مجله علوم و فنون شیلات
دوره ۱۲ شماره ۳، تابستان ۱۴۰۲، صفحات ۲۹۶ تا ۲۸۷

ارزیابی فعالیت ضد قارچی استروئیدهای های کبد کوسه دم خالدار خلیج فارس *Carcharhinus sorrah* (Müller & Henle, 1839)

طاهره درداب[۱]، ایمان سوری نژاد[۱*]، ملیکا ناظمی[۲]، زهرا قاسمی[۱]

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

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

چکیده

هدف مطالعه حاضر جداسازی استروئیدها و اسیدهای چرب از کبد کوسه دم خالدار خلیج فارس *Carcharhinus sorrah* و ارزیابی فعالیت ضد قارچی آنها بود. عصاره‌گیری از کبد با متانول ۷۰٪ انجام شد و سپس فرکشن حاوی ترکیبات استروئیدی توسط ستون کروماتوگرافی با سیلیکاژل جداسازی گردید. شناسایی ترکیبات با کروماتوگرافی لایه نازک و کروماتوگرافی گازی همراه با طیف سنجی جرمی صورت گرفت. فعالیت ضد قارچی استروئیدها و اسیدهای چرب با استفاده از روش رقت لوله‌ای به منظور تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی بر قارچ *Aspergillus fumigatus* و مخمر *Candida albicans* بررسی شد. تشخیص نمونه‌هایی از استروئیدها و اسیدهای چرب توسط کروماتوگرافی حضور این ترکیبات را در کبد کوسه ماهی مورد مطالعه تایید نمود. استروئیدهای شناسایی شده از کبد کوسه شامل ترکیباتی از Y-Sitosterol، Desmosterol و Squalene بودند که نتایج متفاوتی را در مهار رشد و کشتن سویه های قارچ و مخمر در غلظت‌های مختلفِ مورد آزمایش نشان دادند. اسکوالین و دسمسترول در کمترین غلظت، بیشترین اثر مهارکنندگی را بر قارچ نشان دادند ولی سیتسترول در کمترین غلظت بیشترین اثر را بر مخمر نشان داد. اسکوالین تنها بر قارچ اثر کشندگی نشان داد و در مجموع، قارچ *A. fumigatus* در مقایسه با مخمر *C. albicans* نسبت به فعالیت ضد میکروبی ترکیبات کبد حساسیت بیشتری نشان داد. در جمع‌بندی نهایی، نتایج امیدوارکننده ای در مورد فعالیت ضد میکروبی ترکیبات چربی استخراج شده از کبد کوسه دم خالدار خلیج فارس حاصل شد که بیانگر اهمیت بررسی بیشتر این ترکیبات طبیعی برای سنتز زیست داروها از جانوران دریایی می باشد.

کلید واژه‌ها: استروئید کبد، *Carcharhinus sorrah*، حداقل غلظت کشندگی، قارچ *Aspergillus fumigatus*

نوع مقاله

مقاله پژوهشی اصیل

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۴/۰۱

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۵/۱۷

تاریخ چاپ الکترونیکی: ۱۴۰۲/۰۶/۰۷

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

مقدمه

ماهیان غضروفی به ویژه کوسه ماهیان یکی از منابع مهم اکولوژیکی و اقتصادی خلیج فارس هستند که تنوع قابل ملاحظه‌ای در این منطقه دارند و حدود ده درصد آن‌ها به صورت صید ضمنی به دام می‌افتند و متاسفانه پس از صید دور ریخته می‌شوند. بر اساس آمار منتشرشده سازمان غذا و کشاورزی ملل متحد در سال ۲۰۱۹، کشور ایران در سال های ۲۰۰۷ تا ۲۰۱۷ به صورت متوسط ۱۳۵۹۶ تن/ سال انواع کوسه ماهی را صید کرده و رتبه شانزدهم را در بین کشورهای جهان به خود اختصاص داده است [۱]. یکی از اهداف اصلی زیست فناوری دریا، توسعه روش هایی برای تولید محصولات جدید با منشأ موجودات دریایی است. مطالعات اخیر ثابت کرده است که اقیانوس ها و دریاها یک منبع غنی و بسیار ایده آل برای کشف متابولیت های فعال زیستی هستند. ترکیبات فعال زیستی برای بقای ارگانیسم های دریایی بسیار ضروری می باشند. تولید متابولیت های ثانویه در ارگانیسم های دریایی به شدت به شرایط جغرافیاییِ زیستی وابسته است. با تکامل موجودات دریایی، آن ها توانسته اند برای مقابله با شرایط محیطی مختلف، روش های مناسبی را اتخاذ و ترکیبات خاصی را تولید کنند. این ترکیبات می توانند توسط انسان استخراج شده و کاربردهای دارویی، بهداشتی، غذایی و صنعتی داشته باشند. از آنجا که محیط زیست دریایی دارای تنوع زیستی بالایی است، مطالعه در مورد استفاده از محصولات دریایی به عنوان عوامل دارویی، پیوسته در حال افزایش است. تلاش های علمی بسیار زیادی برای کشف ترکیبات ضد میکروبی از موجودات مختلف دریایی در حال انجام است و ترکیبات زیست فعال بسیاری از جانوران و گیاهان دریایی شناسایی شده است [۲].

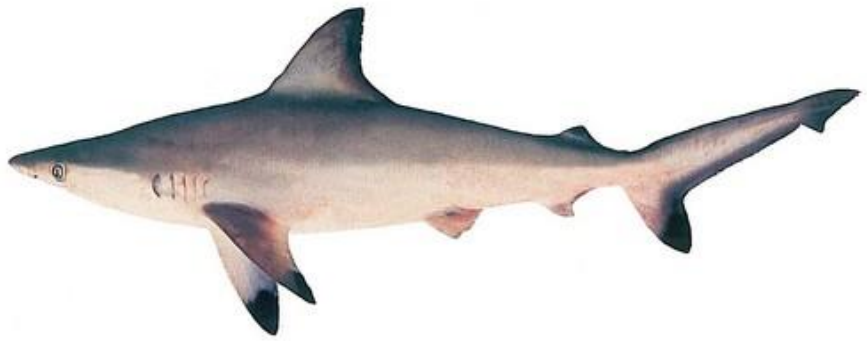
کوسه ماهیان دارای ترکیبات زیست فعال مختلفی هستند و تعدادی از متابولیت‌های ثانویه با کاربردهای دارویی و درمانی از آنها استخراج شده است. از آنجا که کوسه‌ها در راس زنجیره ها و هرم غذایی دریا و اقیانوس قرار دارند و از تنوع غذایی بالایی برخوردارند، روغن کبد آن‌ها حاوی

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-08]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1402.12.3.6.4]

مقدار زیادی اسیدچرب اشباع نشده (PUFA) و استروئید است. وجود استروئید و اسیدهای چرب به عنوان مهمترین ترکیبات در کبد کوسه ماهیان ثابت شده است. از روغن کبد کوسه استفاده درمانی می‌شود و در سراسر جهان به عنوان یک مکمل غذایی برای تقویت سیستم ایمنی بدن و مبارزه با عفونت مورد استفاده قرار می گیرد. علاوه بر این، روغن کبد کوسه حاوی ویتامین‌ها، آنتی‌اکسیدان ها و استروئیدها با خواص بیولوژیک مهمی مانند ضد سرطان، ضد باکتری و ضد قارچ می باشد [۳ و ۴].

کوسه مورد بررسی در مطالعه حاضر، کوسه دم خالدار خلیج فارس *Carcharhinus sorrah* (Müller & Henle, 1839) از خانواده Carcharhinidae می‌باشد (شکل ۱). این خانواده با داشتن ۱۲ جنس و ۴۸ گونه سومین خانواده از لحاظ تنوع گونه ای به حساب آمده و در مناطق گرمسیری از لحاظ تنوع گونه ای، فراوانی و مقدار توده زنده، غالب می باشد. در این خانواده جنس Carcharhinus با داشتن ۲۹ گونه انتشار جهانی داشته و در آب های گرم و معتدله غالب هستند [۵]. در منطقه غرب اقیانوس هند، ۲۱ گونه از این جنس وجود دارد که ۱۳ گونه آن از خلیج فارس و دریای عمان گزارش شده است و در این بین، ۱۱ گونه مربوط به آب های استان هرمزگان می باشد. درداب و همکاران در سال ۱۴۰۰ اثر ضد باکتریایی فرکشن حاوی ترکیب اسکوالین از کبد کوسه دم خالدار خلیج فارس را بررسی نمودند. نتایج آن مطالعه بیانگر حضور اسکوالین در کبد کوسه ماهی مورد مطالعه و خواص ضد باکتریایی آن در مهار رشد برخی سویه های باکتری‌های گرم‌منفی و گرم‌مثبت بود [۶]. با توجه به صید ضمنی کوسه دم خالدار در کنار صید ماهیان تجاری خلیج فارس و تلف شدن تعداد زیادی از نمونه‌ها در حین صید، هدف مطالعه حاضر استخراج ترکیبات استروئیدی و اسید چرب ذخیره شده در کبد کوسه *C. sorrah* از خلیج فارس و ارزیابی فعالیت ضد قارچی آن در نظر گرفته شد.



شکل ۱. کوسه دم خالدار خلیج فارس *Carcharhinus sorrah* (Müller & Henle, 1839)

مواد و روش‌ها

نمونه برداری از کوسه *C. sorrah*

تعداد پنج قطعه کوسه ماهی هدف، از صید ضمنی کشتی های صیادی خلیج فارس توسط تور کیسه ای کفروب از آب‌های اطراف جاسک واقع در استان هرمزگان در آبان ماه تهیه شد. بعد از شناسایی دقیق کوسه، کبد آن ها جدا شد و در دمای ۲۸- درجه سانتی گراد منجمد و به صورت فریز شده به آزمایشگاه منتقل شد.

عصاره گیری از کبد

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-08]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1402.12.3.6.4]

ابتدا کبد با آب مقطر شستشو داده شد و سپس به وسیله چرخ گوشت چرخ شد. نمونه های چرخ شده تا زمان استفاده در دمای منفی ۲۸ درجه سانتی گراد نگهداری شدند. عصاره گیری از نمونه‌های چرخ شده کبد کوسه ماهی با استفاده از حلال متانول–آب ۷۰:۳۰ انجام گرفت. ابتدا ۱۰۰ گرم از نمونه های چرخ شده به ارلن حاوی ۶۰۰ سی سی 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 به دست 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 [۷].

جداسازی و شناسایی استروئیدها 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 اندازه ۰/۲ تا ۰/۶ میلی متر قرار داده شد. سپس به منظور جداسازی ترکیبات موجود در عصاره با ان هگزان– اتیل استات– ان– بوتانول که قطبیت متفاوت دارند شست و شو داده شد [۸]. به منظور تشخیص حضور استروئیدها و اسیدهای چرب در فرکشن های استخراج شده، از کروماتوگرافی لایه‌نازک (Thin Layer Chromatography) استفاده شد. شناسایی استروئیدها در فرکشن‌های استخراج شده، با استفاده از کروماتوگرافی گازی همراه با طیف سنجی جرمی (Gas Chromatography -Mass Spectrometry) (مدل Agilent7000 Series Triple Quad GC/MS MainFrame؛ گاز کریر هلیوم ۹۹/۹۹ درصد، دتکتورC ۵۹۷۵، ستون: Part number 19091s-436، طول ۶۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی متر، لایه داخلی ۰/۲۵ میکرومتر) صورت گرفت. در نهایت سه نوع استروئید و اسید چرب از کبد کوسه استخراج و شناسایی گردید و فعالیت ضد قارچی آنها بررسی شد.

ارزیابی فعالیت ضد قارچی استروئیدهای کبد کوسه *C. sorrah*

آزمایش تعیین حداقل غلظت بازدارندگی (Minimum Inhibitory Concentration)

بررسی فعالیت ضد قارچی استروئیدهای کبد کوسه با استفاده از روش ماکرودیلوشن انجام شد [۹]. سویه‌های قارچ و مخمر *Candida albicans* و *Aspergillus fumigatus* از مرکز کلکسیون قارچها و باکتری‌های صنعتی ایران به صورت لیوفیلیزه تهیه و به شرح زیر کشت اولیه داده شدند. مخمر *C.albicans* در محیط‌کشت حاوی ۲۰ گرم آگار، ۱۰ گرم گلوکز، ۵ گرم پپتون، ۳ گرم عصاره مخمر در یک لیتر آب مقطر با pH= 6.2±0.2 کشت اولیه داده شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد در انکوباتور قرار گرفت و از کلونی تک به منظور انجام آزمایش استفاده شد. قارچ *A. fumigatus* در محیط‌کشت حاوی ۲۰ گرم عصاره سیب‌زمینی، ۲۰ گرم گلوکز و ۱۵ گرم آگار در یک لیتر آب مقطر با pH 6.2±0.2 = کشت اولیه داده شد و به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۲۶ درجه سانتیگراد در انکوباتور قرار گرفت و از کلونی تک به‌منظور انجام آزمایش استفاده شد.

پس از رشد قارچ و مخمر آن‌ها را از انکوباتور خارج نموده و با استفاده از آنس کلونی‌های تک ایجاد شده به محیط ماکرودیلوشن براث در لوله‌های آزمایش وارد شدند. سوسپانسیون حاصل در طول موج ۵۳۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتری دارای عبور نوری ۹۰ درصد استاندارد اندازه‌گیری شد که معادل 10^6 سلول قارچ در هر میلی‌لیتر می‌باشد. از لوله فوق که حاوی 10^6 سلول قارچی بود به مقدار یک میلی‌لیتر به هر کدام از لوله‌های استریل اضافه شد. سپس از عصاره‌های استروئیدی با غلظت‌های ۲، ۴، ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰، ۴۰۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر که در محیط ماکرودیلوشن براث حل شده بود به مقدار یک میلی‌لیتر به لوله‌های فوق افزوده شد. برای در نظر گرفتن شاهد مثبت از داروی ضد قارچ نیستاتین بر اساس میزان ماده مؤثره در هر گرم از قرص، غلظت‌های فوق تهیه شد و به عنوان شاهد منفی به یکی از لوله‌ها ماده فعال بیولوژیک اضافه نگردید. در داخل یک لوله نیز تنها محیط کشت فاقد ماده مؤثره و قارچ قرار داده شد تا در صورت آلودگی

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-08]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1402.12.3.6.4]

محیطی خطای آزمایش مشخص گردد. در یکی‌دیگر از لوله نیز محلول‌های مورد استفاده قرار داده شد. سپس سر تمام لوله‌ها با پنبه بسته شد و در انکوباتور با دمای ۲۶ درجه سانتیگراد به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد.

پس از ۲۴ ساعت لوله‌های آزمایش از انکوباتور خارج‌شده و کدورت آن‌ها مورد بررسی قرار گرفت. لوله کنترل که فاقد ترکیبات فعال بیولوژیک بوده بسیار کدر شده بودند. برای ادامه کار سایر لوله‌ها با لوله مذکور به صورت چشمی مقایسه شدند که میانگینی از ۳ مرتبه آزمایش برای هرگونه قارچی بود. لوله‌هایی که کدورت داشتند از ادامه کار خارج شدند و لوله‌هایی که در آن کدورت ایجاد نشده بود به منظور ادامه کار جدا شدند. لازم به‌ذکر است غلظت مواد مصرفی در لوله‌های بدون کدورت میزان MIC که به معنای ممانعت از رشد و افزایش تعداد قارچها می‌باشد را نشان می‌دهد.

آزمایش تعیین حداقل غلظت کشندگی (Minimum Fungicidal Concentration)

جهت تعیین MFC، مقدار ۰/۱ میلی‌لیتر از هر کدام از لوله‌هایی که رشدی در آن مشاهده نشده بود، بر روی پلیت‌های محیط سابور دکستروز آگار کشت خطی داده شد. سپس پلیت‌ها به انکوباتور منتقل شدند و در دمای ۲۶ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت نگهداری شدند. کم‌ترین غلظت که در آن سبب مرگ قارچ شده بود و پلیت‌ها فاقد کلونی بودند به عنوان MFC منظور گردید [۱۰].

نتایج

استروئیدها و اسید چرب شناسایی شده

سه ترکیب Y-Sitosterol با فرمول شیمیایی $C_{29}H_{50}O$، وزن مولکولی $414/386 g.mol^{-1}$ که به گروه استروئیدها متعلق است، Desmosterol با فرمول شیمیایی $C_{27}H_{44}O$، وزن مولکولی $384/339 g.mol^{-1}$ که به گروه استروئیدها متعلق است و Squalene با فرمول شیمیایی $C_{30}H_{50}$، وزن مولکولی $410/73 g\cdot mol^{-1}$ که به گروه تری ترپن ها متعلّق است از کبد کوسه *C. sorrah* در مطالعه حاضر استخراج و شناسایی شدند.

بررسی فعالیت ضد قارچی Squalene

مقدار MIC استروئید بر قارچ *A. fumigatus* برابر با ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر و بر مخمر *C. albicans* برابر با ۲۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود. مقدار MFC بر قارچ برابر با ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود و بر مخمر هیچگونه اثر باکتریوسیدی نداشت (جدول ۱).

جدول ۱. حداقل MIC و MFC ترکیب Squalene بر قارچ و مخمر (میکروگرم بر میلی‌لیتر)((–) نمونه‌های فاقد کدورت، (+) نمونه‌های دارای کدورت)

غلظت استروئید / قارچ	*A. fumigatus*	*C. albicans*
۱۰	+	+
۲۰	+	+
۱۰۰	+	+
۲۰۰	+	+
۵۰۰	_	+
۱۰۰۰	_	+
۲۰۰۰	_	_
MFC	۵۰۰	_

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-08]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1402.12.3.6.4]

بررسی اثر ضد قارچی Desmosterol

مقدار MIC استروئید بر قارچ *A. fumigatus* برابر با ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر و بر مخمر *C. albicans* برابر با ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود. مقدار MFC بر قارچ برابر با ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر و بر مخمر برابر با ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود (جدول ۲).

جدول ۲. حداقل MIC و MFC ترکیب Desmosterol بر قارچ و مخمر (میکروگرم بر میلی‌لیتر)((–) نمونه‌های فاقد کدورت، (+) نمونه‌های دارای کدورت)

غلظت استروئید / قارچ	*A. fumigatus*	*C. albicans*
۱۰	+	+
۲۰	+	+
۱۰۰	_	+
۲۰۰	_	+
۵۰۰	_	_
۱۰۰۰	_	_
۲۰۰۰	_	_
MFC	۲۰۰	۵۰۰

بررسی اثر ضد قارچی Y-Sitosterol

مقدار MIC استروئید بر قارچ *A. fumigatus* برابر با ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر و بر مخمر *C. albicans* برابر با ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود. مقدار MFC بر قارچ برابر با ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر و بر مخمر برابر با ۲۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود (جدول ۳).

جدول ۳. حداقل MIC و MFC ترکیب Y-Sitosterol بر قارچ و مخمر (میکروگرم بر میلی‌لیتر)((–) نمونه‌های فاقد کدورت، (+) نمونه‌های دارای کدورت)

غلظت استروئید / قارچ	*A. fumigatus*	*C. albicans*
۱۰	+	+
۲۰	+	+
۱۰۰	+	+
۲۰۰	+	_
۵۰۰	_	_
۱۰۰۰	_	_
۲۰۰۰	_	_
MFC	۱۰۰۰	۱۰۰۰

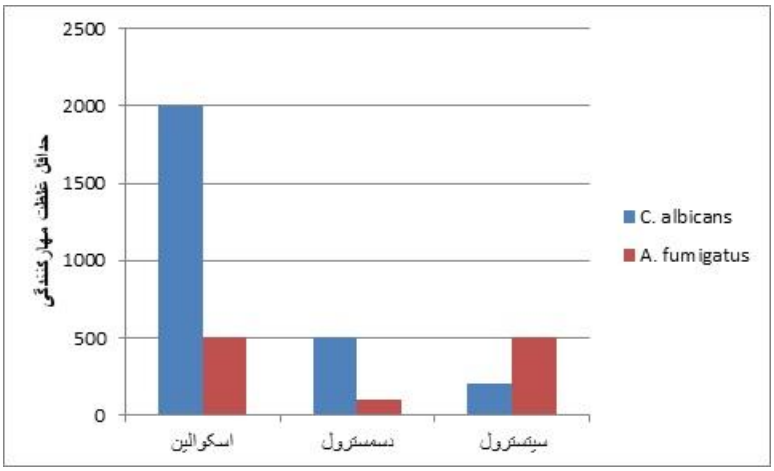
مقایسه فعالیت ضد قارچی استروئیدهای استخراج شده

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-08]

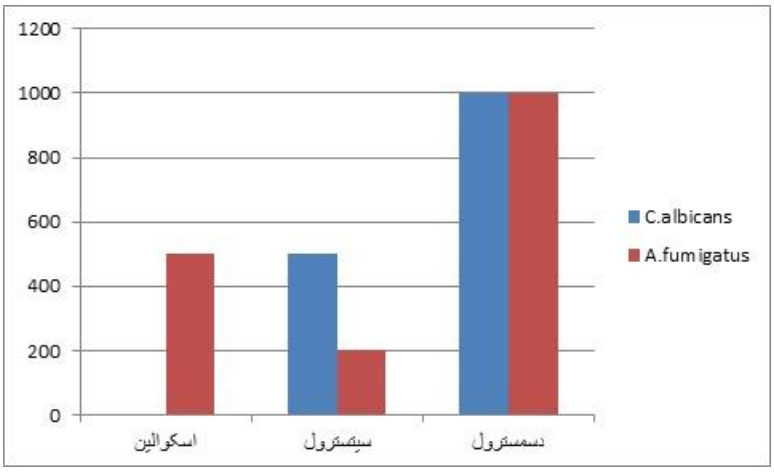
[DOR: 20.1001.1.23225513.1402.12.3.6.4]

همانگونه که در شکل ۲ مشخص است Squalene و Desmosterol در کمترین غلظت، بیشترین اثر مهارکنندگی را بر قارچ *A. fumigatus* نشان دادند ولی Y-Sitosterol در کمترین غلظت بیشترین اثر را بر قارچ *C albicans* نشان داد.

همانطور که شکل ۳ نشان می‌دهد Y-Sitosterol روی قارچ در کمترین غلظت بیشترین اثر کشندگی را نشان داد. همینطور Desmosterol در غلظت یکسان موجب از بین بردن سویه های مورد مطالعه شد. Squalene تنها بر قارچ اثر کشندگی نشان داد. به طور کلی نتایج این مقایسه نشان داد که قارچ *A. fumigatus* در مقایسه با مخمر *C. albicans* نسبت به ترکیبات استروئیدی استخراج شده از کبد کوسه حساسیت بیشتری نشان می دهد.



شکل ۲. مقایسه حداقل غلظت مهارکنندگی استروئیدهای کبد کوسه



شکل ۳. مقایسه حداقل غلظت کشندگی استروئیدهای کبد کوسه

بحث و نتیجه گیری

گونه *C. sorrah* یا کوسه دم خالدار از گونه‌های غالب آبهای استان هرمزگان می‌باشد. در صیدگاه های بنادر جنوبی ایران در هنگام صیدهای ضمنی، بسیاری از کوسه ماهیان به دام می افتند و پس از صید دور ریخته می‌شوند. با توجه به این مسئله و مطالعات انجام شده در رابطه با خواص

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-08]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1402.12.3.6.4]

لیپیدها و اسیدهای چرب آن ها، کوسه ماهیان را می توان به عنوان منبع ارزشمند حاوی ترکیبات طبیعی با خواص ضد میکروبی 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 بهره برداری از آنها فراهم آورده است. ترکیبات ثانویه تولید شده از موجودات دریایی می توانند به عنوان منبع مواد زیست فعال عمل نموده و در مدل سازی ساختار داروها مورد استفاده قرار گیرند [۱۱].

در کبد کوسه ماهیان ترکیباتی به نام استروئید و اسیدهای چرب وجود دارد که به عنوان متابولیت های ثانویه از این خانواده شناخته می شوند که در این مطالعه به جداسازی و شناسایی استروئید و اسید چرب از کبد کوسه ماهی *C. sorrah* پرداخته شد. ستون سیلیکاژل با حلال های مختلف بر اساس قطبیت از غیر قطبی، نیمه قطبی و قطبی شستشو گردید و ترکیبات نیز بر اساس قطبیت از ستون خارج گردید. از ۱۰۷ فرکشن حاصل از ستون در فرکشن شماره ۲۳ تا ۴۳ Squalene شناسایی شد. با توجه به اینکه فرکشن شماره ۲۳ تا ۴۳ با حلال ان هگزان ۲۰ اتیل–استات ۳۰ جداسازی شد پس ترکیب با قطبیت کم در این فرکشن ها حضور دارد زیرا این سیستم حلالی قادر به جداسازی ترکیبات قطبی نیست. فرکشن ۴۴ تا ۵۶ به سمت قطبیت بیشتر پیش می روند که علاوه بر اسکوالین ترکیبات قطبی تر نیز در آن وجود دارد که Sitosterol شناسایی شد. در فرکشن ۸۹–۹۳ نیز حضور Desmosterol تایید شد.

بر اساس نتایج بررسی فعالیت ضد میکروبی ترکیبات استروئیدی، حداقل غلظت مهارکنندگی Sitosterol برابر با ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود که دارای بهترین اثر در مقایسه با Desmosterol با MIC ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر و Squalene با MIC ۲۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بر مخمر *C. albicans* بود. علاوه بر این Sitosterol در غلظت ۱۰۰۰ و Desmosterol در غلظت ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر اثر کشندگی بر مخمر *Candida albicans* نشان دادند. طبق نتایجی که با بررسی اثر ضد قارچی بر *A. fumigatus* به‌دست آمد حداقل غلظت مهارکنندگی Sitosterol و Squalene هر کدام برابر با ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر می‌باشد. علاوه بر این حداقل غلظت کشندگی Sitosterol برابر با ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، Desmosterol در غلظت ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر و Squalene در غلظت ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر می‌باشد. نتایج نشان داد که Sitosterol در مقایسه با Desmosterol و نسبت به Squalene اثر مهارکنندگی بیشتری نشان داد که این می‌تواند بسته به ساختار این ترکیبات و مکانیسم مهار سلول قارچی باشد. Moore و همکاران در سال ۱۹۹۳ استروئیدی از بافت کوسه سگ ماهی گونه *Squalus acanthias* جدا کردند. این استروئید فعالیت ضدقارچ قوی در برابر مخمر *C. albicans* داشته است که موافق با نتایج به‌دست آمده در مطالعه حاضر می‌باشد [۱۲].

در جمع‌بندی نهایی، مطالعات انجام شده در مورد خواص ضد میکروبی اسیدهای چرب و استروئیدهای کبد کوسه ماهی *C. sorrah* از آب‌های اطراف جاسک واقع در استان هرمزگان و سایر مطالعات انجام شده در رابطه با کبد کوسه ماهی سایر مناطق خلیج فارس و دنیا نشان می‌دهد که استروئیدها و اسیدهای چرب استخراج شده، فعالیت ضد قارچی مطلوبی دارند [۳ و ۴]. استروئیدهای استخراجی به عنوان یک ترکیب خالص‌سازی شده در غلظت پایین بر سویه‌های قارچ و مخمر مورد آزمایش اثرگذار بودند و می توان نتیجه گرفت که استروئیدها و اسیدهای چرب می توانند به عنوان یکی از ترکیبات زیست‌فعال کبد کوسه ماهی کاندیداهای خوبی برای سنتز ترکیبات دارویی و پزشکی باشند.

تشکر و قدردانی

نویسندگان از مجموعه مدیریتی آزمایشگاه های دانشگاه هرمزگان 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 2024-11-08]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1402.12.3.6.4]

منابع:

[1] Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2016.
[2] 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.
[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] Fischer W, Bianchi G. FAO species identification sheets for fishery purposes. Western Indian Ocean. (1984) Vols.1-V, FAO, Rome, Italy.
[6] Dordab T, Sourinejad I, Nazemi M. Antibacterial effect of the squalene containing fraction extracted from the liver of the Persian Gulf spot tail shark Carcharhinus sorrah (Müller & Henle, 1839). Journal of Fisheries Science and Technology. (2021) 10(2): 251-258.
[7] 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.
[8] 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.
[9] Galeano E, Martínez A., Antimicrobial activity of marine sponges from Urabá Gulf, Colombian Caribbean region. Journal of Medical Mycology. (2007) 17(1): 21-24.
[10] Masteria Y, Putra M.Y, Hadi T., Chemical Composition, Antimicrobial, cytotoxic and antiplasmodial activities of three sponges from Buton Islands, Indonesia. Indonesian Journal of Marine Sciences. (2017) 22(3):147-154.
[11] Qaralleh, H., Idid, S., Saad, S., Susanti, D., Taher, M. and Khleifat, K., Antifungal and Antibacterial Activities of Four Malaysian Sponge Species (Petrosiidae). Journal Mycologia Medicale, (2010) 20: 315-
[12] 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.

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-08]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1402.12.3.6.4]

Journal of Fisheries Science and Technology
Volume12, Issue 3, Summer 2023
Pages: 287-296

Assessing the antifungal activity of the steroids from the liver of the Persian Gulf spot tail shark Carcharhinus sorrah (Müller & Henle, 1839)

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

1- Department of Fisheries, Faculty of Marine Science and Technology, University of Hormozgan, Bandar Abbas.
2- 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

The present study aimed to isolate the steroids and fatty acids from the liver of the Persian Gulf spot tail shark *Carcharhinus sorrah* and to assess their antifungal activity. Extraction was done by methanol 70% and then, the lipids were separated through column chromatography with silica gel. Identification of the extracted lipids was done by thin layer chromatography and gas chromatography coupled with mass spectrometry. Then, antifungal activity of the steroids was investigated through determining the minimum inhibition concentration and minimum fungicidal concentration by tubular dilution method against *Aspergillus fumigatus* and *Candida albicans*. Identification of the extracted compounds by GC-MS confirmed the presence of these steroids in the shark liver. The identified steroids included compounds of Y-Sitosterol, Desmosterol and Squalene, which showed different results regarding the growth inhibition and fungicidal effects against the microorganisms at different experimental doses. Desmosterol and Squalene at minimum concentration induced the highest inhibitory effect on the fungus but Y-Sitosterol induced the highest inhibitory effect on the yeast. Squalene showed fungicidal effect only on the fungus and totally, *A. fumigatus* was more sensitive to the antimicrobial activity of the liver compounds than *C. albicans*. In conclusion, promising results were found regarding the antimicrobial activity of the lipid compounds derived from Persian Gulf shark liver, revealing the importance of more comprehensive investigations of these natural compounds for the synthesis of biomedicines from the marine organisms.

KEYWORDS: Liver steroids, *Carcharhinus sorrah*, Minimum inhibitory concentration, *Aspergillus fumigatus*

ARTICLE TYPE

Original Research

ARTICLE HISTORY

Received: 22 June 2023
Accepted: 23 July 2023
ePublished: 23 Aug 2023

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

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-08]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1402.12.3.6.4]