CORE
Metadata, citation and similar papers at core.ac.uk
Provided by Aquatic Commons

استخراج و شناسایی استرول های جلبک قهوه ای *Padina boergesenii* سواحل چابهار

شهلا جمیلی[۱]*، احمدرضا گوهری کاخکی[۲]، سودابه سعیدنیا[۲]، پریسا پرمه[۳]

* shahlajamili45@yahoo.com

۱-موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران
۲-مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه علوم پزشکی تهران
۳-دانشکده علوم و فنون دریایی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران

تاریخ دریافت: بهمن ۱۳۹۳ تاریخ پذیرش: تیر ۱۳۹٤

چکیده

جلبک قهوه ای *Padina boergesenii* از فراوان ترین جلبکهای سواحل شمالی دریای عمان و خلیج فارس میباشند. در این تحقیق جلبک قهوه ای مذکور بعد از جمع آوری و آماده سازی اولیه توسط حلال‌های کلروفرم- متانول (۱-۳) و متانول مورد عصاره گیری قرار گرفت. 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 فاز نرمال و سفادکس LH-20 ترکیبات استروئیدی: کلسترول ، فوکوسترول ، ۲۲- دهیدروکلسترول، بتا- سیتواسترول ، استیگما استرول، اوستراسترول ، دو اپیمر هیدروکسی استرول جداسازی و شناسایی شدند.

لغات کلیدی : جلبک قهوه ای، *Padina boergesenii* ، ترکیبات استروئیدی، دریای عمان

*نویسنده مسئول

مقدمه

بعضی از موجودات زنده خصوصاً گیاهان، طیف وسیعی از ترکیباتی موسوم به متابولیت‌های ثانویه را تولید می‌کنند. گیاهان برای بیوسنتز این مواد انرژی زیادی را به کار می-برند. در مفهوم کلی، متابولیت‌های ثانویه ترکیباتی آلی هستند که نقش ضروری در رشد و نمو موجود زنده ندارند. بعضی از این ترکیبات به عنوان علف‌کش و حشره‌کش در صنعت استفاده می‌شوند و دسته بزرگی از متابولیت‌های ثانویه کاربرد دارویی و پزشکی دارند.

متابولیت‌های ثانویه از بیوسنتز متابولیت‌های اولیه به دست می‌آیند و به عنوان ترکیبات فرعی و انتهایی متابولیسم اولیه در نظر گرفته می‌شوند. معمولا این ترکیبات در فرآیندهای متابولیسمی وارد نمی‌شوند. مهمترین متابولیت‌های ثانویه آلکالوئیدها، فنولیک‌ها، روغن‌های ضروری، استروئیدها، لیگنین‌ها، تانن‌ها، فلاوونوئیدها می‌باشند (Esfahani, 2005).

آلکالوئید استروئیدها یکی از مهمترین ترکیبات آلی نیتروژن دار هستند که داروها و سموم زیادی از آنها ساخته شده است. این مواد بطور طبیعی در گیاهان، میکروب‌ها و موجودات مختلف، بیوسنتز شده و از آنها استخراج می‌شوند. از بارزترین متابولیت‌های ثانویه که میتوان به آن اشاره نمود فیتواسترول‌ها یا فیتواستروژن‌ها هستند (Chiechi, 1999; Lof & Weiderpass, 2006; Jefferson *et al*., 2007).

این ترکیبات از نظر ساختمانی و عمل شبیه ۱۷- بتا استرول هستند و یا اینکه اثراتی شبیه استروژنها را ایجاد می نمایند(Knight & Eden, 1995). فیتواستروژن‌ها آگونیست‌های ضعیف استروژن می‌باشند.(Dixon, 2004). فیتواستروژن‌های ایزوفلاونوئید به دلیل تشابهات مولکولی با ۱۷ بتا - استرادیول در متابولیسم هورمون‌های استروئیدی دخالت می‌کنند. همچنین ایزوفلاون‌ها قادر به تغییر الگوی سنتز و یا متابولسیم هورمون‌های درون ریز هستند (Pilsakova *et al*., 2009 and 2010).

فیتواستروژن‌ها در گیاهان مختلفی از جمله غلات، علوفه‌ها و جلبک‌های دریایی وجود دارند که مقدار آن براساس محل جغرافیایی و سال رشد گیاه متفاوت است. جلبک‌ها به خصوص جلبک‌های قهوه‌ای از جمله ارگانیسم‌های دریایی هستند که امروزه اثرات درمانی نظیر آنتی دیابتیک، ضدسرطان. کاهش کلسترول خون و غیره مورد توجه خاصی قرار گرفته است و تاکنون ترکیب های متعددی از جمله استروئیدها از آن‌ها استخراج شده است (آزادبخت، ۱۳۸۵). یکی از موارد استفاده افزودن استرول‌های جلبکی به رژیم غذایی کاهش میزان کلسترول پلاسما می باشد(جمیلی و همکاران، ۱۳۹۲).

در ایران جلبک های دریایی در سواحل جنوبی کشور بویژه در سواحل سیستان و بلوچستان (چابهار) به وفور یافت می شوند که بر اساس تقسیم بندی گیاه شناسان از هر سه گروه جلبک های سبز یا کلروفیتا، جلبک های قهوه ای یا فیتوفیتا و جلبک های قرمز یا رودوفیتا در این منطقه وجود دارند (Basson, 1992).

جلبک پادینا (*Padina*) از گروه جلبکهای قهوه‌ای بوده و تاکنون حدود ۸۰ گونه از جنس پادینا در سطح دنیا شناسایی شده است. محل زیست این جلبک دریایی در نواحی جزر و مدی عمق صفر تا ۱۰ متری آبهای گرم گزارش شده و بدلیل شکل برگ (بادبزنی یا Fan shape)، اندازه و رنگ خاص آنها براحتی از سایر جلبکهای دریایی دیگر قابل شناسایی هستند در سواحل شمالی خلیج فارس ۶ گونه از جنس پادینا از جمله *Padina borergesenii* تاکنون شناسایی شده است (Basson, 1992; Abbas & Shameel, 2013; Amini *et al*., 2013).

هدف از این تحقیق، جداسازی و شناسایی استروئیدها موجود در جلبک *Padina boergesenii* به منظور تهیه داروهای مناسب می باشد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری جلبک *Padina boergesenii* از سواحل دریای عمان (استان سیستان و بلوچستان، چابهار) در پاییز و اوایل زمستان سال ۱۳۹۰ صورت گرفت (شکل ۱). سپس در آزمایشگاه نمونه ها به تفکیک در تشت ریخته و بوسیله آب شیرین شسته شده و از مواد زائد و اپی فیت جدا شدند. شناسایی اولیه جلبک با استفاده از خصوصیات ظاهری صورت گرفته و شناسایی نهایی با استفاده از کیت کلیدی موجود (Borgesen,1939; Tseng, 1983) . قرار

گرفت. جلبک‌ها توسط ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۱ گرم توزین و در سایه خشک شدند.

شکل ۱: نمونه جمع آوری شده از جلبک *Padina boergesenii* از سواحل چابهار

فرآیند عصاره گیری در آزمایشگاه گروه فارماکوگنوزی دانشکده داروسازی دانشگاه تهران بخش بیرونی هرباریوم به منظور جدا کردن ترکیبات حل شده در یک محلول و یا خارج کردن برخی ترکیبات از یک مخلوط جامد صورت گرفت. در این تحقیق از روش پرکولاسیون جهت عصاره‌گیری استفاده شده است. ابتدا جلبک‌های موردنظر بصورت قطعات خرد شده درآمده و مقدار معین حلال، در پرکولاتور در معرض حلال‌های مورد نظر قرار گرفت. مخلوط حاصل در نهایت صاف و تغلیظ گردید. پرکولاسیون معمولاً در دمای اتاق و با چند حلال متوالی انجام شد (صمصام شریعت، ۱۳۸۶). ورود ترکیبات آلی به حلال، از قانون انتشار تبعیت می کند، ازآنجاییکه حلال مورد استفاده به چند قسمت تقسیم شد، عمل عصاره گیری در چند مرحله انجام گرفت (Vogel, 1954).

قطعات خرد شده جلبک *Padina boergesenii* توسط حلال های 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 در یک ظرف بزرگ شیشه ای ریخته شد و متانول به عنوان حلال استخراج کننده به آن اضافه شد به نحوی که روی تمامی نمونه توسط متانول پوشانده شد (جدول ۱). 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، سپس عصاره بدست آمده توزین و تا زمان استفاده در یخچال نگهداری شد.

جدول ۱: فراکسیون های حاصل از شستشوی۳۰ گرم عصاره بر روی ستون سیلیکاژل اولیه

نام فراکسیون	وزن فراکسیون(g)	شماره ارلن ها	نسبت حلالها
A	۷۰۰/۵	۱-۵	دی کلرومتان ۱۰۰٪
B	۸۷۷/۰	۶-۲۰	دی کلرومتان ۹۸٪ اتیل استات
C	۴۰۰/۳	۲۱-۳۰	دی کلرومتان ۹۵٪ اتیل استات
D	۲۰۰/۲	۳۱-۵۵	دی کلرومتان -اتیل استات (۵:۵)
E	۲/۲۱۷	۵۶-۶۰	دی کلرومتان ۳۰ اتیل استات ۷۰
F	۸/۸۲۸	۶۱-...	دی کلرومتان ۱۰

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. محتویات فراکشن ها به وسیله TLC کنترل و دنبال شد. جهت ظاهر سازی لکه ها از معرف انیز آلدئید استفاده شد.

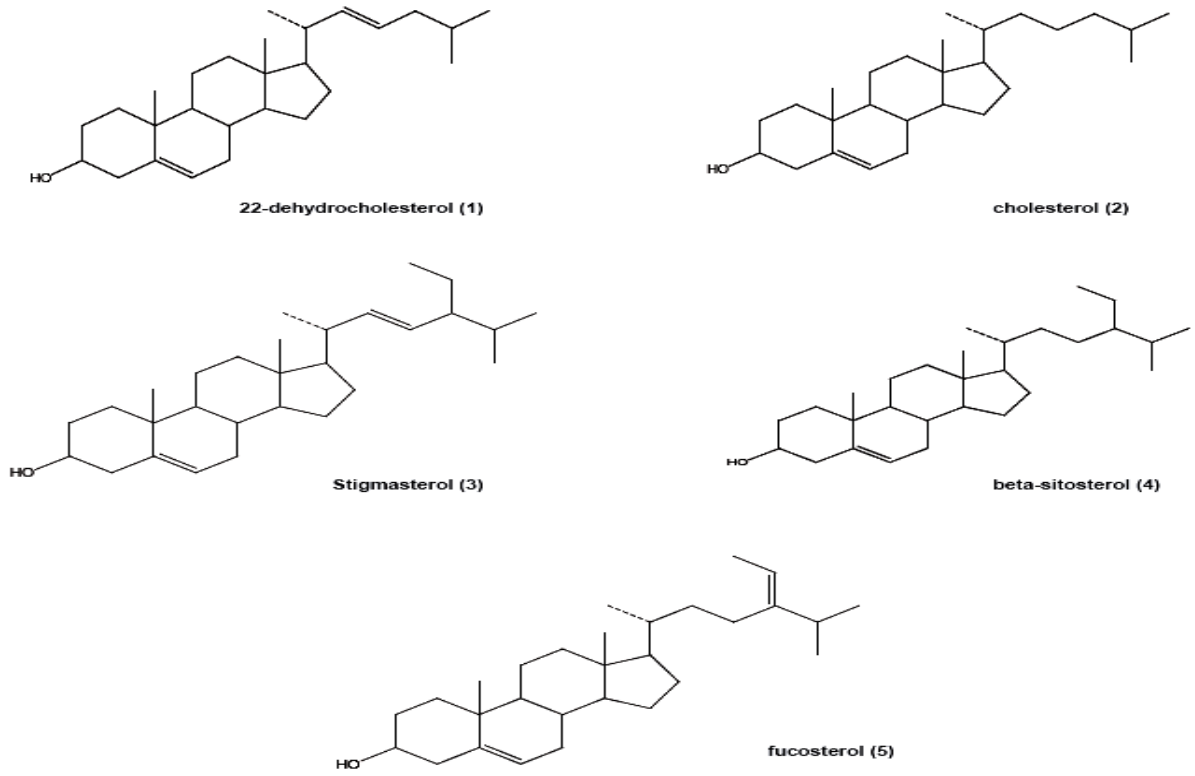
ابتدا با کمک TLC و استفاده از حلال های مختلف به عنوان فاز متحرک، کلروفرم به عنوان حلال مناسب انتخاب شد. ابتدا ۱۵۰ گرم از عصاره ی خشک شده، توزین گردید و با کمک متانول بر روی سیلیکاژل فاز نرمال (مش ۷۰-۳۵) بارگذاری شد سپس به ستون شیشه‌ای با ابعاد 20cm×10cm که با سیلکاژل فاز نرمال (مش ۷۰-۳۵) پر شده بود، منتقل شد و کار شستشوی ستون با حلال‌های غیر قطبی تر(کلروفرم) تا قطبی تر (متانول) انجام گرفت. محتویات ارلن های مشابه به یکدیگر اضافه شده 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 آمده خالص و سپس جهت جداسازی دستگاه HPLC مدل Knaver,smartline 2600 و صفحات TLC با فاز ساکن سیلیکاژل (Riedel-deHaen-DC-CardsSIF, 0.2mm) با سیستم حلال و برنامه مناسب انتخاب گردید، سپس توسط روش‌های مختلف اسپکتروسکوپی مورد شناسایی قرار گرفتند.

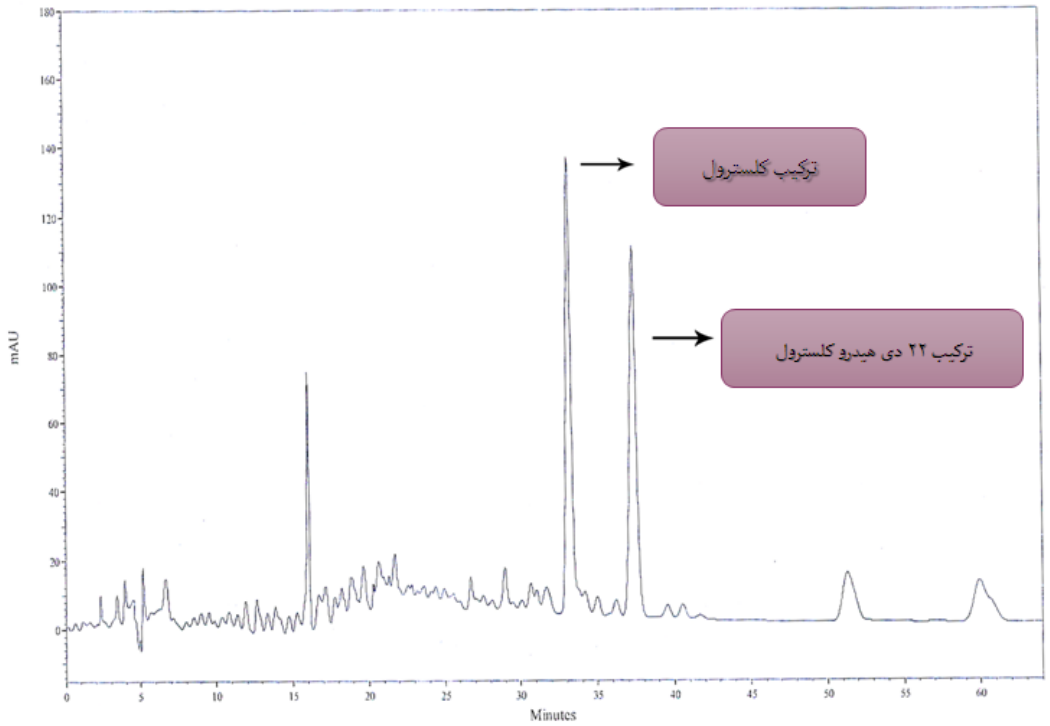
نتایج

نتایج حاصل از این تحقیق نشان می دهد ترکیبات استروئیدی شناسایی شده در *Padina borergesenii* عبارتند از: کلسترول، فوکوسترول، ۲۲- دهیدروکلسترول، بتا-سیتواسترول، استیگما استرول، اوستراسترول، دو اپیمر هیدروکسی استرول.

شکل ۲ و ۳ ساختمان شیمیایی مهمترین استروئیدهای موجود در جلبک جنس پادینا را نشان میدهد.



شکل ۲: ساختمان شیمیایی ۵ ترکیب اصلی و شاخص استروئیدی موجود در جلبک *Padina boergesenii*



شکل ۳: کروماتوگرام دو ترکیب اصلی کلسترول و ، ۲۲- دهیدروکلسترول در عصاره جلبک *Padina boergesenii*

مشخصات ترکیبات کلسترول و ۲۲ دهیدروکلسترول استخراج شده از گونه *Padina boergesenii*

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 (۱/۰۰ ppm) مربوط به متیل موقعیت نوزده می‌باشد.

وجود پیک دو شاخه در ۰/۹۱ ppm با ثابت اثر اسپین ۶/۵ j 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 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 (جدول ۲).

جدول ۲: مشخصات طیف NMR ترکیب ۲۲- دهیدروکلسترول در گونه *Padina boergesenii*

شماره کربن	C-NMR $\delta(ppm)$	H-NMR $\delta(ppm)$
۱	۳۷/۲	-
۲	۳۱/۶	-
۳	۷۱/۸	۳/۵۰(m, 1H)
۴	۴۲/۲	-
۵	۱۴۰/۷	-
۶	۱۲۱/۷	۵/ ۳۰(m,1H)
۷	۳۱/۸	-
۸	۳۱/۸	-
۹	۵۰/۱	-
۱۰	۳۶/۵	-
۱۱	۲۱/۱	-
۱۲	۳۹/۷	-
۱۳	۴۲/۲	-
۱۴	۵۶/۸	-
۱۵	۲۴/۷	-
۱۶	۲۸/۲	-
۱۷	۵۵/۹	-
۱۸	۱۱/۸	۰/ ۶۹(s, 3H)
۱۹	۱۹/۳	۱/ ۰۰(s, 3H)
۲۰	۴۰/۱	-
۲۱	۲۰/۸	۱/۰۰(m , 3H)
۲۲	۱۳۸/۱	۵/۱۸ (m , 1H)
۲۳	۱۲۶/۲	-
۲۴	۴۱/۹	-
۲۵	۲۸/۶	-
۲۶	۲۲/۳	۰/۸۶ (m, 3H)
۲۷	۲۲/۲	۰/۸۸ (m, 3H)

بحث

جداسازی و خالص سازی ترکیبات اصلی براساس کرماتوگرافی ستونی با فاز ساکن سیلیکاژل (فاز نرمال) و سفادکس LH-20 و HPLC، باعث شد که هفت استرئید اصلی در گونه *P. boergesenii* شناسایی گردد. ساختمان شیمیایی این ترکیبات براساس نتایج حاصل از H-NMR, ^{13}C-NMR, DEPT and Mass spectroscopy انجام گرفت. در انجام این تحقیق از مخلوط حلال کلروفرم- متانول(۱-۳) جهت عصاره گیری *P. boergesenii* 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 هاییممون و شامیل بود. (Hayee-Memon & Shameel, 1996).

ترکیبات جدا شده از این گونه شامل (۱)کلسترول، (۲)فوکوسترول، (۳) ۲۲- دهیدروکلسترول، (۴) بتا-سیتواسترول، (۵)استیگما استرول، (۶)کالیناستروول، (۷)دو اپیمر هیدروکسی استرول براساس طیفهای بدست آمده و در مقایسه با سایر گزارشات اعلام می‌گردد (Fleury *et al*., 1994; Ganchevakamenarska *et al*, 2003; Goad & Akihisa, 1997; Gohari *et al*, 2008; Kurata *et al*, 1990;).

نتایج نشان میدهد که کلسترول و ۲۲-دهیدروکلسترول دو استرول اصلی این گونه میباشد. با توجه به یافته‌های ^{1}H-NMR و ^{13}C- NMR 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). طیف ^{13}C-NMR این۲۲ 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 ۷۱/۸ ppm دیده می‌شود. مشابه کلسترول پیک‌هایppm 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 شیمیاییppm 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-دهیدروکلسترل است (Goad & Alkihisa 1997).

علم بیوشیمی ثابت نموده است که کلسترول هسته مرکزی استروئیدها می‌باشد در گزارشات ارائه شده توسط سایر محققین مشخص گردیده است که در جلبک‌های قرمز کلسترول اصلی ترین استروئید می‌باشد که مقدار آن بطور معنی داری بیشتر از جلبک های قهوه ای میباشد (Saeidnia *et al*., 2012; Padmini & Sreenivasa, 1998). و این ترکیب در جلبک‌های قهوه ای از جمله جنس پادینا نیز مشاهده شد. همچنین در مطالعه ای که توسط هایممون و شامیل در زمینه فیتوشیمیایی بر روی جلبک *G. foliifera* انجام شد منجر به جداسازی سه استروییدِ: کلسترول و ۲۲دی هیدرو کلسترول و دموسترول شد (Hayee-Memon and Shameel, 1999).

فوکسترول نیز از استرولهای اصلی جلبک های قهواه‌ای است (Ganchevakamenarska *et al*., 2003) که در گونه *Padina boergesenii* نیز شناسایی و جداسازی شد معمولا این ترکیب اثر آنتی دیابتیک دارد و خوردن ۳۰ گرم/کیلوگرم در موش‌های مبتلا به دیابت باعث کاهش شدید غلظت گلوکز در سرم خون شده است (Lee *et al*., 2004). در مطالعه حاضر جداسازی فوکوسترول از عصاره اتیل استاتی *S. oligocystum* طی مراحل کروماتوگرافی ستونی با فاز سیلیکاژل نرمال و HPLC انجام شد. همچنین در مطالعه ای که توسط یونسیل و همکارانش 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 حضور فوکسترول در جلبک پادینا؛ میتوان این جلبک باارزش را برای داروهای آنتی دیابتیک معرفی نمود. بطور معمول حضور فوکسترول علاوه بر اثر آنتی دیابتیک، اثر آنتی اکسیدانی در جلبکهای دریایی را نیز تشدید و تایید می‌نماید(Lee *et al*., 2003).

استیگمااسترول و بتا- سیتواسترول دو استرول اصلی هستند که بطور وسیعی در شاخه گیاهان گزارش شده اند که در این تحقیق حضور آنها در جلبک پادینا نیز گزارش میشود. استرول‌های گیاهی برای جذب از طریق روده با کسترول خون رقابت می‌کنند بدین منظور باعث کاهش معنی داری در غلظت کلسترول پلاسما میشوند. نه تنها استیگما استرول بلکه بتا- سیتواسترول هردو در مهار بیوسنتز کلسترول گزارش شده اند.آزمایش روی موش های ویستار نشان داده است مصرف خوراکی استیگما استرول مانع از جذب کلسترول و سایر استرولهای گیاهی از روده شده است (Batta *et al* ., 2006).

یافته های گزارشات متعدد نشان می‌دهد استرول‌ها جزو ترکیبات اصلی جلبک‌های قهوه‌ای هستند ولی منطقی بنظر می‌رسد که نوع این ترکیبات تحت شرایط محیطی در گونه های متعدد متفاوت باشد. این ترکیبات جزو متابولیتهای ثانویه محسوب می شوند و متابولیت‌های ثانویه هر موجود زنده ای تحت تاثیر شرایط محیطی متغیر و یا به مشتقات مشابه تبدیل می شوند.

در این پروژه ثابت شد که گونه *Padina boergesenii* از جلبکهای قهوه‌ای که در سواحل شمالی خلیج فارس و دریای عمان در سواحل استان‌های بوشهر، هرمزگان و سیستان و بلوچستان وجود دارد بوفور سه ترکیب استرولی : کلسترول، ۲۲- دهیدروکسی کلسترول و فوکسترول وجود دارد و قابل استفاده در صنایع دارویی می‌باشد.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از کلیه همکاران در مرکز تحقیقات شیلاتی آب‌های دور-چابهار، آزمایشگاه گروه فرماکوگنوزی دانشکده داروسازی دانشگاه تهران بخش بیرونی هرباریوم و بخش زیست فنآوری و فرآوری آبزیان موسسه تحقیقات علوم شیلاتی تهران که به ترتیب در تهیه نمونه، انجام آزمایشهای لازم و هماهنگیهای لازم جهت اجرای این پروژه همکاری نمودند، صمیمانه تشکر و قدردانی میگردد.

منابع

آزاد بخت، م.، ۱۳۸۵. فیتواستروژن ها. فصلنامه گیاهان دارویی، ۱۰-۱ :(۲۱)۶.

جمیلی، ش.، گوهری کاخکی، ا.، سعیدنیا، س.، پرمه، پ.، فیروزی، ج.، قرنجیک، ب.م. و صدریان، م. ۱۳۹۲. استخراج و شناسایی استروئیدهای دو گونه از جلبک دریایی *Sargassum oligocystum* و *Nizamudiinia zanardinii* دریای عمان و خلیج فارس. مجله علمی شیلات ایران. ۲۳/۳۰ :(۳)۲۲.

صمصام شریعت. ه. ۱۳۸۶. عصاره‌گیری و استخراج مواد مؤثره گیاهان دارویی و روش‌های شناسایی و ارزشیابی آن‌ها. انتشارات مانی اصفهان، ۲۵۸ صفحه .

Abbas, A. and Shameel, M., 2013. Morpho-anatomical Studies on the Genus *Padina* (Dictyotales, Phaeophycota) from the Coast of arachi, Pakistan, Proceedings of the Pakistan Academy of Sciences, 50(1), 21–36.

Amini, F., Riahi, H. and Zolgharnain, H., 2013. Ribulose-1, 5-Bisphosphate Carboxylase/Oxygenase Gene Sequencing in Taxonomic Delineation of Padina Species in the Northern Coast of the Persian Gulf, (IRAN). Journal of the Persian Gulf (Marine Science) 4(3): 47-57.

Basson, P.W., 1992. Checklist of marine algae of the Persian Gulf. Journal of the

University of Kuwait (Science). 19: 217 – 232.

Batta, A.K., Xu, G., Honda, A., Miyazaki, T. and Salen, G., 2006. Stigmasterol reduces plasma cholesterol levels and inhibits hepatic synthesis and intestinal absorption in the rat. *Metabolism.* 55: 292-9.

Børgesen, F., 1939. Marine algae from the Iranian Gulf. In: Danish Scientific Investigations in Iran (K. Jessen and R. Sparck, eds.). Einar, Munksgaard. 1: 47-141.

Chiechi, L.M., 1999. Dietary phytoestrogens in the prevention of long-term postmenopausal diseases. International Journal of Gynecology & Obsterics. 67: 39-40.

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

Esfahani, K., 2005. The trend of using biotechnology in agriculture. 1st National Biotechnology and Biocatalysts Congress, Shahr-Rey, Iran.

Fleury, B.G., Pereira, M.V.G., Da Silva, J.R.R., Kaisin, M., Teixeira, V.L. and Kelecom, A., 1994. Sterols from brazilian marine brown algae. Phytochemistry, 37: 1447–1449.

Ganchevakamenarska, Z., Dimitrovadimitrova-konaklieva, S., Stefanov, K.L., and Popov, S.S., 2003. A comparative study on the sterol composition of some brown algae from the Black Sea. Journal of the Serbian Chemical Society, 68: 269–275.

Goad, LJ. and Akihisa, T., 1997. Analysis ofSterols. Blackie Academic and Professional, London. 375-6.

Gohari, A.R., Saeidnia, S., Hadjiakhoondi, A. and Honda, G., 2008. Isolation and identification of four sterols from oud. Journal of Medicinal Plants, 7: 47–55

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.

Jefferson, W.N., Pedilla-Banks, E. and Newbold, R.R., 2007. Disruption of the female reproductive system by the phytoestrogen genisrein. *Reproductive Toxicology,* 23: 308-316.

Knight, D.C. and Eden, J.A., 1995. Phytoestrogens -a short review. Maturitas *Journal of the climacteric & postmenopause*. 22: 167-175.

Kurata, K., Taniguchi, K., Shiraishi, K. and Suzuki, M., 1990. A C26 sterol from the brown algae *Eisenia bicyclis*. Phytochemistry, 29: 3678–3680.

Lee, S., Lee, Y.S., Jung, S.H., Kang, S.S. and Shin, K.H., 2003. Anti-oxidant activities of fucosterol from the marine algae *Pelvetica siliquosa.* Archives of Pharmacal Research. 26: 719-722.

Lee, Y.S., Shin, K.H., Kim, B.K. and Lee, S., 2004. Anti-Diabetic activities of fucosterol from *Pelvetia siliquosa.* Archives of Pharmacal Research . 27: 1120-1122.

Lof, M. and Weiderpass, E., 2006. Epidemiologic evidence suggests that dietary phytoestrogen intake is associated with reduced risk of breast, endometrial, and prostate cancers. Nutrition Research, 26: 609-619.

Padmini, P. and Sreenivasa, R.A.O., 1998. Biological investigations of Indian Phaeophyceae: 17. Seasonal variation of antibacterial activity of total sterols obtained from frozen samples of *Sargassum johnstonii* Setehell et Gardner. Seaweed Research Win. 20: 91-95.

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

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

Saeidnia, S., Permeh, P., Gohari, A.R. and Mashinchian- Moradi A., 2012. *Gracilariopsis persica* from Persian Gulf contains bioactive sterols. Iranian Journal of Pharmaceutical Research, 11(3): 845-849.

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

Sheu, J., Wang, G., Sung, P., Chiu, Y. and Duh, C., 1997. Cytotoxic sterols from the Formosan brown algae *Turbinaria ornata*. Planta Medica. 63: 571–572.

Tseng, C.K., 1983. Common seaweeds of China. Science Press. Beijing, 316p.

Vogel, S., 1954. Blütenbiologische typen als elemente der sippengliederung. Botanical Studies. 1: 1-338.

Extraction and Identification Sterols in Brown alga, *Padina boergesenii* in Chabahar Coasts

Jamili Sh. [(1)*]; Gohari Kakhki A.R.[(2)], Saeidnia S.[(2)] and Permeh P.[(3)]

* Shahlajamili45@yahoo.com

1-Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization, Tehran, Iran
2-Medicinal Plants Research Center, Faculty of Pharmacy, University of Medical Sciences, Tehran, Iran
3-Department of Marine Biology , Science and Research Branch, Isalmic Azad University, Tehran, Iran

Received: January 2014 Accepted: June 2015

Keywords: Brown Algae, *Padina boergesenii*، Steroids compounds, Oman Sea

Abstract:

Padina boergesenii is one of the most abundant brown algae distributed in the north of Persian Gulf and Oman Sea. In this study after sampling and preparation of *Padina boergesenii* by Chroform-Etanol (3-1) solvent and 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, ^{13}C-NMR, HSQC, HMBC, DEPT and Cephadex LH-20. The steroids compounds separated from above alga were identified as 22-dehydrocholesterol (1), cholesterol (2), fucosterol (3), β-sitosterol (4), stigmasterol (5), ostreasterol (6) and two epimer of hyroxyestrol(7), based on their spectral data and from comparison with those previously reported in the literature.

* Corresponding author