



ISMJ 2016; 18(6): 1208-1220

دوماهنامه طب جنوب

پژوهشکده زیست-پزشکی خلیج فارس

دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی بوشهر

سال هجدهم، شماره ۶، صفحه ۱۲۲۰-۱۲۰۸ (بهمن و اسفند ۱۳۹۴)

## بررسی اثر ضدالتهابی توتیای دریایی *Echinometra mathaei* خلیج فارس

سولماز سلیمانی<sup>۱</sup>، مرتضی یوسفزادی<sup>۱\*</sup>، سهیلا معین<sup>۲</sup>، نرگس امراللهی ییوکی<sup>۱</sup>

<sup>۱</sup> گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس

<sup>۲</sup> مرکز تحقیقات پزشکی مولکولی، گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان، بندرعباس

(دریافت مقاله: ۹۳/۷/۱۸- پذیرش مقاله: ۹۳/۱۰/۹)

### چکیده

زمینه: توتیاهای دریایی به شاخه خارپوستان (*Echinodermata*) از بی‌مهرگان دریایی تعلق دارند که دارای خواص زیستی متعددی می‌باشند. التهاب را می‌توان مجموعه‌ای از فرایندهای پیچیده دانست که بسیاری از سیستم‌های بدن از جمله سیستم ایمنی و عصبی را درگیر کرده و باعث ایجاد علائمی مثل درد و ادم می‌شود. لذا با توجه به فعالیت بالای آنتی‌اکسیدانی توتیاهای دریایی و نظر به اهمیت بحث سلامت، هدف از مطالعه حاضر، بررسی خواص ضدالتهابی ارگان‌های مختلف، مایع سلومیک (CF و CL) و رنگدانه پوسته و خار توتیای-دریایی *E.mathaei* می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در مطالعه آزمایشگاهی، عصاره‌های بافت‌های مختلف (خار، پوسته، گناد و فانوس ارسطو) توتیای دریایی با استفاده از سه حلال ان-هگزان، اتیل استات و متانول، براساس افزایش قطبیت جدا گردید. مایع سلومیک با روش بافره و رنگدانه پوسته و خار به کمک HCl از توتیای دریایی استخراج شد. سپس، فعالیت آنتی‌اکسیدانی (مهار رادیکال آزاد DPPH) و فعالیت ضدالتهابی با آزمون ممانعت از دناچوره شدن پروتئین سرم، صورت پذیرفت.

یافته‌ها: طبق نتایج به‌دست آمده، خار متانولی و سلول‌های آزاد مایع سلومیک دارای بیش‌ترین میزان مهار رادیکال آزاد DPPH می‌باشد و فانوس ارسطو اتیل استات و رنگدانه پوسته بیش‌ترین فعالیت ضدالتهابی را نشان داد. نتایج اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ( $P < 0.05$ ) را نشان می‌دهد.

نتیجه‌گیری: نتایج حاصل از این مطالعه نیز نشان داد که توتیای دریایی *E.mathaei* به علت دارا بودن فعالیت بالای آنتی‌اکسیدانی، دارای خواص ضدالتهابی می‌باشند.

واژگان کلیدی: فعالیت ضدالتهاب، توتیای دریایی، *Echinometra mathaei*، خلیج فارس

\* بندرعباس، دانشگاه هرمزگان، دانشکده علوم پایه، گروه زیست‌شناسی دریا

E-mail: morteza110110@gmail.com

## مقدمه

توتیاهای دریایی به شاخه خارپوستان (*Echinodermata*) از بی‌مهرگان دریایی تعلق دارند (۱). آن‌ها بدنی کروی شکل دارند که ارگان‌های آن در یک پوسته سخت قرار گرفته و کاملاً به‌وسیله تعداد زیادی خارهای تیز پوشیده شده است (۲). حفره داخلی بدن اکتینودرم‌ها نیز با مایع سلومیک پر شده که ارگان‌های داخلی را شستشو و محیط مایع را تشکیل می‌دهد (۳).

ترکیب مایع سلومیک شبیه به آب‌دریاست و محتوی پروتئین، نمک‌های محلول و دیگر مواد معدنی است (۳). واکنش‌های ایمنی این موجودات در مقابل میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا، به‌صورت بروز سلول‌های ایمنی و فاکتورهای هومورال در مایع سلومیک می‌باشد (۴). در چنین مواقعی مایع سلومیک، پاسخ‌های غیرمستقیمی به زخم، عفونت‌های میکروبی، انعقاد، ان کپسوله شدن و فاگوسیتوز می‌دهد (۳).

بخش خوراکی توتیای دریایی، گنادها می‌باشد که ارگانی زرد تا قهوه‌ای رنگ، و شامل پنج بخش است، که هر کدام به شکل نیمه ماه بوده و تقریباً ۱۰ درصد وزن کل جانور را تشکیل می‌دهد (۱). گنادها محتوی تعداد زیادی اسیدهای آمینه آزاد تا حد ۱۰۰ g / ۱۰ g پروتئین خام می‌باشند (۵). گناد توتیای دریایی از نظر طعم و مزه بالاتر از خاویار و اویستر مطرح شده است و هر دو به صورت خام مصرف می‌شوند. به همین دلیل، در تعداد زیادی از کشورها به طور عمده در ژاپن، فرانسه، آمریکای جنوبی و تا حد کمی آمریکای شمالی محبوب است (۲).

اگرچه بعد از برداشتن گنادهای خوراکی، باقی‌مانده پوسته‌ها و خارها دور ریخته می‌شود. آن‌ها دارای رنگدانه‌های پلی‌هیدروکسیلات نفتاکینون (PHNQ)

متنوعی از اسپینوکروم‌های شناخته شده هستند (۶). گروه‌های هیدروکسیل فنولیک در این رنگدانه‌ها و به دنبال آن، رنگدانه‌های هیدروکسیلات نفتاکینون توتیای دریایی‌ارغوانی، فعالیت زیستی متعددی را نشان دادند (۱، ۲ و ۶). از این رو پیشنهاد می‌شود که پوسته و خار توتیای دریایی که بعد از خارج کردن گناد آن‌ها، بدون استفاده به زباله ریخته می‌شوند، احتمالاً یک منبع زیستی فعال جدید باشند (۷).

تغذیه توتیای دریایی از جلبک‌های دریایی و به‌طور اختصاصی از جلبک‌های قهوه‌ای می‌باشد. بنابراین، انتظار می‌رود که تعدادی از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی مثل کاروتنوئیدها و پلی‌فنل‌ها در آن‌ها ذخیره شوند (۸). همه رده‌های فنولیک، ساختمانی لازم برای مهار رادیکال آزاد و پتانسیل آنتی‌اکسیدان غذایی دارند. به هر حال، آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی به منابع خاکی محدود نیستند. برخی از ارگانیسم‌های دریایی از جمله توتیاهای دریایی به‌عنوان منبع غنی از آنتی‌اکسیدان‌ها مطرح می‌شوند (۹).

گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن همچون رادیکال سوپراکسید ( $O_2^{\bullet-}$ )، رادیکال هیدروکسیل ( $OH^{\bullet}$ )، رادیکال پروکسیل ( $ROO^{\bullet}$ ) و رادیکال اکسید نیتریک ( $NO^{\bullet}$ ) به مولکول‌های بیولوژیک همچون لیپیدها، پروتئین‌ها، آنزیم‌ها، DNA و RNA حمله می‌کنند و منجر به آسیب سلول یا بافت می‌شود، همچنین، نقش مهمی در بسیاری از بیمارهای مزمن و مخرب، همچون پیری سلولی، بیماری کرونر قلبی، سرطان‌ها (۹)، التهاب، بیماری کبد، بیماری آلزایمر، آرتریت‌ها، بیماری پارکینسون و AIDs (۱۰)، جهش (۱۱)، سکت، دیابت- شیرین (۱۲)، بیماری‌های مخرب سیستم عصبی (۱۳) و بیماری خودایمنی (۱۴) بازی می‌کنند. بنابراین، آنتی‌اکسیدان‌هایی که می‌توانند ROS را مهار کنند،

انتظار می‌رود که این اختلالات را نیز بهبود ببخشند (۱۵) که می‌تواند منجر به یک تحول در علم پزشکی شود (۱۴). به هر حال، توجه به اهمیت سلامتی و آگاهی از مصرف مضر آنتی‌اکسیدان‌های صنعتی همچون BHT (butylated hydroxyl toluene) و BHA (butylated hydroxy anisole) و غیره. منجر به افزایش تقاضا برای مصرف آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی شده است (۹ و ۱۰).

التهاب، یکی از مشکلات اصلی و اساسی همراه با بیماری‌های مختلف در جوامع بشری است. داروهای کنونی در دسترس شامل مخدرها و ضدالتهاب‌های غیراستروئیدی، به دلیل عوارض و سایر مشکلات ممکن است در همه موارد مفید نباشند. بنابراین، نیاز به دستیابی به داروهای ضدالتهاب مناسب همچنان وجود داشته و هنوز درهای تحقیق و تفحص در این خصوص به روی محققین باز است (۱۶). با توجه به عوارض زیاد ناشی از مصرف داروهای شیمیایی، امروزه توجه زیادی به جایگزینی این داروها می‌شود. التهاب را می‌توان مجموعه‌ای از فرایندهای پیچیده دانست که بسیاری از سیستم‌های بدن از جمله سیستم ایمنی و عصبی را درگیر کرده و باعث ایجاد علائمی مثل درد و ادم می‌شود (۱۷ و ۱۸).

از طرفی ارگانیک‌هایی که دارای ترکیبات ضدالتهابی هستند می‌توان از آن‌ها در درمان انواع التهاب‌های مزمن، عفونت‌های پوستی، دردهای روماتوئیدی، تب و عفونت‌ها استفاده نمود (۱۹). بیماری‌های التهابی عموماً شامل استوارتریت، لوپوس آریتماتوز، آسم و ناهنجاری‌های روماتوئیدی همانند آرتریت‌ها و تب‌های روماتوئیدی می‌باشند. استفاده طولانی مدت از داروهایی که به منظور سرکوب واکنش‌های التهابی استفاده می‌گردند، منجر به عوارضی از جمله زخم‌های معده و

روده و متعاقباً آنمی خواهد شد (۲۰). از این‌رو، به واسطه اثرات جانبی این دارو، تمایل به شناسایی ترکیبات طبیعی با خواص ضدالتهابی افزایش یافته است. مطالعه حاضر اولین تلاش در خصوص سنجش فعالیت ضدالتهابی در ارگان‌های مختلف توتیای دریایی به عنوان یک منبع خوراکی می‌باشد.

لذا با توجه به فعالیت بالای آنتی‌اکسیدانی توتیاهای دریایی و نظر به اهمیت بحث سلامت، هدف از مطالعه حاضر، بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی ارگان‌های مختلف، مایع سلومیک (CF و CL) و رنگدانه پوسته و خار توتیای دریایی *E.mathaei* می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

نمونه برداری و عصاره‌گیری

توتیاهای دریایی گونه *E.mathaei* در فروردین ماه ۱۳۹۲ از ناحیه بین‌جزرمدی ساحل پارک زیتون واقع در جزیره قشم واقع در خلیج فارس جمع‌آوری گردید. توتیاهای دریایی در آب‌دریا با حفظ شرایط بیولوژیک و به صورت زنده به آزمایشگاه زیست‌شناسی دانشگاه هرمزگان منتقل شدند. ابتدا نمونه‌ها را با آب مقطر شستشو داده و با اتر بیهوش شدند، سپس تشریح و بافت‌های مورد نظر (گناد، پوسته، خار و فانوس ارسطو) جدا گردید. تمام بافت‌ها جهت خشک شدن و گرفتن رطوبت در دستگاه فریزدایر (Edwards، انگلیس) در دمای ۴۰- درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند.

عصاره بافت‌های مختلف (گناد، پوسته، خار و فانوس- ارسطو) با استفاده از سه حلال ان- هگزان، اتیل‌استات و متانول به ترتیب افزایش قطبیت جدا گردید. عصاره‌ها در دستگاه روتاری (strike102، ایتالیا) در شرایط خلاء تبخیر و پس از حل شدن در DMSO

### استخراج مایع سلومیک

مایع سلومیک توتیای دریایی، پس از برش غشای پرستومیال با استفاده از سرنگ ظریف با نیدل شماره ۱۸، جمع‌آوری و در داخل ظروف استریل ریخته و بلافاصله در یخچال نگهداری شد. مایع سلومیک با استفاده از محلول ایزواسموتیک و ضدانعقاد ۲۰ میلی‌مولار Tris، ۰/۱۵ مولار NaCl، ۷۰ میلی‌مولار EDTA-Na، pH=۷/۵ و به صورت بافره استخراج شد که در آن تنها یک بار سرنگ از بافر پر و خالی و یک میلی‌لیتر بافر نیز در ظرف محتوی مایع سلومیک ریخته شد. مایع سلومیک بلافاصله پس از استخراج، به مدت ۱۰ دقیقه (با دور ۴۰۰۰rpm و در ۴ درجه سانتی‌گراد) سانتریفیوژ (شرکت سیگما، آلمان) شد و پس از آن فاز مایع، که در واقع سلول‌های آزاد مایع سلومیک (CF) هستند از سلوموسیت‌ها (فاز جامد ته‌نشین شده) جدا شد. پلیت محتوی سلوموسیت در بافر حل شد و برای ۴ دقیقه توسط سونیکاتور (WiseClean، کره‌جنوبی) در دمای صفر درجه (یک ضربه در ثانیه) قرارگرفت و سپس در دور ۱۲۰۰۰rpm برای ۲۰ دقیقه در ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. سپس فاز مایع جدا (CL) و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (۴).

### ارزیابی فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH

DPPH (1,1-diphenyl 2-picrylhydrazyl) یک رادیکال آزاد است که در حضور مواد دارای خواص آنتی اکسیدان و با گرفتن الکترون تغییر رنگ می‌دهد. تغییر رنگ آن از بنفش به زرد مبنای بررسی خاصیت آنتی اکسیدان می‌باشد.

توانایی مهار رادیکال آزاد طبق روش معین و همکاران (۲۰۰۸) انجام شد (۲۲). به‌طور خلاصه، ۰/۱ میلی‌لیتر از محلول عصاره‌ها با غلظت‌های مختلف (۸۰۰، ۱۲/۵، ۱۲، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰)

(Dimethyl sulphoxide)، در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. لازم به ذکر است که تمام مراحل عصاره‌گیری در دمای آزمایشگاه (۲۵ درجه سانتی‌گراد) انجام شد. بدین ترتیب، طیفی از ترکیبات با درجه قطبیت متفاوت خواهیم داشت (۲۱).

### استخراج رنگدانه پوسته و خار

جداسازی رنگدانه‌های پوسته و خار توتیای دریایی طبق متد کوهارا (kuwahara) و همکاران (۲۰۰۹) صورت پذیرفت (۱ و ۷). پوسته‌های توتیای دریایی با آب مقطر سرد شسته و برای دو روز در تاریکی و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. خارهای توتیای دریایی نیز با آب مقطر سرد شسته و به مدت ۲۴ ساعت در فریزدرایر (strike102، ایتالیا) قرار گرفتند. سپس به ۱۰ گرم از پوسته و خار توتیای دریایی به‌صورت جداگانه، ۱۰۰ میلی‌لیتر HCl ۰/۶ مولار (در دمای آزمایشگاه) اضافه گردید HCl باعث شکستن ساختار کربنات کلسیمی و آزادسازی رنگدانه‌های محصور شده در آن می‌گردد. سپس دی‌اتیل‌اتر با حجمی برابر با میزان HCl، به آن اضافه شد. به‌دلیل چگالی متفاوت دی‌اتیل‌اتر و هیدروکلریک‌اسید، دو فاز مجزا تشکیل می‌شود. پس از گذشت زمان، رنگدانه‌ها در دی‌اتیل‌اتر حل می‌گردد، سپس فاز دی‌اتیل‌اتر را جدا کرده و به آن، جهت خنثی نمودن اسید، NaCl ۵ درصد با حجمی برابر با دی‌اتیل‌اتر اضافه می‌گردد.

مخلوط حاضر نیز دو فاز مجزا را تشکیل می‌دهد که دی‌اتیل‌اتر به دلیل چگالی کمتر، فاز رویی را تشکیل داده و به‌راحتی می‌توان آن را جدا نمود. سپس به کمک دستگاه روتاری و در شرایط خلأ، دی‌اتیل‌اتر تبخیر شد و پس از حل شدن رنگدانه‌ها در DMSO، در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

میکروگرم بر میلی‌لیتر) و برای مایع سلومیک، حجم-های ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۵۰، ۶۰ و ۷۰ میکرولیتر را با ۰/۱ میلی‌لیتر محلول ۰/۵ میلی‌مولار DPPH حل شده در متانول، مخلوط شد. بعد از ورتکس، مخلوط نمونه‌ها ۳۰ دقیقه در دمای آزمایشگاه (۲۵ درجه سانتی‌گراد) و در تاریکی نگهداری شد. جذب نمونه‌ها در دستگاه الیزاریدر و در طول موج ۴۹۰ نانومتر خوانده شد.

لازم به ذکر است که در کنترل، متانول به جای محلول عصاره و در بلانک، متانول به جای DPPH استفاده شد. در نهایت، درصد مهار رادیکال آزاد DPPH طبق فرمول زیر محاسبه گردید:

$$100 \times (As - A0 / A) = \text{درصد مهار رادیکال آزاد}$$

که در آن، As جذب مخلوط واکنش، A0 جذب بلانک و A جذب کنترل می‌باشد. BHT (Butylated hydroxyltoluene) نیز به عنوان کنترل مثبت استفاده گردید.

#### ارزیابی درصد مهار دناچوره شدن پروتئین

دناچوره شدن پروتئین‌ها یکی از علل التهاب شناسایی شده است. این آزمون براساس روش میزوشیما (Mizushima) و همکاران (۱۹۶۸) با اندکی تغییر صورت پذیرفت (۲۳). به طور خلاصه، ابتدا محلول ۰/۱ درصد سرم آلبومین گاوی (BSA) در کلرید سدیم ۰/۱۵ مولار تهیه و pH آن با هیدروکلریک اسید ۱ نرمال، به ۶/۳ رسید. ۰/۱ میلی‌لیتر از محلول عصاره‌ها با غلظت‌های مختلف (۱/۲۵، ۲/۵، ۵، ۱۰ و ۲۰) میکروگرم بر میلی‌لیتر) و برای مایع سلومیک حجم‌های (۱/۲۵، ۲/۵، ۵، ۱۰ و ۲۰) میکرولیتر با ۰/۹ میلی‌لیتر محلول BSA مخلوط شد. سپس مخلوط واکنش را برای ۲۰ دقیقه در حمام آب ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شده و

سپس، ۲۰ دقیقه در حمام آب ۵۷ درجه سانتی‌گراد قرار می‌دهیم. دناچوره شدن پروتئین‌ها، فرایندی است که به دنبال آن پروتئین، ساختمان سوم و دوم خود را بر اثر عوامل مختلف از جمله درجه حرارت از دست می‌دهد. پس از سرد شدن مخلوط واکنش، کدورت آن در دستگاه اسپکترومتری در طول موج ۶۶۰ نانومتر تخمین زده شد.

لازم به ذکر است که در کنترل، به جای عصاره، ۰/۱ میلی‌لیتر DMSO ریخته شد. آب مقطر به عنوان بلانک و آسپرین به عنوان کنترل مثبت استفاده گردید. در نهایت، درصد مهار دناچوره شدن پروتئین طبق فرمول زیر محاسبه گردید:

$$100 \times (A - As / A) = \text{درصد مهار دناچوره شدن پروتئین}$$

که در آن، A جذب کنترل و As جذب مخلوط واکنش می‌باشد.

#### آنالیز آماری

آنالیز آماری این مطالعه شامل تجزیه واریانس داده‌ها و همچنین مقایسه میانگین به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد بود که توسط نرم‌افزار آماری SPSS (SPSS Inc، USA، IL، Chicago) ویرایش ۱۹ و آزمون ANOVA انجام پذیرفت. همچنین برای رسم نمودار از نرم‌افزار Excel ویرایش ۲۰۱۰ استفاده شد.

#### یافته‌ها

##### ارزیابی فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH

میزان کاهش جذب محلول DPPH عصاره‌های بخش‌های مختلف توتیای دریایی در حضور غلظت‌های مختلف، در جدول ۱ مشاهده می‌گردد.

جدول ۱) میزان درصد مهار رادیکال آزاد DPPH توسط عصاره‌های مختلف توتیای دریایی

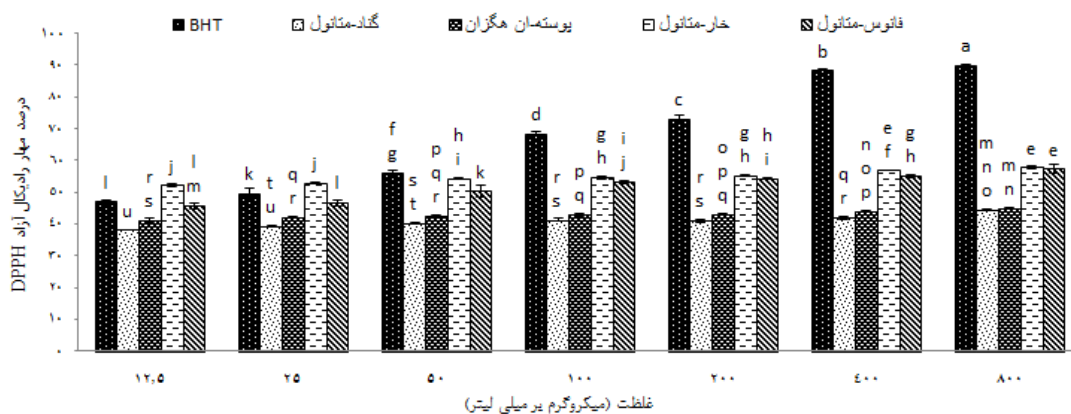
| غلظت                   | ۸۰۰                       | ۴۰۰                        | ۲۰۰                         | ۱۰۰                        | ۵۰                         | ۲۵                         | ۱۲/۵                       |
|------------------------|---------------------------|----------------------------|-----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| عصاره                  |                           |                            |                             |                            |                            |                            |                            |
| BHT                    | ۸۹/۹۲±۰/۴۱ <sup>a</sup>   | ۸۸/۴۷±۰/۲۸ <sup>b</sup>    | ۷۳/۲۴±۰/۹۵ <sup>c</sup>     | ۶۸/۵۳±۰/۴۹ <sup>d</sup>    | ۵۶±۰/۷۵ <sup>e</sup>       | ۴۹/۵۶±۱/۵۶ <sup>f</sup>    | ۴۷/۰۳±۰/۴۸ <sup>g</sup>    |
| گناد متانول            | ۴۴/۴±۰/۳۳ <sup>h</sup>    | ۴۲/۰۵±۰/۴۴ <sup>ij</sup>   | ۴۱/۱۵±۰/۴۱ <sup>kl</sup>    | ۴۱/۳۶±۰/۵۵ <sup>ijk</sup>  | ۴۰/۳۵±۰/۱۵ <sup>klm</sup>  | ۳۹/۴۶±۰/۲۹ <sup>mn</sup>   | ۳۸/۲۸±۰/۰۸ <sup>no</sup>   |
| گناد اتیل استات        | ۴۲/۶۷±۰/۴۱ <sup>i</sup>   | ۳۹/۸۷±۰/۸۱ <sup>lm</sup>   | ۳۸/۰۴±۰/۵ <sup>no</sup>     | ۳۶/۴۸±۰/۳ <sup>pq</sup>    | ۳۵/۵۸±۰/۳۱ <sup>q</sup>    | ۳۵/۲۷±۰/۱۸ <sup>q</sup>    | ۳۲/۹۲±۱/۳۱ <sup>r</sup>    |
| گناد آن‌هگزان          | ۴۹/۰۸±۰/۹۱ <sup>f</sup>   | ۴۱/۰۸±۰/۹۶ <sup>kl</sup>   | ۳۸/۳۵±۰/۶۸ <sup>no</sup>    | ۳۷/۰۳±۰/۳۴ <sup>op</sup>   | ۳۷/۳۱±۰/۵۸ <sup>op</sup>   | ۴۰/۷۴±۱/۹۷ <sup>op</sup>   | ۳۸/۰۱۱/۳۴ <sup>no</sup>    |
| BHT                    | ۸۹/۹۲±۰/۴۱ <sup>a</sup>   | ۸۸/۴۷±۰/۲۸ <sup>b</sup>    | ۷۳/۲۴±۰/۹۵ <sup>b</sup>     | ۶۸/۵۳±۰/۴۹ <sup>c</sup>    | ۵۶±۰/۷۵ <sup>d</sup>       | ۴۹/۵۶±۱/۵۶ <sup>e</sup>    | ۴۷/۰۳±۰/۴۸ <sup>f</sup>    |
| پوسته متانول           | ۴۷/۴۵±۱/۰۷ <sup>f</sup>   | ۴۳/۷۴±۰/۹۵ <sup>ghi</sup>  | ۴۲/۰۸±۰/۸۷ <sup>ijklm</sup> | ۴۰/۳۲±۰/۸۴ <sup>mno</sup>  | ۳۶/۱۳±۱/۲۹ <sup>p</sup>    | ۳۴/۲۹±۰/۹۲ <sup>q</sup>    | ۳۰/۲۱±۰/۸۹ <sup>r</sup>    |
| پوسته اتیل استات       | ۴۴/۱۲±۱/۳۷ <sup>gh</sup>  | ۴۲/۷۸±۰/۲۹ <sup>hijk</sup> | ۴۱/۷۴±۰/۱۵ <sup>ijkl</sup>  | ۴۰/۷۳±۰/۲ <sup>lmn</sup>   | ۳۹/۶۶±۰/۲ <sup>no</sup>    | ۳۸/۹±۰/۴۴ <sup>o</sup>     | ۳۵/۵۱±۱/۱۱ <sup>pq</sup>   |
| پوسته آن‌هگزان         | ۴۴/۸۲±۰/۲ <sup>g</sup>    | ۴۳/۹۶±۰/۲۳ <sup>gh</sup>   | ۴۳/۱۹±۰/۳۷ <sup>ghij</sup>  | ۴۲/۹۵±۰/۴۴ <sup>hijk</sup> | ۴۲/۵۷±۰/۴۱ <sup>hijk</sup> | ۴۲/۱۵±۰/۲۴ <sup>ijkl</sup> | ۴۱/۲۹±۰/۶۳ <sup>klmn</sup> |
| BHT                    | ۸۹/۹۲±۰/۴۱ <sup>a</sup>   | ۸۸/۴۷±۰/۲۸ <sup>b</sup>    | ۷۳/۲۴±۰/۹۵ <sup>c</sup>     | ۶۸/۵۳±۰/۴۹ <sup>d</sup>    | ۵۶±۰/۷۵ <sup>efgh</sup>    | ۴۹/۵۶±۱/۵۶ <sup>q</sup>    | ۴۷/۰۳±۰/۴۸ <sup>r</sup>    |
| خار متانول             | ۵۷/۸۷±۰/۴۸ <sup>e</sup>   | ۵۶/۹±۰/۱۲ <sup>ef</sup>    | ۲۴/۵۵±۰/۲۳ <sup>ghi</sup>   | ۵۴/۷۲±۰/۴۵ <sup>hij</sup>  | ۵۴/۳۷±۰/۲ <sup>ijk</sup>   | ۵۲/۹۹±۰/۴ <sup>klm</sup>   | ۵۲/۲۶±۰/۶۶ <sup>mno</sup>  |
| خار اتیل استات         | ۵۶/۵۱±۱/۱۷ <sup>efg</sup> | ۵۳/۷۹±۰/۱۱ <sup>ijkl</sup> | ۵۳/۳±۰/۳۴ <sup>ijklm</sup>  | ۵۲/۷۱±۰/۳۳ <sup>lmn</sup>  | ۵۲/۳±۰/۲۲ <sup>mno</sup>   | ۵۱/۸۵±۰/۲۵ <sup>mnp</sup>  | ۵۱/۳۳±۰/۱۱ <sup>nop</sup>  |
| خار آن‌هگزان           | ۵۴/۹۳±۰/۴۱ <sup>hi</sup>  | ۵۳/۸۵±۰/۲۶ <sup>ijkl</sup> | ۵۲/۴۷±۰/۳ <sup>lmn</sup>    | ۵۲/۱۲±۰/۱۷ <sup>mno</sup>  | ۵۰/۹۱±۰/۵۳ <sup>opq</sup>  | ۵۱/۲۹±۰/۰۳ <sup>nop</sup>  | ۵۰/۴۳±۰/۴۴ <sup>pq</sup>   |
| BHT                    | ۸۹/۹۲±۰/۴۱ <sup>a</sup>   | ۸۸/۴۷±۰/۲۸ <sup>b</sup>    | ۷۳/۲۴±۰/۹۵ <sup>b</sup>     | ۶۸/۵۳±۰/۴۹ <sup>c</sup>    | ۵۶±۰/۷۵ <sup>de</sup>      | ۴۹/۵۶±۱/۵۶ <sup>k</sup>    | ۴۷/۰۳±۰/۴۸ <sup>l</sup>    |
| فانوس ارسطو متانول     | ۵۷/۴۲±۱/۰۴ <sup>ef</sup>  | ۵۵/۲۷±۰/۴۷ <sup>ef</sup>   | ۵۴/۴۴±۰/۳۳ <sup>efg</sup>   | ۵۳/۱۳±۰/۴۶ <sup>gh</sup>   | ۵۰/۳۵±۱/۰۲ <sup>ijk</sup>  | ۴۶/۷۶±۰/۸۷ <sup>l</sup>    | ۴۵/۶۹±۰/۷۴ <sup>l</sup>    |
| فانوس ارسطو اتیل استات | ۲۶/۴۱±۰/۰۳ <sup>m</sup>   | ۱۶/۴۴±۰/۰۶ <sup>n</sup>    | ۱۴/۰۸±۰/۰۹ <sup>o</sup>     | ۱۱/۵۹±۰/۰۶ <sup>p</sup>    | ۱۰/۶۵±۰/۰۳ <sup>pq</sup>   | ۹/۷۵±۰/۰۲ <sup>qr</sup>    | ۸/۴۸±۰/۰۹ <sup>r</sup>     |
| فانوس ارسطو آن‌هگزان   | ۵۵/۶۵±۱/۰۴ <sup>ef</sup>  | ۵۴/۱۳±۰/۱۷ <sup>fg</sup>   | ۵۳/۴۴±۰/۴۴ <sup>gh</sup>    | ۵۲/۴±۰/۰۲ <sup>hi</sup>    | ۵۱/۳۶±۰/۲۸ <sup>ij</sup>   | ۴۹/۳۲±۰/۷۱ <sup>k</sup>    | ۴۶/۳۴±۰/۰۹ <sup>l</sup>    |

غلظت بر حسب میکروگرم بر میلی‌لیتر محاسبه گردید، اعداد به صورت (انحراف معیار±میانگین) درج شده‌اند، حروف غیرمشابه بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال (P≤۰/۰۵) است.

از مشاهده جدول ۱، می‌توان نتیجه گرفت که از بین عصاره بخش‌های مختلف توتیای دریایی، پوسته آن-هگزانی و گناد، خار و فانوس ارسطو متانولی دارای بیش‌ترین توانایی برای مهار رادیکال آزاد DPPH می‌باشند که در نمودار ۱ نشان داده شده است.

از مقایسه بین عصاره‌های نمودار ۱، خار متانولی (غلظت ۸۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) بالاترین میزان درصد مهار رادیکال آزاد DPPH را نشان داد. همان‌گونه که در نمودار مشاهده می‌شود، فانوس ارسطو متانولی (غلظت ۸۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) نیز میزان قابل توجهی رادیکال آزاد را مهار می‌کند، که بر اساس شاخص‌های آماری نیز تفاوت معنی‌داری بین آن‌ها

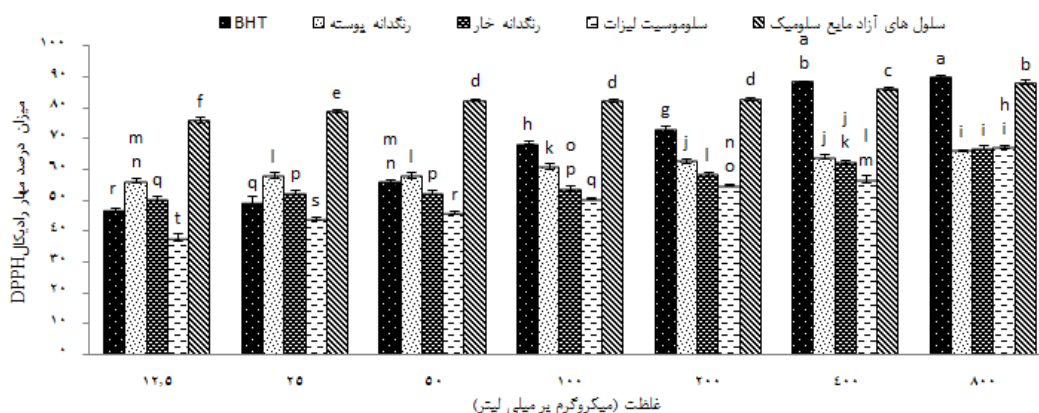
مشاهده نشد. همچنین، گناد متانولی در غلظت ۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر پایین‌ترین میزان درصد مهار رادیکال آزاد DPPH را نشان داد. بر اساس نتایج، غلظت ۱۲/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر گناد متانولی نیز میزان قابل توجهی از رادیکال آزاد DPPH را مهار می‌کند که با غلظت ۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر همین عصاره تفاوت معنی‌داری وجود ندارد. نتایج آنالیز واریانس، نشان داد که تمام عصاره‌های بخش‌های مختلف توتیای دریایی و غلظت آن‌ها، تاثیر معنی‌داری در سطح احتمال (p≤۰/۰۵) بر روی درصد مهار رادیکال آزاد DPPH دارند.



نمودار ۱) مقایسه درصد مهار رادیکال آزاد DPPH قوی‌ترین عصاره‌های توتیای دریایی در برابر BHT به‌عنوان استاندارد در غلظت‌های مختلف (میکروگرم بر میلی‌لیتر). حروف غیرمشابه بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ( $P \leq 0.05$ ) است.

توجهی از میزان درصد مهار رادیکال آزاد می‌باشد که بر اساس شاخص‌های آماری نیز تفاوت معنی‌داری بین آن‌ها وجود ندارد. حجم ۱۰ میکرولیتر سلوموسیت‌لیزات، پایین‌ترین میزان درصد مهار رادیکال آزاد را نشان داد. نتایج آنالیز واریانس نشان داد که مایع سلومیک (CF و CL) و رنگدانه پوسته و خار و غلظت هر یک از آن‌ها تأثیر معنی‌داری در سطح احتمال ( $P \leq 0.05$ ) بر روی درصد مهار رادیکال آزاد DPPH دارد.

نتایج به دست آمده از میزان کاهش جذب محلول DPPH در حضور غلظت‌های مختلف رنگدانه‌های خار و پوسته و همچنین مایع سلومیک (CF و CL) در نمودار ۲ مشاهده می‌گردد. بالاترین میزان درصد مهار رادیکال آزاد DPPH در سلول‌های آزاد مایع سلومیک در حجم ۷۰ میکرولیتر مشاهده شد. همان‌گونه که از نمودار بر می‌آید، غلظت ۴۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر BHT نیز، دارای میزان قابل



نمودار ۲) مقایسه میانگین درصد مهار رادیکال آزاد DPPH در غلظت‌های مختلف رنگدانه پوسته و خار و BHT به‌عنوان استاندارد که برابر با حجم‌های متفاوتی از مایع سلومیک (CF و CL) می‌باشد. حروف غیرمشابه بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ( $P \leq 0.05$ ) است.

بخش‌های مختلف توتیای دریایی در جدول ۲ نشان داد که گناد متانول، پوسته و فانوس ارسطو اتیل استاتی و خار آن-هگزان دارای بیش‌ترین درصد مهار دناچوره شدن پروتئین می‌باشند که در نمودار ۳ نشان داده شده است.

میزان مهار دناچوره شدن پروتئین در BSA به‌عنوان سوپسترا توسط عصاره‌های بخش‌های مختلف توتیای-دریایی در جدول ۲ به نمایش گذاشته شده است. نتایج حاصل از مقایسه میزان مهار دناچوره شدن پروتئین توسط

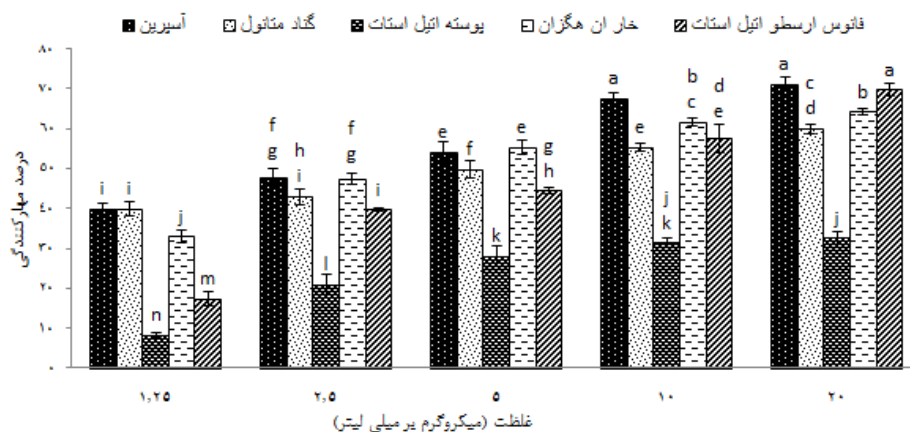
جدول ۲) میزان درصد مهار دناچوره شدن پروتئین توسط عصاره‌های مختلف توتیای دریایی

| عصاره                  | غلظت                     | ۲۰                       | ۱۰                       | ۵                        | ۲/۵                      | ۱/۲۵  | IC <sub>50</sub> |
|------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|-------|------------------|
| آسپرین                 | ۷۱/۲۱±۱/۵۷ <sup>a</sup>  | ۶۷/۷۱±۱/۳۳ <sup>b</sup>  | ۵۴/۱۱±۲/۴۹ <sup>de</sup> | ۴۷/۹۰±۱/۹۱ <sup>fg</sup> | ۳۹/۸۳±۱/۳۰ <sup>i</sup>  | ۳/۸۳  |                  |
| گناد-متانول            | ۵۹/۹۶±۱/۱۵ <sup>c</sup>  | ۵۵/۲۸±۱/۱۱ <sup>d</sup>  | ۴۹/۸۲±۲/۰۹ <sup>f</sup>  | ۴۳/۰۳±۱/۹۷ <sup>hi</sup> | ۴۰/۰۱±۱/۶۸ <sup>i</sup>  | ۸/۱۲  |                  |
| گناد-اتیل استات        | ۶۵/۴۰±۰/۵۵ <sup>b</sup>  | ۳۳/۶۹±۱/۶۳ <sup>j</sup>  | ۲۹/۶۲±۱/۸۲ <sup>k</sup>  | ۲۶/۲۲±۱/۰۶ <sup>kl</sup> | ۲۲/۳۶±۱/۳۴ <sup>lm</sup> | ۱۴/۳۴ |                  |
| گناد-ان هگزان          | ۵۰/۹۳±۲/۰۴ <sup>ef</sup> | ۴۴/۶۹±۲/۰۰ <sup>gh</sup> | ۴۰/۶۱±۰/۷۹ <sup>i</sup>  | ۳۵/۶۸±۱/۷۷ <sup>j</sup>  | ۲۳/۲۱±۲/۵۵ <sup>lm</sup> | ۱۷/۰۴ |                  |
| آسپرین                 | ۷۱/۲۱±۱/۵۷ <sup>a</sup>  | ۶۷/۷۱±۱/۳۳ <sup>a</sup>  | ۵۴/۱۱±۲/۴۹ <sup>c</sup>  | ۴۷/۹۰±۱/۹۱ <sup>d</sup>  | ۳۹/۸۳±۱/۳۰ <sup>e</sup>  | ۳/۸۳  |                  |
| پوسته-متانول           | ۲۰/۵۸±۲/۶۶ <sup>h</sup>  | ۵/۷۹±۲/۷۸ <sup>j</sup>   | ۴/۱۴±۲/۳۵ <sup>jk</sup>  | ۱/۱۲±۲/۲۵ <sup>k</sup>   | ۰/۰۰±۰/۰۰ <sup>k</sup>   | -     |                  |
| پوسته-اتیل استات       | ۳۲/۶۳±۱/۵۹ <sup>f</sup>  | ۳۱/۳۷±۱/۰۸ <sup>fg</sup> | ۲۸/۰۴±۲/۶۰ <sup>g</sup>  | ۲۰/۹۵±۲/۵۷ <sup>h</sup>  | ۸/۳۵±۰/۴۹ <sup>j</sup>   | -     |                  |
| پوسته-ان هگزان         | ۶۰/۵۳±۱/۴۲ <sup>b</sup>  | ۵۶/۸۲±۲/۳۹ <sup>bc</sup> | ۲۳/۸۷±۲/۴۵ <sup>h</sup>  | ۱۲/۶۳±۰/۵۰ <sup>i</sup>  | ۷/۶۵±۲/۲۸ <sup>j</sup>   | ۱۳/۷۳ |                  |
| آسپرین                 | ۷۱/۲۱±۱/۵۷ <sup>a</sup>  | ۶۷/۷۱±۱/۳۳ <sup>b</sup>  | ۵۴/۱۱±۲/۴۹ <sup>d</sup>  | ۴۷/۹۰±۱/۹۱ <sup>e</sup>  | ۳۹/۸۳±۱/۳۰ <sup>f</sup>  | ۳/۸۳  |                  |
| خار-متانول             | ۳۶/۶۲±۱/۵۸ <sup>g</sup>  | ۳۳/۲۲±۲/۰۰ <sup>h</sup>  | ۲۷/۶۶±۲/۴۶ <sup>i</sup>  | ۲۵/۷۴±۲/۵۲ <sup>i</sup>  | ۰/۰۰±۰/۰۰ <sup>m</sup>   | -     |                  |
| خار-اتیل استات         | ۹/۸۹±۱/۳۳ <sup>j</sup>   | ۵/۷۳±۰/۳۰ <sup>k</sup>   | ۳/۳۹±۱/۱۶ <sup>kl</sup>  | ۰/۵۸±۰/۸۶ <sup>lm</sup>  | ۰/۰۰±۰/۰۰ <sup>m</sup>   | -     |                  |
| خار-ان هگزان           | ۶۴/۲۳±۰/۷۱ <sup>c</sup>  | ۶۱/۷۹±۰/۹۳ <sup>c</sup>  | ۵۵/۲۷±۱/۷۷ <sup>d</sup>  | ۴۷/۵۱±۱/۳۶ <sup>e</sup>  | ۳۳/۰۳±۱/۵۲ <sup>h</sup>  | ۵/۹۸  |                  |
| آسپرین                 | ۷۱/۲۱±۱/۵۷ <sup>a</sup>  | ۶۷/۷۱±۱/۳۳ <sup>a</sup>  | ۵۴/۱۱±۲/۴۹ <sup>b</sup>  | ۴۷/۹۰±۱/۹۱ <sup>c</sup>  | ۳۹/۸۳±۱/۳۰ <sup>d</sup>  | ۳/۸۳  |                  |
| فانوس ارسطو-متانولی    | ۳۴/۳۷±۲/۱۹ <sup>ef</sup> | ۲۹/۳۵±۱/۱۴ <sup>g</sup>  | ۱۲/۱۱±۳/۲۱ <sup>i</sup>  | ۷/۴۵±۱/۹۳ <sup>j</sup>   | ۳/۸۷±۰/۸۶ <sup>j</sup>   | -     |                  |
| فانوس ارسطو-اتیل استات | ۶۹/۷۸±۱/۶۱ <sup>a</sup>  | ۵۷/۵۸±۳/۴۳ <sup>b</sup>  | ۴۴/۴۱±۰/۶۶ <sup>c</sup>  | ۳۹/۷۴±۰/۳۶ <sup>d</sup>  | ۱۷/۴۰±۱/۹۱ <sup>h</sup>  | ۹/۵۶  |                  |
| فانوس ارسطو-ان هگزان   | ۵۴/۹۸±۲/۸۱ <sup>b</sup>  | ۳۸/۲۸±۱/۹۲ <sup>de</sup> | ۳۵/۱۶±۱/۰۳ <sup>ef</sup> | ۳۱/۹۶±۰/۹۵ <sup>fg</sup> | ۲۹/۶۲±۱/۴۱ <sup>g</sup>  | ۱۶/۹۶ |                  |

غلظت بر حسب میکرو گرم بر میلی لیتر محاسبه گردید، اعداد به صورت (انحراف معیار ± میانگین) درج شده‌اند، حروف غیر مشابه بیانگر اختلاف معنی دار در سطح احتمال ( $P \leq 0.05$ ) است.

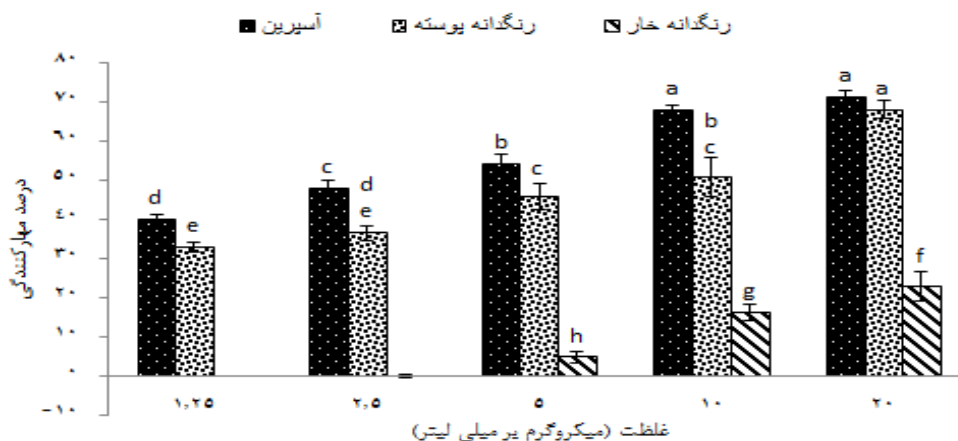
از مقایسه بررسی‌های آماری بین قوی‌ترین عصاره‌های توتیای دریایی، مشاهده شد که فانوس ارسطو اتیل استاتی (غلظت ۲۰ میکروگرم بر میلی لیتر) دارای بیش‌ترین میزان مهارکنندگی دناچوره شدن پروتئین می‌باشد. این درحالی است که کم‌ترین میزان مهارکنندگی دناچوره شدن

پروتئین، در پوسته اتیل استاتی مشاهده می‌شود. بر اساس نتایج حاصل از مطالعه پیش‌رو، میزان مهارکنندگی دناچوره شدن پروتئین در BSA توسط عصاره‌های توتیای دریایی در غلظت‌های مختلف، دارای تفاوت معنی داری در سطح احتمال ( $P \leq 0.05$ ) می‌باشند.



نمودار ۳) مقایسه درصد مهارکنندگی دناچوره شدن پروتئین در سوبسترای BSA توسط قوی‌ترین عصاره‌های توتیای دریایی در برابر آسپرین به عنوان استاندارد در غلظت‌های مختلف (میکروگرم بر میلی لیتر). حروف غیر مشابه بیانگر اختلاف معنی دار در سطح احتمال ( $P \leq 0.05$ ) است.

همان‌گونه که در نمودار ۴ مشاهده می‌شود، بیش‌ترین میزان مهارکنندگی پروتئین در سوبسترای BSA در رنگدانه پوسته و در غلظت ۲۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر ( $IC_{50}=9/62$ ) مشاهده گردید. در حالی که کم‌ترین میزان مهارکنندگی در غلظت ۱/۲۵ و ۲/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر رنگدانه خار مشاهده شد. در واقع این دو غلظت فاقد خاصیت مهارکنندگی پروتئین می‌باشند. نتایج حاصل از آنالیز واریانس، نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین عصاره‌ها و غلظت آن‌ها در سطح احتمال  $P \leq 0/05$  بر روی درصد مهار دناچوره شدن پروتئین دارند.



نمودار ۴) مقایسه درصد مهارکنندگی دناچوره شدن پروتئین در سوبسترای BSA توسط رنگدانه‌ها. پوسته و خار در برابر آسپرین به‌عنوان استاندارد در غلظت‌های مختلف (میکروگرم بر میلی‌لیتر). حروف غیرمشابه بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ( $P \leq 0/05$ ) است.

## بحث

ترکیبات ضداکسیدانی می‌توانند با انتقال یک الکترون و به دنبال آن پروتون، DPPH را از حالت آزاد به حالت پایدار تبدیل کنند و رنگ آن را از بنفش به زرد تغییر دهند که همین تغییر رنگ، مبنای ارزیابی قرار می‌گیرد. نتایج حاصل از فعالیت آنتی‌اکسیدانی مهار رادیکال آزاد DPPH مطالعات شانکارلال (Shankarlal) و همکاران (۲۰۱۱) بر روی پوسته توتیای دریایی ارغوانی *Salmacis virgulata* نشان داد که پوسته متانولی دارای توانایی نسبتاً بالایی برای مهار رادیکال آزاد

نتایج حاصل از آنالیز داده‌های مایع‌سلومیک (CF و CL) توتیای دریایی نشان داد که سلول‌های آزاد مایع سلومیک و سلوموسیت‌لیزات در حجم‌هایی برابر با غلظت‌های عصاره‌ها (۱/۲۵، ۲/۵، ۵، ۱۰ و ۲۰ میکرولیتر) فاقد خاصیت مهارکنندگی دناچوره شدن پروتئین در سوبسترای BSA می‌باشد. میزان مهارکنندگی دناچوره شدن پروتئین رنگدانه پوسته و خار توتیای دریایی با آسپرین به‌عنوان استاندارد مقایسه شد که در نمودار ۴ نشان داده شده است.

در سال‌های اخیر، بر روی خواص آنتی‌اکسیدان و ضدالتهاب تحقیق شده که در درمان بیماری‌های گوناگون مزمن و عفونی استفاده می‌شوند. مطالعات اپیدمیولوژی و آزمایشگاهی نیز بر تخریب سلولی اکسیداتیو ناشی از یک ناهماهنگی بین سیستم تولید و مهار رادیکال آزاد، به‌عنوان اولین علت بیماری التهاب، قلبی-عروقی، سرطان، پیری و غیره دلالت می‌کند (۲۴).

نمودن آن‌ها به وسیله آنتی‌اکسیدان در کاهش التهاب مؤثر خواهد بود (۲۷).

تولید رادیکال‌های آزاد در بیماری‌های مزمن التهابی همانند آرتریت‌های طولانی مدت، مارکرهای استرس اکسیداتیو همانند لیپیدپراکسیداسیون به‌طور معنی‌داری افزایش می‌یابد (۲۷). از این‌رو استفاده از ترکیبی که دو خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی را داشته باشد، در کاهش و سرکوب استرس اکسیداتیو و التهاب (که از عوامل پیشرفت و ادامه بیماری‌های مزمن می‌باشند) نقش اساسی خواهد داشت. در این مطالعه، اثرات توأم خواص آنتی‌اکسیدانی در گناد متانول، خار ان-هگز ان و رنگدانه پوسته مشاهده شد.

مطالعات متعددی حضور ترکیبات فعال زیستی قوی از توتیای دریایی به سبب دارا بودن پتانسیل دارویی را آشکار کرد. نتایج به‌دست آمده از این پژوهش، نشان داد که فانوس‌ارسطو ایل‌استات و رنگدانه پوسته دارای بیش‌ترین میزان خاصیت ضدالتهابی از بین تمام ارگان‌های مختلف توتیای دریایی *E.mathaei* مورد مطالعه، می‌باشند. در مجموع، استفاده از روش‌های غربالگری همانند ارزیابی ممانعت از دنا توره شدن پروتئین سرم، فرصتی برای یافتن ترکیبات فعال جدید و انتخاب آن‌ها برای آزمون‌های تکمیلی و پیشرفته‌تر فراهم خواهد نمود. به واسطه اینکه التهاب، فرایند پیچیده‌ای است که علاوه بر دنا چوره شدن پروتئین‌ها، با افزایش نفوذپذیری عروق و تغییرپذیری غشاها همراه است، لذا پیشنهاد می‌شود جهت ارزیابی کامل این ترکیبات، مطالعات تکمیلی نیز در محیط *In vivo* صورت پذیرد.

DPPH می‌باشد (۲۵). همان‌طور که در نمودار ۱ نشان داده شده است، در این مطالعه، خار متانولی بیش‌ترین درصد مهار رادیکال آزاد DPPH را دارا می‌باشد. این ممکن است به دلیل اختلاف در میزان ترکیبات موجود در گونه‌های مختلف توتیای دریایی باشد (۲).

نتایج حاصل از فعالیت آنتی‌اکسیدانی مهار رادیکال آزاد DPPH مطالعات کوهارا (Kuwahara) و همکاران (۲۰۰۹) بر روی رنگدانه پوسته توتیای دریایی *Anthocidaris crassispina* و همچنین زو (Zhou) و همکاران (۲۰۰۹) بر روی رنگدانه خار توتیای دریایی *Strongylocentrotus nudus* نشان داد که این رنگدانه‌ها دارای توانایی بسیار بالایی برای مهار رادیکال آزاد DPPH می‌باشند (۱ و ۷).

یافته‌های حاصل از مطالعات اخیر بیان می‌کند که تعداد زیادی از فلاونوئیدها و پلی‌فنول‌های وابسته، به‌طور قابل توجهی در فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی شرکت می‌کنند (۲۶). نتایج حاصل از مطالعات پیشین ما نیز نشان داد که توتیای دریایی *E.mathaei* دارای میزان قابل توجهی ترکیبات فلاونوئیدی می‌باشد، با توجه به مطالعات پیشین و ارتباط بین ترکیبات فلاونوئیدی و فعالیت ضدالتهابی، نتایج حاصل از این پژوهش نیز این ارتباط را تأیید می‌کند.

عمل فاگوسیتی نوتروفیل‌ها، ماکروفاژها و منوسیت‌هایی که در جریان التهاب فعال می‌گردد با انفجار تنفسی توأم می‌باشد که این امر منجر به افزایش تولید رادیکال‌های آزاد می‌گردد، لذا رادیکال‌های آزاد نقش مذبذوری اساسی در پیشرفت روند التهاب دارند، بنابراین خنثی

## References:

1. Zhou DY, Qin L, Zhu BW, et al. Extraction and antioxidant property of polyhydroxylated naphthoquinone pigments from spines of

purple sea urchin *Strongylocentrotus nudus*. Food Chem 2011; 129: 1591–7.

2. Amarowicz R, Synowiecki J, Shahidi F. Chemical composition of shells from red (*Strongylocentrotus franciscanus*) and green (*Strongylocentrotus droebachiensis*) sea urchin. *Food Chem* 2012; 133: 822–6.
3. Smith LC, Ghosh J, Buckley KM, et al. Echinoderm Immunity. In: Soderhall K editor. *Handbook of Invertebrate Immunity*. USA: Springer US, 2010, p: 260–70.
4. Arizza V, Giaramita FT, Parrinello D, et al. Cell cooperation in coelomocyte cytotoxic activity of *Paracentrotus lividus* coelomocytes. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol* 2007; 147: 389–94.
5. Amarowicz R, Synowiecki J, Shahidi F. Sephadex LH-20 separation of pigments from shell of red sea urchin (*Strongylocentrotus franciscanus*). *Food Chem* 1994; 51: 227–9.
6. Kuwahara R, Hatate H, Chikami A, et al. Quantitative separation of antioxidant pigments in purple sea urchin shells using a reversed-phase high performance liquid chromatography. *LWT-Food Sci Technol* 2010; 43: 1185–90.
7. Kuwahara R, Hatate H, Yuki T, et al. Antioxidant property of polyhydroxylated naphthoquinone pigments from shells of purple sea urchin *Anthodidaris crassispina*. *LWT-Food Sci Technol* 2009; 42: 1296–300.
8. Mamelona J, Pelletier E, Girard-Lalancette K, et al. Antioxidants in digestive tracts and gonads of green urchin (*Strongylocentrotus droebachiensis*). *J Food Compos Anal* 2011; 24: 179–83.
9. Duan XJ, Zhang WW, Li XM, et al. Evaluation of antioxidant property of extract and fractions obtained from a red alga, *Polysiphonia urceolata*. *Food Chem* 2006; 95: 37–43.
10. Zhou D, Qin L, Zhu B, et al. Optimisation of hydrolysis of purple sea urchin (*Strongylocentrotus nudus*) gonad by response surface methodology and evaluation of in vitro antioxidant activity of the hydrolysate. *J Sci Food Agric* 2012; 92: 1694–701.
11. Zou Y, Lu Y, Wei D. Antioxidant activity of a flavonoid-rich extract of *Hypericum perforatum* L. in vitro. *J Agric Food Chem* 2004; 52: 5032–9.
12. Wu SJ, Ng LT. Antioxidant and free radical scavenging activities of wild bitter melon (*Momordica charantia* Linn. var. *abbreviata* Ser.) in Taiwan. *LWT-Food Sci Technol* 2008; 41: 323–30.
13. Fu L, Xu BT, Xu XR, et al. Antioxidant capacities and total phenolic contents of 62 fruits. *Food Chem* 2011; 129: 345–50.
14. Ratnam DV, Ankola DD, Bhardwaj V, et al. Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: a pharmaceutical perspective. *J Control Release* 2006; 113: 189–207.
15. Shankaral S, Prabu K, Natarajan E. Antimicrobial and antioxidant activity of purple sea urchin shell (*Salmacis virgulata* L. Agassiz and Desor 1846). *Am-Euras J Sci Res* 2011; 6: 178–81.
16. Elisabetsky E, Amador TA, Albuquerque RR, et al. Analgesic activity of *Psychotria colorata* Muell. Arg. *Alkaloids. J Ethnopharmacol* 1995; 48: 77–83.
17. Nishimoto N, Kishimoto T. Interleukin 6: from bench to bedside. *Nat Clin Pract Rheumatol* 2006; 2: 619–26.
18. Kang HS, Kim YH, Lee CS, et al. Anti-inflammatory effects of *Stephania tetrandia* S. Moore on interleukin-6 production and experimental inflammatory disease models. *Mediators Inflamm* 1996; 5: 280–91.
19. Anilkumar M. 10 Ethnomedicinal plants as anti-inflammatory and analgesic agents. *Ethnomedicine* 2010; 2: 267–93.
20. Palasuwan A, Soogarun S, Lertlum T, et al. Inhibition of heinz body induction in an in vitro model and total antioxidant activity of medicinal thai plants. *Asian Pacific J Cancer Prev* 2005; 6: 458–63.
21. Gohari AR, Hadjiakhondi A, Sadat-Ebrahimi E, et al. Cytotoxic terpenoids from *Satureja macrantha* CA Mey. *DARU J Pharmaceut Sci* 2005; 13: 177–81.
22. Moein MR, Moein S, Ahmadizadeh S. Radical scavenging and reducing Power of *Salvia mirzayanii* Subfractions. *Molecules* 2008; 13: 2804–13.

23. Mizushima Y, Kobayashi M. Interaction of anti-inflammatory drugs with serum proteins, especially with some biologically active proteins. *J Pharm Pharmacol* 1968; 20: 169–73.
24. Thakur R, Yadav K, Khadka KB. Study of antioxidant, antibacterial and anti-inflammatory activity of cinnamon (*Cinamomum tamala*), ginger (*Zingiber officinale*) and turmeric (*Curcuma longa*). *Am J Life Sci* 2013; 1: 273–7.
25. Shankaral S, Prabu K, Natarajan E. Antimicrobial and antioxidant activity of Purple sea urchin shell (*Salmacis virgulata* L. Agassiz and Desor 1846). *Am-Euras J Sci Res* 2011; 6: 178–81.
26. Sakat SS, Juvekar AJ, Gambhire MN. Invitro antioxidant and anti-inflammatory activity of methanol extract of *oxalis corniculata* linn. *Int J Pharm Pharmaceut Sci* 2010; 2: 146–55.
27. Abdel-moein NM, Abdel-Moniem EA, Mohamed DA, et al. Evaluation of the anti-inflammatory and anti-arthritic of some plant extracts. *Grasas y Aceites* 2011; 62:365–74.

Original Article

# Assessment of Anti- Inflammatory effect of sea urchin *Echinometra mathaei* From the Persian Gulf

*S. Soleimani<sup>1</sup>, M. Yousefzadi<sup>1\*</sup>, S. Moein<sup>2</sup>, N. Amrollahi Bioki<sup>1</sup>*

<sup>1</sup> *Department of marine biology, Faculty of Marine Science and technology, Hormozgan University, Bandar Abbas, Iran*

<sup>2</sup> *Department biochemistry & Molecular medicine research center, Faculty of Medical Sciences, Hormozgan University, Bandar Abbas, Iran*

(Received 10 Oct, 2014 Accepted 30 Dec, 2014)

## **Abstract**

**Background:** sea urchins belonging to phylum echinoderms of marine invertebrates them found to possess excellent. Inflammation can be considered a set of complex processes that many body systems including the immune and nervous system are involved. The aim of the present research was undertaken to study the anti- inflammatory activity of different extracts, coelomic fluid and pigments shells and spines of sea urchin of *Echinodermata mathaei*.

**Material and method:** Isolation of different tissues extracts (spine, shell, gonad and aristotol lantern) sea urchin by three solvents (n- hexan, ethyl acetate, methanol). Isolation coelomic fluid by buffered mode and pigments shell and spine by HCl of sea urchin evaluation antioxidant (DPPH radical scavenging) and anti- inflammatory activity investigated through inhibition albumin serum denaturation.

**Results:** According to the results of the study, the spine- methanoli and coelomic fluid (CF) had the highest activity in the DPPH radical scavenging and aristotol lantern- ethyl acetate and pigment shell highest activity in the anti- inflammatory methods. Significant differences were observed at P<0.05.

**Conclusion:** The result of this research indicated that sea urchin of *E.mathaei* due to the high antioxidant activity, have anti- inflammatory activities too.

**Key words:** Anti- inflammatory activity, sea urchin, *Echinodermata mathaei* ,Persian Gulf

\*Address for correspondence: Department of marine biology, Faculty of Science, Hormozgan University, Bandar Abbas, IRAN, Email: morteza110110@gmail.com