

# ИЗУЧЕНИЕ СОСТАВА ЛИПИДНЫХ ПИГМЕНТОВ БЕЛОМОРСКОЙ ВОДОРΟΣЛИ *SACCHARINA* *LATISSIMA* МЕТОДАМИ ТСХ И МАЛДИ-МС

К.А. Краснов<sup>1</sup>, А.С. Гладчук<sup>1,3</sup>,  
М.Л. Александрова<sup>1</sup>, О.А. Кельщикова<sup>2,1</sup>,  
М.А. Зайцева<sup>1</sup>, М.В. Мельникова<sup>1</sup>,  
В.Л. Рейнюк<sup>1</sup>, Е.П. Подольская<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН «Институт токсикологии Федерального медико-биологического агентства», 192019, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

<sup>2</sup>Институт аналитического приборостроения Российской академии наук, 190103, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

<sup>3</sup>Санкт-Петербургский государственный университет, 199034, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

**И**зучен качественный состав важнейших биологически активных липидных веществ – каротиноидов и производных хлорофилла беломорской водоросли ламинарии сахаристой (*Saccharina latissima*). Экстракт липидов разделяли методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) и исследовали методом матрично-ассоциированной лазерной десорбции-ионизации с масс-спектрометрическим анализом (МАЛДИ-МС). В составе экстракта были обнаружены фукоксантин, фукоксантинол, феофитин *a*, феофорбид *a*, а также другие каротиноиды и хлорофиллы, в том числе не описанные в литературе. Полученные результаты, существенно расширяющие сведения о составе пигментов *S. latissima*, могут быть использованы для стандартизации сырья и препаратов на основе данной водоросли.

**Ключевые слова:** бурые водоросли, *S. Latissimi*, липиды, пигменты, каротиноиды, хлорофиллы, тонкослойная хроматография, МАЛДИ-МС.

Цит: К.А. Краснов, А.С. Гладчук, М.Л. Александрова, О.А. Кельщикова, М.А. Зайцева, М.В. Мельникова, В.Л. Рейнюк, Е.П. Подольская. Изучение состава липидных пигментов беломорской водоросли *Saccharina latissima* методами ТСХ и МАЛДИ-МС. Токсикологический вестник. 2020; 5:50-56

**Введение.** Ламинария сахаристая (*Saccharina latissima*) является одним из важнейших представителей промысловых бурых водорослей арктического побережья России. Значительные запасы ламинарии, сосредоточенные в районах Белого и Баренцева морей, служат источником ценных веществ, таких как маннит, альгиновые кислоты, фукоидан, широко используемых

в пищевой, фармацевтической и косметической промышленности [1,2]. Помимо этого, в последние годы особое внимание уделяется липидным компонентам бурых водорослей, которые широко используются в диетологической практике в составе пищевых добавок и нутрицевтиков. а также рассматриваются в качестве перспективных фармакологических средств [3,4].

**Краснов Константин Андреевич (Krasnov Konstantin Andreevich)**, кандидат химических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории медицинских проблем химической безопасности ФГБУН «Институт токсикологии Федерального медико-биологического агентства», г. Санкт-Петербург, krasnov\_tox@mail.ru;

**Гладчук Алексей Сергеевич (Gladchuk Aleksey Sergeevich)**, младший научный сотрудник лаборатории химической и токсикологической диагностики химико-аналитического отдела ФГБУН «Институт токсикологии Федерального медико-биологического агентства»; аспирант Санкт-Петербургского государственного университета, г. Санкт-Петербург, aleglad24@gmail.com;

**Александрова Марина Леонидовна (Alexandrova Marina Leonidovna)**, кандидат химических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории химической и токсикологической диагностики химико-аналитического отдела ФГБУН «Институт токсикологии Федерального медико-биологического агентства», г. Санкт-Петербург, analekt@mail.ru;

**Кельщикова Ольга Александровна (Keltsieva Olga Alexandrovna)**, научный сотрудник лаборатории биомедицинской масс-спектрометрии Института аналитического приборостроения Российской академии наук; научный сотрудник лаборатории химической и токсикологической диагностики химико-аналитического отдела ФГБУН «Институт токсикологии Федерального медико-биологического агентства», г. Санкт-Петербург, keltsieva@gmail.com;

**Зайцева Мария Анатольевна (Zaytseva Maria Anatolevna)**, кандидат медицинских наук, заведующий лабораторией лекарственной токсикологии ФГБУН «Институт токсикологии Федерального медико-биологического агентства», г. Санкт-Петербург, alpha-2@mail.ru;

**Мельникова Маргарита Викторовна (Melnikova Margarita Viktorovna)**, младший научный сотрудник лаборатории лекарственной токсикологии ФГБУН «Институт токсикологии Федерального медико-биологического агентства», г. Санкт-Петербург, margarita10108@mail.ru;

**Рейнюк Владимир Леонидович (Reynuk Vladimir Leonidovich)**, доктор медицинских наук, доцент, заместитель директора по научной работе ФГБУН «Институт токсикологии Федерального медико-биологического агентства», г. Санкт-Петербург, vladton@mail.ru;

**Подольская Екатерина Петровна (Podolskaya Ekaterina Petrovna)**, кандидат химических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории химической и токсикологической диагностики химико-аналитического отдела ФГБУН «Институт токсикологии Федерального медико-биологического агентства»; ведущий научный сотрудник лаборатории биомедицинской масс-спектрометрии Института аналитического приборостроения Российской академии наук, г. Санкт-Петербург, ek.podolskaya@gmail.com.

Литературные данные позволяют заключить, что к числу наиболее важных биологически активных компонентов бурых водорослей относятся липидные пигменты – каротиноиды и хлорофиллы. Так, фукоксантин, основной каротиноид *S. latissima*, обладает выраженным антиоксидантным и антимуtagenным действием [5], а также онкопротекторными, цитостатическими [6], антидиабетическими [7], гиполипидемическими [8] и многими другими ценными биологическими свойствами. Не меньший интерес представляют и содержащиеся в составе ламинарии производные порфирина (хлорофиллы), представители которых известны как активные антиоксиданты и иммуномодуляторы [3], антиаллергические средства [9]. Описаны также противовоспалительные, антимикробные и противовирусные эффекты экстрактов ламинарии, которые связывают с действием порфириновых соединений или их комплексов [10-13].

В литературе существуют более или менее подробные исследования пигментного состава отдельных видов ламинарии, например, *S. japonica* [10], однако в случае беломорской *S. latissima* сведения носят крайне ограниченный характер. При описании состава пигментов водоросли *S. latissima* авторы приводят данные о суммарном содержании каротиноидов (из которых главным считается фукоксантин), и аналогично указывают содержание хлорофиллов в виде суммы, без идентификации отдельных представителей этих классов [1, 2, 14]. Вместе с тем очевидно, что биологическая активность липидных экстрактов ламинарии, содержащих значительное количество разнообразных представителей каротиноидов и хлорофиллов, должна существенным образом зависеть от их качественного состава, и этот факт нельзя не учитывать при разработке биологически активных средств на основе *S. latissima*. Также, оценка качественного и количественного состава пигментов может играть важную роль при стандартизации как сырья *S. latissima*, так и препаратов на ее основе, являясь удобным маркером подлинности и качества бурой водоросли.

**Цель работы.** Исследование качественного состава важнейших пигментов - каротиноидов и производных хлорофилла в липидных экстрактах беломорской бурой водоросли *S. latissima*.

#### **Материалы и методы исследования.**

**Получение экстракта из водоросли *Saccharina latissima*.** Образец замороженных водорослей *Saccharina latissima* массой 1 г измельчали до размеров частиц 1-2 мм. К нарезанному образцу таллома добавляли 5 мл этанола и инкубировали в закрытой вiale при 20°C в течение 24 ч при постоянном перемешивании (60 об/мин). Затем образцы центрифугировали (12045 g, 5 мин), супернатант (1 мл) переносили в новые полипропи-

леновые пробирки объемом 1.5 мл и использовали для проведения ТСХ анализа.

**Процедура ТСХ анализа.** В качестве элюентов при проведении ТСХ анализа были использованы следующие растворы: Э-1 (хлороформ-гексан (1:1)), Э-2 (хлороформ), Э-3 (хлороформ-ацетон (5:1)), Э-4 (ацетон). На хроматографической пластине Sorbfil размечали карандашом линию старта шириной 10 см на высоте 1 см от нижнего края, на которую, затем, наносили под струей горячего воздуха лабораторного фена 100 мкл экстракта из водоросли *Saccharina latissima* с помощью градуированного капилляра. Хроматографическую пластину с нанесенной полосой экстракта помещали в вертикальную хроматографическую камеру, содержащую элюент Э-1, и элюировали восходящим способом до прохождения фронтом растворителя 6 см. После чего вынимали пластину из камеры, высушивали ее на воздухе и переносили в камеру со следующим элюентом. Процедуру элюирования последовательно осуществляли для каждого элюента из набора Э-1 – Э-4. Пробег фронта растворителя в хроматографической камере для каждого элюента составлял: Э-1 – 6 см, Э-2 – 5 см, Э-3 – 4 см, Э-4 – 3 см. После прохождения элюирования в камере с элюентом Э-4 хроматографическую пластину высушивали на воздухе, фиксировали хроматограмму с помощью фотографии. Всего было выявлено 10 окрашенных полос, для которых проводились дальнейшие процедуры.

**Экстракция соединений с сорбента.** Области хроматографической пластины, соответствующие окрашенным полосам, вырезали ножницами, и с каждой с помощью шпателя сорбент отделяли от алюминиевой подложки и переносили в полипропиленовую пробирку объемом 1.5 мл. К стационарной фазе добавляли 200 мкл изопропилового спирта и выдерживали 1 ч при комнатной температуре при постоянном перемешивании, после чего центрифугировали в течение 3 мин при 12045 g. Полученный супернатант (100 мкл) переносили в новые полипропиленовые пробирки и анализировали методом МАЛДИ-МС.

**Масс-спектрометрический анализ методом МАЛДИ-МС.** Навеску матрицы ( $\alpha$ -Циано-4-гидроксикоричная кислота, СНСА) массой 20 мг помещали в микропробирку объемом 1.5 мл, добавляли 900 мкл 100% ацетонитрила, 1 мкл 99% ТФУ и 99 мкл дистиллированной воды и перемешивали до полного растворения твердой фазы. На лунку стальной полированной мишени (МТР 384 polished steel, Bruker Daltonics, Германия) наносили 0.5 мкл анализируемого раствора, добавляли 0.5 мкл раствора матрицы и высушивали при комнатной температуре.

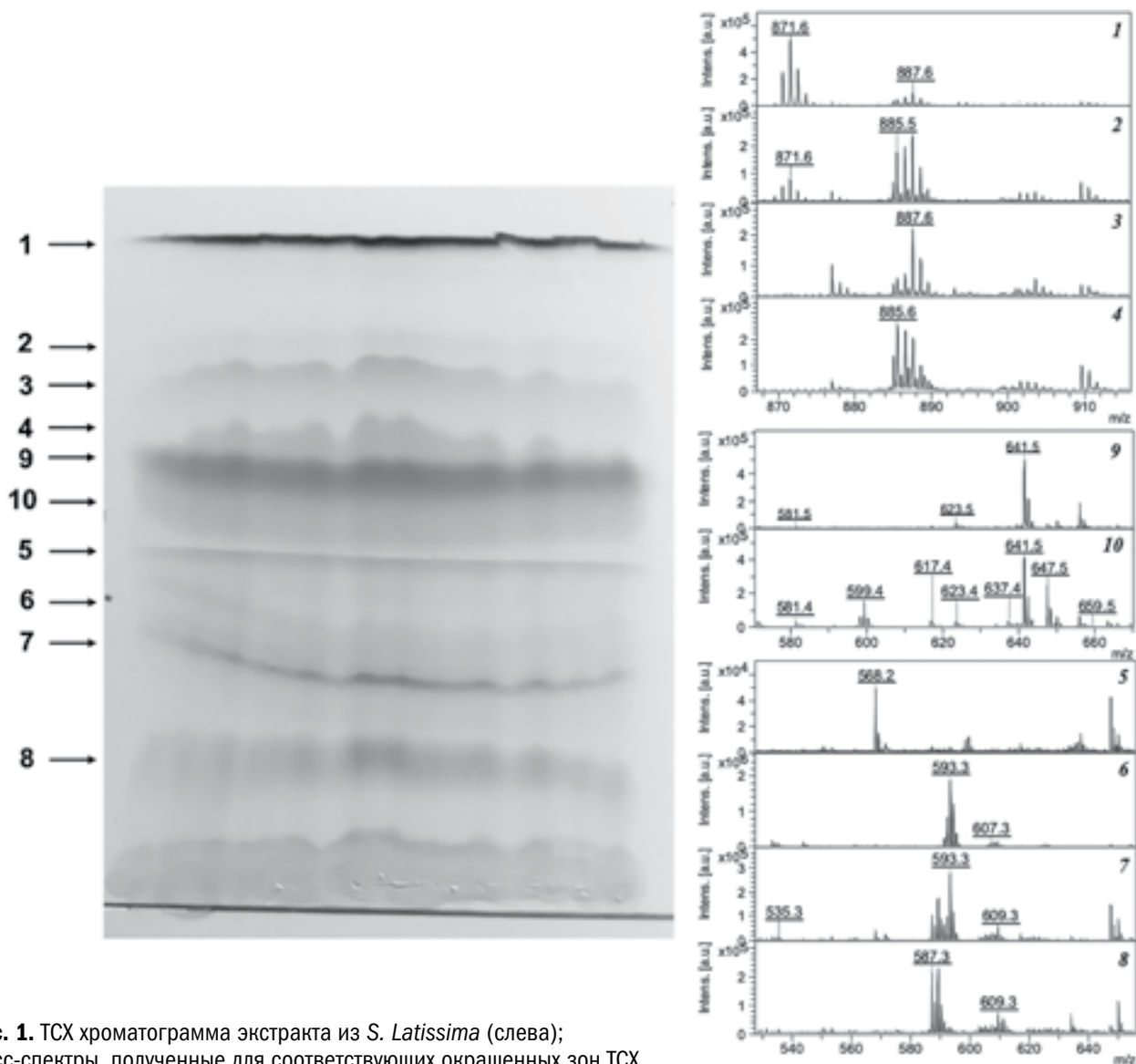
Масс-спектрометрический анализ осуществляли с помощью масс-спектрометра UltrafleXtreme

(Bruker Daltonics, Германия) в режиме «рефлектор» с детектированием положительных ионов. Спектры регистрировали в диапазоне  $m/z$  500 - 1000 при значениях напряжений 1 и 2 на источнике равных 20.0 и 17.9 кВ соответственно. Напряжения на линзах, отражателе и детекторе отражателя составляли 7.0, 21.1 и 2.422 кВ соответственно. Число облучений при регистрации одного спектра составляло 15000, частота выстрелов – 2000 Гц. Временная задержка PLE – 120 нс. Регистрацию и интерпретацию спектров осуществляли с использованием программного обеспечения Flex Control и Flex Analysis. Для калибровки масс-спектрометра использовали калибровочную смесь Peptide Calibration Standard II (Bruker Daltonics).

**Результаты и обсуждение.** Исследование основных пигментов в составе экстракта *S. latissima* было проведено методом МАЛДИ-МС после

хроматографического разделения в тонком слое (ТСХ). Выбор метода ТСХ был связан с его простотой, а также с тем, что он позволяет провести исследование как высоко гидрофобных, так и гидрофильных соединений в рамках одного анализа. Процедура ТСХ (см. «Материалы и методы исследования») включала последовательное элюирование 4-мя растворителями разной полярности - от малополярной смеси (хлороформ – гексан) до относительно полярного растворителя (ацетона). Использование такого набора элюентов позволило разделить пигменты *S. latissima* на ТСХ пластине на 10 окрашенных хроматографических зон (рис. 1). Пигменты из каждой зоны были экстрагированы и проанализированы методом МАЛДИ-МС.

На основании масс-спектрометрических данных высокого разрешения было установлено, что в хроматографических зонах 1-8, окрашен-



**Рис. 1.** ТСХ хроматограмма экстракта из *S. Latissima* (слева); масс-спектры, полученные для соответствующих окрашенных зон ТСХ пластины (справа).

Таблица 1

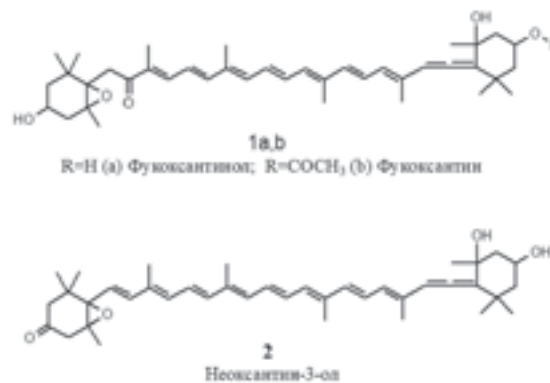
Идентификация хлорофиллов водоросли *Saccharina latissima* по данным тандемной масс-спектрометрии

№	Название	Брутто-формула	m/z экспериментальное	m/z расчетное	Основные фрагментные ионы, m/z	Предположительная структура фрагментных ионов
1	Пирофеофорбид а	$C_{33}H_{34}N_4O_3$	535.3	535.3	517.3 507.3 491.2 462.3	$[M-H_2O]^+$ $[M-CO]^+$ $[M-CO_2]^+$ $[M-HO_2CC_2H_4]^+$
2	Толипорфирин Д, 7-деглюкозил, 7-гидрокси, 2В-Ас	$C_{32}H_{34}N_4O_7$	587.3	587.3	559.2 542.2 527.2	$[M-CO]^+$ $[M-CO, -OH]^+$ $[M-CH_3CO_2H]^+$
3	Феофорбид а	$C_{35}H_{36}N_4O_5$	593.3	593.3	565.4 561.3 533.4	$[M-CO]$ $[M-CH_3OH]$ $[M-HCO_2CH_3]$
4	Феофорбид б	$C_{35}H_{34}N_4O_6$	607.2	607.3	589.3 575.2 547.2 495.2	$[M-H_2O]^+$ $[M-CH_3OH]^+$ $[M-HCO_2CH_3]^+$ $[M-HO_2CC_3H_4=C_2H_3]^+$
5	Феофорбид а, 10-гидрокси	$C_{35}H_{36}N_4O_6$	609.3	609.3	591.3 577.2 549.3	$[M-H_2O]^+$ $[M-CH_3OH]^+$ $[M-HCO_2CH_3]^+$
6	Аналог феофитина	-	817.3	-	773.0 539.2	$[M-CO_2]^+$ $[M-C_{20}H_{38}]^+$
7	Аналог феофитина	-	839.5	-	795.1 561.2	$[M-CO_2]^+$ $[M-C_{20}H_{38}]^+$
8	Феофитин а	$C_{55}H_{74}N_4O_5$	871.6	871.6	839.6 811.5 593.3 533.3	$[M-CH_3OH]^+$ $[M-HCO_2CH_3]^+$ $[M-C_{20}H_{38}]^+$ $[M-C_{20}H_{39}CO_2CH_3]^+$
9	Гидрокси феофитин а	$C_{55}H_{74}N_4O_6$	887.6	887.6	855.6 827.5 609.3 549.2	$[M-CH_3OH]^+$ $[M-HCO_2CH_3]^+$ $[M-C_{20}H_{38}]^+$ $[M-C_{20}H_{39}CO_2CH_3]^+$
10	Гомо-131-А-окса-132-гидрокси хлорофилл а	$C_{55}H_{72}MgN_4O_7$	925.5	925.5	866.5 647.2	$[M-CH_3O_2C]^+$ $[M-C_{20}H_{38}]^+$
11	Аналог феофитина	-	939.6	-	881.6 661.1	$[M-COOCH_2]^+$ или $[M-OCH_2C_2H_4]^+$ $[M-C_{20}H_{38}]^+$

ных в зеленый или сине-зеленый цвет, присутствуют порфириновые соединения (производные хлорофилла). Для каждого индивидуального иона были получены фрагментные масс-спектры (табл. 1) и проведена идентификация с помощью баз данных Charman&Hall, PubChem, KEGG и ChEBI, а также сопоставления с данными литературы по порфириновым соединениям в составе водорослей [15,16].

Порядок удерживания веществ на ТСХ напрямую связан с их гидрофильно-гидрофобными свойствами, которые для различных производных порфирина значительно различаются. Так, наиболее гидрофобный из порфиринов – феофитин *a* обнаруживается в зоне №1 (Rf 0.98 в системе Э-1), а его менее гидрофобный аналог, феофорбид *a*, - в зоне №7 (Rf 0.25 в системе Э-3). С помощью масс-спектрометрических баз данных удалось достоверно идентифицировать 8 соединений, а всего в смеси было зарегистрировано 11 производных хлорофилла, 6 из которых являются эфирами фитола (для которых в масс-спектрах характерен распад с отщеплением фитильного радикала с массой 278), а остальные 5 – порфиринами, не содержащими фитильного остатка. Интересно отметить, что в составе экстракта *S. latissima* были обнаружены не описанные в литературе производные с молекулярными массами 816.3, 838.5 и 938.6, о порфириновой структуре которых свидетельствует характерный масс-спектрометрический распад (табл. 1).

Пигменты другой группы, каротиноиды, обнаруживаются на ТСХ в относительно узком ин-



**Рис. 2.** Структуры идентифицированных каротиноидов в составе *S. latissima*

тервале пробега (Rf 0.55-0.65 в системе Э-3). Эти вещества образуют 2 интенсивно окрашенные в оранжевый цвет зоны (9 и 10, рис. 1), в составе которых были идентифицированы фукоксантин, фукоксантинол и неоксантин-3-он (рис. 2).

Масс-спектрометрические и хроматографические характеристики фукоксантина и фукоксантинола соответствуют стандартным образцам и данным литературы [17]. Также на ТСХ было обнаружено небольшое количество бета-каротина, идентифицированного путем сравнения со стандартом. Кроме того, в смеси присутствует ряд других веществ с характерными для каротиноидов масс-спектрами, однако сведений о таких производных в литературе найти не удалось. В таблице 2 приведены масс-спектрометрические

Таблица 2

**Идентификация каротиноидов водоросли *Saccharina latissima* по данным тандемной масс-спектрометрии**

№	Название	Брутто-формула	m/z экспериментальное	m/z расчетное	Основные фрагментные ионы, m/z	Предположительная структура отщепляемых фрагментов
1	Каротиноид	C <sub>40</sub> H <sub>52</sub> O <sub>3</sub>	581.4	581.4	121.1, 221.1, 489.4, 563.3	H <sub>2</sub> O, C <sub>3</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>
2	Неоксантин-3-он	C <sub>40</sub> H <sub>54</sub> O <sub>4</sub>	599.4	599.4	221.2, 507.4, 581.4	H <sub>2</sub> O, C <sub>3</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>
3	Фукоксантинол	C <sub>40</sub> H <sub>56</sub> O <sub>5</sub>	617.4	617.4	121.1, 221.2, 531.4, 563.3 599.3	H <sub>2</sub> O, 2H <sub>2</sub> O, 3H <sub>2</sub> O,
4	Каротиноид	C <sub>42</sub> H <sub>54</sub> O <sub>4</sub>	623.4	623.4	109.1, 221.1, 531.4, 563.4 587.3, 605.4	H <sub>2</sub> O, 2H <sub>2</sub> O, CO <sub>2</sub> H, C <sub>3</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>
5	Каротиноид	C <sub>40</sub> H <sub>60</sub> O <sub>6</sub>	637.4	637.4	109.0, 121.1, 221.1, 577.3, 585.4, 619.4	H <sub>2</sub> O, COCH <sub>3</sub> , C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> O <sub>2</sub>

Таблица 2 (продолжение)

Идентификация каротиноидов водоросли *Saccharina latissima* по данным тандемной масс-спектрометрии

№	Название	Брутто-формула	m/z экспериментальное	m/z расчетное	Основные фрагментные ионы, m/z	Предположительная структура отщепляемых фрагментов
6	Каротиноид	C <sub>40</sub> H <sub>48</sub> O <sub>7</sub>	641.4	641.3	149.1, 221.2, 549.4, 605.4, 623.4	H <sub>2</sub> O, 2H <sub>2</sub> O, C <sub>3</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>
7	Каротиноид	C <sub>42</sub> H <sub>62</sub> O <sub>5</sub>	647.5	647.4	147, 347, 495, 551, 599, 611, 629	H <sub>2</sub> O, 2H <sub>2</sub> O
8	Фукоксантин	C <sub>42</sub> H <sub>58</sub> O <sub>6</sub>	659.5	659.4	109.0, 221.2, 567.5, 581.4, 599.5, 623.5, 641.4	H <sub>2</sub> O, COCH <sub>3</sub> , C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> O <sub>2</sub> , C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> O <sub>3</sub> , C <sub>3</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>
9	Каротиноид	C <sub>43</sub> H <sub>58</sub> O <sub>8</sub>	703.5	703.4	109.1, 221.1, 299.2, 567.3, 647.5, 660.2	H <sub>3</sub> O, COCH <sub>3</sub>

характеристики таких гипотетических каротиноидов *S. latissima*, идентификацию которых, возможно, удастся провести в ходе дальнейших исследований.

**Заключение.** Таким образом, метод ТСХ в сочетании с МАЛДИ-МС является удобным и информативным подходом для оценки качественного состава пигментов *S. latissima*, и может служить для стандартизации водорослевого сырья и липидных извлечений, предназначенных для изготовления БАД и фармацевтических средств.

Полученные данные о биологически активных пигментах *S. latissima*, в том числе свидетельства о наличии в ее составе новых каротиноидов и производных порфирина, представляют несомненный интерес для дальнейших исследований.

**Благодарности.** Авторы выражают благодарность ресурсному центру «Развитие молекулярных и клеточных технологий» Научного парка СПбГУ за возможность выполнения масс-спектрометрического анализа.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Боголицин К. Г., Каплицын П. А., Ульяновский Н. В., Пронина О. А. Комплексное исследование химического состава бурых водорослей Белого моря. Химия растительного сырья. 2012; 4: 153-160.
2. Боголицин К. Г., Каплицын П. А. Перспективы использования сверхкритической флюидной экстракции для получения биологически активных веществ из бурых водорослей арктических морей. В кн.: Материалы Всероссийской школы – конференции молодых учёных «Сверхкритические флюидные технологии в решении экологических проблем. Экстракция растительного сырья». Архангельск, 25 – 28 июня 2012: 79-86.
3. Stengel D.B., Connan S., Popper Z.A. Algal chemodiversity and bioactivity: sources of natural variability and implications for commercial application. Biotechnol Adv. 2011; 29(5): 483-501.
4. Vadalà M., Palmieri B. From algae to "functional foods". Clin Ter. 2015; 166(4): e281-300 (in Italian).
5. Gammone MA., Riccioni G., D'Orazio N. Marine Carotenoids against Oxidative Stress: Effects on Human Health. Mar. Drugs. 2015; 13(10): 6226-6246.
6. Martin L.J. Fucoxanthin and Its Metabolite Fucoxanthinol in Cancer Prevention and Treatment. Mar. Drugs. 2015; 13(8): 4784-4798.
7. Maeda H. Nutraceutical effects of fucoxanthin for obesity and diabetes therapy: a review. J. Oleo Sci. 2015; 64(2): 125-32.
8. Abidov M., Ramazanov Z., Seifulla R., Grachev S. The effects of Xanthigen in the weight management of obese premenopausal women with non-alcoholic fatty liver disease and normal liver fat. Diabetes Obes Metab. 2010; 12(1): 72-81.
9. Fujiwara T., Nishida N., Nota J., Kitani T., Aishi K., Takahashi H., et.al. Efficacy of chlorophyll c2 for seasonal allergic rhinitis: single-center double-blind randomized control trial. Eur Arch Otorhinolaryngol. 2016; 273(12): 4289-4294.
10. Islam M.N., Ishita I.J., Jin S.E., Choi R.J., Lee C.M., Kim Y.S., et.al. Anti-inflammatory activity of edible brown alga *Saccharina japonica* and its constituents pheophorbide a and pheophytin a in LPS-stimulated RAW 264.7 macrophage cells. Food Chem Toxicol. 2013; 55: 541-548.
11. Лозовская М.Е. Эффективность использования ламинарии у подростков при комплексном лечении туберкулёза лёгких. Вопросы питания. 2005; 74(1): 40-43.
12. El-Nakeeb M.A., Jousef R.T. Antimicrobial activity of sodium cooper chlorophyllin. Pharmazie. 1974; 29: 48-50.
13. Kamei Y., Aoki M.A. Chlorophyll c2 analogue from the marine brown alga *Eisenia bicyclis* inactivates the infectious hematopoietic necrosis virus, a fish rhabdovirus. Arch. Virol. 2007; 152(5): 861-869.
14. Муравьева Е.А. Комплексная технология получения экстрактивных БАВ из бурых водорослей белого моря. Рыбпром. 2010; 3: 54-57.
15. Fu W., Magnúsdóttir M., Brynjólfsson S., Pálsson B.Ø., Paglia G. UPLC-UV-MS(E) analysis for quantification and identification of major carotenoid and chlorophyll species in algae. Anal Bioanal Chem. 2012; 404(10): 3145-3154.
16. Milenković S.M., Zvezdanović J.B., Anđelković T.D., Marković D.Z. The identification of chlorophyll and its derivatives in the pigment mixtures: HPLC-chromatography, visible and mass spectroscopy studies. Advanced technologies. 2012; 1(1): 16-24.
17. Murador D.C., Salafia F., Zoccali M., Martins P.L.G., Ferreira A.G., Dugo P., et.al. Green Extraction Approaches for Carotenoids and Esters: Characterization of Native Composition from Orange Peel. Antioxidants (Basel). 2019; 8(12): E613.
1. Bogolicin K.G., Kaplicyn P.A., Ul'yanovskij N.V., Pronina O.A. Complex research of the White sea brown algae chemical composition. Chemistry of plant raw materials. 2012; 4: 153-160 (in Russian).
2. Bogolicin K.G., Kaplicyn P.A. Perspectives of using supercritical fluid extraction for obtaining of biologically active substances from the Arctic seas' brown algae. In: Proceedings of the National school-conference of young scientists "Supercritical fluid technologies in the environmental management. Extraction of plant raw materials". Arkhangelsk, June 25-28, 2012: 79-86 (in Russian).
3. Stengel D.B., Connan S., Popper Z.A.

## REFERENCES:

- Algal chemodiversity and bioactivity: sources of natural variability and implications for commercial application. *Biotechnol Adv.* 2011; 29(5): 483-501.
4. *Vadalà M., Palmieri B.* From algae to "functional foods". *Clin Ter.* 2015; 166(4): e281-300 (in Italian).
  5. *Gammone M.A., Riccioni G., D'Orazio N.* Marine Carotenoids against Oxidative Stress: Effects on Human Health. *Mar. Drugs.* 2015; 13(10): 6226-6246.
  6. *Martin L.J.* Fucoxanthin and Its Metabolite Fucoxanthinol in Cancer Prevention and Treatment. *Mar. Drugs.* 2015; 13(8): 4784-4798.
  7. *Maeda H.* Nutraceutical effects of fucoxanthin for obesity and diabetes therapy: a review. *J. Oleo Sci.* 2015; 64(2): 125-32.
  8. *Abidov M., Ramazanov Z., Seifulla R., Grachev S.* The effects of Xanthigen in the weight management of obese premenopausal women with non-alcoholic fatty liver disease and normal liver fat. *Diabetes Obes Metab.* 2010; 12(1): 72-81.
  9. *Fujiwara T., Nishida N., Nota J., Kitani T., Aoishi K., Takahashi H., et al.* Efficacy of chlorophyll c2 for seasonal allergic rhinitis: single-center double-blind randomized control trial. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2016; 273(12): 4289-4294.
  10. *Islam M.N., Ishita I.J., Jin S.E., Choi R.J., Lee C.M., Kim Y.S., et al.* Anti-inflammatory activity of edible brown alga *Saccharina japonica* and its constituents pheophorbide a and pheophytin a in LPS-stimulated RAW 264.7 macrophage cells. *Food Chem Toxicol.* 2013; 55: 541-548.
  11. *Lozovskaia M.E.* Effectiveness of using the biologically active additive to food from *Laminaria* in adolescents during complex treatment of the pulmonary tuberculosis. *Nutrition issues.* 2005; 74(1): 40-43 (in Russian).
  12. *El-Nakeeb M.A., Jousef R.T.* Antimicrobial activity of sodium cooper chlorophyllin. *Pharmazie.* 1974; 29: 48-50.
  13. *Kamei Y., Aoki M.A.* Chlorophyll c2 analogue from the marine brown alga *Eisenia bicyclis* inactivates the infectious hematopoietic necrosis virus, a fish rhabdovirus. *Arch. Virol.* 2007; 152(5): 861-869.
  14. *Murav'eva E.A.* Complex technology for obtaining of extractive biologically active substances from the White Sea brown algae. *Rybprom.* 2010; 3: 54-57 (in Russian).
  15. *Fu W., Magnúsdóttir M., Brynjólfson S., Palsson B.Ø., Paglia G.* UPLC-UV-MS(E) analysis for quantification and identification of major carotenoid and chlorophyll species in algae. *Anal Bioanal Chem.* 2012; 404(10): 3145-3154.
  16. *Milenković S.M., Zvezdanović J.B., Anđelković T.D., Marković D.Z.* The identification of chlorophyll and its derivatives in the pigment mixtures: HPLC-chromatography, visible and mass spectroscopy studies. *Advanced technologies.* 2012; 1(1): 16-24.
  17. *Murador D.C., Salafia F., Zoccali M., Martins P.L.G., Ferreira A.G., Dugo P., et al.* Green Extraction Approaches for Carotenoids and Esters: Characterization of Native Composition from Orange Peel. *Antioxidants (Basel).* 2019; 8(12): E613.

K.A. Krasnov<sup>1</sup>, A.S. Gladchuk<sup>1,3</sup>, M.L. Alexandrova<sup>1</sup>, O.A. Keltsieva<sup>2,1</sup>, M.A. Zaytseva<sup>1</sup>, M. V. Melnikova<sup>1</sup>, V.L. Reinyuk<sup>1</sup>, E.P. Podolskaya<sup>1,2</sup>

### STUDY OF THE LIPID PIGMENT COMPOSITION IN THE WHITE SEA ALGAE *SACCHARINA LATISSIMA* USING TLC AND MALDI-MS

<sup>1</sup>Institute of Toxicology of the Federal Medical Biological Agency, 192019, Saint Petersburg, Russian Federation

<sup>2</sup>Institute of Analytical Instrumentation, Russian Academy of Sciences, 190103, Saint Petersburg, Russian Federation

<sup>3</sup>St. Petersburg State University, 199034, Saint Petersburg, Russian Federation

The qualitative composition of the most important biologically active lipid substances-carotenoids and chlorophyll derivatives of the White sea algae *Saccharina latissima* has been studied. The lipid extract was separated by thin-layer chromatography (TLC) and examined by matrix-associated laser desorption-ionization with mass-spectrometric analysis (MALDI-MS). The extract contained fucoxanthin, fucoxanthinol, pheophytin a, pheophorbide a, as well as other carotenoids and chlorophylls, including those not described in the literature. The results obtained, which significantly expand the information about the composition of *S. latissima* pigments, can be used to standardize raw materials and preparations based on these algae.

**Keywords:** brown algae, *S. latissima*, lipids, pigments, carotenoids, chlorophylls, thin-layer chromatography, MALDI-MS.

Quote: K.A. Krasnov, A.S. Gladchuk, M.L. Alexandrova, O.A. Keltsieva, M.A. Zaytseva, M. V. Melnikova, V.L. Reinyuk, E.P. Podolskaya. Study of the lipid pigment composition in the White sea algae *Saccharina latissima* using TLC and MALDI-MS. *Toxicological Review.* 2020; 5:50-56

Материал поступил в редакцию 13.04.2020 г.

