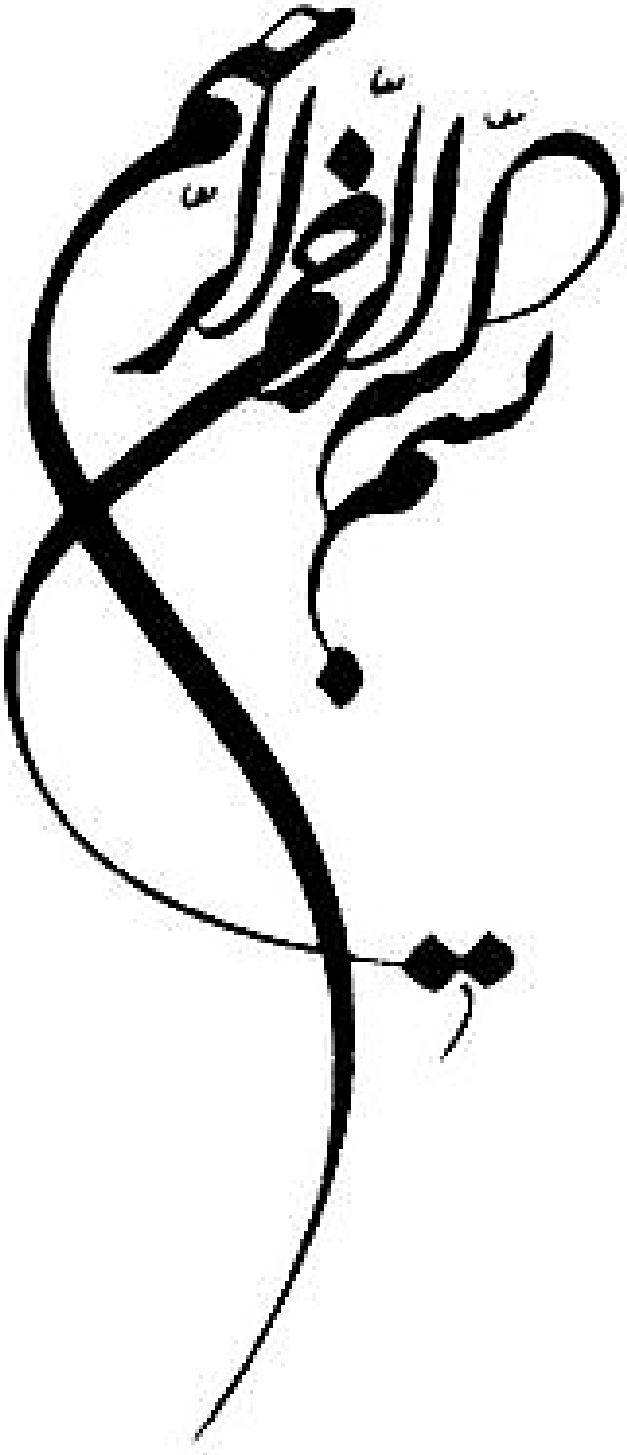

دانشگاه هرمزگان
دانشکده علوم پایه

پایان نامه برای دریافت درجه کارشناسی ارشد در رشته زیست‌شناسی دریا- جانوران دریا

عنوان:

بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی و سنجش ترکیبات موثر آن در توتیای‌دریایی گونه *Echinometra mathaei* خلیج فارس

استاد راهنما:

دکتر مرتضی یوسف‌زادی

اساتید مشاور:

دکتر سهیلا معین

دکتر نرگس امراللهی بیوکی

نگارنده:

سولماز سلیمانی

آبان ماه ۱۳۹۳

وهو الذی سخر البحر لتاکلوا منه لحما طریا و تستخرجوا منه حلیه تلبسونها و تری الفلک مواخر فیه و لتبتغوا من فضله و لعلکم تشکرون

و هم او خدائیست که دریا را برای شما مسخر کرد تا از گوشت (ماهیان حلال) آن تغذیه کنید و از زیورهای آن استخراج کرده و تن را بیارائید و کشتی ها در آن بر انید تا از فضل خدا روزی طلبید، باشد که شکر خدا به جای آرید.

سوره نحل - آیه ۱۴

تشکر و قدردانی

از آنجایی که تجلیل از معلم، سپاس از انسانی است که هدف و غایت آفرینش را تامین می‌کند و سلامت امانت هایی را که به دستش سپرده اند، تضمین؛ برحسب وظیفه و از باب "من لم یشکر المنعم من المخلوقین لم یشکر الله عزّ و جلّ" : ازپدر و مادر عزیزم، این دو معلم بزرگوارم، که همواره بر کوتاهی و درشتی من، قلم عفو کشیده و کریمانه از کنار غفلت هایم گذشته اند و در تمام عرصه های زندگی، یار و یاوری بی چشم داشت برای من بوده اند، تشکر می کنم و در برابر وجود گرامیشان زانوی ادب بر زمین می نهم و با دلی مملو از عشق و محبت بر دستان پر مهرشان بوسه می زنم.

از استاد ارجمندم جناب آقای دکتر مرتضی یوسف زادی که در کمال سعه صدر، با حسن خلق و فروتنی و شیطنت های زیبای آن دوران، از هیچ کمکی در این عرصه بر من دریغ ننمودند و زحمت راهنمایی این پایان نامه را بر دوش کشیدند؛ از اساتید دلسوز و فرزانه؛ سرکار خانم دکتر سهیلا معین و سرکار خانم دکتر نرگس امراللهی یوکی که زحمت مشاوره این پایان نامه را در حالی متقبل شدند که بدون مساعدت ایشان، این پروژه به نتیجه مطلوب نمی رسید؛ کمال تشکر و قدردانی را دارم.

از جناب آقای دکتر موسی کشاورز به دلیل یاری ها و راهنمایی های بی چشم داشت ایشان که بسیاری از سختی ها را برایم آسان تر نمودند، هم چنین از کلیه کارکنان دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان، به ویژه گروه بیوشیمی؛ پژوهشکده مواد اولیه و گیاهان دارویی دانشگاه شهید بهشتی؛ آزمایشگاه سنجش آلودگی محیط زیست، به دلیل همکاری بی دریغشان جهت پیش برد این پایان نامه سپاسگزارم.

حال این برگ سبزی است تحفه درویش تقدیم به آنان...

امید که گامی کوچک برای آغاز راهی بزرگ باشد

چکیده

آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی می‌توانند با خنثی کردن رادیکال‌های آزاد، در پیشگیری از بیماری‌های قلبی-عروقی و برخی اشکال سرطان اهمیت داشته باشند. رادیکال‌های آزاد، یک یا چند الکترون غیرجفت در اوربیتال خالی دارند که اکسیژن مرکزی آن‌ها، به‌عنوان ROS شناخته می‌شوند. مهار آن‌ها، برای کاهش سطح استرس اکسیداتیو ارگانیسم، در جلوگیری و درمان برخی بیماری‌های مزمن و مخرب موثر می‌باشند. در این تحقیق، عصاره‌های بافت‌های مختلف (خار، پوسته، گناد و فانوس‌ارسطو) توتیای‌دریایی با استفاده از سه حلال ان- هگزان، اتیل‌استات و متانول، براساس افزایش قطبیت جدا گردید. رنگدانه پوسته و خار به کمک HCl استخراج، مایع‌سلومیک با چهار حالت مختلف جداسازی و سپس سلول‌های آزاد مایع‌سلومیک و سلوموسیت‌لیزات استخراج شده و بهترین حالت استخراج نیز شناسایی گردید. سپس بررسی برخی خواص شیمیایی و زیستی (آنتی‌اکسیدان، ضدالتهاب، ضددیابت، آنتی‌باکتریال و سمیت‌سلولی) اندام‌های مختلف، مایع‌سلومیک و رنگدانه خار و پوسته توتیای‌دریایی *Echinometra matheai* با استفاده از روش‌های استاندارد مورد سنجش قرار گرفت. در ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی، سلول‌های آزاد مایع‌سلومیک دارای بیش‌ترین قدرت احیاکنندگی و مهار رادیکال آزاد و فانوس‌ارسطو اتیل‌استاتی دارای بیش‌ترین میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشند؛ در ارزیابی فعالیت ضدالتهابی، بیش‌ترین فعالیت در فانوس‌ارسطو اتیل‌استاتی و رنگدانه پوسته مشاهده شد؛ هم‌چنین، رنگدانه پوسته بیش‌ترین میزان مهار آنزیم آلفاآمیلاز را دارا می‌باشد. در مطالعه سمیت‌سلولی، هیچ‌یک از عصاره‌های مورد آزمایش اثر سمی (توکسیک) نشان ندادند. نتایج اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال P<۰/۰۵ را نشان می‌دهد. به‌علاوه، نتایج حاصل از شناسایی کمی و کیفی رنگیزه‌های موجود در مایع‌سلومیک (CF و CL) و پوسته و خار توتیای‌دریایی *E. mathaei* نشان داد که بیش‌ترین رنگیزه‌ها از نظر کمی، به‌ترتیب، اسپینوکروم A، B، C و اکینوکروم A می‌باشند. درحالی که نتایج حاصل از LC-MS بیش‌ترین رنگیزه‌ها را، به‌ترتیب، اسپینوکروم B، C، اکینوکروم A و اسپینوکروم A نشان داد. یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد که می‌توان توتیای‌دریایی *E. mathaei* را به‌عنوان یک منبع جدید و بالقوه از ترکیبات فعال زیستی طبیعی معرفی کرد.

کلید واژه‌ها: خواص زیستی، توتیای‌دریایی، خلیج‌فارس، *Echinometra matheai*

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فصل اول ۱

مقدمه ۲

۱-کلیات ۴

۱-۱-محیط زیست دریایی و اهمیت آن ۴

۱-۲- فرآورده ها و ترکیبات فعال زیستی دریایی ۵

۱-۳- شاخه خارپوستان ۷

۱-۳-۱- رده بندی شاخه خارپوستان ۷

۱-۳-۲- توتیای دریایی ۸

۱-۳-۲-۱- تاریخچه زیست شناسی توتیای دریایی ۸

۱-۳-۲-۲- اکولوژی توتیای دریایی ۹

۱-۳-۲-۳- آناتومی توتیای دریایی ۹

۱-۳-۲-۴- اهمیت توتیای دریایی ۱۲

۱-۳-۲-۴-۱- ارزش غذایی ۱۵

۱-۴- معرفی گونه توتیای دریایی مورد مطالعه (*Echinometra mathaei*) ۱۶

۱-۴-۱- رده بندی توتیای دریایی *Echinometra mathaei* ۱۷

۱-۵- کاربردهای توتیای دریایی ۱۷

۱-۶- بررسی برخی خواص ترکیبات فعال زیستی ۱۸

۱-۶-۱- فعالیت آنتی اکسیدانی ۱۹

۱-۶-۱-۱- رادیکال های آزاد ۱۹

۱-۶-۱-۲- استرس اکسیداتیو ۲۱

۱-۶-۱-۳- ترکیبات ضداکسیدان ۲۲

۱-۶-۱-۴- محتوای فنلی ۲۵

۱-۶-۲- فعالیت ضدالتهابی ۲۵

۱-۶-۳- فعالیت ضد دیابتی ۲۶

۱-۶-۳-۱- آنزیم آلفاآمیلاز ۲۷
۱-۶-۳-۲- کارکرد آلفاآمیلاز ۲۸
۱-۶-۳-۳- آلفاآمیلاز در صنعت..... ۲۸
۱-۶-۴- آنتی باکتریال..... ۲۹
Bacillaceae ۲۹
Enterobacteriaceae ۲۹
Staphylococcaceae..... ۳۰
Vibrionaceae..... ۳۰
۱-۶-۵- سمیت سلولی ۳۰
۱-۷- اهداف تحقیق ۳۱
۱-۸- فرضیات تحقیق ۳۱
فصل دوم ۳۲
۲- پیشینه تحقیق ۳۲
۳-۱- نمونه برداری ۳۷
۳-۱-۱- موقعیت جغرافیایی جزیره قشم..... ۳۷
۳-۲- تشریح و آماده سازی نمونه ها پیش از عصاره گیری ۳۸
۳-۳- عصاره گیری و استخراج مایع سلومیک و رنگدانه های پوسته و خار ۳۹
۳-۳-۱- عصاره گیری بافت های مختلف ۳۹
۳-۳-۲- بهینه سازی استخراج مایع سلومیک ۴۰
۳-۳-۲-۱- جداسازی سلول های آزاد مایع سلومیک (CF) ۴۰
۳-۳-۲-۲- استخراج سلوموسیت لیزات (CLS): ۴۰
۳-۳-۳- استخراج رنگدانه پوسته و خار ۴۱
۳-۴- شناسایی و اندازه گیری کمی و کیفی ترکیبات رنگیزه های آنتراکینونی..... ۴۱
۳-۵- سنجش میزان ترکیبات..... ۴۳
۳-۵-۱- اندازه گیری محتوی کل ترکیبات فنلی عصاره ها ۴۳
۳-۵-۲- اندازه گیری محتوی کل ترکیبات فلاونوئید..... ۴۳
۳-۵-۳- سنجش محتوی پروتئین ۴۴

۳-۵-۴- سنجش فعالیت پروتئاز ۴۴
۳-۶- ارزیابی خواص زیستی ۴۵
۳-۶-۱- فعالیت آنتی اکسیدانی ۴۵
۳-۶-۱-۱- ارزیابی قدرت احیاکنندگی ۴۵
۳-۶-۱-۲- ارزیابی فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH ۴۵
۳-۶-۱-۳- ارزیابی ظرفیت آنتی اکسیدانی کل (TAC) ۴۶
۳-۶-۲- ارزیابی درصد مهار دناچوره شدن پروتئین ۴۶
۳-۶-۳- ارزیابی مهار فعالیت آلفا آمیلاز ۴۷
۳-۶-۴- آنتی باکتریال ۴۸
۳-۶-۴-۱- سویه های باکتریایی ۴۸
۳-۶-۴-۲- تهیه محیط کشت ۴۹
۳-۶-۴-۳- کشت باکتریایی ۴۹
۳-۶-۴-۴- کدورت محلول استاندارد نیم مک مارلند ۴۹
۳-۶-۴-۵- تعیین کمترین غلظت بازدارنده (MIC) ۴۹
۳-۶-۵- ارزیابی فعالیت سمیت سلولی با استفاده از لارو میگوی آب شور *Artemia salina* ۵۰
۳-۶-۵-۱- آماده سازی آرتمیا ۵۰
۳-۶-۵-۲- تست سمیت بر روی *Artemia salina* ۵۰
۳-۷- تجزیه و تحلیل آماری ۵۱
فصل چهارم ۵۲
۴- نتایج ۵۳
۴-۱- عصاره گیری ۵۳
۴-۱-۱- راندمان عصاره های بافت های مختلف ۵۳
۴-۱-۲- بهینه سازی استخراج مایع سلومیک ۵۳
۴-۱-۳- بیومس استخراج رنگدانه پوسته و خار ۵۴
۴-۲- استخراج، شناسایی و اندازه گیری کمی و کیفی ترکیبات رنگیزه های آنتراکینونی ۵۴
۴-۳- سنجش میزان ترکیبات ۵۹
۴-۳-۱- اندازه گیری محتوی کل ترکیبات فنلی و فلاونوئید عصاره ها ۵۹

۴-۳-۳- سنجش فعالیت پروتئاز ۶۰
۴-۴- ارزیابی خواص زیستی ۶۱
۴-۴-۱- فعالیت آنتی اکسیدانی ۶۱
۴-۴-۱-۱- ارزیابی قدرت احیاکنندگی ۶۱
۴-۴-۱-۲- ارزیابی فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH ۶۴
۴-۴-۱-۳- ارزیابی ظرفیت آنتی اکسیدانی کل (TAC) ۶۷
۴-۴-۲- ارزیابی درصد مهار دناچوره شدن پروتئین ۶۹
۴-۴-۳- ارزیابی مهار فعالیت آلفا آمیلاز ۷۱
۴-۴-۴- آنتی باکتریال ۷۴
۴-۴-۵- ارزیابی فعالیت سمیت سلولی با استفاده از لارو میگوی آب شور *Artemia salina* ۷۵
فصل پنجم ۷۶
۵- بحث ۷۷
۵-۱- عصاره گیری ۷۷
۵-۱-۱- بهینه سازی استخراج مایع سلومیک ۷۷
۵-۱-۲- بیومس استخراج رنگدانه پوسته و خار ۷۸
۵-۲- استخراج، شناسایی و اندازه گیری کمی و کیفی ترکیبات رنگیزه های آنتراکینونی ۷۸
۵-۳- سنجش میزان ترکیبات ۷۹
۵-۳-۱- اندازه گیری محتوی کل ترکیبات فنلی و فلاونوئید عصاره ها ۷۹
۵-۳-۲- سنجش فعالیت پروتئاز ۸۰
۵-۴- ارزیابی خواص زیستی ۸۰
۵-۴-۱- فعالیت آنتی اکسیدانی ۸۰
۵-۴-۱-۱- ارزیابی قدرت احیاکنندگی ۸۱
۵-۴-۱-۲- ارزیابی فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH ۸۱
۵-۴-۲- ارزیابی درصد مهار دناچوره شدن پروتئین ۸۳
۵-۴-۳- ارزیابی مهار فعالیت آلفا آمیلاز ۸۴
۵-۴-۴- آنتی باکتریال ۸۵
۵-۴-۵- ارزیابی فعالیت سمیت سلولی با استفاده از لارو میگوی آب شور *Artemia salina* ۸۵

۵-۵- نتیجه گیری ۸۶
آزمون فرضیات ۸۸
پیشنهادات پژوهشی و اجرایی ۸۸
فهرست منابع ۹۰

فهرست اشکال

عنوان **صفحه**

شکل ۱-۱. ظاهر یک توتیای‌دریایی منظم (نیم‌کره مخرجی)..... ۱۰

شکل ۱-۲. برش طولی از یک توتیای‌دریایی..... ۱۱

شکل ۱-۳. سلوموسیت‌های زنده از توتیای‌دریایی *Paracentrotus lividus*..... ۱۴

شکل ۱-۴. توتیای‌دریایی گونه *Echinometra mathaei* ساحل پارک زیتون قشم..... ۱۷

شکل ۱-۵. گونه اکسیژن واکنشی (ROS)، تخریب اکسیداتیو و بیماری‌های انسان..... ۲۲

شکل۱-۶. تقسیم بندی ترکیبات ضداکسیدان..... ۲۴

شکل۱-۷. نمایی شماتیک از آنزیم آلفاآمیلاز..... ۲۷

شکل ۱-۸. نمایی شماتیک از عملکرد آنزیم آلفاآمیلاز..... ۲۸

شکل۳-۱. گونه مورد مطالعه *Echinometra mathaei* (پارک زیتون- جزیره قشم)..... ۳۷

شکل۳-۲. نقشه خلیج فارس، جزیره قشم..... ۳۸

شکل۳-۳. توتیای‌دریایی گونه *E.mathaei*..... ۳۹

شکل۳-۴. تشریح توتیای‌دریایی گونه *E.mathae*..... ۳۹

شکل ۳-۵. ساختار شیمیایی رنگدانه‌های پلی‌هیدروکسیلات ۱ و ۴ نفتاکینون توتیای‌دریایی..... ۴۲

شکل۵-۱. مکانیسم‌های فعالیت آنتی‌اکسیدانی PHNQ..... ۸۳

فهرست جداول

عنوان **صفحه**

جدول ۱-۱. عملکرد و انواع سلول‌های سلوموسیت در توتیای دریایی ارغوانی..... ۱۵

جدول ۱-۲. پارامترهای غذایی گناد توتیای‌دریایی (در هر ۱۰۰ گرم)..... ۱۶

جدول۱-۳. ترکیب آمینواسید در هر ۱۰۰ گرم گناد توتیای‌دریایی..... ۱۶

جدول ۱-۴. رده‌بندی گونه *Echinometra mathaei* ۱۷

جدول ۱-۵. نقش رادیکال‌های آزاد در بیماری‌های مختلف..... ۲۰

جدول ۳-۱. خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آب محل نمونه برداری..... ۳۷

جدول۳-۲. باکتری‌های استفاده شده در آزمایش..... ۴۸

جدول ۴-۱. وزن خام و عصاره بافت‌های مختلف حاصل از حلال‌های مختلف..... ۵۳

جدول۴-۲. نتایج به‌دست آمده از استخراج مایع سلومیک در حالات مختلف آزمایش..... ۵۳

جدول ۴-۳. درصد رنگیزه‌ها در CL و CF حالات مختلف استخراج مایع‌سلومیک در یک میلی‌لیتر..... ۵۶

جدول ۴-۴. درصد رنگیزه‌ها در رنگدانه پوسته و خار در یک میلی‌لیتر..... ۵۷

جدول ۴-۵. میزان کل ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی عصاره‌های حاصل از توتیای‌دریایی *E.mathaei*..... ۶۰

جدول ۴-۶. میزان پروتئین CF و CL در حالت بافره(میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)..... ۶۰

جدول۴-۷. توانایی احیا یون آهن‌کلرید توسط بخش‌های مختلف توتیای‌دریایی..... ۶۲

جدول۴-۸. میزان درصد مهار رادیکال آزاد DPPH توسط عصاره‌های مختلف توتیای دریایی..... ۶۵

جدول۴-۹. میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل عصاره‌های بخش‌های مختلف توتیای‌دریایی..... ۶۷

جدول۴-۱۰. میزان درصد مهار دناچوره شدن پروتئین توسط عصاره‌های مختلف توتیای‌دریایی..... ۶۹

جدول ۴-۱۱. میزان درصد مهار آنزیم آلفاآمیلاز توسط عصاره‌های مختلف توتیای‌دریایی..... ۷۱

جدول ۴-۱۲. میزان درصد مهار آنزیم آلفاآمیلاز توسط مایع‌سلومیک (CF و CL) توتیای‌دریایی..... ۷۴

جدول ۴-۱۳. حداقل غلظت بازدارنده رشد عصاره‌ها بر روی برخی باکتری‌های بیماریزای انسانی..... ۷۴

جدول۴-۱۴. درصد سمیت غلظت‌های مختلف عصاره‌ها بر روی آرتمیا..... ۷۵

فهرست نمودار

عنوان صفحه

نمودار ۴-۱. میزان رنگیزه‌های سلول‌های آزاد مایع‌سلومیک (CF) استخراج شده با حالات مختلف از مایع-سلومیک (میکرولیتر بر میلی‌لیتر).....۵۴

نمودار ۴-۲. میزان رنگیزه‌های سلوموسیت‌لیزات‌های (CL) استخراج شده با حالات مختلف از مایع سلومیک (میکرولیتر بر میلی‌لیتر).....۵۵

نمودار ۴-۳. میزان رنگیزه‌های موجود در رنگدانه پوسته و خار و مایع‌سلومیک (CF و CL) توتیای‌دریایی (میکروگرم بر میلی‌لیتر).....۵۶

نمودار ۴-۴. مشخصات HPLC-DAD از رنگدانه PHNQ مورد مطالعه در طول موج آن‌ها از حداکثر جذب (λ_{max}) و طیف UV آن‌ها.....۵۸

نمودار ۴-۵. (a) LC-ESI-MS کل یون (TIC، در حالت منفی) رنگدانه‌های PHNQ و مشخصات رنگدانه‌های PHNQ مورد مطالعه و (b، c، d و e) طیف آن‌ها.....۵۹

نمودار ۴-۶. درصد فعالیت پروتئاز در CF و CL در حالت بافره (میکرومولار بر میلی‌لیتر بر دقیقه).....۶۱

نمودار ۴-۷. قدرت احیایی قوی‌ترین عصاره‌های توتیای‌دریایی در مقایسه با آسکوربیک‌اسید به‌عنوان استاندار در غلظت‌های مختلف (میکروگرم بر میلی‌لیتر)..... ۶۳

نمودار ۴-۸. مقایسه قدرت احیاکنندگی رنگدانه و مایع‌سلومیک توتیای‌دریایی با آسکوربیک‌اسید به‌عنوان استاندارد در غلظت‌های مختلف (میکروگرم بر میلی‌لیتر) که برابر با ۱/۱۰ حجم‌های استفاده شده برای سلول‌های آزاد مایع‌سلومیک و سلوموسیت لیزات (میکرولیتر) می‌باشد.....۶۴

نمودار ۴-۹. مقایسه درصد مهار رادیکال آزاد DPPH قوی‌ترین عصاره‌های توتیای دریایی در برابر BHT به عنوان استاندارد در غلظت‌های مختلف (میکروگرم برمیلی‌لیتر)..... ۶۶

نمودار ۴-۱۰. مقایسه میانگین درصد مهار رادیکال آزاد DPPH در غلظت‌های مختلف رنگدانه پوسته و خار و BHT به‌عنوان استاندارد که برابر با حجم‌های متفاوتی از مایع‌سلومیک (CF و CL) می‌باشد.....۶۷

نمودار ۴-۱۱. میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی قوی‌ترین عصاره‌های توتیای‌دریایی در مقایسه با آسکوربیک‌اسید به عنوان استاندار در غلظت‌های مختلف (میکروگرم بر میلی‌لیتر).....۶۸

نمودار ۴-۱۲. مقایسه ظرفیت آنتی‌اکسیدانی رنگدانه و مایع‌سلومیک توتیای‌دریایی با آسکوربیک‌اسید به‌عنوان استاندارد در غلظت‌های مختلف (میکروگرم بر میلی‌لیتر) که برابر با حجم‌های استفاده شده برای سلول‌های آزاد مایع‌سلومیک و سلوموسیت‌لیزات (میکرولیتر) می‌باشد.....۶۹

نمودار ۴-۱۳. مقایسه درصد مهارکنندگی دناچوره شدن پروتئین در سوبسترای BSA توسط قوی‌ترین عصاره-های توتیای‌دریایی در برابر آسپرین به‌عنوان استاندارد در غلظت‌های مختلف (میکروگرم بر میلی‌لیتر).....۷۰

نمودار ۴-۱۴. مقایسه درصد مهارکنندگی دناچوره شدن پروتئین در سوبسترای BSA توسط رنگدانه های پوسته و خار در برابر آسپرین به‌عنوان استاندارد در غلظت‌های مختلف (میکروگرم بر میلی‌لیتر).....۷۱

نمودار ۴-۱۵. مقایسه درصد مهارکنندگی آنزیم آلفاآمیلاز در سوبسترای نشاسته توسط قوی‌ترین عصاره‌های توتیای‌دریایی در برابر آکاربوز به‌عنوان استاندارد در غلظت‌های مختلف عصاره- نشاسته (میلی‌گرم بر میلی-لیتر).....۷۲

نمودار ۴-۱۶. مقایسه درصد مهارکنندگی آنزیم آلفاآمیلاز در سوبسترای نشاسته توسط رنگدانه‌های پوسته و خار توتیای‌دریایی در برابر آکاربوز به‌عنوان استاندارد در غلظت‌های مختلف عصاره- نشاسته (میلی‌گرم بر میلی-لیتر).....۷۳

فصل اول:

مقدمه و کلیات

مقدمه

محیط دریایی، به‌عنوان یک منبع استثنائی از تولیدات طبیعی است که از نظر زیستی فعال بوده و حاوی ارگانیسم‌هایی با خصوصیات ساختمانی و شیمیایی ویژه است که در ارگانیسم‌های خشکی‌زی یافت نمی-شوند. این محیط، غنی‌ترین منبع و یک فرصت بزرگ برای کشف ترکیبات فعال زیستی جدید می‌باشد. امروزه تکنولوژی‌های مدرن، راه تحقیق را برای کشف ترکیبات دارویی زیستی از اقیانوس‌ها و دریاها، برای درمان بیماری‌های کشنده و مهلک باز می‌کند. تعداد تولیدات طبیعی استخراج شده از ارگانیسم‌های دریایی به سرعت در حال افزایش می‌باشد و هر ساله با کشف صدها ترکیب جدید به تعداد آن‌ها افزوده می‌شود (Bragadeeswaran et al., 2013).

در حال حاضر با بیماری‌های نوظهور فراوانی روبه‌رو هستیم، از این رو نیاز به یافتن ترکیبات جدید دارویی همواره احساس می‌شود چرا که هنوز درمان قطعی برای برخی از بیماری‌ها (مثل سرطان، ایدز، آلزایمر، آرتریت روماتیسمی و غیره) وجود ندارد و روزبه‌روز عفونت‌های جدیدی به لیست بیماری‌های عفونی افزوده می‌شود و مقاومت‌های دارویی نیز رو به افزایش می‌باشد (نبی‌پور و مرادحاصلی، ۱۳۸۱).

از آنجا که امروزه اثرات مخرب رادیکال‌های آزاد بر روی سیستم‌های زیستی و نقش مهمی که ضداکسیدان‌ها در جلوگیری از بیماری‌های مختلف (مثل سرطان، مشکلات قلبی- عروقی، تصلب عروق، بیماری‌های خودایمنی، التهاب‌های مزمن و پیری زودرس) دارند اثبات شده است، یافتن ترکیبات ضداکسیدان جدید از اهمیت زیادی برخوردار است و باعث شده که آن‌ها هم در پزشکی و هم در صنایع غذایی و آرایشی مورد توجه قرار گیرند. از طرفی استفاده‌کنندگان از ترکیبات و یا محصولات ضداکسیدان، ترجیح می‌دهند که از ترکیبات ضداکسیدانی که منشا طبیعی دارند استفاده کنند، چرا که در مورد اثرات سمی ضداکسیدان‌های سنتزی نگران هستند. به همین دلیل طی چند دهه اخیر، تحقیقات برای یافتن ترکیبات ضداکسیدان طبیعی مورد توجه قرار گرفته است (Zubia et al., 2007).

جهانی شدن و ایجاد بازارهای جهانی، منجر به تغییرات سریع در الگوهای غذایی و رفتاری انسان شده است (Popkin, 1988). روند تکاملی غذای انسان نشان می‌دهد که درگذشته، انسان‌ها آنتی‌اکسیدان‌های مشتق شده از گیاه را مصرف می‌کردند (Ratnam et al., 2006). تغذیه انسان در کشورهای توسعه یافته در چند دهه گذشته به غذاهای فست‌فود تغییر یافته است و وعده‌های غذایی آماده، سرشار از چربی‌ها و فاقد ترکیبات آنتی‌اکسیدانی می‌باشند. هم‌چنین، به‌نظر می‌رسد که افزایش بیش از حد ترکیبات اکسیدان، منجر به افزایش خطر اختلالات فیزیولوژیکی می‌شود. براساس توصیه‌های متخصصان تغذیه و پزشکان، تعداد زیادی از مردم باید مصرف روزانه میوه و سبزیجات خود را برای برطرف کردن نیازهای آنتی‌اکسیدانی افزایش دهند. اگرچه غذاهای دریایی بخشی از رژیم غذایی سالم در نظر گرفته شده است. گونه‌هایی از غذاهای دریایی هم‌چون ماسل‌ها، اسکالوپ‌ها، خرچنگ‌ها و توتیاهای‌دریایی به‌ندرت به‌عنوان منابع آنتی-اکسیدان در نظر گرفته می‌شوند (Mamelona et al., 2011). برخی از آنتی‌اکسیدان‌های مشتق شده از غذا، از تخریب رادیکال‌های آزاد که می‌توانند در بدن ما اتفاق بیفتند، جلوگیری می‌کنند. در آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی ممکن است یک اختلاف بین رژیم غذایی و نیاز فیزیولوژیک وجود داشته باشد. علاوه بر این، در حال حاضر، مردم در معرض سم‌های گوناگونی قرار دارند که ممکن است اکسیدان‌های قوی باشند (Ratnam et

al., 2006) و این می‌تواند به‌علت کمبود اطلاعات، درباره خواص آنتی‌اکسیدانی غذاهای دریایی باشد (Mamelona et al., 2011).

ارگانیسم‌های دریایی منبع بسیار عالی برای ترکیبات فعال زیستی هستند (Bickmeyer et al., 2005). ترکیبات فعال زیستی شیمیایی را با توجه به منشا بیوسنتتیک، نقش بیوشیمیایی و عملکرد عمومی آن‌ها به متابولیت‌های اولیه و متابولیت‌های ثانویه تقسیم‌بندی می‌کنند (Carballeria et al., 1996). متابولیت‌های ثانویه عملکردهای گوناگونی دارد. آن‌ها ممکن است تاثیرات دارویی بر انسان داشته باشند و به‌عنوان دارو در علم پزشکی استفاده شوند. اکثر متابولیت‌های ثانویه که فعالیت دارویی آن‌ها اثبات شده از خارپوستان استخراج شده است. اطلاعات بسیار با ارزشی برای کشف ترکیبات جدید وجود دارد که یک بینش جدید را نسبت به ترکیبات فعال زیستی در توتیای‌دریایی بیان می‌کند (Bragadeeswaran et al., 2013).

در خارپوستان و به‌ویژه، توتیای دریایی علت وجود خواص اثربخشی چون، ضد تومور، تسریع در بهبود زخم، ضد انعقاد، ضد فشار خون، ضدسرطان، ضدتصلب شرایین، ضد دیابت، ضد آرتریت، ضد پیری، آنتی‌اکسیدان و غیره را می‌توان به حضور موادی مانند؛ ترکیباتی با ساختار شیمیایی پلی‌هیدروکسیلات ۱و۴ نفتاکینون[1]، اکینوکروم A، گلیکوترپنوئید[2]، کندرویتین‌سولفات[3]، گلوکزآمینوگلیکان[4]، پلی‌ساکاریدسولفات[5]، گلیکوپروتئین[6]، گلیکواسفنگولیپید[7] و اسیدهای چرب ضروری نسبت داد (Bordbar et al.,2011).

توتیاهای‌دریایی به‌خاطر محتوای کم چربی و کالری (Bragadeeswaran et al., 2013) و میزان قابل‌توجهی پلی‌ساکارید، مواد معدنی (Amarowicz et al., 2012) و ویتامین‌ها (ضیائیان نوربخش، ۱۳۸۹) و هم‌چنین حضور مولکول‌های زیست‌فعال متعدد، می‌توانند به‌عنوان منبع غذایی سالمی به شمار آیند. با توجه به خوراکی بودن توتیاهای‌دریایی به‌ویژه در آسیای شرقی (Kuwahara et al., 2010) و به‌خاطر فراوانی بی‌نظیری که از نظر مواد زیست‌فعال دارند، این امکان وجود دارد که دارای فعالیت‌های ضداکسیدان، ضد تومور، ضدالتهاب و ضدمیکروب و غیره باشند و منبع مناسبی برای مصرف، به‌عنوان غذایی کارآمد و مکمل‌های غذایی به شمار آیند.

با توجه به این‌که اهمیت توتیاهای‌دریایی به‌عنوان یک ارگانیسم مدل، برای تحقیقات علمی و شباهت تاکسونومی آن‌ها به مهره‌داران از جمله انسان شناخته شده (Bodnar, 2013)، اما متاسفانه این منبع ارزشمند تا حدود زیادی نادیده گرفته شده است. هم‌چنین، در منطقه خلیج‌فارس و دریای عمان، تاکنون هیچ‌گونه تحقیق و مطالعه‌ای بر روی خواص زیستی گونه‌های توتیای‌دریایی در کشور ما انجام نشده است، بنابراین مطالعه بر روی توتیای‌دریایی *Echinometra mathaei* به‌عنوان یک منبع بالقوه بسیار حائز اهمیت

1 - Polyhydroxylated naphthoquinone
2 - Triterpene glycosides
3 - Chondroitin sulfates
4 - Glycosaminoglycan (GAGs)
5 - Sulfated Polysaccharides
6 - Glycoprotein
7 - Glycosphingolipids

می‌باشد. امید است که این پژوهش، توجه روزافزونی را به منابع دریایی و شناسایی ترکیبات فعال زیستی آن‌ها معطوف گرداند.

۱-کلیات

۱-۱- محیط زیست دریایی و اهمیت آن

اقیانوس‌ها، به‌عنوان مبدا و خاستگاه زندگی و سرچشمه ترکیبات طبیعی هستند که آن‌ها در بدن موجودات مختلف انباشته شده‌اند. تولیدات طبیعی موجود در جانوران دریایی را می‌توان به‌عنوان یک منبع غنی از ترکیباتی با کاربرد غذایی، خوشبوکننده‌ها، دارویی و پزشکی تقسیم نمود (villasin et al., 2000).

محیط زیست دریایی، شرایط متفاوتی را برای ارگانیسم‌های آبی فراهم کرده است. در این محیط نیز، مانند تمام شکل‌های حیات، بین جانداران رقابت و ارتباط وجود دارد و اکثر ارگانیسم‌ها دارای رابطه هم‌زیستی می‌باشند. هم‌چنین، زنجیره غذایی پیچیده‌ای بین ساده‌ترین تا پیچیده‌ترین موجودات دریایی وجود دارد. بنابراین دارای فعالیت بیولوژیکی وسیعی هستند. آن‌ها هم مواد سمی تولید می‌کنند و هم موادی که برای تولیدمثل لازم است. شیوه‌ای که موجودات دریایی به‌وسیله آن، مولکول‌های فعال را می‌سازند، مسحورکننده است (Bahakuni and Rawat, 2005).

انتقال مواد غذایی بین موجودات هم‌زیست، اهمیت زیادی دارد و باعث ایجاد سوال‌های زیادی در مورد منبع اصلی متابولیت‌های ثانویه شده است (Bahakuni and Rawat, 2005).

مطالعات اخیر، ثابت کرده که اقیانوس‌ها یک منبع غنی و بسیار ایده‌آل برای کشف متابولیت‌های فعال زیستی مفید می‌باشند (Cragg et al., 1997). ترکیبات فعال زیستی برای بقای ارگانیسم‌های دریایی بسیار ضروری است. تولید متابولیت‌های ثانویه در ارگانیسم‌های دریایی به شدت وابسته به شرایط جغرافیایی زیستی می‌باشد (Hay, 1996). نقش و اهمیت متابولیت‌های ثانویه در بدن موجود زنده برای زمان‌های طولانی مورد بحث بوده است (Stone and Williams, 1992). بر طبق نظر Harper و همکاران (۲۰۰۱) متابولیت‌های ثانویه نقش کلیدی را در دفاع از میزبان در برابر عوامل بیماری‌زا، انگل‌ها، شکارچیان، رقیبان و ... ایفا می‌کند.

در محیط خشکی، ارتباط بین بعضی از جانداران از طریق فرمون‌ها[8] می‌باشد که به‌خاطر فرار بودن، ساختاری ساده و قابل سنتز دارند. اما در محیط دریایی ارتباط بین جانداران وابسته به حلالیت ترکیبات در آب است، که این موضوع باعث می‌شود موادی شیمیایی تولید شده، دارای وزن مولکولی بالا و ساختارهای پیچیده باشند (Bahakuni and Rawat, 2005).

با تکامل موجودات دریایی، آن‌ها توانسته‌اند برای مقابله با شرایط محیطی مختلف مانند دمای زیاد، تغییرات در میزان نمک و فشار، غلبه بر جهش و عوامل بیماری‌زا و مقاومت در برابر آلودگی‌ها، روش‌های مناسبی را اتخاذ و ترکیبات خاصی را تولید کنند.

تفاوت دیگری که بین موجودات خشکی‌زی و دریایی وجود دارد، مربوط به تنوع زیستی آن‌هاست (Jimeno et al., 2004).

8 - Pheromones

نکته قابل توجه دیگر، این است که با افزایش روزافزون جمعیت، روزبه‌روز با کمبود منابع غذایی بیش‌تری مواجه می‌شود. در حالی که اقیانوس‌ها ۷۰٪ از سطح زمین را تشکیل می‌دهند و شامل حدود ۲۰۰ هزار بی-مهره و گونه‌های جلبک می‌باشند که می‌توانند منبع غذایی مناسبی به شمار آیند. پس بررسی محتوای شیمیایی ارگانیسم‌های دریایی می‌تواند امکان مصرف آن‌ها را به‌عنوان منبع غذایی، افزایش داده (Cannell, 1998) و شرایط را برای توسعه صنعت دارویی هموارتر سازد.

با توجه به این عوامل، دور از ذهن نیست که ارگانیسم‌های دریایی، منبعی عالی برای مواد طبیعی با فعالیت زیستی باشند. از طرفی نیاز به توسعه صنعت دارویی همواره احساس می‌شود. محیط زیست دریایی یکی از منابع طبیعی دارویی است که می‌تواند بسیار امیدبخش باشد (نبی‌پور و مرادحاصلی، ۱۳۸۱).

۱-۲- فرآورده‌ها و ترکیبات فعال زیستی دریایی

محیط زیست دریایی منبع فرآورده‌های طبیعی و فعال ویژه‌ایی است که خصوصیات ساختاری- شیمیایی آن‌ها در دیگر محصولات طبیعی گیاهان و جانوران خشکی‌زی دیده نمی‌شود. زیرا در ارگانیسم‌های دریایی مکانیسم‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی تکامل یافته‌اند تا بتوانند برای فعالیت‌های زیستی تولیدمثل، ارتباط و ستیز و گریز در گستره تنازع بقا، عفونت و رقابت موثر باشند. تقریبا هر شاخه‌ای از مکانسیم‌های دریایی، تنوعی از مولکول‌ها با ساختار منحصربه‌فرد برای خود را فراهم کرده‌اند. از کل ۲۸ شاخه جانوری، تنها دو شاخه در دریا زندگی نمی‌کنند و به دلیل این تنوع زیستی، دریا بهترین داروخانه طبیعی جهان محسوب می‌شود.

پیشرفت‌های متدولوژیک و فن‌آورانه در آشکارسازی ساختمان، سنتز آلی و آزمون‌های بیولوژیک، موجب جداسازی و انجام پژوهش‌های بالینی برای کشف داروهای ضدسرطان دریایی گردیده است. این ترکیبات از نگاه ساختمانی شامل پپتیدهای خطی ساده مانند دولاستاتین ۱۰ تا پلی‌اترهای ماکروسیلیک پیچیده مانند هالیکوندرین B می‌باشد.

این تنوع در ساختار و پیچیدگی در فعالیت اثر ترکیبات دریایی نشان می‌دهد که دریا گستره‌ای از مولکول‌هایی با ساختمان‌های جدید و مکانیسم‌های با اثر نوین است که می‌توانند در ترکیب با یکدیگر بر علیه سرطان‌ها به‌ویژه سرطان ریه، پستان، کولون و پروستات موثر باشند.

اما باید توجه داشت که این شاخه از داروشناسی هنوز نوپا بوده است و علی‌رغم تسریع کشف داروهای ضدسرطان از منابع دریایی، کماکان وجود یک شکاف عظیم میان اکتشافات و به‌کارگیری ترکیبات در فازهای گوناگون کارآزمایی‌های بالینی مشهود است.

در بین شاخه‌های زیستی دریایی، بی‌مهرگان، توجه پژوهشگران را به خود جلب نمودند، زیرا موجودات این شاخه آرام حرکت می‌کنند، فاقد ساختار بدنی پایه بوده و به دلیل بدنی نرم و نبود خار و پوسته وابسته به مکانیسم‌های دفاع شیمیایی هستند.

تا کنون پژوهشگران توانسته‌اند ۷۰۰۰ فراورده طبیعی دریایی را استخراج کنند که ۲۵ ٪ آن‌ها از جلبک‌ها، ۳۵٪ از اسفنج‌ها، ۱۸٪ مرجانیان و ۲۴٪ از دیگر شاخه‌های بی‌مهرگان مانند غلافداران، نرم‌تنان، خارپوستان و بریوزئوها هستند (نبی‌پور و همکاران، ۱۳۸۹).

با مطالعات بیش‌تر برای درمان بیماری‌ها با استفاده از محصولات طبیعی، مشخص شد که محصولات دریایی یک منبع بسیار امیدوارکننده برای کشف ترکیبات فعال زیستی هستند. برای اولین بار در اواخر دهه ۱۹۷۰ استخراج ترکیبات فعال زیستی از موجودات دریایی انجام گرفت. در حال حاضر بسیاری از متابولیت‌های شیمیایی منحصربه‌فرد از محیط دریایی استخراج شده است که در واقع بخش کوچکی از تنوع زیستی و شیمیایی اقیانوس‌ها را شامل می‌شود (Ireland et al., 1993).

از اولین موادی که از این منابع به‌دست آمد، مولکول‌های منحصر به فردی مثل مانوآلید[۹] و اوکادایک‌اسید[۱۰] بودند. مانوآلید، از یک گونه اسفنج به‌دست آمده و تنها مهارکننده اختصاصی فسفولیپاز A_2 می‌باشد که در بیماری‌های التهابی نقش دارد و اوکادایک اسید، یک مهارکننده بسیار اختصاصی پروتئین فسفاتاز است (نبی‌پور و مرادحاصلی، ۱۳۸۱).

اما مشکلی که در زمینه تولید ترکیبات دارویی از منابع دریایی وجود دارد این است که میزان این ترکیبات عمدتا بسیار کم است، خصوصا زمانی که آن‌ها دارای ساختارهای پیچیده باشند، بسیار مشکل خواهد بود که میزان کافی از ماده طبیعی جهت انجام آزمایشات بالینی در دسترس قرار گیرد. بنابراین، الزاما کشف مواد فعال منجر به رسیدن آن‌ها به مرحله آزمایشات بالینی نمی‌گردد. به همین علت باید تلاش‌های بیش‌تری در جهت کشف مواد جدید و تبدیل به مواد دارویی فعال، برای تولید فراورده‌های دریایی صورت پذیرد، فرمولاسیون‌ها باید برای استفاده‌های بالینی مناسب باشند. روش‌های آنالیز و تعیین پارامترهای سینیتیکی باید قبل از مراحل بالینی طراحی شوند. روش‌های متابولیسم در این جانداران مشخص شود و سمیت و زمینه درمانی آن‌ها نیز تعیین گردد (Jimeno et al., 2004). با این حال، هر چند که بسیاری از مواد فعال زیستی که از منابع دریایی به‌دست آمده‌اند در ابتدا در درمان بیماری‌ها کاربرد نداشته‌اند، اما به دلیل داشتن خواص بیوشیمیایی مهم، افق دید ما را در مورد بیوشیمی بیماری‌ها متحول کرده‌اند و به‌عنوان شاخص‌های فارماکولوژیک شناخته می‌شوند.

بیش از یک قرن است که توتیاهای‌دریایی به‌عنوان ارگانیسم مدل برای تحقیقات علمی به‌کار می‌روند. این موجودات به‌طور قابل‌توجهی در بخش‌های علمی مختلف از فرایندهای بیولوژیک، مانند تنظیم بیان ژن، جنین‌شناسی مولکولی، بیولوژی لقاح، بیولوژی سلولی، بیولوژی تکاملی، ژنتیک جمعیت و سم‌شناسی مورد استفاده قرار می‌گیرد. در مقایسه با سایر ارگانیسم‌های مدل بی‌مهره، مثل کرم‌ها (به‌عنوان مثال؛ *Caenorhabditis elegan*) و مگس سرکه (*Drosophila melanogaster*)، شباهت تاکسونومی توتیای-دریایی به مهره‌داران از جمله انسان بسیار قابل توجه است (Bodnar, 2013).

9 - Manoalide
10- Okadaic acid