روش های استخراج، کاربردهای دارویی و زیستی کندروتین سولفات و گلوکزآمین بدست آمده از ضایعات آبزیان

*اسماعیل عبداله زاده**

انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رشت، ایران

*abdollahzadeh@rocketmail.com

چکیده

امروزه خصوصیات زیست فعالی زیادی از گلیکوزآمینوگلیکان ها گزارش شده است و این ترکیبات را بسیار با ارزش ساخته است. کندروتین سولفات یک گلیکوزآمینوگلیکان سولفاته است که در غضروف و سایر اجزای بدن یافت می شود. کندروتین سولفات را می توان از غضروف ماهیان خاویاری جداسازی نمود. کندروتین سولفات از گاو، مرغ، خوک و غضروف آبزیان جداسازی می شود. امروزه از گلوکزآمین در کنار کندروتین سولفات برای تولید محصولات سلامتی بخش و بهبود بیماریهای مفصلی استفاده می شود. به نظر می رسد تولید اینگونه محصولات سلامتی بخش در کشور می تواند تقاضای بازار مناسبی داشته باشد؛ هرچند انجام تحقیقات در زمینه تولید این محصولات فراسودمند ضروریست. به طور عمده، گلوکزآمین از کیتینی تولید می شود که از پوسته سخت پوستان دریایی استخراج و با عملیات شیمیایی جداسازی می گردد. اسید هیدروکلریک یک ماده شیمیایی استاندارد مورد استفاده برای هیدرولیز کیتین به گلوکزآمین است. در مقاله حاضر که به صورت مروری و ترویجی تنظیم شده است ضمن معرفی روشهای استخراج کندروتین سولفات و گلوکزآمین از آبزیان، به خواص زیست فعالی و دارویی این ترکیبات اشاره شده است. مطابق نتایج بدست آمده بسته به نوع ماده خام اولیه مورد استفاده فرآیند استخراج می تواند دستخوش تغییرات شده و محصول نهایی دارای کیفیت متفاوت خواهد بود. پیشنهاد می شود در استخراج گلیکوزآمینوگلیکان ها از ترکیب آنزیم های مختلف استفاده شود.

کلمات کلیدی: کندروتین سولفات؛ گلوکزآمین، خواص زیست فعالی، خواص دارویی

مقدمه

گلیکوزآمینوگلیکان ها ترکیبات پلی ساکاریدی پیچیده ای هستند که در موجودات زنده یافت می شوند. گلیکوزآمینوگلیکان ها در واقع پلی ساکاریدهای خطی متشکل از واحدهای دی ساکاریدی اند که هر واحد آن متشکل از ان استیل گلوکزآمین و یک اسید اورونیک یا واحدهای دی گالاکتوز هستند (Gandhi و Mancera، ۲۰۰۸). خصوصیات زیستی زیادی در گلیکوزآمینوگلیکان ها گزارش شده است و این ترکیبات را بسیار با ارزش ساخته است. کندروتین سولفات یک گلیکوزآمینوگلیکان سولفاته است که در غضروف و سایر اجزای بدن یافت می شود (Narayanaswamy و همکاران، ۲۰۱۶). امروزه کندروتین سولفات از گاو، مرغ، خوک و غضروف آبزیان جداسازی می شود.

ارزش بازار جهانی کندروتین سولفات در سال ۲۰۲۱ معادل یک میلیارد و دویست میلیون دلار بوده است که پیش بینی می شود تا سال ۲۰۳۰ این رقم ۴۱ درصد رشد کند. کندروتین سولفات در پزشکی بازساختی، درمان آرتروز و همچنین به عنوان یک مکمل غذایی برای پیشگیری و درمان مصرف می شود. کندروتین سولفات در واقع یک نوع پلی ساکارید طویل خطی است که از ان-استیل دی گالاکتوزآمین و گلوکورونیک اسید تشکیل شده است. بسته به نواحی سولفاته شدن، کندروتین سولفات به چهار گروه مختلف تقسیم می شود (Mende و همکاران، ۲۰۱۶).

در حال حاضر مکمل های گلوکزآمین و کندروتین سولفات مورد مصرف در داخل کشور بسته به نوع برند و ترکیبات موثره، در قیمت های بسیار متنوعی عرضه می شود. به عنوان نمونه قرص میکس گلوکزآمین و کندروتین سولفات برند مکس فیشر فلکسان با قیمت ۲۷۰۰ هزار ریال به فروش می رسد؛ درحالیکه محصول میکس گلوکزآمین و کندرویتین برند ام اس ام Kirkland (قرص ۳۰۰ عددی) با قیمت بالای ۴۰ میلیون ریال در بازار داخل عرضه می شود. به نظر می رسد عمده تولیدات و مکمل های گلوکزآمین و کندروتین سولفات در محدوده ۲۰۰۰ تا ۶۰۰۰ هزار ریال در بازار داخل کشور به فروش می رسند. این محصولات عمدتاً در هر قرص کمتر از ۱۵۰۰ میلی گرم ماده موثره دارند. میزان تولیدات گلوکزآمین در سراسر جهان به بیش از ۴۶ هزار تن رسیده است (Khwaldia، ۲۰۱۹). در ایالات متحده بیشتر کندروتین سولفات مصرفی وارداتی بوده و تخمین زده می شود ۳۵۰۰ تن کندروتین سولفات در سال ۲۰۱۲ به ایالات متحده واردات شده است. همچنین در ایالات متحده بازار جهانی کندروتین سولفات بالغ بر ۳۵۰ میلیون دلار تخمین زده می شود. در بازار استرالیا سالانه ۱۰۰ تن کندروتین سولفات مصرف می شود. در خصوص میزان مصرف گلوکزآمین و کندروتین سولفات در داخل کشور ایران اطلاعات دقیقی در دسترس نیست اما به نظر می رسد با افزایش تعداد افراد مسن در کشور و بروز بیماری های ناشی از کهنسالی میزان مصرف این ترکیبات افزایش یابد. در مطالعه Zhao و همکاران (۲۰۱۳) میزان کندروتین سولفات خام بدست آمده از غضروف تاس ماهی چینی در حدود ۲۶ درصد برآورد شده است. در سایر تحقیقات میزان کندروتین سولفات تولیدی از غضروف آبزیان کمتر بوده و در محدوده ۴ تا ۱۴ درصد گزارش شده است. لذا با توجه به اینکه قیمت هر کیلوگرم کندروتین سولفات گرید دارویی در حدود ۳۸۰ تا ۴۵۰ می باشد؛ به نظر می رسد تولید این محصولات از ضایعات آبزیان با توجه به حلال بودن مواد اولیه دارای توجیه اقتصادی باشد.کندروتین سولفات را می توان در سطح سلولها و در یک ماتریکس خارج سلولی نظیر پروتئوگلیکان ها یافت. بافتهای غضروفی دارای سطوح بالای کندروتین سولفات هستند. در این بافتهای غضروفی یک لایه نازک کلاژنی

وجود دارد که با یک ترکیب حاوی گلیکوپروتئین ها و پروتئوگلیکان ها پوشش داده شده است. تولید کندروتین سولفات به دلیل محدودیتها در تامین مواد اولیه و مواد اولیه فاقد ریسک (ویروسها و...) با محدودیت های کیفی و کمی همراه بوده است. در حال حاضر تقاضای کندروتین سولفات توسط غضروف آبزیان، خوک و گاو تامین می گردد(Urbi و همکاران، ۲۰۲۲).

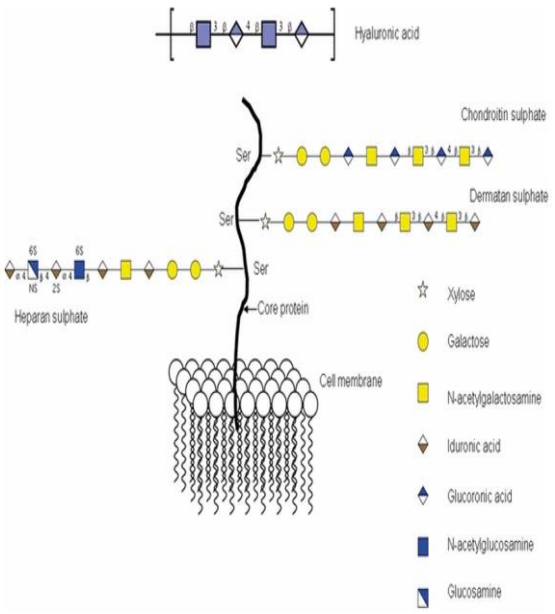
یکی از رویکردهای ایمن جهت تامین کندروتین سولفات، استفاده از ماهی به عنوان یک منبع غذایی حلال است. کندروتین سولفات را می توان از بخش های مختلف ماهی نظیر سر، استخوان ماهی، آبشش، باله ها و فلس ماهیان استخراج نمود (Maccari و همکاران، ۲۰۱۵؛ Nogueira و همکاران، ۲۰۱۹). گلوکزآمین نیز قابل جداسازی از پوسته سخت پوستان است که دارای خواص زیست فعالی مناسبی است. امروزه از گلوکزآمین در کنار کندروتین سولفات برای تولید محصولات سلامتی بخش و بهبود بیماریهای مفصلی استفاده می شود. به عنوان نمونه هر بطری نوشیدنی JointJuice تجاری سازی شده حاوی ۱۵۰۰ میلی گرم گلوکزآمین و ۲۰۰ میلی گرم کندروتین سولفات به همراه ویتامین C و D است. بسته به اینکه این مواد از چه بخشی استخراج می شود، محصول نهایی دارای ترکیبات و غلظت های مختلفی خواهد بود. در تحقیق حاضر ضمن معرفی روشهای استخراج کندروتین سولفات و گلوکزآمین از منابع شیلاتی، به کاربردهای زیست فعالی این ترکیبات اشاره شده است.

جداسازی کندروتین سولفات از ماهی

ضایعات ماهی منبع ارزشمندی جهت استخراج ترکیبات بسیار با ارزش نظیر گلیکوزآمینوگلیکان ها است. در حال حاضر روشهای مختلفی برای جداسازی کندروتین سولفات از ماهی توسعه داده شده است. شکل ۱ ارتباط گلیکوزآمینو گلیکانها با پروتئینها را نشان می دهد. تاکنون تکنیک های مختلفی به منظور جداسازی گلیکوزآمینوگلیکان ها از دیگر ترکیبات پلی ساکاریدی موجود در بافت توسعه داده شده است. می توان از انواع مختلف آنزیم ها، شوینده ها، حلالها جهت شکستن ساختار و گرفتن کندروتین سولفات از پروتئوگلیکانها استفاده نمود. به طور معمول در گام اول هیدرولیز شیمیایی بافت انجام می شود تا از شکستن پروتئوگلیکان ها اطمینان حاصل شود، سپس در گامهای بعدی جداسازی پروتئین ها و بازیافت گلیکوزآمینوگلیکانهای اختصاصی از باقیمانده عصاره انجام می شود.

در یک روش تولید کندروتین سولفات از غضروف آبزیان، ابتدا بافت غضروف از آبزی جداسازی شده و به مدت ۱۰ دقیقه جوشانده می شود. سپس نسبت ۱۰ گرم غضروف با ۴ mg/g پاپاین در ۱۰۰ میلی لیتر محلول یک دهم مولار بافر فسفات سدیم با pH ۷ حاوی اتیلن دی آمین ترا استیک اسید (۰/۰۰۵ M)، سیستئین هیدروکلراید (۰/۰۰۵ M) و سدیم آزید ۰/۰۲ درصد هیدرولیز شد. فرآیند هیدرولیز به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۶۵ درجه سانتی گراد ادامه می یابد تا یک محلول شفاف حاصل گردد. سپس تری کلرواستیک اسید تا غلظت ۷ درصد (w/v) اضافه و محلول به مدت یک شبانه روز در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگه داشته می شود، سپس محلول حاضر به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی گراد سانتریفیوژ شده و پروتین های ته نشین شده حذف می گردند. سپس سوپرناتانت در مجاورت آب سرد به مدت ۲۴ ساعت دیالیز می گردد. جهت تخلیص محصول بدست آمده میزان ۱/۵ گرم ستیل پیریدینیم کلراید اضافه و به مدت ۳۰ دقیقه سانتریفیوژ شده و سوپرناتانت حذف می گردد. مواد ته نشین شده با سدیم کلراید ۰/۴ مولار شسته می شود و مجددا سانتریفیوژ می گردد. پس از تکرار این مرحله، میزان ۱۰۰ میلی لیتر

پتاسیوم تیوسیانات ۱ مولار اضافه می شود و محصول نهای با کاغذ فیلتر واتمن شماره ۴ فیلتر می گردد. مواد بدست آمده در مجاورت آب سرد دیالیز شده و کندروتین سولفات تخلیص شده با کمک روتاری و آون در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد به مدت ۵ ساعت خشک می شود. در این روش در حدود ۱۱ تا ۱۴ گرم محصول به ازای هر ۱۰۰ گرم غضروف خشک حاصل می گردد(Garnjanagoonchorn و همکاران، ۲۰۰۷).



شکل ۱- تصویر شماتیک ارتباط گلیکوزآمینوگلیکان ها با پروتین. کندروتین سولفات، هپاران سولفات و درماتان سولفات از طریق باقیمانده سرین به یک پروتئین متصل شده اند و هیالورونیک اسید اتصال خاصی به هسته پروتئینی ندارد (اقتباس از Gandhi و Mancera، ۲۰۰۸)

Meng و همکاران (۲۰۲۳) کندروتین سولفات و کلاژن را از طناب عصبی ماهی خاویاری (تاس ماهی روس) با استفاده از روش شیمیایی و دمای پایین استخراج کرده اند. میزان بازیافت کندروتین سولفات در حدود ۵ درصد گزارش گردید. امروزه روش هیدرولیز آنزیمی به منظور بازیافت طیف وسیعی از ترکیبات از ماهی نظیر پروتئین ها و پلی ساکاریدها بکار می رود. استخراج کندروتین سولفات از غضروف، سر، پوست و باله ماهیان میسر است. در گام اول تولید کندروتین سولفات از نمونه های ماهی، استخراج گلیکوزآمینوگلیکان های خام با روش شیمیایی یا آنزیمی انجام می شود. به منظور حذف چربی ها از استون و کلروفرم استفاده شده و سپس نمونه ها خشک می شوند. هضم پروتئولیتیکی با استفاده از مواد شیمیایی یا آنزیمی یکی از مهمترین فازهای حیاتی در پروسه استخراج بشمار می رود. با استفاده از کلروفرم و آمیل الکل پروتئین زدایی امکان پذیر است. با این حال فرآیندهایی که در آن از آنزیم استفاده نمی شود میزان بازدهی گلیکوزآمینوگلیکانها را کاهش می دهد. در این میان پاپایین یکی از آنزیم های بسیار پرکاربرد جهت استخراج است. علاوه بر پاپایین، دیگر آنزیم ها نظیر تریپسین، آلکالاز، اکتیناز و همچنین مواد شیمیایی (سدیدم کلراید و استون سرد) به صورت مجزا یا ترکیبی به منظور تهیه گلیکوزآمینوگلیکانها استفاده شده است(Urbi و همکاران، ۲۰۲۲).

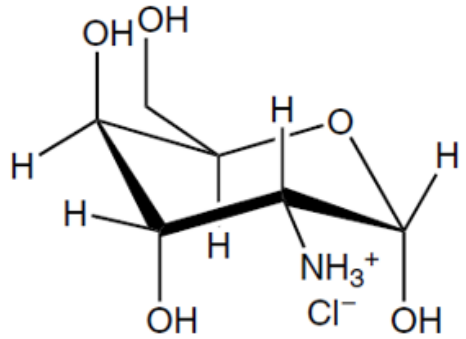
تحقیقات نشان می دهد استفاده ترکیبی از آنزیم ها منجر به نتیجه مطلوب تر خواهد شد (Kim و همکاران، ۲۰۱۲). بنابراین پیشنهاد می شود در فرآیند استخراج، از آنزیم ها به صورت ترکیبی استفاده شود. جهت تعیین دوز مناسب آنزیمی، می توان از نرم افزارهایی نظیر دیزاین اکسپرت جهت بهینه سازی فرآیند بهره برد(Urbi و همکاران، ۲۰۲۲). فرآیند تخلیص کندروتین سولفات وابسته به نوع مواد اولیه مورد استفاده است. به عنوان مثال غضروف سگ ماهی به صورت مناسبی با استفاده از محلول بافر سدیم استات و پاپاین قابل جداسازی و تخلیص است. هضم آنزیمی را می توان در دمای ۱۰۰ درجه سلسیوس به مدت ۱۵ دقیقه متوقف نمود، زیرا آنزیم ها در این دما دناتوره می

شوند. همچنین فعال سازی آنزیم های درونی ماهی (اتولیز) می تواند منجر به آزادشدن گلیکوزآمینوگلیکان ها از نمونه گردد.

گلوکزآمین

گلوکزآمین ساختار شیمیایی تعریف شده ای داشته و دارای وزن مولکولی پایینی است (شکل ۱). گلوکزآمین به طور معمول با خلوص بیش از ۹۹ درصد به فروش می رسد. به طور ساختاری گلوکزآمین یک قند آمینی با فرمول مولکولی C6H13NO5HCl و وزن مولکولی ۲۱۵,۶۳ دالتون است. در فرم خالص آن به شکل یک پودر سفید کریستالی با نقطه ذوب ۱۹۴-۱۹۰ درجه سانتی گراد است. دی-گلوکزآمین هیدروکلراید تمایل به از هم تجزیه شدن دارد تا اینکه ذوب شود. این ماده به میزان زیادی در آب قابلیت حلالیت دارد و حلالیتش در دمای ۲۰ درجه سانتی گراد ۱۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر (100 mg/ml) است. این خصوصیات موجب تمایز گلوکزآمین از بسیاری از ترکیبات فراسودمند دارویی می شود. بسیاری از ترکیبات فراسودمند مخصوصاً گیاهان دارویی اغلب ترکیب شیمیایی آنها خوب توصیف نشده و استاندارد سازی آنها مشکل است. دیگر مزیت گلوکزآمین نسبت به سایر مکمل ها این است که این ترکیب یک جزء طبیعی بدن انسان است. بنابراین با مکانیسم های فیزیولوژیکی بدن سازگاری دارد. حضور طبیعی گلکوزآمین دلیل عمده کم خطر بودن یا بدون اثر جانبی بودن مصرف این مکمل است هرچند هنوز مطالعات بالینی در این زمینه (در کودکان،افراد دیابتی، زنان باردار) تکمیل نشده است. منابع معمول غذایی برای گلوکزآمین وجود ندارد و به طور طبیعی این ترکیب به صورت زیستی در بدن سنتز می شود. دی-گلوکزآمین هیدروکلراید کمی شیرین است و مزه گس دارد و هنگامی که با دوز ۱,۵ گرم در هر بار سرو شدن مصرف گردد به میزان کمی بر مزه یک نوشیدنی اثر می گذارد(Barrow و Shahidi، ۲۰۰۷).

در تولید گلوکزآمین از پوسته میگو و خرچنگ معمولاً هیدروکلریک اسید استفاده شده که منجر به تولید هیدروکلرید گلوکزآمین می شود. گلکوزآمین می تواند به واسطه هیدرولیز با اسیدسولفوریک به گلوکزآمین سولفات تبدیل شود. گلوکزآمین سولفات ترکیب ناپایداری است و امروزه گلوکزآمین سولفات شناخته شده با نمک مخلوط شده و ساختار شیمیایی تعریف شده دقیقی ندارند. در واقع بسیاری از محصولات گلوکزآمین سولفات تجاری در دسترس در حقیقت به جای نمک گلوگزآمین سولفات واقعی یک مخلوطی از گلوکزآمین هیدروکلرید و سولفات پتاسیم است.



شکل ۱- ساختار شیمیایی دی-گلوکزآمین هیدروکلراید(Barrow و Shahidi، ۲۰۰۷)

پروسه بیولوژیکی استخراج گلوکزآمین

به طور عمده، گلوکزآمین از کیتینی تولید می شود که از پوسته سخت پوستان دریایی استخراج و با عملیات شیمیایی جداسازی می گردد. علاوه براین گلوکزآمین را می توان با استفاده از عملیات آنزیمی به طور موفقیت آمیزی تولید نمود و اخیرا توجه زیادی به این تکنولوژی ها می شود. در کنار روش شیمیایی و آنزیمی، گلوکزآمین به طور

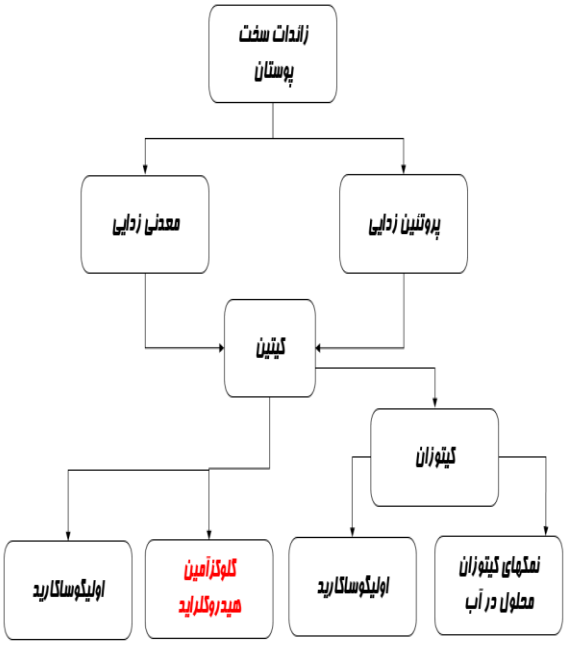
موفقیت آمیزی از کیتین حاصله از بیومس توسط تخمیر نیز تولید شده است.

پروسه شیمیایی تولید گلوکزآمین

اسید هیدروکلریک یک ماده شیمیایی استاندارد مورد استفاده برای هیدرولیز کیتین به گلوکزآمین است. اگرچه تلاشهایی برای هیدرولیز کیتین با سایر اسیدها نظیر اسید سولفوریک و کمتر ازن هیدروژن فلورید، اسید فسفوریک یا اسید نیتریک انجام شده است. روشهای شیمیایی تاریخچه نسبتاً طولانی در تحقیقات دارد. به عنوان مثال Purchase و Braun(۱۹۴۶) گلوکزآمین را از پوسته خرچنگ جداسازی نمودند و Ingle و همکاران (۱۹۷۳) از ضایعات کارخانه جات کنسرو ماهی گلوکزآمین را تولید نمودند.

رایج ترین پروسه های صنعتی تولید گلوکزآمین از پوسته سخت پوستان شروع شده و بر اساس روش های نشان داده شده در شکل ۲ می باشد. در یک روش دیگر، که به عنوان روش اسید-باز-اسید شناخته می شود، اسکلت اولیه به قطعات به اندازه ۰/۵ تا ۵ میلی متری خرد می شود و با استفاده از اسید هیدروکلریک رقیق معدنی زدایی می شود. عمدتاً در این روش از هیدروکلریک اسید ۲ مولار استفاده می شود. مواد معدنی زدایی شده با فیلتراسیون با استفاده از یک فیلتر از مایع جداسازی می شوند و سپس با استفاده از هیدروکسید سدیم رقیق داغ (عمدتا ۱,۵ مولار در دمای ۹۰ درجه سانتی گراد) پروتئین زدایی می شوند. سپس کیتین فیلتر شده و با اسید هیدروکلریک ۱۰ مولار هیدرولیز می شود. در یک روش دیگر تولید که از نظر تئوریکی ساده تر است شامل مراحل باز-اسید-اسید می شود. پروتئین زدایی بر روی مواد معدنی زدایی شده موثرتر است. بنابراین انتخاب روش تولید بسیار وابسته به نوع پوسته مورد استفاده و مخصوصا میزان کلسیم آنها است(Barrow و Shahidi، ۲۰۰۷). استفاده از اسید هیدروکلریک رقیق برای هیدرولیز کیتین قابل توصیه نیست چرا که در هنگام استفاده از غلظت های اسید کمتر از ۹ مولار نرخ هیدرولیز پایین می آید (شکل ۲).

Benavente و همکاران (۲۰۱۵) از اسید هیدروکلریک ۱۲مولار جهت هیدرولیز کیتین استفاده کردند. همچنین جهت پروتئین زدایی از پوسته میگو از NaOH (۱۰درصد) و برای حذف مواد معدنی و نمکها از اسید هیدرو کلریدریک ۱,۸ مولار استفاده شد. جهت تولید گلوکزآمین از ضایعات پوسته میگو مراحل معدنی زادیی و پروتئین زدایی پیش از هیدرولیز اصلی کیتین بایستی لحاظ گرد. کارخانه های چینی بزرگترین عرضه کننده گلوکزآمین در دنیا هستند.



شکل ۲-فرآیند تولید گلوکزآمین هیدروکلراید و دیگر مواد با ارزش افزوده (Barrow و Shahidi، ۲۰۰۷)

کاربرد کندروتین سولفات و گلوکزآمین در تولید فرآورده های فراسودمند تجاری شده

از انجایی که گلوکزآمین قابلیت حلالیت پذیری بالایی دارد و دی-گلوکزآمین هیدروکلراید مزه اندکی دارد می تواند به عنوان یک افزودنی عالی برای نوشیدنی های عملگرا (فانکشنال بروج) مورد استفاده قرار گیرد. بیشتر گلوکزآمین مورد استفاده در مکمل ها از پوسته میگو یا خرچنگ توسط دپلیمرازیسیون کتین حاصل می شود. به صورت تجاری گلوکزآمین در چند شکل مختلف در دسترس است: در ترکیب با گیاهان، ویتامین ها، کراتین، کوندروتین سولفات. آسکوربیک اسید، منگنز یا دی متیل سولفون. یک ترکیب عامه پسند کندروتین سولفات است. برخی از کارخانه ها سعی در تولید آب میوه های حاوی گلوکزآمین نمودند(Barrow و Shahidi، ۲۰۰۷). برای مثال SoBe Sport System®یک نوشیدنی حاوی گلوکزآمین است که نوشیدنی رسمی در آمریکا شده است. سایر نوشیدنی های حاوی گلوکزآمین در دسترس شامل سوپر گلوکزآمین و نوشیدنی میکس گلوکزآمین از شرکت اکشن لب، Logic Juice4Joints از شرکت سلامت (حاوی ۱۲۵۰ میلی گرم گلوکزآمین و ۶۰ میلی گرم ویتامین سی) در انگلستان و JointJuice (هر بطری حاوی ۱۵۰۰ میلی گرم گلوکزآمین و ۲۰۰ میلی گرم کندروتین سولفات به همراه ویتامین C و D) در ایالات متحده امریکا هستند.

اثرات دارویی و زیست فعالی کندروتین سولفات و گلوکزآمین

با افزایش بیماری های مزمن نظیر بیماریهای قلبی عروقی، دیابت نوع ۲ سرطان، بیماریهای روانی و آرتروز هزینه های زیادی صرف مراقبت های بهداشتی می شود. در سال ۲۰۲۱ بیش از ۴ تریلیون دلار (سرانه ۱۲۹۰۰ دلار) صرف هزینه سیستم بهداشتی ایالات متحده آمریکا شده است. لذا سیستم بهداشتی امروزه بیشتر بر پیشگیری تکیه دارد تا درمان. شواهد روبه رشدی در دسترس است که جیره غذایی مناسب و ورزش می تواند به طور معنی داری بر روی سلامتی افراد تاثیر گذاشته و هزینه های درمانی را کاهش دهد. در تحقیقی که اخیراً بر روی سلولهای سرطانی روده انجام شده است مشخص گردید کندروتین سولفات استخراج شده از ماهیان خاویاری فرایند تکثیر سلولهای سرطانی روده را مهار می کند(Wu و همکاران، ۲۰۲۰). در مطالعه آزمایشگاهی انجام شده بر روی موش مشخص گردید کندروتین سولفات استخراج شده از ماهیان خاویاری، توسعه تومور را به طور معنی داری مهار می کند (Wu و همکاران، ۲۰۲۰).

استئوآرتریت یکی از بیماری های شایع مفصلی است که در پی تخریب پیشرونده غضروف مفاصل ایجاد می شود. این بیماری باعث از کارافتادگی افراد مسن می شود. در این بیماری غضروف محافظ انتهای استخوان ها در انتهای مفاصل دچار زوال می شود. متاسفانه درمان های کنونی تنها مسکن بوده و نتیجه درمان با روشهای معمول بسته به ژنتیک افراد و شدت بیماری متفاوت است. جهت درمان این بیماران، عمدتاً داروهای ضدالتهابی غیر استرورییدی NSAIDs[1]، ترامادول، استامینوفن و داروهای کورتیکواستروییدی مصرف می شوند که بعضاً دارای عوارض جدی هستند (رجایی و همکاران، ۱۳۸۸). به طور خاص امروزه به یک داروی جایگزین به جای NSAID و ممانعت کننده های COX-2 که فاقد اثرات جانبی است، احساس می شود. هرچند هنوز مجوزهای دارویی گلوکزآمین صادر نشده است اما شواهد بالینی فراوانی

[1] nonsteroidal anti-inflammatory drugs

موجود است که نشان می دهد گلوکزآمین و کندروتین سولفات می تواند جایگزین مناسبی باشد. هرچند گلوکزآمین بیشتر به عنوان مکمل پرمصرف غذایی استفاده می شود و به عنوان دارو در آمریکا مورد تصویب قرار نگرفته است اما گلوکزآمین ایمن بوده و می تواند برای جلوگیری و درمان این بیماری بکار رود.

خواص دارویی و زیست فعالی کندروتین سولفات استخراج شده از آبزیان نظیر ماهیان خاویاری، کوسه و سفره ماهی در جدول ۱ خلاصه شده است. Gui و همکاران (۲۰۱۵) خواص کندروتین سولفات استخراج شده از ستون فقرات و جمجمه ماهی خاویاری را به صورت آزمایشگاهی مورد بررسی قرار دادند. در این تحقیق خواص ضد لخته شدن خون کندروتین سولفات مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج این تحقیق نشان داد کندروتین سولفات ستون فقرات ماهی خاویاری موثرتر از کندروتین سولفات جمجمه ماهی است و موجب افزایش زمان تشکیل لخته خون می شود.

Ajisaka و همکاران (۲۰۱۶) فعالیت آنتی اکسیدانی کندروتین سولفات استخراج شده از غضروف کوسه و ماهی سالمون را در محیط آزمایشگاهی مورد بررسی قرار دادند. نتایج این تحقیق نشان داد کندروتین سولفات سولفاته قدرت آنتی اکسیدانی قوی داشته و شلاته شدن کندروتین سولفات با یون های منیزیم و کلسیم به صورت قابل توجه ای فعالیت مهارکنندگی رادیکالهای آزاد سوپراکسید دیسموتاز و هیدروکسیل را افزایش می دهد.

جدول ۱- خواص داروی کندروتین سولفات جداسازی شده از گونه های مختلف آبزیان

بافت/نوع آبزی	نوع فعالیت دارویی	دوز مورد استفاده	گونه مورد بررسی	نتایج	منبع
غضروف کوسه	حفاظت از سلولهای عصبی	۵۰ تا ۴۵۰ میلی گرم در کیلوگرم	موش	بهبود اختلالات شناختی، افزایش سطح ChAT، SOD، GSH-Px و کاهش سطح MDA و سطح AChE	Zhang و همکاران (۲۰۱۵)
ستون فقرات و جمجمه ماهی خاویاری	فعالیت ضد لخته شدن خون، ضد پلاکت و ترمبولیز	۱، ۳ و ۵ میلی گرم در لیتر	خرگوش	افزایش TT و زمان ترومبوپلاستین نسبی، لخته های پلاسمای پلاکتی محلول، کندروتین سولفات ستون فقرات ماهی خاویاری موثرتر از کندروتین سولفات جمجمه ماهی خاویاری بود.	Gui و همکاران (۲۰۱۵)
غضروف ماهی خاویاری	بهبود زخم	۱۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر	مطالعه آزمایشگاهی فیبروبلاست	افزایش چسبندگی سلولی، افزایش تکثیر و مهاجرت فیبروبلاستها و افزایش مسیرهای سیگنال دهی MAPK	Im و همکاران (۲۰۱۰)
سفره ماهی	ضدالتهاب، دیس لیپیدی کبدی	۲۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم	موش	کاهش بیان اتصال عنصر تنظیم کننده استرول کبدی، کاهش MAPK و کاهش فاکتورهای آپوپتوپیک	Song و همکاران (۲۰۱۷)
نوعی سفره ماهی Raja pulchra	ضد چاقی	۵ تا ۵۰ میلیگرم بر میلی لیتر	مطالعات آزمایشگاهی روی موش	عدم تاثیر بر فعالیت لیپاز پانکراس و تکثیر و تجمع لیپید	Li و همکاران (۲۰۱۹)
غضروف سفره ماهی	فعالیت عصبی	۲ میکروگرم در هر چاهک	مطالعه آزمایشگاهی بر روی سلولهای موش	افزایش رشد نورون از طریق مسیر سیگنالینگ HGF، اتصال اختصاصی HGF به کندروتین سولفات	Hashiguchi و همکاران (۲۰۱۱)
غضروف کوسه و ماهی سالمون	فعالیت آنتی اکسیدانی	۱ تا ۲۰ میلی گرم در میلی لیتر	تست آزمایشگاهی (آنالیز شیمیایی)	کندروتین سولفات سولفاته قدرت آنتی اکسیدانی قوی داشت. شلاته شدن کندروتین سولفات با یون های منیزیم و کلسیم به صورت قابل توجه ای فعالیت مهارکنندگی رادیکالهای آزاد سوپراکسید دیسموتاز و هیدروکسیل را افزایش می دهد.	Ajisaka و همکاران (۲۰۱۶)

پیشنهادهای ترویجی

با افزایش تولید ضایعات آبزیان، تولید محصولات با ارزش افزوده و مدیریت ضایعات ضرورت می یابد. در این راستا کندروتین سولفات و گلوکزآمین بدست آمده از ضایعات آبزیان ضمن دارا بودن ارزش افزوده، می تواند خواص زیست فعالی متنوعی را از خود نشان دهد. با توجه به کارهای پژوهشی انجام شده داخل و خارج کشور در خصوص استخراج کندروتین سولفات از غضروف ماهیان خاویاری (دلشاد و همکاران، ۱۳۹۶؛ Zhao و همکاران، ۲۰۱۳) می توان محورهای پژوهشی و ترویجی ذیل را مد نظر قرار داد.

۱-روش های تولید کندروتین سولفات از ضایعات ماهی می تواند به صورت استفاده از حلال ها و یا هضم آنزیمی باشد.

۲-پوست و غضروف ماهی دو منبع قابل اتکا برای تولید کندروتین سولفات است.

۳-پیشنهاد می شود در استخراج گلیکوزآمینوگلیکان ها از ترکیب آنزیم های مختلف استفاده شود.

۴- میزان تولید کندروتین سولفات از غضروف آبزیان در تحقیقات بسته به درجه خلوص بین ۴ تا ۲۶ درصد گزارش شده است.

منابع

رجایی علیرضا، علیرضایی امیرحسام و ولایی ناصر (۱۳۸۸). مقایسه اثر گلوکزآمین سولفات و گلوکزآمین/متیل سولفونیل متان (MSM) در درمان علایم استئوآرتریت زانو. پژوهنده (مجله پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی). شماره ۵، ۲۸۳-۲۸۷.

دلشاد سعید، کریم‌زاده کتایون، مصطفایی علی. استخراج کندروئیتین سولفات از غضروف ماهی خاویاری Acipenser (stellatusو بررسی اثر القایی آن بر تکثیر فیبروبلاست انسانی. مجله طب جنوب. ۱۳۹۶; ۲۰ (۴) :۳۴۹-۳۶۱

Ajisaka, K., Oyanagi, Y., Miyazaki, T., & Suzuki, Y. (2016). Effect of the chelation of metal cation on the antioxidant activity of chondroitinsulfates. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 80(6), 1179-1185.

Barrow, C., & Shahidi, F. (Eds.). (2007). Marine nutraceuticals and functional foods. CRC press.

Benavente, M., Arias, S., Moreno, L., & Martínez, J. (2015). Production of glucosamine hydrochloride from crustacean shell. Journal of Pharmacy and Pharmacology, 3(1), 20-26.

Gandhi, N. S., & Mancera, R. L. (2008). The structure of glycosaminoglycans and their interactions with proteins. Chemical biology & drug design, 72(6), 455-482.

Garnjanagoonchorn, W., Wongekalak, L., & Engkagul, A. (2007). Determination of chondroitin sulfate from different sources of cartilage. Chemical Engineering and Processing: Process Intensification, 46(5), 465-471.

Gui, M., Song, J., Zhang, L., Wang, S., Wu, R., Ma, C., & Li, P. (2015). Chemical characteristics and antithrombotic effect of chondroitin sulfates from sturgeon skull and sturgeon backbone. Carbohydrate polymers, 123, 454-460.

Hashiguchi, T., Kobayashi, T., Fongmoon, D., Shetty, A. K., Mizumoto, S., Miyamoto, N., ... & Sugahara, K. (2011). Demonstration of the hepatocyte growth factor signaling pathway in the in vitro neuritogenic activity of chondroitin sulfate from ray fish cartilage. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects, 1810(4), 406-413.

Im, A. R., Park, Y., & Kim, Y. S. (2010). Isolation and characterization of chondroitin sulfates from sturgeon (Acipenser sinensis) and their effects on growth of fibroblasts. Biological and Pharmaceutical Bulletin, 33(8), 1268-1273.

Ingle, T. R., Vaidya, S. H., & Pai, M. U. (1973). Production of D-glucosamine hydrochlo ride (GAH) from fish canning waste. Research and Industry, 18(2), 54-56.

Kim, S. B., Ji, C. I., Woo, J. W., Do, J. R., Cho, S. M., Lee, Y. B., ... & Park, J. H. (2012). Simplified purification of chondroitin sulphate from scapular cartilage of shortfin mako shark (Isurus oxyrinchus). International journal of food science & technology, 47(1), 91-99.

Khwaldia, K. (2019). Chondroitin and glucosamine. Nonvitamin and Nonmineral Nutritional Supplements, 27-35. Li, W., Kobayashi, T., Moroi, S., Kotake, H., Ikoma, T., Saeki, H., ... & Takagi, Y. (2019). Anti-obesity effects of chondroitin sulfate oligosaccharides from the skate Raja pulchra. Carbohydrate polymers, 214, 303-310.

Maccari, F., Galeotti, F., & Volpi, N. (2015). Isolation and structural characterization of chondroitin sulfate from bony fishes. Carbohydrate polymers, 129, 143-147.

Mende, M., Bednarek, C., Wawryszyn, M., Sauter, P., Biskup, M. B., Schepers, U., & Bräse, S. (2016). Chemical synthesis of glycosaminoglycans. Chemical Reviews, 116(14), 8193-8255.

Meng, D., Li, W., Leng, X., Takagi, Y., Dai, Z., Du, H., & Wei, Q. (2023). Extraction of chondroitin sulfate and type II collagen from sturgeon (Acipenser gueldenstaedti) notochord and characterization of their hybrid fibrils. Process Biochemistry, 124, 180-188.

Narayanaswamy, R., Kanagesan, S., Pandurangan, A., & Padmanabhan, P. (2016). Basics to different imaging techniques, different nanobiomaterials for image enhancement. In Nanobiomaterials in Medical Imaging (pp. 101-129). William Andrew Publishing.

Nogueira, A. V., Rossi, G. R., Iacomini, M., Sassaki, G. L., Trindade, E. S., & Cipriani, T. R. (2019). Viscera of fishes as raw material for extraction of glycosaminoglycans of pharmacological interest. International journal of biological macromolecules, 121, 239-248.

Purchase, E. R., & Braun, C. E. (1946). D-glucosamine hydrochloride. Organic syntheses; an annual publication of satisfactory methods for the preparation of organic chemicals, 26, 36.

Song, Y. O., Kim, M., Woo, M., Baek, J. M., Kang, K. H., Kim, S. H., ... & Noh, J. S. (2017). Chondroitin sulfate-rich extract of skate cartilage attenuates lipopolysaccharide-induced liver damage in mice. Marine Drugs, 15(6), 178.

Urbi, Z., Azmi, N. S., Ming, L. C., & Hossain, M. S. (2022). A concise review of extraction and characterization of chondroitin sulphate from fish and fish wastes for pharmacological application. Current Issues in Molecular Biology, 44(9), 3905-3922.

Wu, R., Shang, N., Gui, M., Yin, J., & Li, P. (2020). Sturgeon (Acipenser)-derived chondroitin sulfate suppresses human colon cancer HCT-116 both in vitro and in vivo by inhibiting proliferation and inducing apoptosis. Nutrients, 12(4), 1130.

Zhang, Q., Li, J., Liu, C., Song, C., Li, P., Yin, F., ... & Wang, F. (2015). Protective effects of low molecular weight chondroitin sulfate on amyloid beta (Aβ)-induced damage in vitro and in vivo. Neuroscience, 305, 169-182.

Zhao, T., Zhou, Y., Mao, G., Zou, Y., Zhao, J., Bai, S., ... & Wu, X. (2013). Extraction, purification and characterisation of chondroitin sulfate in Chinese sturgeon cartilage. Journal of the Science of Food and Agriculture, 93(7), 1633-1640.

Extraction methods, medicinal and biological applications of chondroitin sulfate and glucosamine obtained from aquatic waste

*Esmail Abdollahzadeh**

International Sturgeon Research Institute, Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Rasht, Iran

* abdollahzadeh@rocketmail.com

Abstract

Glycosaminoglycans have many bioactive properties, which make these compounds very valuable. Chondroitin sulfate is a sulfated glycosaminoglycan found in cartilage and other body parts. Sturgeon cartilage can be used as a source for isolating chondroitin sulfate. Moreover, this compound is isolated from cow, chicken, pig and aquatic cartilage. Today, glucosamine is applied along with chondroitin sulfate to produce nutraceuticals and improve joint diseases. It seems that the production of such health products in the country can have a suitable market demand; However, it is necessary to carry out research in the field of producing these nutraceuticals. Mainly, glucosamine is extracted from chitin, from the shell of marine crustaceans by chemical treatment. Hydrochloric acid is a standard chemical employed to hydrolyze chitin to glucosamine. In this review, we introduce the extraction methods of chondroitin sulfate and glucosamine from aquatic animals, as well as the bioactive and medicinal properties of these compounds. According to the obtained results, depending on the type of raw materials that used for extraction, the extraction process can undergo changes and the final product will have various quality. The usage of the combination of various enzymes can be suggested to extract glycosaminoglycans.

Keywords: Chondroitin sulfate; glucosamine, bioactive properties, medicinal properties