

Е. В. Феськова, аспирант; В. Н. Леонтьев, доцент;  
В. В. Титок, гл. науч. сотрудник ИГиЦ НАН Беларуси;  
И. В. Лайковская, мл. науч. сотрудник; И. М. Жарский, профессор

### БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ ДОБАВКИ НА ОСНОВЕ СЕКОИЗОЛАРИЦИРЕЗИНОЛА ДИГЛЮКОЗИДА ИЗ СЕМЯН ЛЬНА МАСЛИЧНОГО

Flaxseed of 2006 year's harvest Gold Flax from the collection of the Institute of Genetics and Cytology of National Academy of Sciences of Belarus and commercial dietary supplement based on lignans from flaxseed: High lignan flaxseed oil (Canada), Flax lignan (Canada), Enriched flax oil (USA) were researched. For quantitative determination of SDG in flaxseed and in the dietary supplement using high pressure liquid chromatography-mass spectrometry a new mobile phase acetonitril : water (0,1% formic acid) was used. The approaches for obtaining a SDG-rich fraction from flaxseed were worked through. During the research the content of SDG in the dietary supplement and in flaxseed hulls which were obtained using two different approaches was determined.

**Введение.** Секоизоларицирезинола диглюкозид (SDG), или диглюкозид 2,3-бис(3-метокси-4-гидроксифенилен)бутан-1,4-диола (рис. 1), был идентифицирован в семенах льна в 1956 г. [1]. Молекулярная брутто-формула –  $C_{32}H_{46}O_{16}$ , молекулярная масса – 686,71.

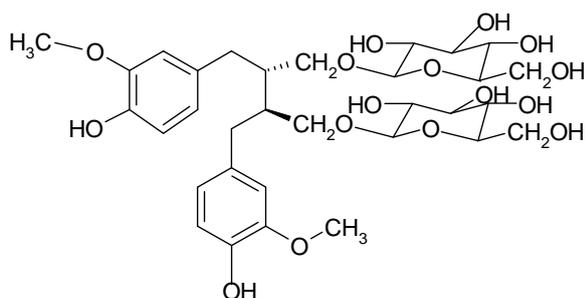


Рис. 1. Структура секоизоларицирезинола диглюкозида

SDG является основным биологически активным лигнаном семян льна масличного. Льняное семя содержит наибольшее количество SDG по сравнению со всеми зерновыми, бобовыми, овощами и фруктами [2]. Содержание SDG в пределах одного сорта зависит от места произрастания и условий выращивания, и его концентрация в семенах льна масличного разных сортов может варьироваться от 1 до 2,6% [3, 4]. SDG обладает широким спектром биологической активности включающим антиоксидантную, антиаллергенную, противоопухолевую и противовирусную. В последнее время возрос интерес как к SDG, так и к другим лигнанам из-за возможного их применения в фармакологии и диетическом питании [5]. Кроме SDG в семенах льна масличного содержатся такие лигнаны, как матаирезинол, секоизоларицирезинол, ларицирезинол, изоларицирезинол и пинорезинол, но их количество по сравнению с SDG в десятки и сотни раз меньше [6]. Благодаря высокому содержанию SDG семена льна

масличного могут быть использованы в качестве сырья для получения препаратов с пробиотическими и лечебными свойствами.

Настоящая работа посвящена сравнительному анализу SDG-содержащих фитопрепаратов разных производителей и разработке подходов получения обогащенных SDG фракций семян льна масличного отечественной селекции.

**Основная часть.** Объектом исследования были семена льна масличного сорта Gold Flax урожая 2006 г. коллекции Института генетики и цитологии НАН Беларуси, а также коммерческие фитопрепараты на основе лигнанов из семян льна масличного, имеющие торговые названия High lignan flaxseed oil (желатиновые капсулы с маслом, обогащенным лигнанами, Канада), Flax lignan (капсулы с измельченными оболочками семян льна масличного, обогащенными лигнанами, Канада), Enriched flax oil (масло, обогащенное лигнанами, США).

Для определения удельного содержания SDG в семенах льна масличного были разработаны методики его выделения, а также идентификации и анализа с помощью хромато-масс-спектрометрии. Известно, что основная масса лигнанов локализована в оболочках семян [7, 8], поэтому первой стадией выделения SDG из семян льна масличного является получение обогащенных оболочками фракций. Для выделения SDG использовали метод последовательных щелочного гидролиза обезжиренных оболочек семян льна и экстракции смесью этиловый спирт : 1,4-диоксан (1 : 1). Анализ экстрактов проводили с помощью высокоэффективной жидкостной хромато-масс-спектрометрии на приборе фирмы «Waters», оснащенный диодноматричным детектором PDA 996 и масс-детектором «Micromass ZQ-2000» на колонке «HYPERASIL C 18» длиной 250 мм и диаметром 4,6 мм. В предыдущих работах в качестве подвижной фазы использовали 5%-ный ацетонитрил в фосфатном буфере pH 2,8 (раствор А) и

ацетонитрил (раствор В) в соотношении А : В: 0 мин – 100 : 0; 30 мин – 70 : 30 и 60 мин – 30 : 70 при скорости элюирования 1 мл/мин [9]. В настоящей работе была использована новая подвижная фаза: ацетонитрил (раствор С) и вода с содержанием муравьиной кислоты 0,1% (раствор D) в соотношении С : D: 0 – 30 : 70, 30 мин – 70 : 30, 55 мин – 100 : 0 при скорости элюирования 1 мл/мин [10].

На рис. 2 представлен масс-спектр, зарегистрированный в области положительных ионов

и полученный с использованием новой подвижной фазы. Типичные хроматограммы, полученные с использованием старой и новой подвижных фаз, представлены на рис. 3.

На рис. 2 ион с  $m/z = 137,4$  является бензильным фрагментом SDG, ион с  $m/z = 363,8$  является молекулярным ионом секоизоларичезинола, т. е. SDG за вычетом двух молекул глюкозы. Также в масс-спектре идентифицировали молекулярный ион SDG с  $m/z = 687,8$ .

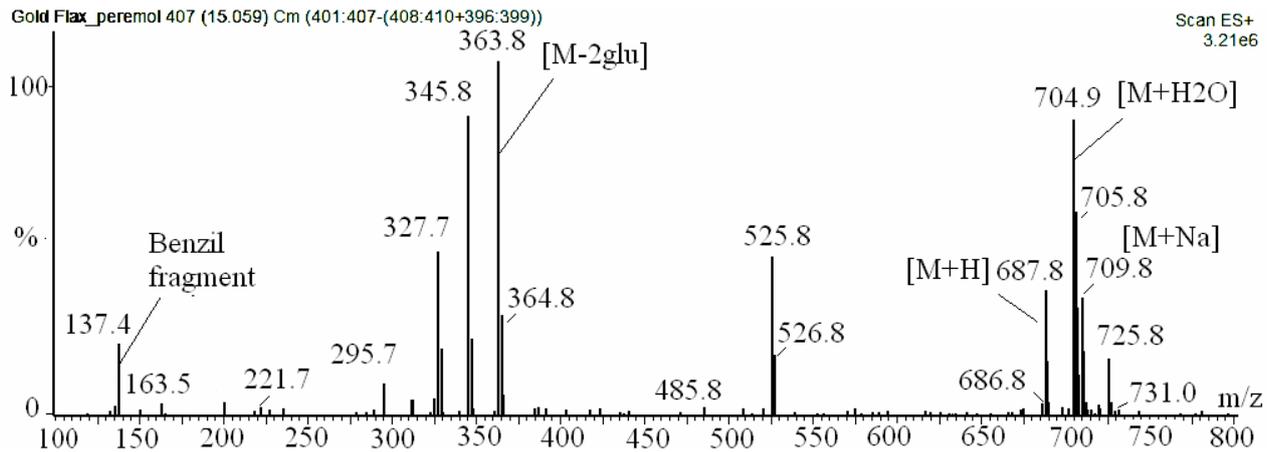


Рис. 2. Масс-спектр SDG, зарегистрированный в области положительных ионов, полученный с использованием в качестве подвижной фазы смеси ацетонитрил : вода (0,1% муравьиной кислоты)

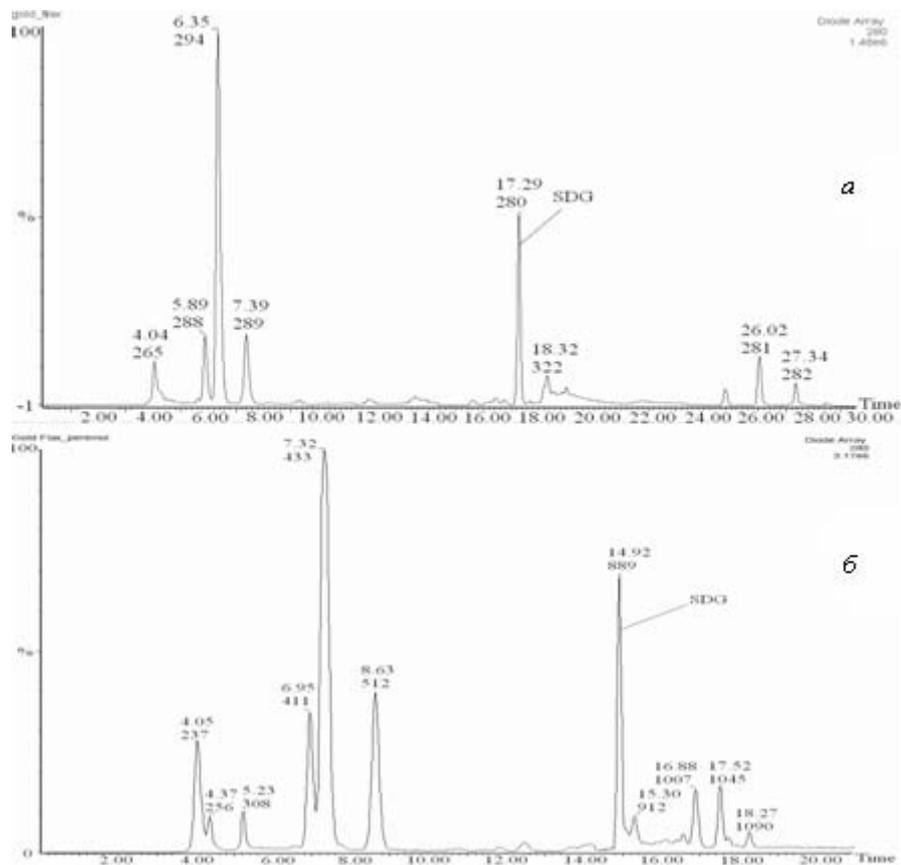


Рис. 3. Хроматограммы SDG, полученные с использованием старой (а) и новой (б) подвижных фаз

Как видно из рис. 3, хроматограммы SDG, полученные на разных подвижных фазах, различаются полным временем хроматографирования и эффективностью разделения компонентов смеси. Поэтому для дальнейших исследований использовали в качестве подвижной фазы смесь ацетонитрил : вода (0,1% муравьиной кислоты).

По аналогичной методике были проанализированы коммерческие фитопрепараты. Содержание SDG в этих препаратах представлено в таблице.

Таблица

**Содержание SDG  
в коммерческих фитопрепаратах**

Название фитопрепарата	Содержание SDG, мг, на одну капсулу
High lignan flaxseed oil	0,13
Flax lignan	24,8
Enriched flax oil	0,018 *

\* Содержание SDG, мг на 1 г фитопрепарата.

Как видно из таблицы, наибольшее содержание SDG обнаружилось в препарате Flax lignan, который представляет собой капсулы с измельченными оболочками семян льна масличного. Именно в такой форме планируется выпускать отечественную биологически активную добавку на основе SDG из семян льна масличного.

Для получения обогащенных SDG фракций были использованы два подхода. Первый заключался в грубом измельчении семян с помощью мельницы с последующим отделением фракции оболочек с использованием сит. Второй подход заключался в предварительном проращивании семян, отделении оболочек от семядолей и дальнейшем измельчении оболочек.

Из полученных двумя разными способами фракций оболочек семян льна масличного выделяли SDG и определяли его удельное содержание. Предварительно пророщенные семена содержали в 1,6 раза больше SDG, чем размолотые на мельнице (16,61 и 10,35 мг/г соответственно). Этот результат можно объяснить тем, что при предварительном проращивании семян удается получить более чистую фракцию оболочек семян.

**Заключение.** Таким образом проведенные исследования позволили определить содержание SDG в фитопрепаратах на основе лигнанов разных производителей, а также подобрать наиболее приемлемые подходы для получения фракций семян льна масличного, обогащенных SDG.

**Литература**

1. Bakke, J. E. A new diglucoside from flaxseed / J. E. Bakke, H. J. Klosterman // Proc. North Dakota Acad. Sci. – 1956. – № 10. – P. 18–22.
2. Zhang, W. Microwave-assisted extraction of secoisolariciresinol diglucoside from flaxseed hull / W. Zhang, S. Y. Xu // J. Sci. Food Agric. – 2007. – № 87. – P. 1455–1462.
3. Ward, R. S. Recent advances in the chemistry of lignans / R. S. Ward // Stud. Nat. Products Chem. – 2000. – № 24. – P. 739.
4. Antitumorigenic effect of a mammalian lignan precursor from flaxseed / L. U. Thompson [et al.] // Nutrition and cancer. – 1996. – № 26. – P. 159–165.
5. Willfor, S. M. Chromatographic analysis of lignans / S. M. Willfor, A. I. Smets, B. R. Holmbom // J. Chromatogr. A. – 2006. – № 1112. – P. 64–77.
6. Identification and stereochemical characterization of lignans in flaxseed and pumpkin seeds / T. Silica [et al.] // J. Agric. Food Chem. – 2003. – № 51. – P. 1181–1188.
7. Oomah, B. D. Dehulling characteristics of flaxseed / B. D. Oomah, G. Mazza, E. O. Kenashuk // Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie. – 1996. – № 29. – P. 245–250.
8. A dry mechanical method for concentrating the lignan secoisolariciresinol diglucoside in flaxseed / B. Madhusudhan [et al.] // Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie. – 2000. – № 33. – P. 268–275.
9. HPLC Method for Analysis of Secoisolariciresinol Diglucoside in Flaxseeds / P. Johnsson [et al.] // J. Agric. Food Chem. – 2000. – № 48. – P. 5216.
10. Schimdt, T. J. A combined HPLC-UV and HPLC-MS method for the identification of lignans and its application to the lignans of *Linum usitatissimum* L. and *L. bienne* Mill / T. J. Schmidt [et al.] // Phytochem – Anal. – 2006. – № 17. – P. 299–311.