

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЛИПИДНЫХ ЭКСТРАКТОВ ВОДОРОСЛЕЙ

Е.Д. Облuchинская¹, канд. фарм. наук, С.А. Иванова², канд. фарм. наук,
О.Н. Пожарицкая², канд. фарм. наук, А.Н. Шиков², докт. фарм. наук

¹Мурманский морской биологический институт КНЦ РАН;
183010, Мурманск, ул. Владимирская, д. 17

²Санкт-Петербургский институт фармации;
188663, Ленинградская обл., Всеволожский р-н, Кузьмолдовское
городское поселение, г.п. Кузьмолдовский, д. б/н, корп. 245

E-mail: obluchinskaya@yandex.ru

Проведено сравнительное исследование липидных экстрактов из 2 видов бурых водорослей: фукуса пузырчатого и аскофиллума узловатого, собранных в разных местах. Применялся метод инструментальной высокоэффективной тонкослойной хроматографии. Показано, что условия обитания оказывают существенное влияние на содержание в водорослях свободных жирных кислот, триглицеридов и фосфолипидов.

Ключевые слова: фукус пузырчатый, *Fucus vesiculosus* L., аскофиллум узловатый, *Ascophyllum nodosum* (L.) Le Jolis, липидные экстракты, фосфолипиды, нейтральные липиды, жирные кислоты, пигменты.

Липиды бурых водорослей – перспективные соединения, обладающие широким спектром фармакологической активности. Изучению липидных компонентов этих морских растений в последнее десятилетие посвящено значительное количество работ [1]. Качественные и количественные характеристики липидов водорослей изменяются в зависимости от таких факторов, как вид водорослей, стадии развития растений, условия их произрастания и т.д. Большинство исследований проведено на свежих или замороженных растениях, а химический состав липидных экстрактов, полученных из сухого сырья, изучен недостаточно. Однако сушка может существенно изменять содержание липидных фракций вплоть до полного их разрушения. Традиционно для промышленной переработки водорослей используют именно высушенное сырье, поэтому сравнительное исследование липидных экстрактов на его основе актуально в свете практического использования макрофитов.

В задачу исследования входило сравнительное изучение качественного и количественного состава липидных экстрактов, полученных из 2 видов бурых водорослей и по одной технологии из высушенного сырья. Исследовались водоросли, широко распро-

страненные в морях Северо-Западного региона, которые могут быть перспективным сырьем для получения биологически активных веществ (БАВ).

Экспериментальная часть

В качестве сырья для получения липидных комплексов (ЛПК) использовали воздушно-сухие слоевища фукуса пузырчатого – *Fucus vesiculosus* L. и аскофиллума узловатого – *Ascophyllum nodosum* (L.) Le Jolis, собранные в Баренцевом, Белом и Балтийском морях в июле 2011 г. (см. таблицу)

Липидные экстракты получены разработанным ранее способом [2]. Измельченные слоевища фукусовых водорослей экстрагировали в аппарате Сокслета азеотропной смесью метилхлорида с этиловым спиртом до максимального истощения сырья. По окончании процесса экстракции вытяжку концентрировали в вакууме на роторном испарителе и сушили в вакуум-сушильном шкафу.

Сравнительное изучение липидных экстрактов методом высокоэффективной тонкослойной хроматографии (ВЭТСХ) на пластинах Silicagel 60F254 выполняли в следующих системах растворителей: хлороформ – метанол – уксусная кислота – вода (7:2:0,8:0,5) – для анализа фосфолипидов [3]; перолейный эфир – диэтиловый эфир – уксусная кислота (8:2:0,1) – для анализа нейтральных липидов [4]; петролейный эфир – ацетон (7:3) – для анализа пигментов [5, 6]. Детектирование пластин осуществляли сканирующим спектроденситометром TLC Scanner 3 с помощью программного обеспечения Wincats (Vol. 1.3.4). Для документирования пластин сканировали изображение с использованием планшетного сканера Veagrow 2448 CU. Содержание детектированных липидных компонентов в липидных экстрактах рассчитывали методом внутренней нормализации (рис. 1, 2).

НЕКОТОРЫЕ АБИОТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ РАЙОНОВ СБОРА ВОДОРΟΣЛЕЙ

Вид водоросли	Экстракт	Место сбора	Тип берега	Соленость, ‰	ИДВ*
Фукус пузырчатый	ЛПК ₁	Белое море, район мыса Картиш, губа Чупа	Открытый берег	21,0–22,0	Высокая
	ЛПК ₂	Балтийское море, Финский залив, район о. Ротшер	Открытый берег	7,0–12,0	Низкая
	ЛПК ₃	Баренцево море, мыс Пробный, губа Дальнезеленецкая	Слабо защищенный	31,5–34,0	Средняя
Аскофиллум узловатый	ЛПК ₄	Белое море, район мыса Картиш, губа Чупа	Открытый берег	21,0–22,0	Высокая
	ЛПК ₅	Баренцево море, мыс Пробный, губа Дальнезеленецкая	Слабо защищенный	31,5–34,0	Средняя

*ИДВ – интенсивность движения водных масс.

В составе липидов бурых водорослей выявлены основные компоненты: триглицериды, свободные жирные кислоты, стерины, пигменты, галактозил-глицериды, фосфолипиды [1].

Как показало сравнительное изучение фосфолипидов липидных экстрактов, в составе ЛПК₁ в отличие от остальных образцов отсутствуют соеди-

нения, детектируемые в условиях анализа фосфолипидов (см. рис.1). Качественный состав детектируемых соединений остальных ЛПК не различался между собой. Согласно данным литературы, фукусковые водоросли содержат фосфатидилэтаноламин (ФЭ), фосфатидилглицерин (ФГ), фосфатидилхолин (ФХ) и фосфатидилинозитол (ФИ), а также фосфолипиды, структура которых не установлена. В высушенных водорослях содержание фосфолипидов ранее не определялось. В исследуемых образцах ЛПК фосфолипиды ФЭ, ФХ и ФИ обнаружены в следовых количествах. Превалировали неидентифицированные компоненты Sub1 и Sub2 (рис. 3), которые, вероятно, являлись соединениями, образовавшимися в результате сушки водорослей.

Основная масса (около 85%) липидов бурых водорослей состояла из нейтральных липидов и пигментов. Во всех образцах ЛПК были идентифицированы свободные триглицериды (ТГ), жирные кислоты (ЖК), стерины и эфиры стерин. Образцы ЛПК₃, ЛПК₄ и ЛПК₅ по качественному и количественному составу компонентов практически оказались идентичны. Наибольшее содержание ТГ установлено в экстрактах из аскофиллума узловатого, собранного в Белом и Баренцевом морях. Экстракты из фукуса пузырчатого характеризовались разным содержанием ТГ: ЛПК₃ содержал в 1,4–1,9 раз больше ТГ, чем ЛПК₁ и ЛПК₂ из Белого и Балтийского морей соответственно. Экстракты из водорослей Белого моря имели наименьшее суммарное содержание свободных ЖК: для ЛПК₄ сумма ЖК меньше на 5,2%, а для ЛПК₁ на 21,6% соответствующих значений для ЛПК из других морей. Результаты в данном случае подтверждали установившееся мнение о значительном влиянии условий обитания на содержание свободных ЖК водорослей.

Для ЛПК₁ выявлено преобладание фракции стерин. Во всех исследуемых образцах детектировали β-ситостерин (4,0±0,2% для ЛПК₁ и ЛПК₅; 3,8±0,1% для ЛПК₂ и ЛПК₄; 2,9±0,1% для ЛПК₃).

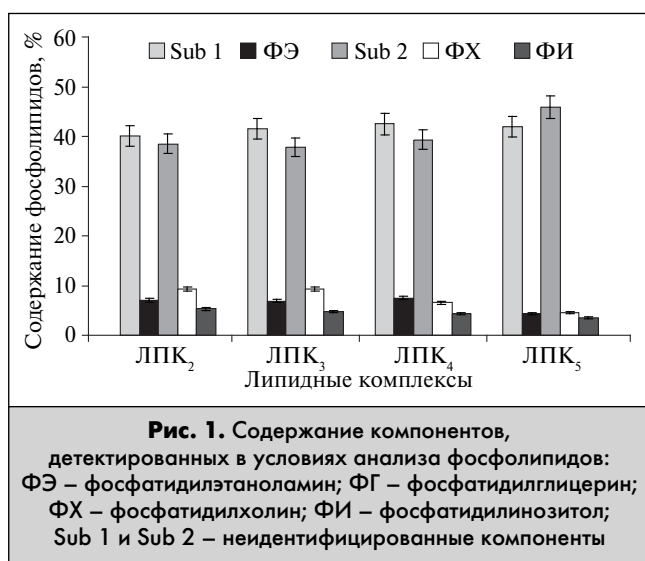


Рис. 1. Содержание компонентов, детектированных в условиях анализа фосфолипидов: ФЭ – фосфатидилэтаноламин; ФГ – фосфатидилглицерин; ФХ – фосфатидилхолин; ФИ – фосфатидилинозитол; Sub 1 и Sub 2 – неидентифицированные компоненты

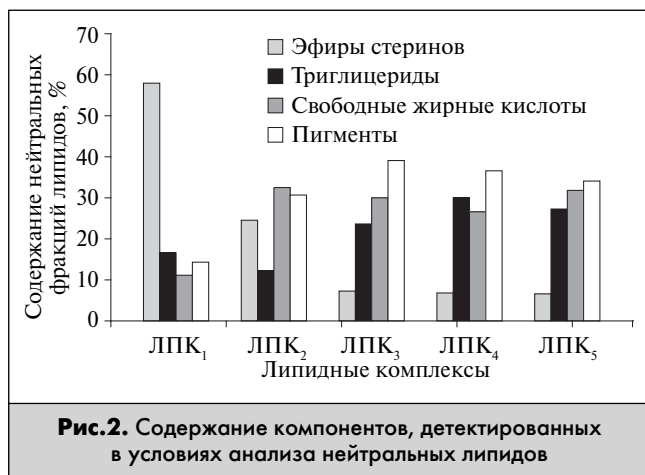


Рис.2. Содержание компонентов, детектированных в условиях анализа нейтральных липидов

Спектральные характеристики основных детектированных пигментов всех исследуемых образцов ЛПК позволили отнести их к классу хлорофиллов (рис. 4). Качественный состав детектируемых пигментов идентичен для ЛПК₃, ЛПК₄ и ЛПК₅. В составе ЛПК₃ и ЛПК₅ возможно присутствие следовых количеств β-каротина [7].

Таким образом, на основании результатов сравнительных исследований липидных экстрактов фукоидов, осуществленных методом ВЭТСХ, установлено, что липидные экстракты из фукуса пузырчатого из Баренцева моря и аскофиллума узловатого из Белого и Баренцева морей практически идентичны по качественному и количественному содержанию фосфолипидов, основных групп нейтральных липидов, жирных кислот и пигментов. Экстракты фукуса пузырчатого из Белого и Балтийского морей по составу БАВ отличались друг от друга, а также от образцов ЛПК₃, ЛПК₄ и ЛПК₅. Все ЛПК, за исключением ЛПК₁, имели идентичный набор фосфолипидов. В последнем выявлено преобладание фракции стериннов в виде эфиров, и существенное (в 3 раза) снижение содержания свободных жирных кислот. Для ЛПК₂ установлено меньшее по сравнению с остальными образцами содержание триглицеридов жирных кислот. Выявленные различия важно учитывать при получении БАВ из водорослей.

Выводы

1. Проведено сравнительное исследование качественного состава и количественного содержания основных групп БАВ липидных экстрактов из 2 видов бурых водорослей – фукуса пузырчатого и аскофиллума узловатого, собранных в разных местах.
2. Экспериментально подтверждено значительное влияние условий произрастания на содержание в водорослях свободных жирных кислот, триглицеридов и фосфолипидов, что следует учитывать при получении из них БАВ.

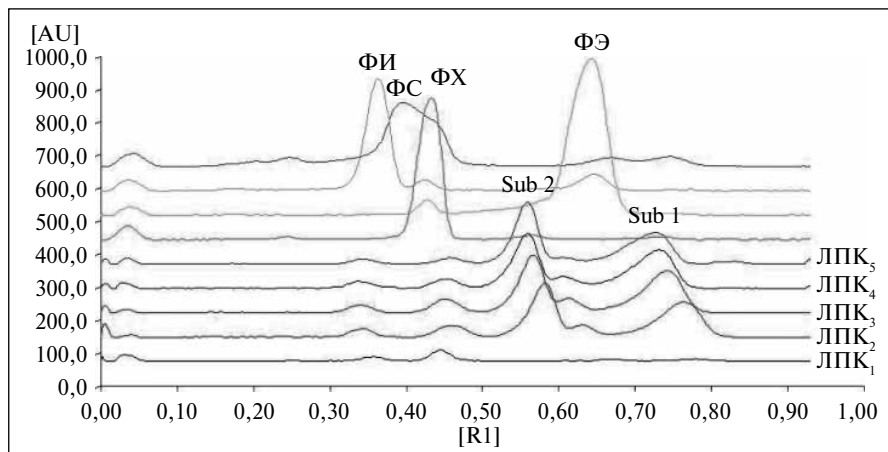


Рис. 3. Денситограмма дериватизированной пластины, полученной в условиях анализа фосфолипидов при 700 нм. ФХ – фосфатидилхолин, ФЭ – фосфатидилэтаноламин, ФИ – фосфатидилинозитол, ФС – фосфатидилсерин

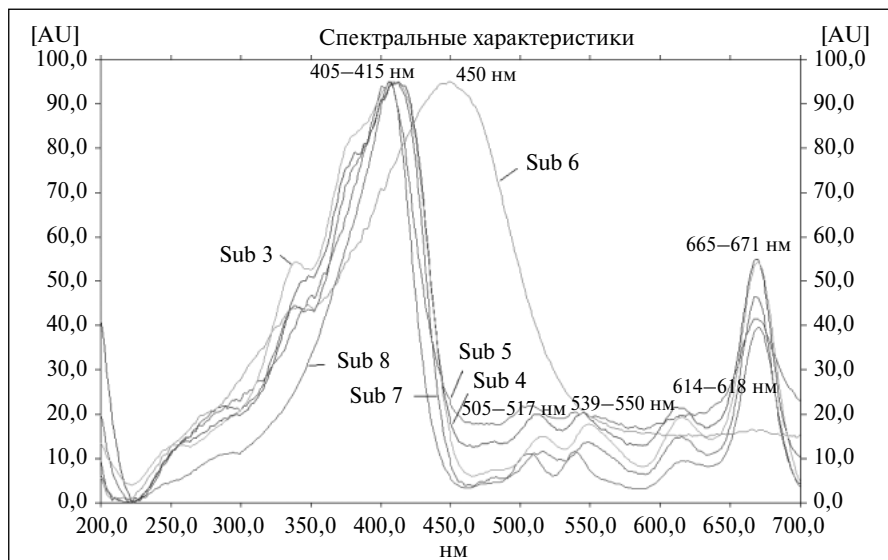


Рис. 4. Спектральные характеристики детектированных пигментов ЛПК фукусковых водорослей

ЛИТЕРАТУРА

1. Miyashita K., Mikami N., Hosokawa M. Hosokawa M. Chemical and nutritional characteristics of brown seaweed lipids: A review. // J. of Functional Foods. 2013. Vol. 5;4: 1507–1517.
2. Облучинская Е.Д. Патент РФ № 2337571 // Б.И. -№ 31, 10.11.2008.
3. Essig S., Kovar K.A. Quantitative determination of phospholipids in a pharmaceutical drug by scanning and video densitometry // J. AOAC Int. 2001. Vol. 4; 4: 1283–1286.
4. Sherma J., Fried B. Thin Layer Chromatographic Analysis of biological Samples. A review // J. Liquid Chrom. & Related Tech. 2005. Vol. 28: 2297–2314.
5. Иванова С.А., Скочипец С.Е., Скочипец М.Е. и др. // Фармация. 2003; 6: 23–25.
6. Zeb A., Murkovic M. Thin-layer chromatographic analysis of carotenoids in plant and animal samples // JPC. 2010. Vol. 23; 2: 94–103.
7. Курегян А.Г., Печинский С.В. Получение каротиноидов и их идентификация методами спектроскопии в ИК- и УФ-областях. Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2016; 1: 22–27.

Поступила 1 декабря 2014 г.

A COMPARATIVE STUDY OF LIPID EXTRACTS FROM ALGAE

E.D. Obluchinskaya¹, PhD; S.A. Ivanova², PhD; O.N. Pozharitskaya², PhD; A.N. Shikov², PhD

¹Murmansk Marine Biological Institute, Kola Research Centre, Russian Academy of Sciences; 17, Vladimirskaia St., Murmansk 183010

²Saint Petersburg Institute of Pharmacy; Build. 245, Kuzmolovsky Urban-Type Community, Kuzmolovskoe Urban Settlement, Vsevolozhsky District, Leningrad Region 188663

SUMMARY

Brown alga (*Phaeophyta*) lipids that have a broad range of pharmacological activity are promising compounds. Two brown alga species, such as *Fucus vesiculosus* and *Ascophyllum nodosum*, are most common in the seas of the North-Western Region. Instrumental high-performance thin-layer chromatography was performed to comparatively investigate lipid extracts from these 2 alga species gathered in different places. The lipid extracts from Barents Sea *Fucus vesiculosus* L. and those from White and Barents Seas *Ascophyllum nodosum* (L.) were shown to be virtually identical to the qualitative and quantitative content of phospholipids, the major groups of neutral lipids, fatty acids, and pigments. The extracts of *Fucus vesiculosus* L. gathered in the White and Barents Seas have the greatest differences in this set of characteristics.

Key words: *Fucus vesiculosus* L., *Ascophyllum nodosum* (L.) Le Jolis, lipid extracts, phospholipids, neutral lipids, fatty acids, pigments.

REFERENCES

1. Miyashita K., Mikami N., Hosokawa M. // J. of Functional Foods. 2013. Vol. 5; 4: 1507–1517.
2. Obluchinskaya E.D. Patent RF № 2337571 // B.I. -№ 31, 10.11.2008 (in Russian).
3. Essig S, Kovar KA. // J. AOAC Int. 2001. Vol. 4; 4: 1283–1286.
4. Sherma J., Fried B. Thin Layer Chromatographic Analysis of biological Samples. A review // J. Liquid Chrom. & Related Tech. 2005. Vol. 28: 2297–2314.
5. Ivanova S.A, Skochipezc S.E., Skochipezc M.E. et al. // Farmatsiya. 2003; 6: 23–25 (in Russian).
6. Zeb A., Murkovic M. Thin-layer chromatographic analysis of carotenoids in plant and animal samples // JPC. 2010. Vol. 23; 2: 94–103.
7. Kuregyan A.G., Pechinsky S.V. Getting carotenoids and their identification methods of spectroscopy in the IR and UV regions. Problems of Biological, Medical and Pharmaceutical Chemistry, 2016; 1: 22–27 (in Russian).