



ORIGINAL RESEARCH PAPER (Marine Science)

Antiulcer Assay of Crab Tissue Extract of Swimmer Crab, *Portunus Segnis* on Gastric Ulcer Induced in *Balb/C* MiceEmtyazjoo, M.^{1,*}, Sadeghe, M.S.², Izadi Najafabadi, Sh.³, Sahebi, Z.⁴¹ Associate Professor, Islamic Azad University, North Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran² Assistant Professor, Islamic Azad University, North Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran³ Graduate Master of Marine Biotechnology, Islamic Azad University, North Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran⁴ Arvin Zist Poya Laboratory, Tehran, Iran

ARTICLE INFO

Code: A-10-726-1

Article History:

Received: 17/05/2021

Revised: 17/10/2021

Accepted: 01/07/2021

Keywords:

Gastric ulcer

Crab tissue extract

Portunus segnis

Superoxide dismutase

Gas chromatography-mass spectrometry

*Corresponding author:

m_emptjazjoo@iau-tnb.ac.irmoz_emptjazjoo@yahoo.com

10.52547/joc.13.52.74

ABSTRACT

Background and Objectives: Marine organisms have a high potential in the production of bioactive compounds. Portunus segnis crab is one of the most widely distributed in the Persian Gulf and the Sea of Oman. Lateral fishing is caught on fishing nets. The aim of this study was to investigate the inhibitory effect of swimmer crab tissue extracts on gastric ulcers in mice as an animal model.**Methods:** Crab was caught from the Persian Gulf - Bushehr. Hexane, ethyl acetate, butanol, and aqueous extracts of Portunus segnis crab muscle tissue were prepared. The prepared extracts were etched on ethanol-induced gastric ulcers in rats, and the number and percentage of ulcers were evaluated. Changes in superoxide dismutase, mouse serum was assayed. The most effective extract compounds were evaluated with Gas chromatography-mass spectrometry.**Findings:** According to the results, consumption of all extracts in different doses of 25, 50, and 100 mg/kg significantly reduced the number and percentage of wounds. Butanol extracts at a dose of 100 mg/kg showed an anti-ulcer index of 62%. The effect of the extracts was dose-dependent and at doses much lower than omeprazole, they had a similar effect in the treatment of gastric ulcers. Superoxide dismutase levels also increased with wound healing. In butanol extract 17 compounds such as palmitoleic acid, 9-octadecenoic acid, n-hexadecanoic acid, (z) -9-octadecenamide, eicosane and hexacosane were identified.**Conclusion:** Butanol extract of swimming crab had preventive effects on the gastric ulcer at a dose of 100 mg/g. The results of this study showed that consumption of all extracts in different doses of 25, 50, and 100 mg/kg significantly reduced the number and percentage of gastric ulcers. Therefore, it is recommended to use crab extracts to prevent this disease.

©2022 JOC. All rights reserved



NUMBER OF TABLES

1



NUMBER OF FIGURES

3



NUMBER OF REFERENCES

24

مقاله پژوهشی (علوم دریایی)

بررسی اثرات عصاره بافتی خرچنگ شناگر آبی *Portunus segnis* بر زخم معده القاء شده در موش *Balb/c*مژگان امتیازجو^{۱*}، مهنازاسادات صادقی^۲، شیرین ایزدی نجف آبادی^۳، زهرا صاحبی^۴^۱ دانشیار، دانشگاه آزاد اسلامی- واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران^۲ استادیار، دانشگاه آزاد اسلامی- واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران^۳ دانش آموخته کارشناسی ارشد، زیست فناوری دریا، دانشگاه آزاد اسلامی- واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران^۴ آزمایشگاه آروین زیست پویا، تهران، ایران

اطلاعات مقاله

چکیده

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۲/۲۷

تاریخ بازبینی: ۱۴۰۰/۰۷/۲۵

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۴/۱۰

پیشینه و اهداف: موجودات دریایی پتانسیل بالایی در تولید ترکیبات زیست فعال دارند. خرچنگ *Portunus segnis* یکی از گونه‌های تجاری با پراکنش وسیع در خلیج فارس و دریای عمان می‌باشد که صورت صید جانبی در توره‌های صیادی صید می‌شود. در پژوهش حاضر هدف مطالعه اثر مهارکنندگی عصاره‌های بافت خرچنگ شناگر بر زخم معده در موش به‌عنوان مدل حیوانی می‌باشد.

روش‌ها: صید خرچنگ از خلیج فارس- بوشهر انجام شد. عصاره‌های هگزانی، اتیل استاتی، بوتانولی و آبی بافت عضله خرچنگ *Portunus segnis* تهیه گردید. عصاره‌های تهیه شده بر زخم معده القایی با اتانول در موش گاوژ شد، تعداد و درصد زخم‌ها مورد بررسی قرار گرفت. تغییرات آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز، سرم خون موش سنجش شد. ترکیبات عصاره‌ای که بیشترین اثر را داشت با کروماتوگرافی گازی- طیف‌سنجی جرمی بررسی شد.

یافته‌ها: بر طبق نتایج به‌دست آمده مصرف کلیه عصاره‌ها در دوزهای مختلف ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌طور معناداری تعداد و درصد زخم را کاهش داد. عصاره‌های بوتانولی با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم شاخص ضد زخم ۶۲٪ را نشان داد. اثر عصاره‌ها تابع مقدار دوز بود و در دوزهای خیلی کمتر از اومپرازول، اثری مشابه در درمان زخم معده داشتند. سطح آنزیم سوپراکسید دیسموتاز نیز با بهبود زخم‌ها افزایش داشت. در عصاره بوتانولی ۱۷ ترکیب نظیر 9-octadecenoic acid, palmitoleic acid، hexacosane و eicosane، (z)-9-octadecenamamide، n-hexadecanoic acid شناسایی شد.

نتیجه‌گیری: عصاره بوتانولی خرچنگ شناگر دارای اثرات پیشگیری از زخم معده با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر گرم بود. بررسی نتایج حاصل از این مطالعه مشاهده شد که مصرف کلیه عصاره‌ها در دوزهای مختلف ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌طور معناداری تعداد و درصد زخم معده را کاهش داد. لذا پیشنهاد می‌گردد برای جلوگیری از این بیماری از عصاره‌های خرچنگ استفاده شود.

واژگان کلیدی:

زخم معده

عصاره بافتی خرچنگ

Portunus segnis

سوپراکسید دیسموتاز

کروماتوگرافی گازی- طیف‌سنجی جرمی

*نویسنده مسئول

m_emtyazjoo@iau-tnb.ac.ir

moz_emtyazjoo@yahoo.com

مقدمه

گردید. در مرحله بعد عصاره موجود توسط دستگاه تبخیر در خلاء در دمای منهای ۴۰ درجه سانتی‌گراد تبخیر و عاری از حلال گردید. به عصاره بدست آمده، آب مقطر اضافه شد تا مخلوط یکنواخت حاصل شود. پس از افزودن نرمال هگزان جداسازی انجام گردید. مراحل مذکور با حلال‌های اتیل استات و بوتانول نیز به همان صورت انجام و پس از خروج حلال توزین گردید. عصاره‌ها در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد [۲].

۳. آماده سازی موش

موش‌های Balb-C با وزن ۳۰ الی ۳۵ گرم از انستیتو پاستور خریداری و در حیوان خانه نحت شرایط استاندارد نگهداری گردید [۷]. موش‌های به صورت تصادفی به هفت گروه تقسیم و گاوآژ شدند.

گروه اول: محلول Tween20 به همراه نرمال سالین (شاهد مثبت)؛

گروه دوم، سوم و چهارم: دریافت عصاره با غلظت‌های ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم؛

گروه پنجم: امپرازول با دوز ۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم؛

گروه ششم: کربوکسی متیل سلولز (CMC) حلال داروی امپرازول

گروه هفتم: نرمال سالین (شاهد منفی) دریافت کردند. تعداد موش‌ها در هر گروه ۵ عدد بود.

یک ساعت بعد با خوراندن ۱ میلی لیتر اتانول خالص به هر سر موش، زخم معده به موش‌ها القا گردید. بعد از ۱ ساعت از تمامی موش‌ها خونگیری و سرم آن‌ها جمع آوری شد. موش‌های بیهوش شده با مخلوط کتامین و زایلازین برای تشریح آماده گردید [۸].

۴. بررسی مورفولوژیک بافت معده و تعیین شاخص زخم

پس از تشریح، معده موش‌ها خارج و از خمیدگی بزرگ برش داده و با سرم فیزیولوژی شستشو و مورد بررسی قرار گرفت. زخم‌های با ابعاد یک میلی متر و بزرگ‌تر شناسائی و شمارش گردید و پنج زخم کوچکتر از یک میلی متر یک زخم لحاظ شد. در نهایت سطحی از معده که زخم داشت، محاسبه گردید [۳].

$$\text{شاخص درمانی} = \frac{\text{تعداد زخم گروه مداخله-تعداد زخم گروه شاهد}}{\text{تعداد زخم گروه شاهد}}$$

۵. سنجش آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز SOD

جهت اندازه گیری SOD ابتدا سرم جدا و تا زمان انجام سنجش در داخل فریزر ۲۰- نگهداری گردید. جهت آنالیز آنزیم سوپر اکسید

جانوران دریایی به دلیل داشتن متابولیت‌های ثانویه از مهمترین منابع تولیدات طبیعی با منشاء فعالیت‌های زیستی محسوب می‌شوند. تحقیقات انجام شده نشان می‌دهد که بیش از ۶۰ درصد داروهای تولید شده با منشاء منابع طبیعی است [۱، ۲]. در پنج دهه اخیر توجه زیست شناسان و شیمیدان‌ها به ترکیبات طبیعی با منابع دریایی معطوف شده است. نزدیک به ۱۶۰۰۰ ترکیب از منابع دریایی استخراج شده است [۳]. از جمله این موجودات که بسیاری از ترکیبات آنها، با خواص آنتی‌اکسیدانی، ضد سرطانی، ضد باکتری، ضد التهابی و ترمیم‌کنندگی شناسایی و مطالعه شده است بی‌مهرگان آبی و سخت پوستان می‌باشند. خرچنگ *Portunus segnis* یکی از گونه‌های تجاری با پراکنش وسیع در شمال اقیانوس هند از جمله خلیج فارس و دریای عمان می‌باشد.

به گزارش انستیتو جهانی بهداشت از هر ۱۰ نفر آمریکایی یک نفر در طول زندگی خود مبتلا به بیماری زخم معده می‌شود و سالانه ۱۵۰۰۰ مورد فوت به واسطه پیامدهای این بیماری روی می‌دهد. اثرات اقتصادی این بیماری بسیار قابل توجه بوده و در ایالت متحده سالانه بیش از ۱۰ میلیارد دلار می‌باشد [۴].

درمان زخم معده با داروهای شیمیایی نظیر امپرازول، مترونیدازول، رانیتیدین پر هزینه و همراه با عوارض جانبی و بروز مشکلاتی نظیر پدیده خود ایمنی است و احتمال بازگشت ضایعات پس از قطع درمان با آن‌ها وجود دارد به همین دلیل تلاش گسترده‌ای برای یافتن ترکیبات مؤثر طبیعی اعم از گیاهان و موجودات دریایی در درمان زخم معده وجود دارد [۵، ۶]. تحقیق حاضر بمنظور بررسی اثرات ضد زخم معده عصاره‌های بافتی خرچنگ شناگر *Portunus segnis* در موش‌های Balb/c که زخم معده در آنها القاء شده، انجام گردیده است.

روش پژوهش

۱. نمونه برداری و تهیه خرچنگ *Portunus segnis*

جمع آوری خرچنگ شناگر آبی *P. segnis* از خلیج فارس (بوشهر) با استفاده از تور گوشگیر و ترال صورت گرفت. پس از شست و شو و آگیری نمونه‌ها، عضله و پوسته خارجی خرچنگ جدا و با فریز درایر خشک گردید و پس از آسیاب کردن و عبور دادن از الک با قطر منافذ ۲۵۰ میکرومتر، نمونه‌ها برای استخراج آماده گردید [۲].

۲. عصاره گیری از بافت عضله خرچنگ *Portunus segnis*

برای انجام عصاره گیری در مرحله نخست از متانول و اتیل استات به نسبت ۱:۱ به مدت یک شبانه روز در دمای محیط استفاده شد. و عصاره بدست آمده را در بطری تیره در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری

اومپرازول نیز مشهود است. بطور غالب اثر عصاره با افزایش غلظت افزایش یافت و نمونه کنترل مثبت بیشترین خونریزی را نشان داد. درت صویر ۱ نمونه اثر بر بافت عضله خرچنگ شناگر روده قابل مشاهده است.

جدول ۱: میانگین تعداد، ابعاد زخم معده موش (بر حسب میلی متر مربع) و شاخص

درمانی در گروه‌های تحت تیمار عصاره‌های مختلف خرچنگ شناگر *Portunus*

segnis در موش Balb/c تحت القاء زخم معده

Table 1: Mean number, dimensions of gastric ulcer in rats (in square millimeters) and therapeutic index in groups treated with different extracts of *Portunus segnis* in Balb/c mice induced gastric ulcer

| شاخص درمانی زخم | ابعاد زخم | تعداد زخم | نوع عصاره |
|--------------------|--------------|--------------|----------------|
| هگزانی | | | |
| ۳۹ | ۱۳/۴۳ ± ۰/۲ | ۵/۶۱ ± ۰/۲۷ | ۱۰۰ mg/kg |
| ۵۴ | ۹/۳ ± ۰/۱ | ۴/۲ ± ۰/۱ | ۵۰ mg/kg |
| ۵۵ | ۸/۹۳ ± ۰/۲۵ | ۴/۰۷ ± ۰/۲ | ۲۵ mg/kg |
| ۶۹ | ۳/۲۵ ± ۰/۱۵ | ۲/۷۶ ± ۰/۱۵ | امپرازول |
| ----- | ۳۶/۸۶ ± ۰/۱ | ۹/۲ ± ۰/۲۷ | کنترل (اتانول) |
| بوتانولی | | | |
| ۶۲ | ۸/۳ ± ۰/۲ | ۳/۷ ± ۰/۱ | ۱۰۰ mg/kg |
| ۵۵ | ۹/۴۳ ± ۰/۰۸ | ۴/۳۶ ± ۰/۴ | ۵۰ mg/kg |
| ۴۸ | ۱۲/۵ ± ۰/۲ | ۵/۱ ± ۰/۳ | ۲۵ mg/kg |
| ۶۷ | ۲/۸ ± ۰/۱ | ۲/۲۳ ± ۰/۲۵ | امپرازول |
| ----- | ۳۷/۱ ± ۰/۲۷ | ۹/۹ ± ۰/۱ | کنترل (اتانول) |
| اتیل استاتی | | | |
| ۴۴ | ۱۲/۹ ± ۰/۲ | ۵/۴ ± ۰/۲ | ۱۰۰ mg/kg |
| ۲۵ | ۱۴/۶۳ ± ۰/۱ | ۷/۳ ± ۰/۳ | ۵۰ mg/kg |
| ۳۶ | ۱۴/۱ ± ۰/۴۵ | ۶/۲ ± ۰/۲ | ۲۵ mg/kg |
| ۶۷ | ۴/۸ ± ۰/۱ | ۳/۱ ± ۰/۱۳ | امپرازول |
| ----- | ۳۶/۱۳ ± ۰/۱۵ | ۹/۷۳ ± ۰/۳۲ | کنترل (اتانول) |
| آب | | | |
| ۵۳ | ۱۰/۲۶ ± ۰/۲۵ | ۴/۷۶ ± ۰/۱۵ | ۱۰۰ mg/kg |
| ۵۶ | ۱۰/۰۶ ± ۰/۲۷ | ۴/۴۶ ± ۰/۱۵ | ۵۰ mg/kg |
| ۴۷ | ۱۳/۱۳ ± ۰/۳۵ | ۵/۴ ± ۰/۲ | ۲۵ mg/kg |
| ۶۸ | ۴/۲ ± ۰/۲ | ۳/۲۳ ± ۰/۲۵ | امپرازول |
| ----- | ۳۸/۳۳ ± ۰/۲۵ | ۱۰/۲۶ ± ۰/۵۵ | کنترل (اتانول) |

دیسموتاز، از کیت شرکت ZellBio استفاده شد. خوانش در طول موج ۴۲۰ نانومتر توسط دستگاه الیزر ریدر E800, Bio tek انجام شد.

۶. تعیین کیفی عصاره‌های استخراج شده با GC/MS

نمونه‌ای که بیشترین شاخص ضد زخم را داشت، برای تعیین کیفی عصاره توسط دستگاه دستگاه GC/MS ساخت شرکت Agilent Technologies (HP) مدل ۶۸۹۰ که مشخصات ستون آن HP-5 MS (30m length × 0.25mm i.d. × 0.25µm film) column بود، مورد بررسی قرار گرفت. دمای اولیه ستون ۷۰°C برای مدت ۱ دقیقه، افزایش دما با میزان ۱۰°C به ازای هر دقیقه تا دمای ۲۸۰°C لحاظ شد. یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت استفاده گردید. گاز حامل هلیوم با درجه خلوص ۹۹/۹۹۹ در صد بود [۳].

۷. آنالیز آماری

برای انجام آنالیز آماری از آنالیز واریانس و دانکن استفاده شد، ابتدا داده‌ها وارد نرم افزار Excell شده و سپس از نرم افزار SPSS ویرایش ۱۶ استفاده گردید [۷].

نتایج و بحث

در این پژوهش با توجه به نتایج عصاره‌های حاصل از خرچنگ شناگر و آزمایش‌های انجام شده بر روی موش نتایج زیر بدست آمد.

۱. نتایج ارزیابی ریخت شناسی بافت معده

میانگین تعداد، مساحت زخم‌ها و شاخص درمانی گروه‌های مختلف تحت تأثیر عصاره بافتی خرچنگ در جدول ۱- ارائه شده است.

۲. شاخص درمانی عصاره‌های خرچنگ

بر طبق نتایج بدست آمده در آزمون دانکن برای غلظت‌های مختلف عصاره‌ها با هم و گروه‌های کنترلی در تمامی دوز های مختلف عصاره با گروه‌های کنترل (اتانول) و امپرازول اختلاف معنادار در سطح ۹۵ درصد مشاهده شد. بر اساس نتایج همه دوز ها نسبت به گروه کنترل (اتانول) دارای زخم و خونریزی کمتر بوده اما خاصیت مهار کنندگی آنها نسبت به داروی امپرازول کمتر بوده است (جدول ۱).

۳. ارزیابی ریخت شناسی بافت معده

بطور عموم در کلیه غلظت‌های عصاره‌های نسبت به نمونه کنترل مثبت (F) کاهش خونریزی و التهاب مشاهده شد. این تأثیر در تیمار با داروی

Table 2: Serum levels of superoxide dismutase (Mean \pm SD) in Balb/c mice induced gastric ulcer by different extracts treatment muscle tissue of the swimming crab *Portunus segnis*

| عصاره غلظت | هگزان U/ml | انیل استات U/ml | بوتانول U/ml | آبی U/ml |
|---------------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم | $8/006 \pm 0/04$ | $19/10 \pm 0/04$ | $35/43 \pm 0/09$ | $18/14 \pm 0/05$ |
| ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم | $6/45 \pm 0/06$ | $12/46 \pm 0/06$ | $35/77 \pm 0/01$ | $15/48 \pm 0/04$ |
| ۲۵ میلی گرم بر کیلوگرم | $15/64 \pm 0/01$ | $2/85 \pm 0/02$ | $35/42 \pm 0/01$ | $18/20 \pm 0/03$ |
| Tween20 | $12/22 \pm 0/02$ | $21/26 \pm 0/01$ | $28/06 \pm 0/08$ | $28/90 \pm 0/02$ |
| CMC | $19/45 \pm 0/09$ | $18/14 \pm 0/01$ | $20/83 \pm 0/01$ | $21/93 \pm 0/07$ |
| اومپرازول | $17/44 \pm 0/08$ | $15/80 \pm 0/06$ | $16/35 \pm 0/08$ | $17/95 \pm 0/02$ |
| کنترل مثبت (اتانول ۹۶٪) | $26/01 \pm 0/01$ | $39/67 \pm 0/01$ | $36/87 \pm 0/05$ | $29/01 \pm 0/01$ |
| کنترل منفی (نرمال سالیین) | $5/04 \pm 0/03$ | $8/02 \pm 0/02$ | $18/09 \pm 0/05$ | $12/04 \pm 0/03$ |

۵. ترکیبات عصاره بوتانولی استخراج شده با GC/MS

ترکیبات شناسایی شده در عصاره بوتانولی عصاره خرچنگ در جدول ۳ ارائه شده است.

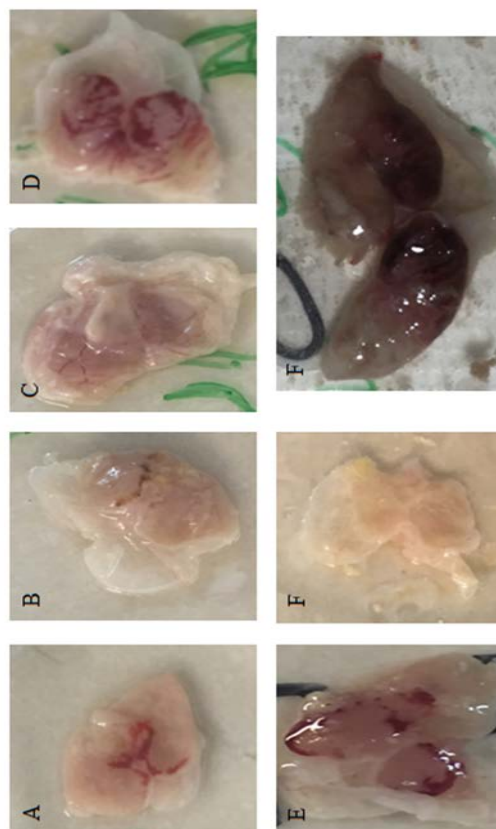
بر طبق نتایج مشاهده شده از آنالیز GC/MS عصاره‌های استخراج شده از بافت عضله خرچنگ *Portunus segnis*، در عصاره بوتانولی ۲۳ ترکیب شناسایی گردید. به علاوه نتایج نشان می‌دهد که ترکیبات شناسایی شده در عصاره بوتانولی به ترتیب cholesterol، palmitoleic acid (۳۰/۹۶٪)، eicosane (۴/۳۴٪) بیشترین فراوانی را در ترکیبات شناسایی شده در عصاره بوتانولی نشان دادند. دارای بیشترین فراوانی را در بین ترکیبات بودند.

زخم معده و اثنی عشر و همچنین گاستریت از بیماری‌های بسیار شایع دستگاه گوارش هستند که برای درمان آن‌ها عموماً از داروهای شیمیایی استفاده می‌گردد. درمان زخم معده با داروهای شیمیایی همراه با عوارض جانبی و بروز مشکلاتی نظیر پدیده خودایمنی است. به همین دلیل تلاش گسترده‌ای برای یافتن جایگزین‌های مؤثر و مناسب درمان زخم معده وجود دارد.

خرچنگ‌ها منبع بسیار مناسبی از اسیدهای چرب اشباع نشده (PUFA) n-3 و همچنین منبع پروتئینی عالی هستند [۹].

۶. ارزیابی ریخت شناسی بافت معده

بطور عموم در کلیه غلظت‌های عصاره‌های نسبت به نمونه کنترل مثبت (F) کاهش خونریزی و التهاب مشاهده شد. این تأثیر در تیمار با داروی اومپرازول نیز مشهود است. بطور غالب اثر عصاره با افزایش غلظت افزایش یافت و نمونه کنترل مثبت بیشترین خونریزی را نشان داد. در



تصویر ۱: بافت معده موش‌ها تحت تیمار با غلظت‌های مختلف عصاره بافت عضله

خرچنگ شناگر *Portunus segnis* در موش Balb/c تحت القاء زخم معده: A: غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره بافت عضله خرچنگ، B: غلظت ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره بافت عضله خرچنگ، C: غلظت ۲۵ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره بافت عضله خرچنگ، D: توشین ۲۰ (کنترل ۱)، E: CMC (کنترل ۲)، F: اومپرازول ۲۰٪

Figure 1: Gastric tissue of mice treated with different concentrations of *Portunus segnis* crab muscle tissue extract in Balb/c mice induced gastric ulcer

A: Concentration of 100 mg / kg of crab muscle tissue extract, B: Concentration of 50 mg / kg of crab muscle tissue extract, C: Concentration of 25 mg / kg of crab muscle tissue extract, D: Tween 20 (control 1), E: CMC (Control 2), F: omeprazole 20%,

۴. نتایج سنجش آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز

نتایج حاصل از سنجش میزان سوپر اکسید دیسموتاز سرم خون موش‌های القاء شده زخم معده در جدول ۲ ارائه شده است. در بین تمامی حلال‌ها در غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم اختلاف معناداری در سطح ۹۹ درصد مشاهده شد. بیشترین میانگین SOD مربوط به حلال بوتانولی با میانگین $35/43 \pm 0/09$ U/ml و کمترین میانگین مربوط به عصاره هگزانی با میانگین $8/006 \pm 0/04$ U/ml بوده است. همچنین بر طبق نتایج بدست آمده در تمامی تیمارهای تحت تأثیر عصاره‌های بافتی خرچنگ شناگر اختلاف معناداری با نمونه کنترل منفی در سطح ۹۹ درصد مشاهده گردید. نمونه کنترل منفی کم بود و در تمامی غلظت‌های مختلف عصاره بافتی خرچنگ شناگر همانند داروی اومپرازول میزان آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز نسبت به نمونه کنترلی افزایش یافته است.

جدول ۲: میزان آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز (Mean \pm SD) در سرم در موش‌های Balb/c تحت القاء زخم معده با تیمار عصاره‌های مختلف بافت عضله خرچنگ شناگر *Portunus segnis*

در تقویت سلول‌ها و ایمنی بخشی به آنها نشان می‌دهند، که نشان‌دهنده نوعی سینرژیسم بین آنهاست [۱۴]. حضور ترکیبات اسیدهای چرب و مشتقات آنها در عصاره را می‌توان یکی از دلایل خواص مهارکنندگی بالاتر در این تحقیق و اثر بخشی عصاره بوتانولی دانست. البته چنانچه امکان انجام آزمایش در جمعیت آماری بیشتری فراهم بود قطعاً نتایج از قطعیت بیشتری برخوردار بود.

در تحقیقی که اثر ضد زخم معده عصاره آبی و هیدروالکلی تخم شوید در موش مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که عصاره‌های هیدروالکلی و آبی تخم شوید بطور قابل توجهی دارای اثرات ضد زخم معده و محافظت مخاطی معده می‌باشد که تأثیر خواص مهارکنندگی و درمانی زخم معده وابسته به دوز بوده است و با نتایج مطالعه حاضر هم سو می‌باشد [۱۵]. در مطالعه‌ای که اثرات عصاره هیدروالکلی دانه گیاه زنیان بر درمان زخم معده بررسی گردید مشاهده شد که بهبود زخم معده در موش صحرایی با افزایش دوز عصاره رابطه مستقیم دارد، که با نتایج تحقیق حاضر همسویی دارد [۱۶]. این مهم در تحقیقات انجام شده بر روی عصاره هیدروالکلی آویشن دنیایی بر پیشگیری از زخم معده القا شده با اتانول نیز مشاهده گردید [۱۷]. همچنین Khare و همکاران در سال ۲۰۰۸، طی تحقیقی به بررسی اثر روغن کبد ماهی در درمان زخم معده و دوازدهه پرداخته‌اند. نتایج نشان داد که روغن کبد ماهی نیز سبب کاهش قابل توجهی در توسعه زخم معده ناشی از استرس و زخم اثنی عشر داشته است [۱۸].

آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نظیر سوپراکسید دیسموتاز یکی از خطوط دفاعی مهم بدن در مقابله با استرس اکسیداتیو می‌باشند که در روند خنثی سازی گونه‌های فعال اکسیژن یا ROS مشارکت دارد. آنتی‌اکسیدان‌های موجود در مواد غذایی و بدن، حتی در مقادیر ناچیز، می‌توانند پیکره موجود زنده را در مقابل انواع مختلف آسیب‌های اکسیداتیو ناشی از رادیکال‌های آزاد اکسیژن محافظت کنند [۱۹، ۲۰]. اگر تعادل بین میزان آنتی‌اکسیدان‌های بدن و رادیکال‌های آزاد تولیدی به هم خورد، متعادل قبل آن شرایط غیر طبیعی نظیر بیماری‌های قلبی - عروقی و سرطانها و زخم پپتیک برای فرد پدید می‌آید.

افزایش میزان سوپراکسید دیسموتازها باعث تبدیل آنیونهای سوپراکسید به هیدروژن پراکسید توسط آنزیمهای احیا کننده می‌شود. سپس هیدروژن پراکسید توسط کاتالاز یا گلوکاتیون پراکسیداز به آب تجزیه می‌شود [۲۱]. در مقایسه با گروه کنترل، در گروه‌های تحت درمان، سطح بالای فعالیت حفاظتی سوپر اکسید دیسموتاز مشاهده گردید. این مکانیزم تحت عنوان شکار رادیکالهای آزاد و سرکوب توسعه رادیکال اکسیژن شناخته می‌شود [۲۲]. این امر سبب حفاظت منطقه کولورکتال از فشارهای اکسیداتیو و درمان این بخش می‌شود [۲۳].

مطالعات پیشین نشان دادند که عوامل درمانی شیمیایی کنونی برای دستگاه گوارش نظیر اومپرازول باعث افزایش فعالیت آنزیمهای آنتی‌اکسیدانی می‌شوند [۲۴]. در نتایج فوق نیز همانند مطالعه حاضر میزان آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز مورد بررسی قرار گرفت و مشخص گردید

تصویر ۱ نمونه اثر بر بافت عضله خرچنگ شناگر روده قابل مشاهده است.

جدول ۳: ترکیبات شناسایی شده در عصاره بوتانولی استخراج شده از بافت

عضله خرچنگ *Portunus segnis*

Table 3: Compounds identified in butanol extract extracted from *Portunus segnis* crab muscle tissue

| ترکیبات شناسایی شده از عصاره بوتانولی | درصد سطح زیر پیک نسبت به کل | زمان بازداری (دقیقه) | درصد اطمینان |
|---|-----------------------------|----------------------|--------------|
| Octamethylcyclotetrasiloxane | ۰/۰۸ | ۱۲/۷۱۳ | ۷۴ |
| Tetradecane | ۱/۳۱ | ۱۴/۲۶۴ | ۹۸ |
| Butylated hydroxytoluene (BHT) | ۰/۴۲ | ۱۵/۶۱۶ | ۹۶ |
| Hexadecane | ۳/۲۱ | ۱۶/۷۷۰ | ۹۹ |
| 2-(Methylthio)benzothiazole | ۰/۳۵ | ۱۶/۹۵۶ | ۹۸ |
| 2(3H)-Benzothiazolone | ۰/۵۹ | ۱۷/۷۲۰ | ۹۰ |
| 2-(1-Phenylethyl)phenol | ۰/۸۳ | ۱۸/۲۱۰ | ۹۰ |
| Heptadecane | ۳/۷۲ | ۱۹/۰۳۷ | ۹۵ |
| Octadecane | | | ۹۱ |
| 1,2-benzenedicarboxylic acid(phthalic acid) | ۰/۵۱ | ۱۹/۶۸۴ | ۹۵ |
| 1-Pentyl-2-propylcyclopentane | ۰/۳۹ | ۱۹/۹۴۱ | ۸۳ |
| 9-Hexadecenoic acid) Palmitoleic acid(n-Hexadecanoic acid | ۱/۵۴ | ۲۰/۵۰۶ | ۹۱ |
| Eicosane | ۴/۸۳ | ۲۰/۶۸۷ | ۹۹ |
| 9-octadecenoic acid | ۴/۳۴ | ۲۱/۰۸۳ | ۹۹ |
| Octadecanoic acid | ۴/۸۲ | ۲۲/۴۱۲ | ۹۹ |
| Hexadecanamide | ۳/۸۲ | ۲۲/۶۱۶ | ۹۹ |
| Docosane | ۰/۸۴ | ۲۲/۷۹۱ | ۹۳ |
| (Z)-9-Octadecenamide | ۴/۶۶ | ۲۲/۹۷۲ | ۹۹ |
| Tetracosane | ۲/۷۳ | ۲۲/۳۸۸ | ۹۷ |
| 1-Phenanthrenecarboxylic acid | ۴/۲۷ | ۲۴/۷۲۰ | ۹۶ |
| Hexacosane | ۱/۵۵ | ۲۵/۱۴۰ | ۹۶ |
| Tricosane | ۲/۸۱ | ۲۸/۲۱۲ | ۹۸ |
| Z-14-Nonacosane | ۲/۳۶ | ۳۰/۹۲۲ | ۹۷ |
| Cholesterol | ۴/۷۵ | ۳۱/۵۹۲ | ۹۴ |
| 26-Nor-5-cholesten-3.beta.-25-one | ۳۰/۶۹ | ۳۳/۰۶۷ | ۹۹ |
| | | | ۸۹ |

در طول چند دهه گذشته مطالعات بسیاری به منظور بررسی اثرات اسیدهای چرب غیر اشباع بر بیماری‌های مختلف دستگاه گوارشی انجام شده است [۱۰]. در این زمینه محققین نشان داده‌اند که اسیدهای چرب EPA و DHA به واسطه پراکسیداسیون غشاء، سبب ترمیم سلول‌ها می‌شوند [۱۱-۱۳].

با توجه به درجه قطبیت مختلف حلال‌ها ترکیبات مختلف از بافت عضله خرچنگ *Portunus segnis* استخراج شد.

حلال ایده آل جهت آزاد سازی تمامی لیپیدها از غشاء سلولی و یا لیپوپروتئین‌ها، حلال‌های نسبتاً قطبی مانند بوتانول می‌باشد. امروزه علیرغم اینکه بسیاری از مطالعات بر روی مواد خالص شده انجام می‌گیرند اما در این تحقیق، از عصاره‌های خام (بدون خالص سازی) استفاده شد که به نوبه خود مجموعه مواد مختلف می‌تواند مزیت‌هایی در مقایسه با مواد خالص داشته باشد به طوری که در مطالعه‌ای روشن شده که ترکیبات خام در مقایسه با ترکیبات خالص شده اثرات بهتر و قویتری

در نگارش این مقاله نویسندگان سهم یکسانی داشتند.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله نویسندگان کمال تشکر و قدردانی خود را از کارشناسان محترم مجتمع آزمایشگاهی شهید فخری زاده دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال و کمک‌های بی‌شائبه انسیتو پاستور ایران جهت در اختیار گذاشتن امکانات لازم برای انجام آزمایش ابراز می‌نمایند.

تعارض منافع

«هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان بیان نشده است.»

References

1. Monaco R, Quinlan R. Novel natural product discovery from marine sponges and their obligate symbiotic organisms. *Biorxiv* 2014;5454. doi: 10.1101/005454
2. Sahebi Z, Emtiazjoo M, Mostafavi PG, Bonakdar S. Promising Chemoprevention of Colonic Aberrant Crypt Foci by *Portunus segnis* Muscle and Shell Extracts in Azoxymethane-Induced Colorectal Cancer in Rats. *Anticancer Agents Med Chem*. 2020;20(17):2041-52. doi: 10.2174/1871520620666200612144912 pmid: 32532197
3. Datta D, Talapatra SN, Swarnakar S. Bioactive compounds from marine invertebrates for potential medicines-an overview. *Int Lett Nat Sci*. 2015;7:42-61. doi: 10.18052/www.scipress.com/ILNS.34.42
4. Yeomans ND, Naesdal J. Systematic review: ulcer definition in NSAID ulcer prevention trials. *Aliment Pharmacol Ther*. 2008;27(6):465-72. doi: 10.1111/j.1365-2036.2008.03610.x pmid: 18194499
5. Moghadamzadegan S, Emtiazjoo M, Sadeghe M, Rabani M. Evaluation of anti-inflammatory effects of bioactive peptides of *Spirulina platensis* extracted by cysteine protease in animal model of mice, Balb/C (Persian). *J Animal Biol*. 2021;13(4):119-32.
6. Musumba C, Pritchard DM, Pirmohamed M. Review article: cellular and molecular mechanisms of NSAID-induced peptic ulcers. *Aliment Pharmacol Ther*. 2009;30(6):517-31. doi: 10.1111/j.1365-2036.2009.04086.x pmid: 19575764
7. Hajrezaie M, Shams K, Moghadamtousi SZ, Karimian H, Hassandarvish P, Emtiazjoo M, et al. Chemoprevention of Colonic Aberrant Crypt Foci by Novel Schiff Based Dichlorido(4-Methoxy-2-[[2-(Piperazin-4-ylmethyl)Phenolate]Cd Complex in Azoxymethane-Induced Colorectal Cancer in Rats. *Sci Rep*. 2015;5:12379. doi: 10.1038/srep12379 pmid: 26201720
8. Jalilzadeh Amin Q, Yousefi A, Pirbazari M. The effect of black cumin essential oil on gastric ulcer induced in rats. (Persian). *Sci J Gorgan Univ Med Sci*. 2014;16(2).
9. Ayas NT, Taylor CM, Laher I. Cardiovascular consequences of obstructive sleep apnea. *Curr Opin*

میزان آنزیم در سرم خون موش نسبت به نمونه شاهد افزایش داشته است که دلیل آن کاهش استرس اکسیداتیو بوده است.

نتیجه‌گیری

از بررسی نتایج حاصل از این مطالعه مشاهده شد که مصرف کلیه عصاره‌ها در دوزهای مختلف ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم به طور معناداری تعداد و درصد حیواناتی که دارای زخم معده بودند را کاهش داده است. با این وجود در بین کلیه عصاره‌های استخراجی بهترین خاصیت مهارکنندگی را عصاره بوتانولی با دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم و با شاخص مهارکنندگی ۶۲ درصد داشت.

مشارکت نویسندگان

- Cardiol. 2016;31(6):599-605. doi: 10.1097/HCO.0000000000000329 pmid: 27652812
10. Seegers JC, Lottering ML, Panzer A, Bianchi P, Stark JH. Comparative anti-mitotic effects of lithium gamma-linolenate, gamma-linolenic acid and arachidonic acid, on transformed and embryonic cells. *Prostaglandins, Leukot Essent Fat*. 1998;59:285-91. doi: 10.1016/S0952-3278(98)90143-0
11. Dichwalkar T, Patel S, Bapat S, Pancholi P, Jasani N, Desai B, et al. Omega-3 Fatty Acid Grafted PAMAM-Paclitaxel Conjugate Exhibits Enhanced Anticancer Activity in Upper Gastrointestinal Cancer Cells. *Macromol Biosci*. 2017;17(8). doi: 10.1002/mabi.201600457 pmid: 28485094
12. Parker TD, Adams DA, Zhou K, Harris M, Yu L. Fatty acid composition and oxidative stability of cold pressed edible seed oils. *J Food Sci*. 2003;68:1240-3. doi: 10.1111/j.1365-2621.2003.tb09632.x
13. Petrik MB, McEntee MF, Johnson BT, Obukowicz MG, Whelan J. Highly unsaturated (n-3) fatty acids, but not alpha-linolenic, conjugated linoleic or gamma-linolenic acids, reduce tumorigenesis in Apc(Min/+) mice. *J Nutr*. 2000;130(10):2434-43. doi: 10.1093/jn/130.10.2434 pmid: 11015469
14. Fini L, Hotchkiss E, Fogliano V, Graziani G, Romano M, De Vol EB, et al. Chemopreventive properties of pinoresinol-rich olive oil involve a selective activation of the ATM-p53 cascade in colon cancer cell lines. *Carcinogenesis*. 2008;29(1):139-46. doi: 10.1093/carcin/bgm255 pmid: 17999988
15. Hosseinzadeh H, Karimi G, Ameri Moghadam M. Evaluation of antitumor effect of aqueous extract and hydroalcoholic extract of dill eggs in rats, Faculty of Pharmacy, Mashhad University of Medical Sciences (Persian). 1991;2:53-64.
16. Komili A, Sargazi M, Selouki S, Maliki Sh, Saeedi Nik F. The effects of hydroalcoholic extract of aloe vera seed on the treatment of ibuprofen-induced gastric ulcer in rats (Persian). *Quarter J Univ Med Sci Gonabad Health Service*. 1991;18(1):12-6.
17. Saghaei F, Salehi M, Namazi M, Bagheri J. The effect of thyme hydroalcoholic extract on ethanol-induced gastric ulcer in rat., Faculty of Veterinary Medicine,

- Islamic Azad University, Shahrekord Branch., Herbal Medicines (Persian). 2014;6(3):167-74.
18. Khare S, Asad M, Dhamanigi SS, Prasad VS. Antiulcer activity of cod liver oil in rats. *Indian J Pharmacol*. 2008;40(5):209-14. doi: 10.4103/0253-7613.44152 pmid: 20040959
19. Abul H, Mathew TC, Dashti HM, Al-Bader A. Level of superoxide dismutase, glutathione peroxidase and uric acid in thioacetamide-induced cirrhotic rats. *Anat Histol Embryol*. 2002;31(2):66-71. doi: 10.1046/j.1439-0264.2002.00359.x pmid: 12047241
20. Larrauri JA, Sanchez-Moreno C, Ruperez P, Saura-Calixto F. Free radical scavenging capacity in the aging of selected red Spanish wines. *J Agric Food Chem*. 1999;47(4):1603-6. doi: 10.1021/jf980607n pmid: 10564024
21. Reuter S, Gupta SC, Chaturvedi MM, Aggarwal BB. Oxidative stress, inflammation, and cancer: how are they linked? *Free Radic Biol Med*. 2010;49(11):1603-16. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2010.09.006 pmid: 20840865
22. Watson JL, Hill R, Yaffe PB, Greenshields A, Walsh M, Lee PW, et al. Curcumin causes superoxide anion production and p53-independent apoptosis in human colon cancer cells. *Cancer Lett*. 2010;297(1):1-8. doi: 10.1016/j.canlet.2010.04.018 pmid: 20472336
23. Zorofchian Moghadamtousi S, Rouhollahi E, Karimian H, Fadaeinasab M, Firoozinia M, Ameen Abdulla M, et al. The chemopotential effect of *Annona muricata* leaves against azoxymethane-induced colonic aberrant crypt foci in rats and the apoptotic effect of Acetogenin Annomuricin E in HT-29 cells: a bioassay-guided approach. *PLoS One*. 2015;10(4):e0122288. doi: 10.1371/journal.pone.0122288 pmid: 25860620
24. Al-Numair KS, Waly MI, Ali A, Essa MM, Farhat MF, Alsaiif MA. Dietary folate protects against azoxymethane-induced aberrant crypt foci development and oxidative stress in rat colon. *Exp Biol Med* (Maywood). 2011;236(9):1005-11. doi: 10.1258/ebm.2011.011010 pmid: 21768165

AUTHOR(S) BIOSKETCHES

Emtyazjoo, M., Associate Professor, Islamic Azad University, North Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
(m_emtyazjoo@iau-tnb.ac.ir; moz_emtyazjoo@yahoo.com)

Sadeghi, M.S., Assistant Professor, Islamic Azad University, North Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
(mahnaz_sadat_sadeghi@yahoo.com.au)

Izadi Najafabadi, Sh., Graduate Master of Marine Biotechnology, Islamic Azad University, North Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
(izadi330@gmail.com)

Sahebi, Z., Arvin Zist Poya Laboratory. Iran
(zahrasahebi1393@gmail.com)



HOW TO CITE THIS ARTICLE

Citation (Vancouver) Emtyazjoo, M., Sadeghe, M.S., Izadi Najafabadi, Sh., Sahebi, Z. Antiulcer Assay of Crab Tissue Extract of Swimmer Crab, *Portunus Segnis* on Gastric Ulcer Induced in Balb/C Mice. *J Oceanography*. 2022, 13(50): 74-82

<http://doi.org/10.52547/joc.13.50.74>

<http://joc.inio.ac.ir/article-1-1664-fa.html>

<https://orcid.org/0000-0002-8311-5238>



COPYRIGHTS

©2022 The author(s). This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution (CC BY 4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, as long as the original authors and source are cited. No permission is required from the authors or the publishers.