

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

что экдистерон 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).

Экдистерон 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 экдизон. 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 экдистероидов (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-гидроксиэкдизона в структуре биомассы надземной части *Rhaponticum carthamoides* (Willd.) Pjin // Растительные ресурсы. 1998. №34(3). С. 63–69.
5. Лафон Р. Фитоэкдистероиды и мировая флора: Разнообразие, распространение, биосинтез и эволюция // Физиология растений. 1998. №45(3). С. 326–346.

ИЗМЕНЧИВОСТЬ КАЧЕСТВЕННОГО СОСТАВА ЭКДИСТЕРОИДОВ 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 экдистероид-синтезирующих растений левзеи сафлоровидной – *Rhaponticum carthamoides* (Willd.) Pjin (рапонтikum 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 фитоэкдистероиды (ФЭС) являются объектами и инструментами современных исследований по клеточной и молекулярной биологии, молекулярной генетике (экдизон-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-гидроксиэкдизон (синонимы: экдистерон, 20-hydroxyecdysone; сокращенно 20E), инокостерон (inokosterone, In), экдизон (ecdysone, E). Если исходить из соотношения активностей, последние два экдистероида 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).

скую его переработку при получения продуктов высокой степени очистки, так и для оптимизации терапевтических доз в медицине при использования экстрактов, настоев и настоек из фитомассы.

Задачами наших исследований явились: изучение биосинтеза экидистероидов различной физиологической активности в онтогенезе агропопуляций *R. carthamoides* и *S. coronata*, установление изменчивости качественного состава экидистероидов в лекарственном сырье, исходя из возрастных состояний жизненного цикла и фаз сезонного развития.

Методика. Исследования вели в агропопуляциях *R. carthamoides* и *S. coronata*, в период с 1989 по 2007 г. (площадь 4 и 1 га), расположенных в подзоне средней тайги Европейского Северо-Востока (Архангельская область). Почвы супесчаные дерново-подзолистые, средней окультуренности (pH_{KCl} 6,4–6,5; гумус 1,5–3,6). Климат умеренно-прохладный, средняя температура января $-14,3$ °С, июля $+17,4$ °С. Сумма температур свыше $+5/+10$ °С составляет $1936/1577$ °С, свыше 15– 911 °С. Тип водного режима промывной. За год выпадает 495–538 мм осадков, в том числе за теплый период 367–387 мм. Коэффициент увлажнения – 1,5. Во время культивирования минеральные и органические удобрения, химические средства защиты и регуляторы роста растений не применялись.

Биологический возраст растений устанавливали по методу полного онтогенеза. Отмечали основные фазы развития: отрастание, стебление, бутонизацию, начало цветения, массовое цветение, плодоношение, отмирание. Образцы вегетативных побегов отбирали от 20–25 растений (по 2 листа), генеративных – от 12–15 особей (по 7–8 метамеров длиной 25–30 см). Сушку проводили при переменной температуре от 23–25 до 35–40 °С, относительной влажности воздуха 25–40% (остаточная влажность 8–10%). Образцы формировали методом квартования.

Динамику ФЭС отслеживали по возрастным периодам и возрастным состояниям агропопуляций. Концентрацию экидистероидов в образцах исследовали методом обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии (ОФ-ВЭЖХ), с компьютерной обработкой данных по методу внутреннего стандарта. Анализы выполнялись в биохимической лаборатории Ботсада Института биологии Коми НЦ УрО РАН. Содержание ФЭС пересчитано на воздушно-сухое вещество. Точность обнаружения индивидуальных соединений – абсолютная концентрация не менее 0,001%. Изменчивость накопления в органах растений во время развития изучали, исходя из соотношения 20Е, In/E.

Результаты. Состав экидистероидов в фитомассе *R. carthamoides*. Исходя из результатов наших исследований, качественный состав ФЭС и соотношение между индивидуальными экидистероидами в фитомассе растений не является постоянным и меняется как в ходе жизненного цикла, так и во время прохождения вегетационного периода. У *R. carthamoides* до вступления в генеративный период состав мажорных экидистероидов представлен только высокоактивным 20-гидроксиэкидизоном (рис. 1). В вегетативных побегах молодых генеративных растений появляется малоактивный инокостерон, а у средне- и старогенеративных – слабоактивный экидизон. Долевое участие экидизона резко возрастает во время развития репродуктивных органов – с 1,5 до 4,7% во время фазы бутонизации, и далее до 13,3% во время фазы цветения у стареющих растений.

В генеративных побегах качественный состав ФЭС меняется аналогичным образом. В стеблевых листьях при отрастании содержатся следовые количества инокостерона (1,6%), во время цветения массовая его доля увеличивается до 18,2–20,7%. Экидизон в начале вегетации не обнаружен, во время цветения долевое участие составляет 9,1%, увеличиваясь во время налива семян и плодоношения до 17,8–18,7%. Состав ФЭС в семенах отражает закономерности возрастной их изменчивости в листьях – у молодых генеративных растений присутствует только 20-гидроксиэкидизон, у стареющих появляются инокостерон и экидизон. Массовая доля последних значительно возрастает у старых субсенильных растений (с 1,9 до 22,4% для инокостерона, с 0,6 до 3,5% для экидизона).

Во время возрастных изменений в онтогенезе и сезонного развития при прохождении вегетационного периода в генеративных побегах уменьшается долевое участие наиболее активных и накапливаются слабо- и малоактивные соединения. Органы взрослых генеративных растений *R. carthamoides* содержат следовые количества экидистероида инокостерона (0,9–2,5% долевого участия), в них не был обнаружен экидизон.

В репродуктивных побегах в онтогенезе происходит накопление инокостерона и экидизона. Соотношение 20-гидроксиэкидизона к экидизону (20Е/Е) при этом изменяется следующим образом: у отрастающих растений оно близко к 1000 : 1, ко времени цветения убывает и сужается до 20–6 : 1, а к началу плодоношения до 3–4 : 1.

Состав экидистероидов в фитомассе *S. coronata*. У *S. coronata* изменчивость состава ФЭС в генеративных побегах также связана с возрастными изменениями. Как и у *R. carthamoides*, в стеблевых листьях наряду с экидистероидом 20-гидроксиэкидизоном присутствует инокостерон. Экидизон начинает синтезироваться в начале генеративного периода (рис. 2), долевое участие его увеличивается во время развития в онтогенезе с 1,7% (у молодых генеративных) до 11,7% (у стареющих растений). У одновозрастных растений концентрация экидизона увеличивается во время прохождения вегетационного периода. Например, в период с 25 мая по 3 июня, во время перехода генеративных побегов к фазе стеблевания, массовая доля слабоактивного *ecdysone* в апикальных метамерах возрастает с 4,3 до 9,3%.

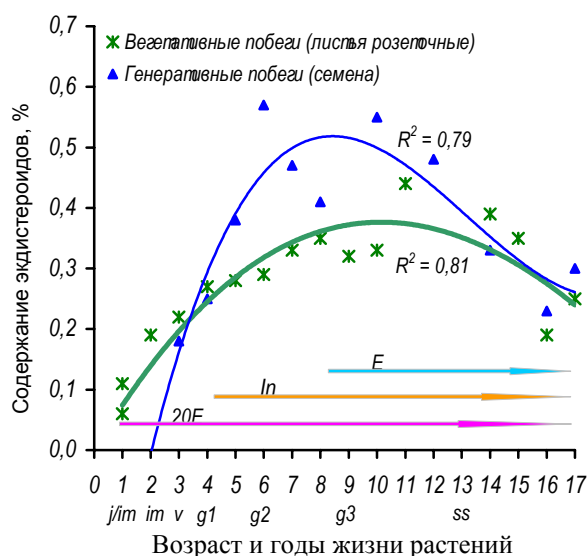


Рис. 1. Динамика накопления ФЭС *R. carthamoides*

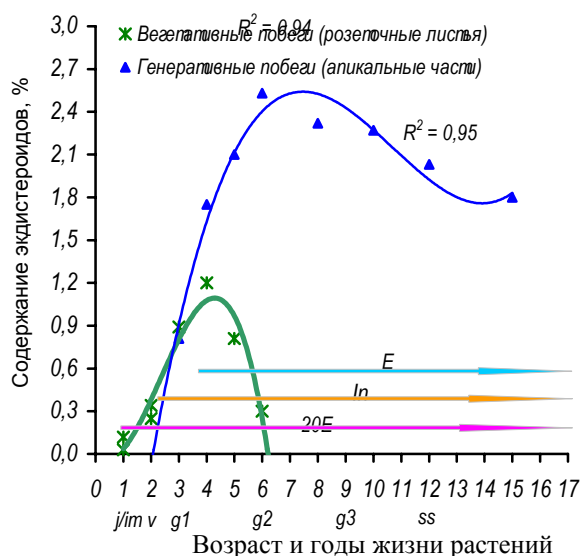


Рис. 2. Динамика накопления ФЭС *S. coronata*

Примечания. Возрастные состояния: *im* – имматурное; *v* – виргинильное; *g1*, *g2*, *g3* – молодое, взрослое и старое генеративное; *ss* – субсенильное. ФЭС – фитозэкистероиды: 20E – 20-hydroxyecdysone, In – inokosterone, E – ecdysone. Линии на рис. 1, 2 – сглаженные кривые аппроксимации данных, R^2 – величина их достоверности.

Соотношение 20-гидроксиэкидизон к экидизону (20E/E) по фазам развития изменяется следующим образом: во время отрастания оно близко к 1000 : 1; во время стеблевания-бутонизации уменьшается до 20–9 : 1; во время цветения-плодоношения составляет 9–6 : 1.

Вызревающие семена являются акцепторами экистероидов из донорных органов, при этом происходит транспорт и перераспределение их из листовых органов через стебли. Как следствие, состав ФЭС и долевое участие экидизона в семенах (8,9%) во время плодоношения, в начале сентября, был подобен составу и соотношению экистероидов в генеративных побегах во время бутонизации-цветения в июне-июле.

Выводы. Биохимический состав фитозэкистероидов в растениях непостоянен во времени и меняется как по сезонным фазам развития, так и по возрастным периодам онтогенеза. С прохождением фенофаз и возрастных состояний в онтогенезе уменьшается долевое участие физиологически активного экистероида 20-гидроксиэкидизона, и накапливаются менее активные соединения инокостерон и экидизон.

В прегенеративном периоде у *R. carthamoides* присутствует только высокоактивный экистероид 20-гидроксиэкидизон, у *S. coronata* в небольших количествах синтезируется и малоактивный инокостерон. Слабоактивный экидизон начинает синтезироваться у среднегенеративных растений, долевое участие его резко возрастает во время формирования и развития репродуктивных органов, особенно у старогенеративных растений во время фазы цветения и плодоношения. Следствием изменчивости биохимического состава фитозэкистероидов в растениях может быть неоднозначное проявление биологической активности в медицине, что важно для их стандартизации с целью последующего использования в качестве лекарственных средств или в молекулярной генетике в системах экспрессии генов.

Список литературы

1. Тимофеев Н.П. Достижения и проблемы в изучении биологии лекарственных растений *Rhaponticum carthamoides* (Willd.) Iljin и *Serratula coronata* L. (Обзор) // Сельскохозяйственная биология. 2007. №3. С. 3–17.
2. Маслов Л.Н., Гузарова Н.В. Кардиотропные и антиаритмические свойства препаратов *Leuzea carthamoides*, *Aralia mandshurica*, *Eleutherococcus senticosus* // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2007. №70(6). С. 48–54.
3. Gaube F., Wolf S., Pusch L., Werner U., Kroll T.C., Schrenk D., Hartmann R.W., Hamburger M. Effects of *Leuzea carthamoides* on Human Breast Adenocarcinoma MCF-7 Cells Determined by Gene Expression Profiling and Functional Assays // *Planta Med.* 2008. №74(14). P. 1701–1708.
4. Bathori M., Pongracz Z. Phytoecdysteroids – From Isolation to Their Effects on Humans // *Current Medicinal Chemistry.* 2005. №12. P. 153–172.
5. Dinan L., Lafont R. Effects and applications of arthropod steroid hormones (ecdysteroids) in mammals (Review) // *J Endocrinology.* 2006. V. 191. P. 1–8.
6. Тимофеев Н.П. Достижения и проблемы в области изучения, использования и прогнозирования биологической активности экистероидов (Обзор) // Бултеровские сообщения. 2006. №8(2). С. 7–34.

Научное издание

**НОВЫЕ ДОСТИЖЕНИЯ В ХИМИИ И ХИМИЧЕСКОЙ
ТЕХНОЛОГИИ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ**

*МАТЕРИАЛЫ
IV ВСЕРОССИЙСКОЙ КОНФЕРЕНЦИИ*

КНИГА 2

Редактор: Е.М. Федяева

Подготовка оригинал-макета: В.И. Маркин, И.Б. Катраков

Подписано в печать 30.03.2009. Формат 60 × 84/8. Бумага типографская. Печать
офсетная. Усл. печ. л. 35,5. Тираж 200 экз. Заказ 118

Типография Алтайского государственного университета:
656049, г. Барнаул, ул. Димитрова, 66