

ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО ПО ОБРАЗОВАНИЮ
АЛТАЙСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИНСТИТУТ ПРОБЛЕМ ХИМИКО-ЭНЕРГЕТИЧЕСКИХ ТЕХНОЛОГИЙ СО РАН
СИБИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
РОССИЙСКОЕ ХИМИЧЕСКОЕ ОБЩЕСТВО ИМ. Д.И. МЕНДЕЛЕЕВА

НОВЫЕ ДОСТИЖЕНИЯ В ХИМИИ И ХИМИЧЕСКОЙ ТЕХНОЛОГИИ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ

МАТЕРИАЛЫ IV ВСЕРОССИЙСКОЙ КОНФЕРЕНЦИИ

КНИГА 2



Барнаул

Издательство Алтайского
государственного университета
2009

УДК 54(045)

ББК 24я431+35я431

Н 766

Н 766 Новые достижения в химии и химической технологии растительного сырья : материалы IV Всероссийской конференции. 21–23 апреля 2009 г. : в 2 кн. / под ред. Н.Г. Базарновой, В.И. Маркина. – Барнаул : Изд-во Алт. ун-та, 2009. – Кн. 2. – 293 с.

ISBN 978–5–7904–0903–5

В сборнике опубликованы доклады, представленные на IV Всероссийской конференции «Новые достижения в химии и химической технологии растительного сырья». В первую книгу вошли материалы по направлениям работы конференции: «Строение и свойства основных компонентов и тканей в процессах химической переработки растительного сырья»; «Усовершенствование действующих и создание новых технологий химической переработки растительных материалов и их компонентов. Химия и технология целлюлозы и бумаги»; «Экология и химическая переработка растительного сырья».

Во вторую книгу включены доклады по направлению «Состав, строение и свойства низкомолекулярных веществ, в том числе физиологически активных, выделенных из растительного сырья».

Сборник предназначен для работников научно-исследовательских институтов, лабораторий, промышленных предприятий, специализирующихся в области химии и химической технологии растительного сырья, преподавателей вузов, аспирантов и всех, кто интересуется химией растительного сырья.

ББК 24я431+35я431

*Материалы конференции размещены в сети Интернет по адресу:
<http://www.chem.asu.ru/conf-2009/>*



*Информационная поддержка журнала
«Химия растительного сырья»*

ISBN 978–5–7904–0903–5

© Оформление. Издательство Алтайского университета, 2009

НАКОПЛЕНИЕ И СОСТАВ ЭКСТРАКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ ИЗ НАДЗЕМНЫХ И ПОДЗЕМНЫХ ОРГАНОВ ЛЕВЗЕИ САФЛОРОВИДНОЙ*

Н.П. Тимофеев¹, Д.Г. Чухчин²

¹НПП «КХ БИО», Коряжма (Россия) E-mail: timfbio@atnet.ru

²Архангельский государственный технический университет, Архангельск (Россия)
E-mail: dimatsch@mail.ru

Введение. Левзея сафлоровидная – *Rhaponicum carthamoides* (Willd.) Pjin используется в различных отраслях народного хозяйства: в пищевой и фармацевтической промышленности; медицине, технологиях иммунокоррекции, системах жизнеобеспечения и защиты человека в экстремальных условиях; агропромышленном комплексе. Применяются как подземные, так и надземные части растения в виде порошков, отваров, настоев и настоек, жидких и сухих экстрактов. Комплексная биологическая активность продуктов определяется наличием в их составе веществ разных химических классов, извлекаемых в ходе водной и спиртовой экстракции, среди которых ведущую роль играют экидистероиды (в том числе экидистерон, экидизон). Экидистероиды одинаково хорошо извлекаются как в водные, так и спиртовые экстракты [1].

Исходя из анализа литературы, наблюдается большая разница в дозах и активности экидистероидсодержащих субстанций. Разовые дозы экстрактов *R. carthamoides*, достаточные для проявления физиологических эффектов в организме человека и животных, варьируют от 0,035 до 5–20 мг/кг в пересчете на экидистерон [2], а эффективность самого экидистерона уступает по активности исходным экстрактам [3]. Причина здесь может заключаться в неоднородности состава экстрактов, полученных как из разных органов растения и заготовленных в разные фазы развития, так и элиминацией сопутствующих веществ в процессе очистки.

Цели и задачи исследований. Аналитическое исследование лекарственного сырья *R. carthamoides* было проведено нами для выявления закономерностей накопления экстрактивных веществ, относительной их изменчивости в процессе роста и развития растений, а также выявления спектра соединений, близко связанных с экидистероидами.

Методика. Исследовали подземные и надземные части растений *R. carthamoides* среднегенеративного возраста, собранных в разные фазы развития. В составе вегетативных побегов изучали взрослые розеточные листья, отобранные во время отрастания, бутонизации, цветения, плодоношения и повторной вегетации (отава); в составе генеративных – стебли, стеблевые листья, соцветия, венчики, цветоложе и семена (бутонизация–цветение). В составе подземных органов анализировали корневище и придаточные корни (фаза покоя и выход из него).

Растительный материал отбирали в агропопуляции от 20–25 растений, сушили в тени при температуре 20–45 °С, относительной влажности воздуха 25–40%. Средний образец измельчали на электромельнице до частиц размером 2–3 мм. Содержание экстрактивных веществ определяли двумя способами: а) водная экстракция (H₂O-экстракт) на водяной бане в соотношении 1 : 20), б) экстракция 70% этанолом (EtOH-экстракт) в соотношении 1 : 10). Экстракты после фильтрации и промывки сушили при 105 °С (2 ч), охлаждали и взвешивали. Концентрация экстрактивных веществ в образцах приведена в пересчете на сухое вещество.

Анализ состава веществ из экстрактов проводили методом эксклюзионной хроматографии. Сухую навеску испытуемых образцов экстрагировали в течение 24 ч 0,1 М фосфатным буфером (температура 30 °С, гидромодуль

* Работа выполнена при частичной финансовой поддержке Гранта Администрации Архангельской области и РФФИ (№08-04-98840).

15, рН = 6,9, антисептик 0,05% азид натрия). Элюент в течение 10 мин центрифугировали со скоростью 6000 об/мин и использовали для анализа. Оборудование и режимы их работы: хроматограф «Стайер» (г. Москва, НПО «Аквилон»), колонка «Phenomenex» BioSep-SEC-S 3000, размер частиц сорбента – 5 мкм, размер пор – 29 нм, привитая фаза C18, геометрические размеры колонки – 300 × 7,8 мм, объем вводимой пробы 20 мкл, скорость элюирования 1000 мкл/мин, детектор – УФ 280 нм. Калибровку проводили на стандартных образцах свиного тироглобулина, иммуноглобулина А и G, сывороточного и яичного альбумина, миоглобина, экидистерона, парацетамола.

Результаты. Сезонное развитие *R. carthamoides* начинается в конце апреля, когда почки возобновления, зимующие на многолетнем корневище, выходят из фазы покоя и в ходе отрастания разворачиваются в вегетативные побеги, состоящие из розеточных листьев. Через 5–7 дней начинают отрастать генеративные (репродуктивные) побеги. Вначале вегетативные побеги опережают в своем развитии генеративные, их рост во время бутонизации (1–2-я декада июня) замедляется, а затем, во время фазы цветения (3-я декада июня), приостанавливается [4]. Репродуктивные побеги после семеношения (середина июля) отмирают, розеточные же листья новой генерации продолжают вегетировать до наступления постоянных заморозков.

Содержание экстрактивных веществ в различных органах
Rhaponticum carthamoides

Части и органы растений	Фаза развития	H ₂ O-экстракт	EtOH-экстракт
Подземные части:			
Корни придаточные --/--	покой	15,6	17,4
	выход из покоя	22,1	23,2
Корневище	выход из покоя	27,4	12,2
Почки	выход из покоя	21,4	24,4
Вегетативные побеги			
Листья розеточные --/-- --/-- --/-- --/--	отрастание	33,5	19,8
	бутонизация	34,8	27,6
	начало цветения	41,3	30,1
	налив семян	37,4	26,0
	плодоношение	16,9	25,6
--/--	завершение вегетации	44,8	25,9
Генеративные побеги			
Листья стеблевые	бутонизация	39,9	21,1
Стебли --/--	начало цветения	21,7	17,0
	цветение	19,9	13,3
Соцветия (корзинки)	цветение	17,4	26,2
Венчики соцветия	цветение	20,9	23,4
Семена	плодоношение	17,9	18,5
--/--	покой	15,5	14,5

Накопление и концентрация экстрактивных веществ в различных органах тесно связаны с их функцией в жизнедеятельности растения и фазой развития (табл.). Минимальное содержание как водо-, так и спирторастворимых веществ приходится на фазу покоя – 15–17% (корни и семена). Во время выхода из покоя концентрация водорастворимых веществ увеличивается до 22–27%, первоначально в подземных органах (корни и корневища). В почках возобновления, представляющих связывающее звено между подземными и надземными органами, концентрация в начале отрастания 21,4%, а после разворачивания розеточных листьев – 33,5%. Во время активного роста и развития в мае-июне она достигает 35–41%, а затем, после отцветания и формирования семян, резко снижается до 16,9% (фаза плодоношения). В новой генерации активно развивающихся вегетативных побегов (отава) содержание водорастворимых веществ вновь повышенное и составляет 38–45%. В генеративных побегах наблюдается

аналогичная зависимость – максимальная концентрация в стеблевых листьях во время фазы бутонизации (39,9%), в период активного роста и развития. После вступления в фазу цветения и прекращения роста уровень водорастворимых веществ минимален (17–22%).

Спирторастворимые вещества содержатся в меньшей концентрации, чем водорастворимые. Концентрация их в пределах 12–24% для подземных органов, 14–30% для надземных. Синтез и накопление максимальных количеств совпадает с переходом к фазе репродукции (цветение и формирование семян), минимальных – с фазой покоя.

Состав экстрактов. В хроматографическом профиле экстрактов *R. carthamoides* выявлено 14 пиков. По времени выхода сигнала из колонки их можно подразделить на 3 зоны: а) пептиды и белковые соединения – 9,5–11,7 мин; б) экидистероиды – 11,7–12,3 мин; в) низкомолекулярные соединения – 12,7–19,1 мин. Наличие низкомолекулярных белков (3 пика в диапазоне 6–17 kD, 4 пика пептидов в диапазоне 1–3 kD) характерно для зимующих органов (почки и придаточные корни). Для органов, формирующихся в летний период, сигналы этих классов соединений отсутствуют или уровень их носит следовый характер.

Экидистерон ($M = 486$) обнаружен во всех растительных пробах, экидизон ($M = 464$) содержится в стеблевых листьях и практически отсутствует в тканях почек, молодых корней и розеточных листьев. Исходя из соотношения высот пиков, концентрация экидистерона выше в образцах розеточных листьев, собранных в более ранние фазы развития. Качественный состав экидистероидов и относительные их уровни коррелируют с результатами ВЭЖХ-анализа [4].

Для хроматограмм сухого и жидкого экстракта характерно присутствие экидистерона и экидизона, и одновременно отсутствие высоко- и низкомолекулярных соединений, что свидетельствует о происхождении их из экидистероидсодержащих растений, а также о прохождении технологических операций по очистке от сопутствующих веществ.

Из комплекса низкомолекулярных веществ интенсивные 3 пика ($M = 140–200$) характерны для листовых органов, но минимальны в стеблях; вероятнее всего, они участвуют в метаболизме экидистероидов. Известно,

что экидистерон исходно присутствует в растениях не в чистом виде, а в виде конъюгатов с другими, хорошо растворимыми в воде продуктами вторичного обмена веществ: неорганическими (сульфаты, фосфаты) и органическими кислотами (ацетаты, бензоаты, циннаматы), сахарами (глюкозиды, галактозиды, ксилозиды) и т.д. [5]. Легкие фракции во время фазы покоя в корнях и семенах отсутствуют (менее $M = 155$ и 145).

Выводы. Накопление экстрактивных веществ в органах *R. carthamoides* тесно связано с их функцией в жизнедеятельности растения и фазой развития. Минимальный уровень водных экстрактов (12–17%) во время фазы покоя (корни и корневища, семена). Во время выхода из покоя и отрастания происходит насыщение (23–24%). Максимальное количество водорастворимых веществ (35–45%) накапливается в розеточных и стеблевых листьях в период активного роста и развития (бутонизации и повторной вегетации), в условиях прохладной погоды и оптимальной влажности. Повышенный синтез и накопление спирторастворимых веществ (с 12 до 24% для подземных органов, с 14 до 30% для надземных) связан с повышенной температурой воздуха и переходом к репродукции (цветение и формирование семян).

Экидистерон содержится в экстрактах из всех органов растения, концентрация его выше в образцах розеточных листьев, собранных в более ранние фазы развития. В генеративных побегах, развивающихся позднее, дополнительно присутствует и экидизон. Для экстрактов из зимующих органов (почки и придаточные корни) характерны низкомолекулярные пептиды и белки, из летне развивающихся листовых органов – интенсивные пики комплекса низкомолекулярных веществ. Легкие фракции отсутствуют в корнях и семенах во время фазы покоя.

Список литературы

1. Тимофеев Н.П., Лапин А.А., Зеленков В.Н. Оценка качества лекарственного сырья левзеи сафлоровидной методом бромной антиокислительной емкости // Бутлеровские сообщения. 2006. №8(2). С. 35–40.
2. Тимофеев Н.П. Достижения и проблемы в области изучения, использования и прогнозирования биологической активности экидистероидов (Обзор) // Бутлеровские сообщения. 2006. №8(2). С. 7–34.
3. Федоров В.Н., Раков А.А., Смирнов Н.А. и др. Сравнительная эффективность фармакопейных препаратов адаптогенов // Нетрадиционное растениеводство, экология и здоровье. Симферополь, 1997. №6–8. С. 486–487.
4. Тимофеев Н.П., Володин В.В., Фролов Ю.М. Распределение 20-гидроксиэкидизона в структуре биомассы надземной части *Rhaponticum carthamoides* (Willd.) Pjlin // Растительные ресурсы. 1998. №34(3). С. 63–69.
5. Лафон Р. Фитоэкидистероиды и мировая флора: Разнообразие, распространение, биосинтез и эволюция // Физиология растений. 1998. №45(3). С. 326–346.

ИЗМЕНЧИВОСТЬ КАЧЕСТВЕННОГО СОСТАВА ЭКИДИСТЕРОИДОВ В ФИТОМАССЕ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ *RHAPONTICUM CARTHAMOIDES* И *SERRATULA CORONATA**

Н.П. Тимофеев

¹НПП «КХ БИО», Коряжма (Россия) E-mail: timfbio@atnet.ru

Введение. Лекарственные средства и биологически активные добавки на основе экидистероид-синтезирующих растений левзеи сафлоровидной – *Rhaponticum carthamoides* (Willd.) Pjlin (рапонтникум сафлоровидный, маралий корень) и серпухи венценосной – *Serratula coronata* L. используются для профилактики и комплексного лечения сердечно-сосудистых и раковых заболеваний, реабилитации в послеоперационный период, восстановления после тяжелой болезни и химиотерапии, защиты организма человека в условиях действия неблагоприятных и вредных факторов, для коррекции работоспособности и экстренного восстановления после физического и умственного утомления [1–3].

Выделяемые из этих растений фитоэкидистероиды (ФЭС) являются объектами и инструментами современных исследований по клеточной и молекулярной биологии, молекулярной генетике (экидизон-индуцированные системы экспрессии генов), биомедицинской химии, при разработке экологически безопасных инсектицидов селективного действия [4, 5].

Состав мажорных (основных по массовой доле) ФЭС обоих видов одинаков, ими являются 20-гидроксиэкидизон (синонимы: экидистерон, 20-hydroxyecdysone; сокращенно 20E), инокостерон (inokosterone, In), экидизон (ecdysone, E). Если исходить из соотношения активностей, последние два экидистероида в 15 и 148 раз менее активны, чем первый [6].

Знание качественного состава и изменчивости содержания действующих веществ в растениях важно для получения сырья, обогащенного высокоактивными составляющими, как с целью снижения затрат на химиче-

* Работа выполнена при частичной финансовой поддержке Гранта Администрации Архангельской области и Российского Фонда фундаментальных исследований (Грант № 08-04-98840).