



УДК 547.39 : 539.95

МОРСКОЙ ЕЖ *STRONGYLOCENTROTUS INTERMEDIUS*
КАК ИСТОЧНИК ЭЙКОЗАПЕНТАЕНОВОЙ КИСЛОТЫ

Васьковский В. Е., Ромашина Н. А.

Институт биологии моря Дальневосточного научного центра
Академии наук СССР, Владивосток

Исследовано распределение эйкозапентаеновой кислоты в гонадах, пищеварительных органах и панцирях морских ежей *Strongylocentrotus intermedius*, а также в различных классах липидов из гонад самцов. Показано, что наиболее высоко содержание эйкозапентаеновой кислоты в гонадах самцов; в полярных липидах ее больше, чем в нейтральных; в фосфатидилхолине больше, чем в фосфатидилэтаноламине.

В последние годы резко возрос интерес исследователей к 5,8,11,14,17-эйкозапентаеновой кислоте (ЭПК). ЭПК является одним из предшественников простагландинов [1] и лейкотриенов [2], самой активной незаменимой жирной кислотой для некоторых водных организмов [3], играет важную роль в химической основе взаимоотношений картофеля с паразитическими грибами [4]. Наибольший интерес вызывает ЭПК как средство для предотвращения сердечно-сосудистых заболеваний: она в большей степени, чем другие жирные кислоты, снижает синтез триглицеридов и холестерина в организме млекопитающих [5], уменьшает свертываемость крови и препятствует образованию тромбов [6]. Хотя ЭПК широко распространена в природе [7, 8], она и ее препараты до сих пор труднодоступны. Поэтому актуальной задачей является поиск удобных источников ЭПК и совершенствование методов ее выделения.

Недавно в нашей лаборатории было найдено, что хорошим источником для получения ЭПК может быть морской еж *Strongylocentrotus intermedius* [9]. Этот вид является промысловым в СССР и Японии. Из гонад этих животных готовят пищевой продукт — «икру морских ежей». В ходе предварительных исследований мы нашли, что в гонадах морских ежей содержание ЭПК может достигать 30% и более от суммы жирных кислот. В них практически отсутствует докозагексаеновая кислота — главная полиеновая кислота многих морских организмов [7], что существенно упрощает процедуру очистки ЭПК. Поэтому мы решили исследовать более детально распределение ЭПК в органах и тканях *S. intermedius*, а также в различных классах его липидов.

Мы не ставили своей задачей дать полную биохимическую характеристику объекта, поэтому в ходе исследования все многочисленные органы и ткани животных были объединены в три группы: гонады, пищеварительные органы и панцири. Вклад первых в общую массу морских ежей составлял 7,2—14,6% у самцов и 6,6—21,3% у самок, вторых — около 1,5%, панцирей — около 45%. Разность между общей массой животных и массой перечисленных выше органов приходится на полостную жидкость, которая не исследовалась, так как содержание липидов в ней ничтожно, а также на содержимое кишечника.

Содержание липидов (в % от сырого веса) в гонадах, пищеварительных органах и панцирях самцов составляло 2,1; 3,7 и 0,6, а у самок — 4,4; 3,4 и 0,5 соответственно.

Сведения о составе жирных кислот суммы липидов отдельных органов морских ежей, а также различных фракций липидов гонад представлены в таблице.

Состав жирных кислот липидов и некоторых липидных фракций органов морского
ежа *S. intermedius*

В % от суммы жирных кислот

Жирные кислоты *	Самки				Самцы **						
	панцирь	пищеварительные органы	гонады	панцирь	пищеварительные органы	гонады	Гонады				
							общие липиды	нейтральные липиды	фосфолипиды	ФХ	ФЭ
14:0	5,6	4,6	4,8	3,8	3,8	4,4	5,6	6,4	5,8	0,6	4,8
14:1+15:0	0,8	0,6	0,9	0,7	0,4	0,5	0,9	1,1	0,6	—	—
16:0	13,2	13,0	10,3	11,8	9,4	11,2	13,2	16,2	13,8	5,6	8,5
16:1	5,3	3,6	8,0	4,5	2,7	5,1	6,4	11,2	1,6	1,6	—
16:2+17:0	—	—	0,6	0,7	—	0,3	0,8	1,3	0,8	0,2	1,9
18:0	3,0	4,6	2,1	3,4	2,9	3,6	4,0	2,2	5,8	1,6	6,0
18:1	4,2	5,2	6,0	4,0	3,8	4,4	4,9	6,6	3,2	5,1	1,6
18:2	1,6	2,3	2,5	1,4	1,2	1,1	2,6	4,0	0,8	1,1	0,5
18:3ω6	0,2	0,2	0,4	0,4	0,2	0,4	0,4	0,9	0,4	0,3	0,4
18:3ω3+	11,3	10,0	8,9	12,0	10,6	9,1	8,0	7,1	8,8	6,6	8,6
+20:1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
18:4ω3	7,1	7,9	8,2	7,5	7,7	4,8	5,3	8,5	4,3	7,6	2,7
20:2	1,7	1,2	2,2	2,3	1,5	2,0	2,9	2,9	2,6	2,2	1,7
20:3	0,3	1,5	0,6	0,5	1,7	0,6	0,4	0,8	1,6	1,7	—
20:4ω6	16,6	15,1	9,8	17,6	18,2	11,9	10,8	6,1	14,4	11,1	18,6
20:4ω3	4,8	3,4	3,2	5,5	3,8	3,6	1,8	2,4	2,0	0,6	1,1
20:5ω3	24,0	26,7	31,3	23,2	32,2	36,5	31,2	22,4	33,2	52,8	41,2

* В панцирях самцов обнаружено 0,6% кислоты 22:6ω3, в некоторых из других препаратов содержится от 0,1 до 2% неидентифицированных жирных кислот.

** Состав жирных кислот липидов различных органов самцов и самок определяли у животных, собранных в одно время в одном и том же месте. Для анализа жирных кислот в различных фракциях липидов из гонад самцов были взяты животные, собранные позднее в другом месте.

Наиболее богаты ЭПК гонады самцов. Этот результат не является неожиданным, так как обычно полиеновые кислоты накапливаются в фосфолипидах [7], а последних гораздо больше в сперматозоидах, чем в яйцеклетках [10]. Интересно, что и в кишечниках самцов содержание ЭПК выше, чем в кишечниках самок. Возможно, кишечник является местом продуцирования липидов для гонад [11], и состав его липидов коррелирует с составом липидов соответствующих гонад.

Если принять средний вклад гонад в общую массу морских ежей равным 15% (в нерестовый период он выше, особенно у самок), то легко рассчитать, используя приведенные выше данные, что гонады самцов содержат около 60% всей ЭПК животного, на долю пищеварительных органов приходится приблизительно 10%, панцирей — 30%, а у самок — 75,5 и 20% соответственно. Поэтому для выделения ЭПК в небольших количествах в качестве исходного сырья удобнее брать только гонады животных или даже гонады самцов. При этом не составляет большого труда выделить с помощью хроматографии на силикагеле, пропитанном солями серебра, несколько сотен миллиграммов ЭПК чистотой не ниже 97—98%. При наработке больших количеств ЭПК из морских ежей рациональнее брать для экстракции животных обоего пола полностью, избавляясь только от полостной жидкости на стадии измельчения сырья.

Как и у большинства других животных [7], содержание ЭПК во фракции полярных липидов выше, чем в нейтральных, однако различия невелики. Интересно, что фосфатидилхолин морского ежа содержит больше ЭПК, чем фосфатидилэтанолламин. У морских организмов зачастую фосфатидилэтанолламины богаче ЭПК и другими полиеновыми жирными кислотами, чем фосфатидилхолин [12—15], хотя встречается и распределение, подобное тому, что обнаружено нами в морском еже [16—18].

Таким образом, проведенное исследование показало, что морской еж *S. intermedius* является удобным объектом для выделения чистой ЭПК

и отдельных классов липидов с высоким ее содержанием, а также позволило рекомендовать наиболее рациональные способы переработки сырья для различных целей.

Экспериментальная часть

Морские ежи были собраны в сентябре 1980 г. в бухте Витязь (залив Посьета, Японское море). Доставленных в лабораторию свежевыловленных животных взвешивали, осторожно вскрывали, чтобы не повредить гонады и не потерять кусочки панциря. Для дальнейших исследований отбирали экземпляры со зрелыми гонадами. Для каждого морского ежа определяли общую массу, а затем массу панциря и гонад. Пищеварительные органы от 10 животных каждого пола объединяли, промывали морской водой для отделения содержимого, воду удаляли фильтровальной бумагой. Панцири измельчали в ступке, а мягкие ткани гомогенизировали в электрическом измельчителе тканей. Липиды извлекали по методу Блайя и Дайера [19], затем остаток тканей экстрагировали дважды пятикратным объемом смеси хлороформ—метанол (2:1, по объему). Липиды очищали от примесей методом [20]. Содержание липидов в полученных растворах определяли взвешиванием аликвот, упаренных до постоянного веса при 60° С.

Липиды разделяли на фракции колоночной хроматографией на силикагеле [21]. Метилловые эфиры жирных кислот, полученные по методу [22], очищали хроматографией в тонком слое силикагеля в системе гексан—диэтиловый эфир (95:5, по объему) или колоночной хроматографией. Колонки промывали гексаном, а затем метилловые эфиры вымывали смесью гексан—диэтиловый эфир (95:5). Метилловые эфиры анализировали на хроматографе марки Shimadzu 5-GC (Япония) с пламенно-ионизационным детектором. Колонка стеклянная (250×0,3 см), заполненная 8,5% диэтиленгликольсукцинатом на Chromosorb W-AW (80—100 меш). Жирные кислоты идентифицировали по временам удерживания и значениям «углеродных чисел» [23, 24]. Процентное содержание кислоты рассчитывали по методу, предложенному Кэррол [25].

Авторы выражают благодарность В. В. Жулину и С. В. Бондаренко, которые принимали участие в экспериментальной работе на первых стадиях исследования.

ЛИТЕРАТУРА

1. Reingold D. F., Needleman P. Trends Pharm., 1980, v. 1, № 13, p. 359—361.
2. Hammarström S. J. Biol. Chem., 1980, v. 255, № 15, p. 7093—7094.
3. Kanazawa A., Teshima S., Endo M., Kayama M. Mem. Fac. Fish., Kagoshima Univ., 1978, v. 27, № 1, p. 35—40.
4. Bostock R. M., Kuc J. A., Laine R. A. Science, 1981, v. 212, № 4490, p. 67—69.
5. Iritani N., Inoguchi K., Endo M., Fukuda E., Morita M. Biochim. et biophys. acta, 1980, v. 618, № 3, p. 378—382.
6. Dyerberg J., Bang H. O., Stoffersen E., Moncada S., Vane J. R. Lancet, 1978, v. 2, № 8081, p. 117—119.
7. Sargent J. R. In: Biochemical and biophysical perspectives in marine biology/Eds. Malins D. C., Sargent J. R. N. Y.: Acad. Press, 1976, v. 3, p. 176—212.
8. Gellerman J. L., Anderson W. H., Richardson D. G., Schlenk H. Biochim. et biophys. acta, 1975, v. 388, № 2, p. 277—290.
9. Ромашина Н. А., Светашев В. И. Сб. тез. II Всес. конференции по морской биологии. Владивосток, 1982, ч. 2, с. 105.
10. Kozhina V. P., Terekhova T. A., Svetashev V. I. Develop. Biol., 1978, v. 62, № 2, p. 512—517.
11. Allen W. V. Comp. Biochem. and Physiol. A, 1974, v. 47, № 4, p. 1297—1311.
12. Shieh H. S. Comp. Biochem. and Physiol., 1968, v. 27, № 2, p. 533—541.
13. Clarke A. J. Exp. Biol. and Ecol., 1977, v. 28, № 3, p. 297—314.
14. Chapelle S. J. Exp. Zool., 1978, v. 204, № 3, p. 337—346.
15. Bottino N. R. Lipids, 1978, v. 13, № 1, p. 18—23.
16. Addison R. F., Ackman R. G., Hingley J. J. Fish. Res. Board Can., 1968, v. 25, № 10, p. 2083—2090.
17. Patton S., Lee R. F., Benson A. A. Biochim. et biophys. acta, 1972, v. 270, № 4, p. 479—488.

18. *Chelomin V. P., Zhukova N. V.* Comp. Biochem. and Physiol. B, 1981, v. 69, № 3, p. 599-604.
19. *Bligh E. G., Dyer W. J.* Can. J. Biochem. and Physiol., 1959, v. 37, № 8, p. 911-917.
20. *Wuthier R. E. J.* Lipid Res., 1966, v. 7, № 4, p. 558-561.
21. *Rouser G., Kritchevsky G., Yamamoto A.* In: Lipid chromatographic analysis/Ed. Marinetti G. V. N. Y.: Marcel Dekker, 1967, v. 1, p. 99-162.
22. *Carreau J. P., Dubacq J. P. J.* Chromatogr., 1978, v. 151, № 3, p. 384-390.
23. *Ackman R. G.* In: Methods in enzymology/Ed. Lowenstein J. M. N. Y.: Acad. Press, 1969, v. 14, p. 329-381.
24. *Jamieson G. R. J.* Chromatogr. Sci., 1975, v. 13, № 10, p. 491-497.
25. *Carrol K. K.* Nature, 1961, v. 191, № 4786, p. 377-378.

Поступила в редакцию
20.IV.1982

SEA URCHIN *STRONGYLOCENTROTUS INTERMEDIUS* AS A SOURCE OF EICOSAPENTAENOIC ACID

VASKOVSKY V. E., ROMASHINA N. A.

*Institute of Marine Biology, Far East Science Center, Academy
of Sciences of the USSR, Vladivostok*

The distribution of eicosapentaenoic acid (EPA) in different organs of the sea urchin *Strongylocentrotus intermedius* and in separate lipid classes from the gonads of the sea urchin males was studied. The gonads were the most rich in EPA. The EPA content in the gonads and digestive organs of the males was higher than in the same organs of the females. Polar lipids contained more EPA than neutral lipids, and phosphatidylcholine was more rich in EPA than phosphatidylethanolamine.