

УДК 542.06+577.1

## ПОЛИФЕНОЛЫ БУРЫХ ВОДОРΟΣЛЕЙ

© К.Г. Боголицын, А.С. Дружинина\*, Д.В. Овчинников, П.А. Каплицин, Е.В. Шульгина, А.Э. Паришина

Северный (Арктический) федеральный университет имени М.В. Ломоносова,  
наб. Северной Двины, 17, Архангельск, 163002 (Россия),  
e-mail: annadruzhinina27@yandex.ru

Проанализировано современное состояние исследований полифенольных соединений морских бурых водорослей – флоротаннинов. Представлены данные по содержанию полифенолов в биомассе в зависимости от класса, вида водорослей и места их произрастания, рассмотрены биосинтез, морфология, накопление в талломе, физико-химические свойства и биологическая роль данных соединений. Проведено описание классических методов выделения флоротаннинов из бурых водорослей и современных методов, таких как ультразвуковая, микроволновая, ферментативная экстракции, жидкостная экстракция под давлением и сверхкритическая флюидная экстракция. Рассмотрены способы селективного извлечения данных полифенольных соединений из экстрактов методами жидкофазной и твердофазной экстракции. Представлены такие методы исследования полимерного состава флоротаннинов, как гель-хроматография и ультрафильтрация. В обзоре методов количественного определения и структурного анализа флоротаннинов особое внимание уделено методам спектроскопии ядерно-магнитного резонанса и хромато-масс-спектрометрии с использованием различных методов ионизации. Показана значимая биологическая активность флоротаннинов, представленная антиоксидантной, противоопухолевой, противовоспалительной, антибактериальной, противовирусной и другими видами активностей, что обуславливает перспективность практического применения данных полифенольных соединений в качестве лечебных и профилактических средств в пищевой, косметической и фармакологической отраслях.

*Ключевые слова:* бурые водоросли, полифенолы, флоротаннины, экстракция, жидкостная хроматография, масс-спектрометрия, антиоксиданты, биологическая активность.

*Работа выполнена в рамках проектной части государственного задания Министерства образования и науки РФ № 4.3273.2017/4.6.*

### Введение

Бурые водоросли являются уникальным по составу сырьем для получения целого ряда веществ, обладающих широким спектром потребительских свойств. Их состав характеризуется содержанием минеральных веществ, липофильных веществ (пигменты, липиды), полифенолов, азотсодержащих соединений (белки, аминокислоты), структурных (целлюлоза, альгиновые кислоты) и запасных углеводов (маннит, ламинаран, фукоидан) [1–7].

Состав полифенольной фракции бурых водорослей характеризуется преимущественным содержанием полимеров флороглюцина – флоротаннинов [8, 9]. Их содержание значительно варьируется в зависимости от вида бурых водорослей и места произрастания. Так, сообщается, что виды *Fucus vesiculosus*, *Fucus serratus*

и *Ascophyllum nodosum*, произрастающие в акваториях арктических морей, отличаются высоким содержанием флоротаннинов [10, 11].

С первыми сообщениями о выделении низкомолекулярных флоротаннинов из морских водорослей в начале 1970-х гг. К.В. Гломбица и его группа открыли новую перспективную область биологически активных молекул [12–14]. Несмотря на более чем 40-летнюю историю изучения флоротаннинов, исследования в данной области продолжают и не теряют своей актуальности.

Боголицын Константин Григорьевич – заведующий кафедрой теоретической и прикладной химии, e-mail: k.bogolitsin@narfu.ru

Дружинина Анна Сергеевна – инженер, e-mail: annadruzhinina27@yandex.ru

Овчинников Денис Владимирович – младший научный сотрудник, e-mail: ovchinniko-deni@yandex.ru

Каплицин Платон Александрович – инженер, e-mail: platonkaplicin@yandex.ru

Шульгина Елена Валерьевна – младший научный сотрудник, e-mail: e.shulgina@narfu.ru

Паришина Анастасия Эдуардовна – лаборант, e-mail: parshanastasiya@yandex.ru

\* Автор, с которым следует вести переписку.

### 1. Биосинтез, морфология и свойства флоротаннинов

Биосинтез флороглюцина в водорослях идет по поликетидному пути через С-С связи (рис. 1). На первой стадии биосинтеза флороглюцина три молекулы малонилкофермента А конденсируются в 3,5-дикетогептандионат. Последующие декарбоксилирование 3,5-дикетогептандионата и его циклизация приводит к образованию трикететида, который претерпевает трансформацию в термодинамически более стабильную ароматическую форму – флороглюцин, содержащий три фенольные гидроксильные группы [15, 16]. Далее происходит полимеризация флороглюцина с образованием более чем 150 флоротаннинов [17].

Флоротаннины являются основными цитоплазматическими компонентами бурых водорослей и содержатся внутри клетки как в свободном, так и в связанном состоянии [18]. Около 90% от общего количества флоротаннинов находится в свободном состоянии в мембранно-связанных везикулах, называемых физодами. Остальная часть полифенольных соединений содержится в клеточной стенке, где они связаны в комплекс с альгиновой кислотой за счет ковалентных эфирных и полуацетальных связей и действуют в качестве структурного компонента, регулируя осмотическое давление [16, 19]. Некоторые флоротаннины могут находиться в водорослях в сульфатированном или галогенированном состоянии [20].

Исследования распределения флоротаннинов в тканях бурых водорослей показали, что данные соединения аккумулируются преимущественно в наружных клетках эпидермиса [21] и во внешнем кортикальном слое [22] талломов, причем авторы работы [22] отметили, что картина распределения полифенолов не зависит от вида бурой водоросли и стадии ее роста. Накопление флоротаннинов во внешних слоях таллома позволяет им быстро реагировать на стресс и выполнять защитные функции. Так, флоротаннины защищают водоросли от повреждения во время отливов за счет способности поглощать ультрафиолетовое излучение и проявлять значительные антиоксидантные свойства [23]. Флоротаннины также являются основной группой соединений, защищающих бурые водоросли от эпифитов [24].

На данный момент собрано большое количество данных по зависимости суммарного содержания флоротаннинов от вида водорослей, места их произрастания, а также от сезона сбора [10, 11, 25–27]. Так, в работе [10] авторы показали высокое содержание полифенолов в водорослях вида *Fucus vesiculosus* (15.4–18.6% а.с.в.) и *Ascophyllum nodosum* (14.6–14.8% а.с.в.), произрастающих в Белом и Баренцевом морях. Ранее норвежская группа исследователей [11] также сделала вывод о высоком содержании полифенолов в данных видах водорослей, при этом максимальное количество целевых компонентов наблюдалось в зимний период (11–14%), тогда как в апреле-мае снижалась до 8–10%.

Наличие полифенольных соединений отмечено в составе и других классов морских водорослей. Так,

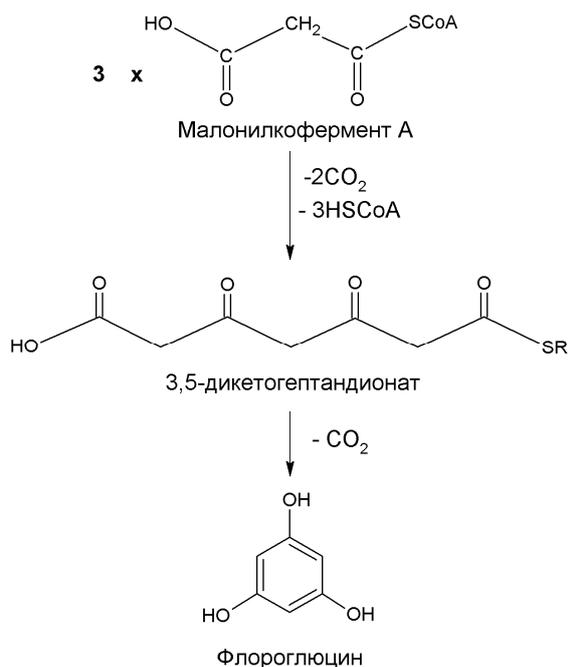


Рис. 1. Схема биосинтеза флороглюцина [15]

в работе показано [25] низкое содержание полифенолов в зеленых (1.8%) и красных (1.8–3.2%) водорослях по сравнению с бурыми водорослями вида *Eisenia bicyclis* (19.3%). Стоит отметить, что наибольшая концентрация флоротаннинов отмечена в водорослях, произрастающих в литоральной зоне.

Сопоставительные данные по содержанию полифенольных соединений в красных, зеленых и бурых морских водорослях, произрастающих на побережьях различных стран (табл. 1), свидетельствуют о повышенном содержании полифенолов в бурых водорослях семейства *Fucaceae* северных регионов.

По структуре и полимерным свойствам флоротаннины представляют собой обширную группу молекул, различающихся характером связей между единицами флороглюцина и количеством гидроксильных групп (рис. 2). В зависимости от типа связи между мономерами, флоротаннины могут быть разделены на 4 подкласса: фуга-

лолы и флоретолы (арил-эфирные связи), фуколы (фенильные связи), фукофлоретолы (арил-эфирные и фенильные связи), эколы и кармалолы (производные флоретолов, содержащие фрагмент дибензодиоксина) [28]. Учитывая степень полимеризации, структурное разнообразие флоротаннинов и наличие конформационных изомеров [29] становится необходимым использование более точной их классификации. Так, авторы работы [30] предлагают в подклассах выделить группы линейных и разветвленных флоротаннинов.

Молекулярная масса полифенолов бурых водорослей варьируется в широком диапазоне от 126 Да до 650 кДа [31], но большинство из них обладают массой от 10 кДа до 100 кДа [32]. Есть предположение, что структура флоротаннинов может изменяться на разных стадиях роста и развития слоевища – олигомеры преобразуются в более сложные полифенолы [33].

Таблица 1. Содержание полифенолов в морских водорослях

Вид водорослей	Место произрастания	Содержание полифенолов, %масс	Литературный источник
<i>Rhodophyta</i>			
<i>Porphyra purpurea</i>	Дания	0.4	[26]
<i>Porphyra tenera</i>	Япония	1.8	[25]
<i>Chlorophyta</i>			
<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	Тайвань	1.8	[25]
<i>Enteromorpha intestinalis</i>	Дания	0.3	[26]
<i>Phaeophyceae</i>			
<i>Eisenia bicyclis</i>	Корея	0.6–2.1	[27]
<i>Eisenia bicyclis</i>	Япония	19.3	[25]
<i>Fucus vesiculosus</i>	Дания	1.0	[26]
<i>Fucus vesiculosus</i>	Тронхеймс-фьорд, Норвегия	11–13	[11]
<i>Ascophyllum nodosum</i>	Тронхеймс-фьорд, Норвегия	12–14	[11]
<i>Fucus vesiculosus</i>	Белое, Баренцево моря, Россия	15.4–18.6	[10]
<i>Ascophyllum nodosum</i>	Белое, Баренцево моря, Россия	14.6–14.8	[10]

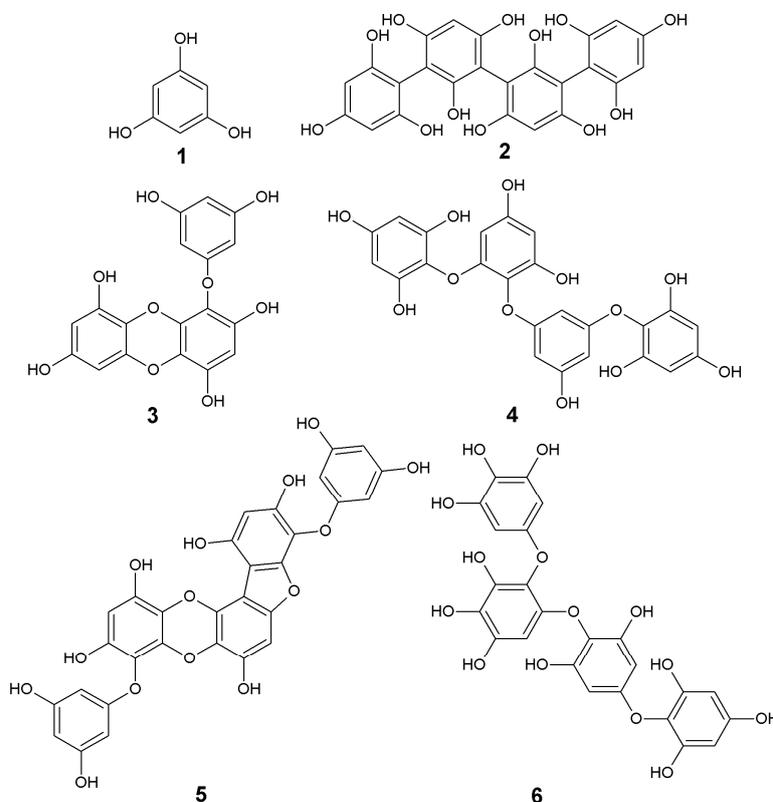


Рис. 2. Флороглуцин (1) и представители полифенолов бурых водорослей: 2 – тетрафукол А, 3 – экол, 4 – тетрафлоретол Б, 5 – флорофукофукокол, 6 – тетрафугалол А

Фармакологическая значимость полифенолов связана с их структурой и, в особенности, со степенью полимеризации. Однако стоит заметить, что взаимосвязь между молекулярной массой и антиоксидантной активностью флоротаннинов бурых водорослей до сих пор является предметом изучения [34]. Так, Ферререс [35] с соавторами отметили более высокую антиоксидантную активность высокомолекулярных флоротаннинов по сравнению с низкомолекулярной полифенольной фракцией, тогда как в исследованиях [36–39] показано, что увеличение молекулярной массы выделенных флоротаннинов приводит к снижению антиоксидантной способности. При проведении подобных исследований Ванг с соавторами [34] не обнаружили четкой взаимосвязи между антиоксидантной способностью и молекулярной массой флоротаннинов.

## 2. Способы выделения флоротаннинов

При извлечении флоротаннинов условно можно выделить следующие этапы: выделение полифенолов из бурых водорослей и выделение полифенольной фракции из экстрактов.

### 2.1. Выделение флоротаннинов из биомассы водорослей

При разработке методов извлечения флоротаннинов из водорослей важно учитывать, с одной стороны, термическую нестабильность выделяемых компонентов, их реакционную способность и способность флоротаннинов легко окисляться, а с другой – требования к экспрессности метода, полноте выделения, селективности и чистоте получаемого продукта.

Традиционно для извлечения полифенолов из морских водорослей применяется экстракция органическими растворителями. В качестве экстрагентов используют такие полярные растворители, как этанол, метанол, ацетон, а также их смеси с водой в различных соотношениях [2, 31, 33, 34]. Самым распространенным реагентом для выделения флоротаннинов являются водные растворы ацетона или этанола. Экстракцию обычно проводят при температуре не более 50 °С, поскольку при температуре выше 70 °С происходит дегградация полифенольных соединений [40].

В работе [34] в качестве экстрагентов для выделения полифенолов из водорослей вида *Fucus vesiculosus* авторы использовали воду, 80% метанол, 80% этилацетат, 80% этанол, 50% этанол, 70% ацетон и сделали вывод, что полярные органические растворители извлекают флоротаннины более селективно по сравнению с водой, и при использовании 70%-ного водного раствора ацетона наблюдается самое высокое содержание флоротаннинов в экстракте. Аналогичный результат представлен в работе [33], в которой эффективным экстрагентом для флоротаннинов из водорослей вида *Fucus vesiculosus* является 70%-ный водный раствор ацетона с содержанием полифенолов в экстракте около 6.3% от массы сухой водоросли, а при использовании этилацетата, ацетона, метанола и этанола содержание полифенолов составляет менее 0.2%. Предполагается, что ацетон обладает способностью ингибировать образование комплекса полифенолов с белками во время экстракции [41]. Повышение растворимости полифенолов в органических растворителях при добавлении воды может быть связано с ослаблением водородных связей внутри комплекса [42].

В исследованиях [2] наибольшее содержание полифенолов (ок. 17% от массы сухих водорослей) в водорослях *Fucus vesiculosus* наблюдалось при экстракции водой, а при использовании ацетона, водных растворов ацетона и этанола содержание исследуемых компонентов варьировалось в интервале 13–14%, в то время как использование этанола привело к наименьшему выходу полифенолов (ок. 7% от массы сухих водорослей). Также авторами исследований отмечено, что использование экстрагентов различной природы не влияет на антиоксидантную активность выделенных флоротаннинов.

Авторы работы [43] предлагают применение водно-спиртовой экстракции для выделения полярных фенольных соединений, с последующим использованием водно-ацетонового экстрагента для выделения более неполярных полимеров полифенолов. На основе анализа работы [43] можно сделать вывод, что использование поэтапной экстракции бурых водорослей органическими растворителями с различной полярностью позволяет более полно выделять полифенолы из биомассы.

Таким образом, классические методы экстракции широко применимы для выделения флоротаннинов из водорослей, однако они имеют ряд значительных недостатков, таких как низкая селективность выделения целевого компонента, длительное время экстракции для достижения высоких выходов фракции полифенолов, а также необходимость очистки экстракта от больших объемов органических растворителей.

Более эффективными методами выделения полифенолов из растительного сырья могут служить ультразвуковая, микроволновая, ферментативная экстракции, жидкостная экстракция под давлением и сверхкритическая флюидная экстракция (СКФЭ) [31, 40, 44, 45]. Основным преимуществом данных методов является увеличение выхода экстракта при отсутствии деструкции термолабильных соединений.

Так, в процессе ультразвуковой экстракции происходит активизация массопереноса путем разрушения клеточных стенок растений [44, 46]. Использование ультразвука для извлечения флоротаннинов разбавленным раствором соляной кислоты (0.03 н.) из бурых водорослей вида *Ascophyllum nodosum* описано в работе [47]. Извлеченные с помощью данного метода полифенолы содержали до 12 структурных единиц флороглюцина, что позволило авторам сделать вывод об эффективности ультразвуковой экстракции, в частности, для выделения высокомолекулярных флоротаннинов.

Преимуществом микроволновой экстракции является высокий выход полифенольных соединений из растительных объектов при одновременном сокращении времени экстракции и количества растворителя [48]. Однако необходимо учитывать фактор термолабильности полифенолов. Так, в работах [49, 50] при проведении микроволновой экстракции бурых водорослей показано снижение выхода флоротаннинов на 20–70% при повышении температуры до 40–60 °С, что авторы связывают с деградацией целевых компонентов.

Установлено, что при экстракции полифенолов классическими методами в водорослях остаются высокомолекулярные и связанные с клеточной стенкой флоротаннины [33]. Деструкция молекул полифенолов и разрушение клеточной стенки могут достигаться путем ферментативной обработки растительного сырья [51, 52]. Влияние различных протеаз и карбогидраз на экстракцию полифенолов из красной водоросли вида *Palmaria palmate* исследовано в работе [52]. Все протестированные ферменты протеазы увеличили выход полифенолов до 3 раз по сравнению с экстракцией холодной водой, тогда как использование карбогидраз приводило к снижению выхода. Низкое содержание полифенолов при использовании карбогидраз может быть обусловлено высвобождением из клеток белков, склонных к образованию комплексов с полифенолами, в то время как при использовании протеаз происходит разрушение белков на пептиды и свободные аминокислоты [53].

Жидкостная экстракция под давлением широко используется для выделения биологически активных веществ, в частности полифенолов, из растительных объектов. Так, авторами [54] было отмечено, что жидкостная экстракция под высоким давлением значительно снижает время процесса выделения полифенолов. Данный метод также применяется для выделения полифенольных соединений из водорослей [55]. При установленных авторами оптимальных условиях экстракции (13 МПа и 130 °С) выход полифенолов из водорослей составил 96%отн.

Перспективным является применение сверхкритических флюидных технологий для выделения различных БАВ (каротиноиды, хлорофиллы, жирные кислоты) из микро- и макроводорослей, поскольку использование метода СКФЭ позволяет избежать окисления и деградации неустойчивых соединений [3, 56]. Для извлечения флоротаннинов СКФЭ применяют реже, однако данное направление интенсивно развивается. Так, в работе [57] в качестве экстрагента для полифенолов из бурой водоросли вида *Sargassum muticum* использовали модифицированный этанолом сверхкритический диоксид углерода при параметрах 15.2 МПа и 60 °С. Выход полифенольной фракции составил 1.67% от массы сухих водорослей, в то время как при экстракции 75%-ым раствором этанола выход составил 6.67%. В другом исследовании [58] проводилась СКФЭ бурых водорослей вида *Saccharina japonica* и *Sargassum horneri* диоксидом углерода с этанолом в качестве соразтворителя при 45 °С и 250 атм. Наибольший выход полифенольных соединений обнаружен в сверхкритических экстрактах (до 0.64 мг/г сухих водорослей), тогда как при классической экстракции органическими растворителями выход полифенолов составил 0.28–0.60 мг/г сухих водорослей. Стоит отметить, что сверхкритические экстракты обладают наибольшей антиоксидантной активностью по сравнению с экстрактами, полученными классическим методом. Недавние исследования оптимальных условий СКФЭ флоротаннинов диоксидом углерода показали, что использование воды в качестве соразтворителя (2% от CO<sub>2</sub>) увеличивает выход целевого компонента в два раза вследствие увеличения полярности и набухания частиц водорослей [59].

Таким образом, можно сделать вывод, что в настоящее время уже существует большое количество экстракционных методов, обеспечивающих эффективное извлечение флоротаннинов из растительной биомассы (табл. 2).

Таблица 2. Эффективность извлечения флоротаннинов при различных методах экстракции

Вид экстракции	Выход флоротаннинов, %отн	Литературный источник
Жидкостная:		[2, 31, 33, 34]
– вода	65–100	
– водные растворы спиртов	20–80	
– водные растворы ацетона	75–100	
– спирты	10–40	
– этилацетат	менее 10	
ультразвуковая	до 100	[47]
микроволновая	до 100	[49, 50]
ферментативная	до 100	[52]
жидкостная экстракция под давлением	до 96	[55]
сверхкритическая флюидная экстракция	25–100	[57-59]

%отн – выход флоротаннинов относительно их содержания в водорослях

## 2.2. Выделение полифенольной фракции из экстрактов

При извлечении флоротаннинов из биомассы водорослей в экстрактах присутствуют сопутствующие вещества, например, маннит или фукоидан. Для удаления мешающих компонентов широкое распространение получил метод жидкофазной экстракции органическими растворителями, а также метод твердофазной экстракции.

Так, в работах [60–64] проводится сравнение эффективности применения различных органических экстрагентов для жидкофазной экстракции (метилхлорид, дихлорметан, этилацетат, бутанол и гексан). Показано, что наибольшая степень извлечения флоротаннинов наблюдается при использовании этилацетата. Кроме того, в данный экстрагент флоротаннины переходят более селективно, вследствие этого этилацетатная фракция обладает высокой антиоксидантной активностью [60]. Применение последовательной жидкофазной экстракции разными растворителями дает возможность дополнительной очистки полифенольной фракции. Например, в работе [65] для выделения более чистой полифенольной фракции этилацетатом предварительно экстракцией гексаном и дихлорметаном проводят удаление липидов и пигментов.

Однако необходимо заметить, что самым важным недостатком жидкофазной экстракции является использование больших объемов растворителей с высокой токсичностью. В связи с этим в настоящее время набирает популярность метод твердофазной экстракции.

При извлечении флоротаннинов из водных экстрактов эффективным методом является использование промышленного адсорбента Amberlite XAD-7 HP, представляющего собой алифатический сшитый акриламид. Флоротаннины сорбируются на его поверхности за счет образования водородных связей с карбонильными группами, после чего осуществляют элюирование этанолом. В работе [2] отмечено, что выходы флоротаннинов, полученные при твердофазной экстракции, в два раза меньше их содержания в исследуемых водорослях, что говорит о неполной сорбции флоротаннинов из водного раствора или об их неполном извлечении из сорбента. Однако при анализе очищенных полифенолов методом ЯМР выявлено, что чистота препарата составляет более 95%.

В работе [66] проведена оценка эффективности использования адсорбентов Diaion HP-20, Sepabeads SP-850, Amberlite XAD-7, XAD-16N, XAD-4 и XAD-2 для извлечения флоротаннинов. Все сорбенты, кроме XAD-7, представляют собой сополимеры стирола и дивинилбензола с различными диаметрами пор, площадью поверхности и размерами частиц. Наибольшее извлечение флоротаннинов (69.5%) из экстракта получили с помощью сорбента XAD-16N, тогда как десорбция исследуемых компонентов составляла 38.8% (от извлеченных сорбентом полифенолов).

Стоит заметить, что, несмотря на преимущества, твердофазная экстракция еще не нашла широкого применения в практике извлечения флоротаннинов, но дальнейшее развитие данного направления исследований возможно позволит разработать эффективный способ селективного выделения полифенолов бурых водорослей из экстрактов.

## 3. Методы исследования полимерного состава флоротаннинов

Для изучения полимерного состава полифенольной фракции бурых водорослей используют различные методы фракционирования по молекулярным массам. Одним из способов разделения полифенольных

соединений водорослей является хроматография низкого давления с использованием в качестве сорбента силикагеля. Например, в работе [60] при фракционировании флоротаннинов на силикагеле в качестве элюента используют систему растворителей хлороформ/метанол/вода.

Для фракционирования и очистки флоротаннинов широкое применение нашел гель Sephadex LH-20, который представляет собой декстрановый эпоксимодифицированный адсорбент, обладающий как гидрофобными, так и гидрофильными свойствами [67, 68]. Сила адсорбции флоротаннинов на данном геле зависит от количества гидроксильных групп на молекулу: полимерные фенолы задерживаются сильнее в колонке с сорбентом, чем мономеры и олигомеры. При подборе соответствующей системы элюентов можно добиться постепенного отделения фенольных соединений разной молекулярной массы. Так, в работе [34] авторы предложили использование системы из шести элюентов, полярность которых уменьшалась за счет пошагового увеличения концентрации ацетона в смеси ацетон-этанол. В результате большинство флоротаннинов элюировалось из колонки в последних трех фракциях, в связи с чем исследователи предположили, что флоротаннины в водорослях вида *Fucus vesiculosus* состоят в основном из высокомолекулярных соединений. Применение данного сорбента представлено в исследованиях [69], в которых этилацетатаную фракцию предварительно помещали в колонку с целитом и элюировали гексаном, дихлорметаном, диэтиловым эфиром и метанолом, а затем фракцию, выделенную с помощью диэтилового эфира, разделяли на сорбенте Sephadex LH-20, используя систему растворителей хлороформ/метанол в градиентном режиме. В результате разделений в полученных подфракциях авторы идентифицировали флороглуцин и диэкол.

Другим методом фракционирования флоротаннинов является ультрафильтрация. Так, Ванг с соавторами [34] сообщили об использовании данного метода, при котором флоротаннины были центрифугированы через серию фильтров с возрастающим размером пор, в результате чего были выделены фракции в следующем интервале молекулярных масс: более 100 кДа, 30–100 кДа, 10–30 кДа, 5–10 кДа.

Таким образом, применение метода фракционирования для полифенольных компонентов бурых водорослей позволяет не только изучать полимерный состав фракций флоротаннинов, но и выделять фракции с заданным параметром молекулярной массы.

#### **4. Методы количественного определения и структурного анализа флоротаннинов**

Среди аналитических методов наиболее простыми являются экстракционно-фотометрические методы, позволяющие определять суммарную массовую концентрацию полифенолов. Например, метод с применением реактива Фолина-Чокалтеу, при взаимодействии с ним полифенолы образуют комплекс голубого цвета, интенсивность окраски которого измеряют спектрофотометрически при длине волны 760 нм [70, 71]. Подобные методы имеют пределы обнаружения на уровне нескольких мг/л.

Методы инфракрасной спектроскопии применительно к водорослям могут использоваться для качественного анализа, например, как способ подтверждения наличия полифенолов в экстракте [72, 73].

Спектроскопия ядерно-магнитного резонанса (ЯМР-спектроскопия) на ядрах  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$  является более информативным методом и может использоваться как для получения информации о структуре извлеченных препаратов полифенолов [60, 71]. В частности, данный метод использовался в работах [74, 75] для изучения структуры новых, ранее не исследованных флоротаннинов бурых водорослей вида *Ecklonia kurome* и *Eisenia arborea*. С другой стороны, метод ЯМР может использоваться для количественного анализа флоротаннинов, что продемонстрировано в работе [76]. Сигналы ядер водорода всех фенольных соединений, содержащихся в экстракте бурой водоросли, сравнивались с сигналом внутреннего стандарта – в данном случае тримезиновой (бензол-1,3,5-трикарбоновой) кислоты. В работах [77, 78] методом ЯМР удалось оценить содержание полифенолов в экстрактах бурых водорослей, используя в качестве внутреннего стандарта 3-(триметилсилил)-тетрадецилпропионат натрия. Основными достоинствами данного метода являются очень малое время пробоподготовки и высокая точность.

Сложность полифенольного состава бурых водорослей и потребность в качественном и количественном определении индивидуальных полифенолов обуславливают необходимость использования методов с высокой разделяющей способностью – капиллярного электрофореза и жидкостной хроматографии в сочетании с различными методами обнаружения.

Метод капиллярного электрофореза применим только к низкомолекулярным соединениям, и ввиду этого существует очень мало публикаций, связанных с определением флоротаннинов водорослей, например, работа [79], в которой проведен анализ метанольного экстракта водоросли вида *Fucus vesiculosus*. Ав-

торами показано, что данный метод позволяет добиться разделения флоротаннинов, однако идентификация и количественный анализ не осуществлялись.

Наиболее популярным аналитическим методом для разделения и характеристики фенольных соединений является жидкостная хроматография. В работах [9, 80] анализ экстрактов водоросли вида *Fucus vesiculosus* осуществлялся в режиме нормально-фазовой хроматографии с использованием силикагеля в качестве неподвижной фазы и смеси на основе метанола и дихлорметана в качестве элюента. Тем не менее большую распространенность получил метод обращенно-фазовой хроматографии, где используются сорбенты на основе силикагеля с привитыми октадецильными группировками и водно-спиртовые или водно-ацетонитрильные смеси в качестве элюента [34, 35, 60, 61].

Метод жидкостной хроматографии позволяет проводить количественное определение флоротаннинов при наличии определяемых индивидуальных компонентов в чистом виде, путем построения градуировочных зависимостей. В то же время коммерчески доступные препараты флоротаннинов отсутствуют ввиду нестабильности и высокой склонности к окислению. Тем не менее в некоторых работах [27, 61] авторы самостоятельно выделяют исследуемые компоненты и используют их в качестве стандартов для количественного определения.

Масс-спектрометрия (МС), объединенная с жидкостной хроматографией (ЖХ-МС), позволяет анализировать сложные матрицы, сочетая эффективную разделительную способность с возможностью анализа структуры исследуемых соединений. В самом простом случае используется одноступенчатый масс-спектрометрический анализ в сочетании с диодно-матричным детектором для облегчения идентификации анализируемых компонентов. Использование тандемной масс-спектрометрии (MS/MS) позволяет получать спектры фрагментации исследуемых соединений, на основании которых можно получить информацию об их строении. Непосредственный масс-спектрометрический анализ полифенольных фракций без предварительного хроматографического разделения предоставляет общую картину молекулярно-массового распределения компонентов (рис. 3).

Одним из наиболее часто используемых методов ионизации является электрораспыление (electrospray ionization, ESI), при этом могут образовываться многозарядные ионы [81, 82], что позволяет детектировать высокомолекулярные соединения с массой более 2 кДа.

Отдельно стоит упомянуть метод матрично-ассоциированной лазерной десорбции/ионизации (МАЛДИ) – десорбционный метод «мягкой» ионизации, в основе которого лежит ионизация исследуемого образца лазерным излучением с последующим разделением во времяпролетном масс-анализаторе. Важную роль в данном методе играет матрица – химическое соединение, сокристаллизованное с исследуемым веществом, свойства которого позволяют снижать деструктивные свойства лазерного излучения и обеспечить оптимальную ионизацию [83].

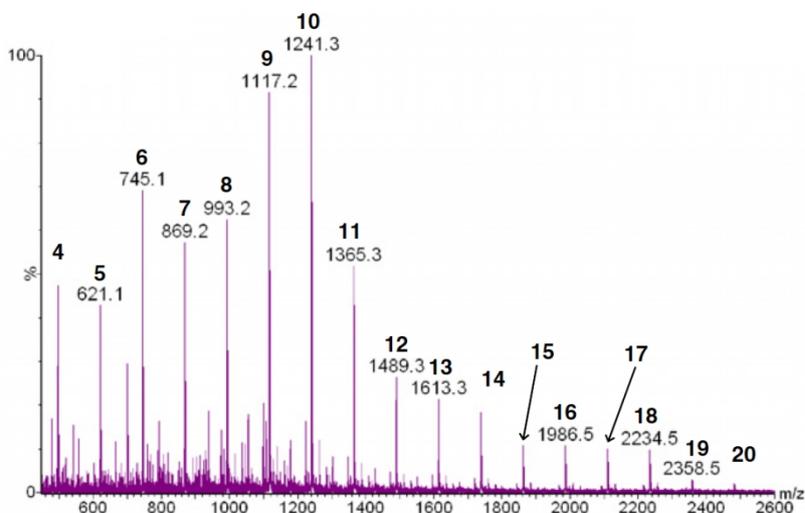


Рис. 3. Масс-спектр, характеризующий распределение молекулярных масс флоротаннинов водоросли вида *A. nodosum* [81]. Для каждого пика указана масса (Да) и количество колец флороглюцина в молекуле

В работе [78] данный метод использовался для характеристики полифенолов водоросли вида *Laminaria digitata*, а в [84] – для полифенолов бурых водорослей вида *Sargassum wightii*, *Sargassum tenerrimum* и *Turbinaria conoides*. Использование МАЛДИ с времяпролетным масс-спектрометром дает возможность также получать спектры фрагментации ионов исследуемых соединений, что предоставляет дополнительную информацию об их строении.

Бомбардировка быстрыми атомами (fast atom bombardment, FAB) – метод «мягкой» ионизации, осуществляемый путем бомбардирования образца в специальной матрице (глицерин, тиоглицерин, 3-нитробензиловый спирт) ускоренным потоком атомов инертного газа, чаще всего ксенона. Данный подход, как правило, используется совместно с методом ядерно-магнитного резонанса и может служить как для получения данных о структуре неизвестных ранее флоротаннинов [74, 85], так и для идентификации уже известных [86, 87].

Таким образом, наиболее перспективным методом количественного определения является обращенно-фазовая высокоэффективная жидкостная хроматография с последующим масс-спектрометрическим детектированием, обладающая высокой чувствительностью на уровне нескольких мкг/л и позволяющая проводить анализ сложных матриц. Методы тандемной масс-спектрометрии и масс-спектрометрии МАЛДИ, наравне с ЯМР-спектроскопией, необходимы для получения информации о структуре исследуемых флоротаннинов.

### 5. Биологическая активность флоротаннинов

Антиоксидантная активность экстрактов бурых водорослей обусловлена высоким содержанием флоротаннинов [64], широко известных своими антиоксидантными свойствами, проявляющимися в защите организма от повреждений активными формами кислорода. Так, автор работы [37] сообщает, что антиоксидантная активность флоротаннинов в 2–10 раз выше, чем у аскорбиновой кислоты и  $\alpha$ -токоферола.

Помимо антиоксидантных свойств флоротаннины обладают целым спектром биологических активностей, например, отмечена значительная гепатопротекторная активность, проявляемая диэколом и флорофукофурозколом А. В ходе исследований по выявлению у флоротаннинов ингибирующей способности по отношению к вирусным инфекциям гриппа А было выявлено, что полифенольный комплекс, содержащий в себе флороглюцин, экол, диэкол, 7-флорозкол и флорофукофурозкол, обладает ингибирующей активностью, которая наиболее сильно проявляется у флорофукофурозола [88].

Флоротаннины уменьшают риск развития онкологических заболеваний, индуцируя апоптоз раковых клеток, в частности клеток рака молочной железы [89–91]. Также было установлено положительное действие экола на подавление ветвистости и злокачественности клеток глиомы [92]. Стоит отметить, что эколы являются ингибиторами образования меланина [93], демонстрируют анти-ВИЧ-активность [94] и нейропротекторные эффекты, а также могут быть использованы для профилактики болезни Альцгеймера [95, 96].

Имеются сведения о противотромбозном и фунгицидном действиях полифенольных соединений бурых водорослей – флороглюцина и диэкола [97, 98]. Авторы работы [99] предлагают использовать флоротаннины для профилактики сердечно-сосудистых и нейродегенеративных заболеваний. Флоротаннины проявляют защитные свойства от УФ-излучения, являются сильными противоаллергенными средствами (флороглюцин, диэкол), обладают антидиабетическими, противомикробными свойствами и проявляют антибактериальную активность, которая выражена больше, чем у катехинов и полифенолов наземных растений [89, 100–103]. Сообщается, что в целом бактерицидный эффект увеличивается при повышении степени полимеризации флоротаннинов [104]. Значимые противовоспалительные и антимикробные свойства флоротаннинов позволяют применять данные соединения в медицинских текстильных изделиях, используемых для регенерации тканей [105, 106].

В работе [107] изучено влияние флоротаннинов из бурой водоросли *S. japonica* на антирадикальную активность и биохимические показатели липидного и углеводного обмена печени крыс при интоксикации четыреххлористым углеродом. Показано, что экстракт полифенолов способствует снижению уровня свободно-радикальных процессов, эффективному снятию тканевой гипоксии и восстановлению соотношения фракций нейтральных липидов.

В настоящее время остаются актуальными исследования биологической активности флоротаннинов, при этом особый интерес уделяется индивидуальным соединениям. Разнообразие видов биологической активности обуславливает перспективность практического применения этих компонентов в качестве лечебных и профилактических средств в пищевой, косметической и фармакологической отраслях.

### Заключение

Представленный в обзоре материал наглядно показывает, что арктические бурые водоросли занимают особое место в биотопах аквакультур и являются уникальным источником биологически активных веществ широкого спектра фармацевтических и медицинских свойств. Среди них флоротаннины, содержание которых в биомассе составляет до 20% от массы сухих водорослей, могут быть особо востребованы в фармакологии. Это связано с тем, что они различаются как по своему строению и степени полимеризации, так и биологической активности, которая проявляется в антиоксидантных, гепатопротекторных, противоаллергенных, противоопухолевых, противовоспалительных, антибактериальных и антидиабетических свойствах. Современные методы идентификации, количественного определения и структурного анализа флоротаннинов основаны на применении методов спектроскопии ядерно-магнитного резонанса и хромато-масс-спектрометрии с использованием различных приемов ионизации. Поэтому задача эффективного использования флоротаннинов заключается в разработке комплексных схем разделения биомассы и селективного выделения целевого продукта на основе принципов «зеленой» химии и с использованием как классических методов экстракции (экстракция органическими растворителями), так и современных ее приемов (ультразвуковая, микроволновая, ферментативная экстракции, жидкостная экстракция под давлением, сверхкритическая флюидная экстракция и твердофазная экстракция).

### Список литературы

1. Боголицын К.Г., Каплицин П.А., Ульяновский Н.В., Пронина О.А. Комплексное исследование химического состава бурых водорослей Белого моря // Химия растительного сырья. 2012. №4. С. 153–160.
2. Spurr H.I. Extraction, separation and purification of polyphenols, polysaccharides and pigments from British seaweed for high-value applications: thesis (PhD). Leeds, 2014. 224 p.
3. Боголицын К.Г., Каплицин П.А., Добродеева Л.К., Дружинина А.С., Овчинников Д.В., Паршина А.Э., Шульгина Е.В. Жирнокислотный состав и биологическая активность сверхкритических экстрактов арктической бурой водоросли *Fucus vesiculosus* // Сверхкритические флюиды: теория и практика. 2016. Т. 11. №3. С. 58–70.
4. Plaza M., Cifuentes A., Ibáñez E. In the search of new functional food ingredients from algae // Trends in Food Science and Technology. 2008. Vol. 19. Pp. 31–39.
5. Sánchez-Machado D.I., López-Cervantes J., López-Hernández J., Paseiro-Losada P. Fatty acids, total lipid, protein and ash contents of processed edible seaweeds // Food Chemistry. 2004. Vol. 85. Pp. 439–444.
6. Holdt S.L., Kraan S. Bioactive compounds in seaweed: functional food applications and legislation // Journal of Applied Phycology. 2011. Vol. 23. Pp. 543–597.
7. Kumar C.S., Ganesan P., Suresh P.V., Bhaskar N. Seaweeds as a source of nutritionally beneficial compounds – a review // Journal of Food Science and Technology. 2008. Vol. 45. Pp. 1–13.
8. Van Alstyne K.L. A comparison of three methods for quantifying brown algal polyphenolic compounds // Journal of Chemical Ecology. 1995. Vol. 21. Pp. 45–58.
9. Koivikko R., Loponen J., Pihlaja K., Jormalainen V. High-performance liquid chromatographic analysis of phlorotannins from the brown alga *Fucus vesiculosus* // Phytochemical Analysis. 2007. Vol. 18. Pp. 326–332.
10. Клиндух М.П., Облучинская Е.Д. Сравнительное исследование химического состава бурых водорослей *Fucus vesiculosus* и *Ascophyllum nodosum* // Вестник МГТУ. 2013. Т. 16, вып. 3. С. 466–471.
11. Ragan M.A., Jensen A. Quantitative studies on brown algal phenols. II Seasonal variation in polyphenol content of *Ascophyllum nodosum* (L.) Le Jol. and *Fucus vesiculosus* // Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. 1978. Vol. 34. Pp. 245–258.
12. Glombitza K.W., Rösener H.U., Vilter H., Rauwald W. Antibiotics from Algae. 8. Phloroglucinol from Phaeophyceae // Planta Med. 1973. Vol. 24(4). Pp. 301–303.
13. Glombitza K.W., Rauwald H.W., Eckhardt G. Fucole, polyhydroxyoligophenyle aus *Fucus vesiculosus* // Phytochemistry. 1975. Vol. 14. Pp. 1403–1405.
14. Glombitza K.W., Wiedenfeld G., Eckhardt G. Antibiotics from algae. XX. Low molecular phlorotannins from *Cystoseira baccata* // Arch Pharm (Weinheim). 1978. Vol. 311(5). Pp. 393–399.
15. Achkar J., Xian M., Zhao H., Frost J.W. Biosynthesis of phloroglucinol // Journal of the American chemical society. 2005. Vol. 127. Pp. 5332–5333.
16. Koivikko R. Brown algal phlorotannins: Improving and applying chemical methods: doctoral dissertation (article-based). Turku, 2008. 61 p.
17. Vo T.S., Ngo D.H., Kim S.K. Marine algae as a potential pharmaceutical source for anti-allergic therapeutics // Process Biochemistry. 2012. Vol. 47. Pp. 386–394.
18. Schoenwaelder M.E.A., Clayton M.N. Secretion of phenolic substances into the zygote wall and cell plate in embryos of *Hormosira* and *Acrocarpia* (*Fucales*, *Phaeophyceae*) // Journal of Phycology. 1998. Vol. 34. Pp. 969–980.
19. Schoenwaelder M.E.A. The occurrence and cellular significance of physodes in brown algae // Phycologia. 2002. Vol. 41. Pp. 125–139.

20. Ragan M.A., Glombitza K.W. Phlorotannins, brown algal polyphenols // In Progress in Phycological Research. 1986. Vol. 4. Pp. 129–241.
21. Lüder U.H., Clayton M.N. Induction of phlorotannins in the brown macroalga *Ecklonia radiata* (Laminariales, *Phaeophyta*) in response to simulated herbivory—the first microscopic study // *Planta*. 2004. Vol. 218. N6. Pp. 928–937.
22. Shibata T., Kawaguchi S., Hama Y., Inagaki M., Yamaguchi K., Nakamura T. Local and chemical distribution of phlorotannins in brown algae // *Journal of Applied Phycology*. 2004. Vol. 16. Pp. 291–296.
23. Fairhead V.A., Amsler C.D., McClintock J.B., Baker B.J. Variation in phlorotannin content within two species of brown macroalgae (*Desmarestia anceps* and *D. menziesii*) from the Western Antarctic Peninsula // *Polar Biology*. 2005. Vol. 28. Pp. 680–686.
24. Nagayama K., Shibata T., Fujimoto K., Honjo T., Nakamura T. Algicidal effect of phlorotannins from the brown alga *Ecklonia kurome* on red tide microalgae // *Aquaculture*. 2003. Vol. 218. Pp. 601–611.
25. Machu L., Misurcova L., Ambrozova J.V., Orsavova J., Mlcek J., Sochor J., Jurikova T. Phenolic content and antioxidant capacity in algal food products // *Molecules*. 2015. Vol. 20. Pp. 1118–1133.
26. Sabeena Farvin K.H., Jacobsen C. Phenolic compounds and antioxidant activities of selected species of seaweeds from Danish coast // *Food Chemistry*. 2013. Vol. 138. Pp. 1670–1681.
27. Kim S.M., Kang S.W., Jeon J.-S., Jung Y.-J., Kim W.-R., Kim C.Y., Um B.-H. Determination of major phlorotannins in *Eisenia bicyclis* using hydrophilic interaction chromatography: Seasonal variation and extraction characteristics // *Food Chemistry*. 2013. Vol. 138. Pp. 2399–2406.
28. Pádua D., Rocha E., Gargiulo D., Ramos A.A. Bioactive compounds from brown seaweeds: Phloroglucinol, fucoxanthin and fucoidan as promising therapeutic agents against breast cancer // *Phytochemistry Letters*. 2015. Vol. 14. Pp. 91–98.
29. Heffernan N., Brunton N.P., FitzGerald R.J., Smyth T.J. Profiling of the molecular weight and structural isomer abundance of macroalgae-derived phlorotannins // *Mar. Drugs*. 2015. Vol. 13. Pp. 509–528.
30. Martí nez I., Castaneda T. Preparation and chromatographic analysis of phlorotannins // *Journal of Chromatographic Science*. 2013. Vol. 51. Pp. 825–838.
31. Kadom S.U., Tiwari B.K., O'Donnelli C.P. Application of novel extraction technologies for bioactives from marine algae // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2013. Vol. 61. Pp. 4667–4675.
32. Boettcher A.A., Targett N.M. Role of polyphenolic molecular-size in reduction of assimilation efficiency in *Xiphister mucosus* // *Ecology*. 1993. Vol. 74. Pp. 891–903.
33. Koivikko R., Loponen J., Honkanen T., Jormalainen V. Contents of soluble, cell-wall-bound and exuded phlorotannins in the brown alga *Fucus vesiculosus*, with implications on their ecological functions // *Journal of Chemical Ecology*. 2005. Vol. 31. Pp. 195–212.
34. Wang T., Jónsdóttir R., Liu H., Gu L., Kristinsson H.G., Raghavan S., Olafsdóttir G. Antioxidant capacities of phlorotannins extracted from the brown algae *Fucus vesiculosus* // *Agricultural and food chemistry*. 2012. Vol. 60. Pp. 5874–5883.
35. Ferreres F., Lopes G., Gil-Izquierdo A., Andrade P.B. et al. Phlorotannin extracts from *Fucales* characterized by HPLC-DAD-ESI-MSn: approaches to hyaluronidase inhibitory capacity and antioxidant properties // *Marine Drugs*. 2012. Vol. 10. Pp. 2766–2781.
36. Audibert L., Fauchon M., Blanc N., Hauchard D., Ar Galla E. Phenolic compounds in the brown seaweed *Ascophyllum nodosum*: Distribution and radical-scavenging activities // *Phytochemical Analysis*. 2010. Vol. 21. Pp. 399–405.
37. Shibata T., Ishimaru K., Kawaguchi S., Yoshikawa H., Hama Y. Antioxidant activities of phlorotannins isolated from Japanese *Laminariaceae* // *Journal of Applied Phycology*. 2008. Vol. 20. Pp. 705–711.
38. Liu H., Gu L. Phlorotannins from brown algae (*Fucus vesiculosus*) inhibited the formation of advanced glycation Endproducts by scavenging reactive carbonyls // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2012. Vol. 60. Pp. 1326–1334.
39. Nakamura T., Nagayama K., Uchida K. and Tanaka R. Antioxidant activity of phlorotannins isolated from brown alga *Eisenia bicyclis* // *Fisheries Science*. 1996. Vol. 62. Pp. 923–926.
40. Mojzer E.B., Hrnčí M.K., Škerget M., Knez Ž., Bren U. Polyphenols: extraction methods, antioxidative action, bioavailability and anticarcinogenic effects // *Molecules*. 2016. Vol. 21. Pp. 901–939.
41. Hagerman A.E. Extraction of tannin from fresh and preserved leaves // *Journal of Chemical Ecology*. 1988. Vol. 14. Pp. 453–461.
42. Wissam Z., Ghada B., Wassim A., Warid K. Effective extraction of polyphenols and proanthocyanidins from pomegranate's peel // *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2012. Vol. 4. N3. Pp. 675–682.
43. Díaz-Rubio M.E., Pérez-Jiménez J., Saura-Calixto F. Dietary fiber and antioxidant capacity in *Fucus vesiculosus* products // *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. 2009. Vol. 60. Pp. 23–34.
44. Rajbhar K., Dawda H., Mukundan U. Polyphenols: methods of extraction // *Scientific Reviews and Chemical Communications*. 2015. Vol. 5. N1. Pp. 1–6.
45. Ibañez E., Herrero M., Mendiola J.A., Castro-Puyana M. Extraction and characterization of bioactive compounds with health benefits from marine resources: macro and micro algae, cyanobacteria, and invertebrates // *Marine bioactive compounds: sources, characterization and applications*. Madrid, 2012. Pp. 55–98.
46. Crisan C.C., Calinescu I., Zalaru C., Moldovan Z. Techniques for extracting polyphenols from *Coreopsis tinctoria* nutt. fruits // *UPB Scientific Bulletin, Series B: Chemistry and Materials Science*. 2013. Vol. 75(4). Pp. 169–178.

47. Kadam S.U., Tiwari B.K., Smyth T.J., O'Donnell C.P. Optimization of ultrasound assisted extraction of bioactive components from brown seaweed *Ascophyllum nodosum* using response surface methodology // *Ultrasonics Sonochemistry*. 2014. Vol. 23. Pp. 308–316.
48. Pan X., Niu G., Liu H. Microwave-assisted extraction of tea polyphenols and tea caffeine from green tea leaves // *Chemical Engineering and Processing*. 2003. Vol. 42. Pp. 129–133.
49. Michalak I.L., Chojnacka T.K. Seaweed extract by microwave assisted extraction as plant growth biostimulant // *Open Chemistry*. 2015. Vol. 13. Pp. 1183–1195.
50. Li Z., Wang B., Zhang Q., Qu Y., Xu H., Li G. Preparation and antioxidant property of extract and semipurified fractions of *Caulerpa racemosa* // *Journal of Applied Phycology*. 2012. Vol. 24. Pp. 1527–1536.
51. Landbo A., Meyer A. Enzyme-assisted extraction of antioxidative phenols from Black Currant juice press residues (*Ribes nigrum*) // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2001. Vol. 49. Pp. 3169–3177.
52. Wang T., Jónsdóttir R., Kristinsson H.G., Hreggvidsson G.O., Jónsson J.Ó. Enzyme-enhanced extraction of antioxidant ingredients from red algae *Palmaria palmata* // *Food Science and Technology*. 2010. Vol. 43. Pp. 1387–1393.
53. Siriwardhana N., Kim K.N., Lee K.W., Kim S.H., Ha J.H., Song C.B. Optimisation of hydrophilic antioxidant extraction from *Hizikia fusiformis* by integrating treatments of enzymes, heat and pH control // *International Journal of Food Science and Technology*. 2008. Vol. 43. N4. Pp. 587–596.
54. Xi J., Shen D., Zhao S., Lu B., Li Y., Zhang R. Characterization of polyphenols from green tea leaves using a high hydrostatic pressure extraction // *International Journal of Pharmaceutics*. 2009. Vol. 382. Pp. 139–143.
55. Onofrejevá L., Vašíčková J., Klejdus B., Stratil P., Mišurcová L., Kráčmar S., Kopecký J., Vacek J. Bioactive phenols in algae: The application of pressurized-liquid and solid-phase extraction techniques // *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2010. Vol. 51. Pp. 464–470.
56. Meireles M.A.A. Supercritical CO<sub>2</sub> extraction of bioactive components from algae // *Functional Ingredients from Algae for Foods and Nutraceuticals*. Oxford, 2013. Pp. 561–584.
57. Tanniou A., Esteban Serrano L., Vandanjon L., Ibanez E. Green improved processes to extract bioactive phenolic compounds from brown macroalgae using *Sargassum muticum* as model // *Talanta*. 2013. Vol. 104. Pp. 44–52.
58. Sivagnanam S.P., Yin S., Choi J.H., Park Y.B., Woo H.C., Chun B.S. Biological properties of fucoxanthin in oil recovered from two brown seaweeds using supercritical CO<sub>2</sub> extraction // *Marine Drugs*. 2015. Vol. 13. Pp. 3422–3442.
59. Saravana P.S., Tilahun A., Cho Y.-J., Choi J.H., Park Y.B. et. al. Influence of co-solvents on fucoxanthin and phlorotannin recovery from brown seaweed using supercritical CO<sub>2</sub> // *The Journal of Supercritical Fluids*. 2017. Vol. 120(2). Pp. 295–303.
60. Kim S.M., Kang K., Jeon J.S., Jho E.H., Kim C.Y., Nho C.W., Um B.H. Isolation of phlorotannins from *Eisenia bicyclis* and their hepatoprotective effect against oxidative stress induced by tert-butyl hydroperoxide // *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 2011. Vol. 165. Pp. 1296–1307.
61. Goo H.R., Choi J.S., Na D.H. Quantitative determination of major phlorotannins in *Ecklonia stolonifera* // *Archives of pharmacological research*. 2010. Vol. 3. Pp. 539–544.
62. Lee J.H., Ko J.Y., Oh J.Y., Kim C.Y., Lee H.J., Kim J., Jeon Y.J. Preparative isolation and purification of phlorotannins from *Ecklonia cava* using centrifugal partition chromatography by one-step // *Food Chemistry*. 2014. Vol. 158. Pp. 433–437.
63. Zou Y., Qian Z.J., Li Y., Kim M.M., Lee S.H., Kim S.K. Antioxidant effects of phlorotannins isolated from *Ishige okamurae* in free radical mediated oxidative systems // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2008. Vol. 56. Pp. 7001–7009.
64. Hermund D.B., Yesiltas B., Honold P., Jónsdóttir R., Kristinsson H.G. Characterisation and antioxidant evaluation of Icelandic *F. vesiculosus* extracts *in vitro* and in fish-oil-enriched milk and mayonnaise // *Journal of Functional Foods*. 2015. Vol. 19. Pp. 828–841.
65. Audibert L., Fauchon M., Blanc N., Hauchard D., Gall E.A. Phenolic compounds in the brown seaweed *Ascophyllum nodosum*: distribution and radical-scavenging activities // *Phytochemical Analysis*. 2010. Vol. 21. Pp. 399–405.
66. Leyton A., Vergara-Salinas J.R., Pérez-Correa J.R., Lienqueo M.E., Purification of phlorotannins from *Macrocystis pyrifera* using macroporous resins // *Food Chemistry*. 2017. Vol. 237. Pp. 312–319.
67. Li Y., Qian Z.J., Ryu B., Lee S.H., Kim M.M., Kim S.K. Chemical components and its antioxidant properties *in vitro*: an edible marine brown alga, *Ecklonia cava* // *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 2009. Vol. 17. Pp. 1963–1973.
68. Amarowicz R., Troszynska A., Shahidi F. Antioxidant activity of almond seed extract and its fractions // *J. Food. Lipids*. 2005. N12. Pp. 344–358.
69. Ahn G.-N., Kim K.-N., Cha S.-H., Song C.-B., Lee J., Heo M.-S., Yeo I.-K., Lee N.-H., Jee Y.-H., Kim J.-S., Heu M.-S., Jeon Y.-J. Antioxidant activities of phlorotannins purified from *Ecklonia cava* on free radical scavenging using ESR and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-mediated DNA damage // *European Food Research and Technology*. 2007. Vol. 226. Pp. 71–79.
70. ГОСТ ИСО 14502-1-2010. Чай. Метод определения общего содержания полифенолов. М., 2010. 14 с.
71. Kim A.R., Shin T.S., Lee M.S., Park J.Y., Park K.E., Yoon N.Y., Kim J.S., Choi J.S., Jang B.C., Byun D.S., Park N.K., Kim H.R. Isolation and identification of phlorotannins from *Ecklonia stolonifera* with antioxidant and anti-inflammatory properties // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2009. Vol. 57. Pp. 3483–3489.
72. Leyton A., Pezoa-Conte R., Barriga A., Buschmann A.H., Mäki-Arvela P., Mikkola J.-P., Lienqueo M.E. Identification and efficient extraction method of phlorotannins from the brown seaweed *Macrocystis pyrifera* using an orthogonal experimental design // *Algal Research*. 2016. Vol. 16. Pp. 201–208.

73. Devi G.K., Manivannan K., Thirumaran G., Rajathi F.A.A., Anantharaman P. In vitro antioxidant activities of selected seaweeds from Southeast coast of India // *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*. 2011. Vol. 4. N3. Pp. 205–211.
74. Yotsu-Yamashita M., Kondo S., Segawa S., Lin Y., Toyohara H., Ito H., Konoki K., Cho Y., Uchida T. Isolation and Structural Determination of Two Novel Phlorotannins from the Brown Alga *Ecklonia kurome* Okamura, and Their Radical Scavenging Activities // *Marine Drugs*. 2013. N11. Pp. 165–183.
75. Sugiura Y., Matsuda K., Yamada Y., Nishikawa M., Shioya K., Katsuzaki H., Imai K., Amano H. Isolation of a New Anti-Allergic Phlorotannin, Phlorofucofuroeckol-B, from an Edible Brown Alga, *Eisenia arborea* // *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. 2006. N70. Pp. 2807–2811.
76. Parys S., Rosenbaum A., Kehraus S., Reher G., Glombitza K.W., König G.M. Evaluation of quantitative methods for the determination of polyphenols in algal extracts // *Journal of Natural Products*. 2007. Vol. 70. Pp. 1865–1870.
77. Jégou C., Kervarec N., Cérantola S., Bihannic I., Stiger-Pouvreau V. NMR use to quantify phlorotannins: The case of *Cystoseira tamariscifolia*, a phloroglucinol-producing brown macroalga in Brittany (France) // *Talanta*. 2015. Vol. 135. N1. Pp. 1–6.
78. Vissers A.M., Caligiani A., Sforza S., Vinckena J., Gruppen H. Phlorotannin Composition of *Laminaria digitata* // *Phytochemical analysis*. 2017. Vol. 28(6). Pp. 487–495.
79. Truus K., Vaher M., Koel M., Mahar A., Taure I. Analysis of bioactive ingredients in the brown alga *Fucus vesiculosus* by capillary electrophoresis and neutron activation analysis // *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2004. Vol. 379. Pp. 849–852.
80. Koivikko R., Eränen J.K., Lojonen J., Jormalainen V. Variation of phlorotannins among three populations of *Fucus vesiculosus* as revealed by HPLC and colorimetric quantification // *Journal of Chemical Ecology*. 2008. Vol. 34. Pp. 57–64.
81. Tierney M.S., Smyth T.J., Rai D.K., Soler-Vila A., Croft A.K., Brunton N. Enrichment of polyphenol contents and antioxidant activities of Irish brown macroalgae using food-friendly techniques based on polarity and molecular size // *Food Chemistry*. 2013. Vol. 139. Pp. 753–761.
82. Stevensz A.J., Mackinnon S.L., Hankinson R., Craft C., Connan S., Stengel D.B., Melanson J.E. Profiling phlorotannins in brown macroalgae by liquid chromatography–high resolution mass spectrometry // *Phytochemical analysis*. 2012. Vol. 23. N5. Pp. 547–553.
83. Aparna C., Madhavi Latha N., Supriya P., Gowrisankar D. A review on matrix assisted laser desorption/ionization mass spectrometry // *Asian journal of pharmaceutical and clinical research*. 2015. N8. Pp. 28–33.
84. Karthik R., Manigandan V., Sheeba R., Saravanan R., Rajaian Rajesh P. Structural characterization and comparative biomedical properties of phloroglucinol from Indian brown seaweeds // *Journal of Applied Phycology*. 2016. N28. Pp. 3561–3573.
85. Sugiura Y., Matsuda K., Yamada Y., Nishikawa M., Shioya K., Katsuzaki H., Imai K., Amano H. Isolation of a New Anti-Allergic Phlorotannin, Phlorofucofuroeckol-B, from an Edible Brown Alga, *Eisenia arborea* // *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. 2006. Vol. 70. N11. Pp. 2807–2811.
86. Kim D.-H., Eom S.-H., Kim T.H., Kim B.-Y., Kim Y.-M., Kim S.-B. Deodorizing Effects of Phlorotannins from Edible Brown Alga *Eisenia bicyclis* on Methyl Mercaptan // *Journal of Agricultural Science*. 2013. Vol. 5. N1. Pp. 95–103.
87. Parys S., Kehraus S., Krick A., Glombitza K.-W., Carmeli S., Klimo K., Gerhäuser C., König G.M. In vitro chemopreventive potential of fucophlorethols from the brown alga *Fucus vesiculosus* L. by anti-oxidant activity and inhibition of selected cytochrome P450 enzymes // *Phytochemistry*. 2010. Vol. 71. Pp. 221–229.
88. Ryu Y.B., Jeong H.J., Yoon S.Y., Park J.-Y., Kim Y.M., Park S.-J., Rho M.-C. Influenza virus neuraminidase inhibitory activity of phlorotannins from the edible brown alga *Ecklonia cava* // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2011. Vol. 59. Pp. 6467–6473.
89. Gupta S., Abu-Ghannam N. Bioactive potential and possible health effects of edible brown seaweeds // *Trends in Food Science & Technology*. 2011. Vol. 22. N6. Pp. 315–326.
90. Kong C.S., Kim J.A., Yoon N.Y., Kim S.K. Induction of apoptosis by phloroglucinol derivative from *Ecklonia cava* in MCF-7 human breast cancer cells // *Food Chem. Toxicol.* 2009. Vol. 47. Pp. 1653–1658.
91. Li Y., Qian Z.J., Kim M.M., Kim S.K. Cytotoxic activities of phlorethol and fucophlorethol derivatives isolated from *Laminariaceae* *Ecklonia cava* // *J. Food Biochem.* 2011. Vol. 35. Pp. 357–369.
92. Hyun K.H., Yoon C.H., Kim R.K., Lim E.J., An S., Park M.J. et. al. Eckol suppresses maintenance of stemness and malignancies in glioma stem-like cells // *Toxicol Appl Pharmacol.* 2011. Vol. 254. Pp. 32–40.
93. Yoon N.Y., Lee S.H., Wijesekera I., Kim S.K. In vitro and intracellular antioxidant activities of Brown alga *Eisenia bicyclis* // *Fisheries and Aquatic Sciences*. 2011. Vol. 14. Pp. 179–185.
94. Artan M., Li Y., Karadeniz F., Lee S.H., Kim M.M., Kim S.K. Anti-HIV-1 activity of phloroglucinol derivative, 6,6'-bieckol, from *Ecklonia cava* // *Bioorganic and Medicinal Chemistry*. 2008. Vol. 16. Pp. 7921–7926.
95. Jung H.A., Oh S.H., Choi J.S. Molecular docking studies of phlorotannins from *Eisenia bicyclis* with BACE1 inhibitory activity // *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*. 2010. Pp. 3211–3215.
96. Yoon N.Y., Lee S.H., Kim S.K. Phlorotannins from *Ishige okamurae* and their acetyl- and butyrylcholinesterase inhibitory effects // *J. Funct. Foods*. 2009. Vol. 1. Pp. 331–335.
97. Bae J.-S. Antithrombotic and profibrinolytic activities of phloroglucinol // *Food and Chemical Toxicology*. 2011. Vol. 49. Pp. 1572–1577.

98. Lee M.H., Lee K.B., Oh S.M., Lee B.H., Chee H.Y. Antifungal activities of dieckol isolated from the marine brown alga *Ecklonia cava* against *Trichophyton rubrum* // Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry. 2010. Vol. 53(4). Pp. 504–507.
99. Urquiaga I., Leighton F. Plant polyphenol antioxidants and oxidative stress // Biological Research. 2000. Vol. 33. Pp. 55–64.
100. Kim S.-K., Himaya S.W.A. Medicinal effects of phlorotannins from marine Brown Algae // Advances in Food and Nutrition Research. 2011. Vol. 64. Pp. 97–108.
101. Lee S.-H., Jeon Y.-J. Anti-diabetic effects of brown algae derived phlorotannins, marine polyphenols through diverse mechanisms // Fitoterapia. 2013. Vol. 86. Pp. 129–136.
102. Li Y.-X., Wijesekara I., Li Y. Phlorotannins as bioactive agents from brown algae // Process Biochemistry. 2011. Vol. 46. Pp. 2219–2224.
103. Sivagnanam S.P., Yin S., Choi J.H., Park Y.B., Woo H.C., Chun B.S. Biological Properties of Fucoxanthin in Oil Recovered from Two Brown Seaweeds Using Supercritical CO<sub>2</sub> Extraction // Marine Drugs. 2015. Vol. 13. Pp. 3422–3442.
104. Nagayama K., Iwamura Y., Shibata T., Hirayama I., Nakamura T. Bactericidal activity of phlorotannins from the brown alga *Ecklonia kurome* // Antimicrob Chemother. 2002. Vol. 50. Pp. 889–893.
105. Yeo M., Jung W., Kim G. Fabrication, characterisation and biological activity of phlorotannin-conjugated PCL/β-TCP composite scaffolds for bone tissue regeneration // Journal of Materials Chemistry. 2012. Vol. 22. Pp. 3568–3577.
106. Kim M., Kim G. Electrospun PCL/phlorotannin nanofibres for tissue engineering: physical properties and cellular activities // Carbohydrate Polymers. 2012. Vol. 90. Pp. 592–601.
107. Спрыгин В.Г., Кушнерова Н.Ф., Фоменко С.Е., Сизова Л.А., Момот Т.В. Гепатопротекторные свойства экстракта из бурой водоросли *Saccharina japonica* // Биология моря. 2013. Т. 39. №1. С. 50–54.

Поступило в редакцию 21 марта 2017 г.

После переработки 8 мая 2018 г.

**Для цитирования:** Боголицын К.Г., Дружинина А.С., Овчинников Д.В., Каплицин П.А., Шульгина Е.В., Паршина А.Э. Сухой способ диспергирования волокон для последующего производства картона // Химия растительного сырья. 2018. №3. С. 5–21. DOI: 10.14258/jsergm.2018031898.

*Bogolitsyn K.G., Druzhinina A.S.\**, Ovchinnikov D.V., Kaplitsin P.A., Shulgin E.V., Parshina A.E. POLYPHENOLS OF BROWN ALGAE

Northern (Arctic) Federal University named after M.V. Lomonosov, emb. Northern Dvina, 17, Arkhangelsk, 163002 (Russia), e-mail: annadruzhinina27@yandex.ru

The modern state of research of marine brown algae polyphenolic compounds – phlorotannins, is analyzed. The data on the content of phlorotannins in biomass are presented depending on the species of algae and the place of growth. The biosynthesis, morphology, accumulation in the thallus, the physicochemical properties and biological role of these compounds are considered. The classical methods of isolating phlorotannins from algae are described, as well as modern methods, such as ultrasonic, microwave, enzymatic extraction, liquid extraction under pressure and supercritical fluid extraction. The ways of selective extraction of these compounds from extracts by methods of liquid-phase and solid-phase extraction are considered. Methods for studying the polymer composition of phlorotannins like gel permeation chromatography and ultrafiltration are presented. In the review of methods for quantitative determination and structural analysis of phlorotannins, special attention is paid to methods of nuclear magnetic resonance spectroscopy and chromatography-mass spectrometry using various ionization methods. The significant biological activity of phlorotannins is shown, which is represented by antioxidant, antitumor, anti-inflammatory, antibacterial, antiviral and other activities, which determines the prospects for the practical application of these polyphenolic compounds as therapeutic and prophylactic agents in the food, cosmetic and pharmacological industries.

**Keywords:** brown algae, polyphenols, phlorotannins, extraction, liquid chromatography, mass-spectrometry, antioxidants, biological activity.

### References

1. Bogolitsyn K.G., Kaplitsin P.A., Ul'ianovskii N.V., Pronina O.A. *Khimiia rastitel'nogo syr'ia*, 2012, no. 4, pp. 153–160. (in Russ.).
2. Spurr H.I. *Extraction, separation and purification of polyphenols, polysaccharides and pigments from British seaweed for high-value applications: thesis (PhD)*, Leeds, 2014, 224 p.
3. Bogolitsyn K.G., Kaplitsin P.A., Dobrodeeva L.K., Druzhinina A.S., Ovchinnikov D.V., Parshina A.E., Shul'gina E.V. *Sverkhkriticheskie fluiidy: teoriia i praktika*, 2016, vol. 11, no. 3, pp. 58–70. (in Russ.).
4. Plaza M., Cifuentes A., Ibáñez E. *Trends in Food Science and Technology*, 2008, vol. 19, pp. 31–39.
5. Sánchez-Machado D.I., López-Cervantes J., López-Hernández J., Paseiro-Losada P. *Food Chemistry*, 2004, vol. 85, pp. 439–444.
6. Holdt S.L., Kraan S. *Journal of Applied Phycology*, 2011, vol. 23, pp. 543–597.
7. Kumar C.S., Ganesan P., Suresh P.V., Bhaskar N. *Journal of Food Science and Technology*, 2008, vol. 45, pp. 1–13.
8. Van Alstyne K.L. *Journal of Chemical Ecology*, 1995, vol. 21, pp. 45–58.
9. Koivikko R., Loponen J., Pihlaja K., Jormalainen V. *Phytochemical Analysis*, 2007, vol. 18, pp. 326–332.
10. Klindukh M.P., Obluchinskaia E.D. *Vestnik MGTU*, 2013, vol. 16, no. 3, pp. 466–471. (in Russ.).
11. Ragan M.A., Jensen A. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 1978, vol. 34, pp. 245–258.
12. Glombitza K.W., Rösener H.U., Vilter H., Rauwald W. *Planta Med.*, 1973, vol. 24(4), pp. 301–303.
13. Glombitza K.W., Rauwald H.W., Eckhardt G. *Phytochemistry*, 1975, vol. 14, pp. 1403–1405.
14. Glombitza K.W., Wiedenfeld G., Eckhardt G. *Arch Pharm (Weinheim)*, 1978, vol. 311(5), pp. 393–399.
15. Achkar J., Xian M., Zhao H., Frost J.W. *Journal of the American chemical society*, 2005, vol. 127, pp. 5332–5333.
16. Koivikko R. *Brown algal phlorotannins: Improving and applying chemical methods: doctoral dissertation (article-based)*. Turku, 2008, 61 p.
17. Vo T.S., Ngo D.H., Kim S.K. *Process Biochemistry*, 2012, vol. 47, pp. 386–394.
18. Schoenwaelder M.E.A., Clayton M.N. *Journal of Phycology*, 1998, vol. 34, pp. 969–980.
19. Schoenwaelder M.E.A. *Phycologia*, 2002, vol. 41, pp. 125–139.
20. Ragan M.A., Glombitza K.W. *In Progress in Phycological Research*, 1986, vol. 4, pp. 129–241.
21. Lüder U.H., Clayton M.N. *Planta*, 2004, vol. 218, no. 6, pp. 928–937.
22. Shibata T., Kawaguchi S., Hama Y., Inagaki M., Yamaguchi K., Nakamura T. *Journal of Applied Phycology*, 2004, vol. 16, pp. 291–296.
23. Fairhead V.A., Amsler C.D., McClintock J.B., Baker B.J. *Polar Biology*, 2005, vol. 28, pp. 680–686.
24. Nagayama K., Shibata T., Fujimoto K., Honjo T., Nakamura T. *Aquaculture*, 2003, vol. 218, pp. 601–611.
25. Machu L., Misurcova L., Ambrozova J.V., Orsavova J., Mlcek J., Sochor J., Jurikova T. *Molecules*, 2015, vol. 20, pp. 1118–1133.
26. Sabeena Farvin K.H., Jacobsen C. *Food Chemistry*, 2013, vol. 138, pp. 1670–1681.
27. Kim S.M., Kang S.W., Jeon J.-S., Jung Y.-J., Kim W.-R., Kim C.Y., Um B.-H. *Food Chemistry*, 2013, vol. 138, pp. 2399–2406.
28. Pádua D., Rocha E., Gargiulo D., Ramos A.A. *Phytochemistry Letters*, 2015, vol. 14, pp. 91–98.
29. Heffernan N., Brunton N.P., FitzGerald R.J., Smyth T.J. *Mar. Drugs*, 2015, vol. 13, pp. 509–528.
30. Martí'nez I., Castaneda T. *Journal of Chromatographic Science*, 2013, vol. 51, pp. 825–838.
31. Kadom S.U., Tiwari B.K., O'Donnelli C.P. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2013, vol. 61, pp. 4667–4675.
32. Boettcher A.A., Targett N.M. *Ecology*, 1993, vol. 74, pp. 891–903.
33. Koivikko R., Loponen J., Honkanen T., Jormalainen V. *Journal of Chemical Ecology*, 2005, vol. 31, pp. 195–212.

\* Corresponding author.

34. Wang T., Jónsdóttir R., Liu H., Gu L., Kristinsson H.G., Raghavan S., Olafsdóttir G. *Agricultural and food chemistry*, 2012, vol. 60, pp. 5874–5883.
35. Ferreres F., Lopes G., Gil-Izquierdo A., Andrade P.B. et al. *Marine Drugs*, 2012, vol. 10, pp. 2766–2781.
36. Audibert L., Fauchon M., Blanc N., Hauchard D., Ar Galla E. *Phytochemical Analysis*, 2010, vol. 21, pp. 399–405.
37. Shibata T., Ishimaru K., Kawaguchi S., Yoshikawa H., Hama Y. *Journal of Applied Phycology*, 2008, vol. 20, pp. 705–711.
38. Liu H., Gu L. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2012, vol. 60, pp. 1326–1334.
39. Nakamura T., Nagayama K., Uchida K., Tanaka R. *Fisheries Science*, 1996, vol. 62, pp. 923–926.
40. Mojzer E.B., Hrnčí M.K., Škerget M., Knez Ž., Bren U. *Molecules*, 2016, vol. 21, pp. 901–939.
41. Hagerman A.E. *Journal of Chemical Ecology*, 1988, vol. 14, pp. 453–461.
42. Wissam Z., Ghada B., Wassim A., Warid K. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 2012, vol. 4, no. 3, pp. 675–682.
43. Díaz-Rubio M.E., Pérez-Jiménez J., Saura-Calixto F. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 2009, vol. 60, pp. 23–34.
44. Rajbhar K., Dawda H., Mukundan U. *Scientific Reviews and Chemical Communications*, 2015, vol. 5, no. 1, pp. 1–6.
45. Ibañez E., Herrero M., Mendiola J.A., Castro-Puyana M. *Marine bioactive compounds: sources, characterization and applications*, Madrid, 2012, pp. 55–98.
46. Crisan C.C., Calinescu I., Zalaru C., Moldovan Z. *UPB Scientific Bulletin, Series B: Chemistry and Materials Science*, 2013, vol. 75(4), pp. 169–178.
47. Kadam S.U., Tiwari B.K., Smyth T.J., O'Donnell C.P. *Ultrasonics Sonochemistry*, 2014, vol. 23, pp. 308–316.
48. Pan X., Niu G., Liu H. *Chemical Engineering and Processing*, 2003, vol. 42, pp. 129–133.
49. Michalak I.L., Chojnacka T.K. *Open Chemistry*, 2015, vol. 13, pp. 1183–1195.
50. Li Z., Wang B., Zhang Q., Qu Y., Xu H., Li G. *Journal of Applied Phycology*, 2012, vol. 24, pp. 1527–1536.
51. Landbo A., Meyer A. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2001, vol. 49, pp. 3169–3177.
52. Wang T., Jónsdóttir R., Kristinsson H.G., Hreggvidsson G.O., Jónsson J.Ó. *Food Science and Technology*, 2010, vol. 43, pp. 1387–1393.
53. Siriwardhana N., Kim K.N., Lee K.W., Kim S.H., Ha J.H., Song C.B. *International Journal of Food Science and Technology*, 2008, vol. 43, no. 4, pp. 587–596.
54. Xi J., Shen D., Zhao S., Lu B., Li Y., Zhang R. *International Journal of Pharmaceutics*, 2009, vol. 382, pp. 139–143.
55. Onofrejevá L., Vašíčková J., Klejdus B., Stratil P., Mišurcová L., Kráčmar S., Kopecký J., Vacek J. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2010, vol. 51, pp. 464–470.
56. Meireles M.A.A. *Functional Ingredients from Algae for Foods and Nutraceuticals*, Oxford, 2013, pp. 561–584.
57. Tanniou A., Esteban Serrano L., Vandanjon L., Ibanez E. *Talanta*, 2013, vol. 104, pp. 44–52.
58. Sivagnanam S.P., Yin S., Choi J.H., Park Y.B., Woo H.C., Chun B.S. *Marine Drugs*, 2015, vol. 13, pp. 3422–3442.
59. Saravana P.S., Tilahun A., Cho Y.-J., Choi J.H., Park Y.B. et al. *The Journal of Supercritical Fluids*, 2017, vol. 120(2), pp. 295–303.
60. Kim S.M., Kang K., Jeon J.S., Jho E.H., Kim C.Y., Nho C.W., Um B.H. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2011, vol. 165, pp. 1296–1307.
61. Goo H.R., Choi J.S., Na D.H. *Archives of pharmacal research*, 2010, vol. 3, pp. 539–544.
62. Lee J.H., Ko J.Y., Oh J.Y., Kim C.Y., Lee H.J., Kim J., Jeon Y.J. *Food Chemistry*, 2014, vol. 158, pp. 433–437.
63. Zou Y., Qian Z.J., Li Y., Kim M.M., Lee S.H., Kim S.K. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2008, vol. 56, pp. 7001–7009.
64. Hermund D.B., Yesiltas B., Honold P., Jónsdóttir R., Kristinsson H.G. *Journal of Functional Foods*, 2015, vol. 19, pp. 828–841.
65. Audibert L., Fauchon M., Blanc N., Hauchard D., Gall E.A. *Phytochemical Analysis*, 2010, vol. 21, pp. 399–405.
66. Leyton A., Vergara-Salinas J.R., Pérez-Correa J.R., Lienqueo M.E. *Food Chemistry*, 2017, vol. 237, pp. 312–319.
67. Li Y., Qian Z.J., Ryu B., Lee S.H., Kim M.M., Kim S.K. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2009, vol. 17, pp. 1963–1973.
68. Amarowicz R., Troszynska A., Shahidi F. *J. Food. Lipids.*, 2005, no. 12, pp. 344–358.
69. Ahn G.-N., Kim K.-N., Cha S.-H., Song C.-B., Lee J., Heo M.-S., Yeo I.-K., Lee N.-H., Jee Y.-H., Kim J.-S., Heu M.-S., Jeon Y.-J. *European Food Research and Technology*, 2007, vol. 226, pp. 71–79.
70. *GOST ISO 14502-1-2010. Chai. Metod opredeleniia obshchego soderzhaniiia polifenolov.* [GOST ISO 14502-1-2010. Tea. Method for determining the total content of polyphenols]. Moscow, 2010, 14 p. (in Russ.).
71. Kim A.R., Shin T.S., Lee M.S., Park J.Y., Park K.E., Yoon N.Y., Kim J.S., Choi J.S., Jang B.C., Byun D.S., Park N.K., Kim H.R. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2009, vol. 57, pp. 3483–3489.
72. Leyton A., Pezoa-Conte R., Barriga A., Buschmann A.H., Mäki-Arvela P., Mikkola J.-P., Lienqueo M.E. *Algal Research*, 2016, vol. 16, pp. 201–208.
73. Devi G.K., Manivannan K., Thirumaran G., Rajathi F.A.A., Anantharaman P. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 2011, vol. 4, no. 3, pp. 205–211.
74. Yotsu-Yamashita M., Kondo S., Segawa S., Lin Y., Toyohara H., Ito H., Konoki K., Cho Y., Uchida T. *Marine Drugs*, 2013, no. 11, pp. 165–183.
75. Sugiura Y., Matsuda K., Yamada Y., Nishikawa M., Shioya K., Katsuzaki H., Imai K., Amano H. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 2006, no. 70, pp. 2807–2811.

76. Parys S., Rosenbaum A., Kehraus S., Reher G., Glombitza K.W., König G.M. *Journal of Natural Products*, 2007, vol. 70, pp. 1865–1870.
77. Jégou C., Kervarec N., Cérantola S., Bihannic I., Stiger-Pouvreau V. *Talanta*, 2015, vol. 135, no. 1, pp. 1–6.
78. Vissers A.M., Caligiani A., Sforza S., Vinckena J., Gruppen H. *Phytochemical analysis*, 2017, vol. 28(6), pp. 487–495.
79. Truus K., Vaher M., Koel M., Mahar A., Taure I. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2004, vol. 379, pp. 849–852.
80. Koivikko R., Eränen J.K., Loponen J., Jormalainen V. *Journal of Chemical Ecology*, 2008, vol. 34, pp. 57–64.
81. Tierney M.S., Smyth T.J., Rai D.K., Soler-Vila A., Croft A.K., Brunton N. *Food Chemistry*, 2013, vol. 139, pp. 753–761.
82. Steevensz A.J., Mackinnon S.L., Hankinson R., Craft C., Connan S., Stengel D.B., Melanson J.E. *Phytochemical analysis*, 2012, vol. 23, no. 5, pp. 547–553.
83. Aparna C., Madhavi Latha N., Supriya P., Gowrisankar D. *Asian journal of pharmaceutical and clinical research*, 2015, no. 8, pp. 28–33.
84. Karthik R., Manigandan V., Sheeba R., Saravanan R., Rajaian Rajesh P. *Journal of Applied Phycology*, 2016, no. 28, pp. 3561–3573.
85. Sugiura Y., Matsuda K., Yamada Y., Nishikawa M., Shioya K., Katsuzaki H., Imai K., Amano H. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 2006, vol. 70, no. 11, pp. 2807–2811.
86. Kim D.-H., Eom S.-H., Kim T. H., Kim B.-Y., Kim Y.-M., Kim S.-B. *Journal of Agricultural Science*, 2013, vol. 5, no. 1, pp. 95–103.
87. Parys S., Kehraus S., Krick A., Glombitza K.-W., Carmeli S., Klimo K., Gerhäuser C., König G.M. *Phytochemistry*, 2010, vol. 71, pp. 221–229.
88. Ryu Y.B., Jeong H.J., Yoon S.Y., Park J.-Y., Kim Y.M., Park S.-J., Rho M.-C. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2011, vol. 59, pp. 6467–6473.
89. Gupta S., Abu-Ghannam N. *Trends in Food Science & Technology*, 2011, vol. 22, no. 6, pp. 315–326.
90. Kong C.S., Kim J.A., Yoon N.Y., Kim S.K. *Food Chem. Toxicol.*, 2009, vol. 47, pp. 1653–1658.
91. Li Y., Qian Z.J., Kim M.M., Kim S.K. *J. Food Biochem.*, 2011, vol. 35, pp. 357–369.
92. Hyun K.H., Yoon C.H., Kim R.K., Lim E.J., An S., Park M.J. et. al. *Toxicol Appl Pharmacol.*, 2011, vol. 254, pp. 32–40.
93. Yoon N.Y., Lee S.H., Wijesekara I., Kim S.K. *Fisheries and Aquatic Sciences*, 2011, vol. 14, pp. 179–185.
94. Artan M., Li Y., Karadeniz F., Lee S.H., Kim M.M., Kim S.K. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 2008, vol. 16, pp. 7921–7926.
95. Jung H.A., Oh S.H., Choi J.S. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 2010, vol. 20, pp. 3211–3215.
96. Yoon N.Y., Lee S.H., Kim S.K. *J. Funct. Foods.*, 2009, vol. 1, pp. 331–335.
97. Bae J.-S. *Food and Chemical Toxicology*, 2011, vol. 49, pp. 1572–1577.
98. Lee M.H., Lee K.B., Oh S.M., Lee B.H., Chee H.Y. *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry*, 2010, vol. 53(4), pp. 504–507.
99. Urquiaga I., Leighton F. *Biological Research*, 2000, vol. 33, pp. 55–64.
100. Kim S.-K., Himaya S.W.A. *Advances in Food and Nutrition Research*, 2011, vol. 64, pp. 97–108.
101. Lee S.-H., Jeon Y.-J. *Fitoterapia*, 2013, vol. 86, pp. 129–136.
102. Li Y.-X., Wijesekara I., Li Y. *Process Biochemistry*, 2011, vol. 46, pp. 2219–2224.
103. Sivagnanam S.P., Yin S., Choi J.H., Park Y.B., Woo H.C., Chun B.S. *Marine Drugs*, 2015, vol. 13, pp. 3422–3442.
104. Nagayama K., Iwamura Y., Shibata T., Hirayama I., Nakamura T. *Antimicrob Chemother*, 2002, vol. 50, pp. 889–893.
105. Yeo M., Jung W., Kim G. *Journal of Materials Chemistry*, 2012, vol. 22, pp. 3568–3577.
106. Kim M., Kim G. *Carbohydrate Polymers*, 2012, vol. 90, pp. 592–601.
107. Sprygin V.G., Kushnerova N.F., Fomenko S.E., Sizova L.A., Momot T.V. *Biologiya moria*, 2013, vol. 39, no. 1, pp. 50–54. (in Russ.).

Received March 21, 2017

Revised May 8, 2018

**For citing:** Bogolitsyn K.G., Druzhinina A.S., Ovchinnikov D.V., Kaplitsin P.A., Shulgin E.V., Parshina A.E. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2018, no. 3, pp. 5–21. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.2018031898.

