Archive of SID

[DOI: 10.29252/JOC.2019.9.1201]

Downloaded from joc.inio.ac.ir at 10:55 IRDT on Wednesday April 10th 2019

اقیانوس‌شناسی/ سال نهم/ شماره ۳۶/ زمستان ۱۳۹۷/۸/۴۶ـ۳۹
DOI: 10.29252/JOC.2019.9.1201

بررسی ویژگی ضد باکتریایی، ضد قارچی و آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های آبی و الکلی خاره‌چسب *Siphonaria carbo*

احمد شادی[1*]، امیر وزیری‌زاده[2]، فاطمه آفریدون[3]، خانمناز عبادی[4]

۱- استادیار گروه زیست فناوری دریا، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه خلیج فارس، بوشهر، ایران، پست الکترونیکی: shadi@pgu.ac.ir

۲- استادیار گروه زیست‌شناسی دریا، مرکز مطالعات و پژوهش‌های خلیج فارس، دانشگاه خلیج فارس، بوشهر، ایران، پست الکترونیکی: amirvz@yahoo.com

۳- کارشناسی ارشد زیست فناوری دریا، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه خلیج فارس، بوشهر، ایران، پست الکترونیکی: afridoon@gmail.com

۴- کارشناسی ارشد زیست فناوری دریا، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه خلیج فارس، بوشهر، ایران، پست الکترونیکی: khanomnaz.ebadi@gmail.com

تاریخ دریافت: ۹۶/۸/۱۳ ** نویسنده مسوول* *تاریخ پذیرش: ۹۶/۱۲/۷*

چکیده

در این مقاله، خواص ضد باکتریایی خاره چسب *Siphonaria carbo*، علیه باکتری‌های *Escherichia coli* و *Staphylococcus aureus*، و خواص ضد قارچی آن علیه قارچ *Saprolegnia parasitica* به روش چاهک مورد بررسی قرار گرفتند. همچنین ویژگی آنتی‌اکسیدانی این گونه با روش مالوندی‌آلدئید عصاره‌های به دست آمده (خام اتانولی و آبی از دو بافت خیس و خشک) ازخاره‌چسب گونه مورد نظر ارزیابی شد. نتایج نشان دادند که عصاره اتانولی از بافت خشک دارای کمترین پراکسیداسیون چربی (±SD) (۰/۴۹±۳۰/۵۴) و بالاترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی است. همچنین عصاره آبی از بافت تر با بیشترین پراکسیداسیون چربی (۰/۷۴±۴۴/۴۵)، ضعیف‌ترین اثر آنتی‌اکسیدانی را دارا می‌باشد. نتایج بررسی ضد باکتریایی نشان دادند که عصاره‌های مورد آزمون، دارای ویژگی ضد باکتریایی معنی‌داری نبودند. این مطالعه نشان داد که خواص آنتی‌اکسیدانی در عصاره‌های زیستی *Siphonaria carbo* وجود دارد. بررسی شیمیایی دقیق‌تر جهت شناسایی ترکیبات موثر که سبب این ویژگی شده‌اند، پیشنهاد می‌شود.

کلمات کلیدی: *تولیدات ثانویه، خواص آنتی‌اکسیدانی، فرآورده‌های طبیعی دریا، Siphonaria carbo.*

۱. مقدمه

جانوران دریایی با داشتن تولیدات ثانویه از مهم‌ترین منابع تولید ترکیبات طبیعی با کارکردهای زیستی محسوب می‌شوند. شکم‌پایان رده سیفوناریا[1] از نرم‌تنان دریایی هستند که مطالعات کمی روی خواص زیست پزشکی آن‌ها صورت گرفته است. عوامل اکسیدانی به دلیل قدرت تخریب ویژه خود، در بروز بیماری‌های متفاوتی مثل آلزایمر، سرطان، پیری و نارسایی قلبی

[1] Siphonaria

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.29252/JOC.2019.9.1201]

Downloaded from joc.inio.ac.ir at 10:55 IRDT on Wednesday April 10th 2019

نقش دارند (Finkel et al., 2000). همچنین بیماری‌هایی نظیر آرتریت روماتوئید، بیماری‌های قلبی عروقی، سیستیک فیبروزیس، ناهنجاری‌های متابولیک و غیره از دیگر بیماری‌های مرتبط با عوامل اکسیدانی هستند (Aher et al., 2011). گونه‌های اکسیژن باز فعال‌شده (ROS[1]) یا رادیکال آزاد ناپایدار، به عنوان مولکول‌های تخریب‌گر روی غشای سلولی، میتوکندری و DNA فعالیت می‌کنند. ROS ها نه تنها رادیکال‌های اکسیژن، بلکه بعضی مشتقات غیر رادیکالی اکسیژن را هم شامل می‌شوند. مشتقاتی مثل پراکسید هیدروژن و اسید هیپوکلراید نیز از مولکول‌های مخرب هستند (Bandyopadhyay et al., 1999). رادیکال نیتریک اکسید (NO) هم توانایی بالایی برای واکنش‌های زیادی مثل خاصیت اکسیدانی دارد. همچنین این مولکول توانایی خاصی در واکنش با دیگر مولکول‌های غیرآلی مثل اکسیژن، فلزات واسطه و سوپراکسیدها دارد. توانایی نیتریک اکسید در واکنش با ساختارهای DNA مثل بازهای پیریمیدینی و گروه‌های پروستتیک مشابه یا پروتئین‌هایی که منجر به S–نیتروزیلاسیون گروه تیول می‌شوند شناخته شده است. هم چنین نیتراسیون ریشه‌های تیروزین و یا اختلال در خوشه‌های آهن سولفید مثل دمین انگشت روی[2] یا کمپلکس‌های آهن سولفید نیز به اثبات رسیده است (Blaise et al., 2005; Bogdan., 2001) رادیکال‌های آزاد با شرکت در اکسیداسیون اولیه لیپیدها، از کیفیت غذا می‌کاهند. بنابراین آنتی اکسیدان‌های مصنوعی مثل هیدروکسینوزیل بوتیله شده (BHA) و هیدروکسی تولوئن بوتیله شده (BHT) و تترا بوتیل هیدروکوئینون (TBHQ) به طور گسترده در صنایع غذایی استفاده می‌شوند. اما BHA و BHT در بدن ذخیره شده و باعث تخریب کبد و سرطان‌زایی می‌شوند (Grice, 1988; Qi et al., 2005).

امروزه به دلیل استفاده گسترده از آنتی‌بیوتیک‌ها، باکتری‌های بیماری‌زا تبدیل به گونه‌های مقاوم شده‌اند (Lavanya et al., 2011). با توجه به مکانیسم‌های ریزجانداران در مقابله با مواد تحلیل برنده و ضد باکتری شیمیایی، درمان عوامل بیماری‌زای مقاوم‌شده و یا ذاتا مقاوم، از بزرگترین مشکلات انسان است (Smith et al., 1994). به‌علاوه، داروها آثار نامطلوبی نیز بر میزبان خود می‌گذارند که شامل افزایش حساسیت و کاهش میکروب های مفید در روده می‌شوند (Idsoe et al., 1968). از بین بردن باکتری‌ها توسط عوامل صنعتی هم‌چون آنتی‌بیوتیک‌های مصنوعی در محیط طبیعی با چالش‌های زیستی رو به رو هستند. لذا یکی از مناسب‌ترین اقدامات، جلوگیری از رشد باکتری با کاربرد موادی است که خاصیت ضد باکتریایی طبیعی دارند.

به دلیل وجود خطرات ناشی از استفاده آنتی اکسیدان‌ها بر سلامتی و ترکیبات ضد باکتری شیمیایی، می‌بایست این عوامل آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی مصنوعی با انواع طبیعی جایگزین گردند. از این‌رو، تحقیقات متفاوتی روی موجودات مختلف از جمله موجودات دریایی صورت گرفته است. حضور عوامل کشنده یاخته و آنتی‌اکسیدانی باعث جلوگیری از ایجاد بی نظمی‌های سلولی منتهی به سرطان و یا درمان این بیماری‌ها می‌گردند. محیط‌های دریایی به عنوان یک بوم‌سامانه پیچیده، با موجوداتی همراه است که دارای ترکیبات متفاوتی به منظور دفاع از خود هستند (Indap et al., 1998). این ترکیبات در بسیاری از موارد دارای ویژگی‌های ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی هستند. بنابراین غربال‌گری اولیه موجودات دریایی به ویژه موجودات بومی می‌تواند گام اولیه در یافتن مواد زیست فعال نوین با کاربردهای درمانی باشد (Centella et al., 2017).

نرم‌تنان به شکل گسترده‌ای در محیط‌های آبی پراکنش یافته‌اند و یکی از متنوع‌ترین گروه‌های جانوری روی کره زمین را تشکیل می‌دهند. این جانداران با نام‌های عمومی حلزون، لیسه، صدف دوکفه‌ای، ماهی‌مرکب، اختاپوس[3] و غیره شناخته می‌شوند. در این بین شکم‌پایان (Gastropoda) از تنوع بالایی برخوردار هستند. جنس سیفوناریا، از رده شکم‌پایان خاره‌چسب (Limpet) به لحاظ حضور چندین خانواده از ترکیبات ضدمیکروبی قابل توجه هستند. به‌طوری‌که اعضای حاضر در این جنس دارای منابع غنی از پلی‌پروپیونات‌ها، آنتی‌بیوتیک‌های پلی‌اتری و ماکرولیدها هستند (Davies-Coleman et al., 1998; Garson, 1993; Norcross et al., 1995). نرم‌تنان جنس سیفوناریا[4] (زیررده ریه‌داران و تیره کشکک داران سیفونارئیده) به دلیل نداشتن آبشش اولیه به عنوان خاره‌چسب‌های کاذب[5] شناخته می‌شوند. این جانداران به صورت هوازی تنفس می‌کنند و دارای پوسته صدفی بوده و گیاه‌خوار هستند (Ansell et al., 1999; Jerez et al., 2006).

[1] Reactive oxygen species
[2] Zinc finger (Znf) domain
[3] Octopus
[4] Siphonaria
[5] False limpets

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.29252/JOC.2019.9.1201]
Downloaded from joc.inio.ac.ir at 10:55 IRDT on Wednesday April 10th 2019

Siphonaria carbo یکی از گونه‌های بومی سواحل خلیج فارس به ویژه در استان بوشهر است که در مناطق صخره‌ای جزر و مدی زندگی می‌کنند. قطرصدف این گونه تا ۴ سانتی‌متر بوده و رنگ آن مایل به قهوه‌ای است. مجرای دهانی آن کوتاه و ماهیچه‌ای بوده و اسفنکتر توسعه یافته است. این گونه دارای مری و غده‌های بزاقی است و سیستم تناسلی در هموسل قرار دارد (Simone and Seaba, 2017). در این مطالعه، به منظور غربالگری اولیه، ویژگی‌های زیست پزشکی، خواص ضد باکتریایی و آنتی-اکسیدانی عصاره‌های الکلی و آبی این خاره‌چسب مورد بررسی قرار گرفت.

۲. مواد و روش‌ها

۲-۱ نمونه‌برداری

خاره چسب *Siphonaria carbo* از مناطق جزر و مدی صخره‌ای بوشهر در منطقه بهمنی گردآوری گردید. به منظور حفظ ترکیبات زیست فعال این شکم پا، نمونه‌ها روی یخ به آزمایشگاه اکولوژی دانشگاه خلیج فارس انتقال یافتند. سپس پوسته نمونه‌ها جدا گردیدند و چندین بار شست و شو یافتند تا هر گونه گل و لای اضافی خارج گردد. در ادامه، حلزون‌ها جهت نگهداری تا ادامه آزمایش‌ها در دمای ۲۰- نگهداری شدند (Simone and Seaba, 2017).

۲-۲ عصاره‌گیری از بافت تر

عصاره‌گیری به منظور جدا کردن ترکیبات قابل حل در یک محلول و یا جدا کردن برخی ترکیبات از یک مخلوط جامد صورت می‌گیرد. استخراج ترکیبات آلی بافت‌های گیاهی یا جانوری، به کمک روش‌های مختلفی از جمله خیساندن، هضم کردن و دم کردن انجام می‌گردد (Jamali et al., 2010). در پژوهش حاضر از روش خیساندن به منظور جداسازی ترکیبات و خشک کردن استفاده شد. به منظور عصاره‌گیری در هر بار عصاره گرفتن، با نسبت ۴:۱ مقدار ۲۵۰ گرم نمونه تر با حلال‌های آب و اتانول ۹۶ درصد به نمونه‌ها اضافه گردید و بعد از۹۶-۷۲ ساعت مخلوط شدند و توسط شیکر هم زده شدند، سپس ظرف دربردارنده نمونه با فویل آلومینیومی پوشیده شدند و به مدت ۹۶ ساعت زیر هود قرار گرفتند. مایع بدست آمده با استفاده از کاغذ واتمن درون قیف استریل فیلتر شد. محلول حاصل درون پتری دیش استریل شده طی مدت ۲روز در آون با دمای ۳۹-۳۵ درجه سانتی‌گراد به طور کامل خشک گردید. عصاره حاصل به منظور ارزیابی‌های زیستی مورد ارزیابی قرار گرفت (Jamali et al., 2010; Ravi et al., 2012).

۲-۳ عصاره‌گیری از بافت خشک

در این روش ابتدا مقدار ۵۰ گرم از نمونه‌های بدون صدف، پس از وزن کردن به پتری دیش استریل شده منتقل شدند و برای مدت ۹۶ ساعت در آون با دمای ۵۵-۵۰ به مدت ۹۶ ساعت تحت شرایط خشک شدن قرار گرفتند. سپس نمونه‌های خشک شده، با هاون چینی استریل کوبیده شده و به صورت پودر درآمد. در ادامه عصاره‌گیری با استفاده از پودر حاصله انجام گرفت.

۲-۴ آزمون‌های ضدمیکروبی

برای بررسی فعالیت ضدمیکروبی عصاره‌ها، باکتری‌های *Escherichia coli*، *Staphylococcus aureus* و قارچ *Saprolegnia parasitica* در نظر گرفته شدند. باکتری E. coli با کد ATCC10536 و *S. aureus* با کد ATCC 25923 از مرکز کلکسیون میکروارگانیسم‌های صنعتی ایران و قارچ *S. parasitica* جداسازی شده از ماهیان قزل‌آلای رنگین کمان از مرکز تحقیقات ماهیان سردابی یاسوج تهیه شدند. کلیه محیط‌های کشت بر اساس دستور کارخانه سازنده (Merk-Germany) تهیه و توسط اتوکلاو استریل شدند. به منظور حذف آلودگی برای سنجش پتانسیل ضد باکتریایی و ضد قارچی عصاره‌های مورد نظر، ابتدا عصاره‌های مذکور از فیلترهای سرسرنگی ۰/۴۵ و ۰/۲۲ میکرون عبور داده شدند. سپس با ایجاد چاهک بر محیط کشت مولر هینتون آگار برای تست میکروبی و سابرودکستروز آگار به منظور سنجش اثر ضد قارچ به روش ساعتی، غلظت‌های متفاوت عصاره‌های مذکور مورد بررسی قرار گرفتند. به منظور بررسی اثر ضد باکتریایی در چهار عصاره به دست آمده از *Siphonaria carbo*، ابتدا از کشت ۲۴ ساعته هر باکتری در محیط مولرهینتون مایع، سوسپانسیون میکروبی آماده گردید. سپس با استفاده از لوپ، روی سطح محیط مولر هینتون آگار که جامد است، کشت یکنواخت و پوشاننده

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.29252/JOC.2019.9.1201]

Downloaded from joc.inio.ac.ir at 10:55 IRDT on Wednesday April 10th 2019

پلیت صورت گرفت. سپس چاهک‌هایی به قطر ۶ میلی‌متر توسط بور در سطح محیط کشت ایجاد گردید و عصاره‌های مورد ارزیابی با نمونه بردار[1] در آن‌ها تزریق شدند. به نحوی‌که در این مرحله ۱۰۰ میکرو لیتر از غلظت‌های ۱۰۰۰، ۵۰۰ و ۲۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر در چاهک ریخته شدند و به مدت ۲۴ ساعت و دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، کشت داده شدند. در این آزمون از دیسک کاغذی تتراسایکلین در چاهک وسط پلیت به عنوان کنترل مثبت استفاده گردید (Bano and Ayub, 2012; Murray et al., 1995). برای انجام آزمون ضد قارچی، ابتدا از کشت ۲۴ ساعته قارچ *Saprolegnia parasitica* کشت تازه‌ای در محیط سابرودکستروز[2] مایع به روش چشمی کدورت معادل نیم - مک‌فارلند[3]، سوسپانسیون قارچی تهیه گردید. سپس مطابق با روش گفته شده در مورد باکتری‌ها مراحل کار صورت گرفت و از مالاشیت گیرین[4] به عنوان کنترل مثبت استفاده شد. قارچ مورد نظر در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۴۸ ساعت کشت داده شد. میزان بافت مورد استفاده ۵۰ گرم بود (Murray et al., 1995). کلیه تیمارها با سه بار تکرار انجام شدند.

۲-۵ آزمون آنتی‌اکسیدانی

برای سنجش پتانسیل آنتی‌اکسیدانی هر چهار عصاره مورد نظر از روش MDA (مالون‌دی‌آلدهید) استفاده گردید. هر نمونه با سه بار تکرار آزمایش شد. در ارزیابی میزان پراکسیداسیون لیپیدها، مولکول مالون‌دی‌آلدئید به عنوان شاخصی از پراکسیداسیون لیپیدها است. کاهش تولید MDA نشان‌دهنده مهار پراکسیداسیون لیپید و خاصیت آنتی اکسیدان می‌باشد. مولکول‌های MDA در شرایط اسیدی و دمای بالا با تیوباربیتوریک اسید (TBA) واکنش داده و مجموعه MDA-TBA 2 را با رنگ ارغوانی تشکیل می‌دهند که شدت رنگ در طول موج ۵۳۲ نانومتر قابل اندازه‌گیری است. عصاره‌ها با غلظت ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تهیه شدند. مقدار ۱ میلی‌لیتر ازعصاره‌ها با ۳ میلی‌لیتر TBA ۰/۲٪ و ۲/۵ میلی‌لیتر سولفوریک اسید ۰/۰۵ مول مخلوط شدند. سپس به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب ۹۵ درجه سانتی‌گراد حرارت داده شدند و به مدت ۵ دقیقه در یخ خنک شدند. مواد رنگی موجود با استفاده از ۱- بوتانول در طول موج ۵۳۲ نانومتر خوانش شدند (Ohkawa et al., 1979).

۲-۶ آنالیز آماری

تحلیل واریانس یک‌طرفه (ANOVA) برای مقایسه میانگین توانایی ضد باکتریایی و ضد قارچی و ویژگی آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها (P= ۰/۰۵) به کار رفت. در صورت وجود اختلاف معنی‌دار از آزمون چند دامنه‌ای دانکن، با استفاده از بسته نرم افزاری Mini Tab، نسخه ۱۶ به منظور تعیین غلظت بهینه استفاده گردید.

۳. نتایج و بحث

حضور ترکیبات ضد باکتریایی در بسیاری از جانوران دریایی به عواملی نظیر محیط زندگی جاندار و نوع تغذیه‌ی آن‌ها بستگی دارد (Gooding et al., 2009). بنابراین، وجود ترکیبات زیست فعال موثر در یک گونه یا جنس در یک گستره جغرافیایی، موید وجود همان ویژگی‌ها در سایر نقاط نیستند. تفاوت فصل‌ها نیز می‌توانند روی اثربخشی ترکیبات ثانویه موجود موثر باشند. عدم مشاهده تاثیر ضد باکتریایی قوی در عصاره‌های استخراجی از گونه مورد مطالعه نسبت به سایر گونه‌های فاقد پوشش سخت خارجی، در برخی مطالعات دیگر هم مشاهده شده است. این امر را می‌توان به نقش محافظتی بالای پوشش صدفی در برابر عوامل بیماری‌زا نسبت داد (Mohammadizadeh et al., 2013). در واقع بررسی مکانیسم‌های دفاعی موجودات می‌تواند تا حدودی اثرات مورد انتظار را برای ما روشن سازد. اگرچه برخی گونه‌های مشابه دارای اثرات ضد باکتریایی مناسبی بوده‌اند و ترکیبات زیست فعال مهمی از آنها شناسایی و جداسازی شده اند، اما در این غربالگری اولیه تاثیر ضدمیکروبی بالایی مشاهده نشد. بررسی مطالعه حاضر نشان‌دهنده وجود سطوحی از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی در گونه مورد نظر بود. بنابراین آنالیزهای دقیق و بررسی‌های جزئی‌تر می‌توانند ماهیت این ترکیبات زیست‌فعال را روشن ساخته و در راستای دستیابی به ترکیبات نوین دریایی به ویژه مواد ضد سرطان راه‌گشا باشند. جانوران دریایی و ترکیبات زیست فعال موجود در آن‌ها، منبع وسیع و قابل دسترسی بوده که می‌توان در جهت یافتن ترکیبات دارویی نوین از آن‌ها استفاده نمود. جنس سیفوناریا از جنس‌هایی است که نسبت به سایر

[1] Sampler
[2] Sabouraud Dextrose
[3] 0.5 McFarland
[4] Malachite green

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.29252/JOC.2019.9.1201]
Downloaded from joc.inio.ac.ir at 10:55 IRDT on Wednesday April 10th 2019

گونه‌های دریایی مانند خیار دریایی و یا اسفنج، پژوهش‌های نسبتا اندکی روی آنها انجام شده ولی دستاوردهای ارزشمندی داشته‌اند که بررسی روی آنها منجر به شناسایی و تعیین اثر چندین ترکیب زیست فعال شده است (Carballeira et al., 2001; McQuaid et al., 1999; Paul et al., 1997).

در این مطالعه کلیه عصاره‌ها جهت بررسی فعالیت ضدمیکروبی بر باکتری‌های *Staphylococcus aureus*، *Escherichia coli*، *Salmonella typhi* و قارچ *Saprolegnia parasitica* به روش چاهک‌گذاری در غلظت‌های ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر مورد ارزیابی اولیه قرار گرفتند. نتایج به دست آمده نشان داد که هیچ کدام از عصاره‌های استخراجی دارای اثر ضد باکتریایی و ضد قارچی نبودند (P<۰/۰۵). در بررسی حاضر بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی مشاهده شده مربوط به عصاره اتانولی خشک با کمترین میزان پراکسیداسیون چربی ((انحراف استاندارد ± میانگین) ۰/۴۹ ± ۳۰/۵۴) و کمترین مقدار فعالیت آنتی‌اکسیدانی مربوط به عصاره آبی‌تر بود که دارای بیشترین میزان پراکسیداسیون چربی ((انحراف استاندارد ± میانگین) ۰/۷۴ ±۴۴/۴۵۳) می‌باشد (P<۰/۰۵). فعالیت آنتی‌اکسیدانی دو عصاره دیگر در بین این مقادیر قرار داشت که به ترتیب برای عصاره‌های آبی خشک و اتانولی تر (میانگین ۱۵/ ۱± ۴۲/۷۶۵ و میانگین ۷۴/ ۰± ۳۲/۹۲۷) بودند. با توجه به نتایج حاصل از آزمون دانکن،ن آنیشترینشلعات در این زمینه چشب مشاهده شد.ان دریایی بررسی کنونی به منظور ارزیابی برخی ویژگی‌های زیست پزشکی خاره چسب دریایی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های اتانولی در مقایسه با عصاره‌های آبی، بیشتر است (P<۰/۰۵). احتمالاً ترکیبات استخراج شده به آسانی با اتانول ترکیب می‌گردند. همچنین به دلیل کاهش فعالیت آنتی اکسیدانی در عصاره‌های آبی احتمالا این ترکیبات در آب غیرمحلول‌تر و غیرقطبی هستند. نتایج ارزیابی ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی در جدول ۱ آورده شده است.

جدول ۱: نتایج ارزیابی ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های مختلف استخراجی از خاره چسب دریایی

عصاره	تعداد نمونه	میانگین غلظت (nmol MDA/ml)	انحراف استاندارد	ضریب تغییرات (٪)
آبی خشک	۳	۴۲/۷۶۵	۱/۱۵۳	۲/۷
آبی تر	۳	۴۴/۴۵۳	۰/۷۴۱	۱/۶۷
اتانولی تر	۳	۳۲/۹۲۷	۰/۷۴۱	۲/۲۵
اتانولی خشک	۳	۳۰/۵۴	۰/۴۹۴	۱/۶۲

ترکیب مالوندی آلدهید یکی از محصولات پراکسیداسیون لیپیدی است که از پراکسید شدن آراشیدونیک اسید حاصل می‌گردد. این ترکیب فرآورده نهایی تجزیه لیپیدها توسط گونه‌های فعال اکسیژن است (هاشمی و همکاران، ۲۰۱۱) مالوندی‌آلدهید با ماکرومولکول‌هایی مانند اسیدهای آمینه، پروتئین و اسید نوکلئیک واکنش نشان می‌دهد (Pryor et al., 1976). وجود اسیدهای چرب غیراشباع در غشا سلولی و حساسیت لیپیدها به تهاجم رادیکال‌های آزاد در فرآیند پراکسیداسیون چربی موجب مرگ سلولی می‌گردند (هاشمی و همکاران،۲۰۱۱). به واسطه حضور احتمالی ترکیبات قطبی در عصاره‌های آبی نقش آنتی اکسیدانی عصاره‌های آبی حلزون دریایی *Siphonaria carbo* مشاهده شده است.

تاکنون مطالعات انجام شده روی جنس سیفوناریا منجر به شناسایی چندین مولکول به عنوان ترکیبات شناخته‌شده دارای ویژگی‌های زیست‌پزشکی جانور معرفی گردیده‌اند (Bromley et al., 2012). برای مثال ترکیبات زیستی مسوول بعضی خواص زیست‌پزشکی موجود در *Siphonaria japonica* شامل کلسترول و استئاریک اسید هستند(Bromley et al., 2012). به دلیل وجود کلسترول در دیواره سلولی جانورانی نظیر شکم‌پایان، نقش آنتی‌اکسیدانی این ترکیب می‌تواند دلیل خاصیت آنتی‌اکسیدانی قوی‌تر در عصاره الکلی باشد (Britton, 1984; Manker et al., 1989). با توجه به مقاومت‌های دارویی موجود در زمینه باکتری و قارچ‌های بیماری‌زا، آزمون‌های ضد باکتریایی و قارچی به منظور یافتن منابع آنتی‌بیوتیک طبیعی صورت می‌گیرند. در بررسی های انجام شده با استفاده از شکم‌پایان، اثرات متفاوت ضد باکتریایی و ضد قارچی مشاهده شده است. این تفاوت‌ها به دلیل نوع گونه مورد بررسی، منطقه جغرافیایی، رژیم متفاوت غذایی و نوع عصاره‌گیری هستند (Bano and Ayub, 2012). پکتیناتون یک آنتی‌بیوتیک پلی پروپیونات با حلقه y– هیدروکسی–a پیرون است که از خاره‌چسب *Siphonaria pectinata* جدا شده و دارای اثر ضد باکتریایی است (Biskupiak et al., 1983). Ravi و همکاران (۲۰۱۲) با مطالعه روی اثر ضد باکتری عصاره‌های استونی و متانولی دو شکم‌پای *Hemifusus pugilinus* و *Natica didyma* روی باکتری‌های *Escherichia coli*، *Staphylococcus aureus*، *Bacillus subtilis* و *Enterobacter aerogenes* اثرات ضد باکتریایی معنی‌داری گزارش شدند (P<۰/۰۵). قوی‌ترین اثر مربوط به عصاره متانولی شکم‌پای *Neverita didyma* نسبت به

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.29252/JOC.2019.9.1201]

Downloaded from joc.inio.ac.ir at 10:55 IRDT on Wednesday April 10th 2019

باکتری اشرشیاکولی با قطر هاله عدم رشد (۰/۳۹±۱۹/۳ میلی‌متر) بوده است (Ravi et al., 2012). در بررسی دیگری با استفاده از عصاره شکم‌پای *Hemifusus pugilinus* اثر ضد باکتریایی معنی‌دار بالایی روی *Staphylococcus aureus* با استفاده از عصاره متانولی آن مشاهده گردید (P<۰/۰۵) (Dhinakaran et al., 2011). همچنین در یکی از معدود پژوهش‌های انجام شده در سواحل پاکستان (Bano and Ayub, 2012)، با بررسی اثرات ضد باکتریایی انجام شده روی سه گونه از جنس *Siphonaria*، عصاره‌های مختلف سه گونه خاره چسب سیفوناریا (*S. ashgar*, *S. belcheri* و *S. kurracheensis*) اثرات ضد باکتریایی معنی‌داری روی چندین گونه باکتری بیماری‌زا داشته‌اند. اما برخی دیگر از عصاره‌ها مانند عصاره هگزانی، هگزان-کلروفرم گونه *S. ashgar* و عصاره هگزان، کلروفرم، عصاره آبی و آبی-متانولی *S. belcheri* و عصاره هگزان، کلروفرم، متانولی-کلروفرم، متانولی-آبی، کلروفرم-متانولی هیچ فعالیت ضد باکتریایی نداشته‌اند (Bano and Ayub, 2012) . همچنین Bano و Ayub (۲۰۱۲) گزارش نمودند که هیچ کدام از ۳ گونه ذکر شده، اثر ضدقارچی روی *Candida albicans*، *C. glabrata*، *Aspergillus flavus*، *Microsporum canis*، *Fusarium solani* نشان ندادند. در پژوهش کنونی اثر ضد باکتریایی معنی‌داری مشاهده نشد. اثرات ضد باکتریایی در بین عصاره‌های مختلف و گونه‌های مختلف متفاوت است، که این تفاوت را می‌توان به تفاوت میزان ترکیبات موثر مانند پلی پروپیونات‌ها در بین گونه‌های مختلف و عصاره‌های مختلف نسبت داد. میزان ترکیبات پلی‌پروپیونات تابع رژیم غذایی هستند و تفاوت‌های بین گونه نیز زیاد است. بنابراین تفاوت‌های گونه‌ای و نوع عصاره‌گیری و حتی فصل نمونه‌برداری می‌توانند روی میزان اثر ضد باکتریایی عصاره‌های استخراجی موثر باشند (Jerez et al., 2006; Bromley et al., 2012).

۴. نتیجه‌گیری

با توجه به اهمیت بررسی متابولیت‌های ثانویه جانداران دریایی، بررسی کنونی به منظور ارزیابی برخی ویژگی‌های زیست‌پزشکی خاره چسب دریایی *Siphonaria carbo* انجام شد. نتایج به دست آمده نشان دادند، هیچ‌کدام از عصاره‌های استخراجی دارای اثر ضد باکتریایی و ضد قارچی بالایی برای ادامه مطالعات در این زمینه نبودند. ولی ویژگی آنتی‌اکسیدانی در عصاره‌های استخراج شده از خاره چسب مورد مطالعه نشان داد که بیشترین میزان آن مربوط به عصاره اتانولی است. پیشنهاد می‌شود بررسی بیوشیمیایی دقیق برای تعیین ترکیبات موثر بر ویژگی آنتی‌اکسیدانی این گونه انجام گردد.

منابع

هاشمی، ع.؛ شمس، س.؛ براتی، م.؛ صمدانی، ع.، ۲۰۱۱. بررسی اثر ضد باکتریایی عصاره متانولی گیاهان آویشن شیرازی، مورد و اسپند برروی سوش های استاندارد و ایزوله های بالینی پسودوموناس آئروژینوزا حاوی بتالاکتاماز با طیف وسیع. مجله دانشگاه علوم پزشکی اراک، سال چهاردهم. شماره ۴. صفحات ۱۱۲-۱۰۴.

Aher, V.D.; Wahi, A.; Pawdey, A.M.; Sonawane, A., 2011. Antioxidants as immunomodulator: an expanding research avenue. International Journal of Current Pharmacological Reserach, 3(1): 810.

Ansell, A.D.; Gibson, R.N.; Barnes, M., 1999. The biology of siphonariid limpets (Gastropoda: Pulmonata). Oceanography and Marine Biology, An Annual Review, 37: 245-314.

Bandyopadhyay, U.; Das, D.; Banerjee, R.K., 1999. Reactive oxygen species: oxidative damage and pathogenesis. Current Science-Bangalore, 77: 658-666.

Bano, A.; Ayub, Z., 2012. Antibacterial and antifungal activity in three species of *Siphonaria* (Gastropoda: Pulmonata) collected from rocky ledge of Mubarak Village, Karachi. Pakistan Journl of Zoology, 44: 1493-1497.

Biskupiak, J.E.; Ireland, C.M., 1983. Pectinatone, a new antibiotic from the mollusc *Siphonaria pectinata*. Tetrahedron Letters, 24(30): 3055-3058.

Blaise, G.A.; Gauvin, D.; Gangal, M.; Authier, S., 2005. Nitric oxide, cell signaling and cell death. Toxicology, 208(2): 177-192.

Bogdan, C., 2001. Nitric oxide and the regulation of gene expression. Trends in Cell Biology, 11(2): 66-75.

Britton, K.M., 1984. The Onchidiacea (Gastropoda,

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.29252/JOC.2019.9.1201]
Downloaded from joc.inio.ac.ir at 10:55 IRDT on Wednesday April 10th 2019

hydroxyanisole from the perspective of effects on forestomach and oesophageal squamous epithelium. Food and Chemical Toxicology, 26(8): 717-723.

Idsoe, O.; Guthe, T.; Willcox, R.R.; De Weck, A.L., 1968. Nature and extent of penicillin side-reactions, with particular reference to fatalities from anaphylactic shock. Bulletin of the World Health Organization, 38(2): 159-188.

Indap, M.M.; Pathare, S.P., 1998. Cytotoxicity and bioactivity of some marine animals. Indian Journal of Geo-Marine Sciences, 27(3&4): 433-437.

Jamali, S.; Emtiazjoo, M.; Teymoori toolabi, L.; Zeynali, S.; Kaypoor, S.; Sardari, S.; Ramezani, A.; Azarang, P., 2010. Antibacterial effect of the Persian Gulf sea cucumber *Holoturia* sp. extracts on three strain of *Escherichia coli*. Pathobiology Research, 12(2): 37-49.

Jerez, J.; Cueto, M.; Díaz-Marrero, A.R., 2006. The chemistry of marine pulmonate gastropods. In Molluscs Springer, 105-131PP.

Lavanya, R.; Veerappan, N., 2011. Antibacterial potential of six seaweeds collected from Gulf of Mannar of southeast coast of India. Advances in Biological Research, 5(1): 38-44.

Manker, D.C.; Faulkner, D.J.; Stout, T.J.; Clardy, J., 1989. The baconipyrones. Novel polypropionates from the pulmonate *Siphonaria baconi*. The Journal of Organic Chemistry, 54(22): 5371-5374.

McQuaid, C.D.; Cretchley, R.; Rayner, J.L., 1999. Chemical defence of the intertidal pulmonate limpet *Siphonaria capensis* (Quoy and Gaimard) against natural predators. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 237(1): 141-154.

Mohammadizadeh, F.; Ehsanpor, M.; Afkhami, M.; Mokhlesi, A.; Khazaali, A.; Montazeri, S., 2013. Antibacterial, antifungal and cytotoxic effects of a sea cucumber *Holothuria leucospilota*, from the north coast of the Persian Gulf. Journal of the Marine Biological Pulmonata) of Hong Kong with a worldwide review of the genera. Journal of Molluscan Studies, 50(3): 179-191.

Bromley, C.L.; Popplewell, W.L.; Pinchuck, S.C.; Hodgson, A.N.; Davies-Coleman, M.T., 2012. Polypropionates from the South African marine mollusk *Siphonaria oculus*. Journal of Natural Products, 75(3): 497-501.

Carballeira, N.M.; Cruz, H.; Hill, C.A.; De Voss, J.J.; Garson, M., 2001. Identification and total synthesis of novel fatty acids from the siphonarid limpet *Siphonaria denticulata*. Journal of Natural Products, 64(11):1426-1429.

Centella, M.H.; Arévalo-Gallegos, A.; Parra-Saldivar, R.; Iqbal, H.M.N., 2017. Marine-derived bioactive compounds for value-added applications in bio-and non-bio sectors. Journal of Cleaner Production, 168: 1559-1565.

Davies-Coleman, M.T.; Garson, M.J., 1998. Marine polypropionates. Natural Product Reports, 15(5): 477-493.

Dhinakaran, A.; Sekar, V.; Sethubathi, G.V; Suriya, J., 2011. Antipathogenic activity of marine Gastropoda (*Hemifusus pugilinus*) from Pazhayar, South East Coast of India. International Journal of Environmental Sciences, 2(2): 524.

Finkel, T.; Holbrook, N.J., 2000. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. Nature, 408(6809): 239-247.

Garson, M.J., 1993. The biosynthesis of marine natural products. Chemical Reviews, 93(5): 1699-1733.

Gooding, R.A.; Harley, C.D.G.; Tang, E., 2009. Elevated water temperature and carbon dioxide concentration increase the growth of a keystone echinoderm. Proceedings of the National Academy of Sciences, 106(23): 9316-9321.

Grice, H.C., 1988. Safety evaluation of butylated

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.29252/JOC.2019.9.1201]

Downloaded from joc.inio.ac.ir at 10:55 IRDT on Wednesday April 10th 2019

Li, Z., 2005. Antioxidant activity of different sulfate content derivatives of polysaccharide extracted from *Ulva pertusa* (Chlorophyta) in vitro. International Journal of Biological Macromolecules, 37(4): 195-199.

Ravi, C.; Karthiga, A.; Venkatesan, V., 2012. Isolation and biomedical screening of the tissue extracts of two marine gastropods *Hemifusus pugilinus* (Born, 1778) and *Natica didyma* (Roding, 1798). Asian Fisheries Science, 25: 158-169.

Simone, L.R.L.; Maria Inês, G.L., 2017. Shell and body structure of the plesiomorphic pulmonate marine limpet *Siphonaria pectinata* (Linnaeus, 1758) from Portugal (Gastropoda: Heterobranchia: Siphonariidae). Folia Malacologica, 25(3): 147-164.

Smith, P.; Hiney, M. P.; Samuelsen, O.B., 1994. Bacterial resistance to antimicrobial agents used in fish farming: a critical evaluation of method and meaning. Annual Review of Fish Diseases, 4: 273-313.

Association of the United Kingdom, 93(5): 1401-1405.

Murray, P.R.; Baron, E.J.; Pfaller, M.A.; Tenover, F.C.; Yolken, R.H.; Morgan, D.R., 1995. Manual of clinical microbiology (6th edn). Trends Microbiol, 3: 449-449.

Norcross, R.D.; Paterson, I., 1995. Total synthesis of bioactive marine macrolides. Chemical Reviews, 95(6): 2041-2114.

Ohkawa, H.; Ohishi, N.; Yagi, K., 1979. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. Analytical Biochemistry, 95(2): 351-358.

Paul, M.C.; Zubía, E.; Ortega, M.J.; Salvá, J., 1997. New polypropionates from Siphonaria pectinata. Tetrahedron, 53(6): 2303-2308.

Pryor, W.A.; Stanley, J.P.; Blair, E., 1976. Autoxidation of polyunsaturated fatty acids: II. A suggested mechanism for the formation of TBA-reactive materials from prostaglandin-like endoperoxides. Lipids, 11(5): 370-379.

Qi, H.; Zhang, Q.; Zhao, T.; Chen, R.; Zhang, H.; Niu, X.;

www.SID.ir