خواص ضد اکسیدان برون سلولی عصاره برخی اسفنج‌های دریایی سواحل چابهار

علی طاهری: دانشیار، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، چابهار، ایران (نویسنده مسئول). taheri@cmu.ac.ir
سمیرا جلالی نژاد: دانشجوی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، واحد بین‌الملل، تهران، ایران.
آرش شکوری: استادیار، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، چابهار، ایران.
پروین صادقی: استادیار، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، چابهار، ایران
مهدی نام آوری: دانشیار، موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی شعبه شیراز، شیراز، ایران.
مرتضی ضیاالدینی آورانی: استادیار، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، چابهار، ایران.
علی معتمد زادگان: دانشیار، دانشکده کشاورزی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۴/۸/۱۶ تاریخ پذیرش: ۹۴/۱۱/۱۰

چکیده

زمینه و هدف: رادیکال‌های آزاد می‌تواند منجر به بروز بیماری‌های مختلف گردند. امروزه تحقیقات زیادی برای شناسایی منابع طبیعی ضد اکسیدان انجام می‌شود. اسفنج‌های دریایی به‌عنوان یک منبع مهم دارویی آینده می‌باشد. در تحقیق حاضر به بررسی خواص ضد اکسیدانی عصاره‌های ۴ نوع اسفنج دریایی سواحل چابهار پرداخته شده است.

روش کار: پس از جمع‌آوری و شناسایی گونه‌های اسفنج، جهت استخراج ترکیبات زیست فعال از دو حلال آب مقطر و متانول ۹۶٪ استفاده گردید. پس از سنجش محتوای کلی فنل، فعالیت حذف رادیکال آزاد، کلاته کردن یون آهن (II) و قدرت کاهندگی عصاره ها سنجش و با استانداردهای هر روش مقایسه شد. جهت آنالیز آماری از آزمون تی تست غیر جفتی برای مقایسه عصاره‌های آبی و الکلی استفاده شد. از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۱ برای این منظور استفاده گردید.

یافته‌ها: عصاره آبی اسفنج‌های Dysideidae، Halichondriidae و Callyspongia نسبت به عصاره الکلی فعالیت حذف رادیکال آزاد بیشتری نشان دادند ($p< ۰/۰۰۰۱$). در اسفنج Clionaidae حذف رادیکال آزاد عصاره الکلی بیشتر بود ($p< ۰/۰۰۰۱$). در تمامی اسفنج‌ها به‌جز عصاره الکلی Clionaidae میزان فعالیت کلاته کنندگی زیاد بود ($p< ۰/۰۰۰۱$) و فعالیت عصاره اسفنج‌های Dysideidae و Callyspongia با اتیلن دی آمین تترا آمینو استیک اسید به‌عنوان استاندارد برابری می‌کرد. قدرت کاهشی در تمامی عصاره‌ها قابل قبول بود و عصاره آبی بهتر از عصاره الکلی بود. بیشترین محتوای فنل مربوط به اسفنج Dysideidae و کمترین میزان مربوط به اسفنج Clionaidae بود.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد که عصاره اسفنج‌های مورد مطالعه فعالیت آنتی‌اکسیدانی خوبی به‌ویژه در فعالیت کلاته کنندگی یون‌های فلزی نشان می‌دهند و با مطالعات تکمیلی کلینیکی می‌توان به ساخت داروهای ضد اکسیدان از این عصاره‌ها مبادرت ورزید.

کلیدواژه‌ها: اسفنج، ضد اکسیدان، رادیکال آزاد، عصاره، کلاته کنندگی، کاهندگی

مقدمه

امروزه دانشمندان متعدد به دنبال استخراج و شناسایی ترکیبات زیست فعال برای رفاه و آسایش نسل بشر هستند (۱). اسفنج‌ها بی‌مهرگان چند سلولی ابتدایی می‌باشند و در طول ۵۰ سال گذشته به عنوان منبع طلای دریایی شناخته شده‌اند. ترکیبات متعدد استخراج شده از اسفنج ها علیه بسیاری از بیماری ها چون سرطان، ایدز و تنوع گسترده‌ای از ویروس، باکتری و قارچ‌های بیماری‌زا کاربرد دارد (۲). اگرچه بسیاری از ترکیبات زیست فعال در اسفنج ها شناسایی شده اما تعداد بسیار کمی از آن‌ها تجاری شده است (۳). بسیاری از این متابولیت‌های ثانویه اسفنج‌ها مسیری برای تولید بالقوه داروها می‌باشند (۴). تولید دارو از منابع دریایی یک موقعیت فوق‌العاده ایجاد می‌کند و بنابراین در دهه اخیر توجه زیادی به آن معطوف شده است (۵).

بر اساس گزارش Ireland و همکاران (۶) جلبک ها منبع ۳۵٪ مواد شیمیایی جدید کشف شده بین سال‌های ۱۹۷۷ تا ۱۹۸۷ بودند و اسفنج ها در مقام بعدی قرار داشتند. صدها گزارش علمی جدید تأثیر بیولوژیکی متابولیت‌های حاصل

از اسفنج‌ها را نشان داده است. اسفنج‌ها پتانسیل تولید داروهای آینده علیه بیماری‌های مهم مثل سرطان، رنج گسترده‌ای از بیماری‌های ویروسی، مالاریا و ناراحتی‌های قلبی و عروقی را دارا می‌باشند. همچنین عملکرد مولکولی بسیاری از متابولیت‌ها هنوز ناشناخته است. ارتباط بین اسفنج ها و داروها به دوران الکساندرین رومی باز می‌گردد که توسط پلینیوس تاریخ نویس رومی توصیف شده است. در آن زمان از اسفنج‌ها که سرشار از ید می باشد برای لخته کردن خون استفاده می‌شده است. از ترکیب اسفنج و گیاهان دارویی برای بیهوش کردن بیماران و یا در ترکیب با الکل برای تسکین درد قلب به صورت ماساژ و یا در ترکیب با ادرار برای درمان نیش حشرات استفاده می‌شده است. همچنین اسفنج ها علیه گرمازدگی، زخم ها، شکستگی استخوان، استسقاء، درد معده، بیماری‌های عفونی و تومورهای بیضه و یا پیوند بعد از جراحی سینه استفاده داشته است (۷، ۸). در قرن ۱۸ پزشکان روسی، اوکراینی و لهستانی از نوعی اسفنج آب شیرین به نام Bodiaga جهت درمان بیماران استفاده می‌کرده‌اند (۹). در حال حاضر شربت حاوی این اسفنج برای درمان سرفه‌های خشک و آسمی در غرب استفاده می‌شود (۱۰).

اسفنج‌ها متابولیت‌های زیست فعال را به‌عنوان قسمتی از سیستم دفاعی خود تولید می‌کنند. تغییرات فصلی روی فاکتورهایی چون دما، pH، شوری و همین‌طور فاکتورهای زیستی مثل مورفولوژی و تنوع همزیستان که مسئول سنتز متابولیت‌های ثانویه‌اند اثر می‌گزارد (۱۱، ۱۲). ترکیبات طبیعی تولید شده توسط اسفنج ها بیش از میزان تولید شده توسط پوشش گیاهی خشکی زی است. همچنین بیشترین مطالعات یافت ترکیبات طبیعی دریایی با خواص ضد سرطانی روی اسفنج‌ها انجام شده است (۱۳).

طبق تحقیقات مواد فیتوشیمیایی مختلف موجود در اسفنج‌ها به محافظت در برابر سرطان، بیماری‌های قلبی و عروقی، کاتاراکت، دژنراسیون مولکولی، پیری و مواد دیگر کمک می‌کند. این مواد فیتوشیمیایی به عنوان آنتی اکسیدان عمل می کنند و رادیکال‌های آزاد را حذف کرده و سلول را از خسارت اکسیداتیو حفظ می‌کنند.

تا کنون بیش از ۱۵۰۰۰ ترکیب زیست فعال دریایی گزارش شده است و اسفنج ها مسئول بیش از ۵۳۰۰ ترکیب متنوع آن می‌باشند و هر ساله صدها ترکیب جدید کشف می‌شود (۱۴). ترکیبات زیست فعال اسفنج‌ها به‌عنوان عامل ضد التهاب، ضد تومور، سرکوب کننده سیستم ایمنی یا سیستم عصبی، ضد ویروس، ضد باکتری، ضد مالاریا و ضد کلنی مزاحم طبقه بندی می‌شوند. تنوع شیمیایی ترکیبات اسفنج ها نیز قابل توجه است. بعلاوه نوکلئوزیدهای غیر طبیعی، ترپن ها، استرول ها، پپتیدهای حلقوی، آلکالوئیدها، اسیدهای چرب، مشتقات اسیدهای آمینه که اغلب هالوژنه هستند از اسفنج ها گزارش شده است (۱۵).

از سوی دیگر امروزه بیماری های مرتبط با رادیکال‌های آزاد و عوامل ایجاد اکسیداسیون باعث آسیب‌های جدی می شوند که می تواند منجر به بروز سرطان و یا رنج گسترده ای از بیماری‌های دیگر گردد (۱۶). بسیاری از آنتی اکسیدان‌های سنتزی می توانند برای جلوگیری از فعالیت پراکسیدان ها به شیوه‌های مختلف به کار روند؛ اما مسائل سلامت و نگرانی مصرف کنندگان از مصرف محصولات سنتزی مصنوعی محدودیت‌هایی را برای استفاده از این مواد بوجود آورده است. امروزه علاقه زیادی برای شناسایی منابع جدید و طبیعی آنتی اکسیدان بوجود آمده که تحقیقات گسترده‌ای را در سال‌های اخیر به خود اختصاص داده است. بر اساس گزارش ها ترکیبات زیست فعالی که از منابع مختلف تهیه شده خواص ضد فشار خون (۱۷)، آنتی اکسیدان، ضد سرطان (۱۸) و ضد میکروبی دارد.

تحقیق روی منابع جدید از جمله منابع دریایی یکی از راهکارهایی است که می تواند در حل این مشکل چاره ساز باشد و اسفنج‌های دریایی به‌عنوان یک منبع قابل برنامه ریزی در این عرصه مورد توجه می‌باشد (۱۹).

در کشور ایران در حاشیه سواحل خلیج فارس و دریای مکران اسفنج‌های دریایی پراکنده است. تا

کنون مطالعهای روی ترکیبات دارویی اسفنج‌های سواحل جزر و مدی چابهار انجام نشده است. سواحل دریای مکران و چابهار با دارا بودن منابع غنی زیستی می تواند مرکز تحقیقات زیست فناوری دارویی دریایی باشد. با توجه به وجود گونه های مختلف اسفنج های دریایی در این منطقه در تحقیق حاضر به بررسی خواص ضد اکسیدانی عصاره های چند نوع اسفنج دریایی موجود در این سواحل پرداخته شده است.

روش کار

نمونه برداری با برداشت از سواحل صخره ای چابهار در هنگام جذر و همچنین نمونه بردای توسط غواصی تا عمق ۵ متر طی ۵ ماه در ساحل دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، تیس و رمین انجام گردید. اسفنج‌های صید شده ابتدا با آب دریا و سپس با آب مقطر شستشو گردید و تا زمان آنالیز در فریزر ۲۰- درجه سانتی گراد نگه داری شد. جهت شناسایی نمونه های اسفنج قسمتی از بافت نمونه در اسید نیتریک ۶۰٪ هضم گردید تا اسپیکولهای موجود در بافت آزاد شده و سپس ۴ بار با آب و یک بار با اتانول ۹۶٪ شستشو گردید. اسپیکول ها روی سطح لام خشک شدند و توسط میکروسکوپ نوری مجهز به دوربین از آن‌ها عکس برداری گردید تا جهت شناسایی استفاده شود (۲۰).

جهت استخراج ترکیبات زیست فعال از دو حلال آب مقطر و متانول ۹۶٪ استفاده گردید. ۱۰ گرم نمونه آماده شده در ۵۰ میلی لیتر حلال قرار گرفت و به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت در تاریکی و دمای اتاق نگه داری شد. سپس با کاغذ صافی شماره ۴۲ واتمن صاف و توسط خشک کن انجمادی خشک گردید. برای تعیین محتوای کلی فنل ۱ میلی لیتر از هر نمونه با ۱/۸ میلی لیتر راجنت فولین-سیوکالتو مخلوط شده و مخلوط ۵ دقیقه در ۲۵ درجه سانتی گراد نگه داری شد. سپس ۱/۲ میلی لیتر محلول کربنات سدیم اضافه و جذب خوانده شد. از اسید گالیک به‌عنوان استاندارد استفاده گردید. فعالیت حذف رادیکال آزاد دیفنیل پیکریل هیدرازیل α,α-diphenyl-β-picrylhydrazyl (DPPH) توسط روش تغییر یافته Shimada و همکاران (۲۱) انجام گرفت. بر این اساس محلول حاوی رادیکال آزاد DPPH با نمونه مخلوط شد (۱/۵ میلی لیتر در اتانول). مخلوط تکان داده شده و پس از ۳۰ دقیقه در دمای اتاق جذب در ۵۱۷ نانومتر سنجیده شد. برای کنترل محلول اتانول به جای نمونه تهیه گردید. بوتیل هیدروکسی تولوئن برای مقایسه استفاده شد. فعالیت حذف رادیکال آزاد بر اساس فرمول زیر سنجیده شد:

$$DPPH\ radical\ scavenging\ capacity\ (\%) = 1 - \frac{A_{517}\ sample}{A_{517}\ control} \times 100$$

فعالیت کلاته کردن یون آهن (II) بر اساس روش تغییر یافته Dinis و همکاران (۲۲) سنجش شد. بر این اساس به نمونه محلول ۲ میلی مولار یون آهن فرو اضافه شده و بعد از ۳ دقیقه واکنش با افزودن فروزین ۵ میلی مولار متوقف شد. مخلوط شدیداً تکان داده شد و برای ۱۰ دقیقه در دمای اتاق ثابت ماند. جذب مخلوط در ۵۶۲ نانومتر سنجیده شد و یک شاهد بدون نمونه به شیوه مشابه تهیه گردید. از اتیلن دی آمین تترا آمینو اسید جهت مقایسه استفاده شد. ظرفیت کلاته کردن با فرمول زیر سنجش شد:

$$Fe^{2+} Chelating\ activity\ (\%) = \frac{Blank - Sample}{Blank} \times 100$$

قدرت کاهندگی عصاره ها بر اساس روش تغییر یافته Oyaizu (۲۳) سنجیده شد. بر این اساس ۱ میلی لیتر نمونه با ۱ میلی لیتر فسفات بافر (۶/۶= pH) و ۱ میلی لیتر پتاسیم فری سیانید مخلوط شد. مخلوط در ۵۰ درجه سانتی گراد ۲۰ دقیقه انکوبه شده و سپس مخلوط تری کلرو استیک اسید ۱۰٪ به میزان ۱ میلی لیتر افزوده شد. قسمتی از مخلوط با ۲ میلی لیتر آب مقطر مخلوط شده و کلرید فریک ۰/۱٪ اضافه گردید. بعد از ۱۰ دقیقه جذب در ۷۰۰ نانومتر سنجیده شد. افزایش میزان جذب نشان دهنده افزایش قدرت کاهندگی است. آسکوربیک اسید به‌عنوان استاندارد استفاده شد. جهت آنالیز آماری از آزمون تی تست غیر جفتی برای مقایسه عصاره‌های آبی و

الکلی استفاده شد. از نرم افزار SPSS نسخه ۲۱ برای این منظور استفاده گردید.

یافته‌ها

استخراج اسپیکول ها شناسایی بر اساس کلیدهای شناسایی معتبر انجام شد و خانواده های نام برده در این گزارش شناسایی گردید. در این مطالعه فعالیت حذف رادیکال آزاد DPPH توسط بوتیل هیدروکسی تولوئن ۱ ± ۸۱/۲۱٪، فعالیت کلاته کنندگی یون آهن فرو توسط اتیلن دی آمین تترا آمینو استیک اسید ۰/۰۳ ± ۹۹/۵۵٪ و جذب قدرت کاهشی آسکوربیک اسید به‌عنوان استاندارد ۰/۲ ± ۲/۳ بود.

فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های آبی و الکلی اسفنج Dysideidae در جدول ۱ آورده شده است. عصاره آبی این اسفنج نسبت به عصاره الکلی فعالیت آنتی‌اکسیدانی بسیار بیشتری را نشان داد (p< ۰/۰۰۰۱). فعالیت کلاته کردن یون فلزی هر دو نوع عصاره بسیار زیاد بود و با اتیلن دی آمین تترا آمینو استیک اسید برابری می کرد. فعالیت قدرت کاهشی عصاره آبی این نوع اسفنج بسیار بالاتر از عصاره الکلی بود (p< ۰/۰۰۰۱). بیشترین محتوای کلی فنول مربوط به این اسفنج بود.

فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های آبی و الکلی اسفنج جنس callyspongia متعلق به خانواده Callyspongiidae در جدول شماره ۲ آورده شده است. عصاره آبی این اسفنج نسبت به عصاره الکلی فعالیت حذف رادیکال ازاد بسیار بیشتری را نشان داد (p< ۰/۰۰۰۱). فعالیت کلاته کردن یون فلزی هر دو نوع عصاره بسیار زیاد بود و با اتیلن دی آمین تترا آمینو استیک اسید برابری می کرد. فعالیت قدرت کاهشی هر دو نوع عصاره برابر بود.

فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های آبی و الکلی اسفنج Halichondriidae در جدول ۳ آورده شده است. عصاره آبی نسبت به عصاره الکلی فعالیت حذف رادیکال آزاد بیشتری نشان داد (p<۰/۰۰۰۱). فعالیت کلاته کنندگی یون فلزی هر دو نوع عصاره برابر بود اما قدرت کاهشی عصاره آبی اختلاف معنی داری با عصاره الکلی نشان داد (p< ۰/۰۰۰۱).

فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های آبی و الکلی اسفنج Clionaidae در جدول ۴ آورده شده است.

جدول ۱- فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های آبی و الکلی اسفنج Dysideidae

نوع عصاره استخراجی	فعالیت حذف رادیکال آزاد DPPH	فعالیت کلاته کردن یون آهن	قدرت کاهشی
عصاره آبی	۳۶/۵۱ ± ۱/۱a	۹۹/۱ ± ۰/۱a	۱± ۰/۰۲ a
عصاره الکلی	۹/۴۷ ± ۰/۱۱b	۹۸/۴۷ ± ۰/۰۱a	۰/۳۲ ± ۰/۰۲b
محتوی کلی فنل	۴۰ ± ۰/۲		

مقادیر بر اساس انحراف معیار ± میانگین بیان شده اند و حروف غیر هم نام در هر ستون نشان از اختلاف معنی دار می باشد.

جدول ۲- فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره های آبی و الکلی اسفنج جنس callyspongia متعلق به خانواده Callyspongiidae

نوع عصاره استخراجی	فعالیت حذف رادیکال آزاد DPPH	فعالیت کلاته کردن یون آهن	قدرت کاهشی
عصاره آبی	۲۳/۳۷ ± ۰/۱۷ a	۹۶/۳۱ ± ۰/۰۳ a	۰/۷۴ ± ۰/۲ a
عصاره الکلی	۹/۰۱ ± ۰/۰۲ b	۹۷/۹۳ ± ۰/۰۱ a	۰/۸۴ ± ۰/۱۴ a
محتوی کلی فنل	۱۲/۰۳± ۰/۰۳		

مقادیر بر اساس انحراف معیار ± میانگین بیان شده اند و حروف غیر هم نام در هر ستون نشان از اختلاف معنی دار می باشد.

جدول ۳- فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره های آبی و الکلی اسفنج Halichondriidae

نوع عصاره استخراجی	فعالیت حذف رادیکال آزاد DPPH	فعالیت کلاته کردن یون آهن	قدرت کاهشی
عصاره آبی	۱۷/۷۳ ± ۱/۱ a	۸۸/۹۴ ± ۰/۰۹ a	۱/۲ ± ۰/۲۱ a
عصاره الکلی	۹/۴۱ ± ۰/۰۷ b	۸۶/۴۲ ± ۰/۰۷ a	۰/۲۱ ± ۰/۱ b
محتوی کلی فنل	۲۱/۲ ± ۰/۴		

مقادیر بر اساس انحراف معیار ± میانگین بیان شده اند و حروف غیر هم نام در هر ستون نشان از اختلاف معنی دار می باشد.

جدول ۴- فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره های آبی و الکلی اسفنج Clionaidae

نوع عصاره استخراجی	فعالیت حذف رادیکال آزاد DPPH	فعالیت کلاته کردن یون آهن	قدرت کاهشی
عصاره آبی	۲۳/۳۷ ± ۰/۸۱ b	۷۲/۳۹ ± ۰/۰۲ a	۰/۳۸ ± ۰/۲۱ a
عصاره الکلی	۳۲/۸۱ ± ۰/۲ a	۲۶/۴۴ ± ۰/۱ b	۰/۱۹ ± ۰/۰۲ a
محتوی کلی فنل	۷/۰۹ ± ۰/۰۲		

مقادیر بر اساس انحراف معیار ± میانگین بیان شده اند و حروف غیر هم نام در هر ستون نشان از اختلاف معنی دار می باشد.

عصاره الکلی اسفنج مذکور نسبت به عصاره آبی فعالیت حذف رادیکال آزاد بالاتری نشان داد ($p< ۰/۰۰۰۱$)؛ اما فعالیت کلاته کنندگی عصاره آبی بالاتر بود و اختلاف معنی داری با عصاره الکلی داشت ($p< ۰/۰۰۰۱$). قدرت کاهشی عصاره آبی بالاتر از الکلی بود اما فاقد اختلاف معنی داری با هم بودند ($p>۰/۱۹۳$). کمترین محتوای کلی فنول مربوط به این اسفنج بود.

بحث و نتیجه‌گیری

در تحقیق حاضر نیز میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی ۴ اسفنج از آبهای دریایی چابهار بررسی گردید. مطالعه نشان داد که هر ۴ گونه دارای فعالیت های آنتی‌اکسیدانی با درجات متعدد می‌باشند. این فعالیت در عصاره‌های آبی و الکلی به درجات متفاوت دیده شد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی از نوع حذف رادیکال آزاد، فعالیت کاهندگی یا کلاته کننده بود.

علاقه به جنبه های دارویی اسفنج‌های دریایی در اوایل ۱۹۵۰ با کشف نوکلئوزیدهای Spongothymidine و Spongouridine در اسفنج دریایی Cryptotethia crypta ایجاد شد (۲۴). این نوکلئوزیدها اساس تولید و سنتز Ara-C، اولین داروی ضد سرطان با منشاء دریایی و Ara-A به‌عنوان داروی ضد ویروس بودند (۲۵). داروی Ara-C امروزه داروی روتین در درمان لوکمی و تومور لنفی است. یکی از مشتقات فلورینه آن نیز برای استفاده بیماران سرطانی پانکراس، سینه، مثانه و شش تایید شده است (۲۶).

اکسیداسیون توسط رادیکال های آزاد می‌تواند به پراکسیداسیون لیپیدها، تخریب پروتئین های غشایی و جهش DNA منجر شود. این مساله یکی از دلایل بیماری‌های سرطانی، قلبی عروقی و مفاصل دیابت، آلزایمر و بیماری‌های دیگر می‌شود. به‌عنوان مثال گفته می شود، نشانه های بیماری آلزایمر انباشت پروتئینβ آمیلوییدر در کانال های عصبی مغز ناشی از واکنش‌های اکسیدی است. علاوه بر این محتوای کربونیل‌های پروتئین در نمونه‌های مغزی بیماری آلزایمر بیشتر از نمونه های کنترل بوده است. آنتی اکسیدان های با فعالیت ضد رادیکالی نقش مهمی در جلوگیری از این بیماری‌ها بازی می‌کنند (۲۷).

رادیکال‌های آزاد از طریق واکنش‌های طبیعی در زمان تنفس در بدن موجودات هوازی بویژه مهره داران و انسانها ایجاد می شود (۲۸، ۲۹). آلودگی هوا و اکسیدان های موجود در تنباکو نیز می‌تواند باعث چندین نوع واکنش خطرناک در پوست گردد یا می تواند جذب جریان خون شده و تاثیرات منفی داشته باشد. بعلاوه اشعه ماوراء بنفش باعث تحریک و تولید اکسیدان های متنوعی می شود. گونه های اکسیژن فعال و رادیکال آزاد مثل آنیون سوپر اکساید (O_2^{-}•)، رادیکال هیدروکسیل (OH•) و پراکسید هیدروژن (H_2O_2) محصولات ناخواسته متابولیسم هوازی است که نقش مهمی در بسیاری از بیماری ها ایفا می کنند. تحت شرایط نرمال سیستم های دفاعی آنتی اکسیدانی می‌توانند گونه‌های فعال را از طریق واکنش‌های آنزیمی (پراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز) و غیر آنزیمی (مثل ویتامین های آنتی اکسیدانی، عناصر نادر، کوآنزیم ها و کوفاکتورها) خنثی نمایند (۳۰). هرچند تحت شرایط پاتولوژیک تعادل بین تولید و حذف گونه های فعال اکسیژن به هم می‌خورد و درشت مولکول های زیستی مثل DNA، لیپیدهای غشایی و پروتئین ها تخریب می شوند.

رادیکال‌های آزاد که به شکل فیزیولوژیک تولید می‌گردند می‌توانند عملکردهای شبه سیگنالی

داشته باشند و شرایط بدن را به شرایط مقابله با بیماری تغییر دهند. بر اساس تئوری دنهام هارمن وقتی رادیکال‌های آزاد در سلول انباشته می شوند سلول پیر می شود (۳۱).

البته در انسان‌ها مشکل اکسیداسیون بیشتر نقش فعال کننده را در بیماری های مزمن دارد تا اینکه آغاز کننده باشد. به این دلیل نیاز به آنتی اکسیدان های صناعی یا طبیعی که می‌توانند فشار اکسیدانی و اثرات بد آن را خنثی کنند دیده می‌شود. آنتی اکسیدان های صناعی مثل بوتیل هیدروکسی تولوئن، بوتیل هیدروکسی آنیزول و ترت بوتیل هیدروکوئینون مقرون به صرفه و کارا می‌باشند اما اثرات سمی و خطرناک دارند. گزارش شده که بوتیل هیدروکسی تولوئن و بوتیل هیدروکسی آنیزول مسئول آسیب کبدی و سرطان زائی هستند. امروزه علاقه جوامع به استفاده از آنتی اکسیدان های طبیعی نسبت به صناعی بسیار رو به افزایش است. بنابراین در سالهای اخیر تلاش برای یافتن آنتی اکسیدان های طبیعی که می‌توانند بدن انسان را از رادیکال های آزاد و گونه‌های اکسیژن فعال حفظ کنند و از ایجاد بسیاری بیماری‌ها مبرا هستند افزایش یافته است (۳۲). در این خصوص زیست فناوری دارویی دریایی جایگاه بسیار مهمی در عرصه پژوهش‌های دارویی دارد.

تاکنون تحقیقات اندکی روی تعیین خصوصیات آنتی اکسیدان ترکیبات طبیعی دریایی مستخرج از اسفنج‌ها انجام شده است (۳۳، ۳۴). گزارشات چندی وجود دارد که نشان می‌دهد چندین گونه مختلف اسفنج و متابولیت آن‌ها فعالیت آنتی اکسیدان دارند. برخی مثال‌ها شامل: ترکیب ۲ اکتاپرنیل-۴،۱- هیدروکوئینون و ۲ (۲۴-هیدروکسیل) اکتا پرنیل-۴،۱- هیدروکوئینون جدا شده از اسفنج Ircinia spinosula است که با DPPH جذب کاملی نشان داد و اثر ضد اکسیدان لیپیدی گسترده‌ای دارد (۳۵). همچنین Takamatsu و همکاران (۳۴) اثبات کردند که اسفنج‌های مختلف حاوی متابولیتهایی چون (s1)-(+)- کورکوفنول، آآپتامین، اینرواآپتامین و کورکودیول می‌باشند که فعالیت آنتی‌اکسیدانی شدیدی علیه DPPH دارند.

در تحقیق حاضر هیچ کدام از عصاره ها فعالیت حذف رادیکال آزاد را مانند استاندارد انجام ندادند اما فعالیت حذف رادیکال آزاد و قطع زنجیره واکنشی رادیکال آزاد DPPH را نشان دادند؛ اما در مورد فعالیت کلاته کردن یون های فلزی غالب عصاره‌ها در حد استاندارد فعالیت بسیار خوبی نشان دادند و در مورد فعالیت کاهندگی نیز در مقادیر مختلف و کمتر از استاندارد فعالیت قابل قبولی از خود نشان دادند. البته در تحقیقی که Utkina و همکاران (۳۶) انجام دادند از ۱۱ عصاره اسفنج دریایی ۳ عصاره بهترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی را نشان داد که یک عصاره فعالیت مشابه آلفا- توکوفرول داشت و ۲ عصاره دیگر فعالیت بیش از بوتیل هیدروکسی تولوئن نشان دادند. همچنین عصاره الکلی Aaptos aaptos و Hyrtios sp. دارای فعالیت الکترون دهندگی بودند و توانایی واکنش با رادیکال‌های آزاد و حذف زنجیره واکنشی رادیکال آزاد را دارا بودند (۳۷). در تحقیق محققین ژاپنی نیز آلکالوئیدهای تترا هیدروکوئینون مثل سالسولینول، نورسالسولینول و ۲ ترکیب دیگر از اسفنج Xestospongia cf. vansoesti از گونه اسفنج‌های اندونزی استخراج شد که فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها اثبات گردید (۳۸). در مطالعه Bhimba و همکاران (۳۹) متابولیت‌های ثانویه اسفنج‌های دریایی Dendrilla nigra توسط روش سوکسله استخراج شد و مطالعات ضد باکتری، ضد اکسیدان و ضد سرطانی آن انجام شد. همچنین متابولیت‌های ثانویه توسط GC-Ms مورد شناسایی قرار گرفت. عصاره استخراج شده فعالیت آنتی‌اکسیدانی ۵۰/۸۳٪ در مقایسه با BHT که ۱۰۰٪ بود نشان داد. در مطالعه Abdillah و همکاران (۴۰) نیز عصاره هیدرواتانولی ۸ گونه اسفنج در اندونزی برای فعالیت سیتوتوکسیک و آنتی‌اکسیدانی مورد بررسی قرار گرفت. Aaptos suberitoides فعالیت آنتی‌اکسیدانی قوی با Lc50 کمتر از ۳۰ میلی گرم در میلی لیتر نشان داد اما Fascaplysinopsis reticulata، Acanthella sp.، Petrosia contighata، Xestospongia exigua فعالیت

آنتی‌اکسیدانی متوسطی با ارزش Lc50 کمتر از ۱۰۰ میکروگرم در میلی لیتر نشان دادند. این محققین عنوان کردند که شاید عصاره خالص اثر آنتی‌اکسیدانی بیشتری داشته باشد. در مطالعه Chairman (۴۱) ۲ عصاره استخراج شده اسفنج‌ها به‌عنوان حذف کننده رادیکال آزاد با Lc50 به ارزش ۰/۱±۲۹ و ۵/۲±۹۸ گزارش شد.

در تحقیق حاضر عصاره آبی ۳ نوع از ۴ نوع اسفنج فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری از عصاره الکلی نشان داد. در تحقیقی دیگر نیز از بین عصاره‌های کلرفرمی، بوتانولی، آبی و اتانولی اسفنج Xestospongia، عصاره آبی بالاترین فعالیت ضد رادیکال آزاد را نشان داد و پس از تخلیص بیشتر و کریستاله کردن ماده حاصله ترکیب ان- متیل نور سالسولینول کشف شد (۴۲).

از اسفنج‌ها ترکیبات فنولی و آلکالوئیدی مختلفی با خاصیت آنتی‌اکسیدانی شناسایی گردیده است. هر چند در تحقیق حاضر محتوای کلی فنل ارتباط معنی داری با فعالیت آنتی‌اکسیدانی نشان نداد اما شاید این فعالیت آنتی‌اکسیدانی به ترکیبات موجود در عصاره ها و در دسترس بودن آن‌ها مربوط باشد و فقط محتوای کلی فنل در این خصوص فعال نباشد. برای مثال مشخص شده است که ماده Aaptamin دارای فعالیت ضد رادیکالی است اما سسکوئی ترپن ها فعالیت حذف رادیکال آزاد و جلوگیری از اکسیداسیون لیپید با یون آهن فرو را با هم نشان می دهد. در مطالعه Utkina در ۲۰۰۹ نیز ترکیبات طبیعی اسفنج‌ها یا فعالیت حذف رادیکال آزاد داشته یا آنتی اکسیدان های شکننده زنجیره اکسیداسیون بودند.

مطالعه حاضر اولین مطالعه در کشور در خصوص فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره اسفنج‌های دریایی است. جایگاه زیست فناوری دریایی در حوزه تولیدات دارویی کشور می بایست با برنامه ریزی اصولی فعال شود تا در سال‌های آتی همگام با پیشرفت کشور های توسعه یافته در این حوزه گام برداریم. در ساله های اخیر در خارج از کشور از اسفنج‌ها گونه Disydea avara خواص آنتی‌اکسیدانی بسیار خوبی نشان داده است که داروی آن با نام Avarol اخیراً برای درمان بیماری پوستی سوریازیس مورد تولید صنعتی قرار گرفته است. جا دارد با توسعه تحقیقاتی برنامه ریزی شده به تاییدات کلینیکی داروهای ضد اکسیدان مستخرج از دریا پرداخته شود تا مسیر تولید صنعتی این ترکیبات بدون آسیب رسانی به منبع طبیعی موجودات دریایی در کشور هموار گردد.

تقدیر و تشکر

این مطالعه حاصل از نتایج طرح صندوق حمایت از پژوهشگران و فناوران ریاست جمهوری است و نویسندگان از این صندوق و دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار به جهت فراهم نمودن امکانات مادی و معنوی تحقیق حاضر تشکر و قدردانی می نمایند.

منابع

1. Jain R, Sonawane S, Mandrekar N. Marine organisms: potential source for drug discovery. Curr Sci; 2008. 94(3):292.

2. Roopesh J, Archana T. Sponges: an invertebrate of bioactive potential. Curr Sci; 2007. 93: 444-445.

3. Belarbi HE, Gomez AC, Chisti Y, Comocho FG, Grima EM. Producing drug's form marine sponges. Biotechnol Adv; 2003.21: 585-598.

4. Selvin J, Lipton AP. Biopotential of secondary metabolites isolated from marine sponges. Hydrobiologia; 2004.513: 231-238.

5. Lakshmi V, Sexena A, Mishra SK, Mishra M, Srivastava S, Ghoshal S. Antiemetic activity of marine sponge Haliclona exigua. Bangaladesh J Pharmocol; 2009. 4: 55-59.

6. Ireland, CM, Copp BR, Foster MP, McDonald LA, Radisky DC, Swersey JC. Biomedical potential of marine natural products. In Attaway DH, Zaborsky OR (eds), Marine Biotechnology, Vol. 1, Pharmaceutical and Bioactive Natural Products: Plenum Press NY; 1993. p. 1–43.

7. Arndt W. ''Schwamme''. In: Die Rohstoffe des Tierreichs 1, 2 Halfte, Gebr, Arndt W, Pax F, eds. Berlin: Borntraeger; 1983. p. 1577–2000.

8. Hofrichter R, Sidri M. ''Ein Mittel fur jeden Zweck: der Badeschwamm''. In: Das Mittelmeer Flora, Fauna, Okologie, Hofrichter R, ed. Spektrum Verlag, Bd; 2001. p. 608–809.

9. Nozeman C. Verhandeling over de inlandsche zoetwater-spongie, eene huisvesting der Maskers van puistenbijteren. Published by the Bataafs Genoodts-chap, Part IX; 1788. P.1–16.

10. Stodal, Available at http://wwwsblglobalcom/ stodalhtml. 2003.

11. Chennubhotla VSK, Kaliaperumal N, Kalimuthu S, Selvaraj M, Ramalingam JR, Najmuddin M. Seasonal changes in growth and alginic acid and mannitol contents in Sargassum ilicifolium (Tunner) J. Agardh and S. myriocystum J.Agardh. Indian J Mar Sci; 1982.11: 195-196.

12. Amsler CD, Mcclintock JB, Baker BJ. Secondary metabolites as mediators of trophic interactions among antarctic marine organisms. Am Zool; 2001.41:17-26.

13. Aoki S, Dexin K, Hideaki S, Yoshihiro S, Toshiyuki S, Andi S, et al. Aaptamin, a spongean alkaloid, activates p21 promoter in a p53-independent manner. Biochem Biophysical Res Commun. 2006.342:101-106.

14. Faulkner DJ. Marine natural products. Natural Product Reports; 2002.19:1–48.

15. Sipkema D, Franssen MCR, Osinga R, Tramper J, Wijffels RH. Marine Sponges as Pharmacy. Marine Biotechnology; 2005.7:142–162.

16. Taheri A, Bita S. Antioxidant properties of protein Hydrolysate from Trichiurus lepturus viscera. Project granted in Chabahar Maritime University; 2012. 97 p. (Persian).

17. Suetsuna K, Maekawa K, Chen J. Antihypertensive effects of Undaria pinnatifida (wakame) peptide on blood pressure in spontaneously hypertensive rats. Journal of Nutritional Biochemistry; 2004.15:267-272.

18. Picot L, Bordenave S, Didelot FAI, Fruitier-Arnaudin I, Sannier F, Thorkelsson G, et al. Antiproliferative activity of fish protein hydrolysates on human breast cancer cell lines. Process Biochemistry; 2006. 41:1217–1222.

19. Soniya J. Exploration of sponge associated Actinomycetes for the development of potent novel antibacterial agents. MSc dissertation submitted to M.S. University, Tirunelveli, India; 2003. P. 102.

20. De Voogd. On sand-bearing myxillid sponges, with a description of Psammochela tutiae sp. Nov. (Poecilosclerida, Myxillina) from the northern Moluccas, Indonesia. Zootaxa, 2012.3155: 21-28.

21. Shimada K, Fujikawa K, Yahara K, Nakamura T. Antioxidative properties of xanthan on the antioxidantion of soybean oil in cyclodextrin emulsion. J Agric Food Chem, 1992.40: 945–948.

22. Dinis TCP, Maderia VCM, Almeida MLM. Action of phenolic derivates as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxyl radical scavengers. Arch Biochem Biophys; 1994.315:161-169.

23. Oyaizu, M. Studies on products of browning reaction prepared from glucoseamine. Jpn J Nutr; 1986.44:307-314.

24. Bergmann W, Feeney RJ. Contributions to the study of marine products, 32: the nucleosides of sponges, I. J Org Chem; 1951.16:981–987.

25. Proksch P, Edrada RA, Ebel R. Drugs from the seascurrent status and microbiological implications. Appl Microbiol Biotechnol; 2002.59:125–134.

26. Schwartsmann G. Marine organisms and other novel natural sources of new cancer drugs. Ann Oncol; 2000.11:235–243.

27. Papas AM. Antioxidant Status, Diet, Nutrition, and Health, A. M. Papas, ed., CRC Press, Boca Raton, London, New York, and Washington; 1999. p. 21.

28. Evans JL, Goldfine ID, Maddux BA, Grodsky GM. Are oxidative stress-activated signaling pathways mediators of insulin resistance and ß -cell dysfunction? Diabetes; 2003.52:1–8.

29. Je JY, Qian ZJ, Byun HG, Kim SK. Purification and characterization of antioxidant peptide obtained from tuna backbone protein by enzymatic hydrolysis. Process Biochem; 2007.42:840–6.

30. Johansen JS, Harris AK, Rychly DJ, Ergul A. Oxidative stress and the use of antioxidants in diabetes: linking basic science to clinical practice. Cardiovasc Diabetol; 2005.4:5.

31. Harman D. Aging: overview. Ann N Y Acad Sci; 2001.928:1–21.

32. Gulcin I, Sat I, Beydemir S, Elmastas M, Kufrevioglu OI. Comparison of antioxidant activity of clove (Eugenia caryophylata Thunb) buds and lavender (Lavandula stoechas L). Food Chem; 2004.87:393-402.

33. Amigo M, Terencio MC, Mitova M, Iodice C, Paya M, De Rosa S. Potential antipsoriatic avarol derivatives as antioxidants and inhibitors of PGF 2 generation and proliferation in the HaCaT cell line. J. Nat. Prod; 2004.67:1459–1463.

34. Takamatsu S, Hodges TW, Rajbhandari I, Gerwick WH, Hammann MT, Nagle DG. Marine natural products as novel antioxidant prototypes. J. Nat. Prod; 2003. 66:605–608.

35. Tziveleka LA, Kourounakis AP, Kourounakis PN, Roussis V, Vagias C. Antioxidant potential of natural and synthesized polyprenylated hydroquinones. Bioorg. Med. Chem; 2002.10:935–939.

36. Utkina N K, Makarchenko AE, Shchelokova OV, Virovaya MV. Antioxidant activity of phenolic metabolites from marine sponges. Chemistry of Natural Compounds; 2004.40(4):373-377.

37. Utkina NK. Antioxidant activity of aromatic alkaloids from the marine sponges Aaptos aaptos and Hyrtios SP. Chemistry of Natural Compounds, 2009.45(6):849-853.

38. Blunt JW, Copp BR, Hu WP, Munro MHG, Northport PT, Prinsep MR. Marine natural products, Nat Prod Rep; 2008.25:35-94.

39. Bhimba V, Beulah VMC. Biopotential of secondary metabolites isolated from marine sponge Dendrilla nigra. Asian Pacific Journal of Tropical Disease; 2011.299-303.

40. Abdillah S, Nurhayati APD, Nurhatika S, Setiawan E, Heffen WL. Cytotoxic and antioxidant activities of marine sponge diversity at Pecaron Bay Pasir Putih Situbondo East Java, Indonesia. Journal of

pharmacy research; 2013.6:685-689.
41. Chairman K, Ranjit Singh AJA, Alagumuthu G. Cytotoxic and antioxidant activity of selected marine sponges. Asian Pacific Journal of Tropical Disease; 2012. 234-238.
42. Utkina NK, Krasokhin VB. Terahydroisoquinoline alkaloid N-ethylnorsalsolinol from the Australian marine sponge Xestospongia SP. Chemistry of Natural Compounds; 2012.48(4):715-716.

Invitro antioxidative effects of some sea sponges extracts from Chabahar coasts

***Ali Taheri**, Associate Professor, Faculty of Marine Sciences, Chabahar Maritime University, Chabahar, Iran (*Corresponding author). taheri@cmu.ac.ir
Samira Jalalinezhad, Student of Medicine, School of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences,International Branch, Tehran, Iran.
Arash Shakoori, Assistant Professor, Faculty of Marine Sciences, Chabahar Maritime University, Chabahar, Iran
Parvin Sadeghi, Assistant Professor, Faculty of Marine Sciences, Chabahar Maritime University, Chabahar, Iran
Alireza Namavari, Associate Professor, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Shiraz, Iran.
Morteza Ziaadini, Assistant Professor, Faculty of Marine Sciences, Chabahar Maritime University, Chabahar, Iran.
Ali Motamedzadegan, Associate Professor, Department of Food Science, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Mazandaran, Iran.

Abstract

Background: Free radicals cause different diseases. Today's finding of natural antioxidants is an interest. Marine sponges will be an important drug source in future. In this study the antioxidative effects of some marine sponges from Chabahar Tidal Seashores investigated.
Methods: After gathering and recognition of sponges, distilled water and methanol 96% used as solvent for extraction. Free radical scavenging activity, metal chelating activity and reduction power were measured after total phenolic content assayed in the extracts and compared with the standards.
Results: water extracts of Dysideidae, Halichondriidae and callyspongia showed more free radical scavenging activity in compare with alcoholic extract ($p<0.05$). In Clionaidae sponge it was vice versa. All sponge extracts showed high metal chelating activity and this actitivity in Dysideidae and callyspongia was the same with EDTA. Reduction power in all samples was good and water extract showed higher reduction than alcoholic extracts. Maximum phenolic content was belonging to Dysideidae and the minimum to Clionaidae sponges.
Conclusion: Results showed sponges extracts in this study had a good content of antioxidative activity especially in metal chelating activity and with more clinical study we could reach to a way for drug delivery from the marine environment.

Keywords: Sponge, Antioxidant, Free radical, Extract, Chelating, Reduction