بسم الله الرحمن الرحیم

دانشگاه تربیت مدرس
دانشکده منابع طبیعی

باسمه تعالی

تأییدیه اعضای هیأت داوران حاضر در جلسه دفاع از پایان نامه

بدین‌وسیله گواهی می‌شود خانم **مهدیه طهماسبی** در تاریخ **۹۲/۱۰/۱۸** از پایان نامه ۸ واحدی خود با عنوان **استخراج ترکیبات گلیکوز آمینو گلیکانی از شقایق دریایی *Stichodactyla haddoni* و بررسی خاصیت ضد انعقادی آنها** ، دفاع کرده است. اعضای هیأت داوران نسخه نهایی این رساله را از نظر فرم و محتوا بررسی کرده و پذیرش آنرا برای دریافت درجه کارشناسی ارشد تائید می‌نمایند.

اعضای هیات داوران	نام و نام خانوادگی	رتبه علمی	امضاء
استاد راهنمای اصلی	دکترصابر خدابنده	دانشیار	
استاد ناظر (خارجی)	دکتر مهرداد نوروزی نیا	دانشیار	
استاد ناظر (داخلی)	دکتر بهروز زارعی	استادیار	
استاد ناظر (داخلی)	دکتر جعفر سیف‌آبادی	دانشیار	
نماینده شورای تحصیلات تکمیلی	دکتر جعفر سیف‌آبادی	دانشیار	

آیین‌نامه حق مالکیت مادی و معنوی در مورد نتایج پژوهشهای علمی دانشگاه تربیت مدرس

مقدمه: با عنایت به سیاست‌های پژوهشی و فناوری دانشگاه در راستای تحقق عدالت و کرامت انسانها که لازمه شکوفایی علمی و فنی است و رعایت حقوق مادی و معنوی دانشگاه و پژوهشگران، لازم است اعضای هیأت علمی، دانشجویان، دانش‌آموختگان و دیگر همکاران طرح، در مورد نتایج پژوهشهای علمی که تحت عناوین پایان‌نامه، رساله و طرحهای تحقیقاتی با هماهنگی دانشگاه انجام شده است، موارد زیر را رعایت نمایند:

ماده ۱- حق نشر و تکثیر پایان نامه/ رساله و درآمدهای حاصل از آنها متعلق به دانشگاه می باشد ولی حقوق معنوی پدید آورندگان محفوظ خواهد بود.

ماده ۲- انتشار مقاله یا مقالات مستخرج از پایان‌نامه/ رساله به صورت چاپ در نشریات علمی و یا ارائه در مجامع علمی باید به نام دانشگاه بوده و با تایید استاد راهنمای اصلی، یکی از اساتید راهنما، مشاور و یا دانشجو مسئول مکاتبات مقاله باشد. ولی مسئولیت علمی مقاله مستخرج از پایان نامه و رساله به عهده اساتید راهنما و دانشجو می باشد.

تبصره: در مقالاتی که پس از دانش‌آموختگی بصورت ترکیبی از اطلاعات جدید و نتایج حاصل از پایان‌نامه/ رساله نیز منتشر می‌شود نیز باید نام دانشگاه درج شود.

ماده ۳- انتشار کتاب، نرم افزار و یا آثار ویژه (اثری هنری مانند فیلم، عکس، نقاشی و نمایشنامه) حاصل از نتایج پایان‌نامه/ رساله و تمامی طرحهای تحقیقاتی کلیه واحدهای دانشگاه اعم از دانشکده ها، مراکز تحقیقاتی، پژوهشکده ها، پارک علم و فناوری و دیگر واحدها باید با مجوز کتبی صادره از معاونت پژوهشی دانشگاه و براساس آئین نامه های مصوب انجام شود.

ماده ٤- ثبت اختراع و تدوین دانش فنی و یا ارائه یافته ها در جشنواره‌های ملی، منطقه‌ای و بین‌المللی که حاصل نتایج مستخرج از پایان‌نامه/ رساله و تمامی طرح‌های تحقیقاتی دانشگاه باید با هماهنگی استاد راهنما یا مجری طرح از طریق معاونت پژوهشی دانشگاه انجام گیرد.

ماده ٥- این آیین‌نامه در ٥ ماده و یک تبصره در تاریخ ۸۷/٤/۱ در شورای پژوهشی و در تاریخ ۸۷/٤/۲۳ در هیأت رئیسه دانشگاه به تایید رسید و در جلسه مورخ ۸۷/۷/۱۵ شورای دانشگاه به تصویب رسیده و از تاریخ تصویب در شورای دانشگاه لازم‌الاجرا است.

«اینجانب سید صابر ... دانشجوی رشته زیست شناسی ... ورودی سال تحصیلی ۹۰ ...
مقطع ارشد ... دانشکده علوم زیستی ... متعهد می شوم کلیه نکات مندرج در آئین نامه حق مالکیت مادی و معنوی در مورد نتایج پژوهش های علمی دانشگاه تربیت مدرس را در انتشار یافته های علمی مستخرج از پایان نامه / رساله تحصیلی خود رعایت نمایم. در صورت تخلف از مفاد آئین نامه فوق الاشعار به دانشگاه وکالت و نمایندگی می دهم که از طرف اینجانب نسبت به لغو امتیاز اختراع بنام بنده و یا هر گونه امتیاز دیگر و تغییر آن به نام دانشگاه اقدام نماید. ضمناً نسبت به جبران فوری ضرر و زیان حاصله بر اساس برآورد دانشگاه اقدام خواهم نمود و بدینوسیله حق هر گونه اعتراض را از خود سلب نمودم»

امضا: .....

تاریخ: .....

۹۲/۱۲/۱۳

آیین نامه چاپ پایان‌نامه (رساله)های دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس

نظر به اینکه چاپ و انتشار پایان نامه (رساله)های تحصیلی دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس، مبین بخشی از فعالیتهای علمی - پژوهشی دانشگاه است بنابراین به منظور آگاهی و رعایت حقوق دانشگاه،دانش آموختگان این دانشگاه نسبت به رعایت موارد ذیل متعهد می‌شوند:

ماده ۱: در صورت اقدام به چاپ پایان نامه (رساله)ی خود، مراتب را قبلاً به طور کتبی به «دفتر نشر آثارعلمی» دانشگاه اطلاع دهد.

ماده ۲: در صفحه سوم کتاب (پس از برگ شناسنامه) عبارت ذیل را چاپ کند:

«کتاب حاضر، حاصل پایان نامه کارشناسی ارشد/ رساله دکتری نگارنده در رشته ..... است که در سال ..... در دانشکده ..... دانشگاه تربیت مدرس به راهنمایی سرکار خانم/جناب آقای دکتر ..... ، مشاوره سرکار خانم/جناب آقای دکتر ..... و مشاوره سرکار خانم/جناب آقای دکتر ..... از آن دفاع شده است.»

ماده ۳: به منظور جبران بخشی از هزینه‌های انتشارات دانشگاه، تعداد یک درصد شمارگان کتاب (در هر نوبت‌چاپ) را به «دفتر نشر آثارعلمی» دانشگاه اهدا کند. دانشگاه می‌تواند مازاد نیاز خود را به نفع مرکز نشر درمعرض فروش قرار دهد.

ماده ۴: در صورت عدم رعایت ماده ۳، ۵۰٪ بهای شمارگان چاپ شده را به عنوان خسارت به دانشگاه تربیت‌مدرس، تأدیه کند.

ماده ۵: دانشجو تعهد و قبول می کند در صورت خودداری از پرداخت بهای خسارت، دانشگاه می‌تواند خسارت مذکور را از طریق مراجع قضایی مطالبه و وصول کند؛ به علاوه به دانشگاه حق می‌دهد به منظور استیفای حقوق خود، از طریق دادگاه، معادل وجه مذکور در ماده ۴ را از محل توقیف کتابهای عرضه شده نگارنده برای فروش، تامین نماید.

ماده ۶: اینجانب مهدی عطایی آبدر دانشجوی رشته زیست شناسی دریا مقطع کارشناسی ارشد تعهد فوق وضمانت اجرایی آن را قبول کرده، به آن ملتزم می شوم.

نام و نام خانوادگی: مهدی عطایی آبدر

تاریخ و امضا:

دانشکده علوم دریایی

گروه بیولوژی دریا

پایان نامه کارشناسی ارشد

رشته زیست شناسی دریا

استخراج ترکیبات گلیکوزآمینوگلیکانی از شقایق دریایی *Stichodactyla haddoni* و بررسی خاصیت ضد انعقادی آن‌ها

نگارنده: مهدیه طهماسبی آبدر

استاد راهنما: دکتر صابر خدابنده

دی ماه ۱۳۹۲

این مجموعه را به رسم قدرشناسی و سپاس قلبی به

استوارترین پشتوانه زندگی، پدرم

دل انگیزترین رایحه مهر، مادرم

و

زیباترین ترانه عشق، همسرم

تقدیم می نمایم

شکر و سپاس خدا را که بزرگترین امید و یاور در لحظه لحظه زندگیست

بر خود لازم می دانم از زحمات و کمک های بی دریغ استاد محترم راهنما، جناب آقای دکتر صابر خدابنده، که با رهنمودهای ارزشمندشان مرا در انجام این تحقیق یاری دادند، نهایت تشکر و قدردانی را به جای آورم.

از اساتید گرانقدر جناب آقای دکتر مهرداد نوروزی نیا، دکتر جعفر سیف آبادی و دکتر بهروز زارعی که زحمت داوری پایان نامه را تقبل فرمودند تشکر نمایم.

همچنین از کارشناسان محترم آزمایشگاه، جناب آقای مهندس حسینی،سرکار خانم حقدوست کمال تشکر و سپاسگزاری را دارم.

از دوستان عزیزم و تمام همکلاسی های خوبم که خاطرات خوبشان همیشه در ذهنم ماندگار خواهد ماند،صمیمانه تشکر می نمایم

چکیده

گلیکوزآمینوگلیکان‌ها از جمله مواد زیست فعال هستند که در بسیاری از جانوران دریایی پراکندگی دارند و به‌دلیل خاصیت ضد انعقادی شناخته شده‌اند. در پژوهش حاضر جداسازی و بررسی خاصیت ضد انعقادی این ترکیبات از شقایق دریایی *Stichodactlyla haddoni*، با جمع‌آوری نمونه‌ها از مناطق جزر و مدی جزیره هرمز و انتقال فریز شده آن‌ها به آزمایشگاه انجام شد. پس‌از جدا کردن مخاط و تانتاکول شقایق دریایی، استخراج ترکیبات گلیکوزآمینوگلیکانی با استفاده از نمک ستیل پیریدینیوم کلراید صورت گرفت. سنجش ضد انعقادی گلیکوزآمینوگلیکان‌های استخراج شده بر روی پلاسمای خون انسان و ماهی بدون استفاده از معرف و با استفاده از معرف زمان ترومبوپلاستین نسبی فعال شده (APTT) و زمان پروترومبین (PT) آزمایش شد. برای تعیین ساختار ترکیبات استخراج شده در مقایسه با هپارین استاندارد، از طیف سنجی FT-IR استفاده شد. مقدار گلیکوزآمینوگلیکان از مخاط و تانتاکول به‌ترتیب برابر با ۴۴ و ۲۴ میلی‌گرم از هر گرم وزن خشک به‌دست آمد. نتایج بررسی فعالیت ضد انعقادی گلیکوزآمینوگلیکان‌های استخراج شده از مخاط و تانتاکول بر روی پلاسمای خون انسان و ماهی نشان داد که این ترکیبات در مقایسه با نمونه‌ی کنترل، فرایند انعقاد خون را طولانی‌تر کردند. همچنین، گلیکوزآمینوگلیکان‌های استخراج شده از مخاط ۲/۷، ۳/۴ و ۵ برابر خاصیت ضد انعقادی بیش‌تری را در مقایسه با گلیکوزآمینوگلیکان‌های استخراج شده از تانتاکول به‌ترتیب در غلظت‌های ۲۵۰، ۵۰۰ و ۷۵۰ (میکروگرم/میلی‌لیتر)، و تقریباً نزدیک به زمان انعقادی هپارین استاندارد در غلظت‌های مشابه نشان داد. در روش سنجی APTT و PT نیز نمونه‌های استخراج شده در مقایسه با کنترل زمان طولانی‌تری را نشان دادند. در آنالیز طیف FT-IR، طیف نمونه‌های خام مخاطی و تانتاکولی تقریباً مشابه هپارین استاندارد مشاهده شد. نتایج نشان داد که ترکیبات ضد انعقادی در مخاط و تانتاکول شقایق دریایی موجود بوده و اگرچه خاصیت ضد انعقادی ضعیف‌تری را نسبت به هپارین دارند، ولی می‌تواند جایگزین آن، حداقل در شرایط‌های آزمایشگاهی، گردد.

واژگان کلیدی: هپارین، شقایق دریایی، ترکیبات ضد انعقادی، گلیکوزآمینوگلیکان‌ها، مواد زیست فعال

فهرست مطالب

عنوان	صفحه
فصل اول: مقدمه و کلیات	
۱-۱ مقدمه	۱
۱-۱-۱ اهداف	۴
۱-۱-۲ ضرورت انجام تحقیق	۴
۱-۱-۳ فرضیه های تحقیق	۴
۱-۲ کلیات	۵
۱-۲-۱ مرجانیان	۵
۱-۲-۲ شقایق دریایی	۷
۱-۲-۳ ترکیبات زیست فعال شناخته شده در رده آنتوزوآ	۹
۱-۲-۴ انعقاد	۱۱
۱-۲-۵ فاکتورهای انعقادی موثر در مکانیسم هموستاز طبیعی	۱۲
۱-۲-۶ مهارکننده‌های انعقادی	۱۳
۱-۲-۷ عمل ضدانعقادی پلی‌ساکاریدهای سولفاته	۱۳
۱-۲-۸ گلیکوزآمینوگلیکان	۱۴
۱-۲-۸-۱ کندروتین سولفات (Chondroitin Sulfate)	۱۵
۱-۲-۸-۲ درماتان سولفات (Dermatan sulfate)	۱۶
۱-۵-۸-۳ هیالورونان (Hyaluronan)	۱۶
۱-۲-۸-۴ کراتان سولفات (Keratan Sulfate)	۱۶
۱-۲-۸-۵ هپاران سولفات/ هپارین	۱۷
۱-۲-۹ اهمیت هپارین و ترکیبات شبه هپارینی	۱۹
فصل دوم: سابقه تحقیق	۲۰
فصل سوم: مواد و روش‌ها	
۳-۱ نمونه برداری	۲۴
۳-۲ آماده سازی نمونه‌ها	۲۵
۳-۳ مواد	۲۵

۳-۴ دستگاه‌ها و تجهیزات ۲۶

۳- ۵ روش کار ۲۶

۳- ۵-۱ استخراج ترکیبات گلیکوزآمینوگلیکان ۲۶

۳- ۵- ۱-۱ تیمار با ستیل پیریدینیوم کلراید (CPC) ۲۷

۳- ۵- ۲ طیف سنجی FT- IR ۲۸

۳- ۵- ۳ سنجش خواص ضد انعقادی گلیکوزآمینوگلیکان‌های استخراج شده ۲۸

۳- ۵- ۳-۱ آماده کردن پلاسما سیتراته خون انسان ۲۸

۳- ۵-۳-۲ آماده کردن پلاسما سیتراته خون ماهی ۲۸

۳- ۵-۳-۳ سنجش ضدانعقادی بدون استفاده از معرف بر روی پلاسما سیتراته انسان و ماهی ۲۹

۳-۵-۳-۴ سنجش ضدانعقادی با استفاده از معرف بر روی خون انسان ۲۹

۳-۵-۳-۴-۱ سنجش ضدانعقادی با معرف زمان ترومبوپلاستین نسبی (APTT) ۳۰

۳-۵-۳-۴-۲ سنجش ضدانعقادی با استفاده از معرف زمان پروترومبین (PT) ۳۰

فصل چهارم: بحث و نتیجه گیری

۴-۱ استخراج ترکیبات گلیکوزآمینوگلیکان شبه هپارینی ۳۲

۴-۲ الگوی طیف سنجی مادون قرمز (طیف سنجی FT-IR) ۳۵

۴-۳ بررسی خاصیت ضدانعقادی ترکیبات استخراج شده ۳۹

۴-۳-۱ سنجش ضدانعقادی روی خون انسان با روش چشمی ۳۹

۴-۳-۲ سنجش خاصیت ضدانعقادی روی خون انسان با استفاده از معرف ترومبوپلاستین نسبی فعال شده (APTT) و پروترومبین (PT) ۴۰

۴-۳-۳ سنجش خواص ضد انعقادی گلیکوزآمینوگلیکان استخراجی روی خون ماهی ۴۶

نتیجه گیری کلی ۵۰

آزمون فرضیات ۵۱

پیشنهادات پژوهشی ۵۲

منابع ۵۳

فهرست جداول

	عنوان	صفحه
۱-۱	فاکتورهای انعقادی	۱۲
۱-۳	مشخصات ابزار و دستگاه‌های استفاده شده	۲۶
۱-۴	محصول نهایی گلیکوزآمینوگلیکان‌های خام استخراج شده از مخاط و تانتاکول شقایق دریایی *S. haddoni*	۳۳
۲-۴	مقایسه زمان انعقاد پلاسمای خون انسان با استفاده از سه غلظت مختلف گلیکوزآمینوگلیکان استخراج شده و هپارین استاندارد	۳۹
۳-۴	زمان انعقاد پلاسمای انسانی در حضور و عدم حضور گلیکوزآمینوگلیکان‌های مخاطی و تانتاکولی شقایق دریایی با استفاده از دو روش APTT و PT	۴۲
۴-۴	مقایسه زمان انعقاد پلاسمای خون ماهی با استفاده از سه غلظت مختلف گلیکوزآمینو گلیکان استخراج شده و هپارین استاندارد	۴۶

فهرست اشکال

	عنوان	صفحه
۱-۱	شماتیک چرخه زندگی آنتوزوآ	۶
۱-۲	کلادوگرام شاخه نیداریا	۷
۱-۳	رده بندی خطی مرجانیان	۸
۱-۴	تصاویر شقایق دریایی	۹
۱- ۵	تصویرشماتیک از آبشارانعقادی خون	۱۱
۱- ۶	شماتیک غیرفعال شدن آنزیم انعقادی توسط هپارین	۱۴
۱-۷	ساختار هپارین و هپاران سولفات	۱۷
۱-۸	عملکرد بیولوژیکی هپارین/ هپاران سولفات	۱۸
۱-۲	درخت فیلوژنی پراکندگی گلیکوزآمینوگلیکان‌های سولفاته	۲۰
۱-۳	شقایق دریایی *Stichodactyla haddoni* در منطقه بین جزر و مدی ساحل جزیره هرمز	۲۴
۱-۴	نمونه پودر گلیکوزآمینوگلیکان استخراج شده از شقایق دریایی *S. haddoni*	۳۲
۲-۴	طیف FT-IR نمونه هپارین استاندارد	۳۷
۳-۴	طیف FT-IR نمونه گلیکوزآمینوگلیکان استخراج شده از مخاط شقایق دریایی	۳۷
۴-۴	طیف FT-IR نمونه گلیکوزآمینوگلیکان استخراج شده از تانتاکول شقایق دریایی *S.haddoni*	۳۸
۵-۴	تصویر انعقاد پلاسما (تشکیل لخته) در نمونه‌ی هپارین (سمت راست) و نمونه استخراج شده (سمت چپ)	۴۰
۶-۴	تشکیل لخته فیبرینی به عنوان شاخص انعقاد خون	۴۲

فصل اول

مقدمه و کلیات

۱-۱ مقدمه

محصولات زیست فعال[۱] از منابع استثنایی موجودات ساکن دریاها هستند که در مقایسه با موجودات خشکی دارای خواص شیمیایی و ساختاری منحصر به فردی می‌باشند (Carte، ۱۹۹۶). منابع دریایی طیف گسترده‌ای از نیازهای ضروری از جمله غذاهای دریایی، منابع سوختی و همچنین ترکیبات زیست فعال با هدف دارویی را برای انسان‌ها فراهم آورده‌اند، این ترکیبات که در موجودات دریایی با مکانیسم‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی ویژه‌ای ساخته یا ذخیره می‌شوند در تولید مثل، ارتباط و حفاظت در برابر شکارچیان، تهاجم و رقابت و غیره مورد استفاده قرار می‌گیرند (Chivian و همکاران، ۲۰۰۸). به‌دلیل شرایط فیزیکی و شیمیایی خاص محیط دریا، تقریباً هر یک از ارگانیسم‌ها، مولکول‌های ویژه با ساختار منحصر به‌فردی تولید می‌کنند. این تنوع شیمیایی باعث تنوع زیستی منحصر به فردی در موجودات نیز می‌شود. لذا تنوع زیستی زیاد در محیط‌های آبی نسبت به محیط‌های خشکی، زمینه مناسب‌تری برای تولید مواد زیست فعال، و در نتیجه توسعه‌ی داروهای زیستی را فراهم می‌کند (Ely و همکاران، ۲۰۰۴؛ Kijjoa و همکاران، ۲۰۰۴).

در سه دهه اخیر بیش از ۲۵۰۰ متابولیت جدید از موجودات دریایی در محدوده جانوران تک سلولی و بی‌مهرگان تا پستانداران دریایی گزارش شده است. چندین ترکیب زیست فعال از بی‌مهرگانی مانند اسفنج‌ها، مرجان‌ها، سخت‌پوستان، شقایق دریایی و نرم‌تنان استخراج و ترکیباتی مانند استروئیدها[۲]،

---

[۱] Bioactive compound :(ترکی‌باتی که دارای فعالی‌ت بی‌ولوژی‌ک بوده، اثر مستقی‌م بر سای‌ر موجودات زنده دارند، که اثر ممکن است تاثی‌ر مفی‌د ی‌ا مضر داشته باشد).

[2] Steroids

ترپنوئید[1]، ایزوپرنوئید[2] شناسایی شده است (Kumaran، ۲۰۱۲). در بین موجودات دریایی، ترکیبات طبیعی زیادی به‌دست آمده است، که تنها ویژگی‌های دارویی کمتر از یک درصد آن‌ها مورد بررسی قرار گرفته است (Fusetani، ۲۰۰۰)، این در حالی است که بیشتر تولیدات دریا از لحاظ ساختاری ویژگی‌هایی را نشان می‌دهند که در تولیدات طبیعی موجودات ساکن خشکی یافت نمی‌شود (Ireland و همکاران، ۱۹۸۸؛ Kijjoa و همکاران، ۲۰۰۴).

از بین ترکیبات مختلف زیست فعال، به وجود هتروپلی‌ساکاریدها[3] در انواعی از آبزیان دریایی می‌توان اشاره کرد (Silva و همکاران، ۲۰۰۵) که فراوان‌ترین آن‌ها گلیکوزآمینوگلیکان‌ها[4] هستند که از نظر ساختاری ساده‌ترین و شناخته شده‌ترین هتروپلی‌ساکاریدها می‌باشند (Manjusha، ۲۰۱۲).

گلیکوزآمینوگلیکان‌ها جزء مهمی از ماتریکس خارج سلولی بافت‌های هم‌بند و همچنین سطح سلولی انواعی از سلول‌ها و گرانول‌های داخل سلولی هستند و در بیشتر فعالیت‌های بیولوژیک از قبیل تنظیم و نگهداری چسبندگی سلولی، حرکت، تکثیر، تمایز، مورفوژنز بافتی و... به‌کار می‌روند (Kresse و همکاران، ۲۰۰۱; Vijayabaskar و همکاران، ۲۰۰۹). بر اساس ترکیب دی‌ساکاریدی، نوع اتصال و حضور گروه‌های سولفات، گلیکوزآمینوگلیکان‌ها به ۶ گروه اصلی تقسیم می‌شوند: هیالورونیک اسید، کندروتین سولفات، درماتان سولفات، کراتان سولفات، هپارین سولفات و هپارین.

هپارین، گلیگوزآمینوگلیکانی به شدت سولفاته است که خاصیت ضد انعقاد طبیعی دارد. این ماده توسط ماست سل‌ها[5]و بازوفیل‌ها[6] در مهره‌داران تولید می‌شود و دارای بیشترین تراکم بار منفی نسبت به سایر مولکول‌های بیولوژیک است (Linhardt و همکاران، ۱۹۹۹؛ Manjusha، ۲۰۱۲؛ Periyasamy و همکاران، ۲۰۱۳). در پزشکی از هپارین و مشتقاتش به عنوان ضد انعقاد

[1] Terpenoids
[2] Isoprenoids
[3] Heteropolysaccharide
[4] Glycosaminoglycan
[5] Mast cell
[6] Basophile

در شرایطی مانند سندروم حاد کرونری، آمبولیسم ریوی، فیبریلاسیون عروقی و ترومبوس ریوی عمیق استفاده می‌شود (Manjusha، ۲۰۱۲). همچنین کاربردهای درمانی جدید دیگری از جمله درمان بیماری‌های عفونی، التهاب و کنترل رشد سلولی در زخم‌ها و کنترل سرطان (Volpi، ۲۰۰۵) و فعالیت ضد ویروسی برای این پلیمر طبیعی گزارش شده است (Folkman و همکاران، ۱۹۸۳؛ Weiler و همکاران، ۱۹۹۲).

تولید داروهای جانوری با کمترین عوارض، از مهم‌ترین اهداف علم داروسازی کنونی است. هپارین مورد استفاده در صنعت داروسازی بیشتر از بافت‌های پستانداران (گاو و خوک) استخراج می‌شود، لذا استفاده از آن از چند جنبه محدودیت‌هایی را ایجاد کرده است. در درجه اول، استفاده از این نوع هپارین در بیماران، خطر ابتلا به انواعی از بیماری‌ها از جمله انسفالوپاتی[1] را افزایش می‌دهد (Volpi، ۲۰۰۵). سپس قرارگیری آن در برابر باورهای دینی در ادیان مختلف با توجه به استفاده از خوک و گاو می‌باشد. همچنین استفاده از منابع غیر جانوری هپارین، مانند تولید با روش شیمیایی، آنزیمی یا هپارین‌های نوترکیب در حال حاضر برای اهداف دارویی امکان‌پذیر نیست. در نتیجه، انگیزه قوی برای استخراج ترکیبات جایگزین هپارین یا شبه هپارینی از منابع دریایی را ایجاد می‌کند (Volpi، ۲۰۰۵).

از جمله جانوران دریایی به سلسله مرجانیان (Cnidarians)، راسته شقایق‌های دریایی می‌توان اشاره نمود که حاوی انواعی از مواد زیست فعال در مخاط[2] و در سلول‌های تخصص یافته‌ی نماتوسیت[3] در تانتاکول‌ها[4] هستند که برای گرفتن شکار، فرار از شکارچی، مقابله با انواعی از استرس‌های محیطی استفاده می‌کنند و با توجه به وجود گونه‌های زیادی از آن در خلیج فارس، تحقیق حاضر با اهداف ذیل انجام گرفت.

[1] Encephalopathy
[2] Mucus
[3] Nematocyste
[4] Tentacle

۱- ۱- ۱ اهداف

۱. استخراج ترکیبات گلیکوزآمینوگلیکانی از شقایق دریایی گونه *Stichodactyla haddoni*

۲. مطالعه فعالیت شبه هپارینی ترکیب استخراج شده روی خون انسان و ماهی

۱-۱-۲ ضرورت انجام تحقیق

همچون بسیاری از آبزیان خلیج فارس، تحقیقات روی شقایق‌های دریایی بسیار محدود و غالباً در حد گزارش حضور گونه‌ای آن‌ها است. در معیار جهانی نیز تاکنون تنها یک مورد برای استخراج ترکیبات گلیکوزآمینوگلیکان از مخاط شقایق دریایی گزارش شده است. به‌دلیل توجه جهانی به داروهای دریایی، شناخت منابع مختلف ترکیبات زیست فعال، از جمله شبه‌هپارین‌ها، ضروری به‌نظر می‌رسد. لذا موارد ذیل نسبت به تحقیقات انجام گرفته متفاوت و نو بوده است.

۱. غیر از مخاط از تانتاکول‌ها به‌عنوان منبع حضور این ترکیبات جهت استخراج استفاده شد.

۲. ترکیبات استخراجی علاوه بر خون انسان روی خون ماهی نیز آزمایش شد.

۱- ۱- ۳ فرضیه‌های تحقیق

۱. توانایی ضد انعقادی گلیکوزآمینوگلیکان استخراج شده از مخاط و تانتاکول *S. haddoni* روی خون ماهی بیشتر از خون انسان می‌باشد.

۲. قدرت ضد انعقادی گلیکوزآمینوگلیکان استخراج شده از مخاط *S. Haddoni* به‌طور معنی‌داری بیش از تانتاکولی است.

۳. بین قدرت ضد انعقادی گلیکوزآمینوگلیکان استخراجی از مخاط و هپارین تفاوت معنی‌داری وجود ندارد.

۱-۲ کلیات

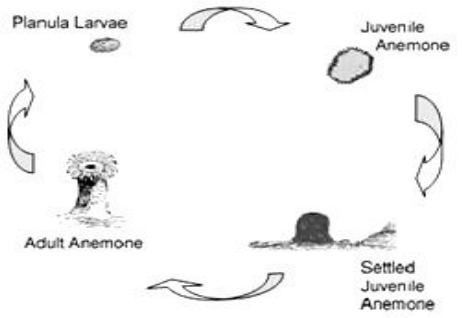
۱-۲-۱ مرجانیان

شاخه نیداریا[1] یک گروه جالب توجه از متازوآ با پیشینه سنگواره‌ای طولانی بیش از ۷۰۰ میلیون سال می‌باشند، که سازماندهی ساختاری و عملکردی ساده‌ای دارند. اعضای این شاخه به میزان بسیار فراوان در زیستگاه‌های گرمسیری و نیمه گرمسیری با دمای بالا و مقدار اندکی نیز در آب‌های شیرین حضور دارند و به صورت منفرد و کلنی دیده می‌شوند و بسیاری دارای اسکلت محافظت کننده‌ای می‌باشند (Hickman و همکاران، ۲۰۰۲).

نیداریا دارای تقارن شعاعی و یک حفره بدنی کیسه مانند می‌باشند که فقط یک مدخل دارد و به صورت دهان و مخرج عمل می‌کند، این حفره توسط بازوها محصور شده و دارای سلول‌های گزنده (نماتوسیت) می‌باشند که برای دفاع و گرفتن مواد غذایی به‌کار می‌روند (Lengfeld و همکاران، ۲۰۰۹). دیواره بدن نیداریا دو لایه سلولی، اپیدرم (اکتودرم) و گاسترودرم (آندودرم) هستند. در بین دو لایه، یک بافت پیوندی نازک به‌نام مزوگلیا[2] وجود دارد که از کلاژن، موکوپلی‌ساکارید و سلول‌ها تشکیل شده است. یک شبکه عصبی ساده نیز در این موجودات وجود دارد که از سلول‌های اکتودرمی و گاسترودرمی تشکیل شده است و به درون دیواره بدن نفوذ می‌کند و به سلول‌های ویژه‌ای که مسئول دریافت حس مکانیکی و شیمیایی هستند اتصال دارد (Veron و همکاران، ۲۰۰۰).

در شقایق‌های دریایی پولیپ تولیدکننده گامت است و چرخه به‌ترتیب شامل مراحل جنینی لاروی و پولیپ می‌باشد (شکل ۱-۱).

[1] Cnidaria
[2] Mesoglae

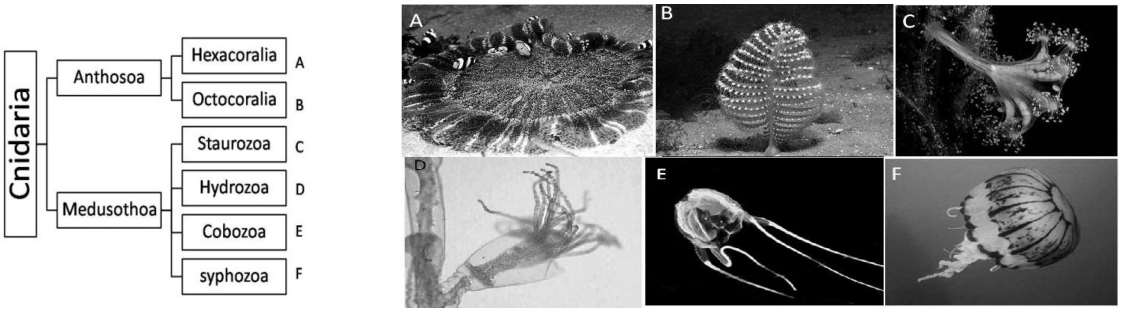


شکل ۱- ۱ شماتیک چرخه زندگی آنتوزوآ (www.uas.alaska.edu)

علاوه بر همزیستی با جلبک‌های تک سلولی به نام زوگزانتلا[1]، رژیم غذایی در شقایق‌های دریایی بیشتر به صورت گوشت‌خواری است و از شکارهای کوچکی مانند کوپه پودا، کرم‌ها، لارو و جانوران مرده تغذیه می‌کنند (Frazão و همکاران، ۲۰۱۲). موفقیت تغذیه‌ای نیداریا به دلیل حضور سلول‌های سمی تخصص‌یافته‌ای به‌نام نماتوسیت‌ها است. علاوه بر این، نیداریا حاوی مخاط نیز می‌باشند. مخاط، به مخلوط پیچیده از گلیکوپروتئین‌های پلی‌مری به نام موسین و سایر ترشحات لیپید مانند اشاره دارد که توسط سلول‌های موکوسی اپی‌تلیوم ترشح می‌شود (Brown و همکاران، ۲۰۰۵). به‌طورکلی لایه مخاطی کم و بیش در همه مرجان‌ها تولید می‌شود و کانون بیشتر جنبه‌های بیولوژی مرجان از جمله تغذیه هتروتروفی، حفاظت از پاتوژن‌ها و پاکسازی رسوب می‌باشد (Brown و همکاران، ۲۰۰۵). لایه مخاط سطح مرجان از اپی‌تلیوم زیرین محافظت می‌کند و به مرجان اجازه تبادلات گازی و متابولیت‌ها را نیز می‌دهد. جلبک‌های همزیست نقش مهمی در ترکیب مخاط ایفا می‌کنند. هنگامی‌که تراکم جلبک‌های همزیست به میزان قابل توجهی کاهش می‌یابد، ترکیب و ترشح مخاط نیز به مقدار قابل توجهی تحت تاثیر قرار می‌گیرد، چرا که لایه مخاطی به عنوان محافظ در برابر اشعه‌ی ماوراء بنفش خورشید عمل می‌کند (Crossland، ۱۹۸۷). مخاط مرجانی ترکیب پیچیده‌ای از مواد است، که ترکیب آن در بین گونه‌های مرجانی به‌طور موقت، تحت تاثیر عمق، تابش نور مختلف و آلودگی‌های زیست محیطی تغییر شکل می‌دهد (Wild و همکاران، ۲۰۰۴).

[1] *Zooxantellae*

حداقل ۴ رده از مرجانیان توسط دانشمندان علم سیستماتیک گزارش شده است: آنتوزوآ، هیدروزوآ[1]،سایفوزوآ[2] و کوبوزوآ[3]. روش‌های فیلوژنی مولکولی بر اساس توالی DNA نشان داده که آنتوزوآ پست‌ترین گروه از مرجانیان می‌باشند (Technau و همکاران، ۲۰۱۱). آنتوزوآ دارای میتوکندری حلقوی هستند در حالی‌که سه گروه دیگر دارای مولکول خطی می‌باشند (شکل۱-۲). رده آنتوزوآ دارای متنوع‌ترین و بزرگ‌ترین پولیپ‌های مرجانی، شامل ۱۰ راسته و بالای ۷۵۰۰ گونه (درحدود دو سوم گونه‌های شناخته شده مرجانیان) می‌باشند (Rocha و همکاران، ۲۰۱۱).



شکل ۱-۲ کلادوگرام شاخه نیداریا (Collins، ۲۰۰۹)

۱- ۲- ۲ شقایق دریایی

شقایق‌های دریایی (Actiniaria) منفرد، اعضای ساکن اقیانوس از شاخه مرجان و رده آنتوزوآ، متعلق به زیر رده‌ی هگزاکورالیا[4]هستند (شکل۱-۳) و به‌عنوان جانوران سمی شناخته می‌شوند

[1] Hydrozoa,
[2] Scyphozoa
[3] Cubozoa
[4] Hexacorallia