مجله علوم و فنون شیلات
نسخه ویژه خلیج فارس
دوره ۱۰ شماره ۲، بهار ۱۴۰۰، صفحات ۲۵۱ تا ۲۵۸

بررسی اثر ضد باکتریایی فرکشن حاوی ترکیب اسکوالین از کبد کوسه دم خالدار خلیج فارس *Carcharhinus sorrah* (Müller & Henle, 1839)

طاهره درداب[۱]، ایمان سوری نژاد[۲و۱*]، ملیکا ناظمی[۳]

۱- گروه شیلات، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران.

۲- گروه فناوری‌های نوین، پژوهشکده منطقه ای جنگل‌های حرا، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران.

۳- پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بندرعباس، ایران

چکـــیده

اسکوالین یک هیدروکربن تری‌ترپن غیراشباع و پیش‌ساز کلسترول و استروئیدها در گیاهان و جانوران است که دارای پتانسیل آنتی‌اکسیدانی می‌باشد. هدف از مطالعه حاضر، جداسازی اسکوالین از کبد کوسه دم خالدار خلیج فارس *Carcharhinus sorrah* و بررسی فعالیت ضدمیکروبی آن بود. ابتدا عصاره‌گیری از کبد با متانول۷۰٪ انجام شد و سپس فرکشن حاوی اسکوالین توسط ستون کروماتوگرافی با سیلیکاژل جداسازی گردید. شناسایی اسکوالین در فرکشن‌های استخراج شده از ستون سیلیکاژل با کروماتوگرافی لایه‌نازک و کروماتوگرافی گازی همراه با طیف سنجی جرمی (GC-MS) صورت گرفت. خواص ضد باکتریایی اسکوالین شناسایی شده با استفاده از روش رقت لوله‌ای به منظور تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی بررسی شد. تشخیص نمونه‌هایی از ترکیب اسکوالین استخراج‌شده توسط GC-MS بیانگر تایید حضور اسکوالین در کبد کوسه ماهی مورد مطالعه در این تحقیق بود. بررسی خواص ضد باکتریایی نشان داد که اسکوالین رشد سویه‌های باکتری‌های گرم‌منفی *Escherichia coli*، *Klebsiella pneumonia*، *Vibrio harveyi* و باکتری‌های گرم‌مثبت *Micrococcus roseus* و *Staphylococcus aureus* را مهار می‌کند که بر این اساس می‌تواند برای تولید ترکیبات ضدمیکروبی جدید مورد بررسی بیشتر قرار گیرد.

کـــلید واژه‌ها: اسکوالین، فعالیت ضدمیکروبی، خلیج فارس، *Carcharhinus sorrah*

نوع مقـاله

مقاله پژوهشی اصیل

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۱/۶

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۲/۲۰

تاریخ چاپ الکترونیکی: ۱۴۰۰/۳/۱۰

***نویسنده مسول:**
sourinejad@hormozgan.ac.ir

مقدمه

در طول دو دهه گذشته ترکیبات زیست فعال بسیاری از جانوران و گیاهان دریایی شناسایی شده است و تلاش‌های علمی بسیار زیادی نیز برای کشف ترکیبات ضدقارچی و ضدباکتریایی از موجودات مختلف دریایی در حال انجام است [۱]. یکی از منابع مهم اکولوژیکی و اقتصادی در خلیج فارس، ماهیان غضروفی به‌ویژه کوسه ماهیان هستند که با تنوع قابل ملاحظه‌ای در این منطقه یافت می‌شوند و متاسفانه در هنگام صیدهای ضمنی، بسیاری از آن‌ها به دام می‌افتند و پس از صید دور ریخته می‌شوند.

کوسه ماهیان دارای مواد بیولوژیکی فعال دریایی هستند و تعدادی از متابولیت‌های ثانویه از آن‌ها با کاربردهای دارویی و درمانی استخراج شده است. این ماهیان در راس هرم غذایی دریا و اقیانوس قرار دارند و به‌همین دلیل از تنوع غذایی بالایی برخوردارند. فیتوپلانکتون پایه و اساس زنجیره غذایی دریایی و تولیدکننده اصلی اسیدچرب امگا ۳ هستند و پس از آن ماهیان در بالای زنجیره غذایی دریایی دارای مقدار زیادی اسیدچرب اشباع نشده (PUFA)، استروئید و ویتامین در خود می‌باشد [۲]. از آنجا که کوسه‌ها یکی از شکارچیان برتر در زنجیره غذایی دریایی هستند، روغن

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-04-26]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1400.10.2.4.6]

کبد آن‌ها حاوی مقدار زیادی PUFA است. وجود اسیدهای چرب به‌عنوان مهمترین ترکیبات در کبد کوسه ماهیان ثابت شده است. از روغن کبد کوسه استفاده درمانی می‌شود و از آن برای قرن‌ها به‌عنوان یک درمان برای بهبود زخم و مراقبت‌های بهداشتی استفاده شده است. روغن کبد کوسه در سراسر جهان همچنین به‌عنوان یک مکمل غذایی برای تقویت سیستم ایمنی بدن و مبارزه با عفونت مورد استفاده قرار می‌گیرد. علاوه بر این، روغن کبد کوسه حاوی ویتامین‌ها، آنتی‌اکسیدان، آلکیل گلیسرول (alkyl glycerol)، اسکوالین (Squalene) و استروئیدها بوده و خواص بیولوژیک مهمی مانند ضد سرطان، ضد باکتری و ضد قارچ از آن گزارش شده است [۳ و ۴].

باکتری‌ها، یکی از عوامل شایع بیماری‌زا محسوب می‌شوند که معمولاً به‌منظور مهار آن‌ها باید از آنتی بیوتیک استفاده نمود. از طرفی باکتری‌های پاتوژن، پس از مدتی نسبت به آنتی بیوتیک مقاوم می‌گردند. اسکوالین یک هیدروکربن تری‌ترپن (triterpen) است که دارای ۳۰ اتم کربن و شش پیوند دوگانه است و جزء دسته‌ی اسید چرب امگا ۲ قرار می‌گیرد. اسکوالین پیش‌ساز تولید کلسترول و اسید صفراوی و استروئیدها در گیاهان و جانوران است [۵]. مطالعات تجربی نشان داده است که اسکوالین می‌تواند به طور موثر از تومورهای ژنتیکی پوست، کولون و تومور ریوی ناشی از مواد شیمیایی در جوندگان جلوگیری کند [۶].

گونه کوسه مورد مطالعه در تحقیق حاضر، کوسه دم خالدار خلیج فارس *Carcharhinus sorrah* (Müller & Henle, 1839) می‌باشد. خانواده *Carcharhinidae* یکی ازبزرگ‌ترین و مهم‌ترین خانواده‌های کوسه ماهیان در دنیا می‌باشد. در بین کوسه‌های دنیا، این خانواده با داشتن ۱۲ جنس و ۴۸ گونه سومین خانواده از لحاظ تنوع گونه‌ای به حساب آمده و در مناطق گرمسیری از لحاظ تنوع گونه‌ای، فراوانی و مقدار توده زنده، غالب می‌باشد. در این خانواده جنس *Carcharhinus* با داشتن ۲۹ گونه انتشار جهانی داشته و در آب‌های گرم و معتدله غالب هستند [۷]. در منطقه غرب اقیانوس هند، ۲۱ گونه از این جنس وجود دارد که ۱۳ گونه آن از خلیج فارس و دریای عمان گزارش شده‌اند و در این بین، ۱۱ گونه از جنس مزبور مربوط به آب‌های استان هرمزگان می‌باشند. با توجه به صید ضمنی این گونه در کنار صید ماهیان تجاری خلیج فارس و در نظر گرفتن اینکه تعداد زیادی از نمونه‌های صید شده در حین شکار می‌میرند بنابراین بر اساس وجود اسیدهای چرب و استروئیدهای ذخیره شده در کبد کوسه ماهیان، در مطالعه حاضر برای نخستین بار به استخراج فرکشن حاوی اسکوالین از کبد کوسه *C. sorrah* از خلیج فارس و بررسی اثرات ضد باکتریایی آن پرداخته شد.

مواد و روش‌ها

نمونه برداری از کوسه *C. sorrah*

نمونه‌های کوسه ماهی *C. sorrah* از صید ضمنی کشتی صیادی فردوس توسط تورکیسه ای کفروب (Bottom trawl) از آب‌های خلیج فارس و دریای عمان اطراف جاسک واقع در استان هرمزگان تهیه شد. بعد از شناسایی کوسه، کبد آن جدا شد و در دمای ۲۸- درجه سانتی گراد منجمد و به صورت فریز شده به آزمایشگاه زیست فناوری پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان منتقل شد.

آماده سازی و عصاره گیری از کبد

ابتدا کبد با آب مقطر شستشو داده شد و سپس به وسیله ی چرخ گوشت چرخ شد. نمونه‌های چرخ شده تا زمان استفاده در دمای ۲۸- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. عصاره‌گیری از نمونه‌های چرخ شده کبد کوسه ماهی با استفاده از حلال متانول-آب ۷۰:۳۰ انجام گرفت. ابتدا ۱۰۰ گرم از نمونه‌های چرخ شده به ارلن حاوی ۶۰۰ سی‌سی حلال متانول ۷۰٪ منتقل گردید. نمونه‌ها به مدت ۷۲ ساعت در آزمایشگاه به دور از تابش نور خورشید در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد به منظور جداسازی ترکیبات طبیعی قرار گرفتند. پس از ۷۲ ساعت محلول به دست آمده با کاغذ صافی واتمن شماره ۴۲ صاف شد تا ذرات معلق کبد کوسه ماهی از آن جدا شده و آنچه باقی ماند، حلال متانول-آب و ترکیبات آلی موجود در نمونه بود. عصاره به‌دست آمده به دستگاه روتاری (Heidolph, laborot 4000) منتقل گردید تا در دمای ۳۵ درجه سانتیگراد و دور ۱۴۵، حلال آن تبخیر و جدا گردد و تنها عصاره خالص باقی بماند [۸].

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-04-26]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1400.10.2.4.6]

جداسازی و شناسایی فرکشن حاوی اسکوالین از کبد کوسه با ستون کروماتوگرافی

عصاره متانول–آب تهیه شده از کبد کوسه ماهی به وزن ۱۰ گرم روی ستون کروماتوگرافی با طول ۷۰ سانتی متر و قطر داخلی ۱/۵ سانتی متر توسط پودر سیلکاژل مرک مخصوص کروماتوگرافی با کد ۱۰۷۷۳۴۱۰۰۰ با اندازه ۰/۲ تا ۰/۶ میلی متر قرار داده شد. سپس به‌منظور جداسازی ترکیبات موجود در عصاره با ان هگزان– اتیل استات– ان– بوتانول شست و شو داده شد. حجم حلال‌هایی که در هر نوبت اضافه می‌گردید ۵۰ میلی‌لیتر و حجم اجزای جمع‌آوری شده ۱۰ میلی‌لیتر بود [۹].

شناسایی فرکشن حاوی ترکیب اسکوالین

به منظور شناسایی فرکشن حاوی ترکیب اسکوالین، با استفاده از کروماتوگرافی لایه‌نازک (TLC) پوشیده شده با سیلیکاژل ۲۵۴F۶۰ مرک با کد ۱۰۵۵۵۴۰۰۰۱، لکه گذاری شد. سپس به منظور خشک شدن به مدت ۲۰ دقیقه در معرض هوا قرار داده شد و سپس به تانک کروماتوگرافی لایه نازک حاولی حلال‌های متانول– کلروفرم– ان بوتانول با نسبت‌های ۷۰:۲۰:۱۰ قرار داده شد. جهت جستجوی فرکشن حاوی اسکوالین از معرف وانیلین– اسید سولفوریک، به صورت محلول ۱ درصد وانیلین در اتانول و محلو ۵ درصد اسید سولفوریک اسید در اتانول به صورت اسپری روی صفحه کروماتوگرافی لایه نازک استفاده شد. پس از اسپری صفحات کروماتوگرافی لایه نازک در آون و در دمای ۱۱۰ درجه سانتی گراد به مدت ۱۰ دقیقه قرار گرفتند و تغیرات در نور مرئی بررسی شد [۱۰]. فرکشن‌هایی که لکه‌های آن به رنگ آبی در آمدند برای شناسایی نوع اسیدچرب به دستگاه GC-MS (مدل Agilent7000 Series Triple Quad GC/MS MainFrame؛ گاز کریر هلیوم ۹۹/۹۹ درصد،دکتور ۵۹۷۵C، ستون: Part number 19091s-436، طول ۶۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی متر، لایه داخلی ۰/۲۵ میکرومتر) در آزمایشگاه تحقیقاتی دانشگاه شهید بهشتی تزریق شد.

ارزیابی فعالیت ضد باکتریایی فرکشن حاوی ترکیب اسکوالین کبد کوسه

بررسی خواص ضدباکتریایی با استفاده از روش براث (Bacterial Broth Dilution Methods) به شرح زیر انجام گرفت:

سویه‌های باکتری *Escherichia coli*، *Staphylococcus aureus*، *Klebsiella pneumonia*، *Micrococcus roseus* و *Vibrio harveyi* از مرکز کلکسیون قارچ‌ها و باکتری‌های صنعتی ایران به صورت لیوفیلیزه تهیه شد. سپس هر کدام از سویه‌ها کشت اولیه داده شدند و به مدّت ۲۴ تا ۷۲ ساعت بر اساس میزان سرعت رشد باکتری‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد در انکوباتور قرار داده شدند تا از کلونی‌های تک به منظور انجام آزمایش استفاده شود. پس از رشد باکتری‌ها کلونی‌های تک ایجاد شده به لوله‌های آزمایش حاوی محیط کشت براث وارد نموده، سپس از فرکشن حاوی ترکیب اسکوالین با غلظت‌های ۲ تا ۲۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر که در محیط براث حل شده بود به لوله‌های فوق افزوده شد. برای در نظر گرفتن شاهد مثبت از آنتی بیوتیک‌های تتراسایکلین و آمپی سیلین استفاده شد و به عنوان شاهد منفی به یکی از لوله‌ها ماده فعّال بیولوژیک اضافه نگردید. در داخل یک لوله نیز تنها محیط کشت فاقد ماده موثره و باکتری قرار داده شد تا در صورت آلودگی محیطی خطای آزمایش مشخص گردد. سپس سر تمام لوله‌ها با پنبه بسته شد و در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتیگراد به مدّت ۲۴ ساعت قرار داده شد. پس از ۲۴ ساعت لوله‌های آزمایش از انکوباتور خارج شده و کدورت آن‌ها را مورد بررسی قرار گرفت.

به منظور سنجش توانایی فرکشن حاوی اسکوالین استخراج‌شده از کبدکوسه در از بین بردن باکتری‌ها، از خانه‌ی پلیتی که کدورت در آن‌ها مشاهده نشده بود به مقدار ۰/۰۵ میلی‌لیتر بر روی پلیت‌های محیط کشت جامد (نوترینت آگار) کشت خطی داده شد. سپس پلیت‌ها به انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد منتقل و به مدت ۲۴ ساعت نگهداری شدند. پس از سپری شدن این مدت کلونی‌های تشکیل شده (Colony Forming Unit (CFU: شمارش شد. در پلیت‌هایی که باکتری رشد کرده بود حاکی از آن است که عصاره و ماده‌مؤثره موردنظر تنها توانایی مهار رشد و تکثیر باکتری را دارد اما در پلیت‌هایی که هیچ‌گونه کلونی مشاهده نشد نشان‌دهنده آن است که عصاره و ماده‌مؤثره مورد نظر سبب مرگ باکتری شده است که این مقدار برابر با حداقل غلظت کشندگی می‌باشد [۱۱].

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-04-26]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1400.10.2.4.6]

نتایج

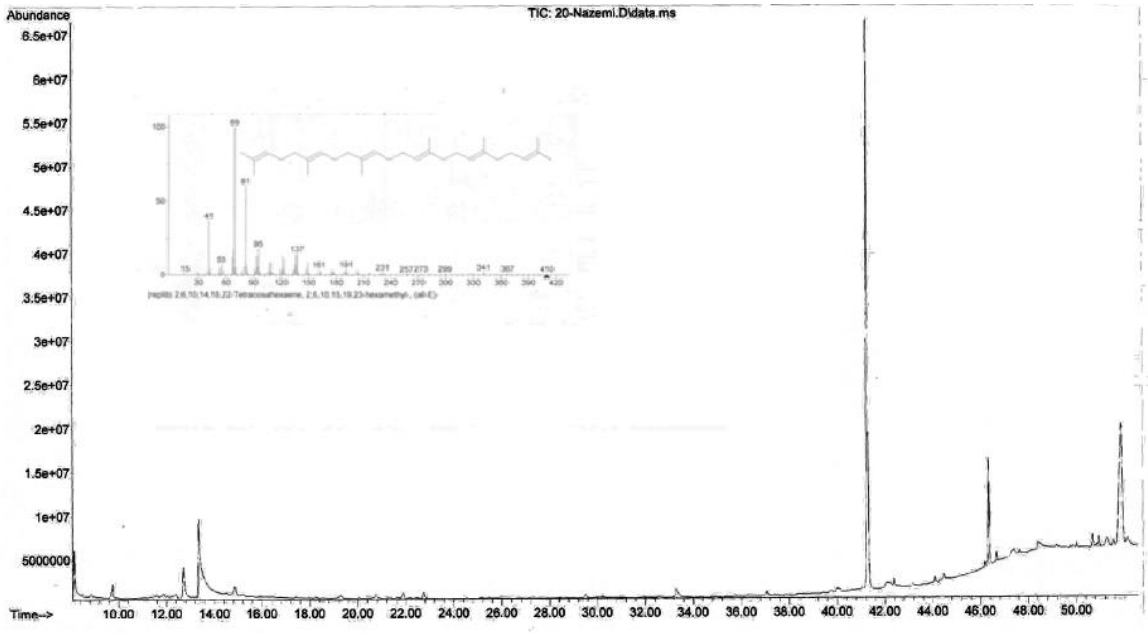
شناسایی فرکشن‌های حاوی اسکولین

کروماتوگرافی لایه‌نازک طیفی از اسکوالین را در فرکشن‌های مختلف با توجه به رنگ آبی و R_f تقریباً یکسان نشان داد. طبق نتایج به‌دست آمده از این کروماتوگرافی، یک لکه به رنگ آبی با R_f =۰/۸۹ در فرکشن شماره ۲۱ تا ۲۵ مشاهده شد (جدول ۱). از آنجا که R_f لکه آشکارشده در محدوده R_f اسکوالین می‌باشد، ترکیب موجود در این فرکشن‌ها اسکوالین شناسایی شد.

جدول ۱. مشخصات مربوط به کروماتوگرافی لایه نازک فرکشن‌های حاوی اسکوالین

شماره فرکشن	فاز متحرک	R_f	رنگ
۲۱	N*35:E*15	۰/۸۹	آبی
۲۲	N35:E15	۰/۸۹	آبی
۲۳	N35:E15	۰/۸۹	آبی
۲۴	N35:E15	۰/۸۹	آبی
۲۵	N35:E15	۰/۸۹	آبی

در مطالعه با GC-MS نیز ترکیب اسکوالین با فرمول شیمیایی $C_{30}H_{50}$، وزن مولکولی $410/73 g.mol^{-1}$ که به گروه تری‌ترپن‌ها متعلّق است، به مقدار ۹۲ ٪ در فرکشن شماره ۲۴ (ان هگزان – اتیل استات ۴۰: ۶۰) در دقیقه ۴۲ تا ۵۰ شناسایی شد (شکل ۱).



شکل ۱. کروماتوگرام و طیف کروماتوگرافی حاصل از فرکشن شماره ۲۲ (ان هگزان – اتیل استات 15: 35)، حاوی ترکیب اسکوالین

بررسی اثر ضدباکتریایی فرکشن حاوی اسکوالین

همانطور که در جدول ۲ مشاهده می‌گردد، اسکوالین استخراج‌شده از کبد کوسه ماهی *C. sorrah* بر همه باکتری‌های مورد مطالعه اثر مهارکنندگی نشان داد بگونه ای که حداقل غلظت مهارکنندگی بر باکتری گرم‌منفی *E. coli* به مقدار ۲۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، بر باکتری گرم‌منفی *K. pneumoniae* برابر با ۲۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر و بر باکتری گرم‌منفی *V. harveyi* برابر با ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر می‌باشد. تاثیر

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-04-26]
[DOR: 20.1001.1.23225513.1400.10.2.4.6]

مهارکنندگی رشد بر باکتری گرم‌مثبت *M. roseus* برابر با ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر و بر باکتری *S. aureus* به میزان ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر به‌دست آمد. همانطور که در جدول ۳ مشاهده می‌شود اسکوالین بر باکتری *E. coli*، *M. roseus* و *K. pneumoniae* هیچ اثر باکتریوسیدی نشان نداد. حداقل غلظت کشندگی بر باکتری گرم‌مثبت *S. aureus* ۲۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر و بر باکتری *V. harveyi* برابر ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر می‌باشد.

جدول ۲. حداقل غلظت مهارکنندگی اسکوالین کبد کوسه ماهی *C. sorrah* بر باکتری‌های انسانی و دریایی مورد آزمایش، ((–)نمونه‌های فاقد کدورت، (+) نمونه‌هایی که در آن‌ها کدورت مشاهده شد)

باکتری / غلظت اسکوالین ($ug.mL^{-1}$)	*E. coli*	*S. aureus*	*K. pneumonia*	*M. roseus*	*V. harveyi*
۱۰	+	+	+	+	+
۲۰	+	+	+	+	+
۱۰۰	+	+	+	+	+
۲۰۰	+	+	+	+	+
۵۰۰	+	+	+	+	+
۱۰۰۰	+	–	+	–	–
۲۰۰۰	–	–	–	–	–

جدول ۳. حداقل غلظت کشندگی اسکوالین کبد کوسه ماهی *C. sorrah* بر باکتری‌های انسانی و دریایی مورد آزمایش

سویه‌های باکتری	غلظت اسکوالین ($ug.mL^{-1}$)
S. aureus	۲۰۰۰
M. roseus	۱۰۰۰

بحث

گونه *C. sorrah* یا کوسه دم خالدار از گونه‌های غالب آبهای استان هرمزگان می‌باشد. در صیدگاه‌های بنادر جنوبی ایران در هنگام صیدهای ضمنی، بسیاری از کوسه ماهیان به دام می‌افتند و پس از صید دور ریخته می‌شوند. با توجه به این مسئله و با توجه به مطالعات انجام شده در رابطه با خواص اسکوالین و اسیدهای چرب آن ها، کوسه ماهیان را می توان به عنوان منبع ارزشمند حاوی ترکیبات طبیعی با خواص ضدمیکروبی معرفی نمود و از آن ها برای تولید محصولات دارویی و بهداشتی استفاده کرد. تولید داروها از منابع دریایی مبحثی است که بستر بسیار مناسبی را در علم داروسازی به جهت بهره‌برداری از آن‌ها فراهم آورده است. ترکیبات ثانویه تولیدشده از موجودات دریایی می‌توانند به عنوان منبع مواد زیست‌فعال عمل نموده و در مدل‌سازی ساختار داروها مورد استفاده قرار گیرند [۱۲].

در کبد کوسه ماهیان ترکیباتی به نام اسکوالین وجود دارد که به عنوان متابولیت‌های ثانویه شناخته می‌شوند که در این مطالعه به جداسازی و شناسایی اسکوالین از کبد کوسه ماهی *C. sorrah* پرداخته شد. ستون سیلیکاژل با حلال‌های مختلف بر اساس قطبیت از غیر قطبی، نیمه قطبی

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-04-26]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1400.10.2.4.6]

و قطبی شستشو گردید و ترکیبات نیز بر اساس قطبیت از ستون خارج گردید. از ۱۰۷ فرکشن حاصل از ستون، در فرکشن شماره ۲۱ تا ۲۵ با توجه به R_f مشاهده شده و ظهور لکه با رنگ آبی در کروماتوگرافی لایه‌نازک، اسکوالین شناسایی شد [۱۰]. مطالعات انجام شده نشان می‌دهد که ترکیب اسکوالین که متعلق به ترکیبات تری‌ترپنوئید می‌باشد به مقدار فراوان در کبد کوسه ماهیان سایر گونه‌ها از جمله *Centroscymnus plunketi* ، *Centroscymnus crepidater* ، *Etmopterus granulosu* ، *Deania calcea* و *Centrophorus scalpratus* نیز وجود دارد [۱۳]. با توجه به نتایج به‌دست آمده در این مطالعه، اسکوالین استخراج‌شده از کبد کوسه ماهی *C. sorrah* بر همه باکتری‌ها مورد مطالعه اثر مهارکنندگی نشان داد. همچنین اسکوالین بهترین اثر کشندگی را بر باکتری گرم‌مثبت *S. aureus* و کمترین اثرکشندگی را بر باکتری گرم‌منفی *V. harveyi* و *E. coli* داشت. به طور کلی باکتری‌های گرم‌مثبت در مقایسه با باکتری‌های گرم‌منفی در برابر خواص ضدباکتریایی ترکیبات استخراجی از کبد کوسه حساسیت بیشتری نشان دادند. وجود غشای خارجی احاطه کننده دیواره سلولی در باکتری‌های گرم منفی می‌تواند باعث افزایش مقاومت آنها در برابر ترکیبات ضدمیکروبی باشد [۱۴]. در سال ۱۹۹۳، استروئیدی به نام اسکوالامین از بافت کوسه سگ ماهی گونه *Squalus acanthias* جدا شد [۱۵]. این استروئید فعالیت ضد باکتری قوی در برابر باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت *E. coli*، *S. aureus* و *Pseudomonas aeruginosa* نشان داد. عامل تفاوت نتایج محققین در بررسی خواص بیولوژیک مانند اثرات ضدباکتریایی به علت وجود متابولیت‌های ثانویه‌ای می‌باشد که در شرایط مختلف اکولوژی، در فصول مختلف سال و در مواجه با آلودگی میکروبی سنتز می‌گردند. در واقع متابولیت‌های ثانویه سلاح‌های شیمیایی هستند که آبزیان برای ادامه حیات از آن‌ها استفاده می‌کنند [۱۶]. نتایج مطالعات نشان می‌دهد که کبدکوسه ماهی دارای یک سیستم ایمنی ذاتی است که می‌تواند به عنوان یک منبع بالقوه برای کشف ترکیبات ضدمیکروبی در نظر گرفته شود. اسکوالین کبد کوسه ماهیان می‌تواند به عنوان یک منبع غنی از ترکیبات با ویژگی‌های ضدمیکروبی معرفی شود و به عنوان کاندیداهای خوبی برای سنتز ترکیبات دارویی و پزشکی و آنتی بیوتیک باشد.

نتیجه‌گیری

خلیج فارس و دریای عمان دارای گونه‌های مختلف کوسه ماهیان می‌باشند که تاکنون در زمینه امکان بهره برداری از آنها برای استحصال ترکیبات فعال زیستی با کاربردهای دارویی اطلاعات دقیقی در دست نمی‌باشد. مطالعه انجام شده در مورد خواص ضدمیکروبی اسکوالین کبد کوسه ماهی دم خالدار *C. sorrah* از آب‌های خلیج فارس در استان هرمزگان نشان می‌دهد که فرکشن حاوی اسکوالین استخراج‌شده، دارای اثرات بالقوه ضدباکتریایی بوده و در غلظت‌های پایینِ مورد آزمایش در مطالعه حاضر، بر سویه‌های باکتری انتخابی اثر مهارکنندگی و کشندگی داشت و بنابراین بررسی بیشتر در مورد پتانسیل این ترکیبات زیست فعال برای سنتز فراورده‌های دارویی و آنتی بیوتیک قابل پیشنهاد می‌باشد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان از مجموعه مدیریتی پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان در فراهم نمودن امکانات لازم برای انجام مطالعه حاضر قدردانی می نمایند.

تعارض منافع

مطالعه حاضر فاقد تعارض منافع می باشد.

منابع مالی

مطالعه حاضر با حمایت مالی پایان نامه های دانشگاه هرمزگان و اعتبار پژوهشی نویسندگان انجام شده است.

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-04-26]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1400.10.2.4.6]

منابع

1. Gomes N.G, Dasari R, Chandra S, Kiss R, Kornienko A. Marine invertebrate metabolites with anticancer activities: Solutions to the “supply problem”. Marine Drugs. 2016; 14: 98.
2. Shahidi F. Omega-3 oils: Sources, applications and health effects. In Marine Nutraceuticals and Functional Foods (C. Barrow and F. Shahidi, eds.), 2007; pp. 23–62, CRC Press, Taylor and Francis Group, Boca Raton, FL.
3. Jayasinghe C, Gotoh N, Wada S. Regiospecific analysis of shark liver triacylglycerols. Journal of American Oil Chemists' Society. 2012; 89(10):1873–1884.
4. Solomon N, Passwater R, Joelsson I, Haimes L, Buono A. Shark liver oil: Nature's amazing healer. New York: Kensington Books, 1997; 175 p. ISBN: 1-57566-202-7.
5. Blasco L, Duracher L, Forestier J.P. Skin constituents as cosmetic ingredients: part I: a study of bio-mimetic monoglycerides behavior at the squalene-water interface by the "pendant drop" method in a static mode. Journal of Dispersion Science and Technology. 2006; 27: 799-810.
6. Auffray B. Protection against singlet oxygen, the main actor of sebum squalene peroxidation during sun exposure, using Commiphora myrrha essential oil. International Journal of Cosmetic Science. 2007; 29(1): 23-29.
7. Fischer W, Bianchi G. FAO species identification sheets for fishery purposes. Western Indian Ocean. 1984; Vols.1-V, FAO, Rome, Italy.
8. Gershbein L.L, Singh E.J. Hydrocarbons of dogfish and cod liver and herring oil. Journal of American Oil Chemists' Society. 1969; 46: 554-557.
9. Newman D.J, Cragg G.M. Marine natural products and related compounds in clinical and advanced preclinical trials. Journal of Natural Products. 2004; 67(8):1216-1238.
10. Wagner H, Bladt S, Zgainski E.M. Plant drug analysis (A Thin Layer Chromatography Atlas). Springer-Verlag Berlin Heidelberg GmbH, 1984; 384p.
11. Rosenblatt J.E. Laboratory tests used to guide antimicrobial therapy. In Mayo Clinic Proceedings. 1991; 66(9): 942-948.
12. Qaralleh H, Idid S, Saad S, Susanti D, Taher M, Khleifat, K. Antifungal and Antibacterial Activities of Four Malaysian Sponge Species (Petrosiidae). Journal Mycologie Medicale. 2010; 20(4): 315-320.
13. Anandan R, Mathew S, Sankar T.V, Nair P.G.V. Protective effect of n-3 polyunsaturated fatty acids concentrate on isoproterenol-induced myocardial infarction in rats. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids. 2007; 76: 153–158.
14. Abdi V, Sourinejad I, Yousefzadi M, Ghasemi Z. Biosynthesis of Silver Nanoparticles from the Mangrove Rhizophora mucronata: Its Characterization and Antibacterial Potential. Iranian Journal of Science and Technology, Transactions A: Science. 2019; 43(5): 2163-2171.
15. Moore K.S, Wehnli S, Roder H, Rogers M, Forrest J.N, McCrimmon D, Zasloff M. Squalamine: An aminosterol antibiotic from the shark. Proceedings of the National Academy of Sciences. U.S.A. 1993; 90(4): 1354-1358.
16. Muller W.E.G, Grebenjuk W.E, Lepennec G, Schroeder H, Brummer F, Hentschel I. Sustainabl production of bioactive compounds by sponges-cell culture and gene cluster approach: a review. Marine Biotechnology. 2004; 6: 105-117.

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-04-26]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1400.10.2.4.6]

Journal of Fisheries Science and Technology
Special issue on Persian Gulf ecosystem
Volume10, Issue 2, Spring 2021
Pages: 251-258

Antibacterial effect of the squalene containing fraction extracted from the liver of the Persian Gulf spot tail shark *Carcharhinus sorrah* (Müller & Henle, 1839)

Tahereh Dordab[1], Iman Sourinejad[1,2*], Melika Nazemi[3]

1- Department of Fisheries, Faculty of Marine Science and Technology, University of Hormozgan
2- Department of Modern Technologies, Mangrove Forests Research Center, University of Hormozgan.
3- Persian Gulf and Oman Sea Research Center, Iranian Fisheries Science Research Institution, Agriculture Research, Education and Extension Organization, Bandar Abbas

A B S T R A C T

Squalene is an unsaturated triterpene hydrocarbon and is a precursor of steroids and cholesterol with antioxidant properties. The aim of this study was to isolate the squalene from the liver of the Persian Gulf spot tail shark Carcharhinus sorrah and to investigate its antimicrobial activity. Extraction was first done by methanol 70% and then, the squalene was separated through column chromatography with silica gel. Identification of the extracted squalene was done by thin layer chromatography (TLC) and gas chromatography coupled with mass spectrometry (GC–MS). Antibacterial properties of the squalene were identified and minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) were investigated by tubular dilution. Identification of the extracted compounds by GC-MS confirmed the presence of the squalene in the shark liver. Antibacterial studies showed that the squalene inhibited the growth of Gram negative (Escherichia coli, Klebsiella pneumonia and Vibrio harveyi) and Gram positive (Micrococcus roseus and Staphylococcus aureus) bacteria. Therefore, this metabolite has the potential to be more investigated for developing new antimicrobial compounds.

KEYWORDS: Squalene, antimicrobial activity, Persian Gulf, *Carcharhinus sorrah*

ARTICLE TYPE

Original Research

ARTICLE HISTORY

Received: 25 January 2021
Accepted: 10 May 2021
ePublished: 31 May 2021

* Corresponding Author:
Email address: sourinejad@hormozgan.ac.ir
Tel:
© Published by Tarbiat Modares University
eISSN:2476-6887 pISSN:2322-5513

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-04-26]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1400.10.2.4.6]