

ЛЕН МАСЛИЧНЫЙ КАК ИСТОЧНИК ЛИГНАНОВ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ФИТОПРЕПАРАТОВ С АНТИАЛЛЕРГЕННОЙ И АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТЬЮ

Леонтьев В.Н.*, **Титок В.В.****, **Лайковская И.В.***, **Феськова Е.В.***,
Жарский И.М.*

*УО «Белорусский государственный технологический университет», г. Минск, Беларусь

**ГНУ «Институт генетики и цитологии НАН Беларуси», г. Минск, Беларусь

Введение

Лигнаны – это комплексные полициклические соединения, обладающие фитоэстрогенной и, во многих случаях, значительной антиоксидантной активностью [1]. Биологические функции фитоэстрогенов заключаются в регуляции роста и развития, защите семян от вредных воздействий ультрафиолетового излучения, от поражения растений грибами и другими паразитами, в регуляции активности других вторичных метаболитов. Основными биологически активными лигнанами семян являются секоизоларицирезинола диглюкозид (SDG) (рис. 1), матаирезинол, ларицирезинол, изоларицирезинол, секоизоларицирезинол [2].

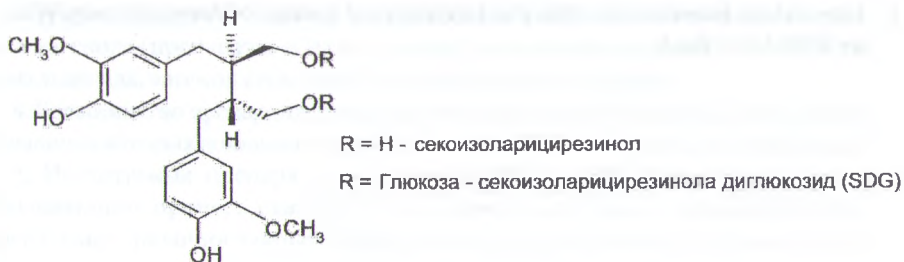


Рис. 1. Структура секоизоларицирезинола диглюкозида.

Льняное семя – один из богатейших источников лигнанов. Содержание SDG у льна масличного может достигать 1–1,5% от массы семян и значительно превосходит таковое у других растений [3]. Например, у ржи – самого богатого

зернового источника лигнанов, уровень SDG составляет около 0,001% от массы зерновки, в семечках тыквы - 0,05% [4].

Биологическая активность SDG в организме человека обусловлена его трансформацией микрофлорой кишечника до энтеродиола и энтеролактона, называемых лигнанами млекопитающих. Эти соединения обладают выраженной антиоксидантной активностью за счет фенольных гидроксильных групп. Лигнаны связываются с рецепторами женского полового гормона – эстрадиола и таким образом влияют на секрецию половых гормонов. Благодаря этим свойствам SDG и другие лигнаны повышают иммунитет организма и обладают противоопухолевым действием, в тех случаях, когда рак затрагивает половые сферы млекопитающих (рак простаты, рак молочной железы, рак шейки матки). Вероятно, лигнаны могут ингибировать ферменты, вовлеченные в метаболизм половых гормонов, чем и нарушают рост опухолевых клеток половой сферы. Влияние лигнанов на рецепцию эстрадиола может лежать в основе их антиаллергенного и противовоспалительного действия. Лигнаны обуславливают уменьшение риска сердечно-сосудистых заболеваний, таких как атеросклероз и коронарная сердечная недостаточность, за счет снижения содержания холестерина в сыворотке крови. Антиоксидантная активность SDG из семян льна и энтеродиола выше, чем у витамина E [5].

Благодаря высокому содержанию биологически активных лигнанов, семена льна масличного могут быть использованы в качестве сырья для получения препаратов с профилактическими и лечебными свойствами. Причем нет необходимости выделять индивидуальные лигнаны для создания фитопрепаратов, поскольку обнаружено их синергическое действие с другими биологически активными компонентами семян льна масличного, например, с ненасыщенными жирными кислотами [2, 6].

Настоящая работа посвящена сравнительному анализу биологически активных компонентов в семенах льна масличного для скрининга сортов с наибольшим удельным содержанием SDG и высоким содержанием ненасыщенных жирных кислот в масле для получения фитопрепарата, обладающего антиаллергенной и антиоксидантной активностью.

Экспериментальная часть

Объектом исследования служили семена сортов льна масличного (*Linum usitatissimum* L., var. *humile* Mill.) из коллекции Института генетики и цитологии НАН Беларуси, которые различались по семенной продуктивности и имели различное эколого-географическое происхождение: Atalante (Франция); Blue Chip (Венгрия); Omega, (США); Somme, Raluca (Чехия), Суан (Польша); K-2398 (Китай); McGregor, Gold Flax (Канада). Основная масса SDG локализована в обо-

лочках семян [2, 7], поэтому на первом этапе работы было проведено отделение оболочек от семядолей для получения фракции, обогащенной SDG. Липиды из полученной фракции удаляли экстракцией гексаном в аппарате Сокслета. Обезжиренную фракцию подвергали щелочному гидролизу. Гидролизат нейтрализовали уксусной кислотой, а лигнаны экстрагировали смесью этиловый спирт : 1,4-диоксан (1 : 1).

Экстракт анализировали с использованием высокоэффективного жидкостного хромато-масс-спектрометра «Waters», оснащенного диодно-матричным детектором PDA 996 и масс детектором «Micromass ZQ-2000» (ионизация – ESI) на колонке «HYPERSIL C18» длиной 250 мм и диаметром 4,6 мм. В качестве подвижной фазы использовали 5%-ный ацетонитрил в фосфатном буфере pH 2,8 (раствор А) и 100 %-ный ацетонитрил (раствор В) в соотношении А/В: 0 минут – 100 : 0, 30 минут – 70 : 30 и 30 минут – 30 : 70, при скорости элюирования 1 мл/мин [8].

Для количественного определения SDG использовали калибровочный график, построенный по стандартным растворам этого препарата (ChromaDex, USA). Определение удельного содержания масла в семенах льна масличного проводили с использованием аппарата Сокслета, в основе которого лежит многократная экстракция липидов из измельченного материала. Экстракцию и определение жирных кислот осуществляли по модифицированному нами методу Welch методом газожидкостной хроматографии на приборе Hewlett-Packard 4890D, оснащенный пламенно-ионизационным детектором и капиллярной колонкой HP-Innowax 0,32 мм×30 м [9]. Йодное число, характеризующее концентрацию ненасыщенных компонентов с двойными связями в общем пуле жирных кислот, оценивали по содержанию в пробах пальмитолеиновой, олеиновой, линолевой, α -линоленовой, эйкозеновой и эруковой кислот [10]. Достоверность генотипических различий оценивали по наименьшей существенной разнице при $P < 0.05$ (НСР₀₅).

Обсуждение результатов. Молекулярная масса SDG составляет 686 Da, поэтому на хроматограммах его идентифицировали в области отрицательных ионов по молекулярному иону $[M-H]^-$ с m/z 685,9; в области положительных ионов – по иону $[M+Na]^+$ с m/z 709,7. Типичная хроматограмма экстракта лигнанов из семян льна масличного представлена на рис. 2, а масс-спектр SDG – на рис. 3.

На рисунке 3б имеется пик с m/z 362,7, обусловленный протонированным агликоном SDG $[M+H-2(\text{ангидрогексоза})]^+$. В области низких молекулярных масс наблюдается достаточно интенсивный сигнал с m/z 163,46, который можно отнести к протонированной ангидрогексозе $[\text{гексоза}+H-H_2O]^+$. Ион с m/z 137,31 соответствует гидроксиметокси-бензилиевому иону. В спектре отрицательных ионов сигнал с m/z 523,87 может быть отнесен к иону $[M- \text{ангидрогексоза}]^-$.

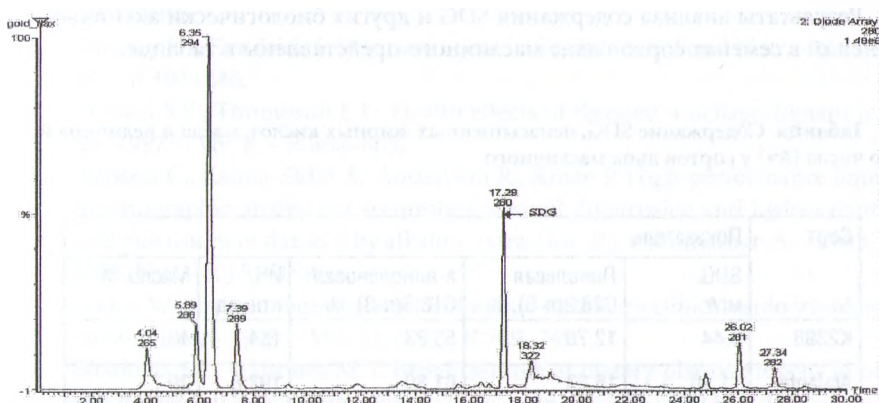


Рис. 2. Хроматограмма экстракта лигнанов из семян сорта Gold Flax.

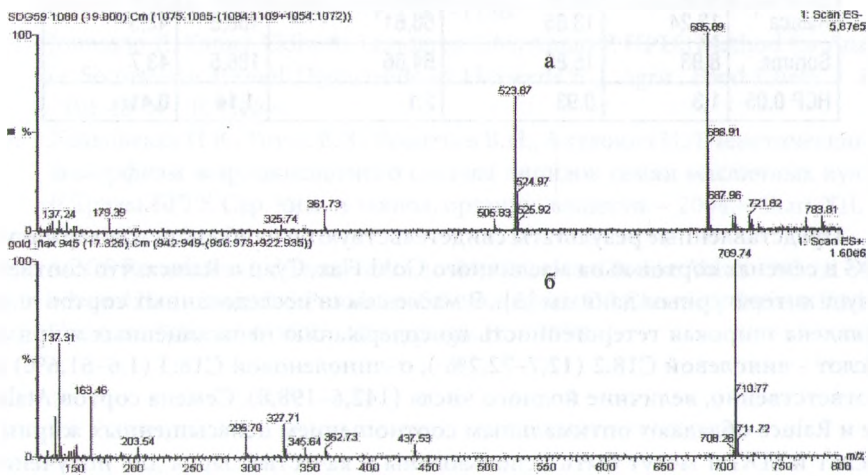


Рис. 3. Масс-спектры SDG, зарегистрированные в области отрицательных (а), и положительных (б) ионов.

Результаты анализа содержания SDG и других биологически активных соединений в семенах сортов льна масличного представлены в таблице.

Таблица. Содержание SDG, ненасыщенных жирных кислот, масла и величина йодного числа (ЙЧ) у сортов льна масличного

Сорт	Показатель				
	SDG, мг/г	Линолевая C18:2(n-6), %	α -линоленовая C18:3(n-3), %	ЙЧ, отн. ед.	Масло, %
K2398	8,44	12,70	55,23	184,1	40,1
Atalante	11,10	15,33	61,60	198,8	39,7
Blue chip	7,00	13,52	55,69	186,6	42,2
Суан	9,96	16,30	55,69	189,1	49,5
Gold Flax	14,41	72,23	1,58	142,6	41,3
McGregor	10,20	18,59	54,95	189,5	43,3
Omega	9,18	16,65	54,83	188,8	41,3
Raluca	12,24	13,66	56,61	188,3	42,5
Somme	8,98	15,88	54,66	186,5	43,7
НСП 0,05	1,3	0,93	2,1	1,14	0,41

Представленные результаты свидетельствуют о наибольшем содержании SDG в семенах сортов льна масличного Gold Flax, Суан и Raluca, что соответствует литературным данным [3]. В масле семян исследованных сортов льна выявлена широкая гетерогенность по содержанию ненасыщенных жирных кислот - линолевой C18:2 (12,7–72,2%), α -линоленовой C18:3 (1,6–61,6%) и, соответственно, величине йодного числа (142,6–198,8). Семена сортов Atalante и Raluca обладают оптимальным соотношением ненасыщенных жирных кислот и SDG и могут быть использованы в качестве сырья для получения фитопрепарата, обладающего антиоксидантным и антиаллергенным действием.

Таким образом, полученные научно-практические результаты могут лечь в основу целенаправленного создания новых видов фитопрепаратов и пищевых добавок на основе лигнанов семян льна масличного, обладающих широким спектром биологической активности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Murphy PA, Hendrich S. Phytoestrogens in foods // *Adv. Food Nutr.* – 2002. – Res. 44. – P. 195–246.
2. Rickard S.E., Thompson L.U. Health effects of flaxseed mucilage, lignans // *Inform.* 1997. – Vol. 8. – P. 860–865.
3. Eliasson C., Kamal-Eldin A., Andersson R., Åman P. High-performance liquid chromatographic analysis of secoisolariciresinol diglucoside and hydroxycinnamic acid glucosides in flaxseed by alkaline extraction // *J. Chromatogr. A.* – 2003. – Vol. 1012, N 1. – P. 151–159.
4. Mazur W. Phytoestrogen content in foods // *Baillière's clinical endocrinology and metabolism.* – 1998. – Vol. 12, N 4. – P. 729–742.
5. Bhatena S.J., Velasquez M.T. Beneficial role of dietary phytoestrogens in obesity and diabetes // *Am. J. Clin. Nutr.* – 2002. – Vol. 76, N 5. – P. 1191–1201.
6. Thompson L.U., Seidl M.M., Rickard S.E., Orcheson L.J., Fong H.S. Antitumorigenic effect of a mammalian lignan precursor from flaxseed // *Nutrition Cancer.* – 1996. – Vol. 26, N 2. – P. 159–165.
7. Sicilia T., Niemeyer H.B., Honig D.M. Metzler M. Identification and Stereochemical Characterization of Lignans in Flaxseed and Pumpkin Seeds // *J. Agric. Food Chem.* – 2003. – Vol. 51, N 5. – P. 1181–1188.
8. Johnsson P., Kamal-Eldin A., Lundgren L.N., Aman P. HPLC Method for Analysis of Secoisolariciresinol Diglucoside in Flaxseeds // *J. Agric. Food Chem.* – 2000. – Vol. 48, N – P. 5216–.
9. Лайковская И.В., Титок В.В., Леонтьев В.Н., Акулович И.Л. Генетический полиморфизм жирнокислотного состава липидов семян масличных культур // *Труды БГТУ. Сер. хим. и технол. органич. веществ.* – 2004. – Вып. XII. – С. 179–183.
10. AOCS Recommended Practice Cd 1c-85. Calculated Iodine Value. Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemist's Society. Ed. by D. Firestone. 5th edn. AOCS. – Champaign. IL. – 1998.