



مقاله پژوهشی

استخراج و شناسایی ترکیبات جاذب فرابنفش در توتیای دریایی گونه *Echinometra mathaei*

مریم کوبی^۱، مرتضی یوسفزادی^{۲*}، صمد نژادابراهیمی^۳، معروف زارعی^۴

تاریخ دریافت: شهریور ۹۸

تاریخ پذیرش: آبان ۹۸

چکیده

در پژوهش حاضر برای اولین بار وجود آمینواسیدهای شبه مایکوسپورین در توتیای دریایی گونه *Echinometra mathaei* در سواحل خلیج فارس مورد بررسی قرار گرفت. آمینواسیدهای شبه مایکوسپورین جزء ترکیبات جاذب فرابنفش هستند که توسط برخی از میکروارگانیسم‌ها تولید می‌شوند و نقش مهمی در محافظت موجودات در برابر پرتوهای فرابنفش دارند. آمینواسیدهای شبه مایکوسپورین در بافت‌های مختلف توتیای دریایی به روش کروماتوگرافی مایع فاز معکوس با کارایی بالا و طیف‌سنجی جرمی بررسی شدند. همچنین قدرت حذف رادیکال آزاد DPPH، برای عصاره تام و فرکشن‌های مختلف آن مورد ارزیابی قرار گرفت. داده‌های اسپکتروفتومتری و طیف‌سنج جرمی (LC-MS) نشان داد که پوسته توتیا حاوی رنگیزه مایکوسپورینی Shinorine است. همچنین عصاره تام پوسته توتیا ظرفیت آنتی‌اکسیدانی نشان داد (IC₅₀: 231 μg/mL) که به فرکشن حاوی Shinorine نسبت داده می‌شود.

واژگان کلیدی: توتیای دریایی، مایکوسپورین، پرتوی فرابنفش، DPPH.

- ۱- دانشجوی دکتری زیست‌شناسی دریا، گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران.
- ۲- دانشیار گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران.
- ۳- استادیار گروه فیتوشیمی، پژوهشکده گیاهان و مواد اولیه دارویی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران.
- ۴- دانشیار گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران.

* نویسنده مسئول: morteza110110@gmail.com

مقدمه

مداوم از ضدآفتاب‌های شیمیایی بر سلامتی انسان تاثیرگذار است، نیاز شدیدی به معرفی ترکیبات طبیعی در این زمینه وجود دارد که عوارض بهداشتی و زیست‌محیطی ضدآفتاب‌های رایج را نداشته باشند. موکوس به دست آمده از ماهی‌های آبسنگ‌های مرجانی و عدسی چشم ماهیان حاوی ضدآفتاب‌های طبیعی است که به عنوان میکوسپورین و آمینواسیدهای شبه میکوسپورین (Mycosporine-like Amino Acids: MAAs) شناخته می‌شوند. همچنین انواع مختلفی از ترکیبات MAAs در میکروارگانیسم‌ها و جلبک‌هایی که در زیستگاه طبیعی خود در معرض پرتوی فرابنفش هستند تولید می‌شود. این موجودات ترکیبات MAAs را به عنوان راهی طبیعی برای محافظت در برابر اثرات مخرب پرتوی فرابنفش تولید می‌کنند (Chrapusta et al., 2017). طبق نظریه همزیستی داخلی، سیستم آنزیمی ساخت MAAs احتمالاً از اجداد سیانوباکتریایی به رده‌های بالاتر به ارث رسیده است و متازواً فاقد این مسیر بیوشیمیایی هستند، اما می‌توانند این ترکیبات را از طریق زنجیره غذایی و یا

نور خورشید بسته به طول موج‌های آن به اعماق مختلفی از آب دریا نفوذ می‌کند. در آب‌های شفاف مناطق گرمسیری، پرتوهای فرابنفش خورشیدی می‌توانند تا عمق ۲۰ متری اثرات زیستی قابل توجهی داشته باشند. پرتوهای فرابنفش در دامنه ۲۸۵-۳۴۰ نانومتر به بافت‌های زنده آسیب می‌زنند و می‌توانند برای بسیاری از موجودات دریایی خطرناک و حتی کشنده باشند. این مسئله از دیرباز مشخص شده است که انواع مختلفی از ترکیبات جاذب فرابنفش که توسط میکروارگانیسم‌ها تولید می‌شود نقش مهمی در محافظت موجودات در برابر پرتوهای فرابنفش دارد (Bhatia et al., 2011; Chrapusta et al., 2017).

در سال‌های اخیر، ترکیبات جاذب پرتوی فرابنفش استخراج شده از موجودات دریایی، به دلیل خاصیت قوی جذب پرتوی فرابنفش (حداکثر بین ۳۰۷ و ۳۶۲ نانومتر) و خواص آنتی‌اکسیدانی، به یکی از قابل اطمینان‌ترین فرآورده‌های طبیعی در زمینه پژوهش‌های بیوتکنولوژی و زیست دارویی تبدیل شده‌اند (Rastogi and Incharoensakdi, 2014). چرا که می‌توانند جایگزین ترکیبات ضدآفتاب شیمیایی شوند. با توجه به این که، استفاده

سنتی‌گراد در تاریکی انجام گرفت. عصاره‌های هر سه مرحله با استفاده از کاغذ صافی، فیلتر و جمع‌آوری شدند (Adams and Shick, 2001). حجم نمونه‌های استخراج شده با استفاده از دستگاه روتاری (Heidolph, WB, آلمان) تا ۵ میلی‌لیتر تغلیظ و سپس با جریان ملایم گاز نیتروژن به طور کامل خشک شدند. نمونه‌ها برای بررسی‌های بعدی در یخچال نگهداری شدند.

شناسایی ترکیبات MAAs

شاخص‌ترین ویژگی آمینواسیدهای شبه مایکوسپورین داشتن جذب در دامنه نور فرابنفش است که وجود این ترکیبات را در عصاره تایید می‌کند. بنابراین، عصاره‌های به دست آمده از بافت‌های مختلف توتیا پس از حل شدن در آب دیونیزه، به روش طیف‌سنجی توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (UV-2501PC, Shimadzu، ژاپن) مورد بررسی قرار گرفتند. هر یک از عصاره‌ها در صورت نشان دادن ماکزیمم جذب در دامنه فرابنفش (۳۶۲-۳۰۷ نانومتر) به منظور شناسایی مقدماتی به دستگاه کروماتوگرافی مایع فاز معکوس با کارایی بالا (HPLC, 1100, Agilent، آمریکا) مجهز به ستون SG5NH2-25QS با اندازه ۴/۶×۲۵

می‌رود. به دلایل ذکر شده، در این پژوهش از گونه توتیای دریایی *E. mathaei* که از گونه‌های رایج در سواحل استان هرمزگان است برای استخراج ترکیبات MAAs استفاده شد.

مواد و روش‌ها

تهیه نمونه

توتیاهای دریایی گونه *Echinometra mathaei* از منطقه پایین جزر و مدی ساحل پارک زیتون با مختصات جغرافیایی ۲۶ درجه و ۵۵ دقیقه عرض شمالی و ۵۶ درجه و ۱۶ دقیقه طول شرقی در جزیره قشم، استان هرمزگان جمع‌آوری شدند. تعداد ۳۰ قطعه توتیای دریایی به صورت تازه و بر روی یخ به آزمایشگاه زیست‌شناسی دانشگاه هرمزگان (بندرعباس) منتقل شدند. در آزمایشگاه، نمونه‌های توتیا تشریح و بافت‌های پوسته، گناد ماده (تخمدان) و خار به صورت جداگانه تفکیک و پس از شستشو، ابتدا فریز و سپس فریزدرای شدند تا برای عصاره‌گیری مورد استفاده قرار گیرند.

استخراج ترکیبات MAAs

استخراج ترکیبات MAAs از بافت‌های خار، پوسته و گناد توتیای دریایی طی سه مرحله عصاره‌گیری ۶۰ دقیقه‌ای با استفاده از مخلوط آب/متانول ۸۰ درصد در دمای ۴ درجه

مقایسه زمان بازداری، جرم مولکولی و بیشترین جذب آن‌ها در دامنه فرابنفش با جرم مولکولی و بیشترین جذب ترکیبات MAAs گزارش شده در مطالعات قبلی تعیین شد (Sinha et al., 2007).

خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها

عملکرد آنتی‌اکسیدانی عصاره تام آبی/متانولی توتیای دریایی در غلظت‌های مختلف (۲۰، ۴۰، ۸۰، ۱۴۰، ۲۴۰، ۳۴۰) ۱۲، ۴) و همچنین فرکشن‌های مختلف آن به روش DPPH (1,1-Diphenyl-2,2-Picrylhydrazyl) و با استفاده از رابطه ۱ مورد ارزیابی قرار گرفت. در این رابطه، درصد جذب نهایی (A_f) هر عصاره بیانگر درصد مهارکنندگی آن بر روی رادیکال آزاد است (Kokabi et al., 2019).

رابطه ۱:

$$A_f(\%) = [(A_c - A_s) / A_c] \times 100$$

A_c : میزان جذب نوری نمونه شاهد؛ A_s : جذب نوری عصاره‌ها.

در این روش از گالیک اسید به عنوان استاندارد استفاده شد (Devi et al., 2011). همچنین برای مقایسه قدرت آنتی‌اکسیدانی نمونه با استاندارد، مقدار IC_{50} با استفاده از

میلی‌متر تزریق شد. جداسازی با فاز متحرک استونیتریل- آب، سرعت جریان حلال ۰/۵ میلی‌لیتر بر دقیقه و دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد انجام گرفت.

ترکیبات MAAs دارای جرم مولکولی در محدوده ۴۰۰ دالتون هستند. بنابراین، به منظور بررسی دقیق‌تر و تایید وجود ترکیبات آمینواسیدهای شبه مایکوسپورین، از روش کروماتوگرافی مایع- طیف‌سنج جرمی (LC-MS) به عنوان روش بسیار حساس و دقیق در شناسایی کمی و کیفی مواد شیمیایی و طبیعی که کاربرد گسترده‌ای دارد، استفاده شد. در این مطالعه سیستم HPLC به همراه سیستم طیف‌سنج جرمی (LCQTM Deca Thermo Fisher FinniganTM Scientific، آلمان) به منظور تعیین جرم مولکولی استفاده شد. شرایط اعمالی در طیف‌سنج جرمی شامل گاز آگزیلاری برابر ۲۰ میلی‌لیتر بر دقیقه، ولتاژ اسپری برابر ۵ کیلوولت و دمای کاپیلاری برابر ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد بود. در این تکنیک ماده یونیزه و توسط آنالیزور به سمت دتکتور فرستاده می‌شود و جرم مولکولی مواد و در بعضی موارد شکست‌های به دست آمده از آن مورد مطالعه قرار می‌گیرد. در نهایت ساختار شیمیایی ترکیبات از طریق

جاذب فرابنفش وجود داشت و عصاره‌های خار و گناد فاقد این ترکیبات بودند (شکل ۱). بنابراین عصاره پوسته برای بررسی‌های بعدی به دستگاه HPLC تزریق شد. کروماتوگرام HPLC به دست آمده از عصاره پوسته توتیای دریایی پیک مشخصی را در طول موج ۳۳۰ نانومتر نشان داد که موید وجود ترکیبات شبه مایکوسپورینی است. همچنین کروماتوگرام LC-MS عصاره پوسته پس از جداسازی با ستون آمین، پیک مشخصی را در ۲۵/۴ دقیقه نشان داد. جرم مشاهده شده عدد $[M+H]^+ + 333/8$ را نشان داد که به پیش‌بینی فرمول $C_{12}H_{20}N_2O_8$ انجامید و بر اساس اطلاعات موجود مربوط به ترکیب Shinorine از دسته آمینواسیدهای شبه مایکوسپورین Imine-Type است (شکل ۲).

قدرت آنتی‌اکسیدانی

اگرچه عصاره پوسته توتیای دریایی در غلظت‌های زیر ۴۰ میکروگرم در میلی‌لیتر اثر آنتی‌اکسیدانی نشان نداد اما از غلظت ۴۰ میکروگرم در میلی‌لیتر با افزایش غلظت عصاره، درصد حذف رادیکال آزاد DPPH نیز به طور معنی‌داری افزایش یافت. همچنین قدرت آنتی‌اکسیدانی عصاره تام پوسته در غلظت‌های ۸۰، ۱۴۰، ۲۴۰ و ۳۲۰ میکروگرم در میلی‌لیتر

منحنی رگرسیون و معادله خط آن محاسبه شد. IC₅₀ یا حداقل غلظت بازدارندگی (Inhibition Concentration)، غلظتی از عصاره است که بتواند ۵۰ درصد رادیکال‌های DPPH را در محلول واکنش خنثی کند. تمام آزمایش‌ها در سه تکرار انجام گرفت.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

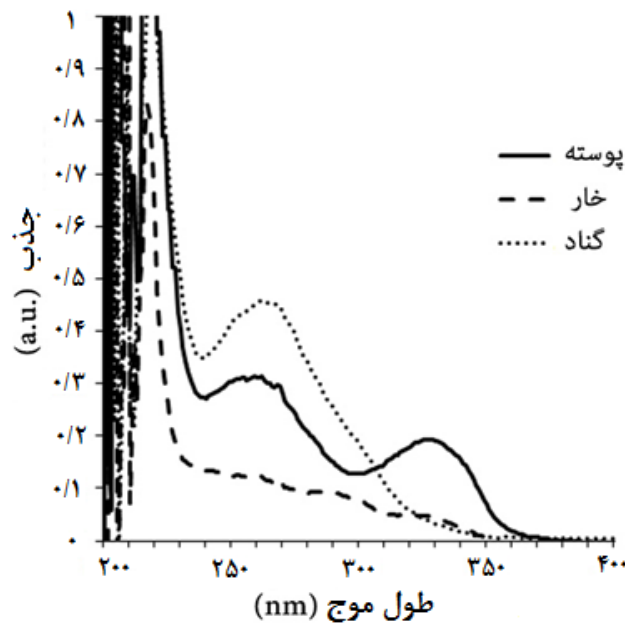
کروماتوگرام‌های به دست آمده از دستگاه LC-MS برای تعیین جرم مولکولی ترکیبات MAAs به کمک نرم‌افزار Xcalibur مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و ساختارهای شیمیایی توسط نرم‌افزار Chemdraw رسم شد. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه و مقایسه میانگین‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد و با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS 22 انجام گرفت. همچنین برای ثبت داده‌ها و رسم نمودارها از نرم‌افزار Microsoft Excel 2010 استفاده شد.

نتایج

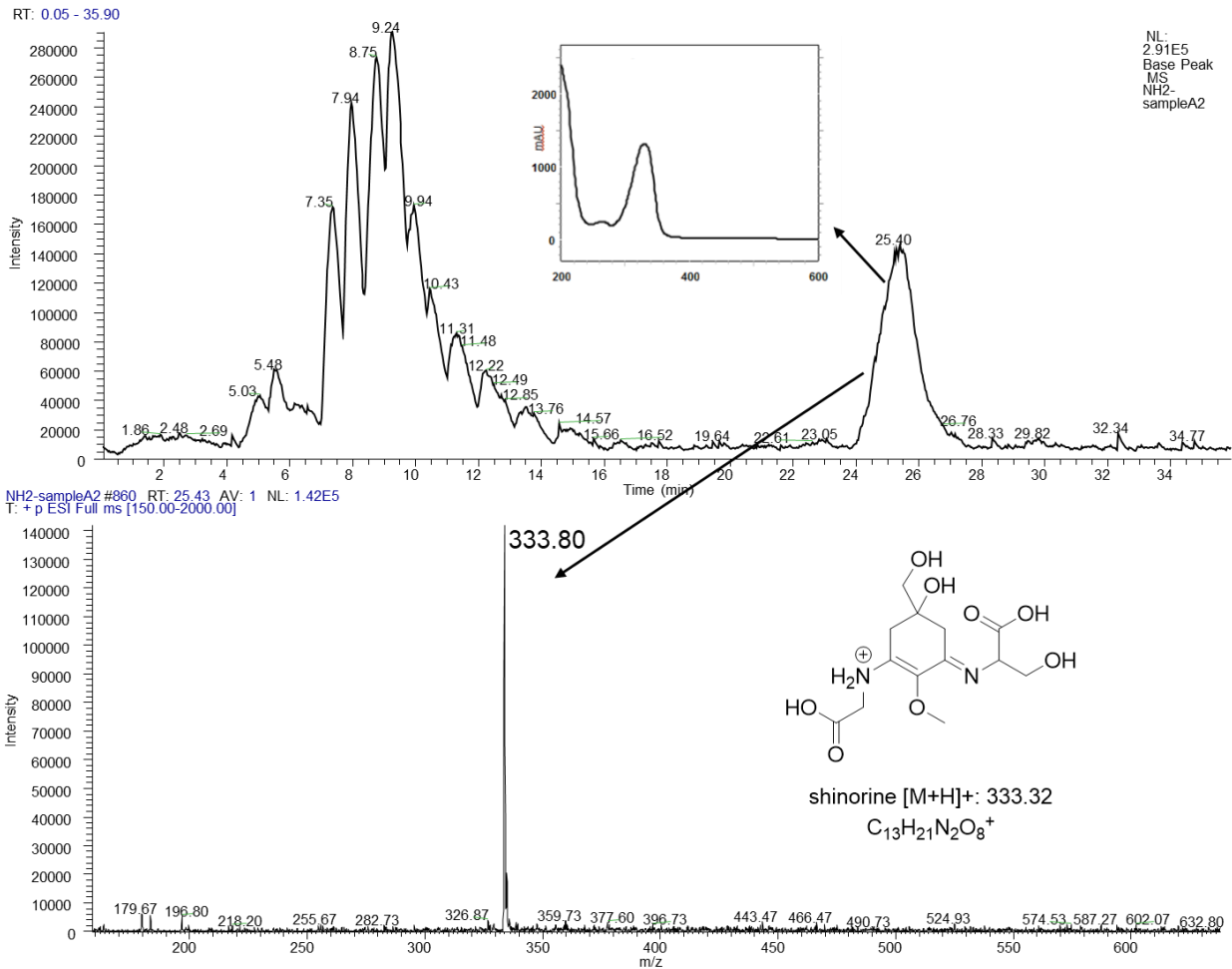
اسپکتروفوتومتری عصاره‌های مختلف توتیای دریایی *Echinometra mathaei* از بافت‌های گناد، پوسته و خار نشان داد که تنها در بافت پوسته مقادیر قابل توجهی از ترکیبات

فراکشن‌های مختلف عصاره توتیای دریایی جداسازی شده با دستگاه HPLC اثرات آنتی‌اکسیدانی از خود نشان دادند که در این میان فرکشن جمع‌آوری شده در دقیقه دهم قدرت آنتی‌اکسیدانی معنی‌داری را در مقایسه با سایر فراکشن‌ها نشان داد (شکل ۴).

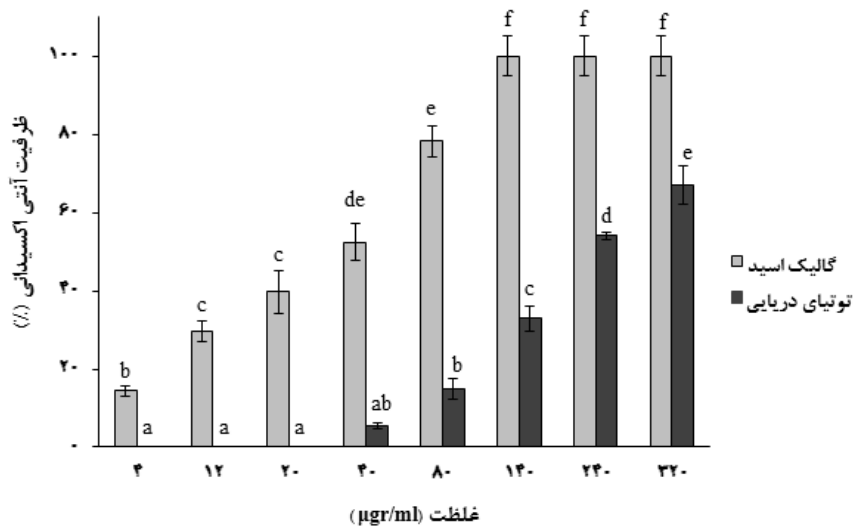
به ترتیب قابل مقایسه با غلظت‌های ۴، ۱۲، ۴۰ و ۸۰ میکروگرم در میلی‌لیتر گالیک اسید بود و اختلاف معنی‌داری بین این غلظت‌ها مشاهده نشد (شکل ۳). مقدار IC_{50} برای عصاره توتیای دریایی ۲۳۱ میکروگرم در میلی‌لیتر و برای گالیک اسید ۴۰ میکروگرم در میلی‌لیتر محاسبه شد.



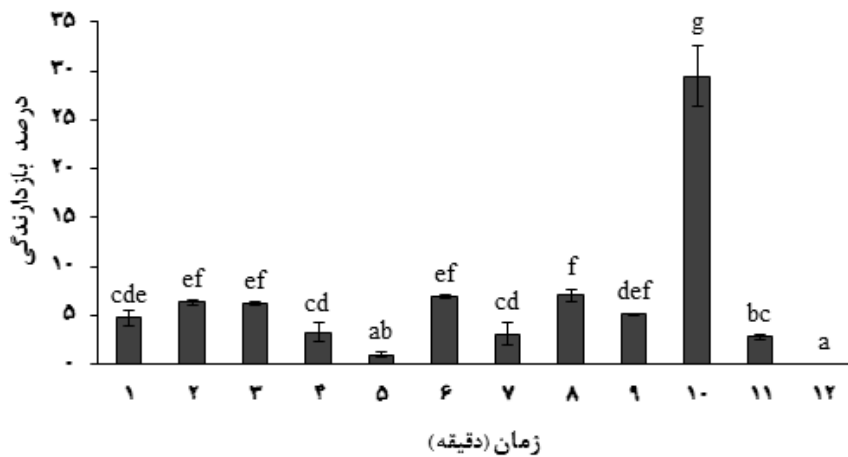
شکل ۱: طیف فرا بنفش عصاره قسمت‌های مختلف بدن توتیای دریایی *Echinometra mathaei*



شکل ۲: کروماتوگرام HPLC-MS عصاره پوسته توتیای دریایی *Echinometa mathaei* طیف جرمی ترکیب Shinorine در دقیقه ۲۵/۴۰ دیده شده است.



شکل ۳: مقایسه قدرت بازدارندگی عصاره پوسته توتیای دریایی *Echinometra mathaei* با گالیک اسید (میانگین ± انحراف معیار). حروف متفاوت روی ستون‌ها نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها است ($P < 0.05$).



شکل ۴: مقایسه قدرت بازدارندگی طیف‌های مختلف عصاره پوسته توتیای دریایی *Echinometra mathaei* (میانگین ± انحراف معیار) در برابر رادیکال آزاد DPPH توسط دستگاه HPLC در برابر رادیکال آزاد DPPH (میانگین ± انحراف معیار). حروف متفاوت روی ستون‌ها نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها است ($P < 0.05$).

بحث

همچنین مشخص شد نوع تغذیه بر میزان محتوای MAAs در بافت‌های غیرجنسی تاثیرگذار نبود (Carroll and Shick, 1996). همچنین Adams و همکاران (۲۰۰۱) در مطالعه دیگری بر روی *S. droebachiensis* اظهار داشتند که غلظت ترکیبات MAAs و اسید آسکوربیک در تخمدان نمونه‌هایی که از سواحل دارای بسترهای کلب جمع‌آوری شده بودند بیشتر از نمونه‌هایی بود که از سواحل مرجانی جمع‌آوری شده بودند. علاوه بر این تجمع ترکیبات MAAs در تخمدان توتیا به طور فصلی متغیر است و در زمان‌های نزدیک به تخم‌ریزی که شاخص گنادی بالا است افزایش می‌یابد. این پدیده باعث محافظت تخم‌ها در برابر آسیب‌های پرتوهای فرابنفش می‌شود.

در این مطالعه نمونه‌های توتیا در مهر ماه ۱۳۹۶ از ساحل پارک زیتون در جزیره قشم جمع‌آوری شدند که دارای بستری مرجانی است. به نظر می‌رسد عدم مشاهده ترکیبات MAAs در تخمدان *E. mathaei* از طرفی به دلیل نوع تغذیه آن‌ها باشد و از طرف دیگر به دلیل زمان جمع‌آوری آن‌ها. در خلیج فارس فصل تخم‌ریزی این گونه در بهار است. طبق گزارش شکوری و معنوی شاد (۱۳۹۴) توتیای *E. mathaei* در تمام طول سال بنا به تغییرات فصلی جلبک‌ها

در این مطالعه، سه بافت گناد، پوسته و خار توتیای دریایی گونه *Echinometra mathaei* از نظر وجود ترکیبات جاذب فرابنفش بررسی شدند. بررسی اسپکتروفتومتری عصاره این بافت‌ها وجود ترکیبات جاذب فرابنفش را در بافت پوسته نشان داد (شکل ۱). با توجه به میزان قطبیت و ویژگی‌های اسپکتروفتومتری (بیک جذبی) و همچنین وزن مولکولی مشخص شد که ترکیب جداسازی شده از پوسته توتیا مربوط به Shinorine است. این ویژگی‌ها کاملاً با آنچه پیش از این درباره آمینواسیدهای شبه مایکوسپورین استخراج شده از گونه‌های دیگر توتیای دریایی گزارش شده است، مطابقت دارد (Karentz et al., 1997; Gravem and Adams, 2012).

Shick و Carroll (۱۹۹۶) نشان دادند که تجمع ترکیبات MAAs در تخمدان گونه *Strongylocentrotus droebachiensis* کاملاً وابسته به رژیم غذایی است. به طوری که در نمونه‌هایی که از جلبک قرمز *Mastocarpus stellatus* تغذیه کرده بودند، تخمدان‌ها حاوی غلظت بالایی از Shinorine بودند. در حالی که نمونه‌هایی که از جلبک قهوه‌ای تغذیه کرده بودند فاقد آن بودند.

می‌تواند انواع و غلظت این ترکیبات را در بی‌مهرگان آبی و ماهیان تعیین کند (Carefoot et al., 2000). جانوران قادر هستند ترکیبات MAAs و ترپن‌ها را از غدد گوارشی خود به پوست یا تخم‌ها انتقال دهند. در این میان، مایکوسپورین‌های جذب شده به طور اختصاصی در بافت‌هایی که بیشتر در معرض UV هستند و یا در اندام‌های تولیدمثلی، تجمع پیدا می‌کنند (مثل تخم‌ها) تا به عنوان ضدآفتاب عمل کنند (Carefoot et al., 2000). علاوه بر این، ترکیبات MAAs استخراج شده از جلبک‌ها می‌تواند در دستگاه گوارش جانوران به وسیله آنزیم‌های جانوری یا باکتری‌های همزیست به آمینواسیدهای شبه مایکوسپورین خاص جانوری تبدیل شود. در نهایت این ترکیبات می‌توانند به پیش‌ماده ساخت گادوسول و ۴ دی‌اکسی گادوسول تبدیل شوند که پیش‌ماده ساخت ترکیبات MAAs محسوب می‌شوند. از آنجا که ترکیبات MAAs به طور یکسان بین بافت‌های مختلف بی‌مهرگان و ماهیان توزیع نشده‌اند، باید نوعی تقسیم‌بندی انتخابی برای این ترکیبات به سمت سلول‌های خاص وجود داشته باشد. اما، مکانیسم فرضی چنین سیستم انتقال فعالی هنوز مطالعه نشده است (Amsler, 2008).

بر حسب اولویت از جلبک‌های قهوه‌ای، قرمز و سبز تغذیه می‌کند. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که این گونه از توتیا نیز محتوای MAAs خود را از جلبک‌های مورد تغذیه دریافت کرده است. مطالعات تکمیلی برای مشخص کردن نوع رژیم غذایی جلبکی با میزان انباشت ترکیبات MAAs در بدن توتیای *E. mathaei* پیشنهاد می‌شود.

مسیر آنابولیک و کاتابولیک بیوسنتز و تجزیه ترکیبات MAAs هنوز به طور کامل شناخته نشده است. اما مطالعات مختلفی نشان داده‌اند که این ترکیبات به احتمال زیاد از مسیر شیکیمیک اسید (Shikimic Acid Pathway)، ساخته می‌شوند که محصولات آن در ساخت آمینواسیدهای آروماتیک استفاده می‌شوند. مسیر شیکیمیک اسید، منحصر در جلبک‌ها، گیاهان عالی، سیانوباکتری‌ها، باکتری‌ها و قارچ‌ها وجود دارد. بنابراین تمام جانوران ناچار هستند برخی از آمینواسیدها را از طریق رژیم غذایی خود به دست آورند. علاوه بر این، از آنجایی که بسیاری از جانوران آبی دارای MAAs هستند، اما سیستم بیوسنتزی برای تولید این ترکیبات را ندارند. باید گفت منشأ این ترکیبات در جانوران دریایی از جلبک‌ها و سیانوباکتری‌ها است. در واقع، رژیم جلبکی

رنگ معرف DPPH در حالت محلول از صورتی تیره به زرد تغییر یابد. این تغییر رنگ قابل اندازه‌گیری است. چرا که بر اساس تعداد الکترون جذب شده در محیط واکنش صورت می‌پذیرد. در این روش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بر پایه به دام انداختن رادیکال DPPH (A_f) محاسبه می‌شود (Kokabi et al., 2019) که یک آنتی‌اکسیدان شیمیایی است. در این مطالعه علاوه بر عصاره تام MAAs استخراج شده از توتیای دریایی، فرکشن‌های مختلف آن نیز در زمان‌های متوالی مورد بررسی آنتی‌اکسیدان قرار گرفتند. نتایج، ارتباط بین وجود ترکیبات MAAs و اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره توتیا را تایید کرد. مطالعات پیش از این نیز اثر آنتی‌اکسیدانی برخی از ترکیبات MAAs را گزارش کرده‌اند (Nazifi et al., 2015; Wada et al., 2015). به نظر می‌رسد با توجه به این که توتیای دریایی گونه *Echinometra mathaei* در خلیج فارس به وفور یافت می‌شود و حتی جمعیت آن در برخی مناطق به طور بی‌رویه در حال افزایش است، می‌توان از زی‌توده آن برای استخراج ترکیبات فعال زیستی از جمله ترکیبات جاذب فرابنفش بهره برد. این ترکیبات در صنایع غذایی و آرایشی-بهداشتی به عنوان

ترکیبات MAAs در گیاهان خشکی یافت نشده‌اند و عمل محافظت نوری در برابر تابش فرابنفش به وسیله ترکیبات فنولیک مانند فلاونوئیدها و اسیدهای فنولی صورت می‌گیرد (Torres et al., 2015). یکی از ویژگی‌هایی که برای ترکیبات MAAs گزارش شده است، خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها است. ترکیبات آنتی‌اکسیدانی با جذب گونه‌های فعال اکسیژن، سلول را در برابر آسیب‌های اکسیداتیو محافظت می‌کنند. با این حال، بر اساس یافته‌های پژوهشگران، فعالیت آنتی‌اکسیدانی برخی از این ترکیبات هنوز مورد بحث است و به اجماع نرسیده است (Torres et al., 2015). به عنوان مثال De La Coba و همکاران (۲۰۰۹) برای ترکیبات *Shinorine*, *Porphyra-334* و *Asterina-330* که از جلبک‌های قرمز جداسازی کرده بودند، فعالیت آنتی‌اکسیدانی گزارش کردند.

روش DPPH یکی از روش‌های رایج برای سنجش خاصیت آنتی‌اکسیدانی است. رادیکال DPPH نوعی رادیکال آزاد و پایدار با حداکثر جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر است که یک الکترون منفرد دارد. آنتی‌اکسیدان‌ها قادر هستند با از دست دادن هیدروژن با این الکترون منفرد جفت شوند. این واکنش باعث می‌شود که

جاذب‌های طبیعی پرتوی فرابنفش دارای کاربرد هستند. اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره آبی/متانولی پوسته توتیای دریایی است.

تشکر و قدردانی

از جناب آقای مهندس احدی و خانم مهندس گودرزی کارشناسان محترم پژوهشکده گیاهان و مواد اولیه دارویی دانشگاه شهید بهشتی و آقای عماد نظریان که در انجام آنالیزهای دستگامی این پژوهش همکاری کردند صمیمانه تشکر و قدردانی می‌شود.

بر اساس نتایج این پژوهش، وجود ترکیبات شبه مایکوسپورینی در توتیای دریایی گونه *Echinometra mathaei* تایید شد. این ترکیبات در بافت‌های گناد و خار مشاهده نشدند اما در پوسته توتیای دریایی ترکیب Shinorine به مقدار قابل توجهی شناسایی شد. همچنین مشخص شد که وجود این ترکیب مسئول اصلی

منابع

- جزرومدی سواحل چابهار. مجله منابع طبیعی ایران، ۶۸(۲): ۲۶۶-۲۵۵.
- Adams N. and Shick J. 2001.** Mycosporine-like amino acids prevent UVB-induced abnormalities during early development of the green sea urchin *Strongylocentrotus droebachiensis*. *Marine Biology*, 138(2): 267-280.
- Adams N., Shick J. and Dunlap W. 2001.** Selective accumulation of mycosporine-like amino acids in ovaries of the green sea urchin *Strongylocentrotus droebachiensis* is not affected by ultraviolet radiation. *Marine Biology*, 138(2): 281-294.
- Amsler C.D. 2008.** *Algal Chemical Ecology*. Springer, Germany. 313P.
- Arbeloa E.M., Carignan M.O., Acuna F.H., Churio M.S. and Carreto J.I. 2010.** Mycosporine-like amino acid content in the sea anemones *Aulactinia marplatensis*, *Oulactis muscosa* and *Anthothoe chilensis*. *Comparative Biochemistry and Physiology B*, 156(3): 216-221.
- Bhatia S., Garg A., Sharma K., Kumar S., Sharma A. and Purohit A.P. 2011.** Mycosporine and mycosporine-like amino acids: شکوری الف. و معنوی شاد س. ۱۳۹۴. بررسی رژیم غذایی توتیای دریایی گونه *Echinometra mathaei* در مناطق بین A paramount tool against ultra violet irradiation. *Pharmacognosy Reviews*, 5(10): 138-146.
- Carefoot T.H., Karentz D., Pennings S.C. and Young C.L. 2000.** Distribution of mycosporine-like amino acids in the sea hare *Aplysia dactylomela*: Effect of diet on amounts and types sequestered over time in tissues and spawn. *Comparative Biochemistry and Physiology C*, 126(1): 91-104.
- Carreto J.I. and Carignan M.O. 2011.** Mycosporine-like amino acids: Relevant secondary metabolites. Chemical and ecological aspects. *Marine Drugs*, 9(3): 387-446.
- Carroll A. and Shick J. 1996.** Dietary accumulation of UV-absorbing mycosporine-like amino acids (MAAs) by the green sea urchin (*Strongylocentrotus droebachiensis*). *Marine Biology*, 124(4): 561-569.
- Chrapusta E., Kaminski A., Duchnik K., Bober B., Adamski M. and Bialczyk J. 2017.** Mycosporine-like amino acids: Potential health and beauty ingredients. *Marine Drugs*, 15(10): 1-29.

- De La Coba F., Aguilera J., Figueroa F., De Galvez M. and Herrera E. 2009.** Antioxidant activity of mycosporine-like amino acids isolated from three red macroalgae and one marine lichen. *Journal of Applied Phycology*, 21(2): 161–169.
- Devi G.K., Manivannan K., Thirumaran G., Rajathi F.A.A. and Anantharaman P. 2011.** In vitro antioxidant activities of selected seaweeds from Southeast coast of India. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 4(3): 205–211.
- Gravem S.A. and Adams N.L. 2012.** Sex and microhabitat influence the uptake and allocation of mycosporine-like amino acids to tissues in the purple sea urchin, *Strongylocentrotus purpuratus*. *Marine Biology*, 159(12): 2839–2852.
- Karentz D., Dunlap W. and Bosch I. 1997.** Temporal and spatial occurrence of UV-absorbing mycosporine-like amino acids in tissues of the antarctic sea urchin *Sterechinus neumayeri* during springtime ozone-depletion. *Marine Biology*, 129(2): 343–353.
- Kokabi M., Yousefzadi M., Soltani M. and Arman M. 2019.** Effects of different UV radiation on photoprotective pigments and antioxidant activity of the hot-spring cyanobacterium *Leptolyngbya cf. fragilis*. *Phycological Research*, 67(3): 215–220.
- Lamare M., Burritt D. and Lister K. 2011.** Ultraviolet radiation and echinoderms: Past, present and future perspectives. *Advances in Marine Biology*, 59: 145–187.
- Michalek-Wagner K. 2001.** Seasonal and sex-specific variations in levels of photo-protecting mycosporine-like amino acids (MAAs) in soft corals. *Marine Biology*, 139(4): 651–660.
- Nazifi E., Wada N., Asano T., Nishiuchi T., Iwamuro Y., Chinaka S., Matsugo S. and Sakamoto T. 2015.** Characterization of the chemical diversity of glycosylated mycosporine-like amino acids in the terrestrial cyanobacterium *Nostoc commune*. *Journal of Photochemistry and Photobiology B*, 142: 154–168.
- Rastogi R.P. and Incharoensakdi A. 2014.** UV radiation-induced biosynthesis, stability and antioxidant activity of mycosporine-like amino acids (MAAs) in a unicellular cyanobacterium *Gloeocapsa* sp. CU2556. *Journal of Photochemistry and Photobiology B*, 130: 287–292.
- Sinha R.P., Singh S.P. and Hader D.P. 2007.** Database on mycosporines and mycosporine-like amino acids (MAAs) in fungi,

cyanobacteria, macroalgae, phytoplankton and animals. *Journal of Photochemistry and Photobiology B*, 89(1): 29–35.

Torres P.B., Chow F., Ferreira M.J.P. and Dos Santos D.Y.A.C. 2015. Mycosporine-like amino acids from *Gracilariopsis tenuifrons* (Gracilariales,

Rhodophyta) and its variation under high light. *Journal of Applied Phycology*, 28(3): 2035–2040.

Wada N., Sakamoto T. and Matsugo S. 2015. Mycosporine-like amino acids and their derivatives as natural antioxidants. *Antioxidants*, 4(3): 603–646.



Research Paper

Extraction and characterization of UV-absorbing compounds from sea urchin *Echinometra mathaei*

Maryam Kokabi¹, Morteza Yousefzadi^{2*}, Samad Nejad Ebrahimi³, Maarooof Zarei⁴

Received: September 2019

Accepted: November 2019

Abstract

In this study, the occurrence of mycosporin-like amino acids in the sea urchin *Echinometra mathaei* from Persian Gulf was assessed for the first time. Mycosporine-like amino acids (MAAs) are UV-absorbing compounds that are synthesized by some organisms to counteract the harmful effects of UV radiation. Mycosporine-like amino acids in different parts of *E. mathaei* was assessed by HPLC and LC-MS analysis. Moreover, antioxidant ability of total extract of shell as well as its fractions were evaluate using DPPH assay. Combination of UV and LC-MS data values revealed the occurrence of Shinorine in the shell of *E. mathaei*. Total extract of urchin shell showed IC₅₀ value of 231µg/mL which contributed to the mycosporine-like amino acid shinorine.

Key words: *Sea Urchin, Mycosporine, UV Radiation, DPPH.*

1- Ph.D. Student in Marine Biology, Department of Marine Biology, Faculty of Marine Science and Technology, University of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran.

2- Associate Professor in Department of Marine Biology, Faculty of Marine Science and Technology, University of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran.

3- Assistant Professor in Department of Phytochemistry, Medicinal Plants and Drugs Research Institute, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran.

4- Associate Professor in Department of Chemistry, Faculty of Sciences, University of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran.

*Corresponding Author: morteza110110@gmail.com

