

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЕ ЛИПИДОВ НЕКОТОРЫХ КРАСНЫХ ВОДОРΟΣЛЕЙ КАСПИЙСКОГО МОРЯ

Машадов Г.А.¹, Хыдыров Х.Б.², Гурбанов И.³, Бердиев А.А.⁴, Дурдыев Т.Ш.⁵

¹Машадов Гурбангелди Амандурдыевич – студент,
лечебный факультет;

²Хыдыров Халсахет Бяшимович – кандидат медицинских наук, проректор по учебной работе университета;

³Гурбанов Илмырат – кандидат химических наук, заведующий кафедрой;

⁴Бердиев Атамырат Амангелдиевич – преподаватель;

⁵Дурдыев Тачмырат Шамухаммедович – преподаватель,
кафедра фармации,

Государственный медицинский университет Туркменистана имени Мырата Гаррыева,
г. Ашхабад, Туркменистан

Поиск источников биологически активных веществ и их предшественников до сих пор является актуальной задачей химии природных и физиологически активных соединений.

Первое знакомство с современными работами по химии морских водорослей показывает, что эти растения представляют перспективную сырьевую группу, тем более, что их запасы можно пополнять дальнейшим культивированием [6].

Основными биопродукциями морских водорослей являются углеводы, белки и липиды. При этом большого внимания заслуживают липиды морских водорослей, содержащие значительный процент высоконепредельных высших жирных кислот, которые обладают ценными свойствами и могут служить предшественниками в биосинтезе простагландинов [1].

Актуальность: вышеизложенное подтверждает актуальность исследование качественного и количественного жирнокислотного состава липидов 4 видов красных водорослей Каспийского моря: *Lourensia caspica* A.Zin et Zaberzh (I), *Polysiphonia caspica* Kütz (II), *Polysiphonia denudata* (Dillw) Kiitz (III), *Polysiphonia violacea* (Roth) Grev (IV) – для создания высокоэффективных лекарственных препаратов на их основе.

Материалы и методы: при выборе объектов исследования в первую очередь отдано предпочтение тем видам красных водорослей, которые достаточно часто встречаются на восточном побережье Каспийского моря и могут представлять определенный интерес для их промышленной заготовки или культивирования.

Исследования жирнокислотного состава липидов водорослей (I-IV) осуществляли методами тонкослойной хроматографии (ТСХ) и спектрофотометрии (СФ).

Идентификацию жирных кислот липидов методом ТСХ проводили на пластинках с силикагелем, прочно закрепленным золем кремниевой кислоты, и микросиликагелем, закрепленным гипсом или флоризилом. Опыты показали, что качество разделения жирных кислот улучшается при применении пластинки с силикагелем. Такие пластинки можно многократно регенерировать горячей хромовой смесью и использовать повторно для ТСХ.

В поисках подходящей системы растворителей для ТСХ использовали смеси различных полярных и неполярных растворителей. После проверки многочисленных комбинаций растворителей четкое разделение жирных кислот получили при хроматографировании в системе гексан-этиловый эфир-муравьиная кислота-метанол-вода (100:40:20:20:8).

Липиды каждой из водорослей хроматографировали несколько раз в присутствии стандартных «свидетелей».

Результаты ТСХ показали, что в состав липидной фракции водорослей входят 11 различных жирных кислот: тетрадекановая – C_{14:0}(1), гексадекановая – C_{16:0}(2), октадекановая – C_{18:0}(3), октадекановая – C_{18:1}(4), октадекадиеновая – C_{18:2}(5), октадекатриеновые – C_{18:3} α линоленовая(6) и смесь α- и β-элюстеариновых кислот(7), эйкозатетраеновая – C_{20:4}(8), эйкозопентаеновая – C_{20:5}(9), докозеновая – C_{22:1}(10) и докозагексаеновая – C_{22:6}(11) кислоты.

На хроматограмме липидов изучаемых водорослей основными являются 7 пятен: C_{16:0}, C_{18:0}, C_{18:1}, C_{18:2}, C_{18:3} (линоленовая кислота), C_{20:4} и C_{20:5} а другие 4 можно разглядеть лишь как слабые пятна. Для каждой отдельной кислоты вычислены значения R_f (табл. 1) [5].

Таблица 1. Значение R_f жирных кислот водоросли *Polysiphonia demidate*.

Система растворителей и их соотношение	Жирные кислоты										
	C _{14:0}	C _{16:0}	C _{18:0}	C _{18:1}	C _{18:2}	C _{18:3}	C _{18:3*}	C _{20:4}	C _{20:5}	C _{22:1}	C _{22:6}
Гексан-этиловый эфир- метанол-вода	0,74	0,70	0,64	0,57	-	0,53	0,37	0,27	-	0,20	0,12

(1:1:0,5:0,5)											
Хлороформ-петролейный эфир-этанол (1:1:0,5)	0,77	0,68	-	0,55	-	-	0,41	0,23	-	-	0,09
Гексан-этиловый эфир-муравьиная кислота-этанол-вода (1:1:0,5:0,5:0,5)	0,65	0,56	0,50	0,43	0,39	0,33	0,29	0,24	0,20	0,16	0,13
Гексан-этиловый эфир- муравьиная кислота-метанол-вода (1:0,4:0,2:0,2:0,08)	0,91	0,80	0,75	0,65	0,57	0,48	0,42	0,32	0,26	0,18	0,10
Гексан-хлороформ-уксусная кислота-этиловый эфир-вода (1:0,4:0,2:0,2:0,08)	0,74	0,68	0,64	0,59	0,51	0,47	0,38	0,35	0,23	0,20	0,13
Гексан-хлорбензол-уксусная кислота-этиловый эфир-вода (1:0,4:0,2:0,2:0,08)	-	0,70	0,66	0,61	0,57	0,48	0,44	0,39	0,31	0,22	0,18

Примечание. * – смесь α - и β -олеостеариновых кислот.

Количественное содержание жирных кислот, идентифицированных с помощью ТСХ, определено бихроматным и СФ методами [3, 4]. При СФ методе для соответствующей концентрации жирных кислот при известной длине волны построен калибровочный график, по которому для оптической плотности исследуемого образца находили содержание этих кислот (табл.2, рис.1).

Таблица 2. Зависимость оптической плотности гексадекановой ($C_{16:0}$) и октадекадиеновой ($C_{18:0}$) кислот от их концентрации, моль/л.

д	Концентрация
$C_{16:0}$	
0,93	0,50
0,60	0,35
0,42	0,20
0,21	0,15
$C_{18:0}$	
0,98	0,50
0,71	0,35
0,53	0,20
0,31	0,15

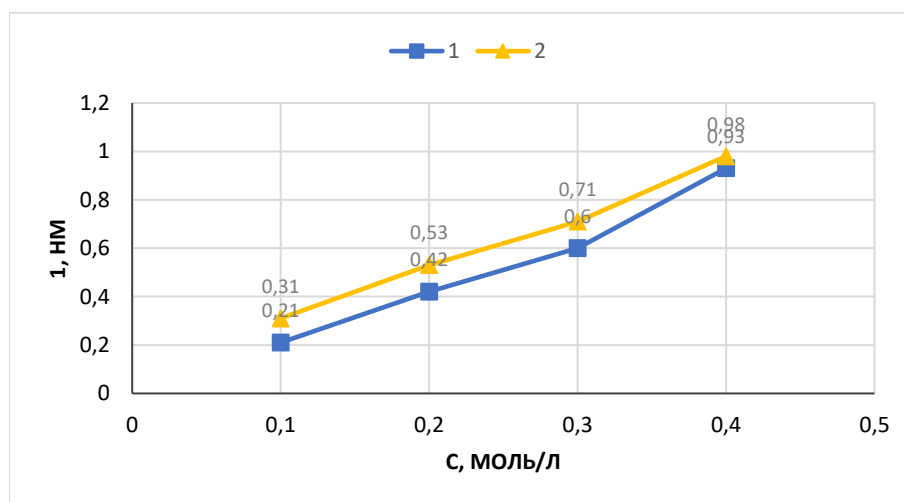


Рис. 1. Калибровочный график гексадекановой (1) и октадекадиеновой (2) кислот для количественной оценки их в составе липидной фракции водорослей (I-IV).

Измерения сигналов поглощения проводили при длине волны, равной при $C_{14:0}$ - 239 нм, $C_{16:0}$ - 268, $C_{18:0}$

- 299, C_{18:1} - 258, C_{18:2} - 248, C_{18:3} - 284, C_{18:3} (смеси α- и β- элеостеариновых кислот) - 282, C_{20:4} - 315, C_{20:5} - 346, C_{22:1} - 220, C_{22:6} - 375. Результаты СФ метода определения количества жирных кислот в составе липидов водорослей (I-IV) приведены в табл.3.

Таблица 3. Результаты СФ метода определения количества (моль/л) жирных кислот липидов водорослей (I-IV) Каспийского моря.

Жирные кислоты	<i>Lourensia caspica</i>	<i>Polysiphonia caspica</i>	<i>Polysiphonia denudata</i>	<i>Polysiphonia violacea</i>
C _{14:0}	0,08	0,34	0,24	0,41
C _{16:0}	0,36	0,56	0,28	0,46
C _{18:0}	0,17	0,35	0,29	0,22
C _{18:1}	0,10	0,70	0,06	0,65
C _{18:2}	0,18	0,44	0,16	0,54
C _{18:3}	0,17	0,28	0,12	0,19
C _{18:3*}	0,06	0,04	0,04	0,09
C _{20:4}	2,45	1,54	1,83	0,60
C _{20:5}	0,01	0,26	0,74	1,33
C _{22:1}	0,01	0,02	следы	следы
C _{22:6}	0,11	0,17	0,30	0,03

Примечание. * - смесь α- и β-элеостеариновых кислот.

Все водоросли содержат одни и те же типы жирных кислот, но в разных количествах. Для красных водорослей характерным признаком является высокая концентрация ненасыщенных жирных кислот, особенно для C_{18:1}, C_{18:3} (линоленовая кислота), C_{20:4} и C_{20:5}. Так, на долю C_{20:4} в *Lourensia caspica* (I) приходится почти 70% суммы ненасыщенных жирных кислот. Между отдельными представителями красных водорослей наблюдаются довольно существенные отличия в содержании насыщенных жирных кислот. Среди них преобладает C_{16:0}, соотношение C_{14:0} и C_{18:0} примерно одинаково.

Результаты и их обсуждение.

Полученные данные свидетельствуют о том, что ТСХ и СФ методы являются достоверными для установления качественного и количественного составов, структуры жирных кислот липидов водорослей.

Результаты приведенных доклинических испытаний экстрактов водорослей Каспийского моря позволили рекомендовать их в качестве лекарственных средств для лечения язвы 12-перстной кишки, желудка, ожогов и как гипополидемические средства. Это указывает на перспективность липидов изучаемых водорослей как источников высокоэффективных лекарственных препаратов [4].

Выделение липидов и методика определения качественного содержания высших жирных кислот водорослей (I-IV) с помощью ТСХ опубликованы в научных работах [2].

Количественное определение жирных кислот, разделенных в тонком слое, осуществляли бихроматным [3] и СФ методами. При последнем приготавливали 4 стандартных раствора жирных кислот с различными концентрациями и через 30 мин измеряли поглощение их (нм) на спектрофотометре «Spectromom-203» при соответствующих длинах волн. Строили калибровочный график, по которому определяли содержание жирных кислот в липидной фракции водорослей (I-V).

Выводы

1. Применение ТСХ на пластинках с силикагелем, закрепленным золем кремниевой кислоты, имеет ряд преимуществ перед пластинками со слоем силикагель-гипс или силикагель-флоризил.

2. Методами ТСХ и СФ установлено, что в состав липидной фракции изученных водорослей входят 11 различных предельных и непредельных жирных кислот с числом углеродных атомов в линейной неразветвленной цепи от 14 до 22. При этом во всех красных водорослях преобладающими компонентами являются жирные кислоты непредельного ряда.

3. Результаты предварительных доклинических исследований показали перспективность использования липидных экстрактов морских водорослей для создания лекарственных препаратов.

Список литературы

1. Ажгыхин И.С., Шпаков Ю.Н. и др. Применение метаболитов морских организмов в народном хозяйстве и

медицине. –Кишинев, 1980.

2. Курбанов Я., Гуллыев Н. и др. Изв. АНТ. сер. биол. наук, -1996, N2.
3. Полевой В.В. и др. Методы биохимического анализа растений. –Л., 1978.
4. Сопыев Дж., Атаева М. и др. Междунар. научно-практ. конф. «Независимый, нейтральный Туркменистан - горизонты молодежной науки». –А., 1996.
5. Тюкавкина Н.А., Бауков Ю.И. Биоорганическая химия, –М., 1996.
6. Хотимченко С.В. Липиды морских макрофитов: Автореф. дис. канд. хим. наук. –Владивосток, 1985.