

## АНАЛИЗ КАЧЕСТВЕННОГО И КОЛИЧЕСТВЕННОГО СОСТАВА ВОДОРАСТВОРИМОГО ПРОИЗВОДНОГО ЛИГНИНА И ЭКСТРАКТА КАСТОРЕУМА КАК НОВЫХ ИСТОЧНИКОВ ПРИРОДНЫХ ПОЛИФЕНОЛОВ

В.Н. Быков<sup>1</sup>, Е.И. Федорос<sup>1</sup>, С.Н. Романенко<sup>2</sup>, К.Н. Филин<sup>2</sup>, С.Е. Пигарев<sup>1</sup>, А.О. Акашева<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Лаборатория канцерогенеза и старения, ФГБУ «НМИЦ онкологии имени Н.Н. Петрова» Минздрава России, ул. Ленинградская, д. 68, пос. Песочный, Санкт-Петербург, Российская Федерация, 197758  
E-mail: bykov\_imm@mail.ru, elenafedoros@gmail.com, spigarev@scioco.com

<sup>2</sup>ФГУП Научно-производственный центр «Фармзащита» Федерального медико-биологического агентства, Вашутинское шоссе, д. 11, Химки, Московская обл., Российская Федерация, 141402  
E-mail: s.r.201@mail.ru, filin@atompharm.ru, akasheva@atompharm.ru

*Природные полифенолы привлекают внимание как потенциальные протективные компоненты в отношении неинфекционных заболеваний и их факторов риска. Эффекты полифенолов выявляются при применении в составе природного сырья, представляющего собой смесь веществ различных классов, или промежуточных продуктов, полученных путем его переработки, при этом точный состав смеси остается неустановленным. В данной статье представлены результаты анализа водорастворимой фракции лигнина и экстракта кастореума, которые могут рассматриваться как источники природных полифенолов. Экстракт кастореума получали из преуциальных желез бобра обыкновенного (*Castor fiber*) методом трехступенчатой экстракции с последующим упариванием в присутствии микрокристаллической целлюлозы. Водорастворимую фракцию лигнина получали путем обработки гидролизного лигнина гидроксидом натрия с последующей многоступенчатой очисткой. Анализ проводился методами ВЭЖХ-МС и ГХ-МС. В экстракте кастореума идентифицировано около 60 соединений, в том числе диарилгептаноиды, энтеролигнаны, флавоны, терпены, аминокислоты, витамины и ненасыщенные жирные кислоты. В составе водорастворимой фракции лигнина выявлено более 70 соединений, таких как флавоноиды, полифенолы, насыщенные и ненасыщенные жирные кислоты (C<sub>14</sub>-C<sub>26</sub>). Учитывая данные об антиоксидантных и антипролиферативных свойствах, экстракт кастореума и водорастворимая фракция лигнина могут рассматриваться как перспективные парафармацевтики или компоненты функционального питания у онкопациентов и здоровых людей, подверженных воздействию вредных производственных факторов и негативных факторов внешней среды.*

**Ключевые слова:** экстракт кастореума, водорастворимое производное лигнина

## ANALYSIS OF THE COMPOSITION OF CASTOREUM EXTRACT AND WATER-SOLUBLE LIGNIN DERIVATIVE AS NEW SOURCES OF NATURAL POLYPHENOLS

V.N. Bykov<sup>1</sup>, E.I. Fedoros<sup>1</sup>, S.N. Romanenko<sup>2</sup>, K.N. Filin<sup>2</sup>, S.E. Pigarev<sup>1</sup>, A.O. Akasheva<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Laboratory of carcinogenesis and aging, N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology, Leningradskaya str., 68, St. Petersburg, Russia, 197758

E-mail: bykov\_imm@mail.ru, elenafedoros@gmail.com, spigarev@scioco.com

<sup>2</sup>Research & Production Center "Pharmaceutical Protection" of Federal Medical Biological Agency, Vashutinskoe highway, 11, Khimki, Moscow region, Russia, 141402

E-mail: s.r.201@mail.ru, filin@atompharm.ru, akasheva@atompharm.ru

*Natural polyphenols attract attention as potential protective components in relation to chronic non-communicable diseases and their risk factors. Their effects are often detected when*

*used in the composition of natural raw materials, which is a mixture of substances of various classes, or intermediates obtained by processing it, while the exact composition of the specified mixture remains unknown. This article presents the results of the analysis of the water-soluble fraction of lignin and castoreum extract, which can be considered as sources of natural polyphenols. Castoreum extract was obtained from the preputial glands of common beaver (Castor fiber) by three-stage extraction followed by evaporation in the presence of microcrystalline cellulose. The water-soluble fraction of lignin was obtained by treating hydrolyzed lignin with sodium hydroxide followed by multi-stage purification. The analysis was carried out by HPLC-MS and GC-MS methods. About 60 compounds related to diarylheptanoids, enterolignans, flavones, terpenes, as well as amino acids, vitamins and unsaturated fatty acids were identified in castoreum extract. More than 70 compounds, such as flavonoids, polyphenols, saturated and unsaturated carboxylic acids (C14-C26), were identified in the composition of the water-soluble fraction of lignin. Data on antioxidant and antiproliferative activities suggest castoreum extract and water-soluble lignin derivative as promising parapharmaceuticals or components of functional foods for cancer patients and healthy people affected by occupational and environmental risk factors.*

**Key words:** castoreum extracts, water-soluble lignin fraction

**Для цитирования:**

Быков В.Н., Федорос Е.И., Романенко С.Н., Филин К.Н., Пигарев С.Е., Акашева А.О. Анализ качественного и количественного состава водорастворимого производного лигнина и экстракта кастореума как новых источников природных полифенолов. *Рос. хим. ж. (Ж. Рос. хим. об-ва)*. 2024. Т. LXVIII. № 2. С. 13–20. DOI: 10.6060/RCJ.2024682.2.

**For citation:**

Bykov V.N., Fedoros E.I., Romanenko S.N., Filin K.N., Pigarev S.E., Akasheva A.O. Analysis of the composition of castoreum extract and water-soluble lignin derivative as new sources of natural polyphenols. *Ros. Khim. Zh.* 2024. V. 68. N 2. P. 13–20. DOI: 10.6060/RCJ.2024682.2.

## ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время установлено, что природные биофлавоноиды проявляют антиканцерогенную активность, а при их сочетанном применении с противоопухолевыми препаратами отмечается синергетический эффект [1]. Снижение частоты рака связано с включением в рацион питания полифенолов - природных соединений, в состав которых входит несколько фенольных и/или гетероциклических колец и связывающих их структурных элементов [2]. К их фармакологическим свойствам относятся антиоксидантная, противоаллергическая, противовоспалительная, противодиабетическая, противовирусная и антипролиферативная активность, что позволяет рассматривать их как альтернативную стратегию для профилактики или замедления прогрессирования опухолей [3].

В растительных продуктах идентифицировано более 8000 разнообразных структур, относящихся к полифенолам [4]. Хорошим источником полифенольных соединений могут служить продукты, содержащие лигнин [5]. Природный лигнин представляет собой нерастворимый биополимер нерегулярного сетчатого строения и состоит из трех повторяющихся фенилпропановых единиц,

соединенных углерод-углеродными и эфирными связями: кониферилового спирта (преобладает в лигнине хвойных пород), синапового (характерен для лиственных пород) и п-кумарового (встречается в лигнине травянистых растений). Лигнин в составе нативной древесины образует единый комплекс с целлюлозой и гемицеллюлозами, что обеспечивает механическую прочность растений [6].

Предлагаются различные варианты использования технического лигнина в медицинских целях [7]. Например, в качестве энтеросорбента применяется лекарственное средство с международным непатентованным наименованием «Лигнин гидролизный», нерастворимое в воде. Лигнин гидролизный получают из технического лигнина хвойных пород после дополнительной обработки и очистки, содержащего не более 2% (а.с.в) зольных элементов и не более 20% (а.с.в) полисахаридных компонентов и экстрактивных веществ [8]. Дальнейший высокотемпературный щелочной гидролиз очищенного гидролизного лигнина в присутствии кислорода позволяет выделить водорастворимую фракцию, которая преимущественно представлена высокофункционализированными ароматическими компонентами ( $^{13}\text{C}$  и  $^1\text{H}$  ЯМР). Кроме

лигниноподобных соединений, в составе водорастворимой фракции определяются липиды и конденсированные полифенольные соединения (ИЦРМС), что может быть следствием расщепления ароматического кольца и конденсации фенолов [9].

Данное водорастворимое производное лигнина проявляет антиоксидантную, антимуtagenную, гепатопротекторную и противовоспалительную активность [10], которая сочетается с низкой токсичностью. Вместе с тем, до настоящего времени точные формулы маркерных соединений водорастворимого производного лигнина остаются неустановленными, что затрудняет его стандартизацию в качестве исходного компонента для производства лекарственных средств [9].

Содержание природных полифенолов в продуктах животного происхождения, как правило, значительно ниже, чем в фитохимических веществах. Одним из исключений является кастореум - натуральный продукт животного происхождения, полученный из высушенных и мацерированных ароматических желез клещевого мешка бобра (*Castor fiber*). При этом рацион бобра, который летом питается листьями и молодыми побегами, а зимой - древесными растениями, включает до 20% лигнина [11]. В составе кастореума в зависимости от способа экстракции и анализа идентифицируется несколько десятков веществ, принадлежащих к различным классам соединений [12, 13].

Целью настоящего исследования было сравнительное изучение качественного и количественного состава водорастворимой фракции лигнина и экстракта кастореума для оценки перспективы их включения в состав рационов питания онкологических пациентов и людей, подверженных воздействию экзогенных канцерогенных факторов.

#### МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

##### *Получение экстракта кастореума*

В качестве сырья использовали высушенные и измельченные на фрагменты 2-4 см<sup>2</sup> препуциальные железы *Castor fiber*, полученные от здоровых животных. Проводили трехступенчатую экстракцию активной субстанции с использованием 70% этилового спирта. На первом этапе 100 г сырья смешивалось с 500 мл экстрагента, затем выдерживалось в темноте при периодическом встряхивании в течение 15 дней, после чего целевой экстракт отделяли от осадка. Далее повторяли процедуру дважды, используя по 250 мл свежего экстрагента. На третьем этапе в конце 15-дневного периода экстракции материал дополнительно обрабатывали ультразвуком (Bandelin SONOPULS HD

340, Германия) в течение 60 мин при частоте 20 кГц и плотности облучения 2-2,2 Вт/см<sup>2</sup>. Порции экстрактов объединяли и затем упаривали на роторном испарителе (ИКА RV 10, Германия) при 60 °С, вакууме 12 мм рт.ст. и скорости вращения ротора 80 об/мин. Для получения порошка из вязкого экстракта кастореума перед упариванием к нему добавляли микрокристаллическую целлюлозу (сорт МКЦ-102) в расчете 200 г. на 1 л экстракта. Использовали порошок кастореума серии 010422, произведенный ФГУП НППЦ «Фармзащита» ФМБА России.

##### *Получение водорастворимого производного гидролизного лигнина*

Проводили высокотемпературную обработку гидролизного лигнина в присутствии щелочи, отделяли надосадочную жидкость, из которой многоступенчатой декантацией и ультрафильтрацией получали целевую смесь полифенольных соединений (патент RU2635562(13)C2). После высушивания продукт представлял собой порошок черного цвета, растворимый в воде в щелочных условиях и нерастворимый в органических растворителях. Для изучения химического состава использовали серию 050422Н15, произведенную компанией ООО «Нобель» с содержанием суммы полифенольных соединений 97,5%.

##### *Подготовка образцов для проведения анализа*

Образцы для анализа (0,05 ± 0,005 г) растворяли в 5 мл этанола (для ВЭЖХ-МС кастореума), в 5 мл 0,1М раствора аммония (для ВЭЖХ-МС производного лигнина) или смеси этанол : Н<sub>2</sub>О в соотношении 1,8 : 3,2 мл (для ГХ-МС), встряхивали 10 мин, выдерживали в ультразвуковой ванне 10 мин, после чего центрифугировали в течение 10 мин при скорости вращения 3500 об/мин. Из надосадочного слоя отбирали две аликвоты для анализа методами ВЭЖХ-МС и ГХ-МС. Для анализа ГХ-МС также была проведена дериватизация проб. Для этого из надосадочных слоев отбирали по две аликвоты объемом 0,05 мл и упаривали в токе азота досуха. К одной аликвоте добавляли 0,05 мл смеси MSTFA / NH<sub>4</sub>I / DTT, к другой – 0,05 мл смеси BSTFA / AcN (1:3). Пробы выдерживали при температуре 75 °С в течение 30 мин. После окончания дериватизации, пробы охлаждали и передавали на анализ.

##### *Анализ методом ВЭЖХ-МС*

Для анализа методом ВЭЖХ-МС использовали хроматографическую систему «Dionex Ultimate 3000», совмещенную с масс-спектрометрическим детектором «QExactive» (Thermo Fisher

Scientific, USA). Для разделения соединений, содержащихся в экстракте кастореума, использовали градиентный режим элюирования на обращенно-фазовой колонке «Hypersil Gold aQ» длиной 150 мм, внутренним диаметром 2,1 мм, диаметром частиц сорбента 3 мкм фирмы «Thermo Fisher Scientific». В качестве компонента А подвижной фазы использовали 0,1 % раствор муравьиной кислоты в смеси вода / ацетонитрил (95:5). В качестве компонента Б подвижной фазы использовали 0,1 % раствор муравьиной кислоты в ацетонитриле. Детектирование соединений проводили в режиме регистрации положительно и отрицательно заряженных ионов при ионизации электростатическим распылением при атмосферном давлении. Градиент изменения состава подвижной фазы составил: 0–2 мин - 95%А/5%Б; 2–15 мин - 95%А/5%Б; 15–18 мин - 5%А/95%Б; 18–19 мин - 5%А/95%Б; >19 мин - 95%А/5%Б. Температура термостата колонки составляла 30 °С, объем аликвоты образца, наносимого на колонку, составил 1 мкл, время анализа – 20 мин. Для разделения соединений, содержащихся в водорастворимой фракции лигнина, использовали следующий элюент: раствор аммиака водного 0,01 М (А) и ацетонитрил (Б) при скорости потока 0,7 мл/мин. Градиентное элюирование проводили следующим образом: 0–1 мин, 100%А; 1–10 мин, 100–30%А; 10–10.1 мин, 30–100%А; 10.1–30 мин, 100%А. Для масс-спектрометрических исследований использовали пик низкомолекулярной фракции с временем удерживания около 10.5 мин. Для идентификации применяли встроенное программное обеспечение Dionex Chromeleon™. Для анализа данных применяли программное обеспечение TraceFinder 3.2 с использованием внутреннего стандарта, подтверждение было проведено с использованием библиотеки спектров высокого разрешения и точных масс (HRAM library).

#### Анализ методом ГХ-МС

Для качественного и количественного анализа методом ГХ-МС использовали хроматографическую систему «Agilent 7890А», совмещенную с масс-спектрометрическим детектором «Agilent 5975С» фирмы «Agilent Technologies». Разделение проводили на капиллярной колонке HP-5ms длиной 30 м, диаметром 0,25 мм, толщиной фазы 0,25 мкм. В качестве газа-носителя использовали гелий, скорость потока – 0,9 мл/мин. Анализ проводили в градиентном температурном режиме: в течение 1 мин выдерживали температуру колонки 40 °С, затем поднимали температуру до 270 °С со скоростью 10 °С/мин, от 270 °С до 300 °С температуру поднимали со скоростью 40 °С/мин. Общее время

анализа – 44,75 мин. Детектирование проводили в режиме регистрации положительно и отрицательно заряженных ионов, метод ионизации – электронный удар. Температура инжектора – 280 °С, температура интерфейса – 300 °С, температура источника – 230 °С. Для идентификации применяли библиотеки масс-спектров NIST и WiLe.

#### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЯ

##### Анализ качественного и количественного состава экстракта кастореума

Проведенный нами количественный и качественный анализ с применением ВЭЖХ-МС и ГХ-МС позволил идентифицировать в составе экстракта кастореума около шестидесяти соединений, основные из которых представлены в табл. 1.

Таблица 1

##### Основные соединения, идентифицированные в экстракте кастореума

Название соединения	Брутто-формула	Содержание, мг/г
Центролобол	C <sub>19</sub> H <sub>24</sub> O <sub>3</sub>	165
Соединения типа 3 платифиллон	C <sub>19</sub> H <sub>22</sub> O <sub>3</sub>	80,6
Энтеролактон	C <sub>18</sub> H <sub>18</sub> O <sub>4</sub>	41,6
4-Этилфенол	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> O	28,7
4,4'-(2E)-Гепт-2-ен-1,7-диилдифенол	C <sub>19</sub> H <sub>22</sub> O <sub>2</sub>	17,4
4,4'-[(2Z)-3-Гидрокси-гепт-2-ен-1,7-диил]дифенол	C <sub>19</sub> H <sub>22</sub> O <sub>3</sub>	14,6
Бензойная кислота	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>	9,6
3-Гидроксибензойная кислота	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	9,6
Молочная кислота	C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	3,5
Холестерол	C <sub>27</sub> H <sub>46</sub> O	3,29
Этилгваякол	C <sub>9</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>	2,59
Крезол	C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> O	2,14
4-Гидрокси-ацетофенон	C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>	2,13
Рододендрол	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O <sub>2</sub>	1,76
Катехол	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>	0,61
Дигидроресвератрол	C <sub>14</sub> H <sub>14</sub> O <sub>3</sub>	0,58
Ланостерол	C <sub>30</sub> H <sub>50</sub> O <sub>3</sub>	0,57
Матаирезинол	C <sub>20</sub> H <sub>22</sub> O <sub>6</sub>	0,23
Апигенин	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub>	0,22
Протокатехиновая кислота	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>4</sub>	0,2
Борнеол	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	0,1
Лютеолин	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>6</sub>	0,06

Часть идентифицированных соединений (фенолы: крезол, 4-этилфенол, этилгваякол, 4-пропилфенол, катехол, апоцинин; терпены: борнеол; бензиловый спирт и его производные; ацетофенон)

упоминается в ранее проведенных исследованиях, посвященных изучению состава кастореума [12, 13], а часть была выявлена нами впервые, например диарилгептаноиды (центролобол, 3-платифиллон, дигидроресвератрол и др.), энтеролигнаны (энтеролактон и матаирезинол), ланостерол и ряд ненасыщенных жирных кислот, протокатехиновая кислота и апоцинин, флавоны (апигенин, лютеолин), монотерпены (дигидромирценол). Кроме того, в экстракте кастореума впервые идентифицированы 15 аминокислот и витамины B2, B3, B12.

Различия перечня идентифицированных соединений по сравнению с другими исследователями могут быть связаны с использованием различных источников сырья (*Castor canadensis*, *Castor fiber*), сезона добычи, возраста и пола животного, а также различиями методов анализа и идентификации.

Преобладающей группой соединений в составе исследуемого экстракта кастореума были диарилгептаноиды (центролобол, 3-платифиллон, матаирезинол и др.), суммарно до 277 мг/г сухого вещества), имеющие структурное сходство с куркумином. Их противоопухолевые эффекты подтверждены литературными данными, а их действие реализуется через различные молекулярные сигнальные пути, включая ядерный транскрипционный фактор «каппа би» (NF-κB), митоген-активируемую протеинкиназу (МАРК), эпидермальный фактор роста (EGFR), гистондеацетилазу-8 (HDAC8) и др. [14]. Другой важной группой с потенциальной противоопухолевой активностью являются энтеролактоны, содержание которых достигало 50 мг на 1 г сухого вещества, относящиеся к энтеролигнанам и проявляющие эстрогенное/антиэстрогенное действие благодаря конформационному сходству со стероидными гормонами. Молекулярные механизмы противоопухолевого действия энтеролактона реализуются через торможение клеточного цикла в G1-фазе и индукцию апоптоза опухолевых клеток [15]. Потенциальный тормозящий эффект энтеролигнанов на развитие опухолей был доказан в клинических исследованиях [16]. Среди минорных компонентов экстракта кастореума следует указать борнеол, способствующий повышению проницаемости тканевых барьеров и ингибированию активности белка множественной лекарственной устойчивости P-gp [17], а также 4-гидроксиацетофенон, тормозящий поляризацию, диссеминацию и инвазию опухолевых клеток путем активации немышечного миозина [18].

#### Анализ качественного и количественного состава низкомолекулярной водорастворимой фракции лигнина

Водорастворимая фракция гидролизного лигнина представляет собой сложную многокомпонентную смесь со средней молекулярной массой около 4.7 кДа [19], что затрудняет ее анализ масс-спектрометрическими методами. В результате идентификации методами ВЭЖХ-МС и ГХ-МС в низкомолекулярной (до 400 Da) фракции, содержание которой составило около 58%, установили точную химическую структуру более 70 соединений, основные из которых представлены в табл. 2.

Таблица 2

#### Основные соединения, идентифицированные в низкомолекулярной водорастворимой фракции лигнина

Название соединения	Брутто-формула	Содержание мг/г
Олеиновая кислота	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	89,27
Пальмитиновая кислота	C <sub>16</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	87,56
Ретиновая кислота	C <sub>20</sub> H <sub>28</sub> O <sub>2</sub>	32,59
Пальмитолеиновая кислота	C <sub>16</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>	31,28
Стеариновая кислота	C <sub>18</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>	21,667
Абетиновая кислота	C <sub>20</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>	18,58
Линолевая кислота	C <sub>18</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	17,63
Маргариновая кислота	C <sub>17</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	15,82
Рицинолевая кислота	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O <sub>3</sub>	15,73
Пинелловая кислота	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O <sub>5</sub>	12,10
Церотовая кислота	C <sub>26</sub> H <sub>52</sub> O <sub>2</sub>	11,54
Миристиновая кислота	C <sub>14</sub> H <sub>28</sub> O <sub>2</sub>	9,50
Бегеновая кислота	C <sub>22</sub> H <sub>44</sub> O <sub>2</sub>	7,70
Метил-дигидрокверцетин	C <sub>16</sub> H <sub>14</sub> O <sub>7</sub>	7,30
Гесперитин	C <sub>16</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>	6,87
Арахидиновая кислота	C <sub>20</sub> H <sub>40</sub> O <sub>2</sub>	4,12
α-Линоленовая кислота	C <sub>18</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>	3,38
Стеариодоновая кислота	C <sub>18</sub> H <sub>28</sub> O <sub>2</sub>	2,43
Афзелехин	C <sub>15</sub> H <sub>14</sub> O <sub>5</sub>	2,18
Аксилларин	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>8</sub>	2,14
Мелисимплин	C <sub>19</sub> H <sub>16</sub> O <sub>8</sub>	1,93
Джацеозидин	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>7</sub>	1,86
Рамноцитрин	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>7</sub>	1,81
Атранорин	C <sub>19</sub> H <sub>18</sub> O <sub>8</sub>	1,69
Диосметин	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	1,62
Катехин	C <sub>15</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>	1,48
Пектолинаригенин	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>	1,359
Гербацетин 8-ацетат	C <sub>17</sub> H <sub>12</sub> O <sub>8</sub>	1,21
Нарингенин	C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> O <sub>5</sub>	1,02

Выявленные соединения относились к насыщенным, одно-, дву- и полиненасыщенным алифатическим жирным кислотам и гидроксикислотам, а также к полифенолам. Присутствие гидро-

фобных соединений с  $H/C > 1,2$  в составе экстрактивных веществ гидролизного лигнина хорошо описано [20]; при получении водорастворимой фракции методом окисления в щелочных условиях они переходят в раствор, вероятно, в комплексе с ароматическими компонентами.

Жирные кислоты и гидроксикислоты выявлялись преимущественно методом ГХ-МС, что связано с их относительно высокой подвижностью в условиях анализа. Соединения этой группы могут выполнять роль положительных регуляторов в лимфоидной ткани (обладать про- и противовоспалительными свойствами), стимулировать иммунитет и оказывать регуляторное действие на микробиоту кишечника [21]. Полиненасыщенные жирные кислоты (арахидоновая, докозагексаеновая) входят в состав мембран нервных клеток, и их концентрация зависит от поступления предшественников: линолевой и линоленовой кислот, которые не синтезируются в организме млекопитающих [22].

Среди полифенолов, идентифицированных в составе водорастворимой фракции лигнина, можно выделить флаваноны (гесперитин, диосметин, нарингенин, пектолинарингенин), производные флаван-3-ола (катехин, афзелехин), флаванолы (кверцетин, аксилларин, джацеозидин, рамноцитрин), а также депсиды (атронорин). Эти соединения объединяет наличие антиоксидантной активности, противовоспалительного, противоопухолевого и антиметастатического действия *in vitro* и *in vivo* [23–26]. Ингибирование роста опухоли связано с воздействием на несколько клеточных белков-мишеней, включая каспазы, белок-регулятор В-клеточной лимфомы 2 (Bcl-2) и X-белок, связанный с Bcl-2 (Bax), способствующие индукции апоптоза, а также циклооксигеназу-2 (ЦОГ-2), матриксные металлопротеиназы-2,-9, вызывающие торможение ангиогенеза и метастазирования [27].

Несмотря на сложный состав анализата, была установлена индивидуальная формула ряда полифенолов, принадлежащих к классу флавоноидов, биологическая активность которых хорошо известна [1-3], и именно они могут вносить существенный вклад в реализацию молекулярных механизмов действия данного продукта [10]. Схожие эффекты ранее наблюдались в исследованиях водорастворимых производных гидролизного лигнина [28]. Таким образом, несмотря на относительно низкое содержание флавоноидов, разработка рутинного метода их определения может быть перспективной для характеристики качества при производстве.

Эффекты, описанные для полифенольных соединений, входящих в состав водорастворимой фракции лигнина и экстракта кастореума, во многом схожи и в первую очередь связаны с антиоксидантными свойствами. Для них установлено сходство и целого ряда фармакологических свойств, в частности, наличие антипролиферативной активности на моделях спонтанного и индуцированного канцерогенеза, а также снижение негативного воздействия экзогенных химических и физических факторов [29].

Вместе с тем, перечни фактически выявляемых веществ в этих продуктах различаются несмотря на то, что лигнин составляет значительную часть рациона бобра. Концентрация полифенолов в экстракте кастореума сравнима с наиболее богатыми полифенолами растительными продуктами, что позволяет предположить возможность достижения суточной нормы их потребления при введении в рацион питания экстракта кастореума в умеренных количествах. Помимо полифенолов, в анализируемых продуктах содержатся и другие соединения, обладающие положительными биологическими эффектами.

Несмотря на то, что клинические доказательства профилактического действия пищевых фитохимических веществ против развития новообразований все еще слабы, а их количество, необходимое для оказания химиопрофилактического эффекта, может значительно превышать обычные диетические дозы, тем не менее, экстракт кастореума и водорастворимая фракция лигнина были взяты за основу при подготовке ФГУП НПЦ «Фармзащита» ФМБА России перспективных рационов функционального питания для пациентов с онкологическими заболеваниями, а также для работников предприятий с вредными и опасными условиями труда, которые могут применяться для снижения немедленных и отдалённых последствий химио- и лучевой терапии у онкологических пациентов, таких как, например, риск развития вторичных опухолей, а также для снижения негативного воздействия экзогенных канцерогенных факторов.

#### ВЫВОДЫ

Проведенные сравнительное изучение качественного и количественного состава водорастворимой фракции лигнина и экстракта кастореума показало, что потенциальными компонентами с высокой биологической активностью в их составе являются полифенольные вещества: прежде всего, флавоноидного ряда, в случае производного гидро-

лизного лигнина, а также диарилгептаноиды и энтеролактоны, в кастореуме. Эти соединения обладают плейотропной активностью и проявляют антиканцерогенные, противовоспалительные, антиоксидантные и противовирусные свойства, что делает перспективным их включение в состав рационов питания онкологических пациентов и людей, подверженных воздействию экзогенных канцерогенных факторов.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РНФ 20-15-00330-П (исследование водорастворимой фракции гидролизованного лигнина).

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

The authors declare the absence a conflict of interest warranting disclosure in this article.

## ЛИТЕРАТУРА

## REFERENCES

- Ivanova D., Nikolova G., Karamalakova Y., Semkova S., Marutsova V., Yaneva Z. *Int J Mol Sci.* 2023. V. 24. N 16. P. 12705. DOI: 10.3390/ijms241612705.
- Farhan M., Rizvi A., Aatif M., Ahmad A. *Metabolites.* 2023. V. 13. N 4. P. 481. DOI: 10.3390/metabo13040481.
- Barreca M.M., Alessandro R., Corrado C. *Int J Mol Sci.* 2023. V. 24. N 11. P. 9236. DOI: 10.3390/ijms24119236.
- Денисова Д.В., Березовикова И.П., Батлук Т.И., Щербаклова Л.В., Воевода М.И. Оптимизация содержания полифенольных соединений в рационах питания для снижения кардио-метаболического риска в сибирской городской популяции: методические рекомендации. Новосибирск: СО РАН, 2021. 40 с. URL: <https://iimed.ru/userfiles/files/polifenoli-1.pdf>.
- Figueiredo P., Lintinen K., Hirvonen J.T., Kostianen M.A., Santos H.A. *Progress in Materials Science.* 2018. V. 93. P. 233–269. DOI:10.1016/j.pmatsci.2017.12.001.
- Doherty W.O.S., Mousavioun P., Fellows C.M. *Ind Crops Prod.* 2011. V. 33. P. 259–76. DOI: 10.1016/j.indcrop.2010.10.022.
- Евстигнеев Э. И. Химия растительного сырья. 2022. № 1. С. 11–33. DOI 10.14258/jcprm.2022019211.
- Леванова В.П. Лечебный лигнин. Центр сорбционных технологий. СПб., 1992. 136 с.
- Fedoros E.I., Orlov A.A., Zhrebker A., Gubareva E.A., Maydin M.A., Konstantinov A.I., Krasnov K.A., Karapetian R.N., Izotova E.I., Pigarev S.E., Panchenko A.V., Tyndyk M.L., Osolodkin D.I. *Oncotarget.* 2018. V. 9. P. 18578–18593. DOI: 10.18632/oncotarget.24990.
- Fedoros E.I., Baldueva I.A., Perminova I.V., Badun G.A., Chernysheva M.G., Grozdova I.D., Melik-Nubarov N.S., Danilova A.B., Nekhaeva T.L., Kuznetsova A.I., Emelyanova N.V., Ryakhovskiy A.A., Pigarev S.E., Semenov A.L., Tyndyk M.L., Gubareva E.A., Panchenko A.V., Bykov V.N., Anisimov V.N. *Environ Res.* 2020. V. 191. P. 110049. DOI: 10.1016/j.envres.2020.110049.
- Doucet C.M., Fryxell J.M. *Oikos.* 1993. V. 67. N 2. P. 201. DOI:10.2307/3545464.
- Tang R., Webster F.X., Müller-Schwarze D. *J Chem Ecol.* 1995. V. 21. N 11. P. 1745–1762. DOI: 10.1007/BF02033674.
- Tang R., Webster F.X., Müller-Schwarze D. *J. Chem. Ecol.* 1993. V. 19. N 7. P. 1491–1500. DOI: 10.1007/BF00984892.
- Ghasemi F., Shafiee M., Banikazemi Z., Pourhanifeh M.H., Khanbabaee H., Shamshirian A., Amiri Moghadam S., Aref Nezhad R., Sahebkar A., Avan A., Mirzaei H. *Pathol Res Pract.* 2019. V. 215. N 10. DOI: 10.1016/J.PRP.2019.152556.
- Carreau C., Flouriot G., Bennetau-Pelissero C., Potier M. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2008. V. 110. N 1–2. P. 176–185. DOI: 10.1016/J.JSBMB.2008.03.032.
- Buck K., Zaineddin A.K., Vrieling A., Linseisen J., Chang-Claude J. *Am J Clin Nutr.* 2010. V. 92. N 1. P. 141–153. DOI: 10.3945/AJCN.2009.28573.
- Ivanova D., Nikolova G., Karamalakova Y., Semkova S., Marutsova V., Yaneva Z. *Int J Mol Sci.* 2023. V. 24. N 16. P. 12705. DOI: 10.3390/ijms241612705.
- Farhan M., Rizvi A., Aatif M., Ahmad A. *Metabolites.* 2023. V. 13. N 4. P. 481. DOI: 10.3390/metabo13040481.
- Barreca M.M., Alessandro R., Corrado C. *Int J Mol Sci.* 2023. V. 24. N 11. P. 9236. DOI: 10.3390/ijms24119236.
- Denisova D.V., Berезovikova I.P., Batluk T.I., Shcherbakova L.V., Voevoda M.I. Optimizing the content of polyphenol compounds in the diet to reduce cardiometabolic risk in the Siberian urban population: guidelines. Novosibirsk: SB RAS, 2021. 40 p. (in Russian). URL: <https://iimed.ru/userfiles/files/polifenoli-1.pdf>.
- Figueiredo P., Lintinen K., Hirvonen J.T., Kostianen M.A., Santos H.A. *Progress in Materials Science.* 2018. V. 93. P. 233–269. DOI:10.1016/j.pmatsci.2017.12.001.
- Doherty W.O.S., Mousavioun P., Fellows C.M. *Ind Crops Prod.* 2011. V. 33. P. 259–276. DOI: 10.1016/j.indcrop.2010.10.022.
- Evstigneyev E.I. *Chemistry of plant raw material.* 2022. N 1. P. 11–33. (in Russian). DOI: 10.14258/jcprm.2022019211.
- Levanova V.P. *Lechebnyj lignin. Centr sorbtsionnykh tekhnologii [Medicinal lignin. Center of Sorption Technologies].* St. Petersburg, 1992. 136 p. (in Russian).
- Fedoros E.I., Orlov A.A., Zhrebker A., Gubareva E.A., Maydin M.A., Konstantinov A.I., Krasnov K.A., Karapetian R.N., Izotova E.I., Pigarev S.E., Panchenko A.V., Tyndyk M.L., Osolodkin D.I. *Oncotarget.* 2018. V. 9. P. 18578–18593. DOI: 10.18632/oncotarget.24990.
- Fedoros E.I., Baldueva I.A., Perminova I.V., Badun G.A., Chernysheva M.G., Grozdova I.D., Melik-Nubarov N.S., Danilova A.B., Nekhaeva T.L., Kuznetsova A.I., Emelyanova N.V., Ryakhovskiy A.A., Pigarev S.E., Semenov A.L., Tyndyk M.L., Gubareva E.A., Panchenko A.V., Bykov V.N., Anisimov V.N. *Environ Res.* 2020. V. 191. P. 110049. DOI: 10.1016/j.envres.2020.110049.
- Doucet C.M., Fryxell J.M. *Oikos.* 1993. V. 67. N 2. P. 201. DOI:10.2307/3545464.
- Tang R., Webster F.X., Müller-Schwarze D. *J Chem Ecol.* 1995. V. 21. N 11. P. 1745–1762. DOI: 10.1007/BF02033674.
- Tang R., Webster F.X., Müller-Schwarze D. *J. Chem. Ecol.* 1993. V. 19. N 7. P. 1491–1500. DOI: 10.1007/BF00984892.
- Ghasemi F., Shafiee M., Banikazemi Z., Pourhanifeh M.H., Khanbabaee H., Shamshirian A., Amiri Moghadam S., Aref Nezhad R., Sahebkar A., Avan A., Mirzaei H. *Pathol Res Pract.* 2019. V. 215. N 10. DOI: 10.1016/J.PRP.2019.152556.
- Carreau C., Flouriot G., Bennetau-Pelissero C., Potier M. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2008. V. 110. N 1–2. P. 176–185. DOI: 10.1016/J.JSBMB.2008.03.032.
- Buck K., Zaineddin A.K., Vrieling A., Linseisen J., Chang-Claude J. *Am J Clin Nutr.* 2010. V. 92. N 1. P. 141–153. DOI: 10.3945/AJCN.2009.28573.

17. Li J., Yuan J., Li Y., Wang J., Gong D., Xie Q., Ma R., Wang J., Ren M., Lu D., Xu Z. *Cell Mol Biol Lett.* 2022. V. 27. N 1. P. 1–20. DOI: 10.1186/S11658-022-00362-4/FIGURES/8.
18. Bryan D.S., Stack M., Krysztofiak K., Cichoń U., Thomas D.G., Surcel A., Schiffhauer E.S., Beckett M.A., Khodarev N.N., Xue L., Poli E.C., Pearson A.T., Posner M.C., Robinson D.N., Rock R.S., Weichselbaum R.R. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2020. V. 117. N 36. P. 22423. DOI: 10.1073/PNAS.2014639117.
19. Badun G.A., Chernysheva M.G., Zhernov Y.V., Poroshina A.S., Smirnov V.V., Pigarev S.E., Mikhnevich T.A., Volkov D.S., Perminova I.V., Fedoros E.I. *Biomedicines.* 2021. V. 9. N 12. P. 1787. DOI: 10.3390/biomedicines9121787.
20. Грибков И.В., Крутов С.М., Пранович А.В., Зарубин М.Я. *Химия растительного сырья.* 2008. № 2. С. 15–24. URL: [https://elibrary.ru/download/elibrary\\_11530990\\_49248330.pdf](https://elibrary.ru/download/elibrary_11530990_49248330.pdf).
21. Вахитов Т.Я., Чалисова Н.И., Полевая Е.В., Линькова Н.С., Салль Т.С., Хавинсон В.Х. *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований.* 2016. № 4–2. С. 362–364. URL: <https://applied-research.ru/ru/article/view?id=8972&ysclid=lpyszxp7rt455078417>.
22. Синякин И.А., Дробяскина К.А., Баталова Т.А. *Научное обозрение. Медицинские науки.* 2023. № 2. С. 73–78. URL: <https://science-medicine.ru/ru/article/view?id=1333>.
23. Sordon S., Popłoński J., Milczarek M., Stachowicz M., Tronina T., Kucharska A.Z., Wietrzyk J., Huszcza E. *Antioxidants (Basel).* 2019. V. 8. N 7. P. 210. DOI: 10.3390/antiox8070210.
24. Rauf A., Imran M., Abu-Izneid T., Iahtisham-Ul-Haq, Patel S., Pan X., Naz S., Sanches Silva A., Saeed F., Rasul Suleria H.A. *Biomed Pharmacother.* 2019. V. 116. P. 108999. DOI: 10.1016/j.biopha.2019.108999.
25. Han H.Y., Kim H.J., Jeong S.H., Kim J., Jeong S.H., Kim G.C., Hwang D.S., Kim U.K., Ryu M.H. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2018. P. 5765047. DOI: 10.1155/2018/5765047.
26. Zhou R., Yang Y., Park S.Y., Nguyen T.T., Seo Y.W., Lee K.H., Lee J.H., Kim K.K., Hur J.S., Kim H. *Sci Rep.* 2017. V. 7. N 1. P. 8136. DOI: 10.1038/s41598-017-08225-1.
27. Roohbakhsh A., Parhiz H., Soltani F., Rezaee R., Iranshahi M. *Life Sci.* 2015. V. 124. P. 64–74. DOI: 10.1016/j.lfs.2014.12.03.
28. Anisimov V.N., Larsen S., Lofberg S., Baldueva I.A., Malek A.V., Nielsen T.K., Fedoros E.I., Perminova I.V., Drobyshev E.Y., Bykov V.N., Panchenko A.V., Scherbakov A.M., Belyaev A.M. *Oncotarget.* 2017. V. 8. N 59. P. 100951–100956. DOI: 10.18632/oncotarget.22307.
29. Разработка комплексных рецептур физиологически активных веществ, снижающих риск преждевременного старения и продлевающих профессиональное долголетие работников особо опасных радиационных и химических производств: отчет о НИР шифр «Резистентность-20/О» (промежут). / ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России; рук. М.Н. Юрова. – СПб, 2020. – 99 с. – Контракт № ЕП-49/20 от 28.08.2020. – Инв. № 26 (ФГУП НПЦ «Фармзащита» ФМБА России).
17. Li J., Yuan J., Li Y., Wang J., Gong D., Xie Q., Ma R., Wang J., Ren M., Lu D., Xu Z. *Cell Mol Biol Lett.* 2022. V. 27. N 1. P. 1–20. DOI: 10.1186/S11658-022-00362-4/FIGURES/8.
18. Bryan D.S., Stack M., Krysztofiak K., Cichoń U., Thomas D.G., Surcel A., Schiffhauer E.S., Beckett M.A., Khodarev N.N., Xue L., Poli E.C., Pearson A.T., Posner M.C., Robinson D.N., Rock R.S., Weichselbaum R.R. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2020. V. 117. N 36. P. 22423. DOI: 10.1073/PNAS.2014639117.
19. Badun G.A., Chernysheva M.G., Zhernov Y.V., Poroshina A.S., Smirnov V.V., Pigarev S.E., Mikhnevich T.A., Volkov D.S., Perminova I.V., Fedoros E.I. *Biomedicines.* 2021. V. 9. N 12. P. 1787. DOI: 10.3390/biomedicines9121787.
20. Gribkov I. V., Krutov S.M., Pranovich A.V., Zarubin M.Ya. *Himiya rastitel'nogo syr'ya* [Chemistry of plant raw materials]. 2008. N 2. P. 15–24. (in Russian). URL: [https://elibrary.ru/download/elibrary\\_11530990\\_49248330.pdf](https://elibrary.ru/download/elibrary_11530990_49248330.pdf)
21. Vahitov T.Y., Chalisova N.I., Polevaya E.V., Linkova N.S., Sall T.S., Khavinson V.H. *International Journal of Applied and Fundamental Research.* 2016. N 4-2. P. 362–364. (in Russian). URL: <https://applied-research.ru/ru/article/view?id=8972&ysclid=lpyszxp7rt455078417>
22. Sinyakin I.A., Drobyskina K.A., Batalova T.A. *Scientific review. Medical Sciences.* 2023. N 2. P. 73–78. (in Russian). URL: <https://science-medicine.ru/ru/article/view?id=1333>
23. Sordon S., Popłoński J., Milczarek M., Stachowicz M., Tronina T., Kucharska A.Z., Wietrzyk J., Huszcza E. *Antioxidants (Basel).* 2019. V. 8. N 7. P. 210. DOI: 10.3390/antiox8070210.
24. Rauf A., Imran M., Abu-Izneid T., Iahtisham-Ul-Haq, Patel S., Pan X., Naz S., Sanches Silva A., Saeed F., Rasul Suleria H.A. *Biomed Pharmacother.* 2019. V. 116. P. 108999. DOI: 10.1016/j.biopha.2019.108999.
25. Han H.Y., Kim H.J., Jeong S.H., Kim J., Jeong S.H., Kim G.C., Hwang D.S., Kim U.K., Ryu M.H. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2018. P. 5765047. DOI: 10.1155/2018/5765047.
26. Zhou R., Yang Y., Park S.Y., Nguyen T.T., Seo Y.W., Lee K.H., Lee J.H., Kim K.K., Hur J.S., Kim H. *Sci Rep.* 2017. V. 7. N 1. P. 8136. DOI: 10.1038/s41598-017-08225-1.
27. Roohbakhsh A., Parhiz H., Soltani F., Rezaee R., Iranshahi M. *Life Sci.* 2015. V. 124. P. 64–74. DOI: 10.1016/j.lfs.2014.12.03.
28. Anisimov V.N., Larsen S., Lofberg S., Baldueva I.A., Malek A.V., Nielsen T.K., Fedoros E.I., Perminova I.V., Drobyshev E.Y., Bykov V.N., Panchenko A.V., Scherbakov A.M., Belyaev A.M. *Oncotarget.* 2017. V. 8. N 59. P. 100951–100956. DOI: 10.18632/oncotarget.22307.
29. Development of complex formulations of physiologically active substances that reduce the risk of premature aging and prolong the professional longevity of employees of especially dangerous radiation and chemical industries : otchet o NIR shift «Rezistentnost'-20/O» [research report "Resistance-20/O]. St-Petersburg, N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology, 2020. 99 p. (in Russian).

Поступила в редакцию 12.03.2024  
Принята к опубликованию 08.05.2024

Received 12.03.2024  
Accepted 08.05.2024