



## بررسی اثرات ضد التهابی عصاره متانولی خیار دریایی خلیج فارس (*Holothuria leucospilota*) روی موش رت Rat

هادی غفاری<sup>۱\*</sup>، یزدان مرادی<sup>۲</sup>، ملیکا ناظمی<sup>۳</sup>، رضا صفری<sup>۴</sup>

۱- استادیارموسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

۲- دانشیارموسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

۳- استادیار پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بندرعباس، ایران

۴- مربی، پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، ساری، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۱/۲۵

تاریخ ارسال: ۱۳۹۸/۱۲/۱۰

### چکیده

خیار دریایی، یکی از مهم ترین گونه های خارپوستان، متعلق به رده خیار سانان است. ترکیبات زیست فعال شناخته شده آنها دارای اثرات ضد سرطانی، ضد انعقاد، ضد فشار خون، ضد التهاب، ضد میکروبی، آنتی اکسیدانی، ضد تصلب شرائین، ضد توموری و تسریع در بهبود زخم دارد. در این پژوهش اثر ضد التهابی عصاره متانولی دیواره عضلانی بدن خیار دریایی *Holothuria leucospilota* روی موشهای رت آلبینو (Albino rats) مورد بررسی قرار گرفت. خیارهای دریایی از جزیره هنگام جمع آوری، خشک و با هگزان، اتیل استات و متانول به صورت متوالی عصاره گیری شدند. عصاره ها بوسیله آزمایش مهارکننده آنزیم های لیپوکسیژناز در شرایط *in vitro* مورد ارزیابی قرار گرفت. در آزمایش های *in vivo*، حیوانات به ۵ گروه ۶ تایی شامل: کنترل، تیمار شده با کاراگینان، تیمار شده با عصاره (۱۰۰ و ۲۰۰ mg/kg) MEHL و اسپرین ۱۰ mg/kg تقسیم شدند. به منظور ارزیابی التهاب از تست کاراگینان در روش Hind paw edema استفاده شد. در آزمایش های *in vitro* عصاره متانولی (MEHL) با ۴۳/۷۵±۲/۸۳ و عصاره اتیل استات و هگزان به ترتیب ۱۲/۲۹±۱/۲۲ و ۹/۷۴±۱/۵۷ درصد مهارکنندگی آنزیم های لیپوکسی ژناز را نشان دادند و عصاره متانولی *Holothuria leucospilota* (MEHL) با اثر مهارکنندگی بیشتر برای آزمایش *in vivo* انتخاب شد. در آزمایش های حیوانی MEHL با غلظت های ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم، باعث مهارکنندگی ادم پا در ساعتهای ۳ و ۴ به ترتیب با ۳/۱±۱۳/۶۲ و ۵/۲±۱۵/۳۵ درصد و ۷/۱±۴۱/۱۸ و ۲/۳±۲۲/۴۵ درصد شد. نتایج این پژوهش نشان داد که عصاره متانولی خیار دریایی *Holothuria leucospilota* دارای ترکیبات ضد التهابی است و در مقایسه با داروی ضد التهابی استیل سالیسیلیک اسید توانست اثرات ضد التهابی بهتری از خود نشان دهد.

واژگان کلیدی: خیار دریایی، ضدالتهاب، متابولیت های ثانویه، حلال، کاراگینان، خلیج فارس.



## **Evaluation of anti-inflammatory effects of methanolic extract of Persian Gulf sea cucumber (*Holothuria leucospilota*) on rats (*Rattus rattus*)**

**Hadi Ghafari<sup>1\*</sup>, Yazdan Moradi<sup>2</sup>, Melika Nazemi<sup>3</sup>, Reza Safari<sup>4</sup>**

*1- Assistant Professor, Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Tehran, Iran*

*2- Associate Professor, Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Tehran, Iran*

*3- Assistant Professor, Persian Gulf & Oman Sea Ecological Research Institute, Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Bandar Abbas, Iran*

*4- Instructor, Caspian Sea Ecology Research Institute, Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Sari, Iran*

**Received: 8-Mar-2020**

**Accepted: 13-Apr-2020**

### **Abstract**

Sea cucumber is one of the most important species of Echinodermata, belongs to the category of Holothuroidea. Their well-known bioactive compounds have anti-cancer, anticoagulant, antihypertensive, anti-inflammatory, antimicrobial, antioxidant, anti-arterial, and wound-healing effects. In this study, the anti-inflammatory effect of methanolic extract on the muscular body wall of sea cucumbers *Holothuria leucospilota* on Albino rats was investigated. Sea cucumbers were collected from the Hengam Island, dried and extracted with hexane, ethyl acetate and methanol. The extracts were evaluated by lipoxigenase enzymes inhibition test in in vitro conditions. In in vivo experiments, the animals were divided into 5 groups of 6 rats, including: control, treated with carrageenan, treated with MEHL extract (100/200 mg / kg) and aspirin 10 mg/kg. In order to evaluate the inflammation, carrageenan test was used in Hind paw edema method. In in vitro experiments, methanolic extract (MEHL) with  $43.75 \pm 2.83$  and ethyl acetate and hexane extract showed  $12.92 \pm 1.22$  and  $9.74 \pm 1.57$  percent inhibition of lipoxigenase enzymes, respectively. Methanolic extract (MEHL) *Holothuria leucospilota* was selected for further in vivo testing. In animal experiments, MEHL, with concentrations of 100 and 200 mg/kg, inhibited hind paw edema at 3 and 4 hours, with  $13.62 \pm 1.3$  and  $35.15 \pm 2.5$  and,  $18.41 \pm 1.7$  and  $45.22 \pm 3.2$  percent, respectively. *Holothuria leucospilota* methanolic extract contains anti-inflammatory compounds that have shown better anti-inflammatory effects compared to the anti-inflammatory drug acetylsalicylic acid.

**Keywords:** Sea Cucumber, Anti-Inflammatory, Secondary Metabolites, Solvent, Carrageenan, Persian Gulf.

## ۱. مقدمه

خیار دریایی متعلق به شاخه خارپوستان و رده خیارسانان است. تقریباً ۱۴۰۰ گونه از این رده گزارش شده است. این گروه از بی‌مهرگان دریایی از نظر رژیم غذایی جزو سطوح پایین زنجیره غذایی محسوب می‌شوند، در بازچرخه مواد پوده‌ای نقش مهمی به عهده دارند و در زنجیره غذایی اکوسیستم‌های مناطق معتدله و آبسنگ‌های مرجانی مناطق گرمسیری بسیار موثر هستند. بیشتر مواد آلی که خیارهای دریایی به همراه رسوبات مصرف می‌کنند، توسط باکتری‌های موجود در لوله گوارش آن‌ها قابل هضم است. از این رو پوده‌خواران به این باکتری‌ها وابسته بوده و تجزیه پس مانده‌های گیاهی و جانوری را سرعت می‌بخشند. شن و ماسه‌ای که خیارهای دریایی می‌بلعند، به صورت دانه‌های شنی که به نخ کشیده شده باشد، دفع می‌گردد. این فرآیند به فرایند تهویه رسوبات کمک می‌کند. همچنین برخی گونه‌های نقب‌زن داخل رسوبات سبب نفوذ اکسیژن به درون رسوبات شده و به سلامتی اکوسیستم‌ها کمک می‌کند. تخم، لارو و نوزاد آن‌ها نیز منبع غذایی مهمی برای سایر جانوران دریازی اند (Bakus, 1973). خیارهای دریایی در سرتاسر جهان از استوا تا مناطق قطبی در همه اعماق وجود دارند و از مهمترین اعضای جوامع آب‌های ساحلی ماسه‌ای و گلی اعماق دریاها محسوب می‌شوند. مناطق گرمسیری کم‌عمق با دمای آب بالا بیشترین تنوع خیاران دریایی را در خود جای داده است. بیشترین افراد خانواده Holothuroidea در این مناطق ساکن هستند. در پشته‌های مرجانی تنوع این خانواده به اوج می‌رسد (Grzimek, 2004).

محیط دریایی منبعی غنی از فلور و فون دریایی است و فرآورده‌های طبیعی حاصل از آن‌ها دارای خواص و کاربردهای درمانی منحصر به فردی هستند. خیار دریایی که از نظر عملکردهای طبی با گیاه جینسینگ مقایسه می‌شود و جینسینگ دریایی نامیده شده است، از منابع غذایی هستند که به طور سنتی در بسیاری از کشورها از جمله آسیای غربی میانی مصرف دارد. خیار دریایی به طور

بالقوه دارای سوبستراهای فعال بیولوژیک متعددی مانند پلی‌ساکارید، پروتئین، چربی، ویتامین، فیبر محلول و مواد معدنی هستند که کاربردهای پزشکی متعددی در درمان سرطان، التهاب، آلرژی، دیابت، کاهش چاقی توسط پایین آوردن ارزش کالری وعده غذایی، کاهش جذب چربی و بیماری‌های قلبی عروقی، کاهش فشار خون و سایر بیماری‌های تحلیل برنده و مخرب دارند (Nikdel et al., 2014).

خیار دریایی به دلیل کاربرد در صنعت داروسازی و مواد غذایی مورد توجه اقتصادی کشورهای جنوب شرقی آسیا قرار گرفته است. خیارهای دریایی خشک شده و عمل‌آوری شده به عنوان یک ماده خوراکی در بازارهای آسیا فروخته می‌شوند. خیارهای دریایی ارزش غذایی بالایی دارند و دارای ترکیبات با ارزشی مانند ویتامین‌های A، B1، B2، B3، مواد معدنی، کلسیم، منیزیم، آهن و روی است. خیار دریایی دارای ذخیره پروتئینی بالا بوده و دارای چربی اندک می‌باشد که از دیگر مزایای خیارهای دریایی می‌باشد و به دلیل داشتن موکوپلی‌ساکارید کندروتین، توانایی متعادل‌سازی پروستاگلاندین‌ها را دارند (Vaez Nia et al., 2014).

تاکنون خواص بسیاری از عصاره‌های به‌دست آمده از خیار دریایی بررسی و اثبات شده است که می‌توان به خواص ضد میکروبی، ضد التهابی، ضد ویروسی، ضد انعقادی، ضد توموری، ضد سرطانی، تسریع بهبود زخم‌ها و آنتی-اکسیدانی اشاره کرد (Bordbar et al., 2011). حضور مواد زیست‌فعالی مانند کندروتین سولفات، گلیکوز آمینو گلیکان، ساپونین‌ها، پلی‌ساکاریدهای سولفات، گلیکو پروتئین‌ها، گلیکو اسفنگو لیپید و اسیدهای چرب ضروری را می‌توان عامل اصلی پیدایش این خواص در خیار دریایی دانست (Bordbar et al., 2011). با توجه به خواص بیولوژیک متابولیت‌های ثانویه خیارهای دریایی و اثبات اثر ضدالتهاب آن، در این پژوهش علمی به بررسی اثر ضدالتهابی عصاره متانولی خیار دریایی *Holothuria leucospilota* پرداخته شده است.

## ۲. مواد و روش‌ها

### ۲.۱. مواد

مواد و داروهای کاراگینان، ایندومتاسین و فرمالین از توزیع کننده شرکت شیمیایی مرک در تهران خریداری شد. سایر معرف های مورد استفاده با کیفیت عالی تهیه و استفاده شد.

### ۲.۲. نمونه برداری و عصاره گیری

نمونه های خیار دریایی گونه *Holothuria leucospilota* در مرداد و شهریور ماه سال ۱۳۹۴ با

غواصی از جزیره هنگام و جزیره قشم واقع در خلیج فارس صید شدند (شکل ۱-۲). نمونه های خیار دریایی در ابتدا به صورت طولی برش داده شد و اندام های داخلی و گنادها خارج و دیواره عضلانی قطعه قطعه، خشک و پودر شد و به صورت سریالی با حلال های هگزان، اتیل استات و متانول در بازه زمانی ۷۲ ساعت عصاره گیری و عصاره های هر حلال به صورت جداگانه جمع آوری و با دستگاه روتاری در دمای C ۴۰<sup>o</sup> و ۱۴۵ دور عصاره ها تغلیظ شدند.



شکل ۱- محل نمونه برداری که با علامت قرمز مشخص شده است (الف)، نمونه خیار دریایی گونه *H. leucospilota* (ب).

مهار آنزیم لیپوکسیژناز براساس روش Wangenstein با اندکی تغییرات انجام شد، بدین صورت که محلول واکنش شامل: 237 U/ml (واحد در میلی لیتر) آنزیم لیپوکسیژناز، 33 μM میکرو مول لینولئیک اسید و 2 M مول بافر بورات با تنظیم pH روی ۹ آماده شد. در واکنش لینولئیک اسید و آنزیم ماده 13-S-hydroperoxyoctadecadienoic acid (13-HPODE) تولید می شود و در نهایت هیدرولیز شده و به ماده 13-S-hydroxyoctadecadienoic acid (13-HODE) تبدیل می گردد. با افزایش عصاره حاصل از خیار دریایی به مخلوط واکنش، فعالیت آنزیم LOX با اندازه گیری جذب نوری در 234 nm نا نو متر هر ۳۰ ثانیه تا ۵ دقیقه اندازه گیری شد (Wangenstein et al., 2004).

### ۲.۲. آزمایش مهار آنزیمی لیپوکسیژناز (۱۵-)

#### lipoxygenase (LOX)

آنزیمهای لیپواکسیژناز از دسته پروتئین های آهن دار غیر همی هستند که مسئول پراکسیداسیون اسید های چرب غیر اشباع در گیاهان و حیوانات اند. اهمیت فعالیت این آنزیمها در بدن پستانداران و نقش آنها در ایجاد حساسیت ها، التهاب ها و حتی تشکیل برخی از سرطان ها به اثبات رسیده است.

آنزیم لیپوکسیژناز اسیدهای چرب اشباع نشده مانند اسید لینولئیک و اسید آراشیدونیک را به مشتقات هیدروپراکسی آنها تبدیل می کند. از این رو مهار کننده آنزیم LOX شاخص خوبی برای بررسی اثرات ضد التهابی است. عصاره های هگزان، اتیل استات و متانولی خیار دریایی *H. leucospilota* در غلظت ۱۰ میلی گرم در میلی لیتر برای فعالیت مهار کننده لیپوکسیژناز مورد آزمایش قرار گرفت.

## ۲. بررسی اثرات ضد التهابی کاراگینان بر روی

### رت

جهت بررسی بهتر و دقیق تر اثر ضد التهابی عصاره های انتخاب شده در روشهای قبلی از تست کاراگینان استفاده شد. در این روش کاراگینان (۱٪ w/v) به عنوان ماده التهاب دهنده عمل کرد و برای جلوگیری از اثر التهاب آن عصاره های خیار دریایی به عنوان داروی ضد التهاب استفاده شد. برای آزمایش ضد التهابی کاراگینان از ۳۰ عدد موش رت نژاد ویستار-آلبینو با وزن حدود ۱۶۰-۱۸۰ گرم استفاده شد و رت ها به پنج گروه شش تایی برای عصاره های دارای اثر ضد التهابی تقسیم شدند و تیمار های زیر را با شش تکرار شامل شدند.

۱- گروه اول- کنترل

۲- گروه دوم- تیمار با کاراگینان

۳- گروه سوم- تیمار عصاره MEHL با دوز mg/kg

۱۰۰ و کاراگینان

۴- گروه چهارم- تیمار عصاره MEHL با دوز

200 mg/kg و کاراگینان

۵- گروه پنجم- تیمار داروی استیل سالیسیلیک

اسید و کاراگینان

در این تست ۱۰۰ میکرو لیتر سو سپانسیون کاراگینان (۱٪ w/v) در کف پای رت تزریق شد و حجم پای رت در زمان صفر تا ۵ ساعت بعد از تزریق کاراگینان با دستگاه پله تیزموگراف اندازه گیری شد. عصاره ها یک ساعت قبل از تزریق کاراگینان از راه خوراک تجویز و مصرف شدند. بعد از اندازه گیری میزان التهاب تا ساعت پنجم، رت ها بیهوش شدند و بافت ملتهب شده کف پا بوسیله جراحی از حیوان جدا و در فرمالین تثبیت شد و برای آزمایشهای هیستولوژی (رنگ آمیزی HE) مورد استفاده قرار گرفت (Huang et al., 2010).

### ۵،۲. تجزیه و تحلیل بافت شناسی

برای مطالعات هیستوپاتولوژیک از روش استاندارد پردازش

بافت ها استفاده شد (Raghuramulu et al., 1983). بافت فیکس شده بعد از آماده سازی با میکروتوم برش داده شد و با همتوکسیلین و ائوزین رنگ آمیزی ی شد. برای تغییرات پاتولوژیک التهاب واکنش های القا شده پس از درمان با عصاره MEHL mg/kg ۱۰۰، mg/kg ۲۰۰، داروی استیل سالیسیلیک اسید (mg/kg ۱۰) و کاراگینان اسلاید های به دست آمده با استفاده از میکروسکوپ نوری (بزرگنمایی 1x400X) برای تغییرات پاتولوژیک مورد بررسی قرار گرفتند.

### ۶،۲. تجزیه و تحلیل آماری

برای مقایسه میانگین داده ها در میان تیمار ها از آزمون تجزیه واریانس یکطرفه (One-Way Analysis of Variance, ANOVA) استفاده شد و سطح اختلاف معنی دار در بین تیمارها بر اساس آزمون دانکن در سطح ۵ درصد تعیین گردید. از نرم افزار origin 8.5 در محیط ویندوز برای تجزیه و تحلیل داده ها استفاده شد.

### ۳. نتایج

#### ۱،۳. فعالیت مهارکنندگی آنزیم 15-

#### lipoygenase (LOX) با عصاره خیار دریایی

نمونه خیار دریایی *H. leucospilota* با استفاده از هگزان، اتیل استات و متانول به صورت سریالی عصاره گیری شد و درصد بازده هر حلال بترتیب ۱/۰۴، ۲/۰۷ و ۶/۴ درصد بود. فعالیت مهارکنندگی آنزیم لیپوکسیژناز هر عصاره در جدول ۱ نشان داده شده است. عصاره متانولی دارای فعالیت مهارکنندگی بیشتری  $2/83 \pm 43/75$  درصد نسبت به عصاره اتیل استات  $1/22 \pm 12/29$  درصد و عصاره هگزان  $1/57 \pm 9/74$  درصد است. این ممکن است به دلیل وجود ترکیبات مختلف فیتوشیمیایی موجود در آن باشد.

جدول ۱ - درصد مهارکنندگی آنزیم لیپوکسیژناز بوسیله عصاره های خیار دریایی (*H. leucospilota*)

گونه	% مهارکنندگی آنزیم لیپوکسیژناز		
	عصاره هگزان	عصاره اتیل استات	متانول
<i>H. leucospilota</i>	۹/۱±۷۴/۵۷	۱۲/۱±۲۹/۲۲	۴۳/۲±۷۵/۸۳

-داده ها نشان دهنده میانگین+ انحراف معیار سه تکرار جداگانه در شرایط یکسان است.

با گروه دوم که فقط با کاراگینان تیمار شده بودند با اختلاف معنی داری ( $P \leq 0.05$ ) نشان داد.

### ۳.۳. تجزیه و تحلیل بافت شناسی

این بخش نشان دهنده التهاب، ادم، خونریزی و نفوذ لکوسیتی، به طور عمده نوتروفیل ها در ناحیه ادم ناشی از کاراگینان است (شکل ۱، ۳).

گروه کنترل هیچ التهاب و تغییر نوتروفیل ها را نشان نمی دهد (شکل ۱، ۳ الف) اما شکل گیری ادم شدید در گروه تیمار کاراگینان دیده می شود که نشان دهنده فضاهای سفید و ناپدید شدن فیبر کلاژن است (شکل ۱، ۳ ب).

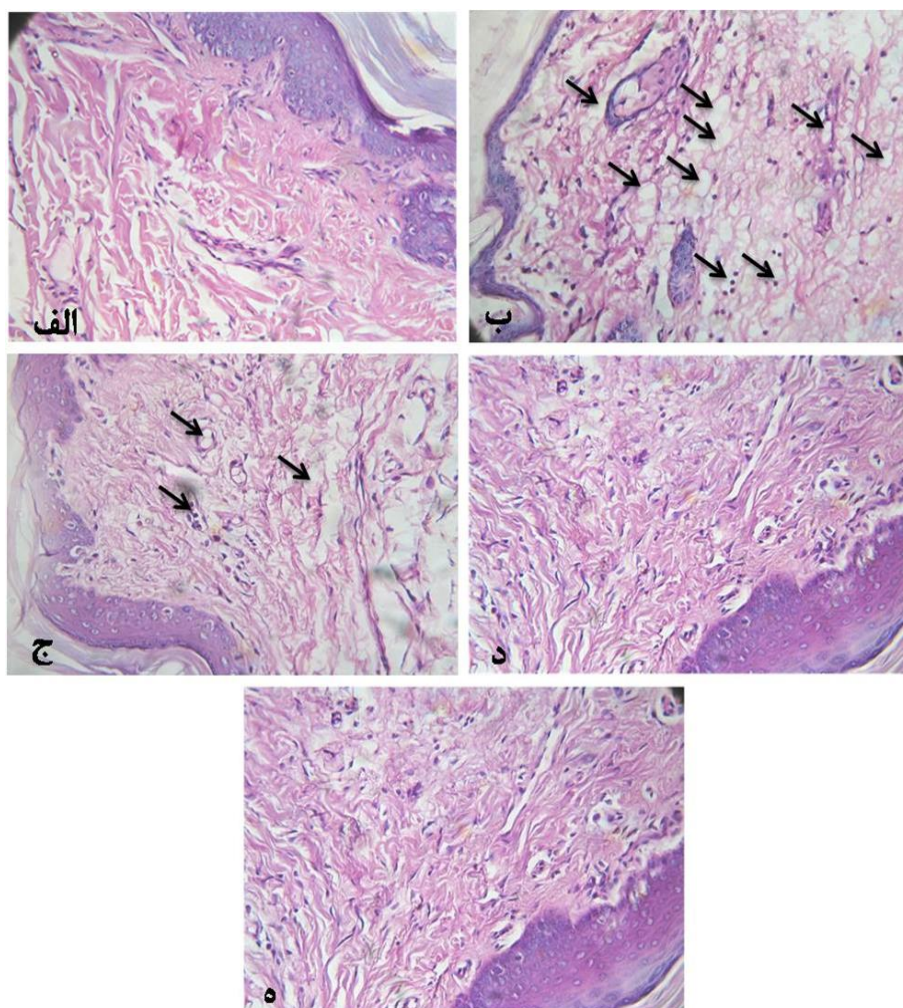
### ۳. اثرات ضد التهابی عصاره متانولی خیار دریایی (MEHL) به روش تزریق کاراگینان

نتایج حاصل از فعالیت ضد التهابی عصاره متانولی خیار دریایی *H. leucospilota* در التهاب ناشی از تزریق کاراگینان در جدول ۲ نشان داده شده است. یک ساعت پس از تزریق کاراژینان، ادم پا در تمام گروه ها مشاهده شد ولی در گروه هایی که تحت تیمار با MEHL اسید سالیسیک بعنوان کنترل مثبت قرار گرفتند ادم کمتری مشاهده شد. در گروه های سوم و چهارم دوزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم / کیلوگرم MEHL به ترتیب ۱/۳ و ۳/۲ و ۱۳/۶۲± و ۳۵/۱۵± درصد و ۱/۷ و ۱۸/۴۱± و ۴۵/۲۲± درصد کاهش مهارکنندگی ادم پا را در مقایسه

جدول ۲- اثر ضد التهابی MEHL بر ادم پا ناشی از کاراگینان

حجم ادم پا (میلی لیتر)					زمان
ΔH	۴H	۳H	۲H	۱h	گروه
۱/۰۹±۰/۰۶ ##	۱/۱۸±۰/۰۳ ##	۱/۱۴±۰/۰۶ ##	۱/۱۱±۰/۰۵ ##	۱/۰۳±۰/۰۴	۱
۱/۲۹±۰/۰۵	۱/۴۳±۰/۰۳	۱/۵۱±۰/۰۴	۱/۲۸±۰/۰۷	۱/۱۵±۰/۰۴ *	۲
۱/۰۹±۰/۰۴ ##	۱/۰۹±۰/۰۶ ##	۱/۱۵±۰/۰۷ ##	۱/۱۲±۰/۰۴ ##	۱/۰۸±۰/۰۵ *	۳
۰/۹۴±۰/۰۳ ##	۱/۰۲±۰/۰۵ ##	۱/۰۵±۰/۰۷ ##	۰/۹۷±۰/۰۲ ##	۰/۹۲±۰/۰۴ *	۴
۰/۸۵±۰/۰۷ ##	۰/۸۷±۰/۰۶ ##	۰/۹۱± ۰/۰۶ ##	۰/۸۵±۰/۰۲ ##	۰/۸۴±۰/۰۲ *	۵

الف: گروه اول-کنترل ب: گروه دوم-تیمار با کاراگینان-ج: گروه سوم-عصاره MEHL با دوز ۱۰۰ mg/kg و تیمار کاراگینان د: گروه چهارم-عصاره MEHL با دوز ۲۰۰ mg/kg و تیمار کاراگینان ه: گروه پنجم - داروی استیل سالیسیلیک اسید و تیمار کاراگینان. داده ها نشان دهنده میانگین+SEM (n= 6). \*:  $P \leq 0.05$  در مقایسه با گروه اول، ##  $P \leq 0.05$  در مقایسه با گروه دوم.



شکل ۲- رنگ آمیزی هماتوکسین و ائوزین (H / E) در بافت کف پای رت در مدل ناشی از کاراگینان: اسلایدهای تهیه شده از هر گروه نشان داده شده است (1x400X). گروه الف: کنترل (بدون دارو)؛ گروه ب: التهاب ناشی از کاراگینان؛ گروه ج و د: تیمار MEHL، 100 و 200 میلی گرم بر کیلوگرم و سپس تزریق کاراگینان؛ گروه ه: تیمار با استیل سالیسیلیک اسید (کنترل مثبت) و تزریق کاراگینان. بعضی از این تغییرات به وسیله فلش های سیاه به عنوان ادم، حفظ فیبر کلاژن و نفوذ سلول التهابی نشان داده شده است.

شده در رابطه با خواص زیستی خارپوستان نشان می دهد که بیشترین ترکیبات شیمیایی دارای خواص زیستی متعلق به خیارهای دریایی است، ترکیبات و عصاره های استخراج شده از گونه های خیار دریایی دارای اثرات زیستی مانند؛ ضدالتهاب است (Bordbar *et al.*, 2011).

واکنشهای التهابی توسط فاکتورهای اندروژن و یا اگزوژن ایجاد می شود و با ایجاد تغییرات سلولی یا بافتی قابل تشخیص است. این واکنش ها باعث تولید رایکال های آزاد اکسیژن می گردند. تا بحال داروهای ضد التهابی

#### ۴. بحث و نتیجه گیری

در سال های اخیر کشف ترکیبات طبیعی از منابع دریایی با کاربرد دارویی رو به افزایش است. نتایج مطالعات نشان می دهد که از سال ۲۰۰۸ تا کنون سالانه بیش از ۱۰۰۰ ترکیب طبیعی از منابع دریایی شناسایی شده است (Hu *et al.*, 2015). تحقیقات بسیاری در رابطه با جداسازی و شناسایی ترکیبات طبیعی انجام می شود و روزانه در بسیاری از آزمایشگاه های دنیا نتایج جدیدی در رابطه با خواص این ترکیبات کشف می شود، بررسی های انجام

دریابی نشان دادند (Whitehouse and Fairlie. 1994). استفاده از خیار های دریایی به عنوان یک ماده غذایی و دارویی، در حدود ۱۰۰۰ سال پیش در چین شروع شد و باعث رونق تجارت این آبی در منطقه گردید. خیارهای دریایی تازه و خشک شده قرن هاست که یک غذای آسیایی لذیذ به شمار می آید (Zhang et al., 2007).

در مطالعه دیگری که روی عصاره و بخش های جدا شده از عصاره در خیار دریایی گونه *Holothuria polii* انجام شد مشخص گردید که عصاره اتانولی و بخش جداسازی شده از عصاره آبی با کاهش مقدار اینترلوکین ۶، اکسید نیتریک و متالوپروتئیناز ۹ در موش های مبتلا به التهاب، فعالیت ضد التهابی از خود نشان می دهد (Kareh et al., 2018).

در مطالعه دیگری که در رابطه با فعالیت ضدالتهاب عصاره های قطبی گونه های خیار دریایی: *Holothuria tubulosa*, *Leptogorgia ceratophyta*, *Coscinasterias tenuispina* and *Phallusia fumigata* با استفاده از حلال های دیکلرومتان و متانول انجام شد مشخص گردید؛ عصاره های تولید شده با هر دو حلال باعث کاهش فعالیت سیکلواکسیژناز در بافت موش های مبتلا به التهاب می گردد، اما منجر به تغییر ساختار آنزیم سیکلواکسیژناز نمی شود (Herencia et al., 1998). در مطالعه دیگری که در رابطه با اثر ضدالتهاب عصاره متانولی استخراج شده از خیار دریایی *Holothuria Atra* انجام شد اثبات شد که این عصاره در غلظت ۱۰۰ تا ۲۰۰ میلی گرم/کیلوگرم منجر به کاهش ۵۰ درصدی التهاب ایجاد شده در موش های مبتلا می گردد (Lipton, 2014). این مطالعه همسو با اثر ضدالتهاب *H. leucospilota* استخراج شده از خیار دریایی در این پروژه تحقیقاتی است.

در این پروژه تحقیقاتی که اثرات ضد التهابی عصاره های متانولی، اتیل استات و هگزانی عضله گونه های خیار دریایی *H. leucospilota* به روش مهار آنزیمی لیپوکسیژناز مورد بررسی قرار گرفت، نشان داده شد که ترکیبات ضد التهابی فعال در عصاره متانولی قرار دارد و

غیراستروئیدی خارجی (NSAIDs) مختلفی به عنوان یک درمان موضعی استفاده شده است، اما استفاده از این داروها گاهی به دلیل عوارض جانبی محدود می گردد. برای جلوگیری از این عوارض نامطلوب تلاش های زیادی انجام شده تا بتوان ترکیبات جدیدی از منابع طبیعی و دارای عوارض کمتر استخراج و تولید کرد. در کشور های در حال توسعه، مواد دارویی طبیعی دارای خواص ضد التهابی و با عوارض و سمیت کمتر، در مقایسه با داروهای کلاسیک ضد التهابی موجود، در دسترس است و سعی و تلاش زیادی در جایگزینی این منابع دارویی، جای داروی ضد التهابی کلاسیک انجام شده است (khalili et al., 2006). گروه ها یا تیمار های سوم و چهارم حاوی دوزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم / کیلوگرم عصاره های متانولی عضله خیار دریایی کاهش مهارکنندگی، اثرات ضد التهابی را روی رت های نر آلبینو مبتلا به التهاب بعد از ۵ ساعت نشان دادند و براساس جدول ۳،۲ غلظت های ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم/کیلوگرم MEHL که عصاره انتخابی آزمایش مهار آنزیمی بود در این بازه زمانی التهاب حاصل از کاراگینان را توانست در ساعت ۳ و ۴ به ترتیب ۱۳/۶۲ و ۳۵/۱۵ درصد و ۱۸/۴۱ و ۴۵/۲۲ درصد نسبت به گروه کاراگینان کاهش دهد. همچنین مشابه این داروی ضد التهابی که به عنوان کنترل مثبت با غلظت ۱۰ میلی گرم/کیلوگرم و تزریق کاراگینان صورت گرفت توانست ادم و التهاب حاصل را در ساعت ۳ و ۴ به ترتیب ۳۰/۲۳ و ۳۷/۰۵ درصد کاهش دهد. جهت تایید اثرات ضد التهابی، بررسی بافت شناسی نشان داد که MEHL مشابه کنترل مثبت توانایی کاهش التهاب و ادم را داراست (شکل ۱).

در مطالعه ای که روی موش های مبتلا به التهاب لگن توسط وایت هاوس و فاریرل در سال ۱۹۹۴ انجام شد مشخص گردید، موش های دارای مدل التهابی در هر دو جنس (جنس نر و ماده) که با مکمل غذایی حاوی ۹۵ درصد خیار دریایی *Holothuria nobilis*, *Holothuria (axiologa and Stichopus variegatus)* و ۵ درصد جلبک قهوه ای (*Sargassum pallidum*) تغذیه شدند، روند بهبود را ناشی از اثر ضدالتهابی عصاره موجود در خیار



درصد های مهار کنندگی آنزیم لیپوکسیژناز نشان دهنده این است که عصاره متانولی *H. leucospilota* آنزیم ضد التهابی را با درصد بیشتری مهار می کند. به نظر می رسد عصاره متانولی خیار دریایی *H. leucospilota* دارای ترکیباتی است که اثرات ضد التهابی دارد و با پژوهش های تکمیلی می توان ماده موثره را جداسازی و در ساخت دارو های ضد التهابی از آنها استفاده نمود.

## ۵. منابع

### ۱,۴. تقدیر و تشکر

از موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور در فراهم آوردن بودجه و امکانات و همچنین از تمامی کسانی که در انجام این پژوهش همکاری نمودند، تشکر و قدر دانی می گردد.

## References

- Bakus, G. 1973. The biology and ecology of tropical holothurians. Academic press, New York, 480p.
- Bordbar, S., Anwar, F., Saari, N. 2011. High-value components and bioactives from sea cucumbers for functional foods- a review. *Marine Drugs* 9 (10), 1761-1805.
- Jackson, J.A., Olendorf, D., Bock, W.J. 2003. *Grzimek's Animal Life Encyclopedia*. 10, Birds III.
- Herencia, F., Ubeda, A., Ferrándiz, M.L., Terencio, M.C., Alcaraz, M.J., García-Carrascosa, M., Capaccioni, R., Payá, M. 1998. Anti-inflammatory activity in mice of extracts from mediterranean marine invertebrates. *Life Science* 62, 115-120.
- Hu, Y., Chen, J., Hu, G., Yu, J., Zhu, X., Lin, Y., Chen, S., Yuan, J. 2015. Statistical research on the bioactivity of new marine natural products discovered during the 28 years from 1985 to 2012. *Marine Drugs* 13 (1), 202-221.
- Huang, G. J., Huang, S. S., Lin, S. S., Shao, Y.Y., Chen, C.C., Hou, W. C., Kuo, Y.H. 2010. Analgesic effects and the mechanisms of anti-inflammation of ergostatrien-3 $\beta$ -ol from *antrodia camphorata* submerged whole broth in mice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58(12), 7445-7452.
- Kareh, M., El Nahas, R., Al-Aaraj, L., Al-Ghadban, S., Naser Al Deen, N., Saliba, N., El-Sabban, M., Talhouk, R. 2018. Anti-proliferative and anti-inflammatory activities of the sea cucumber *Holothuria polii* aqueous extract. *SAGE open medicine* 6, 2050312118809541.
- Khalil, N.M., Sperotto, J.S., Manfron, M.P. 2006. Antiinflammatory activity and acute toxicity of *Dodonaea viscosa*. *Fitoterapia*, 77(6), 478-480.
- Nikdel, N., Baharara, J., Shahrokhbadi, K., Amini, E. 2014. Cytotoxic Effect of Extracts of the Wall Cucumber Extract (*Holothuria arenicola*) on Malignant Cancer Cells. *Journal of Shahrekord University of Medical Sciences* 17(5), 33-43. (in persian)
- Raghuramalu, N., Nair, MK., Kalyanasundaram, SA. 2003. Manual of laboratory techniques, second edition. National Institute of Nutrition, KMR, Hyderabad, 201p.
- Vaez Nia, P., Salamat, N., Taghironagh, M., Hussein, R. 2014. Histological study of the skin of 7 species of marine cucumber offshore of the Persian Gulf (Hormozgan province). *Marine Biology* 6, 27-38. (in persian)
- Whitehouse, M.W., Fairlie, D.P. 1994. Anti-inflammatory activity of a holothurian (sea cucumber) food supplement in rats. *Inflammopharmacology* 2(4), 23-28.
- Wangensteen, H., Samuelsen, A.B., Malterud, K.E., 2004. Antioxidant activity in extracts from coriander. *Food chemistry* 88(2), 293-297.
- Zhang, J., 2007. Extraction, isolation, and structure elucidation of two new triterpene glycosides from sea cucumber *Holothuria nobilis*. *Chin Tradit Herb Drugs* 42 (8), 1467-1472.

