

ISSN 0868-854 (Print)

ISSN 2413-5984 (Online). Algologia. 2019, 29(1): 30–39

<https://doi.org/10.15407/alg29.01.030>

ЭБРАХИМЗАДЕ М.А.<sup>1</sup>, ХАЛИЛИ М.<sup>2</sup>, ДЕПУР А.А.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Научно-исследовательский центр фармацевтической науки, Школа фармацевтики, Мазандаранский университет медицинских наук, Сари, Иран  
*zadeh20@yahoo.com*

<sup>2</sup>Научно-исследовательский центр нейробиологии, Голестанский университет медицинских наук, Горган, Иран  
*mshalili\_ps@yahoo.com*

<sup>3</sup>Факультет биологии, Исламский университет Азад, филиал Кемшахр, Кемшахр, Иран  
*dehpour@gmail.com*

## ЭКСТРАКТЫ ЭТИЛАЦЕТАТА И МЕТАНОЛА ИЗ ТРЕХ МОРСКИХ ВОДОРОСЛЕЙ И ИХ ПОТЕНЦИАЛЬНАЯ АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ *IN VITRO*

---

Морские водоросли вырабатывают вторичные метаболиты, обладающие антиоксидантной активностью и терапевтическим эффектом. Целью исследования было оценить антиоксидантную активность экстрактов этилацетата и метанола из трех видов водорослей: *Nannochloropsis oculata* (Droop) D.J. Hibberd, *Enteromorpha* sp., и *Polysiphonia scopulorum* Harvey. Этилацетатный и метанольный экстракты готовили с использованием перколяционного метода и оценивали их активность по удалению радикалов DPPH, поглощению оксида азота, хелатированию металлов и снижению энергетической активности. Результаты сопоставляли с использованием критерия множественного сравнения Ньюмана-Кеулса. Было установлено, что экстракт этилацетата из *N. oculata* имеет самое высокое общее содержание фенола ( $82,07 \pm 1,32$  мг галловой кислоты на  $g^{-1}$  экстракта). Максимальное содержание флавоноидов обнаружено у *Enteromorpha* sp. ( $74,79 \pm 0,91$  мг кверцетина на  $1 g^{-1}$  экстракта). Наивысшая активность по удалению радикалов DPPH ( $67,73 \pm 0,39\%$ ) наблюдалась у этилацетатного экстракта из *P. scopulorum*, максимальную активность по удалению оксида азота и хелатную активность металлов проявил этилацетатный экстракт *N. oculata*. Наибольшая восстанавливающая активность наблюдалась в метанольном экстракте *P. scopulorum*. Этилацетатные экстракты *P. scopulorum* и *N. oculata* проявляли значительную антиоксидантную активность, что может быть связано с их фенольными и флавоноидными соединениями.

К л ю ч е в ы е с л о в а : морские водоросли, *Nannochloropsis oculata*, *Enteromorpha* sp., *Polysiphonia scopulorum*, антиоксидантная активность

### Введение

Известно, что антиоксиданты могут защищать организм человека от ряда заболеваний, среди которых сердечно-сосудистые, онкологические,

© Эбрахимзаде М.А., Халили М., Депур А.А., 2019

неврологические и др. заболевания (Urquiaga, Leighton, 2000). Некоторые съедобные водоросли содержат антиоксидантные компоненты и ферменты, витамины, белки, полифенолы, полисахариды и пищевые волокна (Sameeh et al., 2016). Вторичные метаболиты, продуцируемые водорослями, проявляют биологическую активность, демонстрируя противозрастной, противовоспалительный, антибиотический, противогрибковый, противомаларийный и противораковый эффекты (Jiménez-Escrig et al., 2001; Fernando et al., 2016). Активные формы кислорода повреждают живые организмы, содержащие хлорофилл, не нанося вреда водорослям, что связано с высоким содержанием антиоксидантов (Lim et al., 2002). Природные антиоксиданты могут представлять собой как простые фенольные соединения, так и сложные структуры, например полифенолы (Agatonovic-Kustrin, Morton, 2017). В этом исследовании мы оценивали антиоксидантную активность экстрактов этилацетата (ЭА) и метанола (МЕ), выделенных из водорослей *Polysiphonia scopulorum*, *Enteromorpha* sp. и *Nannochloropsis oculata*.

## Материалы и методы

### Отбор и подготовка образцов

Материалом для исследований послужили талломы *Enteromorpha* sp. и *P. scopulorum*, отобранные на побережье Каспийского моря в провинции Мазандаран осенью 2015 г., а также культура одноклеточной водоросли *N. oculata*, которую выращивали на среде Гилларда. Образцы высушивали на открытом воздухе, затем измельчали.

Для получения этилацетатного экстракта 10 г каждого образца помещали в декантер и инкубировали с этилацетатом, который заменяли через 24 ч в течение трех суток. Раствор выпаривали и сушили с помощью сублимационной сушилки (Zirbus, Va Co5). К остатку добавляли метанол, который также заменяли трижды каждые 24 ч.

### Определение общего содержания фенола и флаваноидов

Содержание фенольных соединений в экстрактах определяли по методу Фолина-Чокальтеу: 0,5 мл каждого экстракта (800 мкг/мл) смешивали с реактивом Фолина-Чокальтеу (концентрация 0,2 N), к которому через 5 мин добавляли 2 мл карбоната натрия в концентрации 75 г/л. После 2 ч инкубации при комнатной температуре измеряли оптическую плотность раствора при 760 нм с использованием спектрофотометрии (Ebrahimzadeh et al., 2015).

Общее содержание флаваноидов устанавливали по описанной ранее методике (Ebrahimzadeh et al., 2015): 0,5 мл каждого экстракта в концентрации 800 мкг/мл разбавляли 1,5 мл метанола, к которому добавляли 0,1 мл хлорида алюминия, 0,1 мл ацетата калия (1 M) и 2,8 мл дистиллированной воды. После 35 мин инкубации при комнатной температуре скорость поглощения растворов измеряли методом спектрофотометрии при 415 нм.

### Измерение общей антиоксидантной активности методом DPPH

Общую антиоксидантную активность устанавливали по описанному ранее методу DPPH (Ebrahimzadeh et al., 2015). К каждому экстракту (концентрация 400 мкг/мл) добавляли 1 мл DPPH (0,1 М), затем инкубировали в темноте при комнатной температуре. Абсорбцию полученной смеси измеряли с помощью спектрофотометрии при 517 нм. В качестве стандарта использовали бутилированный гидроксианизол (ВНА). Величину активности по удалению свободных радикалов определяли по формуле:

$$\text{Эффект очистки (\%)} = \left( \frac{A_{Blank} - A_{Sample}}{A_{Blank}} \right) \times 100$$

где  $A_{Blank}$  – абсорбция контрольной реакции (содержащей все реагенты, кроме тестируемого образца),  $A_{Sample}$  – абсорбция тестируемой фракции.

### Измерение железохелатирующей активности

Активность хелатирования железа оценивали, как описано ранее (Ebrahimzadeh et al., 2015). К 400 мкг/мл каждого экстракта добавляли 2,8 мл дистиллированной воды, 50 мкл хлорида Fe (II) (50 мМ) и 150 мкл феррозина (5 мМ), затем подвергали спектрофотометрическому анализу при 562 нм. Активность хелатирования железа рассчитывали по уравнению:

$$I (\%) = \left( \frac{A_{Blank} - A_{Sample}}{A_{Blank}} \right) \times 100$$

### Анализ активности поглощения оксида азота

Активность поглощения оксида азота анализировали описанным ранее способом (Ebrahimzadeh et al., 2010; Ebrahimzadeh, Ebrahimzadeh, 2014). Нитропруссид натрия в водной среде (рН 7) вырабатывал оксид азота, который реагировал с кислородом в воздухе и продуцировал нитрит. Коэффициент продуцирования нитрита измеряли по реакции с реактивом Грисса. К 400 мкг/мл каждого экстракта добавляли нитропруссид натрия (10 мМ) и инкубировали в течение 150 мин, затем добавляли 0,5 мл реагента Грисса [1% сульфамида, 2%  $H_3PO_4$  и 0,1% N-(1-нафтил)]. Абсорбцию определяли с помощью спектрофотометрии при длине волны 546 нм, в качестве стандарта использовали кверцетин.

### Оценка восстанавливающей способности экстрактов

Пять концентраций (100, 200, 400, 800 и 1600 мкг/мл) каждого экстракта смешивали с фосфатным буфером 0,2 М (2,5 мл, рН 6,5) и 1%-ным раствором ферроцианида калия (рис. 1). Смесь инкубировали 20 мин при 50 °С. Реакцию останавливали трихлоруксусной кислотой (2,8 мл, 10%), центрифугировали при 3000 g в течение 10 мин. Верхнюю фазу раствора (2,5 мл) смешивали с 2,5 мл дистиллированной воды и

0,5 мл хлорида железа (0,1%), затем полученный раствор фотометрически измеряли при 700 нм. В качестве стандарта использовали аскорбиновую кислоту (Ebrahimzadeh et al., 2015).

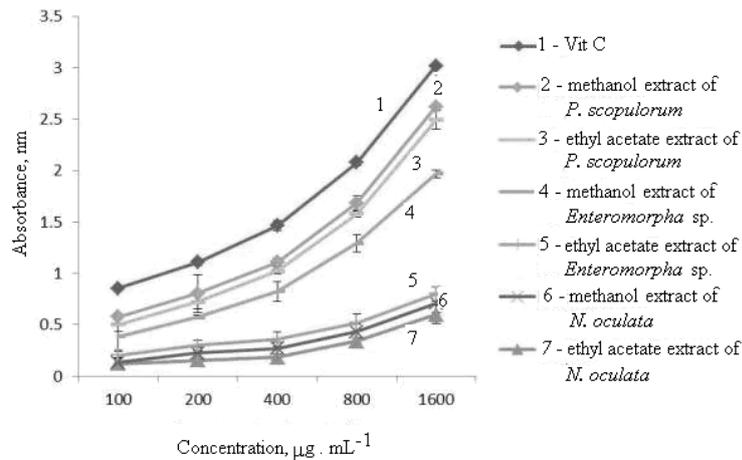


Рис. 1. Восстановительная способность метанольных и этилацетатных экстрактов *Nannochloropsis oculata*, *Enteromorpha* sp. и *Polysiphonia scopulorum* при различных их концентрациях (среднее значение  $\pm$  SD)

#### Статистический анализ

Полученные данные были проанализированы с помощью программного обеспечения GraphPad Prism 5. Измерения проводили в трех повторностях, результаты выражали как среднее значение  $\pm$  стандартное отклонение (SD). Данные оценивали с помощью одностороннего дисперсионного анализа (ANOVA). Средние значения сравнивали с помощью критерия множественных сравнений Ньюмена-Кеулса ( $p < 0,5$ ).

#### Результаты

Коэффициент извлечения приведен в таблице. Максимальный выход экстрактов был получен в метанольном (59,8%) и этилацетатном (48,4%) экстрактах *Enteromorpha* sp. Как видно из таблицы, эффективность экстрагирования метанолом в целом была выше, чем при получении этилацетатных экстрактов ( $p < 0,01$ ).

Максимальное и минимальное содержание общего фенольного компонента было получено в метанольных экстрактах *Enteromorpha* sp. и *N. oculata* ( $p < 0,01$ ) ( $58,21 \pm 0,98$  и  $29,06 \pm 0,56$  мг эквивалента галловой кислоты, г<sup>-1</sup> экстракта соответственно).

Этилацетатный экстракт *N. oculata* и метанольный экстракт *Enteromorpha* sp. имели самые высокие показатели общего содержания флавоноидов ( $82,07 \pm 1,32$  и  $74,79 \pm 0,91$  мг кверцетин-эквивалент, г<sup>-1</sup> экстракта соответственно). Другие экстракты существенно отличались между собой ( $p < 0,001$ ) (см. таблицу).

Показатели антиоксидантной активности полученных экстрактов ( $400 \text{ мкг} \cdot \text{мл}^{-1}$ ) по удалению свободных радикалов DPPH показаны на рис. 2. Они образуют следующий ряд: МЕ *Enteromorpha* sp. < МЕ *N. oculata* < ЭА *Enteromorpha* sp. < ЭА *N. oculata* < МЕ *P. scopulorum* < ЭА *P. scopulorum*. Этилацетатный экстракт может поглощать  $67,73 \pm 0,39 \%$  свободных радикалов DPPH ( $p < 0,001$ ). В качестве положительного контроля использовали ВНА ( $IC_{50} = 53,96 \pm 3,1 \text{ мкг} \cdot \text{мл}^{-1}$ ).

Таблица

Эффективность, общее содержание фенола и флавоноидов в метанольном (МЕ) и этилацетатном (ЭА) экстрактах *Nannochloropsis oculata*, *Enteromorpha* sp. и *Polysiphonia scopulorum* (среднее  $\pm$  стандартное отклонение)

Образец	Эффективность, %	Общее содержание фенола (1 мг эквивалента галловой кислоты, $\text{г}^{-1}$ экстракта)	Общее содержание флавоноидов (1 мг эквивалента кверцетина, $\text{г}^{-1}$ экстракта)
ЭА <i>N. oculata</i>	2,43	$38,22 \pm 0,34$	$82,07 \pm 1,32$
МЕ <i>N. oculata</i>	37,8	$29,06 \pm 0,56$	$28,69 \pm 1,07$
ЭА <i>Enteromorpha</i> sp.	48,4	$29,39 \pm 0,19$	$27,58 \pm 1,21$
МЕ <i>Enteromorpha</i> sp.	59,8	$58,21 \pm 0,98$	$74,79 \pm 0,91$
ЭА <i>P. scopulorum</i>	4,2	$39,49 \pm 0,69$	$35,51 \pm 0,89$
МЕ <i>P. scopulorum</i>	29,6	$30,03 \pm 0,21$	$28,1 \pm 1,02$

Процент удаления свободных радикалов оксида азота показан на рис. 2. Наибольшую активность по удалению оксида азота ( $67/86 \pm 1,09\%$ ,  $p < 0,001$ ) проявлял этилацетатный экстракт *N. oculata*. На втором месте был метанольный экстракт *P. scopulorum*. Примечательно, что этилацетатный экстракт *P. scopulorum* проявлял минимальную активность ( $42,05\% \pm 0,23$ ) по поглощению свободных радикалов оксида азота. В качестве стандарта использовали кверцетин ( $IC_{50} = 5,28 \pm 0,2 \text{ мкг} \cdot \text{мл}^{-1}$ ).

Активность хелатирования железа экстрактами разных видов водорослей показана на рис. 2. Наиболее сильным хелатирующим эффектом ( $83,80\% \pm 1,09$ ) ( $p < 0,001$ ) обладал этилацетатный экстракт *N. oculata* ( $400 \text{ мкг} \cdot \text{мл}^{-1}$ ). Метанольный экстракт этого вида, напротив, имел наименьший показатель активности хелатирования железа ( $10,98\% \pm 2,5$ ). В качестве положительного контроля использовали EDTA ( $IC_{50} = 18,27 \pm 0,09 \text{ мкг} \cdot \text{мл}^{-1}$ ).

Результаты изучения восстановительной способности экстрактов показаны на рис. 1. Наибольшая такая способность была отмечена в метанольном и этилацетатном экстрактах *P. scopulorum*, наименьшая – в этилацетатном и метанольном экстрактах *N. oculata*. Все данные сравнивали с контролем, в качестве которого использовали витамин С.

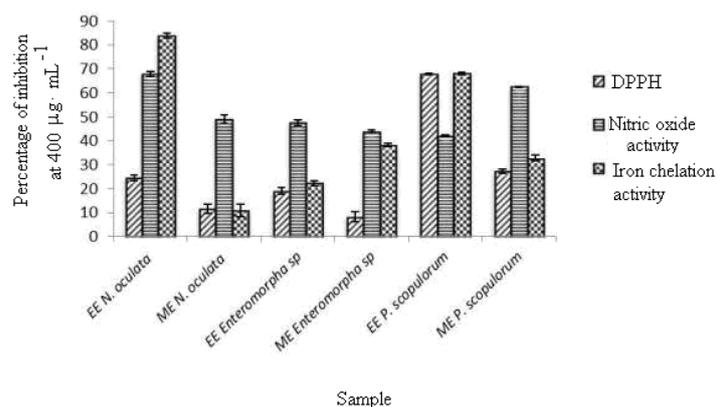


Рис. 2. Очистка от свободных радикалов DPPH и оксида азота, активность по хелатированию железа этилацетатного (ЭА) и метанольного экстрактов (МЕ) *Nannochloropsis oculata*, *Enteromorpha* sp. и *Polysiphonia scopulorum* (среднее значение  $\pm$  SD)

### Обсуждение

Наше исследование подтвердило, что наиболее эффективным раствором для получения экстрактов водорослей является метанол и что водоросли могут быть источником полярных соединений. Как следует из результатов, полученных нами ранее, а также данных других авторов, эффективность метанольного экстракта выше, чем этилацетатного (Cheung et al., 2003; Ebrahimzadeh et al., 2010, 2015, 2018; Fernando et al., 2016).

Полифенолы и флавоноиды относятся к вторичным метаболитам и являются природными антиоксидантами. Они имеют гидроксильную группу, которая вступает в реакцию со свободными радикалами, супероксидом и хелаторами железа (Ebrahimzadeh et al., 2015; Khalili, Ebrahimzadeh, 2015). Природные соединения с давних пор используются для лечения различных заболеваний (Ebrahimzadeh et al., 2015; Khalili et al., 2015). Исследования показали, что антиоксидантная активность связана с общим содержанием фенолов и флавоноидов (Cheung et al., 2003; Ebrahimzadeh et al., 2015).

Наибольшее общее содержание фенолов и флаваноидов получено в этилацетатных экстрактах двух из трех исследуемых видов – *N. oculata* и *P. scopulorum*. Ранее было установлено, что экстракты, полученные с использованием этилацетата, содержат больше фенольных и флаваноидных соединений, чем полученные с помощью других веществ (Cheung et al., 2003; Ebrahimzadeh et al., 2018). В случае с *Enteromorpha* sp. результаты были обратными: общее содержание фенолов и флаваноидов в метанольном экстракте было выше, чем в этилацетатном. Возможно, это связано с тем, что изученные виды водорослей содержат фенольные соединения и флаваноиды с разной полярностью.

Этилацетатные экстракты из двух видов грибов содержали большее количество фенольных соединений и флаваноидов (Ebrahimzadeh et al., 2010).

DPPH является свободным радикалом с атомом азота, который улавливается антиоксидантными соединениями водорода и при восстановлении превращает фиолетовый цвет в желтый (Khali, Ebrahimzadeh, 2015). По некоторым данным (Shon et al., 2004; Mozdastan et al., 2015), существует значительная корреляция между антиоксидантной активностью и фенолами, а также флаваноидами, содержащимися во многих растениях. Наши результаты показали, что наибольшая задержка свободных радикалов DPPH наблюдается в этилацетатном экстракте *P. scopulorum* (он содержит больше фенольных соединений, чем метанольный экстракт). Этилацетатный экстракт водорослей более способен к удалению свободных радикалов DPPH, чем метанольный экстракт (Ebrahimzadeh et al., 2018). Метанольный экстракт лука обладает мощным эффектом очистки от свободных радикалов DPPH (Shon et al., 2004). Экстракт *Torilis leptophylla* также имеет большую способность к удалению свободных радикалов DPPH (Saeed et al., 2012).

Оксид азота является активным радикалом с низкой концентрацией, который регулирует некоторые физиологические процессы, как например, воспаление или высокое кровяное давление, а также обмен веществ и усвоение глюкозы. Иммунная система человека не может инактивировать свободные радикалы азота в больших дозах, если они возникли в результате окислительного стресса, вызывающего повреждение ДНК, разрушение белка и перекисное окисление липидов (Khali, Ebrahimzadeh, 2015). Такие антиоксиданты, как фенольные и полифенольные соединения могут поглощать свободные радикалы оксида азота. Реагент Грисса используется для измерения свободных радикалов оксида азота, оптическая плотность проявляется при 548 нм (Ebrahimzadeh et al., 2015). Наши результаты показали, что этилацетатный экстракт *N. oculata* и *P. scopulorum* является наиболее мощным средством удаления свободных радикалов оксида азота, что согласуется с данными наших предыдущих исследований (Ebrahimzadeh et al., 2018).

Тяжелые металлы могут действовать как катализатор окислительных реакций, что приводит к повреждению ДНК и перекисному окислению липидов. Одним из них является железо. Оно вызывает реакцию Фентона и образует гидроксильные свободные радикалы. Некоторые из натуральных продуктов способны хелатировать железо, что задерживает его избыток, создает устойчивые соединения и выводит их через мочу или стул (Khali, Ebrahimzadeh, 2015; Khali et al., 2015). Хелаторы железа необходимы при лечении таких заболеваний, как талассемия, болезни Альцгеймера, Паркинсона и др., при которых повышается уровень железа в организме (Khali et al., 2015; Mozdastan et al., 2015). Наши исследования показали, что максимальную хелатообразующую актив-

ность железа имеют этилацетатные экстракты *N. oculata* и *P. scopulorum*. Ранее мы показали, что метанольные экстракты грибов золотая лисичка (*Cantarellus formosus*) и крылья ангела (*Pleurocybella porrigens*) способны хелатировать железо (Ebrahimzadeh et al., 2010).

Некоторые природные компоненты обладают способностью снижать энергетическую активность, которая защищает липиды от перекисного окисления (Khali, Ebrahimzadeh, 2015). Наибольшей восстанавливающей активностью обладают этилацетатный и метанольный экстракты *P. scopulorum*. Этилацетатный экстракт показал бóльшую антиоксидантную активность, чем метанольный экстракт (Ebrahimzadeh et al., 2010, 2018).

### Заключение

Исследование антиоксидантной активности трех видов морских водорослей с использованием различных подходов показало, что этилацетатные экстракты *Enteromorpha* sp., *Nannochloropsis ocula* и *Polysiphonia scopulorum* имеют значительное ингибирующее влияние на свободные радикалы. То, что этилацетатные экстракты из *N. oculata* и *P. scopulorum* имели наибольшее общее содержание фенольных соединений и флавоноидов, а также демонстрировали наибольшую антиоксидантную активность, возможно, связано с их фенольными и флавоноидными соединениями. Это позволяет рекомендовать этилацетатный экстракт *N. oculata* и *P. scopulorum* для дальнейших исследований в условиях *in vivo*.

### REFERENCES

- Agatonovic-Kustrin S., Morton D.W. 2017. Quantification of polyphenolic antioxidants and free radical scavengers in marine algae. *J. Appl. Phycol.* 29: 1–8.
- Cheung L.M., Cheung P.C.K., Ooi V.E.C. 2003. Antioxidant activity and total phenolics of edible mushroom extracts. *Food. Chem.* 81: 249–255.
- Ebrahimzadeh M.A., Ebrahimzadeh M.K. 2014. Antioxidant activity of different fractions of *Cantharellus cibarius* methanolic extract. *Int. J. Med. Mushrooms* (accepted).
- Ebrahimzadeh M.A., Khalili M., Dehpour A.A. 2018. Antioxidant activity of ethyl acetate and methanolic extracts of two marine algae, *Nannochloropsis oculata* and *Gracilaria gracilis* – an in vitro assay. *Braz. J. Pharm. Sci.* 54(1): e17280.
- Ebrahimzadeh M.A., Nabavi S.M., Nabavi S.F., Eslami S. 2010. Antioxidant and free radical scavenging activities of culinary-medicinal mushrooms, golden chanterelle *Cantharellus cibarius* and Angel's wings *Pleurotus porrigens*. *Int. J. Med. Mushrooms.* 12(3): 265–272.
- Ebrahimzadeh M.A., Safdari Y., Khalili M. 2015. Antioxidant activity of different fractions of methanolic extract of the golden chanterelle mushroom *Cantharellus cibarius* (higher basidiomycetes) from Iran. *Int. J. Med. Mushrooms.* 17(6): 557–565.
- Fernando I.S., Kim M., Son K.-T., Jeong Y., Jeon Y.-J. 2016. Antioxidant activity of marine algal polyphenolic compounds: a mechanistic approach. *J. Med. Food.* 19(7): 615–628.

- Jiménez-Escrig A., Jiménez-Jiménez I., Pulido R., Saura-Calixto F. 2001. Antioxidant activity of fresh and processed edible seaweeds. *J. Sci. Food. Agric.* 81(5): 530–534.
- Khalili M., Ebrahimzadeh M.A. 2015. A review on antioxidants and some of their common evaluation methods. *J. Mazandaran Univ. Med. Sci.* 24(120): 188–208.
- Khalili M., Ebrahimzadeh M.A., Kosaryan M., Abbasi A., Azadbakht M. 2015. Iron chelation and liver disease healing activity of edible mushroom (*Cantharellus cibarius*), in vitro and in vivo assays. *RSC Adv.* 5(7): 4804–4810.
- Lim S., Cheung P., Ooi V., Ang P. 2002. Evaluation of antioxidative activity of extracts from a brown seaweed. *Sargassum siliquastrum*. *J. Agr. Food. Chem.* 50(13): 3862–3866.
- Mozdastan S., Ebrahimzadeh M.A., Khalili M. 2015. Comparing the impact of different extraction methods on antioxidant activities of myrtle (*Myrtus communis* L.). *J. Mazandaran Univ. Med. Sci.* 25(127): 10–24.
- Saeed N., Khan M.R., Shabbir M. 2012. Antioxidant activity, total phenolic and total flavonoid contents of whole plant extracts *Torilis leptophylla* L. *BMC Complement. and Altern. Med.* 12: 221.
- Sameeh M.Y., Mohamed A.A., Elazzazy A.M. 2016. Polyphenolic contents and antimicrobial activity of different extracts of *Padina boryana* Thivy and *Enteromorpha* sp. marine algae. *J. Appl. Pharm. Sci.* 6(9): 87–92.
- Shon M.-Y., Choi S.-D., Kahng G.-G., Nam S.-H., Sung N.-J. 2004. Antimutagenic, antioxidant and free radical scavenging activity of ethyl acetate extracts from white, yellow and red onions. *Food. Chem. Toxicol.* 42(4): 659–666.
- Urquiaga I., Leighton F. 2000. Plant polyphenol antioxidants and oxidative stress. *Biol. Res.* 33(2): 55–64.

Поступила 08.01.2019

Подписала в печать О.Н. Виноградова

ISSN 0868-854 (Print)

ISSN 2413-5984 (Online). *Algologia*. 2019, 29(1): 30–39

<https://doi.org/10.15407/alg29.01.030>

*Ebrahimzadeh M.A.*<sup>1</sup>, *Khalili M.*<sup>2</sup>, *Dehpour A.A.*<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Pharmaceutical Science Research Center, School of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

<sup>2</sup>Neuroscience Research Center, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran

<sup>3</sup>Department of Biology, Islamic Azad University, Branch of Qaemshahr, Qaemshahr, Iran

#### ETHYL ACETATE AND METHANOLIC EXTRACTS FROM THREE ALGAE AND THEIR POTENTIAL ANTIOXIDANT ACTIVITY *IN VITRO*

Marine algae produce secondary metabolites with antioxidant activity and therapeutic effects. The aim of this study was to evaluate the antioxidant activity of ethyl acetate and methanolic extracts of three algal species: *Nannochloropsis oculata* (Droop) D.J. Hibberd, *Enteromorpha* sp., and *Polysiphonia scopulorum* Harvey. Ethyl acetate and methanolic extracts were prepared using the percolation method and evaluated for DPPH radical scavenging activity, nitric oxide scavenging activity, metal chelating activity, and reducing power activity. The means were compared using the Newman-Keuls Multiple Comparison

test. The ethyl acetate extract of *N. oculata* was found to have the highest total phenol content ( $82.07 \pm 1.32$  mg gallic acid equivalent  $\text{g}^{-1}$  of extract). The maximum flavonoid content belonged to *Enteromorpha* sp. ( $74.79 \pm 0.91$  quercetin equivalent  $\text{g}^{-1}$  of extract). The maximum DPPH radical scavenging activity ( $67.73 \pm 0.39\%$ ) belonged to ethyl acetate extract of *P. scopulorum*. The maximum nitric oxide scavenging activity and metal chelating activity belonged to ethyl acetate extract of *N. oculata*. The highest reducing power activity was observed in the methanolic extract of *P. scopulorum*. Ethyl acetate extracts of *P. scopulorum* and *N. oculata* show significant antioxidant activity, which may be due to their phenolic and flavonoid compounds.

**Key words:** marine algae, *Nannochloropsis oculata*, *Enteromorpha* sp., *Polysiphonia scopulorum*, antioxidant activity