View metadata, citation and similar papers at core.ac.uk
brought to you by CORE
provided by Aquatic Commons

استخراج و شناسایی استروئیدهای دو گونه جلبک دریایی *Sargassum oligocystum* و *Nizamudiinia zanardinii* دریای عمان و خلیج فارس

شهلا جمیلی[۱]*، احمدرضا گوهری کاخکی[۲]، سودابه سعیدنیا[۳]، پریسا یرمه[۴]، جمیله فیروزی[۵]، بایرام محمد قرنجیک[۶]، منصور صدریان[۷]

shahlajamili45@yahoo.com

۱و۷-موسسه تحقیقات علوم شیلاتی تهران
۲و۳-مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه علوم پزشکی تهران
٤ و٥-دانشکده علوم و فنون دریایی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران
٦-مرکز تحقیقات شیلاتی آبهای دور، چابهار

تاریخ دریافت: خرداد ۱۳۹۲ تاریخ پذیرش: مهر ۱۳۹۲

چکیده

جلبکهای قهوه‌ای ***Sargassum oligocystum*** و ***Nizamudiinia zanardinii*** از فراوانترین جلبکهای سواحل شمالی دریای عمان و خلیج فارس میباشند. در این تحقیق جلبکهای قهوه ای مذکور بعد از جمع آوری و آماده سازی اولیه گونه ***S. oligocystum*** توسط حلال‌های کلروفرم-متانول (۱-۳) و گونه ***N. zanardinii*** توسط حلال متانول مورد عصاره گیری قرار گرفتند . با کمک روش های متعدد کروماتوگرافی از قبیل: کروماتوگرافی لایه نازک، کروماتوگرافی ستونی فاز معمولی و معکوس ، سفادکس و نیز کروماتوگرافی مایع تحت فشار بالا (HPLC)، ترکیبات عصاره اولیه جدا و خالص شد. با استفاده از روش های کروماتوگرافی TLC و CC با فاز ساکن سیلیکاژل فازنرمال و سفادکس LH-20 ترکیبات استروئیدی: کلسترول ، فوکواسترول ،بتاسیتواسترول ،استیگما استرول و۲۴-هیدروکسی۲۴- وینیل کلسترول ، ۲۲- دهیدروکلسترول، 29-hydroperoxystigmasta-5,24(28)-dien-3β-ol ، مخلوط 24(S)-hydroxy-24-vinylcholesterol و 24(R)-hydroxy-24-vinylcholesterol ، استرااسترول جداسازی و شناسایی شدند.

لغات کلیدی : جلبکهای قهوه ای، عصاره‌های جلبکی، ترکیبات شیمیایی

*نویسنده مسئول

مقدمه

جلبک‌ها دارای مواد با ارزشی نظیر: آگار، کاراگینین، و آلژینات، اسیدهای چرب ضروری، املاح معدنی، ویتامین‌ها و غیره می‌باشند کاربردهای فراوانی در صنایعی از قبیل، صنایع کاغذسازی، نساجی، علوم پزشکی و داروسازی و غیره هستند. سالهاست که ژاپنی ها از جلبک‌های دریایی به‌عنوان ماده خام اولیه در رژیم غذایی خود به‌کار می‌برند. (Kaladharan, 1999; Abbot,1995) .

فیتواستروژنها ترکیبات طبیعی مشتق شده از گیاهان، هورمونهای ضعیفی هستند که ساختار استروئیدی داشته و فعالیت بیولوژیکی شبه استروژنی بویژه شبیه استرادیول را دارا و به شکلهای مختلفی در دسترس می باشند این ترکیبات از نظر ساختمان و عمل، شبیه ۱۷ بتا - استرول می باشند و یا اینکه اثراتی شبیه استروژن را ایجاد می نمایند (Agarwal *et al.*, 2006). فیتواستروژنها که آگونیست های ضعیف استروژن می باشند، معمولا حضور استروژن قادر به اثرات مفید ناشی از فعالیت استروژنیک[1] در رسیدگی جنسی است. این امر موضوع مطالعات مختلف در ماهیان و سایر جانوران قرار گرفته است (Dixon, 2004). فیتواستروژنهای ایزوفلاونوئید به دلیل تشابهات مولکولی با ۱۷ بتا - استرادیول[2] در متابولیسم هورمونهای استروئیدی دخالت می کنند. همچنین ایزوفلاونها قادر به تغییر الگوی سنتز و یا متابولسیم هورمونهای درون ریز هستند (Pilsakova *et al. 2010* and Pilsakova *et al.*, 2009).

به استرول‌های گیاهی فیتواسترول اطلاق می‌شود. از فیتواسترول‌های تا حدودی مشترک بین گیاهان خشکی و جلبک‌ها می‌توان به سیتواسترول و استیگمااسترول اشاره کرد.(Ostlund *et al* ., 2003)

تحقیقات انجام شده نشان داد با افزودن سارگارسترول و فوکوسترول از جلبک قهوه‌ای جنس *Sargassum* ، میزان کلسترول پلاسما تا ۵۹ درصد کاهش میابد.

هدف از این تحقیق، جداسازی و خالص سازی ترکیبات اصلی موجود در جلبک قهوه‌ای (با تاکید بر استروئیدها) و تعیین ساختمان ترکیبات خالص شده با روش های اسپکترسکوپی می باشد.

مواد و روش کار

نمونه برداری جلبک های *Sargassum oligocystum* و *Nizamudiinia zanardinii* از سواحل خلیج فارس (استان هرمزگان) و دریای عمان (چابهار) درسالهای ۱۳۸۸و ۱۳۹۰ انجام شد.

در آزمایشگاه نمونه ها به تفیک در تشت ریخته و بوسیله آب شیرین شسته شده و از مواد زائد و اپی فیت جدا شدند و توسط ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۱ گرم توزین و در آون خشک شدند. خشک کردن نمونه ها در درجه حرارت ۷۰°C در مدت زمان ۲۴ ساعت کفایت نمود.

با استفاده از کروماتوگرافی از قبیل: کروماتوگرافی لایه نازک، کروماتوگرافی ستونی فاز معمولی و معکوس ، سفادکس و نیز کروماتوگرافی مایع تحت فشار بالا((HPLC)، مواد جدا و خالص شد. سپس این ترکیبات توسط روش های مختلف اسپکتروسکوپی از قبیل 1H-NMR ، 13C-NMR ، MC و... مورد شناسایی قرار گرفتند.

برای آنالیز از دستگاه HPLC مدل Knaver,smartline 2600 و صفحات TLC با فاز ساکن سیلیکاژل (Riedel-deHaen-DC-CardsSIF, 0.2mm) استفاده شد.

در این تحقیق از روش پرکولاسیون جهت عصاره‌گیری استفاده شده است. ابتدا ماده جامد موردنظر بصورت قطعات خرد شده درآمده و مقدار معین حلال، در دوره زمانی یعنی حداقل سه روز در پرکولاتور در معرض حلال های مورد نظر قرار گرفت. مخلوط حاصل در نهایت صاف و تغلیظ گردید. پرکولاسیون معمولاً در دمای اتاق و با چند حلال متوالی انجام می شود. (صمصام شریعت، ۱۳۷۱). ورود ترکیبات آلی به حلال، از قانون انتشار تبعیت می کند و درصورتی که حلال مورد استفاده به چند قسمت تقسیم شود، عمل عصاره گیری در چند مرحله انجام می شود. در اینصورت نتایج و بازدهی نهایی بسیار بهتر از زمانی است که این عمل با همان مقدار حلال اما تنها در یک مرحله انجام شود (Vogel, 1954).

قطعات خرد شده جلبک*S. oligocystom* توسط حلال های

1 - Estrogenic activity
2 - Estradiol-17β

کلروفرم: متانول (۳:۱) طی روش پرکولاسیون در دمای اتاق تحت عصاره گیری قرار گرفتند، قطعات خرد شده جلبکی، سه بار و هر بار به مدت ۴۸ ساعت به ترتیب در معرض حلال های ذکر شده قرار گرفتند.از طرفی جلبک های خرد شده *N. zanardinii* در یک ظرف بزرگ شیشه ای ریخته شد و متانول به عنوان حلال استخراج کننده این گونه جلبکی به آن اضافه شد به نحوی که روی تمامی نمونه توسط متانول پوشانده شد. این عمل طی چهار دوره ی زمانی که هر دوره حدود ۴۸ ساعت به طول انجامید، تکرار شد. عصاره های حاصله پس از صاف شدن، توسط دستگاه خلأ دوار تغلیظ و توسط فریز درایر کاملاً خشک، توزین وتا زمان استفاده در یخچال نگهداری شد.

جهت ردیابی و جداسازی ترکیبات مورد نظر از کرماتوگرافی ستونی با فاز ساکن سیلیکاژل (فاز نرمال) و سفادکس LH-20 و HPLC Vertex column C18 (250 × 20 mm I.D.) استفاده شد. مانیتور کردن ستون به منظور دستیابی به جسم خالص توسط کروماتوگرافی لایه نازک (TLC) و معرف انیز آلدئید صورت پذیرفت. شناسایی و تعیین ساختار اجسام جدا شده به کمک روش های مختلف اسپکتروسکوپی انجام شد.

ابتدا با کمک TLC و استفاده از حلال های مختلف به عنوان فاز متحرک، کلروفرم به عنوان حلال مناسب انتخاب شد. ابتدا ۱۵۰ گرم از عصاره ی خشک شده، توزین گردید و با کمک متانول بر روی سیلیکاژل فاز نرمال (مش ۷۰-۳۵) بارگذاری[۳] شد و به ستون شیشه ای با ابعاد ۲۰×۱۰ سانتی متر که با سیلکاژل فاز نرمال (مش ۷۰-۳۵)پر شده بود، منتقل شد و کار شستشوی ستون با حلال های غیر قطبی تر(کلروفرم) تا قطبی تر (متانول) انجام گرفت.

محتویات فراکشن ها به وسیله TLC کنترل و دنبال شد. جهت ظاهر سازی لکه ها از معرف انیز آلدئید استفاده شد. محتویات ارلن‌های مشابه روی هم ریخته شد و در دستگاه تقطیر در خلاء دوار تغلیظ گردید. فراکشن های حاصله توسط دستگاه فریز درایر و یا دسیکاتور خلاء کاملاً خشک شدند.

فراکشنهای متعدد بدست امده خالص و سپس جهت جداسازی با HPLC با سیستم حلال و برنامه مناسب انتخاب گردیدند، سپس توسط روش‌های مختلف اسپکتروسکوپی مورد شناسایی قرار گرفتند.

نتایج

ترکیبات استروئیدی شناسایی شده در این دو گونه جلبک عبارتند از: کلسترول ، فوکوسترول ،اوستراسترول ، ۲۲-دهیدروکلسترول، 29-hydroperoxystigmasta-5,24(28)-dien-3β-ol، مخلوط 4(S)-hydroxy-24-vinylcholesterol و 24(R)-hydroxy-24-vinylcholesterol.

در گونه *Nizamudiinia zanardinii* فقط پنج ترکیب استروئیدی شناسایی شد.

مشخصات ترکیبات کلسترول و ۲۲ دهیدروکلسترول استخراج شده از در هر ۲ گونه جلبک مورد مطالعه:

مشخصات ظاهری: کریستالهای سفید و پودری شکل در TLC با فاز ثابت سیلیکاژل وفاز متحرک کلروفرم:اتیل استات(۹:۱) دارای R_f= ۰/۳۷ میباشد. ظهور لکه روی TLC با معرف انیس آلدئید و ایجادرنگ بنفش بوده است.

کلسترول: ترکیب کلسترول از جلبکهای مورد مطالعه با معرف انیس آلدئید اسید سولفوریک پس از حرارت دادن ایجاد رنگ بنفش نموده است که می‌توان دلیلی بر وجود ترکیب احتمالی استروئیدی باشد. گروه متیلی که در بالاترین میدان ظاهر شده مربوط به متیل موقعیت هجده هسته سیکلو پنتانو پرهیدروفنانترن و گروه متیل ظاهر شده در پایین‌ترین میدان (۱/۰۰ppm) مربوط به متیل موقعیت نوزده می‌باشد.

وجود پیک دو شاخه در ۰/۹۱ ppm با ثابت اثر اسپین (j)۶/۵ هرتز مربوط به گروه متیل موقعیت بیست و یک می‌باشد که به وسیله پروتون موقعیت بیست دو شاخه شده است. پیک مربوط به پروتون موقعیت سه در هسته اصلی استروئیدی در ۳/۵۰ ppm ظاهر شده است. به دلیل اینکه کربن این پروتون حاوی یک گروه هیدروکسیل می‌باشد در میدان پایین‌تر نسبت به بقیه‌ی پروتون‌های آلیفاتیک قرار گرفته است.

22 دهیدروکلسترول: بررسی طیف ^{1}H-NMR این ترکیب مشابه ترکیب قبل وجود پنج گروه متیل را نشان می‌دهد با این تفاوت که در این ترکیب متیل موقعیت بیست و یک به دلیل مجاورت با پیوند دو گانه در میدان پایین‌تری(عدد جا به جایی بزرگتر) نسبت به ترکیب قبل(کلسترول) وجود دارد. علاوه بر

1-Load

این مشابه کلسترول، پیک چند شاخه ظاهر شده در ppm ۳/۵۰ مربوط به پرتون کربن شماره سه که متصل به گروه هیدروکسیل است می‌باشد.

مشخصات ترکیب فوکوسترول استخراج شده از دو جلبک مورد مطالعه :

مشخصات ظاهری: کریستالهای سفید محلول در کلروفرم.

در TLC با فاز ثابت سیلیکاژل و فاز متحرک کلروفرم:اتیل استات (۹:۱) با فاز ثابت سیلیکاژل و فاز متحرک کلروفرم:اتیل استات (۹:۱) دارای R_f= ۰/۵۲ می‌باشد.

ظهور لکه روی TLC با معرف انیس آلدئید و ایجاد رنگ بنفش بوده است.

در بررسی طیف H-NMR ترکیب فوق وجود دو نوع پروتون پسوند دوگانه در ناحیهٔ ppm ۵/۱۸ و ۵/۳۶ppm مشخص می‌گردد. انتگرال هر دو نوع پروتون معادل یک می‌باشد. با توجه به اینکه پروتون با جابه جایی شیمیایی ۵/۳۶ مشابه کلسترول و دهیدروکلسترول بوده مربوط به پروتون شش اسکلت استروئیدی است. گروه‌های متیل ترکیب فوق در طیف پروتون از ۰/۷۰ppm تا ۲/۵۹ppm دیده می‌شوند. در طیف ^{13}C-NMR این ترکیب وجود حداقل بیست و هشت نوع کربن با توجه به بیست و هشت پیک مشاهده شده در طیف مشخص می‌شود. غالباً به دلیل اینکه کربن شماره هفت و هشت در طیف استروئیدها جا به جایی شیمیایی یکسانی دارد، و این مسئله در طیف ترکیب مذکور و به صورت افزایش ارتفاع این پیک مشخص گردیده است. به همین دلیل ترکیب مذکور بیست و نه کربنه می‌باشد.

پیوند دوگانه موجود در هسته اصلی استروئیدی (کربن‌های پنج و شش در جا به جایی شیمیایی ppm ۱۲۱/۷، ppm ۱۴۰/۷) دیده می‌شود که به ترتیب مربوط به کربن شش و پنج می‌باشد پیوند دوگانه دیگر که مربوط به زنجیر جانبی بوده در ppm ۱۴۷/۰ و ppm ۱۱۵/۵ ظاهر شده که به ترتیب مربوط به کربن شماره بیست و چهار و بیست وهشت می‌باشد.

تفسیر ترکیب اوستراسترول استخراج شده از جلبک *S. oligocystum* :

مقایسه طیف Mass ترکیب حاضر با منابع موجود مشخص می‌سازد که این ترکیب اوستراسترول (کالیناسترول) می‌باشد (Goad and Alkihisa 1997). پیک‌های اصلی طیف Mass آن به صورت زیر است:

۲۱۳، ۲۲۹، ۲۵۶، ۲۷۱ ، ۲۸۵، ۲۸۷، ۲۹۷، ۲۹۹،

طیف پروتون و کربن این جسم ترکیب ساختمان اوستراسترول را تأیید می‌کند.

تفسیر طیف های ترکیب دو اپی مر 24(R)-hydroxy-24-vinylcholestrol و 24(S)-hydroxy-24-vinylcholestrol در هر دو گونه مورد مطالعه :

وجود گروه هیدروپروکسی (-OOH) آرایش فضایی کربن موقعیت ۲۴ را تحت تأثیر قرار داده و موجب پیدایش دو اپی مر به صورت مخلوط شده است. مشاهده ی دو پیک برای پروتون های موقعیت ۲۸ که هر یک به صورت دو تا دو شاخه (dd) در ppm ۵/۷۴ و ppm ۵/۷۵ نیز حضور دو اپی مر را ثابت می کند.

پروتون ها ی موقعیت ۲۹ نیز مشابه پروتون های موقعیت ۲۸ اما در ppm ۵/۱۵ تا ppm ۵/۲۷ ظاهر شده اند که مجدداً وجود دو اپی مر را تایید می کند. البته دلیل حضور این دو گروه پروتونی (موقعیت۲۸ و ۲۹) در میدان پایین، مجاورت با پیوند دو گانه می باشد. به علاوه انتگرال پروتون ها نیز حضور 24(R)-hydroxy-24-vinylcholestrol و 24(S)-hydroxy-24-vinylcholestrol را تأیید می کند.

تفسیر طیف جرمی ترکیب 24(R)-hydroperoxy-24-vinylcholestrol و 24(S)-hydroperoxy-24-vinylcholestrol **(مخلوط دو اپی مر) در هر دو گونه مورد مطالعه:**

طیف جرمی ترکیب مذکور با الگوی شکسته شدن استروئیدها مقایسه شد. مطابق این الگو، جدا شدن زنجیر جانبی[4]، پیکی را در ۲۷۳m/z ایجاد می کند. سپس این قطعه یونی با از دست دادن پروتون، پیکی را در ۲۷۲m/z به وجود آورده که بلند ترین پیک ظاهر شده در طیف جرمی تر کیب مذکور است. این قطعه یونی نیز ضمن از دست دادن یک گروه هیدروکسی به جرم amu۱۷ ، پیکی را در ۲۵۵m/z تولید می کند. براساس شواهد طیف سنجی ساختار ترکیب 5NZ

[1]-Side chain(sc)

شناسایی شد. ترکیب مذکور، مخلوطی از دو اپی مر : 24(R)-hydroperoxy-24-vinylcholestrol و 24(S)-hydroperoxy-24-vinylcholestrol است.

بحث

در مطالعه حاضر بررسی فیتوشیمیایی منجر به استخراج دو استروییید به نام های کلسترول و ۲۲دی هیدرو کلسترول از هر دو جلبک مورد مطالعه *Nizamudiinia zanardinii* و *S.oligocystum* گردید.

در بررسی طیف C-NMR [۱۳] این ترکیب کلسترول و ۲۲ دهیدروکلسترول وجود بیست و شش پیک که نشانه وجود بیست و شش نوع کربن در ساختار این ترکیب است. با توجه به اینکه جا به جایی شیمیایی کربن‌های موقعیت هفت و هشت یکسان می‌باشد وجود بیست و هفت کربن در ساختار ترکیب تائید می‌شود.

با توجه به یافته‌های H-NMR[1] و C-NMR [۱۳] مشخص می‌شود که این ترکیب استروئیدی حاوی یک پیوند دو گانه و یک گروه هیدروکسیل و پنج گروه متیل می‌باشد با مقایسه اطلاعات بدست آمده از طیف کربن و پروتون NMR و با توجه به منابع موجود ساختمان زیر با نام کلسترول برای این ترکیب به اثبات می‌رسد. (Goad & Alkihisa, 1997).

همچنین در مطالعه‌ای که توسط Hayee-Memon و همکاران (۱۹۹۹) در زمینه فیتوشیمیایی بر روی جلبک *G.foliifera* انجام شد منجر به جداسازی سه استروییید: کلسترول و ۲۲دی هیدرو کلسترول و دموسترول شد.

طیف C-NMR [13] این ۲۲ دهیدروکلسترول وجود بیست و هفت پیک کربن را مشابه کلسترول نشان می‌دهد بنابراین ساختار شیمیایی این ترکیب حاوی بیست و پنج کربن می‌باشد. کربن موقعیت سه در این ترکیب استروئیدی به دلیل حضور گروه هیدروکسیل روی آن نسبت به بقیه‌ی کربن‌ها در میدان پایین‌تری ظاهر شده و در ppm ۷۱/۸ دیده می‌شود. مشابه کلسترول پیک‌های ppm ۱۴۰/۷ و ppm ۱۲۱/۷ مربوط به پیوند دوگانه داخل حلقه B (کربن‌های پنج و شش) می‌باشد. علاوه بر آن پیوند دوگانه دیگری در موقعیت کربن‌های بیست و دو و بیست و سه با جا به جایی شیمیایی ppm ۱۳۸/۱ و ppm ۱۲۶/۲ در این ترکیب مشخص است. مقایسه طیف کربن جسم فوق با منابع، نشان می‌دهد که ساختار شیمیایی این ترکیب ۲۲- دهیدروکلسترول است (Goad & Alkihisa, 1997).

در انجام این تحقیق از مخلوط حلال کلروفرم- متانول (۱-۳) جهت عصاره گیری *S. oligocystum* استفاده شد. سپس به دو فاز آبی و اتیل استاتی جهت جدا کردن ترکیبات قطبی و غیر قطبی دکانته شد. که این روش عصاره گیری مشابه روش (Hayeememon *et al*., 1996).

در طیف C-NMR[13] از *Nizamudiinia zanardinii* وجود ۲۷ پیک مشهود است که با توجه به همپوشا نی پیک های مربوط به کربن های ۷ و ۸ ونیز کربن های ۴ و ۱۳ ، وجود ۲۹ کربن در ساختار این ترکیب پیشنهاد می شود.با مقایسه طیف پروتون و کربن ترکیب حاضر با منابع مشخص می‌شود که این ترکیب معروف به فوکوسترول (stigmasta-5,24-dien-3βo) است (Alkihisa & Goad, 1997).

در مطالعه حاضر جداسازی فوکوسترول از عصاره اتیل استاتی *S.oligocystum* طی مراحل کروماتوگرافی ستونی با فاز سیلیکاژل نرمال و HPLC انجام شد. در جهت جداسازی فوکوسترول از جلبک دریایی *Pelvetia siliquosa* انجام شد از عصاره هگزان- متانول(۵-۱) و ستون کروماتوگرافی سیلیکاژل استفاده شد. سپس اثر آنتی اکسیدانی و آنتی دیابتیک فوکوسترول استخراج شده مورد بررسی قرار گرفت و اثرات آنتی اکسیدانی و آنتی دیابتیک قابل توجهی از خود نشان داد (Sanghyun *et al*., 2003) .

با توجه به نتایج درصد عصاره های مختلف جلبک *Sargassum oligocystum* میزان عصاره کلروفرم-متانول(۳:۱) بسیار اندک بوده و این مطلب نشان دهنده این است که ترکیبات غیر قطبی در این جلبک نسبت به ترکیبات قطبی اندک می باشد. زیرا غالب ترکیبات جلبکها پلی ساکاریدها، آگار و کاراجینان و ترکیبات قطبی دیگر می‌باشد که این ترکیبات بیشتر حجم جلبک را تشکیل می دهد. زیرا بیشتر حجم این جلبک را نیز انواع پلی ساکاریدها از جمله آلژینات تشکیل می‌دهد.

تحقیقات مشابه زیادی انجام گرفته و مشتقات استخراج شده ترکیبات این پروژه را تایید می نماید از جمله استرول‌های گزارش شده از جلبک‌های قرمز می‌توان به کلسترول

(Cholestrol)، دسمواسترول (Desmosterol)، و بتا سیتواسترول و از جلبک‌های قهوه‌ای فوکوسترول، (Fucosterol)، سارینگوسترول ۲۲ متیلن کلسترول، سارگاسترول اشاره کرد. (Paterson 1971, 1991).

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از کلیه همکاران در مرکز تحقیقات شیلاتی آبهای دور، چابهار و بخش زیست فنآوری و فرآوری آبزیان موسسه تحقیقات علوم شیلاتی تهران که در تهیه نمونه و هماهنگیهای لازم جهت اجرای این پروژه همکاری نمودند، صمیمانه تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

صمصام شریعت. ه.، ۱۳۸۶.عصاره گیری و استخراج مواد مؤ موثره گیاهان داروئی. مانی ۲۰: ۳۳-۱۰.

Abbott, I.A. 1995. A decade of species of *Gracilaria* (*sensu lato*). *In*: *Taxonomy of Economic Seaweeds*. (Abbott, I.A. Eds) 5: 185-195. La Jolla, California: California Sea Grant College System.

Agarwal M, Hao Y, Kapoor A, Dong C-H, Fujii H, Zheng X. and Zhu J-K., 2006. A R2R3 Type MYB Transcription Factor Involved in the Cold Regulation of CBF Genes and Acquired Freezing Tolerance. Journal of Biological Chemistry 281: 37636-37645

Dixon, R. A. 2004. Phytoestrogens. Annual Review of Plant Biology, 55: 225- 261

Fatih Yildiz, 2005. Phytoestrogens In Functional Foods. CRC Press.

Goad L.J. and Alkihisa T., 1997. Analysis of sterol ,Blackie academic and prophessional, London

Hayee-Memon, A. and Shameel, M., 1996. A taxonomic study of some red algae commonly growing on the coast of Karachi. Pakistan Journal of Marine Sciences 5:113-137.

Hayee-Memon A. and Shameel M., 1999. Fatty acid composition of *Sebdenia flabellala.* (Gigartinales, Rhodophyta). Pakistan Journal of Marine. Biology 5(1): 77-82.

Kaladharan, P. and Kaliaperumal, N., 1999. Seaweed Industry in India. NAGA, 22 (1):11-14.

Kinghorn, A.D., 2001. Journal of. Pharm Pharmacol., 53, 135.

Ostlund R.E. Jr, Racette S.B. and Stenson W.F., 2003. Inhibition of cholesterol absorption by phytosterol-replete wheat germ compared with phytosterol-depleted wheat germ. Am J Clin Nutr.77(6):1385-1389.

Patterson G.W., 1971. The distribution of sterols in algae.Lipids.6(2):120-127

Patterson G.W., 1991. Sterols of Algae. Chapter 5, Book: Physiology and biochemistry of sterols.

Pilsakova L., Riecansky I., Ostatnikova D. and Jagla F., 2009. Missing evidence for the effect one-week phytoestrogen-rich diet. Neuro endocrinology letters 30: 125-130.

Pilsakova L, Riecansky I. andJagla F., 2010. The physiological actions of isoflavone toestrogens, Physiological Research. 59: 651-664.

Sanghyun L., Yeon Sil L., Sang Hoon J., Sam Sik K. and Kuk Hyun Sh., 2003. Anti-oxidant activities of fucosterol from the marine algae*Pelvetia siliquosa* . Archives of Pharmacal Research. 26(9): 719-722.

Vogel S., 1954. Blütenbiologische Typen als Elemente der Sippengliederung. Botany Study 1:1-338.

Extraction and Identification steroids in two species marine algae, *Sargassum oligocystum* and *Nizamudiinia zanardinii* in Persian Gulf and Oman Sea

Jamili SH.[(1)*]; Gohari A.R.[(2)], Saeidnia S.[(3)]; Permeh P.[(4)]; Firoozi J.[(5)]; Gharanjik B.M. [(6)] and Sadrian M.[(7)]

shahlajamili45@yahoo.com

1,7-Iranian Fisheries Research Organization, Tehran, Iran
2,3-Medicinal Plants Research Center, Faculty of Pharmacy, University of Medical Sciences, Tehran, Iran
4,5-Department of Marine Biology , Science and Research Branch, Isalmic Azad University, Tehran, Iran
6-Off-Shore Waters Research Center, Chabahar, Iran

Received: June 2013 Accepted: October 2013

Keywords: Brown Algae, Algal extract, Chemical components, Iran

Abstract

Sargassum oligocystum and *Nizamudiinia zanardinii* are the most abundant algae distributed in the north of Persian Gulf and Oman Sea. In this study after sampling and preparation of *S. oligocystum* by Chroform-Etanol (3-1) solvent and *N. zanardinii* by methanol has been extract. Separation and purification of the compounds was carried out using thin layer, general and inverse column chromatography, Cephadex and high-performance liquid chromatography (HPLC).. Structural elucidation of the constituents was based on the data obtained from H-NMR, 13C-NMR, HSQC, HMBC, DEPT and Cephadex LH-20. The steroids compounds separated from above algae were identified as 22-dehydrocholesterol (1) cholesterol (2) fucosterol (3) 29-hydroperoxystigmasta-5,24(28)-dien-3β-ol (4) 24-hydroperoxy-24-vinylcholesterol (5) a mixture of 24(S)-hydroxy-24-vinylcholesterol (6) and 24(R)-hydroxy-24-vinylcholesterol (7) and ostreasterol (8) based on their spectral data and from comparison with those previously reported in the literature.

*Corresponding author