

УДК 615.324

<https://doi.org/10.21603/-I-IC-78>

**СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ СУММЫ ТРИТЕРПЕНОВЫХ ГЛИКОЗИДОВ – ЦЕННЫХ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ ИЗ ДАЛЬНЕВОСТОЧНОГО ТРЕАНГА**

*Apostichopus japonicus*

А.Н. Мазейка, Н.М. Санина, Л.А. Помазенкова, Е.А. Барсова,  
К.А. Соломяный

ФГАОУ ВО «Дальневосточный федеральный университет»,  
г. Владивосток, Россия,

**Аннотация**

Приводится описание способа получения суммы тритерпеновых гликозидов дальневосточного трепанга из отходов пищевого производства. Способ включает в себя описание методики заготовки и хранения сырья, извлечения и очистки целевых соединений. Приводится характеристика получаемого продукта

**Ключевые слова:** тритерпеновые гликозиды, дальневосточный трепанг, *Apostichopus japonicus*

Морские голотурии – важный продукт питания, обладающий ценными пищевыми свойствами и обширным спектром полезных свойств. В азиатско-тихоокеанском регионе в пищу употребляется несколько видов голотурий, однако традиционно наиболее ценным принято считать дальневосточный трепанг *Apostichopus japonicas* (Oh et al, 2017). Этот вид активно используется в китайской медицине.

Принято считать, что подавляющая часть полезных свойств голотурий связана с наличием в них тритерпеновых гликозидов (ТГ). ТГ голотурий обладают широким спектром биологической активности: антибактериальной, противогрибковой (Wang et al, 2012), иммуностимулирующей, адъювантной, противораковой (Dai et al, 2020). Характерная особенность данного класса соединений – проявление биологической активности в крайне низкой концентрации. Таким образом, разработка БАД на основе данных соединений представляет собой перспективную задачу.

Существенным препятствием на пути к разработке и внедрению БАД на основе ТГ дальневосточного трепанга долгое время являлся большой дефицит сырья. Дальневосточный трепанг занесен в красную книгу, и его промысловый лов долгое время не проводился. В настоящее время в результате развития марикультуры в Приморском крае налажено производство этого ценного продукта. Однако, стоимость сырья остается весьма высокой. Также важно отметить, что до сих пор отсутствуют методы получения высокоочищенной суммы тритерпеновых гликозидов из дальневосточного трепанга, пригодные для промышленного внедрения.

С целью решения этих проблем нами был разработан простой способ получения высокоочищенной суммы ТГ из дальневосточного трепанга.

В качестве сырья в предлагаемом методе используются внутренности трепанга. Эта мера позволяет значительно снизить стоимость сырья, так как в пищу употребляется только стенка тела, тогда как внутренности на продажу не поступают и составляют отходы производства.

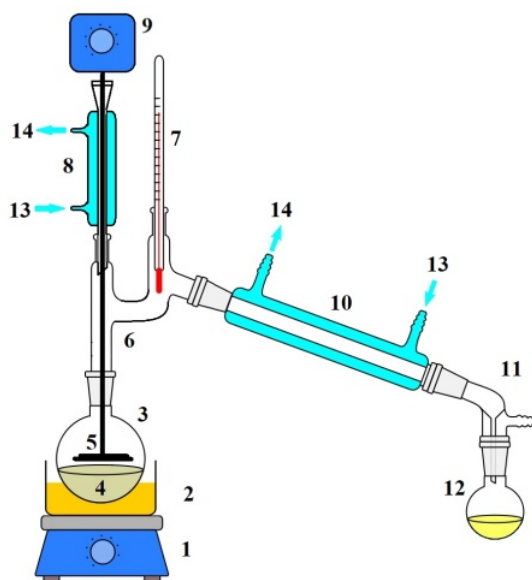
На первом этапе сырье нагревается до 100 °С при интенсивном перемешивании и выдерживается при этой температуре в течение 10 мин. Такая обработка позволяет полностью ингибировать ферментативную активность и предотвратить деградацию ТГ при хранении сырья.

На втором этапе полученная смесь разбавляется ацетоном в соотношении 1:1, об/об. Ацетон выполняет роль консерванта и экстрагента. Применение ацетона позволяет

неограниченно долго хранить заготовленное сырье при комнатной температуре. Также ацетон является недорогим распространенным растворителем, что значительно снижает себестоимость получаемого продукта.

На третьем этапе полученная смесь кипятится с обратным холодильником в течение 3 ч. Полученный экстракт сливается и проводится повторная экстракция 50%-ным водным раствором ацетона в том же объеме. Полученные экстракты объединяются и подвергаются сушке.

Четвертым этапом является сушка экстракта. Эта процедура проводится в две стадии. На первой стадии из экстракта отгоняется ацетон при атмосферном давлении, что позволяет использовать этот растворитель повторно для экстракции следующих партий сырья. Для подавления вспенивания экстракта в перегонную колбу устанавливается верхнеприводная мешалка, вращающаяся над уровнем выпариваемого раствора (рис.1). На втором этапе, после отгонки ацетона, экстракт смешивается с промытым ацетоном и прокаленным кварцевым песком (фракция 0,1-0,05 мм) в соотношении экстракт-песок 1:40 (в пересчете на сухое вещество). Полученная смесь высушивается в термостате при 95 °С при периодическом перемешивании.



**Рис. 1. Лабораторная установка для сушки ацетонового экстракта из *A. japonicus***

*1- регулируемый нагреватель, 2- водяная баня, 3 – колба с экстрактом, 4 – экстракт, 5 – верхнеприводная мешалка, 6 – насадка Кляйзена, 7-термометр, 8 – обратный холодильник, 9 – регулируемый привод верхней мешалки, 10 – прямой холодильник, 11 – вакуумный аллонж, 12 – приемная колба, для отгоняемого растворителя, 13 – подвод охлаждающей воды, 14 – отвод охлаждающей воды.*

На пятом этапе высушенный экстракт промывается в стеклянной колонке ацетоном до удаления нейтральных липидов. Удаление нейтральных липидов контролируется с помощью ТСХ на пластинках с силикагелем в системе гексан-диэтиловый эфир-уксусная кислота 70:30:10, об/об. Обнаружение нейтральных липидов проводится путем опрыскивания пластинок 10%-ным раствором серной кислоты в метаноле с последующим нагреванием при 120-180 °С до появления темных пятен.

Шестой этап заключается в получении чистой суммы ТГ в результате промывания колонки системой хлороформ-этанол 1:1, об/об. Контроль за выходом ТГ осуществляется с помощью ТСХ на пластинках с силикагелем в системе хлороформ-этанол-вода 100:75:10, об/об. Обнаружение ТГ проводится путем опрыскивания пластинок антроновым реактивом с последующим нагреванием при 120-180 °С до появления синих пятен с  $R_f = 0.5$ . Раствор ТГ

в системе хлороформ-этанол выпаривается на ротормном испарителе и доводится до постоянной массы. Полученный препарат представляет собой легкорастворимый в воде порошок светло-кремового цвета. Содержание ТГ в полученном препарате составляет 90-95%.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-25-00442, <https://rscf.ru/project/22-25-00442/>

#### **Список литературы**

1. Oh, G. Biological activities and biomedical potential of sea cucumber (*Stichopus japonicus*): a review/ G. Oh, S. Ko, D. Lee, S. Heo, W. Jung//*Fisheries and Aquatic Sciences*.-2017.-№20, pp 28-45
2. Wang, Z. Antifungal nortriterpene and triterpene glycosides from the sea cucumber *Apostichopus japonicus* Selenka/Z. Wang, H.Zhang, W. Yuan, W. Gong, H. Tang, B. Liu, K. Krohn, L. Li, Y. Yi, W. Zhang//*Food Chemistry*.-2012.-vol.132. pp 295–300
3. Dai, Y. Characterization and anti-tumor activity of saponin-rich fractions of South Korean sea cucumbers (*Apostichopus japonicus*)/ Y. Dai, E. Kim, H Luo, Y. Jiang, J. Oh, S. Heo, Y. Jeon//*J. Food Sci Technol*.-2020.-№6.-pp 2283–2292

#### **METHOD FOR PREPARATION THE SUM OF TRITERPENE GLYCOSIDES - IMPORTANT BIOLOGICALL ACTIVE COMPOUNDS FROM THE FAR EASTERN EDIBLE HOLOTHURIA - *Apostichopus japonicas***

Mazeika A.N., Sanina N.M., Pomazenkova L.A., Barsova E.A.,  
Solomyany K.A.  
Far Eastern Federal University, Vladivostok, Russia

#### **Abstract**

Description of a method for preparation the sum of triterpene glycosides of the Far Eastern edible holothuria - *Apostichopus japonicus* is given. The method utilize a food production waste as a feedstock. The method includes a description of the procedures of procurement and storage of feedstock, extraction and purification of triterpene glycosides. The characteristic of the resulting is given.

**Keywords:** triterpene glycosides, Far Eastern edible holothuria, *Apostichopus japonicus*

#### **References**

1. Oh, G. Biological activities and biomedical potential of sea cucumber (*Stichopus japonicus*): a review/ G. Oh, S. Ko, D. Lee, S. Heo, W. Jung//*Fisheries and Aquatic Sciences*.-2017.-№20, pp 28-45
2. Wang, Z. Antifungal nortriterpene and triterpene glycosides from the sea cucumber *Apostichopus japonicus* Selenka/Z. Wang, H.Zhang, W. Yuan, W. Gong, H. Tang, B. Liu, K. Krohn, L. Li, Y. Yi, W. Zhang//*Food Chemistry*.-2012.-vol.132. pp 295–300
3. Dai, Y. Characterization and anti-tumor activity of saponin-rich fractions of South Korean sea cucumbers (*Apostichopus japonicus*)/ Y. Dai, E. Kim, H Luo, Y. Jiang, J. Oh, S. Heo, Y. Jeon//*J. Food Sci Technol*.-2020.-№6.-pp 2283–2292