‌کند (Pichersky and Gang, 2000).

4. کشت سلول و اندام گیاهی جهت تولید متابولیت‌های ثانویه

راهکار اصلی برای تولید متابولیت‌های ثانویه در کشت‌های سلول گیاهی، در شکل 3 نشان داده شده است. همان‌گونه که در این شکل دیده می‌شود، هنگامی که یک گیاه تولید کننده‌ی متابولیت ثانویه مطلوب شناسایی می‌گردد، در اولین مرحله یک مجموعه‌ی ژنتیکی بزرگ از افراد تولید کننده‌ی این متابولیت تهیه می‌شود. این فرآیند این امکان را می‌دهد که بتوانیم گیاهان تولید کننده‌ی بیشترین مقدار متابولیت ثانویه را غربال‌گری نماییم (Bourgaud *et al.*, 2001).



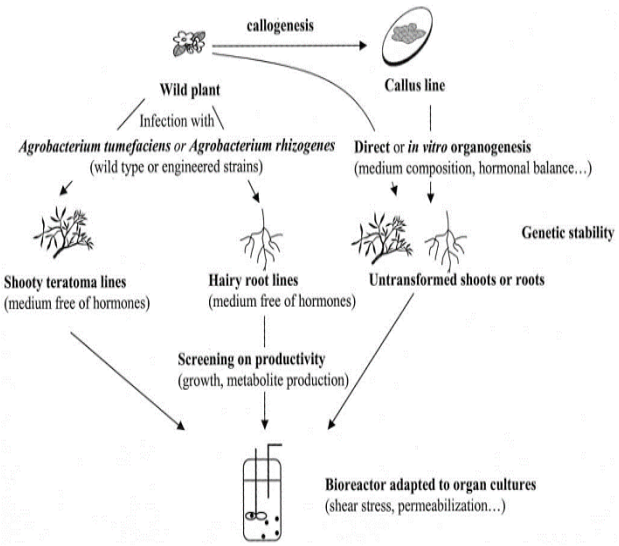
شکل 3. روش تولید متابولیت‌های ثانویه در سلول گیاهی (Bourgaud *et al.*, 2001).

[1]. Scopolamine
[2]. Berberine
[3]. Capsaicin
[4]. Colchicine

www.SID.ir

Archive of SID

پس از انجام غربال‌گری، کشت کالوس آغاز می‌شود. در این مرحله، محیط کشت‌های متعددی مورد بررسی قرار می‌گیرد تا مطلوب‌ترین شرایط برای کشت گیاه و تولید متابولیت ثانویه مشخص شود. بهینه‌سازی محیط کشت با ایجاد یک ترکیب مناسب از مواد معدنی و آلی و نیز ایجاد یک تعادل هورمونی صورت می‌گردد (Box, 1945).



شکل 4. مسیر تولید متابولیتهای ثانویه گیاهی از طریق کشت اندام (Bonfante P 2009)

نتایج مطالعات نشان داده است که چرخه‌های انتقال سلول‌ها از یک محیط کشت به محیط کشت دیگر، سبب ایجاد تنوع در آن‌ها و در نتیجه تغییر میزان تولید متابولیت ثانویه می‌شود. با این حال، با گذشت زمان (از چند هفته تا چندین سال)، پایداری ژنتیکی ایجاد می‌شود و هر کالوس را می‌توان به عنوان مجموعه‌ای از سلول‌های هموژن در نظر گرفت. پس از ایجاد پایداری ژنتیکی، کالوس‌های مختلف از نظر تولید بهینه متابولیت ثانویه مورد بررسی و غربالگری قرار می‌گیرند. مرحله‌ی بعد مطالعه‌ی سوسپانسیون سلولی است که از طریق آن به خوبی می‌توان مسیرهای بیوسنتزی را مورد بررسی قرار داد. شناسایی مسیرهای بیوسنتزی مرتبط با تولید متابولیت‌های ثانویه این امکان را فراهم می‌آورد تا با تغییر تعدادی از آنزیم‌های درگیر، تولید متابولیت ثانویه را افزایش دهیم. امروزه روش‌های مختلفی برای افزایش میزان تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاهان عالی مورد استفاده قرار می‌گیرد که یکی از موفق‌ترین آن‌ها، استفاده از الیسیتورها[1] است. الیسیتورها عوامل فیزیکی، شیمیایی و یا زیستی هستند که می‌توانند سبب افزایش تولید یک متابولیت خاص و یا حتی تولید یک متابولیت جدید در گیاه شوند. همانگونه که در شکل 3 نشان داده شده است، آخرین مرحله‌ی تولید تجاری متابولیت‌های ثانویه، مطالعات بیوراکتوری می‌باشند (Bourgaud et al., 2001). روند تولید متابولیت‌های ثانویه از طریق کشت اندام‌های گیاهی نیز در شکل 4 نشان داده شده است. در ادامه کاربرد الیسیتورها به منظور افزایش میزان تولید متابولیت‌های ثانویه مورد بحث و بررسی قرار می‌گیرد.

5. الیسیتورها

طبق تعریف رادمان[2]، الیسیتورها به دو گروه فیزیکی و شیمیایی تقسیم می‌شوند. براساس ماهیت نیز الیسیتورها به دو گروه الیسیتورهای زیستی و الیسیتورهای غیرزیستی تقسیم می‌شوند (شکل 5) (Patel & Krishnamurthy, 2013). الیسیتورها از طریق القای پاسخ‌های دفاعی باعث بیوسنتز و انباشت متابولیت‌های ثانوی می‌شوند (Zhao et al., 2005).

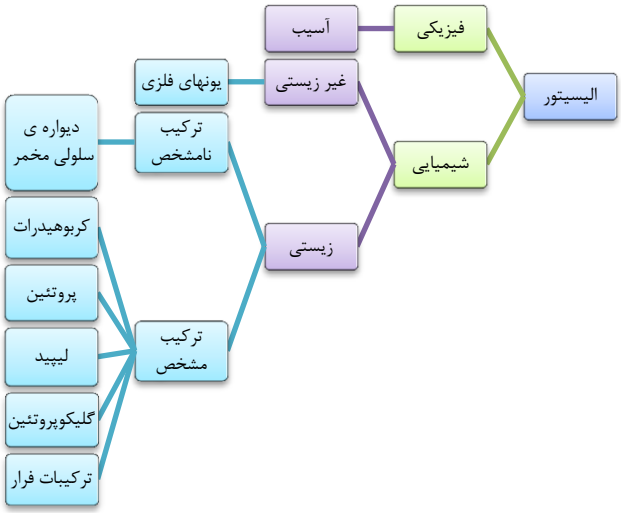
الیسیتورهای زیستی دارای منشأ بیولوژیکی هستند و از پاتوژن‌ها یا خود گیاه ایجاد می‌شوند. این الیستورها شامل پلی‌ساکاریدها، پروتئین‌ها، گلیکوپروتئین‌ها و یا قطعات دیواره سلول قارچ‌ها، گیاهان (سلولز و پکتین) و میکروارگانیسم‌ها (کیتین و گلوکان) می‌باشند (Vasconsuelo & Boland, 2007). الیسیتورهای زیستی ممکن است دارای ترکیب مشخص باشند مانند کیتین و کیتوزان و یا مانند همگنای قارچ و عصاره مخمر مجموعه‌ای از ترکیبات زیستی باشند. الیسیتورهای غیر زیستی، منشأ بیولوژیکی ندارند و در گروه فاکتورهای فیزیکی و ترکیبات شیمیایی قرار می‌گیرند (Patel & Krishnamurthy, 2013).

به طور کلی استفاده از الیسیتورها در مطالعات مربوط به زیست فناوری متابولیت‌های گیاهی دو هدف اصلی را دنبال می‌کند: 1- به دست آوردن اطلاعاتی در زمینه مسیرهای بیوسنتزی که منجر به تشکیل و تنظیم متابولیت‌های ثانویه می‌شود. 2- افزایش تولید متابولیت‌های ثانوی برای کاربرد تجاری (شکل 6) (Patel & Krishnamurthy, 2013).

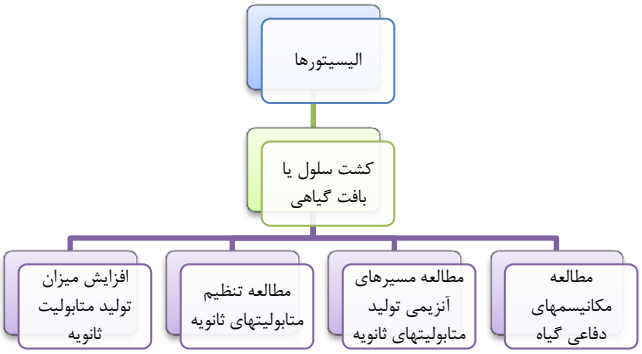
[1]. Elicitors
[2]. Radman

www.SID.ir

Archive of SID



شکل 5. طبقه‌بندی الیسیتورها (Patel & Krishnamurthy, 2013).



شکل 6. اهداف استفاده از الیسیتورها در مطالعات مربوط به زیست فناوری متابولیت‌های گیاهی (Patel & Krishnamurthy, 2013).

نتایج مطالعات انجام شده نشان می‌دهد که هم الیسیتورهای زیستی و هم غیر زیستی سنتز متابولیت های ثانویه را در محیط کشت سلول‌های گیاهی افزایش می‌دهند. با این حال، هنوز الیسیتوری یافت نشده است که بر اکثر سیستم‌های کشت تأثیر کلی داشته باشد و هیچ سیستمی هم پیدا نشده است که به تمامی الیسیتورها پاسخ دهد. بنابراین لازم است که الیسیتورهای متعددی برای یک سیستم خاص برای تولید ترکیب مورد نیاز استفاده شود. همچنین، غلظت الیسیتورها و زمان انکوباسیون مورد نیاز برای حداکثر استخراج بر اساس نوع الیسیتور و سیستم کشت متفاوت است. بنابراین، به نظر می‌رسد برای رسیدن به یک الیسیتور مناسب و برای تعیین غلظت آن و زمان مورد نیاز برای رسیدن به حداکثر پاسخ برای تجمع متابولیت های ثانویه بسیار پراهمیت است. دیگر عامل مهم دراین رابطه زمان اضافه کردن الیسیتورها به محیط کشت است. بهترین زمان القاء الیسیتور به محیط کشت در اواخر یا اوایل مراحل رشد سلول گیاهی می‌باشد. از آنجایی که تأثیر هر الیسیتوربرای حداکثر پاسخ، به عمر محیط کشت، غلظت الیسیتورو زمان انکوباسیون با الیسیتوربستگی دارد. با این نگرش، نیاز شدیدی برای کشف الیسیتورهای مفید و روش‌های بصری کردن آن‌ها وجود دارد که توانایی استخراج مواد را با پایش مکرر و ساده امکان پذیر کند (Bonfante, 2009).

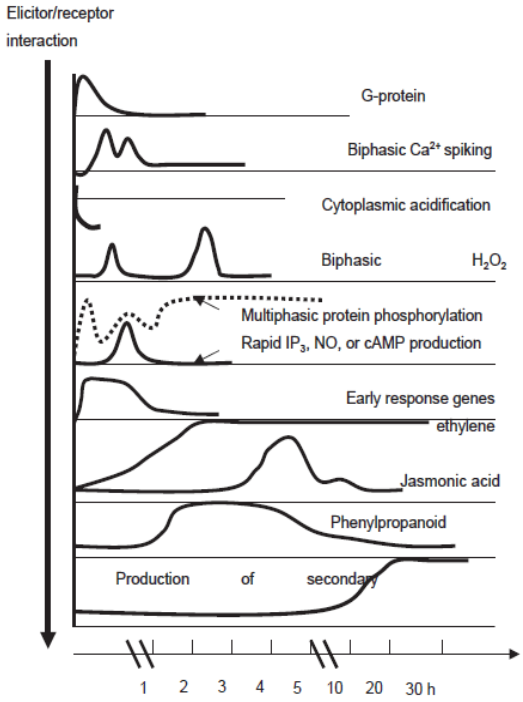
1.5. مسیر سیگنال‌رسانی مرتبط با فعالیت الیسیتورها جهت افزایش میزان متابولیت ثانویه در گیاه

به خوبی مشخص شده است که تیمار با استفاده از الیستورها و یا عوامل بیماری‌زا، سبب تجمع متابولیت‌های ثانویه دفاعی مانند فیتوالکسین‌ها در گیاه و یا کشت سلولی می‌شود (شکل 7). قبل از بروز پاسخ‌های دفاعی و یا تولید متابولیت ثانویه در گیاه، الیسیتور باید به یک رسپتور یا پروتئین R در سطح سلول گیاهی متصل شود. شناسایی مولکولی و برهمکنش فیزیکی میان مولکول الیسیتور و رسپتور اختصاصی گیاه، فرآیند پیچیده‌ای است، اما برای شروع سیگنال‌رسانی الیسیتور لازم است. تغییر شکل فضایی رسپتورهای کینازی پس از اتصال الیسیتورها، به طور مستقیم و یا غیر مستقیم سبب انتقال سیگنال الیسیتور و بروز مکانیسم‌های دفاعی می‌شود (Zhao et al., 2005).

همانگونه که در شکل 7 نشان داده شده است، به دنبال اتصال الیسیتور، رسپتور فعال شده و سبب تحریک شدن مولکول‌های افکتور مانند کانال‌های یونی، پروتئین‌های متصل شونده به GTP (G-پروتئین‌ها) و پروتئین‌کینازها می‌گردد. مولکول‌های افکتور، سیگنال الیسیتور را به پیامبرهای ثانویه منتقل می‌کنند.

www.SID.ir

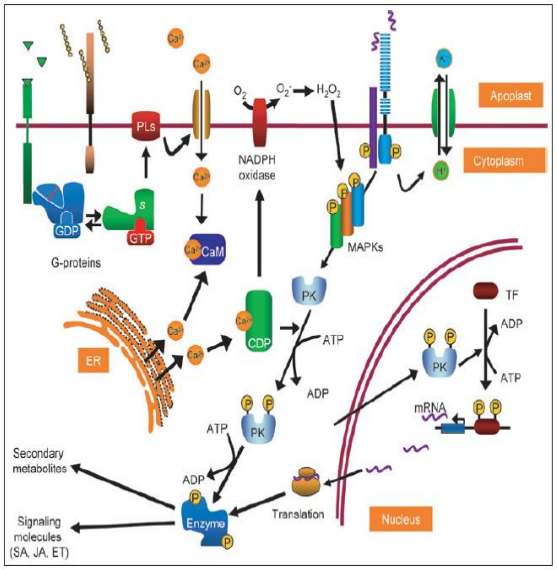
Archive of SID



شکل 7. تصویری شماتیک از مجموعه پاسخ‌های دفاعی مرتبط با تیمار گیاه توسط الیسیتورها (Zhao et al., 2005).

مولکول‌های پیامبر سبب تشدید سیگنال و بروز واکنش‌های پایین دست می‌شوند. مجموعه رویدادهایی که سبب القا پاسخ دفاعی در برابر الیسیتورها می‌شوند به این صورت است که (Zhao et al., 2005) (شکل 8):

- الیسیتور به رسپتور سطح سلولی متصل می‌شود؛
- پروتئین‌های غشا پلاسمایی و سیتوسلی به صورت برگشت‌پذیر فسفریله و دفسفریله می‌شوند؛
- غلظت Ca^{2+} درون سلولی به طور ناگهانی افزایش پیدا می‌کند؛
- غشا پلاسمایی دپلاریزه می‌شود؛
- یون‌های Cl^- و K^+ خارج شده و یون‌های H^+ به درون سلول وارد می‌شوند؛
- محیط خارج سلولی قلیایی و محیط درون سیتوسلی اسیدی می‌شود؛
- پروتئین‌کیناز فعال شونده توسط میتوژن[1] (MAPK) فعال می‌شود؛
- NADPH اکسیداز فعال شده و گونه‌های فعال اکسیژن تولید می‌نماید؛
- ژن‌های پاسخ‌دهنده‌ی اولیه بیان می‌شوند؛
- اتیلن[2] و جاسمونات[3] تولید می‌شوند؛
- ژن‌های پاسخ دهنده‌ی تاخیری بیان می‌شوند؛
- متابولیت ثانویه تجمع پیدا می‌کند.



شکل 8. اولین رویدادهای فعال شده توسط الیسیتورها در گیاه (Wink et al. 2005).

باید توجه داشت که مسیر انتقال سیگنال الیسیتورها، یک فرآیند پیچیده است و ترکیبات مختلفی در آن درگیر هستند و سبب بروز پاسخ‌های متنوع می‌شوند (شکل 9) (Zhao et al., 2005).

2.5. استفاده از الیسیتورهای قارچی برای افزایش تولید متابولیت ثانویه در سوسپانسیون‌های کشت سلول گیاهی:

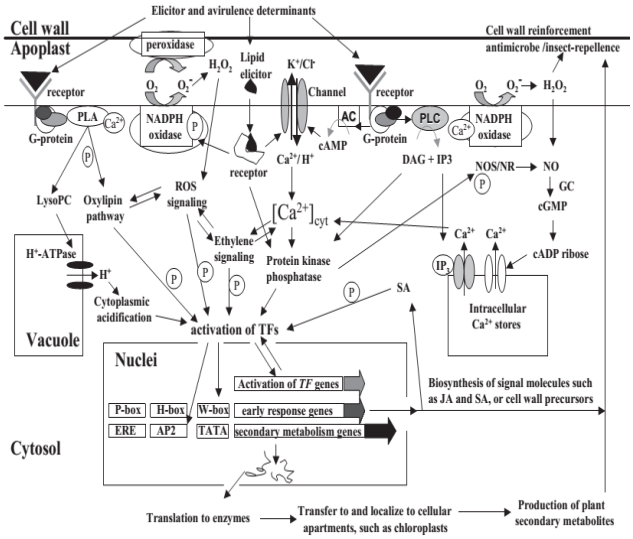
الیسیتورهای قارچی برای ارتقاء سنتز ترکیبات مهم تجاری از محیط کشت سلول‌های گیاهی به صورت وسیع تری مورد مطالعه شده‌اند. در اغلب مطالعاتی که داده‌ها، ارتقاء سنتز ترکیبات گیاهی مهم

[1]. Mitogen-activated protein kinase
[2]. Ethylene
[3]. Jasmonate

www.SID.ir

Archive of SID

تجاری را با استفاده از الیسیتورهای قارچی بدست آورده‌اند، از قارچ‌های بیماری‌زا استفاده کرده بودند. قارچ‌هایی که معمولاً باعث پاسخ‌های فوق حساسیتی در سلول‌های گیاهی می‌شوند، باعث فعال شدن مسیرهای دفاعی گیاهی شده و منجر به افزایش تولید فیتوآلکسین می‌شود (Bonfante, 2009).



شکل 9. شبکه‌ی سیگنال رسانی به هنگام پاسخ‌های دفاعی گیاه تحت تأثیر القا توسط الیسیتورها (Zhao et al., 2005).

AC: AMP cyclase; DAG, diacylglycerol; GC: GMP cyclase; IP3: Inositol-1,4,5-trisphosphate; JA: jasmonic acid; NOS: nitric oxide synthase; NR: Nitrate reductase; PLA: phospholipase A; PLC: phospholipase C; PLD, phospholipase D; ROS, reactive oxygen species; SA: salicylic acid.

واکنش متقابل مهم دیگری که بین قارچ و گیاه گزارش شده است رابطه هم زیستی بین قارچ‌های آربوسکول میکوریزا و اندام‌ها یا سلول‌های گیاهی است. اما به دلیل ناتوانی این قارچ‌های هم زیست برای رشد در یک محیط کشت مصنوعی، مطالعه تأثیرات آن‌ها دراستخراج ممکن نبوده است. با کشف Piriformosporaindica، یک قارچ اندوفیت که توانایی کشت آگزنیکالی[1] دارد، و توانایی قارچ‌های آربوسکول مایکوریزال را تقلید می‌کند، پنجره جدیدی برای افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه با منشأ گیاهی در محیط کشتی که دارای این قارچ به عنوان الیسیتورمی باشد، باز شده است (Bonfante, 2009).

1.Axenically

پودوفیلوتوکسین یکی از متابولیت های ثانویه مهم در مطالعات گیاهان دارویی است. این ماده به دلیل فعالیت سیتوتوکسین تولید می‌شود. از این ماده برای سنتز داروهای ضدسرطان مانند اتوپوساید[2]، تنی‌پوساید[3] و اتوپوفوز[4] که برای درمان سرطان‌های بیضه و کبد و اخیراً برای سرطان خون به کار برده می‌شوند، استفاده می‌شود (Stahelin & Wartburg, 1991; Imbert, 1998). جداسازی پودوفیلوتوکسین از ریزوم‌های *Podophyllum peltatum* و *P. hexandrum* (از رده Berberidaceae) سیستم تولیدکننده ایده‌آلی نیستند (Bonfante, 2009).

ریزوم‌های گونه *P. hexandrum* حاوی حداقل میزان پودوفیلوتوکسین می‌باشند. تأمین این ترکیب به دلیل برداشت زیاد، فقدان محیط‌های کشت، طولانی بودن مرحله نوجوانی و قابلیت تکثیر ضعیف، به طور افزایشی محدود شده است (van Uden, 1992). گونه گیاهی *P. hexandrum* همچنین در لیست کنوانسیون تهدیدهای بین المللی گونه‌های در معرض خطر[5] (CITES) قرار دارد. در این لیست گونه‌هایی که هنوز به طور قطع در خطر انقراض نیستند آورده شده است، اما در شرایط بسیار کنترل شده این تهدید برطرف می‌شود (Bonfante, 2009).

سنتز شیمیایی پودوفیلوتوکسین امکان‌پذیر است (Hadimani, et al., 1996). با این حال، به دلیل چرخه‌های پیچیده استروشیمیایی که برای تولید این ماده لازم است، تولید آن با موانع زیادی روبه‌رو است. بنابراین تولید سنتتیک تنها راه هرچند پرهزینه، برای بدست آوردن مقادیر محدود این ماده است (Bonfante, 2009).

یکی از راهکارهای ایده‌آل برای تولید پودوفیلوتوکسین، استفاده از سلول‌ها یا بافت‌های گیاهی با رشد سریع و راحت در محیط کشت حاوی لیگنن بالا می‌باشند. مشخص شده است که گونه قارچی *P.indica* (حاوی لیگنین) برای بهبود تولید پودوفیلوتوکسین در محیط کشت سلولی گیاه مناسب است. این امر می‌تواند تکنیک مناسبی در تولید تجاری متابولیت های ثانویه با منشأ گیاهی ایجاد کند (Bonfante, 2009).

2. Etoposide
3. Teniposide
4. Etopophos
5. Convention for InternationalTrade in Endangered Species

www.SID.ir

Archive of SID

6. نتیجه‌گیری

گیاهان پاسخ‌های فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی مختلفی نسبت به عوامل فیزیکی و شیمیایی نشان می‌دهند. تولید متابولیت‌های ثانویه، از جمله مکانیسم‌های دفاعی گیاه در برابر این فاکتورهاست. امروزه متابولیت‌های ثانویه به طور مستقیم و یا غیرمستقیم، کاربرد بسیار وسیعی در صنعت داروسازی یافته‌اند. با این حال، دسترسی به این ترکیبات در گیاهان، اغلب با مشکلاتی روبرو است. سیستم‌های کشت سلول گیاهی برای تولید متابولیت های ثانویه ای که اهمیت تجاری در صنایع غذایی و دارویی دارند قابل جایگزینی می‌باشند. با این حال، تقریباً تعداد کمی از محیط‌های کشت این ترکیبات را سنتز می‌کنند و میزان این سنتز و مدت زمانی که صرف می‌کند قابل مقایسه با استفاده از یک گیاه کامل می‌باشد. در طول سال‌های اخیر، مشخص شده است که بسیاری از الیسیتورها می‌توانند منجر به تولید متابولیت‌های ثانویه جدید در گیاه شوند و یا میزان تولید این ترکیبات را در گیاهان افزایش دهند.

منابع

Bonfante, P. 2009. Symbiotic fungi: principles and practice. vol. 18. Springer Heidelberg Dordrecht London New York. pp 373

Bourgaud, F., Gravot, A., Milesi, S. and Gontier, E. 2001. Production of plant secondary metabolites: a historical perspective. *Plant Science*, 161: 839-851.

Box, G.E.P. 1945. The exploration and exploitation of response surfaces: some general considerations and examples. *Biometrics*, 10: 16-60.

Dixon, R.A. 2001. Natural products and plant disease resistance. *Nature*, 411(6839): 843-847.

Hadimani, S.B., Tanpure, R.P. and Bhat, S.V. 1996. Asymmetric total synthesis of (-) Podophyllotoxin. *Tetrahedron Lett*, 37: 4791–4794.

Imbert, F. 1998. Discovery of podophyllotoxins. *Biochimie*, 80: 207-222.

Li, J., Ou-Lee, T.M., Raba, R., Amundson, R.G. and Last, R.L. 1993. Arabidopsis mutants are hypersensitive to UV-B radiation. *Plant Cell*, 5: 171–179.

Oksman-Caldentey, K. M., and Inze, D., 2004. Plant cell factories in the post-genomic era: new ways to produce designer secondary metabolites. *Trends Plant Sci*, 9: 433-440.

Patel, H. and Krishnamurthy, R. 2013. Elicitors in Plant Tissue Culture. Pharmacognosy and *Phytochemistry*, 2: 60-65.

Pichersky, E. and Gang, D.R. 2000. Genetics and biochemistry of secondary metabolites in plants: an evolutionary perspective. *Trends In Plant Science*, 5: 439-445.

Rao, R.S. and Ravishankar, G.A. 2002. Plant tissue cultures; chemical factories of secondary metabolites. *Biotechnol*, 20: 101-153.

Stahelin, H.F. and Wartburg, A.V. 1991. The chemical and biological route from podophyllotoxin glucoside to etoposide. *Cancer Res*, 51: 5-15.

Vasconsuelo, A. and Boland, R. 2007. Molecular aspects of the early stages of elicitation of secondary metabolites in plants. *Plant Sci*, 172: 861-875.

Wink, M., Alfermann, A.W., Franke, R., Wetterauer, B., Distl, M., Windhovel, J., Krohn, O., Fuss, E., Garden, H., Mohagheghzaden, A., Wildi, E. and Ripplinger, P. 2005. Sustainable bioproduction of phytochemicals by plant in vitro cultures: anticancer agents. *Plant Genetic Resour*, 3: 90-100.

Zhao, J., Davis, L.C. and Verpoorte, R. 2005. Elicitor signal transduction leading to production of plant secondary metabolites. *Biotechnol Adv*, 23: 283-333.

Zhoua, L.G. and Wu, J.U. 2006. Development and application of medicinal plant tissue cultures for production of drugs and herbal medicinals in China. *Nat Prod Rep*, 23: 789–810.

www.SID.ir