



## Quantitative and Qualitative Identification of Polyhydroxylated Naphthoquinone Pigments from Shell and Spine of Echinometra Mathaei of the Persian Gulf

### ARTICLE INFO

#### Article Type

Original Research

#### Authors

Soleimani S.<sup>1</sup> PhD,  
Yousefzadi M.<sup>\*1</sup> PhD,  
Rezadoost H.<sup>2</sup> PhD

#### How to cite this article

Soleimani S, Yousefzadi M, Rezadoost H. Quantitative and Qualitative Identification of Polyhydroxylated Naphthoquinone Pigments from Shell and Spine of Echinometra Mathaei of the Persian Gulf. Modares Journal of Biotechnology. 2018;9(4):501-506.

<sup>1</sup>Marine Biology Department, Marine Science & Technology Faculty, University of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran

<sup>2</sup>Phytochemistry Department, Plants & Pharmaceutical Ingredients Institute, Shahid Bahehti University, Bandar Abbas, Iran

#### \*Correspondence

Address: University of Hormozgan, Kilometer 9 of Minab Road, Bandar Abbas, Hormozgan Province, Iran  
Phone: +98 (76) 33711025  
Fax: +98 (76) 33711025  
morteza110110@gmail.com

#### Article History

Received: October 5, 2016

Accepted: February 20, 2017

ePublished: December 21, 2018

### ABSTRACT

**Aims** The important achievement of genetic analysis of Quantitative trait locus (QTLs) is to facilitate the investigation of the inheritance of simple Mendelian traits. The aim of this study was mapping genes controlling morphological traits in F3 Families caused by Becher×Kavir cross in barley. Sea urchins have been extensively studied due to the commercial importance of their gonads in the global industry. Although after removal of the edible gonads, the remaining shell and spines are usually discarded, they are known to possess various polyhydroxylated naphthoquinone (PHNQ) pigments. The aim of the present research was quantitative and qualitative identification of PHNQ pigments from shell and spine of Echinometra Mathaei of the Persian Gulf.

**Materials & Methods** In this experimental study, the Echinometra mathaei was used as the sea urchin test sample. Sea urchins were collected in 2013 from Zeytoon Park in Qeshm Island, Persian Gulf. Shell and spine pigments were extracted by hydrochloric acid from sea urchin. Then, the quantity of Naphthoquinone compounds was evaluated by spectrophotometric and their quality was evaluated by Liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS) and High-performance liquid chromatography (HPLC). The data were analysed by ANOVA and Duncan's new multiple range test at 5% probability level, using SPSS 19 software and the diagrams were drawn by Excel 2013 software.

**Findings** The most pigments were Spinochrome A, C, B, and Echinochrome A, respectively. The presence of PHNQ pigments were confirmed in pigments Spinochrome B and C, Echinochrome A, and Spinochrome A, respectively.

**Conclusion** The presence of each of the four pigments in shell and spine pigments is confirmed by quantitative and qualitative methods. The most pigments are Spinochrome A, C, B, and Echinochrome A, respectively.

**Keywords** Polyhydroxylated Naphthoquinone; LC-MS; HPLC; Sea Urchins

### CITATION LINKS

[1] Bioactive potential of sea urchin Temnopleurus toreumaticus from Devanampattinam, Southeast coast of India [2] New marine derived anticancer therapeutics- a journey from the sea to clinical trials [3] Proteomic profiles reveal age-related changes in coelomic fluid of sea urchin species with different life spans [4] The process of long and location changes of sea star (Astropecten hemprichi) and sea urchin (Diadema setosum) in the coast of Chabahar Gulf [5] Experimental field tests of natural algal diets on gonad index and quality in the green sea urchin, Strongylocentrotus droebachiensis: a case for rapid summer production in post-spawned animals [6] Chemical composition of shells from red (Strongylocentrotus franciscanus) and green (Strongylocentrotus droebachiensis) sea urchin [7] Extraction and antioxidant property of polyhydroxylated naphthoquinone pigments from spines of purple sea urchin Strongylocentrotus nudus [8] Quantitative separation of antioxidant pigments in purple sea urchin shells using a reversed-phase high performance liquid chromatography [9] Distribution of Spinochrome pigments in echinoids [10] Evaluation of antioxidant activity and polyphenolic content of sea urchin Echinometra mathaei from the Persian Gulf [11] Antioxidant property of polyhydroxylated naphthoquinone pigments from shells of purple sea urchin Anthocidaris crassispina [12] Studies on the echinoderm fauna of the western Arabian Gulf [13] Environmental factors affecting benthic infaunal communities of the Western Arabian Gulf [14] Extraction and identification of antioxidant polyhydroxy naphthoquinone pigments from the sea urchin [15] The offline combination of thin-layer chromatography and high-performance liquid chromatography with diode array detection and micrOTOF-Q mass spectrometry for the separation and identification of spinochromes from sea urchin (Strongylocentrotus droebachiensis) shells

## شناسایی و سنجش کمی و کیفی ترکیبات پلی‌هیدروکسیلات نفتاکینونی پوسته و خار توتیای دریایی/کینومترا ماتایی خلیج فارس

سولماز سلیمانی PhD

گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران

مرتضی یوسف زادی\* PhD

گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران

حسن رضادوست PhD

گروه فیتوشیمی، پژوهشکده گیاهان و مواد اولیه دارویی، دانشگاه شهید بهشتی، بندرعباس، ایران

### چکیده

**اهداف:** توتیاهای دریایی به دلیل اهمیت تجاری گنادشان در صنعت جهانی بسیار مورد مطالعه قرار گرفته‌اند. اگر چه بعد از برداشتن گنادهای خوراکی، باقی‌مانده پوسته‌ها و خارها به عنوان زیاله غذایی بدون استفاده بیشتر دور ریخته می‌شود، اما پوسته‌ها دارای رنگدانه‌های پلی‌هیدروکسیلات-۴و۱- نفتاکینون (PHNQ) متنوع هستند. هدف مطالعه حاضر، شناسایی و سنجش کمی و کیفی ترکیبات پلی‌هیدروکسیلات نفتاکینونی پوسته و خار توتیای دریایی/کینومترا ماتایی (*Echinometra mathaei*) خلیج فارس بود.

**مواد و روش‌ها:** در این مطالعه تجربی، گونه/کینومترا ماتایی برای نمونه توتیای دریایی مورد آزمایش، تشخیص داده شد. توتیاهای دریایی در فروردین ۱۳۹۳ از ساحل پارک زیتون واقع در جزیره قشم خلیج فارس جمع‌آوری شدند. رنگدانه‌های پوسته و خار به کمک هیدروکلریک اسید از توتیای دریایی استخراج شد. سپس کمیت ترکیبات نفتاکینونی به کمک روش طیف‌سنجی و با استفاده از اسپکتروفتومتری و کیفیت آنها با استفاده از روش کروماتوگرافی مایع طیف‌سنج جرمی (LC-MS) و کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) ارزیابی شد. تحلیل آماری داده‌ها با آزمون تحلیل واریانس و مقایسه میانگین با آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ و با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS 19 و رسم نمودار با نرم‌افزار Excel 2013 انجام گرفت.

**یافته‌ها:** بیشترین رنگدانه‌ها از نظر کمی، به ترتیب اسپینوکروم A، C، B و اکینوکروم A بودند. حضور رنگیزه‌های PHNQ موجود در رنگدانه‌ها، به ترتیب اسپینوکروم B و C، اکینوکروم A و اسپینوکروم A تایید شد.

**نتیجه‌گیری:** حضور هر یک از چهار رنگیزه در رنگدانه‌های خار و پوسته با استفاده از روش‌های کمی و کیفی مورد تایید است. بیشترین رنگدانه‌ها به ترتیب، اسپینوکروم A، C، B و اکینوکروم A هستند.

**کلیدواژه‌ها:** پلی‌هیدروکسیلات نفتاکینون، کروماتوگرافی مایع- طیف‌سنج جرمی، کروماتوگرافی مایع، کار، توتیای دریایی

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۷/۱۴

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۱۲/۰۲

\*نویسنده مسئول: morteza110110@gmail.com

### مقدمه

محیط دریایی به عنوان یک منبع استثنایی از تولیدات طبیعی، از نظر زیستی فعال بوده و بسیاری از خصوصیات ساختمانی و شیمیایی که در تولیدات طبیعی زمینی یافت نمی‌شوند را نشان می‌دهد. این محیط، غنی‌ترین منبع و یک فرصت بزرگ برای کشف ترکیبات فعال زیستی جدید است. امروزه تکنولوژی‌های مدرن، راه تحقیق را برای کشف ترکیبات دارویی زیستی از اقیانوس‌ها و دریاها برای درمان بیماری‌های کشنده و مهلک باز می‌کنند. تعداد تولیدات طبیعی استخراج شده از ارگانیزم‌های دریایی به سرعت در حال افزایش است و هر ساله با کشف صدها ترکیب جدید به تعداد آنها افزوده می‌شود[1].

ترکیبات طبیعی از دوران باستان به عنوان مهم‌ترین منبع تهیه داروها مورد توجه بوده‌اند و اکنون نیمی از داروهای مورد استفاده انسان منشأ طبیعی دارند و در سال‌های اخیر گرایش جدیدی به جداسازی ترکیبات فعال زیستی از منابع طبیعی مشاهده می‌شود. علت این امر، دردسترس بودن بیشتر این ترکیبات و تهیه آنها از منابع تجدیدشدنی، سمیت کمتر ترکیبات طبیعی و نیز کم‌هزینه بودن تهیه اغلب آنها نسبت به ترکیبات شیمیایی سنتزی است[2].

هر چند اهمیت توتیاهای دریایی به عنوان یک ارگانیزم مدل برای تحقیقات علمی و شباهت تاکسونومی آنها به مهره‌داران از جمله انسان شناخته شده است[3]، اما متأسفانه این منبع ارزشمند تا حدود زیادی نادیده گرفته شده است.

توتیاهای دریایی بالغ به دلیل اهمیت تجاری گنادشان در صنعت جهانی بسیار مورد مطالعه و بحث قرار گرفته‌اند[4, 5]. گناد توتیای دریایی یک غذای محبوب و مشهور در بسیاری از کشورها به شمار می‌رود[6]. توتیای دریایی دارای ۵ گناد متصل به دیواره داخلی است که هر کدام به شکل نیمه‌ماه بوده و مشتمل بر صدها دانه انگورمانند هستند که آن را شبیه به خوشه انگور می‌کند. گنادها، ارگانی زرد تا قهوه‌ای‌رنگ هستند و تقریباً ۱۰٪ وزن کل جانور را تشکیل می‌دهند[7].

اگر چه بعد از برداشتن گنادهای خوراکی، باقی‌مانده پوسته‌ها و خارها به طور عمومی به عنوان زیاله غذایی بدون استفاده بیشتر از آنها دور ریخته می‌شود، اما پوسته‌ها دارای رنگدانه‌های پلی‌هیدروکسیلات-۱ و ۴- نفتاکینون (PHNQ) متنوع هستند[8]. رنگدانه‌های PHNQ در یک ساختار کربنات‌کلسیمی در پوسته و خار توتیای دریایی محصور شده‌اند[7].

حضور رنگدانه‌های نفتاکینونی در توتیاهای دریایی، از سال ۱۸۸۳ به بعد ثبت شد. اولین بار مک‌مون حضور رنگدانه اکینوکروم را در اکینونوس گزارش کرد. کریستال‌های اکینوکروم A توسط مک‌کلندون استخراج شده بود، اما تا سال ۱۹۳۴ نمونه خالص به دست نیامده بود[9]. ژرو و همکاران برای اولین بار رنگدانه کینوئید (اسپینوکروم A) را در خار توتیای دریایی (*Paracentrotus lividus*) شناسایی کردند[7]، سپس ساختار آنها توسط کوهن و ولفنس مشخص شد و به وسیله سنتز ترکیبات، این ساختارها تایید شد. در ۳۰ سال گذشته، به تدریج معلوم شد که رنگدانه‌های متعددی در خارها و پوسته‌های توتیاهای دریایی وجود دارند[9].

تقریباً همه رنگدانه‌های کینوئید دارای ساختار PHNQ هستند که با اتیل‌استات، متوکسی و آمینو جایگزین می‌شوند. توزیع رنگدانه‌های PHNQs، تفاوت در شناسایی گونه‌های توتیا را نشان می‌دهد[7]. گروه‌های هیدروکسیل فنولیک در این رنگدانه‌ها، بر نقش آنها در فعالیت آنتی‌اکسیدانی نیز اشاره می‌کند[8]. بنابراین رنگدانه‌های PHNQ توتیای دریایی ارغوانی، فعالیت آنتی‌باکتریال، آنتی‌جلبک، ضد قلبی- عروقی و آنتی‌اکسیدانی[7, 10] مانند فعالیت ضد رادیکالی در برابر دی‌فنیل‌پیکریل‌هیدرازیل (DPPH)، رادیکال سوپراکسید آنیون و پراکسید هیدروژن را نشان داد[6]. از این رو پوسته و خار توتیای دریایی که بعد از خارج کردن گناد آنها بدون استفاده به زیاله ریخته می‌شوند، احتمالاً یک منبع زیستی فعال جدید طبیعی باشند[11]. بنابراین تلاش برای شناسایی و استخراج این ترکیبات به ویژه گونه‌های توتیای دریایی موجود در خلیج فارس به عنوان یک منبع بالقوه بسیار حایز اهمیت است.

$$A = \epsilon cl$$

که  $A$  بیان‌کننده میزان نور جذب‌شده توسط محلول،  $\epsilon$  ضریب خاموشی مولی ( $\text{mol.L}^{-1}.\text{cm}^{-1}$ )،  $c$  غلظت ماده مورد نظر ( $\text{mol.L}^{-1}$ ) و  $l$  مسافت طی‌شده توسط نور (قطر کووت، یک‌سانتی‌متر) است.

بعد از اندازه‌گیری میزان رنگی‌ها و شناسایی مقدماتی توسط کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC)، به‌منظور تایید وجود رنگی‌های پلی‌هیدروکسیلات نفتاکینون، از روش کروماتوگرافی مایع- طیف‌سنج جرمی (LC-MS) استفاده شد. سیستم HPLC (Agilent؛ ایالات متحده) به‌همراه سیستم Finnigan<sup>TM</sup> LCQ<sup>TM</sup> Deca (Thermo Fisher Scientific؛ ایالات متحده) به‌منظور تعیین جرم مولکولی اجزای نمونه به کار رفت. شرایط اعمالی در طیف‌سنج جرمی شامل گاز آگزیلاری=۲ میلی‌لیتر بر دقیقه، گاز غلاف=۲۰ میلی‌لیتر بر دقیقه، ولتاژ اسپری=۵ کیلوولت و دمای کاپیلاری=۳۰۰°C بود. پس از تیون‌نمودن دستگاه با شرایط اعمالی (تیوب لنز=۶ کیلوولت و ولتاژ کاپیلاری=۴۶ کیلوولت) در کروماتوگرافی اعمال شد.

**روش‌های آماری:** تحلیل آماری داده‌ها با آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه و مقایسه میانگین با آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ و با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS 19 انجام گرفت. برای رسم نمودار از نرم‌افزار Excel 2013 استفاده شد.

## یافته‌ها

میزان درصد هر یک از رنگی‌ها در رنگدانه پوسته و خار، در حجمی برابر با یک میلی‌لیتر نشان داده شد (جدول ۱).

محتوای کل رنگدانه‌های نفتاکینونی در پوسته و خار توتیای دریایی /کینومترا/ ماتایی، به‌ترتیب، از میزان ۱۰ گرم پوسته و خار به‌صورت جداگانه، ۲۴۰ و ۲۷۹ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. بیشترین رنگی‌ها، اسپینوکروم C بود که در رنگدانه خار مشاهده شد، در حالی که از بین رنگی‌ها، کمترین رنگی‌ها، اسپینوکروم A بود که در رنگدانه پوسته مشاهده شد. همچنین بیشترین رنگی‌ها موجود در رنگدانه پوسته و خار، اسپینوکروم C و کمترین رنگی‌ها در این رنگدانه‌ها، اسپینوکروم A بود (نمودار ۱).

کروماتوگرافی رنگدانه‌های پلی‌هیدروکسیلات نفتاکینون نشان داده شد (نمودار ۲). کروماتوگرافی هر یک از رنگی‌ها در رایج‌ترین طول موج آنها (۲۸۵، ۳۱۷، ۳۲۳ و ۳۴۳ نانومتر به‌ترتیب برای اسپینوکروم C، اسپینوکروم A، اسپینوکروم B و اسپینوکروم A) ثبت شد. از آنجا که آنها به‌طور کامل در طیف‌ها و طول موج‌های مختلف قرار داشتند، هر یک از رنگی‌ها حضور خود را در رنگدانه‌های پلی‌هیدروکسیلات نفتاکینون تایید کردند.

کروماتوگرافی مایع در حالت منفی انجام شد و کل یون کروماتوگرام نشان داده شد (نمودار ۳). با استفاده از HPLC-DAD چهار قله به دست آمد. از آنجا که در طیف‌سنج جرمی در حالت منفی، همه رنگدانه‌ها در یون M-H ظاهر شدند، یون‌ها در نسبت جرم به بار، ۲۲۱، ۲۷۹، ۲۶۵ و ۲۶۳ به‌ترتیب، اسپینوکروم B، اسپینوکروم C، اسپینوکروم A و اسپینوکروم A را نشان دادند.

جدول ۱) درصد رنگی‌ها در رنگدانه پوسته و خار در یک میلی‌لیتر

| متغیرها       | اسپینوکروم A | اسپینوکروم B | اسپینوکروم C | اسپینوکروم A |
|---------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| رنگدانه پوسته | ۲/۸          | ۲/۵          | ۳/۲          | ۱/۳          |
| رنگدانه خار   | ۳/۶          | ۲/۹          | ۴/۶          | ۱/۶          |

تاکنون هیچ مطالعه‌ای روی شناسایی و اندازه‌گیری کمی و کیفی رنگی‌های پلی‌هیدروکسیلات نفتاکینون موجود در رنگدانه‌های پوسته و خار گونه‌های توتیای دریایی در ایران انجام نشده است. همچنین مطالعه‌ای در این خصوص روی توتیای دریایی /کینومترا/ ماتایی (*Echinometra mathaei*) در جهان صورت نگرفته است. هدف این مطالعه، شناسایی و اندازه‌گیری کمی و کیفی رنگی‌های پلی‌هیدروکسیلات نفتاکینون موجود در رنگدانه‌های پوسته و خار توتیای دریایی /کینومترا/ ماتایی خلیج فارس بود.

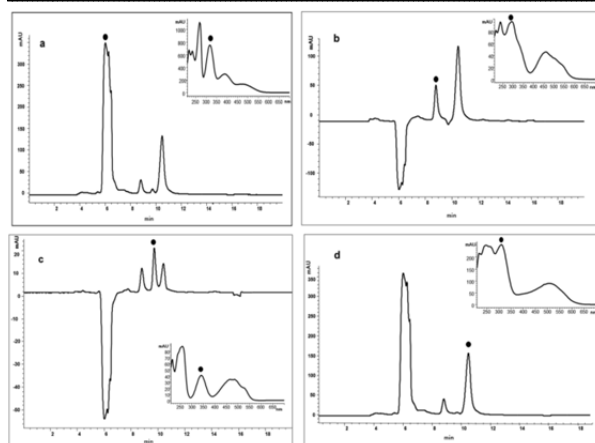
## مواد و روش‌ها

**شناسایی توتیای دریایی:** با مقایسه مشاهدات عینی خصوصیات توتیای دریایی با کلیدهای شناسایی منطقه‌ای، گونه /کینومترا/ ماتایی برای نمونه توتیای دریایی مورد آزمایش در این مطالعه تجربی، تشخیص داده شد.

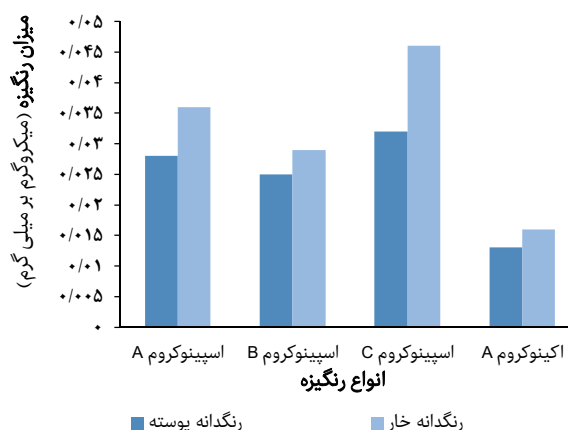
**نمونه‌برداری و شناسایی توتیای دریایی:** توتیاهای دریایی مورد مطالعه در فروردین ۱۳۹۳ از ناحیه بین جزر و مدی ساحل پارک زیتون واقع در جزیره قشم خلیج فارس جمع‌آوری شدند. توتیاهای دریایی در آب دریا با حفظ شرایط بیولوژیک و به‌صورت زنده به آزمایشگاه زیست‌شناسی دانشگاه هرمزگان منتقل شدند. به‌منظور شناسایی نمونه‌ها، تعدادی از آنها به ظروف پلاستیکی محتوی فرمالین ۱۰٪ منتقل شد. سپس نمونه‌ها در آزمایشگاه با استفاده از لوپ مورد بررسی و شناسایی قرار گرفتند و مشاهدات حاصل با کلید شناسایی منطقه‌ای مطابقت داده شدند [12, 13].

**استخراج رنگدانه پوسته و خار:** جداسازی رنگدانه‌های پوسته و خار توتیای دریایی طبق روش /کوه‌ها/ و همکاران صورت پذیرفت. پوسته‌های توتیای دریایی با آب مقطر سرد شسته و به‌مدت دو روز در تاریکی و در دمای ۴°C نگهداری شدند. خارهای توتیای دریایی نیز با آب مقطر سرد شسته و به‌مدت ۲۴ ساعت در فریز درایر (strike 102؛ ایتالیا) قرار گرفتند. سپس به ۱۰ گرم از پوسته و خار توتیای دریایی به‌صورت جداگانه، ۱۰۰ میلی‌لیتر هیدروکلریک اسید (HCL) ۰/۶ مولار (در دمای آزمایشگاه) اضافه شد (HCL باعث شکستن ساختار کربنات کلسیمی و آزادسازی رنگدانه‌های محصورشده در آن می‌شود). سپس دی‌اتیل‌اتر با حجمی برابر با میزان HCL به آن اضافه شد. به‌دلیل چگالی متفاوت دی‌اتیل‌اتر و هیدروکلریک اسید، دو فاز مجزا تشکیل می‌شود. پس از گذشت زمان، رنگدانه‌ها در دی‌اتیل‌اتر حل می‌شود. سپس فاز دی‌اتیل‌اتر را جدا کرده و به‌منظور خنثی‌نمودن اسید، سدیم‌کلرید (NaCl) ۵٪ (وزنی/حجمی) با حجمی برابر با دی‌اتیل‌اتر اضافه شد. مخلوط حاضر نیز دو فاز مجزا را تشکیل می‌دهد که دی‌اتیل‌اتر به‌دلیل چگالی کمتر، فاز رویی را تشکیل داده و به‌راحتی می‌توان آن را جدا نمود. دی‌اتیل‌اتر به‌کمک دستگاه روتاری (strike 102، ایتالیا) و در شرایط خلا تبخیر شد. سپس رنگدانه‌ها در دمای ۲۰°C - نگهداری شدند [11].

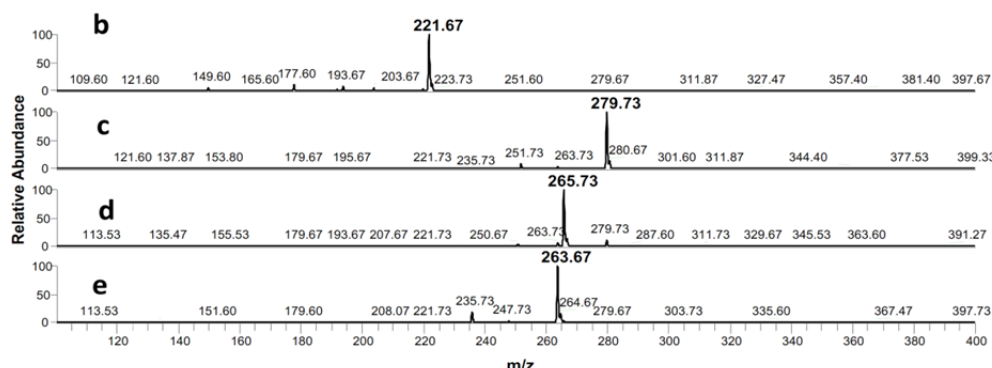
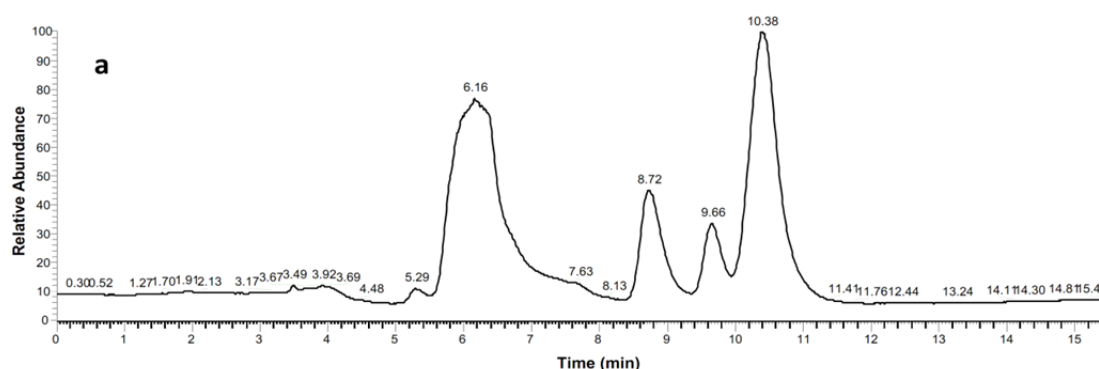
**شناسایی و اندازه‌گیری کمی و کیفی رنگی‌های نفتاکینونی:** شناسایی کمی رنگی‌های نفتاکینونی پوسته و خار با استفاده از روش طیف‌سنجی و به‌کمک دستگاه اسپکتروفتومتری انجام شد. همچنین میزان هر یک از رنگی‌ها، از طریق ضریب خاموشی مولی مربوط به آن مانند اسپینوکروم A ( $\epsilon=3311$ ) در طول موج ۴۸۰ نانومتر، اسپینوکروم B ( $\epsilon=4898$ ) در طول موج ۴۸۰ نانومتر، اسپینوکروم C ( $\epsilon=5888$ ) در طول موج ۴۶۳ نانومتر و اسپینوکروم A ( $\epsilon=7413$ ) در طول موج ۴۹۰ نانومتر) مشخص و کمیت هر یک از



**نمودار ۲)** مشخصات HPLC-DAD از رنگدانه PHNQ مورد مطالعه در طول موج آنها از حداکثر جذب ( $\lambda_{max}$ ) و طیف UV آنها. a, b, c و d به ترتیب، اسپینوکروم A، اسپینوکروم B، اسپینوکروم C، اکینوکروم A و اسپینوکروم A هستند



**نمودار ۱)** میزان رنگدانه‌های موجود در رنگدانه پوسته و خار توتیای دریایی (میکروگرم بر میلی‌لیتر)؛ حروف غیرمشابه بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح  $p < 0.05$  است



**نمودار ۳)** (a) LC-ESI-MS کل یون (TIC، در حالت منفی) رنگدانه‌های PHNQ و مشخصات رنگدانه‌های PHNQ مورد مطالعه (b, c, d و e) و طیف آنها؛ b, c, d و e به ترتیب، با اسپینوکروم B، اسپینوکروم C، اکینوکروم A و اسپینوکروم A متناظر است.

مطالعات متعددی حجم رنگدانه در پوسته توتیاهای دریایی گونه‌های مختلف با رنگ‌های متفاوت را نشان دادند که بیشترین میزان حجم رنگدانه پوسته، به ترتیب در توتیاهای دریایی ارغوانی، سبز و قرمز وجود دارد. آنها تخمین زدند که میزان رنگدانه پوسته توتیای دریایی ارغوانی ۱۰ برابر بیشتر از میزان این رنگدانه در توتیای دریایی قرمز است<sup>[11]</sup>. نتایج مطالعه پیش رو نیز تایید می‌کند که میزان حجم رنگدانه در توتیای دریایی ارغوانی *اکینومتر/ ماتایی* مورد مطالعه، بیش از میزان رنگدانه در توتیاهای دریایی سبز و قرمز است.

اندرسون و همکاران، ۲۱ رنگدانه اسپینوکروم که شامل اسپینوکروم A، B و C و اکینوکروم A است را در توتیاهای دریایی شناسایی کردند<sup>[9]</sup>. رنگدانه‌های آماده‌شده در این مطالعه مخلوطی از این

## بحث

محتوای کل رنگدانه پلی‌هیدروکسیلات نفتاکینون پوسته و خار توتیای دریایی ارغوانی *اکینومتر/ ماتایی*، به ترتیب از میزان ۱۰ گرم بافت خام، ۲۴۰ و ۲۷۹ میلی‌گرم بر گرم است. این نتایج شبیه نتایج یک مطالعه است که از ۱۰ گرم بافت خام پوسته توتیای دریایی قرمز *استرونگیلوسنتروتوس فرانسیسکانوس (Strongylocentrotus franciscanus)* و توتیای دریایی سبز *استرونگیلوسنتروتوس دروایچینسیس (Strongylocentrotus droebachiensis)* به ترتیب ۱۲۱ و ۱۶۳ میلی‌گرم بر گرم رنگدانه گزارش شد. همچنین میزان محتوای رنگدانه پلی‌هیدروکسیلات خار در توتیای دریایی قرمز *پاراسنتروتوس لیویدوس (Paracentrotus lividus)* ۱۲۴ میلی‌گرم بر گرم گزارش شد.

**تشکر و قدردانی:** از مسئولان محترم دانشگاه هرمزگان و پژوهشکده گیاهان و مواد اولیه دارویی دانشگاه شهید بهشتی که ضمن حمایت مالی، محیط و امکانات پژوهشی مناسب را برای تحقیق حاضر فراهم کردند و نیز از تمامی همکاری‌هایی که در روند انجام این تحقیق با ما مشارکت داشته‌اند، سپاسگزاری و تقدیر می‌شود.

**تاییدیه اخلاقی:** موردی از سوی نویسندگان گزارش نشده است.

**تضاد منافع:** هیچ گونه تضاد منافی وجود ندارد.

**سهم نویسندگان:** سولماز سلیمانی (نویسنده اول)، نگارنده مقدمه/پژوهشگر اصلی/نگارنده بحث (۵۰٪)؛ مرتضی یوسف‌زادی (نویسنده دوم)، تحلیلگر آماری/پژوهشگر اصلی (۳۵٪)؛ حسن رضادوست (نویسنده سوم)، روش‌شناس/پژوهشگر کمکی (۱۵٪)

**منابع مالی:** این پژوهش تحت حمایت مالی سازمان یا نهادهای نبوده است.

## منابع

- 1- Bragadeeswaran S, Sri Kumaran N, Prasath Sankar P, Prabahar R. Bioactive potential of sea urchin *Temnopleurus toreumaticus* from Devanampattinam, Southeast coast of India. J Pharm Altern Med. 2013;2(3):9-18.
- 2- Jimeno J, Faircloth G, Sousa-Faro JM, Scheuer P, Rinehart K. New marine derived anticancer therapeutics- a journey from the sea to clinical trials. Mar Drugs. 2004;2(1):14-29.
- 3- Bodnar A. Proteomic profiles reveal age-related changes in coelomic fluid of sea urchin species with different life spans. Exp Gerontol. 2013;48(5):525-30.
- 4- Khaleghi M, Safahieh A, Savari A, Doustshenas B, Owfi F. The process of long and location changes of sea star (*Astropecten hemprichi*) and sea urchin (*Diadema setosum*) in the coast of Chabahar Gulf. J Mar Sci Tech. 2012;11(3):81-90.
- 5- Vadas Sr RL, Beal B, Dowling T, Fegley JC. Experimental field tests of natural algal diets on gonad index and quality in the green sea urchin, *Strongylocentrotus droebachiensis*: A case for rapid summer production in post-spawned animals. Aquaculture. 2000;182(1-2):115-35.
- 6- Amarowicz R, Synowiecki J, Shahidi F. Chemical composition of shells from red (*Strongylocentrotus franciscanus*) and green (*Strongylocentrotus droebachiensis*) sea urchin. Food Chem. 2012;133(3):822-6.
- 7- Zhou DY, Qin L, Zhu BW, Wang XD, Tan H, Yang JF, et al. Extraction and antioxidant property of polyhydroxylated naphthoquinone pigments from spines of purple sea urchin *Strongylocentrotus nudus*. Food Chem. 2011;129(4):1591-7.
- 8- Kuwahara R, Hatate H, Chikami A, Murata H, Kijidani Y. Quantitative separation of antioxidant pigments in purple sea urchin shells using a reversed-phase high performance liquid chromatography. LWT Food Sci Technol. 2010;43(8):1185-90.
- 9- Anderson HA, Mathieson JW, Thomson RH. Distribution of Spinochrome pigments in echinoids. Comp. Biochem. Physiol. 1969;28(1):333-45.
- 10- Soleimani S, Yousefzadi M, Moein S, Amrollahi Bioki N, Keshavarz M, Aslian H. Evaluation of antioxidant activity and polyphenolic content of sea urchin *Echinometra mathaei* from the Persian Gulf. Biotechnol Tarbiat Modares Univ. 2015;6(2):70-80 [Persian].
- 11- Kuwahara R, Hatate H, Yuki T, and et al. Antioxidant

اسپینوکروم‌ها هستند چرا که رنگدانه‌ها هنوز به‌طور کامل خالص نشده‌اند و آنها با سایر مواد دیگر مخلوط هستند.

میزان کمیت رنگدانه‌های پوسته و خار براساس ضریب خاموشی محاسبه شد که در جدول ۱ به‌صورت درصد مشاهده می‌شود. *کاو/ها را* و همکاران رنگیزه اسپینوکروم A را در پوسته توتیای دریایی ارغوانی *آنتوسیداریس کراسی‌سپینا (Anthocidaris crassispina)* شناسایی کردند و میزان کمیت این رنگیزه را نسبت به وزن خشک اولیه پوسته، ۰/۱٪ بیان نمودند<sup>[11]</sup>. این در حالی است که گزارش دیگری درباره کمیت رنگیزه‌های توتیای دریایی مطرح نشده است

نتایج LC-MS تایید می‌کند که این گونه از توتیای دریایی *ا‌کینومترا ماتایی* حاوی رنگدانه PHNQ شبیه به دیگر توتیاهای دریایی است. در واقع، اسپینوکروم‌های اصلی و ا‌کینوکروم‌های مشتق‌شده در توتیاهای دریایی ارغوانی *استرون‌گیلو‌سن‌تروتوس نودوس (Strongylocentrotus nudus)*<sup>[7]</sup> و *آنتوسیداریس کراسی‌سپینا*<sup>[8]</sup> به رنگدانه‌های شناسایی‌شده در گونه مورد مطالعه در این تحقیق شبیه بود. بنابراین، انتظار نمی‌رود که میزان رنگدانه‌های شناسایی‌شده در توتیاهای دریایی قرمز- قهوه‌ای *سام‌کینوس میلیاریس (Psammechinus miliaris)*<sup>[14]</sup> و *استرون‌گیلو‌سن‌تروتوس فرانسیسکانوس*<sup>[6]</sup> و توتیاهای دریایی سبز *استرون‌گیلو‌سن‌تروتوس دروپاچینسیس*<sup>[6, 15]</sup> و این گونه توتیای دریایی ارغوانی متفاوت باشد.

در واقع تفاوت در ترکیب رنگدانه PHNQ در گونه‌های مختلف توتیای دریایی با رنگ‌های متفاوت بیان شده است، که احتمالاً علت آن، تفاوت در نمک‌های تشکیل‌دهنده رنگدانه، کلسیم یا منیزیم موجود در پوسته و خار یا اختلاف pH است<sup>[6]</sup>.

نقش اختصاصی رنگدانه‌های PHNQ در پوسته‌های توتیای دریایی شناخته نشده است. PHNQها تنها در لایه درم که پوشش داخلی پوسته است و به‌طور عمده از کرینات کلسیم تشکیل شده است، تجمع یافته‌اند. بنابراین PHNQها در حالت عادی در بالاترین غلظت و در تماس با محیط خارجی حضور دارند و می‌توانند نقشی حفاظتی داشته باشند. همچنین نشان داده شده است که PHNQها خواص ضدجلبک و آنتی‌باکتریال دارند و تجمع آنها در پوسته می‌تواند عفونت محدود را از بین ببرد.

نتایج حاصل از شناسایی کمی و کیفی رنگیزه‌های موجود در پوسته و خار توتیای دریایی *ا‌کینومترا ماتایی* نشان داد که بیشترین رنگیزه‌ها از نظر کمی به‌ترتیب، اسپینوکروم C، اسپینوکروم A، اسپینوکروم B و ا‌کینوکروم A هستند، در حالی که نتایج حاصل از LC-MS بیشترین رنگیزه‌ها را به‌ترتیب، اسپینوکروم B، اسپینوکروم C، ا‌کینوکروم A و اسپینوکروم A معرفی کرد.

از جمله محدودیت‌های این پژوهش، دشواری استخراج این رنگیزه‌ها از توتیای دریایی و هزینه‌های بالای شناسایی و استخراج خالص آنها است.

با توجه به نقش و کاربرد رنگدانه‌های موجود در پوسته و خار، پیشنهاد می‌شود ضمن تلخیص رنگدانه‌ها و تعیین نقش اختصاصی هر یک از آنها، برای ساخت ترکیبات دارویی اقدام مقتضی صورت گیرد.

## نتیجه‌گیری

حضور هر یک از چهار رنگیزه در رنگدانه‌های خار و پوسته با استفاده از روش‌های کمی و کیفی مورد تایید قرار گرفت.

polyhydroxy naphthoquinone pigments from the sea urchin, *Psammechinus miliaris*. LWT Food Sci. Technol. 2014;59(1):455-60.

15- Shikov AN, Ossipov VI, Martiskainen O, Pozharitskaya ON, Ivanova SA, Makarov VG. The offline combination of thin-layer chromatography and high-performance liquid chromatography with diode array detection and micrOTOF-Q mass spectrometry for the separation and identification of spinochromes from sea urchin (*Strongylocentrotus droebachiensis*) shells. J Chromatogr A. 2011;1218(50):9111-4.

property of polyhydroxylated naphthoquinone pigments from shells of purple sea urchin *Anthocidaris crassispina*. LWT Food Sci. Technol. 2009;42(7):1296-1300.

12- Price AR. Studies on the echinoderm fauna of the western Arabian Gulf. J Nat Hist. 1981;15(1):1-15.

13- Coles SL, McCain JC. Environmental factors affecting benthic infaunal communities of the Western Arabian Gulf. Mar. Environ. Res. 1990;29(4):289-315.

14- Powell C, Hughes AD, Kelly MS, Conner S, McDougall GJ. Extraction and identification of antioxidant