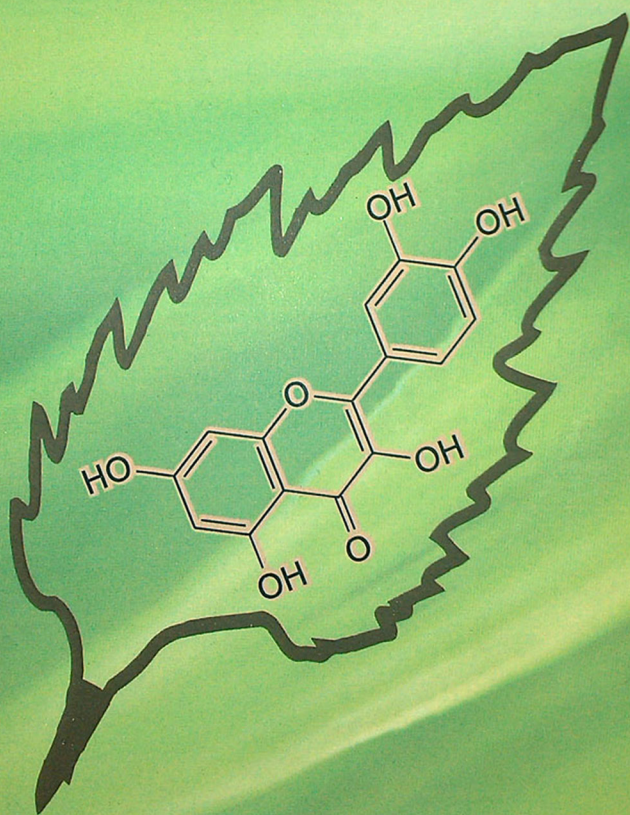


РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК

ФЕНОЛЬНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ:

ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ
И ПРИКЛАДНЫЕ АСПЕКТЫ



Москва, 20-25 апреля 2015 года

МАТЕРИАЛЫ IX МЕЖДУНАРОДНОГО СИМПОЗИУМА

Федеральное агентство научных организаций России
Российская академия наук
Отделение биологических наук Российской академии наук
Научный совет по физиологии растений и фотосинтезу
Российской академии наук
Общество физиологов растений России

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева
Российской академии наук

**ФЕНОЛЬНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ:
ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ
И ПРИКЛАДНЫЕ АСПЕКТЫ**

**СБОРНИК МАТЕРИАЛОВ
IX МЕЖДУНАРОДНОГО СИМПОЗИУМА**

Москва, 20-25 апреля 2015 года

Москва
2015

УДК 581.198; 542.943

ББК 28.072

Ф 42

Издается по решению

Ученого совета ИФР РАН

Фенольные соединения: фундаментальные и прикладные аспекты:

Сборник материалов IX Международного симпозиума. Москва,

20-25 апреля 2015 г. / отв. ред. Н.В. Загоскина. - М.:

ИФР РАН, 2015. 849 с.

В сборнике представлены материалы докладов IX Международного Симпозиума «Фенольные соединения: фундаментальные и прикладные аспекты» (Москва, 20-25 апреля 2015 г.). Отражены основные достижения в области изучения фенольных соединений, их структуры, биологической активности, распространения и функциональной роли в высших растениях, биосинтеза различных соединений фенольной природы и его изменений при стрессовых воздействиях.

Рассматриваются вопросы про- и антиоксидантной активности фенольных соединений, участия в свободнорадикальных процессах, защите от окислительного стресса. Значительное внимание уделено практическому использованию фенольных соединений в фармакологии и медицине.

Для широкого круга специалистов в области физико-химической биологии, физиологии и биохимии растений, экологии, фармакогнозии, а также преподавателей, аспирантов, магистров и бакалавров биологических и близких к ним специальностей.

Материалы публикуются в авторской редакции с согласия авторов.

Редакционная коллегия:

Н.В. Загоскина, П.В. Лапшин, Е.А. Гончарук, Т.Л. Нечаева, Т.Н. Николаева

Проведение IX Международного симпозиума «Фенольные соединения: фундаментальные и прикладные аспекты» проводится при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 15-04-2-151-Г).



ISBN 978-5-9906617-8-3

УДК 581.198; 542.943

ББК 28.072

© Коллектив авторов, 2015

© ФГБУН Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, 2015

ОРГАНИЗАЦИОННЫЙ КОМИТЕТ

Загоскина Н.В., д.б.н., проф. (Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва) – **председатель**

Тюкавкина Н.А., д.х.н., проф. (Московская медицинская академия им. И.М. Сеченова, Москва) – **сопредседатель**

Булгаков В.П., д.б.н., член-корр. РАН (Биолого-почвенный институт ДВО РАН, Владивосток)

Бурлакова Е.Б., д.б.н., проф. (Институт биохимической физики им. Н.М. Эммануэля, Москва)

Куркин В.А., д.б.н., проф. (Самарский государственный медицинский университет Минздрава России, Самара)

Литвиненко В.И., д.х.н., проф. (Государственный научный центр лекарственных средств, Харьков, Украина)

Маргна У.В., д.б.н., академик Эстонской АН (Таллинн, Эстония)

Мошков И.Е., д.б.н. (Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва)

Носов А.В., д.б.н. (Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва)

Носов А.М., д.б.н., проф. (Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва)

Осипов В.И., д.б.н. (Университет города Турку, Финляндия)

Лапшин П.В., к.б.н. (Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва) – **ученый секретарь**

ПРОГРАММНЫЙ И ОРГАНИЗАЦИОННО-ТЕХНИЧЕСКИЙ КОМИТЕТ

Загоскина Н.В., д.б.н., проф.
Тюкавкина Н.А., д.х.н., проф.
Бурлакова Е.Б., д.б.н., проф.
Носов А.М., д.б.н., проф.
Мошков И.Е., д.б.н.

Гончарук Е.А., к.б.н.
Нечаева Т.Л.
Николаева Т.Н.
Казанцева В.В.
Лапшин П.В., к.б.н.

ПРЕДИСЛОВИЕ

Проводимый в 2015 г. IX Международный симпозиум «Фенольные соединения: фундаментальные и прикладные аспекты» является очередным в серии этих традиционных научных мероприятий по проблемам физиологии, биохимии и химии фенольных соединений, история которых насчитывает уже почти 50 лет. Первый Всесоюзный симпозиум по фенольным соединениям был организован академиком А.Л. Курсановым и проф. М.Н. Запрометовым и проведен в Москве в Институте физиологии растений им. К.А. Тимирязева АН СССР в 1966 г. Его целью являлось объединение химиков, биологов, физиологов, технологов, фармакологов и клиницистов, работающих в этой быстро развивающейся и нужной для государства области науки. В дальнейшем этот научный форум стал регулярным и проходил в Казахстане (Алма-Ата, 1970) на базе Института ботаники АН КазССР и Казахского государственного университета, Грузии (Тбилиси, 1976) - Институт биохимии растений АН ГССР и Институт фармакогнозии им. И.Г. Кутателадзе АН ГССР, Узбекистане (Ташкент, 1982) – Институт биоорганической химии АН УзССР и Институт экспериментальной биологии растений АН УзССР, Эстонии (Таллин, 1987) – Институт экспериментальной биологии АН ЭССР. После достаточно длительного перерыва он вновь вернулся в свою альма-матер – Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук, где и проходит в последнее десятилетие (2004, 2009, 2012 и 2015 гг.).

Интерес к фенольным соединениям в настоящее время огромен, что в значительной степени обусловлено их высокой биологической активностью. Растительные полифенолы успешно используются в фармакологии в качестве веществ, обладающих капилляроукрепляющей, нейрорегуляторной, иммуномодулирующей и противоопухолевой активностью. Многие флавоноиды, которые в настоящее время все чаще называют «биофлавоноидами», способны нормализовать проницаемость капилляров и служить синергистами витамину С.

Фенольные соединения растительного происхождения чрезвычайно разнообразны по своей структуре и свойствам. Они участвуют в процессах дыхания, фотосинтеза, формирования клеточных стенок, трансдукции энергии света, адаптации и защиты растений от многих стрессовых воздействий. Отмечена и их рост-регулирующая активность.

Несмотря на значительные успехи, достигнутые в изучение структуры фенольных соединений, их накопления и распределения

в тканях и органах растений, биологической активности, участия в регуляции различных процессов, до сих пор остается «неразгаданной» функциональная значимость огромного разнообразия этих вторичных метаболитов.

В настоящем издании представлены материалы исследований по основным направлениям физиологии и биохимии фенольного метаболизма, химии фенольных соединений, биологической активности этих веществ, а также медико-биологическим и технологическим аспектам применения полифенолов, полученные как ведущими, так и молодыми учеными, аспирантами и студентами. Большинство из них являются новыми, отражающими уровень и состояние фундаментальных и прикладных исследований в области фенольного метаболизма, а также практического применения этих природных веществ.

РАЗДЕЛ 1.

ФЕНОЛЬНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ И ИХ БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ (СТРУКТУРА, РЕАКЦИОННАЯ СПОСОБНОСТЬ, ФИЗИКО- ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА)

ПЕРСПЕКТИВНЫЕ НОВЫЕ ПОЛИФЕНОЛЫ ИЗ РАСТЕНИЙ УЗБЕКИСТАНА

**Абдулладжанова Н.Г., Мавлянов С.М., Салихов Ш.И.,
Зиявитдинов Ж.Ф., Карамов Э.В.¹**

Институт биоорганической химии Академии наук Республики Узбекистан,
Ташкент, Узбекистан, тел.: (8371) 262-99-62, e-mail: ibchem@uzsci.net

¹ФГУ НИИ вирусологии им. Д.И.Ивановского, Москва, Россия, (7499) 190-30-48, karamov2004@yandex.ru

Всестороннее и глубокое изучение состава и биологической активности фенольных соединений, в частности гидролизируемых и конденсированных танинов из местного растительного сырья с целью создания на их основе эффективных лекарственных средств является одной из актуальных задач химии природных соединений.

Метаболизм фенольных соединений растений считается сложным процессом, по ходу этого процесса образуются ряд соединений - от естественных пигментов (антоцианидинов) до сложных, считающихся стенкой клеток, фенольных веществ (лигнинов). Однако по химическим свойствам и биологической активности танины резко отличаются от других классов фенольных соединений. Хорошо известно их широкое применение при лечении таких болезней, как воспаление желудка, дизентерия, ингибирование свободнорадикальных реакций, протекающих в организме под воздействием внешних отрицательных факторов и др.

Институт Биоорганической химии АН РУз в сотрудничестве с ГНЦ «Институт иммунологии федерального медико-биологического агентства» МЗ РФ, НИИ вирусологии им. Д.И.Ивановского РАМН, Института вирусологии МЗ РУз и Республиканского патолого-анатомического центра на протяжении многих лет ведет исследовательские работы над созданием и производством лекарственных средств, оказывающих эффективное воздействие против ВИЧ и гриппа. В результате скрининга более 100 фенольных соединений, выделенных из местного растительного сырья выявлено, что высокой антивирусной активностью обладают вещества из представителей семейства Euphorbiaceae. Для продолжения поисков в этом направлении и создания эффективных лекарственных средств на их основе, целесообразно изучение химического состава новых представителей этого семейства, богатого полифенолами и выявление среди них наиболее активных соединений.

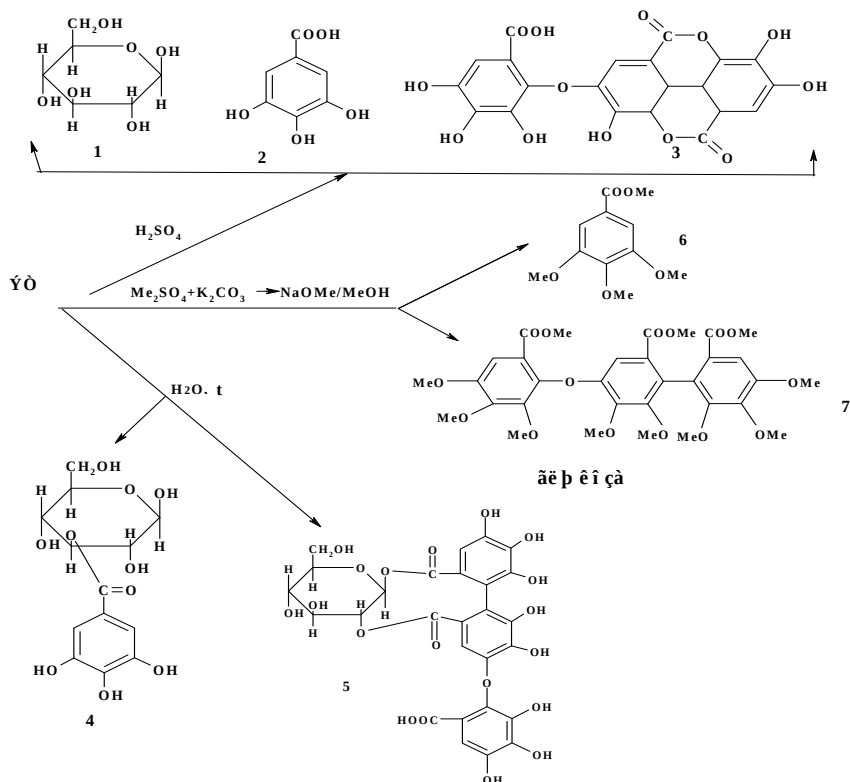


Схема 1. Химические превращения зифурбина 3

В качестве объекта исследования взяты 29 видов растений рода *Euphorbia* (зифурбия, млочай), входящих в сем. *Euphorbiaceae* и произрастающих в Узбекистане [1]. Последовательной экстракцией различных органов растений (корни, листья, стебли) хлороформом, 70%-ным водным ацетоном, сгущением водно-ацетоновых фракций под вакуумом, многократной обработкой водных остатков этилацетатом, перегонкой этилацетатных фракций, добавлением к сгущенным экстрактам гексана, выделены суммы полифенольных соединений. Выявлено, что полифенолы накапливаются в основном, в корнях растений, где их количество колеблется в пределах 2.1% - 13.2%, в листьях 1.88 % - 6.67%, а в стеблях 0.03% - 3.0%. Хроматографированием суммы полифенолов корней растений на колонках с использованием различных систем растворителей выделены индивидуальные соединения [2]. Из всех изученных видов растений

выделено более 70 соединений фенольной природы, некоторые из которых оказались новыми, ранее не описанными в литературе веществами. Ранее было сообщено о выделении 2 новых соединений из растений рода *Euphorbia* [3]. Продолжая исследование танинов растений этого семейства, нами выделены ряд новых веществ.

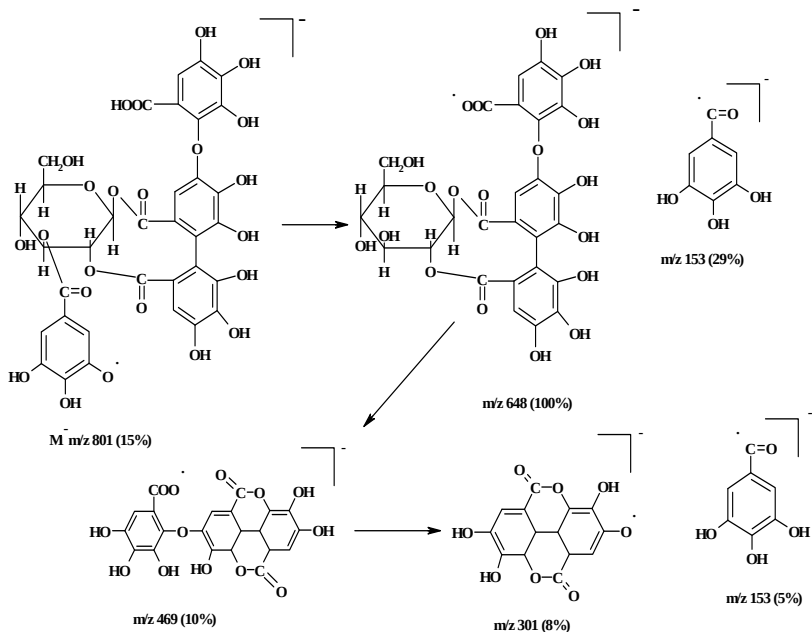
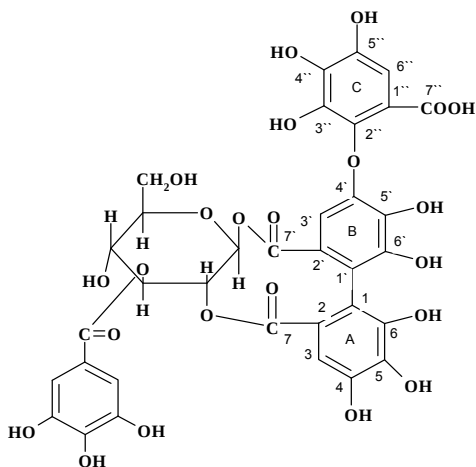


Схема 2. Возможные пути фрагментации эуфорбина-3

Эуфорбин 3- выделен из растения *E. helioscopia* L., желтый аморфный порошок, R_f 0.38 (бутанол-уксусная кислота-вода, 40:12:28). УФ-спектр (λ_{max} , нм, MeOH): 220 ($\lg \epsilon$ 4.50), 270 ($\lg \epsilon$ 3.49). В продуктах кислотного гидролиза с 5% H_2SO_4 обнаружены глюкоза (1), галловая (2) и дилактон валониевой кислоты (3). В продуктах ступенчатого водного гидролиза обнаружены 3-О-галлоилглюкоза (3) и 1,2-валонеилглюкоза (4) (схема 1). Метилирование вещества с диметилсульфатом и безводным K_2CO_3 приводит к образованию перметилата, после щелочного гидролиза метанольным раствором метоксида натрия образовались метил три-О-метилгаллат (6) (ТСХ, R_f 0.75, система растворителей-3: бензол-ацетон 4:1) и триметил-окта-О-метил-валониевой кислоты (7) (ТСХ, R_f 0.27, система-3: бензол-ацетон 4:1)

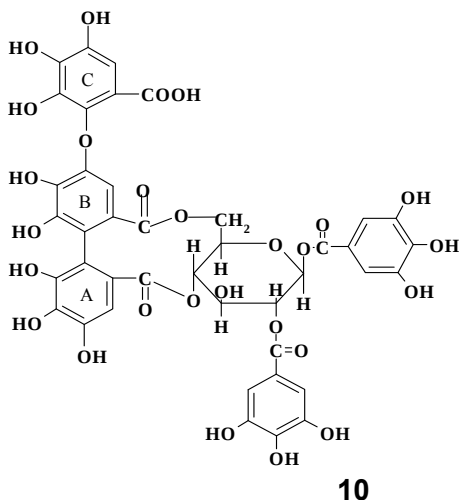
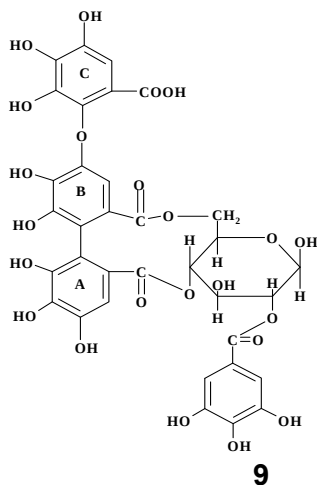
Масс-спектрометрические исследования эуфорбина 3 также проводили на масс-спектрометре Q-TOF LC-MS, в условиях отрицательной ионизации. Полученные результаты приведены на схеме 2. Как видно схемы, наличие в масс-спектре сигнал молекулярного иона с m/z 801 ($[M-H]^-$) и интенсивных осколочных ионных сигналов с m/z 153, 469, образованного при распаде свидетельствует о том, что в составе эллаготаннина содержится галлоильная и валонеильная группа. Это указывает на разрыв сложноэфирной связи между глюкозой и галлоильной группой, который и согласуется с литературными данными. Вторичный ион с m/z 648 далее расщепляется на фрагменты с m/z 469. Наличие в масс-спектре интенсивного осколочного ионного сигнала с m/z 469, образованного при распаде вторичного иона с m/z 648 свидетельствует о том, что в составе эуфорбина 3 содержится валонеильная группа, соответствующая молекулярной формуле $C_{21}H_{10}O_{13}$.



8

Обобщая все данные спектров и химических деструкций, а также определяя молекулярную массу, сравнивая их литературными данными, химическое строение вещества определено как 3-О-галлоил-1,2-валонеил-β-D-глюкопираноза (8).

Аналогичным путем из растений *E. turkestanica* Rgl, *E. jaxartica* Prokh. выделены новые соединения, структура которых определена как 2-О-галлоил-4,6-валонеил-β-D-глюкоза (9), 1,2-ди-О-галлоил-4,6-валонеил-β-D-глюкоза (10).



В задачи наших исследований входило провести оценку цитотоксических и анти-ВИЧ свойств соединений с различной химической структурой с последующим определением механизма действия наиболее эффективных соединений. В результате этих исследований было выявлено что эуфорбин 1, эффективно ингибирует ВИЧ-инфекцию, ED_{50} 0.29, индекс селективности IS 1034. Совокупность полученных данных позволяет сделать заключение о том, что на их основе возможно создание эффективных лекарственных средств противовирусного действия [5].

Список литературы:

1. Абдулладжанова Н.Г., Мавлянов С.М., Далимов Д.Н. Полифенолы некоторых растений сем.Euphorbiaceae.// Химия природ. соедин.2003, с.322-323.
2. Абдулладжанова Н.Г., Мавлянов С.М., Салихов Ш.И., Камаев Ф.Г.. Гидролизуемые танины растений рода *EUPHORBIA*.// Биологические активные вещества: фундаментальные и прикладные вопросы получения и применения. 2011 г. 23-28 май, Новый Свет, АР Крым, Украина, с.235-236
3. Абдулладжанова Н.Г., Мавлянов С.М., Зиявитдинов Ж.Ф., Салихов Ш.И. Масс-спектрометрический метод установления структур новых эллаготаннинов сем. Euphorbiaceae// VIII Международный симпозиум «Фенольные соединения: фундаментальные и прикладные аспекты», 2-5 октябрь, 2012г., Москва, с. 6-11.
4. Салихов Ш.И., Мавлянов С.М., Абдулладжанова Н.Г., Карамов Э.В. Полифенолы растений Центральной Азии и создание на их основе

-
- препаратов противовирусного действия// Актуальные проблемы биоорганической химии, ИБОХ, Ташкент. 2013, 15-16 ноябрь, с.65.
5. Патент UZ № IAP 04666 от 23.03.2013. Салихов Ш.И., Мавлянов С.М., Карамов Э.В. «Средство, проявляющее анти-ВИЧ-активность».
-

ИССЛЕДОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ ЭКСТРАКТА *SAUSSUREA CONTROVERSA*, ОБЛАДАЮЩЕГО ИММУНОМОДУЛИРУЮЩЕЙ АКТИВНОСТЬЮ

Авдеева Е.Ю., Краснов Е.А.

ГБОУ ВПО Сибирский государственный медицинский университет, Томск,
Россия, (3822) 533309, e-mail: elenaavdeev@yandex.ru

Соссюрея спорная (*Saussurea controversa* DC, Asteraceae) – многолетнее травянистое растение высотой 25-100 см. Оно распространено в Европейской части России, Западной и Восточной Сибири, Бурятии, Туве, Хакасии [1]. Несмотря на популярность этого вида в народной медицине, его химический состав и биологическая активность мало изучены [2].

Цель настоящей работы состояла в изучении компонентного состава экстракта *S.controversa*, проявляющего иммуномодулирующую активность [3,4].

В работе использовали высушенную надземную часть *S.controversa*, собранную в фазу цветения в Иркутской области в 2011 г. Для получения экстракта измельченное сырье (2-4 мм, влажность $6,3 \pm 0,2\%$) трижды экстрагировали 40% водным этанолом при 80 °С на водяной бане в колбе с обратным холодильником в течение 1 ч. Извлечения объединяли, фильтровали и концентрировали под вакуумом при температуре не выше 50 °С. При этом выпадал белый аморфный осадок (SC-1), который отфильтровывали, очищали и высушивали.

Затем из сконцентрированного экстракта последовательно получали ряд фракций: хлороформную, этилацетатную, бутанольную и водную. Как видно из табл., наибольший выход имеют водная, бутанольная фракции и осадок SC-1, представляющие интерес для дальнейшего исследования.

Ранее из этилацетатной фракции нами выделены эскулетин, кофейная кислота и флавонолы (кверцетин, кемпферол) [5]. Из бутанольной фракции получен ряд флавонолгликозидов: рутин, гиперозид, кверцетин-3-глюкогалакторамнозид, кверцетин-

3,5-глюкоксилозид, кверцетин-3,5-глюкорамнозид и два гликозида мирицетина – мирицитрин и изомирицитрин, а из водной фракции - кемпферол-3,5,7-триглюкозид [6].

Таблица.
Фракции водно-этанольного экстракта *S.controversa*

Фракции	Характеристика	Выход от массы, %	
		экстракта	сырья
Хлороформная	зелено-коричневая густая масса	0,36	0,12
Этилацетатная	порошок темно-коричневого цвета	2,20	0,73
Бутанольная	порошок желто-коричневого цвета	6,50	2,13
Водная	порошок коричневого цвета	83,75	27,50
SC-1	аморфный порошок белого цвета	7,19	2,82

Для разделения водной фракции, при добавлении к ней четырехкратного объема 96% этанола, выделяли полисахариды (выход 21,0% от фракции). В результате гидролиза полисахаридов с ТФУ и анализа гидролизата методом БХ (бутанол-пиридин-вода 6:4:3, детектор – раствор анилинфталата в бутаноле (105 °С, 5 мин) выявлен их мономерный состав: D-глюкоза, L-арабиноза и D-галактоза.

Полученный водно-этанольный раствор упаривали до водного остатка и с помощью ацетона выделяли белый кристаллический порошок (SC-2, выход 5,5%) и коричневый аморфный осадок (SC-3, выход 21,5%). Ацетоновый раствор упаривали (выход 52,0 %).

В SC-3 хроматографически с достоверными образцами идентифицированы аминокислоты: гистидин, аргинин, треонин, валин, лизин и глицин.

SC-2 очищали хроматографией на колонке с полиамидом при элюировании водой. Полученное соединение хроматографически однородно (т.пл. 238-240 °С), в результате БХ в системе БУВ(4:1:5) R_f 0,16; в системах 5% и 15% кислоты уксусной R_f 0,90 и 0,82 соответственно. При детекции в УФ-свете имеет светло-коричневое, с раствором нингидрина – сиреневое, а диазореактивом – желтое окрашивание. λ_{max} 300 нм, плечо 309 – 325 нм. (MeOH). ИК-спектр (KBr), cm^{-1} : 3436 (ОН); 3069 (NH₂...H связь); 1702 (C=O, сл. эфир. связь); 1642 (COOH); 1606, 1579 (бенз.

кольцо); 1403, 1360; 1122, 1102, 1069 (втор. ОН); 960, 914. Таким образом, соединение SC-2, вероятно, является фенольным аминопроизводным.

Большой интерес для исследования представляет вещество SC-1, имеющее довольно значительный выход. Обращает на себя внимание его высокая зольность (35%), представленная ионами кальция, натрия, цинка, брома и серебра, преобладающими в надземной части *S. controversa* [7]. Вещество не растворимо в воде, этаноле, метаноле, хлороформе, растворимо в разбавленной кислоте хлористоводородной. В осадке SC-1 не выявлено наличие белков, аминокислот, резервных углеводов, а получена положительная цианидиновая реакция по Брианту на флавоноиды. После прибавления к раствору SC-1 нескольких капель аммония оксалата, выпадал обильный белый осадок, что характеризует наличие солей кальция. Проведенные исследования дают возможность предположить, что неорганические компоненты, в частности ионы кальция в веществе SC-1 связаны с флавановыми или флавоновыми производными.

Таким образом, в составе экстракта *Saussurea controversa* DC, проявляющего иммуномодулирующую активность, нами установлено наличие кумаринов, фенолокислот, широкого набора флавонолгликозидов и аминокислот, а также значительное количество неорганических компонентов.

Список литературы.

1. Липшиц, С.Ю. Под *Saussurea* DC. (Asteraceae) // Л.: «Наука», 1979. 283 с.
2. Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование; Семейства Hydrangeaceae – Haloragaceae. Л., 1987. 326 с.
3. Krasnov E.A., Avdeeva E.Yu., Gorina Y.V., Sherstoboev E.Yu. The composition of biological active substances and pharmacological activity of perspective species flora of Siberia // 4th Annual Russian-Korean Conf. «Current Issues of Nat. Prod. Chemistry and Biotech.». Novosibirsk, 2012. P. 37.
4. Semenov A.A. Natural Immunomodulators from Siberian Plants // Int. conf. on Nat. Prod. and Physiol. Activ Subst. Novosibirsk, 1998. P.11.
5. Авдеева Е.Ю., Краснов Е.А., Семенов А.А., Соколова С.Н. Исследование фенольных соединений соссуреи спорной // «Новые достижения в химии и химической технологии растительного сырья»: материалы V Всеросс. конф. с междунар. участием. Барнаул, 2012. С. 259-260
6. Е.Ю. Авдеева, Е.А. Краснов, А.А. Семенов, А.Ф. Хусаинова. Исследование флавонолгликозидов соссуреи спорной. Матер. всерос.

науч. конф. «Химия и фармакология растительных веществ». Сыктывкар, 2014. С. 5-6.

7. Авдеева Е.Ю., Краснов Е.А. Исследование элементного состава сосиски спорной // «Актуальные проблемы современной науки»: матер. трудов участников 11-ой междунар. телеконф. 2013. Т.2, №2. С.102-103.
-

КОНЪЮГАТЫ ХИТОЗАНА С ФЕНОЛЬНЫМИ АНТИОКСИДАНТАМИ РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ: СТРУКТУРА-СВОЙСТВА

Александрова В.А.¹, Домнина Н.С.²

¹ФГБУН Институт нефтехимического синтеза им. А.В.Топчиева РАН, Москва, Россия, тел.: 8 (495) 955-43-60, e-mail:alexandrova@ips.ac.ru

²ФГБУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет Институт химии, Санкт-Петербург, Россия, тел.: 8 (812) 428-68-40, e-mail: ninadomnina@mail.ru

Длительное воздействие неблагоприятных факторов окружающей среды сопровождается накоплением повреждений ДНК, что может привести к возникновению мутаций и злокачественной трансформации клетки.

В последнее время наблюдается повышенный интерес к исследованиям антиоксидантов растительного происхождения, в том числе фенольной природы, что обусловлено их благоприятным воздействием на организм человека. Известно, что существенным недостатком ряда фенольных антиоксидантов (АО) является их плохая растворимость в воде, быстрый метаболизм, малая биодоступность к ответственным мишеням, что снижает их эффективность при применении в случае свободно-радикальной патологии. Для преодоления этих недостатков авторами был разработан подход к созданию водорастворимых эффективных антиокислительных и антимутагенных систем, основанный на сочетании полимерной матрицы поликатионной природы и антирадикальных веществ (поли)фенольного типа в качестве структурных фрагментов в боковой цепи полимера [1]. Такое сочетание обеспечивает электростатическую адсорбцию макромолекулы на поверхности клетки, что способствует увеличению концентрации защитного вещества вблизи мишеней действия. Наличие антирадикальных фрагментов в боковой цепи полимера препятствует развитию окислительных, а также радиционно-химических реакций, приводящих к повреждению

клетки.

Выбор хитозана в качестве полимерной матрицы обусловлен комплексом ценных свойств, таких как нетоксичность, биосовместимость, способность к биodeградации и т.д.. В качестве биологически активных веществ (поли)фенольного типа были выбраны АО растительного происхождения, известные ингибиторы радикальных реакций - галловая кислота (ГК), кверцетин (Кв) и дигидрокверцетин (ДГКв), имеющие различное число гидроксильных групп в структуре АО.

Для синтеза конъюгатов хитозана использовали хитозан (Хит) производства ЗАО «Биопрогресс» ($M_w=39 \cdot 10^4$; ДА=85%). Для получения водорастворимого производного хитозана часть первичных аминогрупп превращали в четвертичные аммониевые путем проведения реакции с йодистым метилом в присутствии триэтиламина. В качестве исходной матрицы для синтеза конъюгатов хитозана с ГК использовали частично кватернизованный хитозан (КХит), в котором 30% мол. первичных аминогрупп превращены в четвертичные аммониевые. Синтез конъюгатов кватернизованного хитозана с ГК (КХит-ГК) и характеристика полученных веществ приведены в работе [2]. Важно отметить, что для галловой кислоты и ее производных возможен двойственный (как защитный, так и сенсibiliзирующий) характер действия. Это явление было неоднократно отмечено в работах академика Н.М.Эмануэля и его школы [3].

Для оптимизации структуры и состава разрабатываемых макромолекулярных АО в настоящей работе проведена сравнительная оценка антиокислительной (АОА) и антирадикальной (АРА) активности конъюгатов хитозана с (поли)фенольными АО при использовании различных тестов.

Таблица 1.

Антиоксидантная активность производных кватернизованного хитозана и галловой кислоты.

№	Вещество	Антиоксидантная активность, % к контролю
1	Метилловый эфир ГК	-20
2	КХит	0
3	КХит- ГК (2 масс.%ГК)	48

1. Определение антиокислительной активности конъюгатов хитозана при использовании метода окисления в присутствии соли железа и аскорбиновой кислоты.

Антиоксидантная активность была определена согласно методу [4], основанному на окислении Твина-80 на воздухе в присутствии соли Fe^{+2} и аскорбиновой кислоты в водных растворах с последующим количественным фотометрированием образующегося малонового альдегида. Антиоксидантную активность **N** характеризовали снижением интенсивности абсорбции комплекса, образованного малоновым альдегидом с тиобарбитуровой кислотой при 532 нм ($\epsilon=1,56 \cdot 10^{-5}$ л/моль·см) в растворах, содержащих антиоксидант в сравнении с контрольным экспериментом согласно уравнению

$$N=1 - a/b,$$

где **a** и **b** представляют собой количество малонового альдегида, образованного в растворе и в контрольном эксперименте, соответственно.

Из представленных в таблице 1 данных видно, что конъюгат хитозана с ГК проявляет выраженную АОА (48%) по сравнению с активностью исходного КХит (0). Отметим, что для низкомолекулярного производного галловой кислоты выявлен прооксидантный эффект.

2. Определение АОА конъюгатов хитозана с ГК в процессе окисления диамина в присутствии комплекса пероксидазы и перекиси водорода.

Таблица 2.

Константы ингибирования процесса окисления 4,4'-диамино-3,3'-диметоксибифенила комплексом пероксидазы хрена и перекиси водорода в присутствии антиоксидантов

№	Вещество	<i>K</i> , л/моль · с
1	ГК	$1,1 \cdot 10^4$
2	КХит-ГК (2 масс.%ГК)	$4,6 \cdot 10^4$

Ингибиторную активность (**K**) конъюгатов хитозана и галловой кислоты оценивали по их способности тормозить процесс окисления 4,4' -диамино -3,3'-диметоксибифенила комплексом пероксидазы хрена с перекисью водорода [5].

Из представленных в таблице 2 данных видно, что значение константы ингибирования для макромолекулярного АО в 4 раза выше аналогичного показателя для низкомолекулярного АО.

3. Определение антирадикальной активности конъюгатов хитозана с АО по отношению к стабильному радикалу дифенилпикрилгидразилу (ДФПГ).

Синтез конъюгатов хитозана с кверцетином (Кв) и дигидрокверцетином (ДГКв) и характеристика полученных

производных хитозана представлены в работе [6].

Сравнительную оценку АРА синтезированных конъюгатов хитозана и низкомолекулярного АО фенольного ряда – феназана-К по отношению к ДФПГ проводили в смешанном растворителе диоксан:вода (1:1 v/v; 20⁰С), при этом АРА характеризовали константой скорости взаимодействия свободного радикала с АО. Из представленных в таблице 3 данных видно, что конъюгаты хитозана с АО по значению АРА превосходят низкомолекулярный АО. Отметим, что эффект достигается при невысоком содержании АО полифенольного типа ковалентно связанного с основной цепью макромолекулы.

Таблица 3.

Антирадикальная активность конъюгатов хитозана и низкомолекулярного АО

№	Вещество	Содержание вещества фенольной природы, % масс.	K , л/моль · с
1	КХит-ГК	1,6	33
2	КХит-Кв	1,9	133
3	Феназан-К	100	10

4. Определение антиокислительной активности конъюгатов хитозана с АО по отношению к нитроксильному радикалу с использованием метода ЭПР.

Для сравнения АОА полимерных и низкомолекулярных АО использовали фактор антиокислительной активности $F_{АОА}$, который позволяет учитывать концентрацию свободных нитроксильных радикалов, изменение амплитуды сигнала, а также концентрацию АО.

Таблица 4.

Антиокислительная активность конъюгатов хитозана с АО по отношению к нитроксильному радикалу

№	Вещество	Концентрация АО, $C \cdot 10^3$ моль/л	$F_{АОА}$
1	Метилгаллат	5,8	0,149
2	КХит-ГК (1,6масс.%ГК)	5,8	4,10
3	Кверцетин	1,0	0,77
4	КХит-Кв (1,9масс.%Кв)	1,0	119,0

Сопоставление $F_{АОА}$ конъюгатов хитозана и их низкомолекулярных аналогов показывает, что полимерные АО значительно (на 1-2 порядка) превышают по эффективности (поли)фенольные АО.

5. Оценка антимуtagenной эффективности конъюгатов

хитозана с АО (поли)фенольной природы.

С использованием растительной тест-системы было показано, что антимутагенная активность конъюгата КХит-ГК достигала 92% в сравнении с защитным эффектом исходного хитозана КХит – 42% (семена ячменя, доза – 15 Гр).

Проведено исследование антимутагенной активности конъюгатов низкомолекулярного хитозана ($M_w=3 \cdot 10^4$) с растительными АО – Кв и ДГКв при использовании цитогенетического метода, позволяющего анализировать частоту хромосомных aberrаций в лимфоцитах периферической крови. Показано, что с ростом числа гидроксильных групп в структуре низкомолекулярного АО антимутагенная активность конъюгата увеличивается (при одинаковой степени модификации хитозана). Снижение частоты aberrаций хромосомного типа в лимфоцитах периферической крови при воздействии гамма-излучения в дозе 2 Гр составляло 16,6% (для Хит 30 – ГК), а при использовании Хит 30 - ДГКв достигало уровня 51% (при введении вещества после облучения).

Таким образом, в результате проведенных исследований с использованием различных методов показано, что антиоксидантная и антирадикальная активность макромолекулярных АО на основе хитозана и (поли)фенольных АО значительно превышает соответствующие показатели низкомолекулярных аналогов. Важно, что такой эффект достигнут при невысоком (1-3 масс.%) содержании вещества (поли)фенольного типа ковалентно связанного с макромолекулой. Включение галловой кислоты в боковую цепь хитозана дало возможность преодолеть известный недостаток галлатов – возможный двойственный характер действия (как защитный, так и сенсibiliзирующий).

Список литературы.

1. Alexandrova V.A., Obukhova G.V., Topchiev D.A. Synthesis and antimutagenic properties of novel systems based on poly(quaternized ammonium) salts // J. Bioact. Compat. Polym., 2002, v. 17, p. 321-341.
2. Alexandrova V.A., Obukhova G.V., Domnina N.S., Topchiev D.A. Modification of chitosan for construction of efficient antioxidant biodegradable systems // Macromol. Symp., 1999, v. 144, p. 413-422.
3. Одинцова С.П., Кругликова К.Е. // Докл. АН СССР, 1976, т. 226, № 2, с. 456.
4. Благородов С.Ф., Шепелев А.П., Дмитриева Н.А. и др. Определение антиоксидантной активности химических соединений //Химико-фармацевтический журнал,1987,т.21,№3,с. 292
5. Карасева Е.И., Лосев Ю.П., Метелица Д.И. Полисульфид галловой

кислоты-высокоэффективный ингибитор пероксидазных реакций // Биохимия, 1997, т. 62, № 10, с. 1256-1263.

6. Alexandrova V.A., Balabushevich N.G., Bondarenko G.N., Domnina N.S., Larionova N.I. Water soluble chitosan conjugates with plant antioxidant and polyelectrolyte complexes on their basis // J. Drug Del. Sci. Tech., 2006, v. 16, p. 279-283.
-

УДК 577.1.04;577.15.03

СТРУКТУРИРУЮЩАЯ РОЛЬ ФЕНОЗАНА В МОДЕЛЬНЫХ И БИО-МЕМБРАНАХ

Алексеева О.М.¹, Фаткуллина Л.Д.¹, Ким Ю.А.², Голощапов А.Н.¹

¹ФГБУН Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва, Россия. 8(495)939-74-09, olgavek@yandex.ru

²ФГБУН Институт Биофизики клетки РАН, Пущино Россия

При определении роли фенолов в медико-биологическом и технологическом аспектах применения фенольных соединений полезно рассмотреть некоторые соединения, синтезированные в ИХФ РАН и ИБХФ РАН, в частности, экранированный фенол - антиоксидант фенозан, а именно β -(4-гидрокси-3,5-ди-трет-бутилфенил) пропионовая кислота [1] и его производные – калиевую соль – феноксан (фенозанК) и гибридные антиоксиданты – ИХФАНЫ [2]. ИХФАНЫ – это сложноэфирные производные (метилокса) (3,5 дитретбутил -4-гидроксифенилпропановой кислоты) и этаноламина (коламина), замещенного алкильными заместителями с разной длиной цепи 8; 10; 12; 16 углеродных атомов (Рис.1).

Исследовали влияние феноксана и ИХФАНов на клеточные мембраны – первую мишень на пути биологически активных веществ. ФенозанК, локализуется в поверхностных слоях мембраны эритроцитов [3], не имея определенной мишени действия. Гибридные антиоксиданты ИХФАНЫ направлены на несколько мишеней как структурных, так и функциональных [4]. ИХФАНЫ ингибируют холиэстеразы. Закрепляясь с помощью четвертичного азота в поверхностной области мембран среди фосфолипидных головок, а с помощью ацильного остатка внедряясь в глубинные области мембран среди жирнокислотных хвостов, в итоге увеличивают микровязкость липидов. Такая перестройка мембраны изменяет активность встроенных и ассоциированных в мембраны липид-зависимых ферментов и рецепторов. В зависимости от концентрации биологически

активного вещества может меняться как механизм, так и направленность его воздействия. Поэтому исследовали действие водных растворов или эмульсий, содержащих феноксан или ИХФАН-10 в широком диапазоне концентраций от 10^{-21} М до 10^{-3} М.

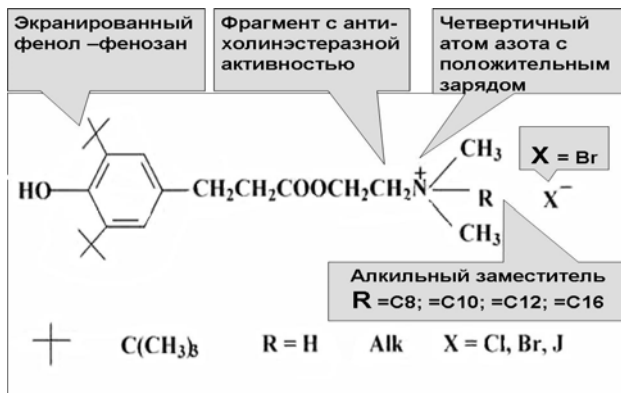


Рис. 1. Формула ИХФАНов, производных фенозана.

Тестирование доза-зависимого действия фенозанаК на структуру и функции мембран проводилось на 2-х объектах: модельных мембранах мультиламеллярных липосом, сформированных из димиристоилфосфатидилхолина (ДМФХ) [5], и клетках асцитной карциномы Эрлиха (АКЭ). При изучении структуры ДМФХ методом ДСК было выявлено изменение термодинамических параметров в зависимости от содержания феноксана в среде измерения (Рис. 2). Феноксан - гидрофильное вещество, не встраивающееся в липидный бислой. Но при фазовых переходах в бислоях при плавлении ДМФХ возрастает проницаемость мембран, т.к. образуются короткоживущие наноразмерные гидрофильные поры [6]. И фенозанК проникает ко всем слоям в мультислойной липосоме. При поверхностном воздействии меняет структуру липосомальных мембран – микродоменную организацию бислоя. Функциональные изменения под влиянием феноксана отслеживали методом первичного светорассеяния в разбавленных суспензиях при регистрации изменения клеточного объема АКЭ (Рис. 2). Клеточный объем регулируется ионной (Ca^{2+} , K^+ , Cl^-) проводимостью клеточных мембран в клетках АКЭ. ФенозанК доза-зависимо угнетает зависимую от пуриновых рецепторов Ca^{2+} -сигнализацию и меняет SOC-проводимость (Ca^{2+} -каналы, управляемые опустошением внутриклеточных Ca^{2+} -депо) в клетках АКЭ. Это отражается в

первом и втором общих клеточных ответах. Можно предположить, что влияние биологически активных веществ на клеточную активность является не только отражением специфического воздействия на рецепторы и каналы на поверхности клеток, но также обусловлено и изменением структуры компонентов клетки.

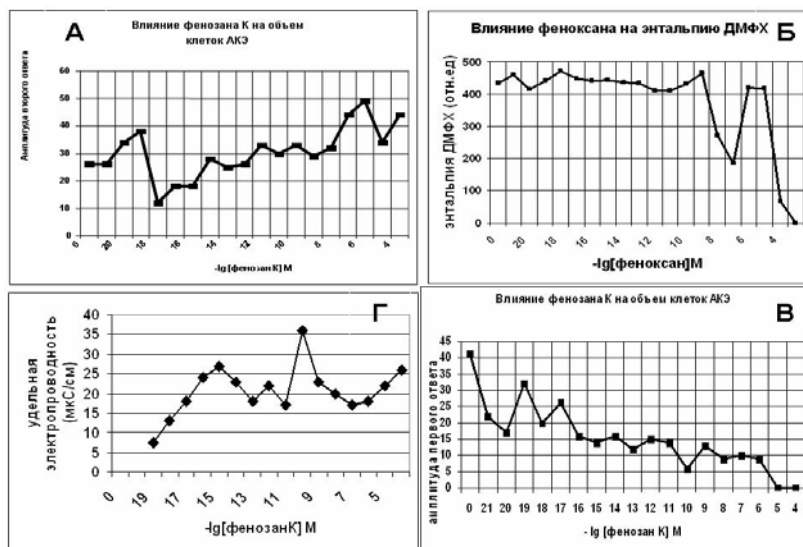


Рис.2. Влияние изменения концентрации феноксана К (феноксана) на общие клеточные ответы (А,В), на термодинамические параметры ДМФХ (Б) и физико-химические параметры водного раствора [8] - удельную электропроводность (Г). Наблюдается совпадение экстремумов.

Тестирование доза-зависимого действия ИХФАН-10 на структуру и функции мембран проводилось на 2-х объектах: эритроцитах и клетках АКЭ (Рис. 3). Изучение структуры проводилось при регистрации микровязкости методом ЭПР-спектроскопии с использованием 2-х спиновых зондов, локализующихся в поверхностном липидном бислое мембран на разной глубине (2-4 и 6-8Å соответственно) [7]. Показано что ИХФАН-10 в широком диапазоне концентраций, включая сверхмалые, модифицирует структурные свойства мембран эритроцитов и клеток АКЭ *in vitro*. Зависимость микровязкости мембран от концентрации ИХФАН-10 в виде водной мицеллярной взвеси имеет сложный нелинейный характер, в частности, проявляются экстремумы. Обнаруженные структурные изменения

коррелируют с функциональной активностью Ca^{2+} -зависимых K^{+} -каналов эритроцитов, регистрируемой потенциометрическим методом с использованием ионселективных электродов.

Полученные полимодальные кривые концентрационной зависимости воздействия гидрофильного и гидрофобного биологически активных веществ – феноксана и ИХФАН-10 на структуру и функции модельных и био-мембран, сравнили с известными в литературе физико-химическими параметрами водных растворов или эмульсий этих веществ [8,9]. Полимодальность кривых концентрационных зависимостей доза-эффект, по мнению авторов, указывает на формирование супрамолекулярных комплексов биологически активных веществ - вода с несколькими экстремумами и молчащими зонами между ними.

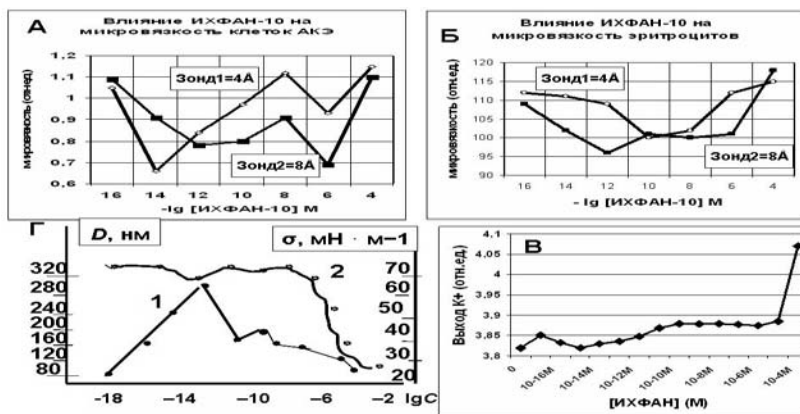


Рис.3. Влияние изменения концентрации ИХФАН-10 на микровязкость клеток АКЭ (А), эритроцитов (Б), на выход K^{+} из эритроцитов (В) и на физико-химические параметры водной эмульсии ИХФАН-10 [9]. (Г): размеры наноассоциатов (1) и поверхностное натяжение (2). Наблюдается несовпадение экстремумов.

Расхождение в расположении экстремумов на кривых доза-эффект, характеризующих физико-химические и биоактивные свойства примененных веществ (Рис. 3), указывают на большую вероятность их накопления в мембранах биообъектов, увеличивающуюся в зависимости от степени гидрофобизации молекулы вещества. Соответственно, используя малые и сверхмалые концентрации гидрофобных веществ (в нашем случае ИХФАН-10) в среде инкубации биообъектов, необходимо

учитывать, что на биообъект примененные гидрофобные вещества действуют в концентрациях на порядки более высоких. Однако существование супрамолекулярных комплексов, формируемых водой с биологически активными веществами, дискуссионно, так как подобные физико-химические характеристики растворов могут отражать присутствие в растворах и эмульсиях газовых пузырьков [10,11], свойства которых изменяются в присутствии мицеллярных или растворенных веществ. Инкубация биообъектов в средах, содержащих эмульсии ИХФАНов или других гидрофобных веществ в малых и сверхмалых концентрациях, приводит к накоплению гидрофобов в мембранах. В результате чего в структурах биообъектов биологически активные вещества действуют в концентрациях на порядки более высоких по сравнению с присутствующими в окружающей среде инкубации. Вероятность накопления в мембранах больших, чем в окружающей среде концентраций веществ, подтверждается также и данными по морфологии эритроцитов, полученными с помощью АСМ метода [12].

Список литературы:

1. Ершов В.В., Никифоров Г.А. // «Пространственно- затруднённые фенолы» М. Химия. 1972. 352 с.
 2. Burlakova E.B., Molochkina E.M., Nikiforov G.A. // Chemistry and Chemical Technology. 2008.V. 2. № 3. P. 163-171.
 3. Гендель Л.Я., Ким Л.В. и др. // Известия РАН. Сер. Биол. 1996. № 4. С.508-512.
 4. Паршина Е.Ю., Гендель Л.Я. и др. // Химико-фармацевтический журнал. 2012 № 2.С.17-20.
 5. Тараховский Ю.С., Кузнецова С.М. и др. // Биофизика. 2008. Т. 53. № 1. С. 78-84.
 6. Антонов В.Ф, Аносов А.А., Норик В.П. и др.// Биофизика, 2005, Т.50, вып.5, с.867-877
 7. Голощапов А.Н., Бурлакова Е.Б. // Биофизика. 1975. Т. 20. № 5. С. 816-821.
 8. Пальмина Н.П., Рыжкина И.С., Коновалов А.И. // ДАН. 2009. Т. 429, № 1. С.1—4
 9. Рыжкина И.С., Муртазина Л.И., и др.// ДАН. 2009. Т. 428. № 4. С. 487—491.
 10. Гаврилов Л.Р. «Физосновы процессов ультразвув. технологии» Наука, 1970, С. 395-426.
 11. Сиротюк М.Г. // Акустич. Журнал. 1966. Т. 12. № 1. С. 87-92.
 12. Бинюков В.И., Алексеева О.М., Миль Е.М. и др. // ДАН. 2011. Т. 441. № 1. С. 1-4.
-

УДК:615.32:582.739:633.87

**ИССЛЕДОВАНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ КОРНЕЙ
LUPINUS POLYPHYLLUS МЕТОДОМ
ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ЖИДКОСТНОЙ
ХРОМАТОГРАФИИ**

Бойник В.В., Акритиду Х.П.

Национальный фармацевтический университет, Харьков, факс (8057)714
25 40, E-mail: elenaakritidou@mail.ru

Растения рода Люпин (*Lupinus L.*) в мировой флоре представлены приблизительно 200 видами однолетних и многолетних травянистых растений, полукустарничков, полукустарников, кустарников. В странах Европы возделывают три однолетних вида: люпин желтый (*L. luteus L.*), л. белый (*L. albus L.*), л. узколистный (*L. angustifolius L.*) и один многолетний вид – л. многолистный (*L. polyphyllus Lindl.*). Кроме того *Lupinus polyphyllus* как одичавшее растение произрастает в дикой природе, в том числе и на Украине.

Люпин – ценная бобовая многоцелевая культура. для сельского хозяйства, пищевой и медицинской промышленности.

Цель данной работы – исследование фенольных соединений корней люпина многолистного.

Объектами изучения служили корни люпина многолистного, заготовленные в период плодоношения в сентябре 2014 года на правом берегу реки Харьков в окрестностях с. Липцы Харьковского района Харьковской области.

Для разделения суммы фенольных соединений на отдельные компоненты использовали метод ВЭЖХ на хроматографе Agilent 1200 3 D LC System Technologies (США), который укомплектован диодноматричным G1325C и рефрактометрическим G1362A детекторами.

Для анализа дубильных веществ измельченное сырьё 2,00 г. (точная навеска), помещали в колбу на 100 мл, экстрагировали 50 мл бидистиллированной воды в течении 30 мин на кипящей водяной бане с обратным холодильником. Полученное извлечение фильтровали и после охлаждения количественно переносили в мерную колбу на 100 мл, раствор доводили до метки бидистиллированной водой [1].

Для анализа гидроксикоричных кислот, кумаринов и флаваноидов образец сырья тщательно измельчали, отбирали около 1,0-2,0 г (точная навеска), помещали в круглодонную колбу

объемом 100 мл, экстрагировали 50 мл 60 % раствора метанола в течение 15 минут на кипящей водяной бане с обратным холодильником при перемешивании. После этого пробу обрабатывали ультразвуком в течение 10 мин, фильтровали, количественно переносили в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводили объем раствора до метки 60 % метанолом [2].

Исследование проводили методом обратно-фазной хроматографии на хроматографической колонке SupelcoDiscovery C₁₈ размером 250 × 4,6 мм с сорбентом: силикагель, модифицированный октадецильными группами, с диаметром зёрен 5 мкм. Объемы проб 5-20 мкл. Использовали градиентный режим элюирования, диапазон детектирования 190-400 нм, длина волны: 255, 280 нм. (флаваноиды и дубильные вещества), 320, 330 нм (гидроксикоричные кислоты). Результаты исследований приведены в таблице.

Таблица 1.
Фенольные соединения корней люпина многолистного

№ п/п	Вещества и их характеристики	Общая формула	Т. пл., °С	Концентрация	
				мкг/мкл	%
1	2	3	4	5	6
Гидроксикоричные кислоты					
1.	Хлорогеновая кислота	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	203-205	27,26	0,11
Кумарины					
2.	Кумарин	C ₉ H ₆ O ₂	67-68	162,53	0,67
Флаваноиды					
3.	Апигенин	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	345-350	85,54	0,35
4.	Катехин	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	175	208,06	0,49
5.	Эпикатехин	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	235-237	29,72	0,07
Дубильные вещества					
6.	Галловая кислота	C ₇ H ₆ O ₅	250	8,31	0,02
7.	Эллаговая кислота	C ₁₄ H ₆ O ₈	450	157,52	0,37
8.	Катехин галлат	C ₂₂ H ₁₈ O ₁₁	-	50,64	0,12
9.	Эпикатехин галлат	C ₂₂ H ₁₂ O ₁₀	-	69,15	0,16
10.	Эпигаллокатехин	C ₂₂ H ₁₈ O ₁₁	-	154,95	0,36

Полученные результаты свидетельствуют о том, что в корнях люпина многолистного содержатся различные классы фенольных соединений: гидроксикоричные кислоты, кумарины, флаваноиды и дубильные вещества.

Всего обнаружено 10 веществ фенольной природы: 1

гидроксикоричная кислота (хлорогеновая кислота), 1 кумарин (кумарин), 3 вещества флаваноидной природы (апигенин, катехин и эпикатехин) и 5 дубильных веществ (галловая и эллаговые кислоты, катехин галлат, эпикатехин галлат и эпигаллокатехин).

В количественном соотношении преобладают (в %): кумарин (0,67), катехин (0,49), эллаговая кислота (0,37), эпигаллокатехин (0,36) и апигенин (0,35).

Список литературы:

1. Sensitive Determination of Catechins in Tea by HPLC // Thermo scientific. DIONEX corporation – 2011. – AN 275. – 9 p.
2. Медведев Ю. В. Исследование содержания фенолокислот в лекарственном и пищевом растительном сырье методом ВЭЖХ: Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук: 14.04.02 “Фармацевтическая химия, фармакогнози” / ГОУ ВПО Московская медицинская академия имени И.М. Сеченова. Москва, 2010. - 24 с.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ ПОБЕГОВ *SALIX CAPREA* L., *SALIX PURPUREA* L., *SALIX VIMINALIS* L. ФЛОРЫ УКРАИНЫ

Бородина Н.В., Ковалев В.Н.

¹Национальный фармацевтический университет, Харьков, Украина, тел. 063-2361581, natalijaborodina@gmail.com

Лекарственные растения содержат разнообразные биологически активные вещества, которые обеспечивают комплексное многостороннее воздействие на организм человека. Особым вниманием пользуются растения, содержащие фенольные соединения.

Растения рода ива (*Salix*) семейства ивовые (Salicaceae) широко распространены во флоре Украины, имеют большие сырьевые запасы, издавна используются в народной медицине и считаются перспективным источником получения биологически активных веществ (БАВ) широкого спектра действия. В ивах содержится целый комплекс БАВ: фенольные гликозиды, флавоноиды, дубильные вещества конденсированной природы, кумарины, салицилаты, аскорбиновая кислота, сапонины, эфирные масла, аминокислоты, полисахариды. Наибольший интерес представляет значительное количество природных фенольных соединений в сырье, которые обуславливают обезболивающее,

жаропонижающее, антиоксидантное, противовоспалительное, антимикробное, спазмолитическое, нейропротекторное действие, Р-витаминную активность [1-5]. Однако в химическом отношении растения рода ива остаются недостаточно изученными.

Целью настоящей работы является изучение фенольных соединений побегов *Salix caprea* L., *Salix purpurea* L., *Salix viminalis* L. флоры Украины методами ВЭЖХ.

Материалы и методы. Для исследования были собраны молодые побеги *Salix caprea* L., *Salix purpurea* L., *Salix viminalis* L. которые заготавливались на протяжении 2012- 2014 годов в различных районах Харьковской области.

ВЭЖХ-анализ осуществляли на хроматографе фирмы Agilent Technologies (модель 1100), укомплектованным проточным вакуумным дегазатором G1379A, 4-х канальным насосом градиента низкого давления G13111A, автоматическим инжектором G1313A, термостатом колонок G13116A, диодноматричным детектором G1316A. Для проведения анализа была использована хроматографическая колонка размером 2,1 × 150 мм, заполненная октадецилсилильным сорбентом, зернением 3,5 мкм, «ZORBAX-SB C-18. Пробоподготовка для анализа: экстрагируют растительное сырьё 90% метанолом и фильтруют через мембранный тефлоновый фильтр с размерами пор 0,45 мкм в вials для анализа. Для проведения анализа устанавливают следующий режим хроматографирования: скорость подачи подвижной фазы 0,25 мл/мин; градиентный режим хроматографирования:

Время, мин.	А% H ₂ O (0,1% H ₃ PO ₄ ,)	В% MeOH
0.0	90	10
8.0	70	30
25.0	20	80
26.0	0	100
30.0	0	100
30.1	90	10
35.0	90	10

Рабочее давление элюента 240-300 кПа; температура термостата колонки 35°C; объем пробы 2 мкл. Параметры детектирования устанавливают следующие: масштаб измерений 1,0; время сканирования 0.5 сек. Параметры снятия спектра – каждый пик 190-600 нм. Длина волны 280, 313, 350, 371, 254 нм. Идентификацию фенольных производили по временам удерживания стандартов и спектральным характеристикам [6, 7].

Результаты и обсуждение. Методом высокоэффективной

жидкостной хроматографии определен качественный состав и количественное содержание фенольных соединений побегов *Salix caprea* L., *Salix purpurea* L., *Salix viminalis* L. заготовленных в Харьковской области. Результаты изучения фенольного состава видов ивы представлены в сводной таблице 1-6.

Таблица 1
Фенольные соединения побегов *Salix caprea* L., *Salix purpurea* L., *Salix viminalis* L. (содержание (мг на 100 г сырья))

Время удерживания, мин	<i>Salix caprea</i> L.	<i>Salix purpurea</i> L.	<i>Salix viminalis</i> L.	Уф спектры
Производное кофейной кислоты				
9.40	-	-	125.7	
(+) -D-Катехин				
11.52	527.0	425.9	355.0	
Хлорогеновая кислотата				
13.12	114.1	-	43.24	
(-)-Эпикатехин				
14.38	324.1	-	-	
Гликозид нарингенина				
17.74	-	1237.2	-	
Салицин				
17.94	4.7	-	9.4	

Гликозид нарингенина				
18.24	-	131.9	-	
Гликозид нарингенина				
18.58	-	107.4	-	
Лютеолин-6-С-гликозид				
19.65	14.6	609.5	66.7	
Рутин				
20.05	18.8	-	53.8	
Кверцетин-3-О-гликозид				
20.50	3.8	-	18.5	
Производное нарингенина				
20.79	-	67.8	-	
Лютеолин-7-О-рутинозид				
20.91	11.5	-	6.9	
Изосалипур-позид				
21.09	9.2	173.1	11.0	

Лютеолин-7-О-гликозид				
21.40	4.9	114.5	119.2	
Диосметин-7-О-гликозид				
21.71	79.9	-	57.8	
Изoramнетин-3-О-гликозид				
21.88	-	78.0	38.2	
Кемпферол-3-О-рамнозид				
22.13	-	-	13.3	
Неидентифицированное соединение				
23.30	8.2	-	-	
Неидентифицированное соединение				
24.47	-	-	10.3	
Неидентифицированное соединение				
25.26	6.9	2.1	4.3	
Неидентифицированное соединение				
25.39	9.3	3.3	-	

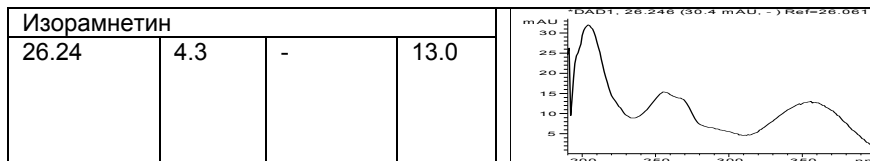


Таблица 6.

Хроматографический профиль побегов *Salix sp. L.*

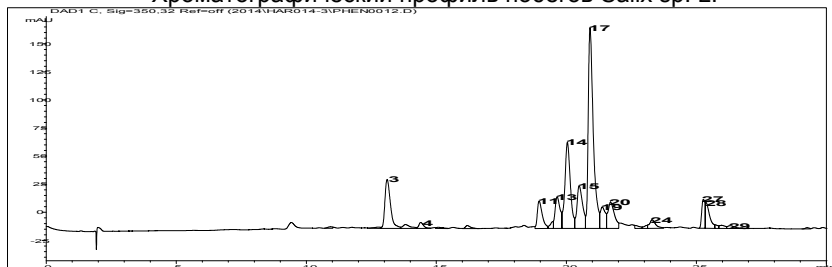


Рис. 1. Хроматографический профиль побегов *Salix caprea L.*

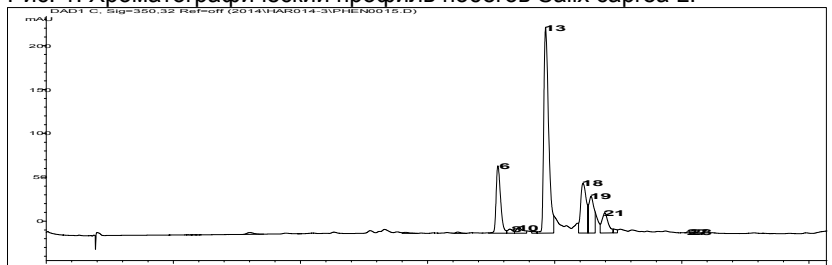


Рис. 2. Хроматографический профиль побегов *Salix purpurea L.*

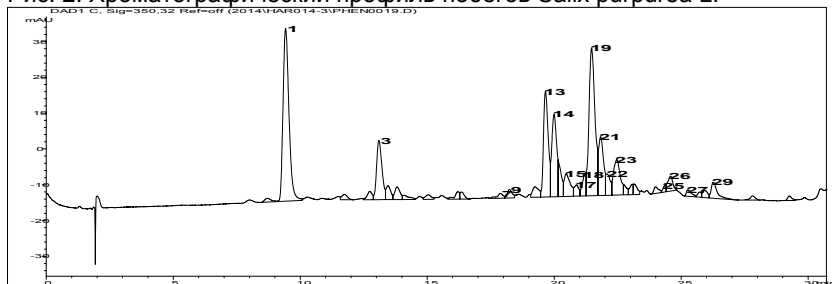


Рис. 3. Хроматографический профиль побегов *Salix viminalis L.*

Таким образом, анализ содержания фенольных соединений побегов *Salix caprea L.*, *Salix purpurea L.*, *Salix viminalis L.* заготовленных в Харьковской области позволил выявить среди них виды с достаточно высоким уровнем накопления биологически активных веществ фенольной природы, что делает их перспективными для дальнейшего изучения.

Список литературы.

1. Сравнительный анализ аминокислотного состава побегов *Salix purpurea* L., *Salix viminalis* L., *Salix fragilis* L. // Н.В. Бородина, В.Н. Ковалев, О.Н. Кошевой // Вестник Южно-Казахстанской государственной фармацевтической академии. – Казахстан, 2014. – №3(68), том 4 –С.53-55.
2. Анализ аминокислотного состава побегов *Salix alba* L.// Н.В. Бородина, В.Н. Ковалев, А.А. Стремоухов // Медицинский журнал МНО Inter-Medical. – Москва., № 4(4)2014. – С. 68-71.
3. Изучение летучих компонентов *Salix caprea* L.// Н.В. Бородина // Proceedings of 4th European Conference on Biology and Medical Sciences (January 13, 2015). Vienna, 2015. – P. 209-213.
4. Pohjamo, S.P.; Hemming, J.E.; Willför, S.M.; Reunanen, M.H.; Holmbom, B.R. Phenolic extractives in *Salix caprea* wood and knots. *Phytochemistry* 2003, 63, 165–169.
5. Петрук А. А. Сезонная динамика содержания дубильных веществ в листьях и соцветиях некоторых видов рода *Salix* (Salicaceae) при интродукции / А. А. Петрук // Химия растительного сырья. - 2013. - № 2. - С. 135-138.
6. Chen, L. J., and G. Hrazdina. Structural aspects of antho-cyanin-flavonoid complex formation in plant color. *Phytochemistry* 20: 1981. – P. 297-303.
7. Mc. Murrough, I., G. P. Hennigan, and M. J. Loughrey. Quantitative analysis of hop flavonols using H.P.L.C. *J. Agric. Food Chem.* 30: 1982. – P. 1102-6.

УДК 633.34 : 577.13

АНТИОКСИДАНТНЫЕ СВОЙСТВА И СПЕКТРАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЭКСТРАКТОВ ЛИСТЬЕВ ОБРАЗЦОВ *GLYCINE MAX* (L.) MERR.

**Власова Е.В., Мотылева С.М., Мертвищева М.Е., Горбунова
Ю.В.**

ФГБНУ Всероссийский селекционно-технологический институт садоводства
и питомниководства, Москва, Россия, e-mail: stevlas@yandex.ru

Методика оценки антиоксидантной активности природных соединений с использованием DPPH (2,2-дифенил-1-пикрилгидразила), является наиболее используемой благодаря простоте, доступности и высокой чувствительности. Растворенный в метаноле радикал DPPH[•], реагирует с образцом антиоксиданта (АН) по схеме $\text{DPPH}^{\bullet} + \text{АН} \rightarrow \text{DPPH-H} + \text{A}^{\bullet}$. В результате полного либо 50% восстановления DPPH антиоксидантом бледнеет пурпурно-синяя окраска раствора DPPH в метаноле, а реакция

контролируется спектрофотометрически по изменению оптической плотности при 514 нм. (Tirzitis G., Bartosz G., 2010)

Результаты анализа с помощью радикала DPPH зависят от выбранных условий (времени реакции, концентрации раствора DPPH., выбора растворителя) и от исходного растительного материала. Несмотря на достаточно большую группу веществ, обладающих антирадикальной активностью, в большинстве экспериментов отмечают положительную корреляцию между антиоксидантной активностью и содержанием фенольных соединений, в том числе и в экстрактах листьев – органов растений, основной функцией которых является фотосинтез (Gautam V., 2014; Khanavi M, et al., 2009). Содержание фенольных соединений и фотосинтетических пигментов в листьях, в свою очередь, зависит от многих факторов: возраст листа, положение на растении, стадия развития растения, освещенность, климатические и почвенные условия, устойчивость к болезням и вредителям (Wongsen, W., et al., 2013; Bednarek et al., 2003; Von Baer et al. 2006).

Цель исследования: провести сравнительное изучение антиоксидантных свойств экстрактов листьев сортообразцов *Glycine max* (L.) Merr.

Объектом исследования являлись 11 образцов сои северного экотипа: к-9960 Светлая, и-11114 Касатка, и-11115 Малета, к-9659 Магева и к-9959 Окская из Рязанской обл., к-10708 Ланцетная из Орловской обл., к-10472 Брянская 11 из Брянской обл., к-10971 Северная звезда из Беларуси, к-5829 Friskeby V из Швеции, к-10659 ПЭП 27 из Ленинградской обл., к-11038 М-27 из Московской области).

Методы исследования: Образцы листьев брали одновременно в фазу цветения со среднего яруса и высушивали до воздушно сухого состояния в термостате при постоянной температуре +55 °С; 0,2 г навески сухих листьев экстрагировали 10 мл метанола или воды дист. Экстракцию проводили в течение 12 час на встряхивателе, фильтровали.

При проведении анализа антиоксидантной активности (АА) с использованием DPPH[•] (Blois M.S., 1958) в кювету помещали 3,9 мл рабочего раствора DPPH и, после измерения оптической плотности (A₀), добавляли 0,1 мл фильтрата. Через 10 мин. измеряли оптическую плотность полученного раствора (A₁₀). % ингибирования DPPH рассчитывали по формуле: $(A_0 - A_{10}) / A_0 \cdot 100\%$

Спектральные характеристики экстрактов листьев определяли на спектрофотометре Thermo. Концентрации растворов подбирали экспериментально. В видимой области от 370 до 750 нм проводили изучение без разведения исходного

экстракта. Для анализа в области 190-370 нм в кювету к 3,9 мл метанола (воды) добавляли 0,2 мл экстракта.

Таблица 1.
Показатели антиоксидантной активности водных и метанольных экстрактов листьев сортов сои

Сортообразцы сои	Антиоксидантная активность (% ингибирования DPPH) экстрактов листьев	
	метанол	вода
Касатка	46,5	70,0
Северная звезда	10,5	27,1
Малета	43,5	68,9
Ланцетная	55,2	75,9
ПЭП 27	13,9	48,1
М-27	56,5	86,0
Брянская 11	37,8	70,7
Светлая	38,5	72,0
Магева	51,9	78,9
Окская	44,8	76,1
Friskeby V	43,5	74,8
коэффициент вариации	36%	23%

Результаты и обсуждение. Дифференциация сортов по антиоксидантной активности (АА) экстрактов листьев сои довольно высокая (таблица 1), коэффициент вариации 36% для метанольных экстрактов, 23% - для водных.

Выделяются 2 сорта (Северная звезда и ПЭП 27) с низкими показателями АА экстрактов листьев: спиртовых - 10,5 и 13,9%, водных - 27,1 и 48,1% соответственно. Показатели АА экстрактов листьев остальных сортообразцов в пределах: 37,8-56,5% (спиртовых), 68,9-86,0% (водных).

Корреляция между показателями АА водных и спиртовых экстрактов листьев всех сортов положительная и высокая ($r=0,94$). Показатели водных экстрактов листьев превышают показатели спиртовых экстрактов: у сортов с низкими показателями АА (Северная звезда и ПЭП 27) - в 2,6 и 3,5 раз соответственно, у остальных сортов - в 1,5-1,9 раз.

Спиртовые экстракты листьев сортов сои в области 190-370 нм характеризуются кривой с четырьмя пиками:

/ пик - $\lambda=191,0-198,0$ нм, А е.о.п. $\max=0,78-0,96$.

II пик - $\lambda=207,0-209,0$ нм, А е.о.п. $\max=2,29-2,77$. Исключение – сорт Касатка, у которого максимум отмечали на $\lambda=212,5$ нм со значительно более высокими показателями оптической плотности А е.о.п. $\max=3,12$.

III пик- $\lambda=256,0-257,5$ нм, А е.о.п. $\max=1,06-1,17$, у сорта Касатка -1,76. Исключение – сорта Ланцетная ($\lambda=258,0$, А е.о.п. $\max=1,38$), Северная звезда и ПЭП-27 ($\lambda=267,0$, А е.о.п. $\max=1,35$ и 1,11 соответственно).

IV пик - $\lambda=351,0-356,0$ нм, А е.о.п. $\max=0,77-1,03$, у сорта Касатка -1,22. Исключение – сорта Северная звезда ($\lambda=343,5$ нм, А е.о.п. $\max=0,99$) и ПЭП-27 ($\lambda=332,0$ нм, А е.о.п. $\max=0,76$).

В области $\lambda= 280-320$ нм у всех сортов присутствует минимум на уровне А е.о.п.=1,22.

Таким образом, существенный сдвиг положения III и IV пиков наблюдается у сортов Северная звезда и ПЭП-27 с самыми низкими показателями АА метанольных экстрактов листьев.

Корреляция показателей оптической плотности в пиках I - IV с показателями антиоксидантной активности спиртовых экстрактов листьев большинства сортов с «типичными» спектральными характеристиками (Малета, М-27, Брянская 11, Светлая, Магева, Окская, Friskeby V) высокая и положительная ($r=0,73-0,88$).

Водные экстракты листьев сортов сои в области 190-370 нм характеризуются кривой с тремя пиками:

I пик - $\lambda=195,0-199,5$ нм, А е.о.п. $\max=3,96-4,17$

II пик - $\lambda=266,5-271,0$ нм, А е.о.п. $\max=1,74-2,41$

III пик - $\lambda=316,5-329,5$ нм, А е.о.п. $\max=1,49-2,14$

Сравнение показателей оптической плотности с показателями АА водных экстрактов показывают: отсутствие корреляции по пику I, слабую положительную ($r=0,23$) - по пику II и умеренную положительную ($r=0,47$) – по пику III.

Водные экстракты листьев сортов сои в области 370-750 нм характеризуются одним пиком ($\lambda=378,0-404,5$ нм). Показатели оптической плотности в этом максимуме характеризуются высокой положительной корреляцией с показателями АА водных экстрактов листьев ($r=0,81$).

Спиртовые экстракты листьев сортов сои в области 370-750 нм характеризуются набором из шести пиков в областях: 370-420 нм, 422,5-437 нм, 465-467 нм, 534-535 нм, 610-613 нм, 664,5-665,5 нм. Два пика: при 422,5-437 нм и 465-467 нм прибором не всегда фиксируются, но на кривой спектра отображаются. Существенной корреляции между показателями АА метанольного экстракта и показателями оптической плотности метанольных экстрактов листьев в пиках видимой области не установлено. Однако

обнаружена высокая положительная корреляция ($r=0.81-0.88$) между длиной волны максимума в области 370-420 нм (флавонолы) и максимальными показателями оптической плотности в пиках фотосинтетических пигментов (хлорофиллов, каротиноидов, антоцианов): 534-535 нм, 610-613 нм, 664,5-665,5 нм.

Результаты анализа АА и спектральных характеристик водных и спиртовых экстрактов свидетельствуют о различиях в биохимическом составе и позволяют предположить наличие различных групп фенольных соединений.

Список литературы.

1. Bednarek P, Kerhoas L, Einhorn J, Franski R, Wojtaszek P, Rybus-Zajac M, Stobiecki M. Profiling of flavonoid conjugates in *Lupinus albus* and *Lupinus angustifolius* responding to biotic and abiotic stimuli. // J. Chem Ecol.-2003.-29.-P.1127-1142.
 2. Blois M.S. Antioxidant determination by the use of a stable free radical // Nature.-1958.-26.-P.1199-1200.
 3. Gautam V., Arora S., Kapoor D., Bhardwaj R. Free radical scavenging activity and HPLC analysis of *Araucaria cunninghamii* aiton ex d.don leaf extract // J. of Stress Physiology & Biochemistry.-Vol. 10.-№ 3.- 2014.-P. 176-185
 4. Khanavi M, Hajimahmoodi M, Cheraghi- Niroomand M, Kargar Z, Ajani Y, Hadjiakhoondi A et al. Comparison of the antioxidant activity and total phenolic contents in some *Stachys* species. //African J. of Biotechnology // 2009.-8.-P. 1143-1147.
 5. G.Tirzitis, G.Bartosz Determination of antiradical and antioxidant activity: basic principles and new insights // on-line at: [www. actabp.pl](http://www.actabp.pl).-2010.- Vol.57.-№1-P. 139-142.
 6. Von Baer D, Saelzer R, Vega M, Ibieta P, Molina L, Von Baer E, Ibanez R, Hashagen U. Isoflavones in *Lupinus albus* and *Lupinus angustifolius*: quantitative determination by capillary zone electrophoresis, evolution of their concentration during plant development and effect on anthracnose causing fungus *Colletotrichum lupini*. //J. Chil Chem Soc.-2006.-51.- P.1025-1029.
 7. Wongsen W., Bodhipadma K., Noichinda S., Leung, D. W. M. Relationship between leaf position and antioxidant properties in three basil species // Int. Food Research J.-20(3).- 2013.-1113-1117.
-

КАСКАДНЫЙ МЕХАНИЗМ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ФЕНОЛЬНЫХ АНТИОКСИДАНТОВ

**Вольева В.Б., Овсянникова М.Н., Белостоцкая И.С.,
Комиссарова Н.Л., Малкова А.В., Прокофьева Т.И.**

Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук, Москва, Россия, 8(495)939 7353, e - mail: komissarova@polymer.chph.ras.ru

Пространственно-затрудненные фенолы (ПЗФ) являются наиболее представительным классом универсальных синтетических антиоксидантов, используемых как для подавления термоокислительной деструкции технических материалов (полимеров, резин, масел), так и для коррекции антиоксидантных патологий в биологии и медицине. При исследовании ПЗФ как биоантиоксидантов обнаружена многофункциональность их действия. Помимо собственно антиоксидантных свойств они проявляют различные виды фармакологической активности. В этом аспекте наибольший интерес представляет сочетание антиоксидантных свойств ПЗФ с антибактериальной активностью (АБА).

В работе использовали модифицированный метод определения АБА, основанный на прямом воздействии испытуемого вещества на клетки тест-микроба [1]. В качестве тестов использовали *Escherichiacoli* (*E. coli*) (1157 (госпитальный штамм раневых инфекций) и *Staphylococcus albus* (*St. albus*) (из музея кафедры микробиологии МГУ им. М.В.Ломоносова). Испытуемые вещества наносили дозированно на диски из плотной фильтровальной бумаги диаметром 5 мм, раскладывали на подготовленный бактериальный газон в чашки Петри и помещали в термостат при 37⁰ С на двое суток. Если при диффузном распространении вещество проявляет АБА, то вокруг точки его нанесения образуется стерильная зона, площадь которой зависит от интенсивности воздействия. Результаты по измерению величины АБА веществ представляли как площадь стерильной зоны в мм².

При тестировании на АБА нескольких десятков ПЗФ с использованием *E.coli* и *St.albus* наибольший уровень АБА зарегистрирован для ПЗФ, способных к каскадным окислительным превращениям с образованием цепочки соединений, обладающих собственной значительной АБА. К этой группе ПЗФ в первую очередь относятся изомерные 3,5- и 3,6-ди-трет-бутилпирокатехины, являющиеся редокс-лабильными

соединениями, способными запускать трех- и четырех-стадийную последовательность окислительных превращений. Так, для 3,6-ди-трет-бутилпирокатехина (I) набор образующихся при этом продуктов состоит из редокс-сопряженного 3,6-ди-трет-бутил-орто-бензохинона (II), 2-гидрокси-3,6-ди-трет-бутил-пара-бензохинона (III), 2,5-ди-гидрокси-3,6-ди-трет-бутил-пара-бензохинона (IV). Все эти соединения охарактеризованы данными АБА (табл.1).

Таблица 1.
АБА (площадь стерильной зоны, мм²) пирокатехина и хинонов.

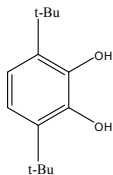
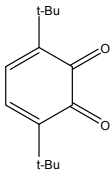
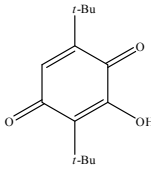
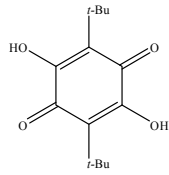
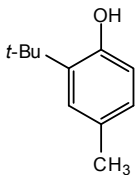
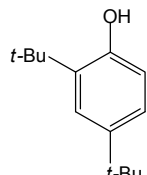
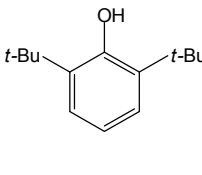
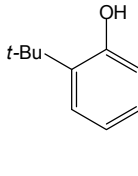
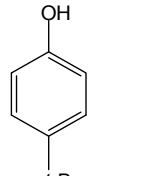
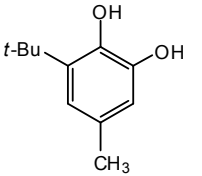
Химическая формула				
<i>E. coli</i>	169	89	38	95
<i>St. albus</i>	201	69	54	133

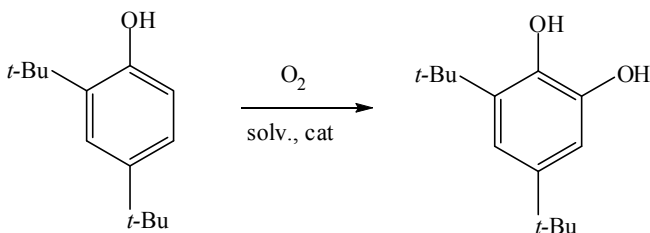
Таблица 2.
АБА (площадь стерильной зоны, мм²) алкилзамещенных фенолов и 3,5-ди-трет-бутилпирокатехина.

Химическая формула			
<i>E. coli</i>	193	185	39
<i>St. albus</i>	168	572	50
			
<i>E. coli</i>	147	46	179
<i>St. albus</i>	218	79	218

Таким образом, в биопроцессе могут участвовать не только исходные ПЗФ, но также продукты их превращения *in situ*. Такой вывод позволяет интерпретировать высокий уровень АБА так называемых «полуэкрапированных» фенолов (ПЭФ), имеющих один объемистый орто-заместитель и одно свободное орто-положение. Их АБА достигает уровня ди-алкилпирокатехинов и резко отличается от АБА изомерных фенольных аналогов (табл. 2).

Это может быть связано со специфичным для ПЭФ биохимическим орто-гидроксилированием с образованием соответствующих пирокатехинов[2].

Экспериментальное подтверждение такого механизма активности ПЭФ удалось получить на примере 2,4-ди-трет-бутилфенола, дающего в результате гидроксилирования 3,5-ди-трет-бутилпирокатехин:



Показано, что 3,5-ди-трет-бутилпирокатехин образуется только при участии в процессе микроорганизмов. В контрольном опыте на среде без посева микроорганизмов исходный фенол подобного превращения не претерпевает.

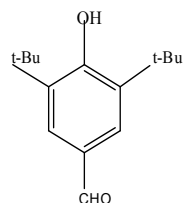
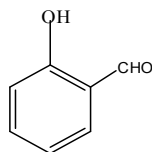
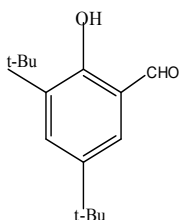
ПЗФ, имеющие структурные ограничения для участия в окислительных превращениях, обнаруживают сниженный уровень АБА. Примером такого рода является 2,4-ди-трет-бутилформилфенол. Его окисление в карбокси-производное затруднено фенольным гидроксилом, действующим как внутримолекулярный антиоксидант, блокирующий радикальный процесс окисления. Введение ацильной защиты снимает это ограничение. Ацилированный формилфенол под действием атмосферного кислорода *insitu* превращается в ди-трет-бутилсалициловую кислоту, которая, по-видимому, и отвечает за более высокий уровень АБА (табл. 3).

Анализ активности протестированных ПЗФ показывает, что соединения с высоким АБА имеют общий структурный элемент – координирующую группировку, состоящую из фенольного гидроксила и орто-заместителя, способного к участию в хелатирующем комплексобразовании при взаимодействии с

ионами металлов. Такие процессы, блокирующие ферментные системы микроорганизма, должны нарушать его функционирование.

Таблица 3.
АБА (площадь стерильной зоны, ²) формилзамещенных фенолов.

Химическая
формула

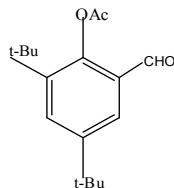
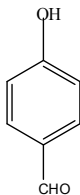


E.coli
St.albus

42
55

38
28

38
50



E.coli
St.albus

28
28

84
73

Роль координирующей группировки как структурного фактора АБА подтверждают также результаты тестирования ряда ПЗФ с гидроксиметильной и диалкиламинометильными группами в орто-положении. Интенсивность АБА не связана с электронным эффектом этих заместителей, о чем свидетельствует различие в АБА изомерных орто- и пара-диметиламинометилфенолов (табл. 4).

Интенсивность АБА зависит также от доступности свободной электронной пары гетероатома в заместителе для координирующего взаимодействия: наблюдается закономерное снижение АБА в ряду оснований Манниха дигидроксиэтиламинометилфенол > морфолилометилфенол (стерические затруднения для пары азота) > гидрохлорид морфолилометилфенола (пара блокирована протоном) (табл.5).

Таблица 4.

АБА (площадь стерильной зоны, мм²) диметиламинометил-фенолов.

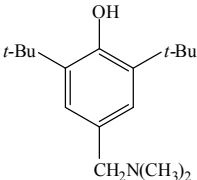
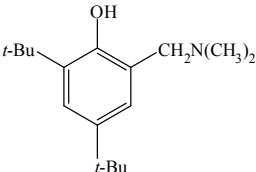
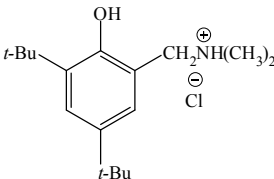
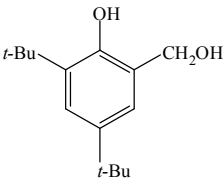
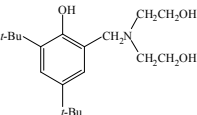
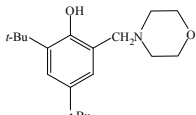
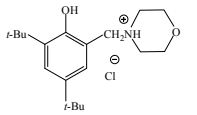
Химическая формула		
E.coli	38	79
St.albus	38	69
		
E.coli	50	79
St.albus	55	79

Таблица 5.

АБА (площадь стерильной зоны, мм²) оснований Манниха с различной доступностью свободной пары азота.

Химическая формула			
E.coli	125	69	20
St.albus	121	55	32

В совокупности факторов, влияющих на уровень АБА фенольных соединений, важную роль играет гидрофобно-гидрофильный баланс, зависящий от характера замещенности молекулы фенола. По-видимому, наличие гидрофобных алкильных групп ПЗФ может создавать нужный баланс и, как следствие, обеспечивать более высокий уровень АБА в сравнении с незамещенными аналогами.

Предлагаемая интерпретация зависимости АБАот

структурных параметров ПЗФ дает основу для ее прогнозирования и целенаправленных модификаций с целью достижения максимального эффекта.

Список литературы

1. Овсянникова М.Н., Вольева В.Б., Белостоцкая И.С., Комиссарова Н.Л., Малкова А.В., Курковская Л.Н. Хим.-фарм.журнал, 2013, 3, С. 18-21
2. Chiocarra F., Di Gennaro P, La Monica G, Sebastiano R., Rindone B. Tetrahedron 1991, 47 (25), P.4429-4434

УДК 665.256.15

ИЗУЧЕНИЕ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ МОДИФИЦИРОВАННЫХ ЩЕЛОЧНЫХ ЭКСТРАКТОВ СОСНЫ, ПОЛУЧЕННЫХ ИЗ НИЗКОСОРТНОГО СЫРЬЯ

Гончарова Н.В.¹, Сячинова Н.В.², Моторин В.С.³

Восточно-Сибирский государственный университет технологий и управления, Улан-Удэ, Россия, ¹8(3012)417-222, natvic@list.ru, ²8(3012)417-226, c-h-v@mail.ru, ³8(3012)417-222, vladislavv932010@mail.ru

Растительные экстракты хвойных пород содержат большое количество полифенольных соединений и смоляных кислот, способных к реакции поликонденсации. В данной работе изучалась возможность использования щелочных экстрактов сосны, модифицированных уротропином в качестве лакокрасочного материала для защиты древесины.

Химический состав растительных экстрактов характеризуется большим количеством и многообразием веществ фенольной природы, разной степени конденсации. Отличительной особенностью полифенолов является их способность при определенных условиях вступать в реакцию поликонденсации. Причем, в присутствии формальдегида в зависимости от pH реакционной среды фенолы могут образовывать фенолформальдегидные смолы новолачного (термопласты) [1] или резольного типа (реактопласты) [2].

При изучении дубящих свойств щелочных экстрактов сосны, было замечено что, несмотря на достаточно низкие показатели доброкачественности, дубление в целом идет удовлетворительно. Причина этого вероятно кроется в процессах поликонденсации между фенольными веществами нетаннидной фракции, в результате которых происходит укрупнение молекул и превращение их в таниды. Это явление натолкнуло авторов на

идею модификации щелочного экстракта сосны с целью получения продукта, обладающего пленкообразующими свойствами, который можно будет использовать в качестве лакокрасочного материала (ЛКМ) для защиты древесины от неблагоприятных воздействий окружающей среды. Для реализации этой идеи на практике был получен щелочной экстракт сосны. Экстракцию провели методом настаивания коры в растворе щелочи при $t=70^{\circ}\text{C}$ в течение 1 часа. Ниже приведены качественные характеристики полученного экстракта, определенные в соответствии с ГОСТ 28508-90 [3]:

Концентрация полученного экстракта, г/л	57,8
Сухой остаток экстракта (СО), %	100,0
в том числе:	
- нерастворимые вещества, (НР), %	5,3
- растворимые вещества (ВР), %	94,7
в том числе:	
- таннины, %	18,0
- нетаннины, %	76,7
Доброкачественность (Д), %	19,0
pH	13,3

Модификацию экстракта проводили уротропином, который при высоких температурах, разлагается с образованием формальдегида, участвующего в синтезе фенолформальдегидных соединений. Для ускорения процесса пленкообразования в качестве сиккатива использовали стеариновую кислоту ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COOH}$).

Модификацию экстракта проводили при температуре 100°C , в течение 6 часа. У модифицированного экстракта проверили показатели характерные для лакокрасочных материалов: вязкости, времени высыхания, твердости покрытия, теплостойкости, адгезии, прочности на изгиб. А также содержание летучих компонентов. Полученные результаты сравнивали с аналогичными показателями, характерными для вододисперсионных красок. Данные исследований представлены в таблице 1.

Из данных таблицы 1 видно, что по показателям времени высыхания, теплостойкости и твердости покрытия модифицированный экстракт соответствует требованиям, предъявляемым вододисперсионным краскам. Показатели укрывистости и вязкости несколько ниже, это, скорее всего, связано с низкой концентрацией самого экстракта (упаривание системы в два раза увеличило содержание экстрактивных веществ до $\sim 120 \text{ г/дм}^3$, однако этого оказалось недостаточно). Что касается

показателя «прочности на изгиб», то здесь можно поработать с пластифицирующими добавками, чтобы данную величину привести в соответствие с требованиями ГОСТ.

Таблица 1

Характеристика модифицированного щелочного экстракта сосны как ЛКМ

Показатель качества	Модифицированный экстракт	Нормативы для вододисперсионных ЛКМ [4]
Укрывистость, г/м ²	70±5	80-210
Вязкость, с	10,2 ±0,23	Не менее 30
Время высыхания, ч	0,5 ч	Не более 1 ч
Твердость покрытия	0,68	Не менее 0,1
Теплостойкость, балл	1	1
Адгезия, балл	2	1
Эластичность пленки при изгибе, мм	7 мм	1 мм
Содержание нелетучих компонентов, %	12	47-61

Оценку защитных свойств модифицированных щелочных экстрактов сосны проводили, путем окрашивания бруска древесины сосны модифицированным экстрактом. На поверхность окрашенного деревянного бруска после высыхания покрытия занесли гнилостные бактерии и споры плесени, после чего брусок поместили для хранения в неблагоприятные условия, характеризующиеся высокой влажностью и повышенной температурой (~30⁰С) В течение срока хранения вели наблюдения за состоянием поверхности деревянного бруска, фиксируя скорость его разрушения в сравнении с контрольным вариантом. В качестве контрольного варианта использовали брусок древесины сосны, взятый без защитной обработки и помещенный в те же условия, что и опытный образец. Наблюдения показали, что обработка модифицированным щелочным экстрактом сосны в два раза замедляет скорость разрушения древесины. Так, первые выраженные признаки деструкции древесины у контрольного варианта появились через 10 дней наблюдений, в то время как первые признаки разрушения обработанного бруска стали заметны только спустя 20 дней. Таким образом, проведенные испытания показали принципиальную возможность модификации щелочных экстрактов сосны уротропином, для получения фенолформальдегидных соединений, обладающих

антисептическими и пленкообразующими свойствами.

Данная работа выполнена в рамках госбюджетного задания №01201462824.

Список литературы.

1. Кубелка В., Бинко И. Синтетические дубители. - М.: Гизлегпром, 1959, 160 с.
2. Кутянин Г.И. Пластические массы и бытовые химические товары. М.: Экономика, 1988.
3. ГОСТ 28508-90 Качественный анализ растительных экстрактов
4. ГОСТ 28196-89 Краски водно-дисперсионные. Технические условия

УДК: 582:736.3:577.127:543.544

**ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ
ФЕНИЛПРОПАНОИДОВ РАКИТНИКА РУССКОГО**

Демешко О.В., Ковалев В.Н.

Национальный фармацевтический университет, Харьков, Украина,
olgademeshko@gmail.com

Ракитник русский (*Cytisus ruthenicus*) многолетнее травянистое растение, принадлежит к роду раkitник (*Cytisus* L.), подсемейства мотыльковых (Papilionaseae), входит в большое семейство бобовых (Fabaceae) и включает в себя от 30 до 70 видов. Растет в Восточной Европе, Казахстане, Закавказье, Украине, Белоруссии, Молдавии, а также его ареалы были найдены в Северной Африке, Западной Европе, Англии, США и Канаде. В Украине встречается 17 видов раkitника.

Ракитник русский применяют как декоративное растение и прекрасный медонос. Как лекарственное растение он стимулирует сокращение матки, помогает организму освободиться от избытка жидкости, повышая мочеобразование, иногда вызывает резкое повышение кровяного давления, лечит застойную сердечную недостаточность, при курении может оказывать успокаивающее действие. С лечебной целью собирают надземные части растения, обычно это листья. Ракитник русский содержит алкалоиды (спартеин, цитизин), флаваноид (генистеин). Ракитник русский является ядовитым растением, поэтому его нужно употреблять с осторожностью, также он противопоказан для применения детям, людям старше 55 лет и больным гипертонией, так как растение содержит в себе цитизин, поднимающий давление [1, 2].

Ракитник русский широко используется в ландшафтном дизайне, пчеловодстве, в народной медицине. Однако химический состав этого растения недостаточно изучен. На сегодня, на основе результатов выполненных исследований можно сделать вывод о перспективности изучения данного растения.

Целью работы является изучение фенилпропаноидов раkitника русского.

Объекты и методики. Сырье было заготовлено в фазе цветения в окрестностях Харькова, летом 2014 года.

Предварительное хроматографическое исследование фенилпропаноидов проводили методом бумажной хроматографии (БХ). Для этого в колбу на 50 мл помещали 1,0 воздушно-сухого сырья, заливали 15 мл 70% спирта, присоединяли колбу к обратному холодильнику и нагревали на кипящей водяной бане в течение 1 часа. После охлаждения извлечение отфильтровывали в колбу объемом 20 мл. Затем 2 мл извлечения концентрировали в вакууме до половины взятого объема и использовали для хроматографии. Хроматографирование проводили восходящим методом: одномерную БХ – в системе 2% уксусной кислоты; двумерную БХ – в системах: I – бутанол – уксусная кислота – вода (4:1:2) – I направление, 15% уксусная кислота – II направление. После высушивания хроматограммы обрабатывали парами аммиака, 10% спиртовым раствором натрия гидроксида, 2% спиртовым раствором алюминия хлорида [3,4,5].

Для исследования фенилпропаноидов использовали высокоэффективную жидкостную хроматографию (ВЭЖХ) [6, 7]. Для анализа фенольных веществ методом ВЭЖХ 500 мг измельченного воздушно-сухого сырья взвешивали в мерной пробирке емкостью 5 мл и доводили 90% метанолом до метки. Выдерживали в ультразвуковой бане в течении 30 минут, настаивали при комнатной температуре 3-4 часа, после чего вновь помещали в ультразвуковую баню на 15 минут, затем извлечение фильтровали через бумажный фильтр в мерную пробирку емкостью 5 мл, доводили растворителем до метки, после чего фильтровали через мембранный тефлоновый фильтр с размером пор 0,45 мкм в вialу для анализа. Исследуемые вещества раkitника русского идентифицировали по времени удерживания стандартных образцов и характеристикам УФ – спектров.

Анализ проводили на хроматографе фирмы Agilent Technologies (модель 1100), укомплектованным проточным вакуумным дегазатором G1379A, 4-х канальным насосом градиента низкого давления G13111A, автоматическим инжектором G1313A, термостатом колонок G13116A, диодноматричным детектором

G1316A. Для проведения анализа была использована хроматографическая колонка размером 2,1 × 150 мм, заполненная октадецилсилильным сорбентом, зернением 3,5 мкм, «ZORBAX-SB C-18». Подвижной фазой являлась смесь водного раствора 0.1 % фосфорной кислоты и метанола (Табл. 1).

Табл. 1.

Градиентный режим хроматографирования

Время мин.	А% H ₂ O (0,1% H ₃ PO ₄)	В% MeOH
0.0	90	10
8.0	70	30
25.0	20	80
26.0	0	100
30.0	0	100
30.1	90	10
35.0	90	10

Условия хроматографирования: скорость подачи подвижной фазы 0,25 мл/мин; температура термостата колонки 35 ° С; объем пробы 2 мкл; длина волны – 350 нм.

Результаты исследований и их обсуждение. При исследовании этанольного извлечения раkitника русского методом бумажной хроматографии в 2 % уксусной кислоте в УФ – свете было обнаружено 5 пятен синей, бирюзовой и желтой флюоресценции, из которых 3 пятна соответствуют фенолкарбоновым и гидроксикоричным кислотам , 2 – флавоноидам.

Табл. 2.

Идентифицированные фенилпропаноиды раkitника русского

№	Вещество	Содержание (мг/100г)	Время удерживания, мин	Спектральные характеристики (макс., нм)
1	Хлорогеновая к - та	53.5	13.14	221-248-298-321
2	Произв. р - кумаровой к-ты	76.2	15.66	212-225-310
3	Ориентин	932.1	17.68	214-258-270-348
4	Изоориентин	2237.2	18.02	210-256-268-349
5	Витексин	226.4	18.9	218-268-330
6	Рутин	108.5	20.0	200-255-269-349

При двумерном хроматографировании методом БХ было выявлено 10 фенольных соединений, из которых 5 отнесены к фенилкарбоновым и гидроксикоричным кислотам, 5 – к флавоноидам. По значениям R_f и характерному окрашиванию

пятен после обработки хромогенными реактивами при дневном свете, а также флюоресценции в УФ - свете до и после обработки хромогенными реактивами в сравнении с достоверными образцами идентифицировали: хлорогеновую кислоту, производные р - кумаровой кислоты, ориентин, изоориентин, витексин, рутин.

Метанольный экстракт раkitника русского исследовали методом ВЭЖХ (Рис. 1).

В результате исследования методом ВЭЖХ было обнаружено и идентифицировано 6 веществ, качественный состав и количественное содержание их в сырье приведено в Табл. 2.

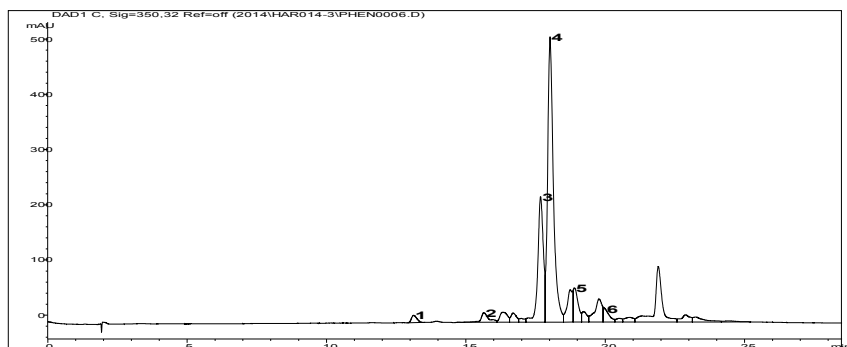


Рис. 1. Хроматографический профиль экстракта раkitника русского

Раkitник русский содержит (мг/100г сырья) гидроксикоричные кислоты: хлорогеновая — 53.5; произв. р - кумаровой кислоты — 76.2; флавоноиды: ориентин — 932.1; изоориентин — 2237.2; витексин — 226.4; рутин — 108.5. Основным компонентом гидроксикоричных кислот являются производные р - кумаровой кислоты, а основным компонентом среди флавоноидов - изоориентин.

Выводы.

В раkitнике русском методом БХ выявлено 10 веществ фенольной природы.

Впервые методом ВЭЖХ идентифицировано и определено содержание 6 фенилпропаноидов: хлорогеновая кислота, производное п-кумаровой кислоты, ориентин, изоориентин, витексин и рутин.

Список литературы

1. Кречетович В. И. Род 786. Раkitник - *Cytisus* L. // Флора СССР. В 30 т / Гл. ред. акад. В. Л. Комаров; Ред. тома Б. К. Шишкин. - М.-Л.: Изд-во АН СССР, 1945. - Т. XI. - С. 75- 432 с. - 4000 экз.

-
2. Косев П.А. Полный справочник лекарственных растений.- М.: ЭКСМО – Пресс, 2001. – 992 с.
 3. Ильина Т.В. Хроматографическое исследование фенилпропаноидов травы *Galium carpaticum* Klok. / Т.В. Ильина, А.М. Ковалева, О.В. Горячая // Фармаком. – 2010. - № 3. – С. 36-40.
 4. Chemical constituents of *Galium verum* / C. Zhao, J. Shao, D. Cao, Y.Zhang, X. Li // *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*. 2009. – Vol. 34, № 21. – P. 2761 – 2764.
 5. Phenolic compounds from *Galium aparine* var. *tenerum* / J. Yang, X. Cai, S. Mu, X. Yang // *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*. – 2009. – Vol. 34, № 14. – P. 1802 – 1804.
 6. Хенке Х. Жидкостная хроматография. – М.: Мир химии, 2009. – 264 с.
 7. Rapid HPLC Analysis of Phenolic Compounds in Red Wines / M. Ibern – Gomez, C. Andres – Lacueva, R. M. Lamuela – Raventos, A. L. Waterhouse // *Am. J. Enol. Vitic.* – 2002. – Vol. 53, № 3. – P. 218 – 221.
-

УДК 665.947.4

ГИДРОТРОПНЫЙ ЛИГНИН, ВЫДЕЛЕННЫЙ ИЗ МИСКАНТУСА

Денисова М.Н.

ФГБУН Институт проблем химико-энергетических технологий Сибирского
отделения Российской академии наук, Бийск, Россия, тел. 8(3854)305985,
e-mail: aniram-1988@mail.ru

Лигнин является самым распространенным после целлюлозы и гемицеллюлоз природным полимером, содержащим значительное количество функциональных групп, и может быть использован для получения целого ряда ценных продуктов [1]. Актуальность исследований в области химии лигнина обусловлена необходимостью решения проблем его применения или утилизации, так как этот полимер является сопутствующим продуктом при получении целлюлозы из растительного сырья. Лигнины, получаемые в производстве целлюлозы, чаще всего не находят должного применения, а идут на сжигание при регенерации химикатов. Гидротропный способ переработки растительного сырья позволяет получить лигнин, который может быть использован в дальнейшем для получения полезных продуктов. Согласно исследованиям Мак Ки [2], гидротропный лигнин близок по своим характеристикам к нативному полимеру и обладает повышенной реакционной способностью. Трейнард и Эймери [3] также подробно исследовали препараты гидротропного лигнина тополевой древесины и пришли к выводу, что гидротропный лигнин близок к

природному. В связи с тем, что экстракция лигнина при гидротропной варке происходит в среде с pH 7,4 (нейтральная среда), природный лигнин не претерпевает серьезных химических изменений.

Целью настоящей работы является исследование лигнина, выделенного из мискантуса в процессе гидротропной варки.

Мискантус (Веерник китайский *Miscanthus sinensis* – Anders) является энергетическим растением. Исследователи рассматривают эту техническую культуру как перспективный легковозобновляемый источник целлюлозы. Массовая доля кислотонерастворимого лигнина в мискантусе составляет 19,1-21,11 % (в пересчете на абсолютно сухое сырье) [4, 5].

Выделение лигнина осуществляли методами высаживания и фильтрации на фильтре под вакуумом. Гидротропный лигнин получали из отработанного варочного раствора после проведения варки мискантуса 30 %-ным раствором C_6H_5COONa . Для этого предварительно отфильтрованный варочный раствор (pH = 5, $\rho = 1,127 \text{ г/см}^3$, $\eta^{20} = 1,64$) нагревали до температуры 50-55°C, добавляли к нему порцию воды в количестве, обеспечивающем расчетную концентрацию C_6H_5COONa в растворе, равной 10 % (соотношение 1:3). Для коагуляции лигнина смесь оставили на 12-24 ч при комнатной температуре. После чего отстоявшуюся жидкость декантировали и суспензию отфильтровали. Осадок промывали дистиллированной водой с температурой 40°C 3 раза по 1 л, сушили при комнатной температуре. Каждый опыт проведен от 2 до 3 раз в одинаковых условиях.

В результате одного цикла гидротропной варки выход воздушно-сухого лигнина составил 10-15 % в зависимости от модуля варки и наличия операции предгидролиза [5, 6]. Гидротропный лигнин представляет собой мелкодисперсный порошок темно-коричневого цвета. Ранее в работах другого автора [7] было показано, что часть лигнина или его конденсированных продуктов, все же остается в варочном растворе и может достигать 5 % от общего содержания лигнина выделенного из сырья. Полученные в настоящей работе данные подтверждают это положение.

Анализ полученного лигнина показал, что массовая доля золы в лигнине составляет 2,0-2,3 %. Элементный состав гидротропного лигнина мискантуса представлен С – 61,00 %, Н – 5,50 %, О – 31,42 %.

Для полученного лигнина мискантуса сняты ИК-спектр (рис. 1) и термогравиметрическая кривая (рис. 2). В литературе отсутствуют описания ИК-спектров гидротропных лигнинов

мискантуса.

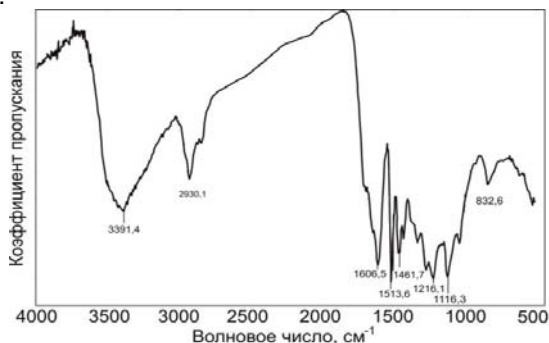


Рис. 1. ИК-спектр гидротропного лигнина мискантуса

В ИК-спектре образца лигнина мискантуса присутствуют полосы поглощения, характеризующие его ароматическую природу и функциональный состав. В спектре наблюдаются те же характерные полосы поглощения, что и в спектрах лигнинов, описанных в литературе [8]. Наблюдаются следующие полосы поглощения: 3391 см^{-1} – валентные колебания гидроксильных групп, в области $3000\text{--}2800\text{ см}^{-1}$ проявляются валентные колебания метиленовых и метиновых групп; отсутствие полосы при 1700 см^{-1} обусловлено, по-видимому, незначительным количеством или полным отсутствием карбонильных групп. Интенсивные полосы в области 1607 см^{-1} ; 1514 см^{-1} ; 1462 см^{-1} характеризуют ароматическую природу лигнинов. Полосы в области $1608\text{--}1598\text{ см}^{-1}$ обусловлены валентными колебаниями $\text{C}=\text{C}$ связи в бензольном кольце. Полоса 1514 см^{-1} является характерной для лигнинов с гваяцильной структурой. Полосы поглощения 1462 см^{-1} и 1116 см^{-1} относятся к колебаниям арил-алкильных эфиров, главным образом, колебаниями метоксильных групп. Интенсивное поглощение в этих областях свидетельствует о наличии в молекуле сиригильных структурных единиц, имеющих на одну CH_3O -группу больше. Поглощение в области 1216 см^{-1} относят к валентным колебаниям фенольных OH -групп. Полосы в области 833 см^{-1} обусловлены внеплоскостными колебаниями C-H связей для замещенных бензольных колец и наблюдаются во всех природных лигнинах.

Проведен термогравиметрический анализ выделенного лигнина мискантуса. Эксперимент выполнен в диапазоне температур $20\text{--}600\text{ }^{\circ}\text{C}$. Масса образца $2,349\text{ мг}$, скорость нагрева образца $10\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{мин}$. На рисунке 2 показаны кривая изменения массы образца и кривая тепловых эффектов в диапазоне температур эксперимента.

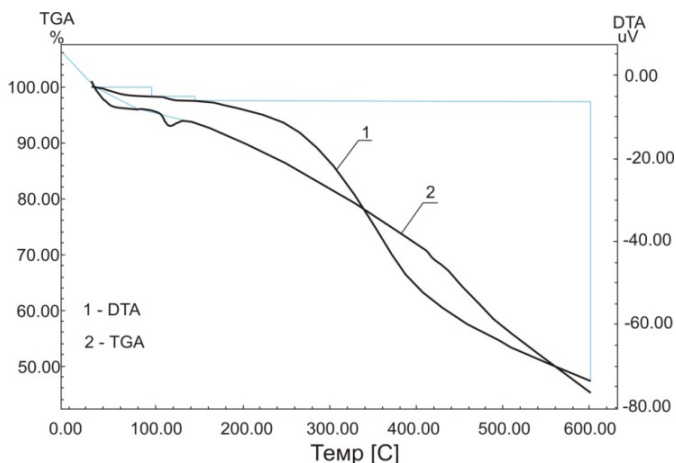


Рис. 2. Термогравиметрическая кривая гидротропного лигнина мискантуса

В интервале температур 20,00-72,71 °C происходит потеря массы $\Delta P=1,745$ %, сопровождающаяся эндотермическим пиком. При 105,3 °C происходит потеря массы $\Delta P=0,851$ % с эндотермическим пиком в диапазоне температур 105,3-128,63 °C. В пределах 170-600 °C происходит равномерная потеря массы образца $\Delta P=49,975$ %, сопровождающаяся равномерным изменением теплоемкости образца. После эксперимента остаток составил $P_{\text{ост.}}=47,425$ %. Состояние образца после опыта: частицы черного цвета, неправильной формы, плавление исходного образца не произошло.

Проведены исследования по получению лигнина, растворимого в ацетоне, из гидротропного лигнина мискантуса [9, 10]. Показано [9], что лигнин, растворимый в ацетоне, обладает свойствами термопластичных веществ и может рассматриваться как ингредиент композиционных материалов в качестве связующего компонента в древесно-стружечных плитах. Продукты дальнейшей деградации лигнина, растворимого в ацетоне, метанолом в сверхкритических условиях [10], могут представлять интерес как компоненты жидких моторных топлив.

Таким образом, на основании проведенных исследований можно заключить, что при переработке растительного сырья гидротропным способом, кроме целлюлозы, возможно, получать реакционноспособный лигнин для последующих химических реакций с получением ценных продуктов.

Список литературы

1. Гоготов А.Ф., Рыбальченко Н.А., Бабкин В.А. Достижения и проблемы переработки лигнина в ароматические альдегиды (обзор) // Химия в интересах устойчивого развития. – 2001. – № 9. – С. 161-167.
2. McKee R.H. Use of hydrotropic solutions in industry // Industrial and Engineering Chemistry. – 1946. – V. 38, – № 4. – P. 382-384.
3. Traynard Ph., Eimery A. Delignification des Vegetaux par les Solutions hydrotropiques. I – Mecanisme de la delignification // Holzforschung. – 1955. – V. 9, № 6. – P. 172–177.
4. Гисматулина Ю.А. Исследование химического состава мискантуса сорта Сорановский урожая 2013 г // Фундаментальные исследования. – 2014. – № 1–1. – С. 47-50.
5. Денисова М.Н., Митрофанов Р.Ю., Будаева В.В., Архипова О.С. Целлюлоза и лигнин, полученные гидротропным способом из мискантуса // Ползуновский вестник. – 2010. – № 4. – С. 198-206.
6. Денисова М.Н., Будаева В.В., Ильясов С.Г., Черкашин В.А., Сакович Г.В. Гидротропный способ переработки целлюлозосодержащего сырья // Ползуновский вестник. – 2013. – № 3. – С. 179-184.
7. Hong Lau M. S. Bamboo pulp by use of a hydrotropic solvent // The Paper Industry and Paper World. – 1941. – № 23. – P. 247.
8. Новый справочник химика и технолога. Сырье и продукты промышленности органических и неорганических веществ. – Ч.П. – СПб.: НПО «Профессионал», 2006. – 916 с.
9. Ильясов С.Г., Черкашин В.А., Сакович Г.В. Деполимеризация лигнина гидротермальным методом // Химия растительного сырья. – 2013. – № 4. – С. 21-27.
10. Ильясов С.Г., Черкашин В.А., Сакович Г.В. Деполимеризация ацетонлигнина метанолом в сверхкритических условиях // Ползуновский вестник. – 2013. – № 3. – С. 159-162.

ФЕНОЗАН КАЛИЯ ИЗМЕНЯЕТ ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ МИТОХОНДРИЙ ПРОРОСТКОВ ГОРОХА

Жигачева И.В., Бурлакова Е.Б., Голощاپов А.Н.

ФГБУН Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва,
Россия; тел.: +7(495)939-74-09; e-mail: zhigacheva@mail.ru

Митохондрии, являясь одним из центральных звеньев энергетического обмена, играют особую роль в ответе организма на стрессовые воздействия. Стрессовые факторы увеличивают потребности клетки в энергетических ресурсах. Они вызывают перестройки структурно-функциональных характеристик митохондрий [1]. В том случае, когда изменения в энергетике этих

органелл не могут удовлетворить все возрастающие потребности клетки в энергетических ресурсах, наблюдается избыточная продукция АФК и нарушение биоэнергетических функций митохондрий. Активные формы кислорода способны снижать или даже ингибировать активность ферментов митохондрий, содержащих Fe-S кластеры [2]. Накопление в этих органеллах H_2O_2 может привести к взаимодействию перекиси водорода с Fe^{2+} митохондрий, что, вероятно, будет способствовать образованию $\text{OH}\cdot$ путем реакции Фентона и активации перекисного окисления липидов (ПОЛ). Образование в результате ПОЛ гидрофильных продуктов окисления изменяет структуру липидного бислоя мембран в гидрофобных участках. При этом создаются условия для пассивного транспорта ионов и метаболитов и, тем самым в известной степени (в зависимости от интенсивности окислительного процесса), нарушается координация и специфичность мембранных процессов [3]. Кроме того, в результате ПОЛ образуются токсические для клеток растений и животных продукты: альдегиды и 4-гидрокси-2,3-нонениалы. Эти токсиканты ингибируют ферменты, вовлеченные в основные метаболические пути: одни из них – в фотодыхание (у растений), другие – в цикл трикарбоновых кислот, что влияет на транспорт электронов в дыхательной цепи митохондрий за счет истощения пула NADH в матриксе митохондрий [4]. По этой причине довольно актуальна проблема поиска новых препаратов, обладающих адаптогенными свойствами.

Мы предположили, что данные вещества в первую очередь должны влиять на генерацию АФК митохондриями. На такую роль в первую очередь претендуют антиоксиданты, в частности синтетические фенольные антиоксиданты, имеющие довольно высокие коэффициенты взаимодействия с пероксильными радикалами (k_7) [5]. Выбор именно этого класса антиоксидантов обусловлен, прежде всего, простотой их производства, высокой эффективностью обрыва цепей, возможностью изменения свойств в широких пределах за счет варьирования заместителей и малой токсичностью [6]. В качестве объекта исследования был выбран фенозан калия (калиевая соль 2,6-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил-пропионовой кислоты), относящийся к пространственно-затрудненным фенолам (рис. 1).

Нашими исследованиями было показано, что фенозан калия повышает устойчивость животных к действию стрессовых факторов [7]. Поскольку дыхательная цепь митохондрий растений и животных имеет общий план организации, то можно было предположить, что фенозан калия, предотвращая дисфункцию

митохондрий, будет повышать устойчивость растений к абиотическому стрессу.

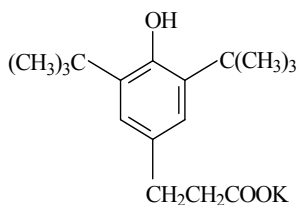


Рис. 1 Фенозан калия

Целью работы было также изучение влияния фенозана калия на биоэнергетические характеристики митохондрий 6-дневных этилированных проростков гороха (*Pisum sativum* L.) сорт Альфа.

Материалы и методы. Выделение митохондрий из эпикотилей 6-дневных этилированных проростков гороха проводили методом дифференциального центрифугирования (при 25000 g в течение 5 мин и при 3000 g в течение 3 мин.). Осаждение митохондрий проводили в течение 10 мин при 11000 g. Осадок ресуспендировали в 2-3 мл среды, содержащей: 0,4 М сахарозу, 20 мМ KH_2PO_4 (pH 7,4), 0,1% БСА (свободный от жирных кислот) и вновь осаждали митохондрии при 11000 g в течение 10 мин.

Регистрацию потребления кислорода митохондриями проводили полярографическим методом, используя полярограф LP-7 и кислородный электрод типа Кларка. Стандартная среда инкубации митохондрий содержала: 0,4 М сахарозу, 20 мМ HEPES-Tris-буфер (pH 7,2), 5 мМ KH_2PO_4 , 4 мМ MgCl_2 , и 0,1% БСА. В качестве субстратов использовали малат (10 мМ) + глутамат (10 мМ).

Модель недостаточного увлажнения. Семена гороха промывали водой с мылом и 0,01% раствором KMnO_4 . Контрольную группу семян замачивали в воде, а опытную группу – в 10^{-14} М растворе фенозана калия. Длительность замачивания – 30 мин. Затем семена переносили на влажную фильтровальную бумагу, где они находились в темноте при температуре воздуха 22°C . Спустя 2 суток проростки, обработанные фенозаном («НУ+ФЕН») и половину проростков, замоченных в воде («НУ»), переносили на сухую фильтровальную бумагу, где они находились в течение 2 суток. Через двое суток все проростки переносили на влажную фильтровальную бумагу. Проростки контрольной группы («КОН») в течение всего эксперимента находились на влажной фильтровальной бумаге. На 6 сутки выделяли митохондрии.

Уровень перекисного окисления липидов (ПОЛ) оценивали флуоресцентным методом, используя спектрофлуориметр "Fluoro-Max-HoribaYvon GmbH" (Германия) [8]. Длина волны возбуждения флуоресценции была 360 нм, испускания – 420-470 нм. Статистическая обработка экспериментальных данных проводилась путем определения средних арифметических и их стандартных ошибок. Достоверность различий между вариантами со значимостью $P \leq 0,05$.

Результаты и обсуждение. Поскольку в условиях стресса одним из основных источников АФК являются митохондрии, то исследование антистрессовых свойств препарата в первую очередь проводили на модели, имитирующей стресс – модели «старения» митохондрий [7]. «Старение» приводило к увеличению содержания продуктов перекисного окисления липидов в 3-4 раза. Введение фенозана калия в среду инкубации митохондрий проростков гороха снижало флуоресценцию продуктов ПОЛ и носило дозовую зависимость. При этом наиболее эффективными были концентрации концентрациях 10^{-8} - 10^{-16} и 10^{-18} - 10^{-21} М.

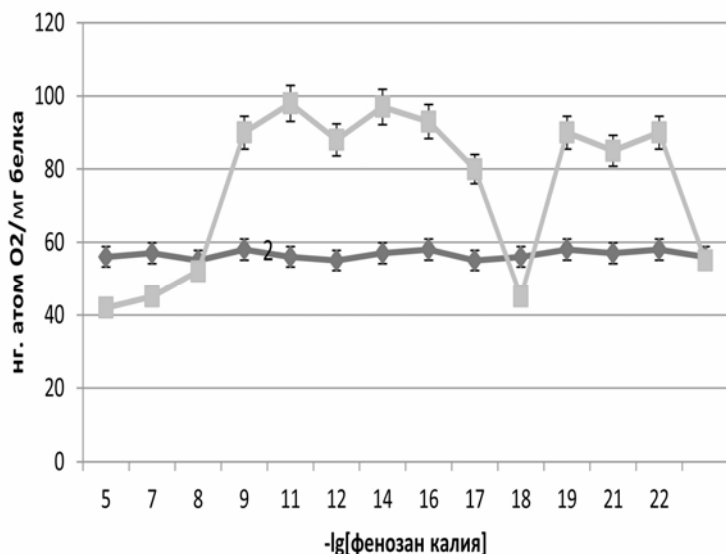


Рис.1. Влияние различных концентраций фенозана калия на скорости окисления НАД-зависимых субстратов в присутствии 10^{-6} М FCCP (карбонилцианид-п-трифторметоксифенилгидразон) митохондриями проростков гороха. 1-Фенозан калия. 2-Контроль (фенозан калия не вводили в среду инкубации).

Сходное влияние оказывал препарат и на биоэнергетические характеристики митохондрий. В этих концентрациях препарат повышал скорости окисления НАД-зависимых субстратов на 13-17% в присутствии АДФ и на 64-73% в присутствии FCCP. Эффективность окислительного фосфорилирования в данном случае возрастала на 11% (рис.1). Необходимо подчеркнуть, что препарат во всех исследуемых концентрациях не влиял ни на максимальные скорости окисления, ни на величину дыхательного контроля при окислении сукцината митохондриями проростков, что, вероятно, свидетельствует об адаптивном характере действия фенозана калия. Отметим, что прорастающие семена характеризуются довольно низкими скоростями окисления НАД-зависимых субстратов. Стимулируя рост активности НАД-зависимых дегидрогеназ, препарат, вероятно, может способствовать активации энергетических процессов в клетке и повышать устойчивость проростков к действию стрессовых факторов [9].

Действительно, фенозан оказывал протекторный эффект в условиях недостаточного увлажнения: он в 5 раз увеличивал длину корней проростков в условиях недостаточного увлажнения. При этом длина побегов возрастала в 3 раза (рис.2).

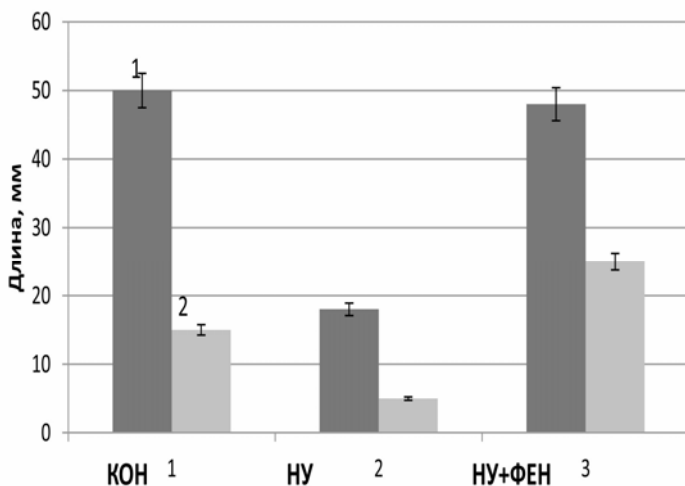


Рис 2. Влияние недостаточного увлажнения (НУ) и обработки семян гороха фенозаном калия (НУ+ФЕН) на длину побегов и корней 6-дневных проростков гороха 1-Побег. 2-Корень

Каков же механизм действия препарата? Как показано Пальминой Н.П.[10], фенозан калия 10^{-9} - 10^{-10} и 10^{-14} - 10^{-16} М изменял микровязкость аннулярного липидного бислоя (~20 А) мембран эндоплазматического ретикулума. Эти изменения коррелировали с ингибированием препаратом ПОЛ ($r=0,551$; $p=0,033$). Таким образом, влияние препарата на биоэнергетические характеристики митохондрий и его возможное применение в качестве регулятора роста растений, вероятно, обусловлено антиокислительной активностью фенозана калия.

Список литературы

1. Грабельных О.И. J. Stress Physiol. Biochem, 2005 V. 1 (1), 38-54.
2. Sweetlove L.J., Heazlwood J.L, Heard V. et. al. The Plant J., 2002, V. 32, 891-904
3. Чиркова Т.В. СОЖ, 1977, Т. 9, 12-17.
4. Tailor N.L., Day D.A., Millar A.H. J. of Exp. Botany, 2003.V. 55 (394), 1-10.
5. Ковтун Г.А. Катализ и нефтехимия, 2000,4, 1-9
6. Рогинский В.А. Фенольные антиоксиданты: Реакционная способность и эффективность. 1988, М.: Наука 247с.
7. Жигачева И.В., Бурлакова Е. Б. Биол. мембраны 2013, Т. 30 (4), 313-321.
8. Fletcher B.I., Dillard C.D., Tappel A.L. Anal. Biochem., 1973,V. 52, 1-9
9. Генерозова И.П., Шугаев А.Г. /Физиология растений. 2012. Т. 59, 262-273.
10. Пальмина Н. П., Т. Е. Часовская, В. В. Белов, Е. Л. Мальцева. ДАН, 2012, Т. 443 (4), 511-515

УДК 547.492

ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ВЫДЕЛЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ РАСТЕНИЙ РОДА *LIMONIUM MILL*

Жусупова А.И., Гадецкая А.В., Жусупова Г.Е.

Казахский национальный университет им. аль-Фараби, Алматы, Казахстан,
тел.: +7-707-463 1638, aizhan.zhusupova@gmail.com

Растения рода кермек (*Limonium Mill*) семейства свинчатковых (*Plumbaginaceae*) представлены во флоре Казахстана 18 видами, из них – *L. gmelinii* и *L. myrianthum* имеют промышленные запасы на территории Республики Казахстан и их производственный запас на площади свыше 160 тыс. га превышает 54,4 тыс. тонн. На одной территории с ними произрастают четыре других вида этих растений: *L. suffruticosum*, *L. leptophyllum*, *L.*

otolepis u *L. popovii* [1-5].

При создании лекарственных препаратов на основе растительного сырья особую значимость приобретает комплексное использование всех видов одного и того же рода растений, особенно в случае их совместного произрастания на одной территории, что обеспечивает рациональное использование природных ресурсов. Однако для окончательного принятия решения о совместном применении различных видов одного и того же растения необходимо в сравнительном аспекте установить их доброкачественность, химический состав, технологию извлечения и фармакологическое действие.

Исследование лекарственного растительного сырья начинается с его товароведческого анализа, требующее определение его идентичности, товарной влажности, зольности, содержания тяжелых металлов, радионуклидного контроля, микробиологической чистоты и количественной оценки действующих веществ. Влажность, как корней, так и надземной части растений, не превышает значений данного показателя для фармакопейных образцов (от 10 до 20 % для надземной части растений и 12-15 % для корней) [6-7]. «Общая зола» показывает количество минеральных веществ, содержащихся как в самом сырье, так и в примесях. Содержание общей золы наиболее высокое для корней *L. popovii* (11,64 %), наименьшее – *L. myrianthum* (3,75 %).

Для надземной же части наименьший процент общей золы приходится на *L. suffruticosum* (7,07 %), наибольший на *L. gmelinii* (15,31 %). Эта же закономерность сохраняется и для сульфатной золы *L. gmelinii* (18,32 %), количество которой, как правило, соизмеримо с содержанием в растениях металлов, образующих нерастворимые сульфаты. К таким металлам относится и кальций, содержание которого, как показал микроэлементный анализ исследуемых растений, в них значителен. Растения рода *Limonium* Mill, как известно, содержат канальца, удаляющие избыточное количество кальциевых и натриевых солей из почвы и, по-видимому, этим и объясняется большое количество образующейся сульфатной золы [2]. «Зола, нерастворимая в 10 % HCl», характеризует примесь кремнезема, которого тем больше, чем больше было в сырье минеральных примесей. Значения этого показателя для надземной части исследуемых видов растений кермек варьирует от 0,24 % (*L. otolepis*) до 3,09 % (*L. leptophyllum*). Для корней он изменяется от 0,71 % (*L. gmelinii*) до 3,91 % (*L. popovii*), в то время как для фармакопейных образцов растений этот показатель колеблется в пределах от 0,5 % до 12 %

(надземная часть) и от 0,5 % до 10 % (корни).

Все установленные показатели свидетельствуют о хорошем качестве сырья и о невысоком содержании в нем минеральных примесей. В комплексе биологически активных соединений наибольшее содержание приходится на дубильные вещества, причем содержание их в корнях выше, чем в надземной части (от ~5 % в корнях *L. leptophyllum* и *L. popovii*, до ~26 % – *L. gmelinii*). Содержание флавоноидов, свободных органических кислот, углеводов и других биологически активных веществ (БАВ) в растениях является также значительным. Для обеспечения полноты извлечения действующих веществ из всех видов исследуемого лекарственного растительного сырья, максимальной скорости экстрагирования, обеспечения селективности и минимального растворения балластных веществ были подобраны оптимальные условия экстрагирования. При производстве растительных субстанций, выделяемых в виде сухих экстрактов из сырья, определяющими факторами являются продолжительность экстракций и их число, обеспечивающие полноту извлечения БАВ из сырья, а в равновесных способах равновесие в системе твердое тело-жидкость.

Продолжительность экстракций зависит от ряда факторов, основными из которых являются размер частиц сырья, температура, природа и объём используемого растворителя [8-9]. Для определения степени измельчения растительного сырья проводили ситовой анализ с помощью сит, используемых для анализа лекарственного сырья по общепринятой методике. Установлено, что размер частиц не должен превышать 3,0 мм [6-7]. При этом в исходном материале сохраняется клеточная структура и преобладают диффузионные процессы, а полученная вытяжка содержит меньше механических примесей и легче очищается [8]. При экстракции вначале происходит смачивание и набухание сырья, затем извлечение экстрагируемых веществ. Настаивание сырья с растворителем проводится до достижения динамического равновесия между количеством веществ, переходящих из сырья в экстрагент и из полученного извлечения обратно в сырьё, в единицу времени [8-9]. Установлено, что наиболее подходящими растворителями, извлекающими наибольшую сумму экстрактивных веществ из исследуемых растений, являются этиловый спирт (40-70 %) и водный раствор ацетона (40-60 %).

Максимальное же их извлечение достигается при использовании в качестве экстрагента 50 % этилового спирта и 50 % ацетона. Из отобранных в эксперименте двух экстрагентов был выбран 50 % этиловый спирт, так как он отличается от 50 %

ацетона, прежде всего, своей значительно меньшей токсичностью для организма, а также и стоимостью, что обуславливает, в свою очередь, экономическую и экологическую выгодность его применения. Выбранный экстрагент обладает высокой смачивающей способностью, которая обеспечивает хорошее проникновение его через поры материала и стенки клеток, обеспечивает лучшую инактивацию ферментов и уменьшает возможность гидролитических процессов в его среде. Кроме того, применение 50 % этилового спирта для экстракции лекарственного растительного сырья в отличие от 50 % ацетона не требует определения остаточных количеств растворителя в субстанциях, получаемых в виде сухих экстрактов, при их стандартизации для составления нормативной документации и регистрационного досье.

Следующим этапом оптимизации получения субстанций из исследуемых видов растительного сырья было выяснение оптимального соотношения сырья и выбранного в эксперименте экстрагента. Известно, что движущей силой массопереноса является разность концентраций веществ внутри и вне растительной клетки. Очевидно, что при неизменном количестве растительного материала, чем больше экстрагента будет участвовать в экстракционном процессе, тем больше вещества будет растворено и вынесено за пределы клетки в межклеточное пространство. Вместе с тем, увеличение количества экстрагента приведет к уменьшению концентрации БАВ в экстракте, поэтому оно не может быть бесконечным. В силу этого, при определении оптимального объема выбранного экстрагента, изменяли соотношение сырья и экстрагента от 1:3 до 1:12.

При этом постоянными факторами процесса экстракции были: масса сырья (50 г), время экстракции (24 часа) и температура 20-23 °С. Через каждые 0,5 часа экстракции в течение 5 минут проводили интенсивное перемешивание экстрагируемого растительного сырья. Экспериментально показано, что при использовании выбранного экстрагента наибольшее извлечение экстрактивных веществ из исследуемых объектов возможно при соотношении сырье-экстрагент от 1:5 до 1:8, тогда как изменение этого соотношения в меньшую или большую сторону существенно снижает их выход. Так как максимальное извлечение субстанции наблюдается при использовании шестикратного избытка экстрагента (1:6) для экстракции корней всех видов сырья и восьмикратного для их надземной части (1:8), то эти соотношения и были взяты за основу для их экстрагирования. Известно, что на первой стадии экстрагирование из обезвоженного сырья с клеточной структурой начинается с проникновения экстрагента в

материал, смачивания веществ, находящихся внутри клетки, растворения и десорбции их.

Далее следует молекулярный перенос растворенных веществ вначале в экстрагент, находящийся в межклеточном пространстве, затем в экстрагент, заполняющий микро- и макротрещины, и, наконец, на поверхность кусочков материала. В связи с этим, было изучено оптимальное время экстракции, необходимое для максимального извлечения субстанции из сырья и оно варьировалось от 1 до 72 часов. Наиболее интенсивное извлечение экстрактивных веществ происходит за первые 3 часа экстракции, а их максимальное содержание достигается в течение 5-7 часов. При дальнейшей экстракции перехода экстрактивных веществ в экстрагент не наблюдается. Учитывая полученные данные, а также сменность на производстве, было выбрано 5-и или 6-и часовое время экстракции для исследуемых видов сырья. Температурный режим процесса экстракции изменяли от 20-25°C до 60°C при постоянстве всех других параметров: массы сырья (50 г), объема растворителя (300 мл для корней, 400 мл для надземной части) и времени экстракции (5 часов).

Количество экстрактивных веществ увеличивается с повышением температуры до 50 °C, но это изменение было незначительным при сравнении с таковым при температуре 20-23 °C. Начиная с 50 °C, наблюдается тенденция его снижения, что, по-видимому, связано с экстрагированием наряду с целевыми соединениями балластных веществ из растительного сырья или же возможном осмолении имеющихся в сырье олигосахаридов и восстановленных форм флавоноидов. При проведении экстракции сырья путем его настаивания без использования интенсифицирующих этот процесс факторов, ее скорость обеспечивается только скоростью молекулярной диффузии внутри кусочков растительного материала. Диффузионный поток возникает при этом за счет кинетической энергии молекул диффундируемого вещества. Кроме того, большой слой неподвижного экстрагента может тормозить процесс массопереноса в жидкой фазе [8-9]. В связи с этим была проведена серия опытов по установлению влияния периодического перемешивания сырья на полноту его экстракции при постоянстве массы сырья, его соотношения с экстрагентом, времени и температуры экстракции.

Установлено, что периодическое перемешивание сырья интенсифицирует процесс экстракции всех исследуемых объектов и при этом количество извлекаемой суммы экстрактивных веществ

увеличивается. В силу своей поглощающей способности, сырье удерживает часть экстрагента внутри клеток, на своей поверхности и между кусочками сырья. Концентрация экстрагируемых веществ в нем будет равна концентрации их в слитом экстракте, т.е. не все извлеченные вещества из растения перейдут в соответствующий экстракт. В связи с этим, при производстве экстрактов необходимо было установить возможное число экстракций, требуемых для максимального истощения сырья. Условия экстракции следующие: масса сырья (50 г), объем экстрагента (300 мл для корней, 400 мл для надземной части), температура экстракции (20-23°C), время экстракции – 5 часов при периодическом перемешивании сырья. Как следует из данных эксперимента, экстракция должна быть проведена дважды для максимального извлечения комплекса БАВ из сырья.

Таким образом, на основании экспериментальных исследований установлены оптимальные условия извлечения комплекса БАВ из исследуемых растений рода кермек.

Список литературы

1. Лекарственные растения Казахстана и их использование. - Алматы: Гылым, 1996. - 344 с.
 2. Флора СССР. - М.: АН СССР, 1952. - Т. XVIII. - С. 411-467.
 3. Флора Казахстана. - Алма-Ата: Наука, 1961. - Т. VII. - С. 79-80.
 4. Атлас ареалов и ресурсов лекарственных растений Казахстана /Под науч. ред. д.б.н. М.К. Кукунова, Алматы. - Гылым. - 1994. - С.41.
 5. Кукунов М.К. Ботаническое ресурсосведение Казахстана. - Алматы: Гылым, 1999. - 160 с.
 6. European Pharmacopoeia. - Strasburg, 2001. - 1705 p.
 7. Государственная фармакопея Республики Казахстан. - Алматы: Издательский дом «Жибек жолы», 2009. - Т.2. - 805 с.; 2014. - Т. 3. - 872 с.
 8. Азарян Р. А., Муравьев И.А. Способ расчета расходных и загрузочных норм на растительное сырьё и экстрагент при производстве суммарных экстракционных препаратов // Фармация. - 1985. - № 2. - С. 44-46.
 9. Чуешов В.И., Чернов Н.Е, Хохлова Л.Н., Богуславская Л.И. и др. Промышленная технология лекарств. - Харьков: НФАУ МТК - Книга, 2002. - Т. 1, 2. - 560, 716 с.
-

УДК: 615.322:582.998.16

ИЗУЧЕНИЕ ОРГАНИЧЕСКИХ КИСЛОТ ПИЖМЫ ОБЫКНОВЕННОЙ

Золотайкина М.Ю.¹, Гонтовая Т.Н.¹

¹НФаУ, Харьков, Украина, marg-vodopyanova@yandex.ru

Методом хромато-мас-спектрометрии изучен качественный состав органических кислот в цветках и листьях пижмы обыкновенной, определено их количественное содержание.

Ключевые слова: пижма обыкновенная, цветки, листья, органические кислоты.

В современной медицине актуальным является использование препаратов растительного происхождения для лечения различных заболеваний человека. В связи с этим повышается интерес к изучению лекарственных растений. Это обусловлено такими факторами, как относительная безопасность, по сравнению с синтетическими аналогами, широкий спектр биологической активности данных препаратов, доступность проведения исследований, а так же низкая ценовая политика.

Пижма обыкновенная (*Tanacetum vulgare* L.) – дикорастущее, травянистое, многолетнее растение семейства астровых (*Asteraceae*), широко распространённое на территории Украины и стран СНГ. Лекарственным сырьем являются цветки, которые собирают и сушат при температуре не выше 40°C. Одним из основных классов БАВ цветков пижмы являются фенольные соединения, представленные дубильными веществами, флавоноидами, среди которых преобладают лютеолин, акацетин, кверцетин, фенолкарбоновые и гидроксикоричные кислотами. Также в сырье пижмы содержатся эфирное масло, основными компонентами которого являются α -туйон и β -туйон, туйол, камфора, борнеол, алкалоиды, жирные и органические кислоты, горечи (танацетин). По литературным данным органические кислоты обладают антиоксидантным, антимикробным, противовирусным, бактерицидным, противовоспалительным, гепатопротекторным действием. Однако, данные об изучении органических кислот есть только цветков пижмы обыкновенной, а состав листьев данного растения нами не найден [1,2].

Целью нашей работы являлось исследование компонентного состава органических кислот в листьях и цветках пижмы обыкновенной.

Материалы и методы исследования. Для исследования заготавливали цветки и листья пижмы обыкновенной в период

массового цветения (июль 2014 года) в окрестностях Харьковской области, Коломакского района. Сырье высушивали до воздушно-сухого состояния. Органические кислоты выделяли методом метилирования. Химический состав полученных соединений исследовали методом хромато-масс-спектрометрии на хроматографе Agilent Technologies 6890 с масс-селективным детектором 5973. На основании общих закономерностей фрагментации молекул органических соединений под действием электронного удара рассматривали спектры, а также путем сравнения полученных результатов с базами данных NIST05 и WILEY 2007 в сочетании с программами для идентификации AMDIS и NIST. Количественное содержание веществ рассчитывали методом нормализации по отношению площади пика компонента к сумме площадей всех пиков на хроматограмме [3].

Результаты и обсуждения. В результате исследований в обоих видах сырья пижмы обыкновенной идентифицировано 7 органических кислот, причем установлено, что их содержание больше в листьях, чем цветках (см. рис).

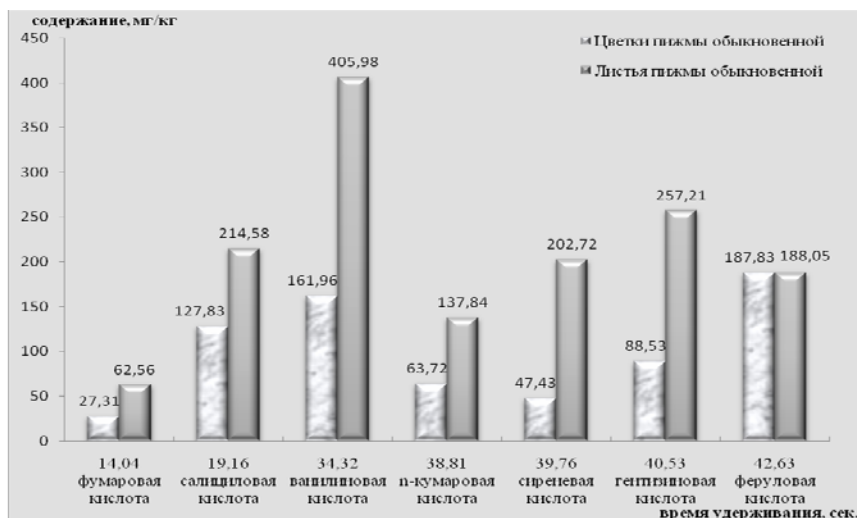


Рис. Компонентный состав органических кислот в цветках и листьях пижмы обыкновенной.

Из фенолкарбоновых кислот в наибольшем количестве в листьях накапливалась ванилиновая кислота (405,58 мг/кг), которая проявляет антибактериальное, противоглистное, противовоспалительное и противогрибковое действие. В цветках ее

содержание было в 2,5 раза ниже, чем в листьях (161,96 мг/кг). Гентизиновая и салициловая кислота в листьях накапливались в количестве 257,21 мг/кг и 214,58 мг/кг, что соответственно в 1,6 и 1,9 раза больше, чем в цветках [4]. Содержание сиреневой кислоты, которая обладает антибактериальными и противогрибковыми свойствами, в листьях было в 4 раза больше, чем в цветках (см. рис). Из гидроксикоричных кислот феруловая кислота в обоих видах сырья накапливалась почти в одинаковых количествах: в листьях - 188,05 мг/кг, а в цветках - 187,83 мг/кг. Количественное содержание п-кумаровой кислоты в листьях больше в 2,2 раза, чем в цветках (137,84 мг/кг, 63,72 мг/кг соответственно). Из дикарбоновых органических кислот в цветках и листьях пижмы обыкновенной идентифицирована фумаровая кислота, которая обладает противовоспалительным и регенерирующим действием. Ее содержание в листьях составило 62,56 мг/кг, что в 2 раза больше, чем в цветках (27,31 мг/кг) [5].

Выводы.

1. Методом хромато-масс-спектрометрии в цветках и листьях пижмы обыкновенной идентифицировано 7 органических кислот. Содержание компонентов органических кислот преобладало в листьях.
2. Из идентифицированных кислот в наибольших количествах в листьях накапливались ванилиновая, гентизиновая, салициловая и сиреневая кислоты, а в цветках ванилиновая, феруловая и салициловая.

Список литературы.

1. Куркин В.А. Основы фитотерапии: Учебное пособие для студентов фармацевтических вузов. Самара: ООО «Офорт», ГОУ ВПО «Сам ГМУ Росздрава». 2009. 963 с.
2. Левицкий А.П. Хлорогеновая кислота: биохимия и физиология / Микробиология и биотехнология // А.П. Левицкий, Е.К. Вертикова, И.А. Селиванская. – 2010. - №2. – с. 1-15
3. Соколова О.А. Изучение органических и жирных кислот, компонентов эфирного масла в клубнях подсолнечника клубненосного / О.А. Соколова, Т.М. Гонтовая, Я.С. Кичимасова // Приложение к журналу «Вестник ВолгГМУ», Материалы V Всероссийского научно-практического семинара «Геномные и протеомные технологии при создании лекарственных средств», 6 -8 ноября 2013г., Волгоград, Россия. – С. 30 – 31.
4. Яковлева А.И., Семенова В.В. Биологически активные вещества пижмы обыкновенной *Tanacetum vulgare* L., произрастающей в центральной Якутии / Яковлева А.И., Семенова В.В. // Химия растительного сырья. – 2010. - №3. – с. 147-152.

-
5. Flavonoids: Chemistry, Biochemistry, and Applications / Edited by Oyvind M. Andersen and Kenneth R. Markham. - Boca Raton; London; New York : CRC Press Taylor & Francis Group, 2006. – 1197 p.
-

ИНГИБИРОВАНИЕ ГЛИФОСАТОМ СИНТЕЗА ПАРА-ГИДРОКСИФЕНИЛ ЭТАНОЛА В КУЛЬТУРЕ *RHODOSPIRILLUM RUBRUM*

Иванова Е.П., Смольгина Л.Д., Сердюк О.П.

ФГБУН Институт фундаментальных проблем биологии РАН, Пущино, 985-155-5571, cheredova@mail.ru

В среде культивирования (СК) пурпурной фотосинтезирующей бактерии *Rhodospirillum rubrum* (*R. rubrum*) Serdyuk et al. в 1995 г. (1) обнаружили соединение с высокой цитокининовой активностью, которое при помощи масс-спектрометрии идентифицировали как пара-гидроксифенил этанол (ГФЭ) (2). В биомассе клеток это соединение не обнаружено (1). В дальнейшем были показаны полезные свойства ГФЭ при его воздействии на растения. Оказалось, что он может повышать устойчивость растений к стрессам, ускорять их рост и развитие, стимулировать фотосинтез, ассимиляцию азота и т.д. (3).

Оставалось неясным происхождение ГФЭ. Существовала вероятность того, что он является продуктом деградации клеток состарившейся культуры. Мы предположили, что это соединение – экзометаболит и активно синтезируется по шикиматному пути биосинтеза ароматических соединений, который присутствует у пурпурных бактерий (4). В этом случае прерывание шикиматного пути должно было привести к отсутствию ГФЭ в среде культивирования бактерии, либо снижению его содержания. Использовали глифосат (5), специфический ингибитор фермента начального этапа шикиматного пути 5-фосфоенолпирувилшкимат-3-фосфат синтетазы. Культуру *R. rubrum* выращивали на среде Хаттнера с добавлением глифосата в диапазоне концентраций 10^{-5} М - 10^{-1} М до стационарной фазы в течение 4-5 суток. Затем из СК проводили экстракцию органическими растворителями с последующей тонкослойной хроматографией (ТСХ) суммарного экстракта. В спиртовом элюате полосы ТСХ, соответствующей ГФЭ, определяли его содержание спектрофотометрически по поглощению света при длине волны 285нм (1,2).

Было установлено, что в присутствии глифосата при концентрациях более 10^{-5} М содержание ГФЭ в СК падало

соответственно росту концентрации ингибитора. При этом параллельно происходило угнетение роста культуры *R. rubrum* (Рис). Так как предполагалось, что ГФЭ синтезируется культурой бактерии и, не накапливаясь внутри клеток, экскретируется в СК, представлялось более корректным учитывать отношение изменения содержания ГФЭ в СК к массе клеток. Этот показатель подтвердил ингибирующее действие глифосата на синтез ГФЭ клетками *R. rubrum*. Установлено, что содержание ГФЭ в пересчёте на грамм сырой массы клеток зависит от концентрации глифосата (Рис.): при 10^{-5} М эффект отсутствовал; при 10^{-4} М установлено снижение на $8\pm 2\%$, а при 10^{-3} М - на $15\pm 3\%$ в сравнении с контролем; при 10^{-2} М и 10^{-1} М эффект максимальный - 90%.

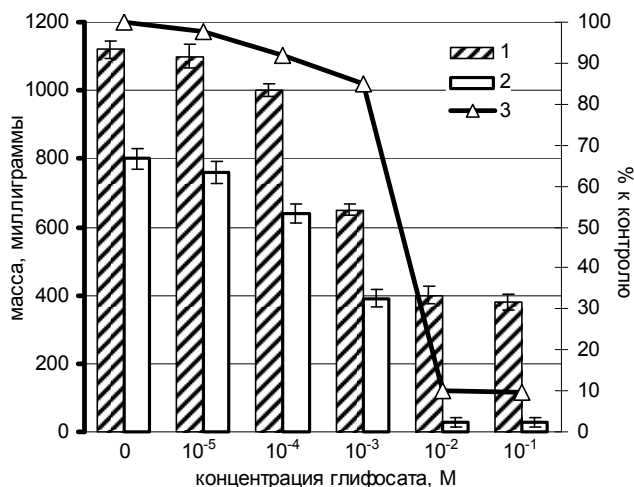


Рис. 1 - масса клеток из 100 мл культуры *Rhodospirillum rubrum* (мг); 2- содержание ГФЭ в 1 литре культуральной среды (мг); 3- количество ГФЭ, синтезируемое единицей массы клеток (% к контролю) в зависимости от концентрации глифосата в среде культивирования.

Полученные результаты однозначно подтверждают предположение о том, что ГФЭ - продукт шикиматного пути биосинтеза и является экзометаболитом клеток *R. rubrum*.

Список литературы.

1. Serdyuk O.P., Smolygina L.D. Muzafarov E.N., Adanin V.M., Arinbasarov M.U. 4-Hydroxyphenethyl alcohol-new cytokinin-like substance from the phototrophic purple bacterium *Rhodospirillum rubrum* 1R. 1995, FEBS Letters, 365: 10-12.

-
2. Olga P. Serdyuk, Lidiya D. Smolygina, Elena P. Ivanova, Aleksey P. Firsov and Peter V. Pogrebnoi. 4-Hydroxyphenethyl alcohol—a new cytokinin-like substance isolated from phototrophic bacterium *Rhodospirillum rubrum*. Exhibition of activity on plants and transformed mammalian cells. 2000, Process Biochemistry, 36(5): 475-479.
 3. Иванова Е.П., Кириллова Л.Л., Сердюк О.П., Смолыгина Л.Д. Применение перспективного природного стимулятора роста 4-гидроксифенэтилового спирта для улучшения качества посевного материала и продуктивности растений амаранта. 2011, Сельскохозяйственная биология, 5: 118-122.
 4. Wilson, D J; Patton, S; Florova, G; Hale, V; Reynolds, K A. The shikimic acid pathway and polyketide biosynthesis. 1998, Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, 20(5): 299–303.
 5. H. Holländer-Czytko, N. Amrhein. Subcellular compartment of shikimic acid and phenylalanine in buck wheat cell suspension cultures grown in the presence of shikimat pathway inhibitors. 1983, Plant Science Letters, 29(1): 89-96.
-

УДК547.631.4:543.42:582.572.7

ФЕНОЛЬНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ КОРНЕВИЩ *IRIS* *CARTHALINIAE*

Исаев Д.И.¹, Гурбанов Г.М.¹, Михайленко О.А.², Ковалев В.Н.²

¹Азербайджанский Медицинский Университет, Баку, Азербайджан, provanalitik@mail.ru

²Национальный фармацевтический университет, Харьков, Украина, gnosy@ukrfa.kharkov.ua, тел.: 8(057)67-92-08, z_ola07@mail.ru, тел. +3(8050)9277385

Введение. В состав рода *Iris* L. (ирис, петушки) семейства *Iridaceae* входит около 200 видов ирисов (Тахтаджян, 1977; Родионенко, 1961, 2002) [1], распространенных в умеренных и отчасти в субтропических широтах всех континентов северного полушария. Ирисы произрастают на открытых, солнечных местах, лишь небольшая часть видов – это растения теневых и даже заболоченных местообитаний. Они известны как декоративные многолетние травянистые растения, которые широко культивируются. Многие дикорастущие ирисы проявляют лекарственные свойства и столетиями используются в традиционной Европейской народной медицине. Ирисы проявляют противоопухолевое, противовоспалительное, отхаркивающее [2, 3]; анаболизирующие, адаптогенное [4] и антибактериальное действие [3, 5].

Ирис карталинский (*Iris carthaliniae* Fomin)- многолетнее растение с толстым и горизонтальным корневищем. Относится к подроду *Xyridion*. Встречается на пойменных сырых лугах среднего и верхнего течения р. Куры и ее притоков, а также в некоторых регионах Азербайджана (Ленкорань, Массаллы, Акдаш, Тертер) [6]. В литературе есть данные относительно изучения химического состава корневищ *Iris carthaliniae* в Египте, Иране. Однако данные далеко не полные.

Целью работы было выделение и идентификация фенольных соединений корневищ *Iris carthaliniae*, распространенного по территории Азербайджана.

Объектом изучения были высушенные корневища *Iris carthaliniae*, заготовленные в Масаллинском районе Азербайджана во время цветения в июне 2014 г.

Материалы и методы.

Экстракция сырья. 1,0 кг измельченного сырья экстрагировали 80% метанолом (1:5) при комнатной температуре в течение 24 часов. Процесс экстракции повторяли трижды в тех же условиях. Спирто-водные извлечения объединяли, фильтровали и упаривали на ротаторно-выпарительном аппарате до 500 мл водного остатка. Полученный остаток последовательно обрабатывали в делительной воронке гексаном, хлороформом, этилацетатом и *n*-бутанолом. Полученные фракции упаривали.

Хроматографирование этилацетатной фракции проводили методом ТСХ, в системе растворителей *n*-бутанол – уксусная кислота – вода (БУВ) (4:1:2). После прохождения хроматограмму высушивали и просматривали в УФ-свете. Было отмечено 2 пятна с темной флуоресценцией.

Колоночную хроматографию этилацетатной фракции проводили на силикагеле марки SilicaGel 100 – 200 (75 – 150 мкм) (США), с последовательным пропусканием растворителя: хлороформ, хлороформ-метанол (8:2), хлороформ-метанол (5:4), хлороформ-метанол (1:1), хлороформ-метанол (1:5) и метанол. Фракции собирали по 100 мл. Всего было получено около 40 фракций. Вещество **1** обнаружено во фракциях, элюированных смесью хлороформ-метанол (8:2), а вещество **2** – хлороформ-метанол (1:1). Было получено по 80 и 100 мг веществ **1** и **2**. Индивидуальность полученных веществ контролировали ТСХ в системе БУВ (4:1:2). В УФ-свете вещества имели темное окрашивание, после проявления парами аммиака пятна темнели. Перекристаллизацию выделенных веществ проводили в 96% этаноле с добавлением 2-3 капель воды. Вещества высушивали

под вакуумом (10^{-2} мм.рт.ст.) над P_2O_5 при температуре (110 – 115)°C в течение 5 ч.

При установлении структуры использовали физические и физико-химические методы анализа (УФ-, ИК-, ^1H ЯМР-спектроскопию, масс-спектрометрию, хроматографию в тонком слое сорбента (пластинки Silufol UV-254), колоночная хроматография на силикагеле марки SilicaGel 100 – 200 (75 – 150 мкм) (США)). Силикагель предварительно очищали от ионов металлов 0,5% раствором хлорной кислоты, высушивали при комнатной температуре, а затем активировали при температуре 130 – 140 °C в течение 2 часов в сушильном шкафу. Температуру плавления ($t_{пл}$) определяли на блоке Кофлера (Franz Kusternqch K:G:Dresden; N.K.70/3314k).

УФ-спектры поглощения и оптическую плотность снимали на спектрофотометре CarlZeiss (Германия) в кюветках с толщиной слоя 10 мм. ИК-спектры регистрировали на приборе Tensor 27, UR-20 (ГДР) в таблетках калия бромида при соотношении вещество и наполнитель 1:200 – 1:400. Спектры ^1H ЯМР снимали на приборе Varian Mercury-VX-200 (200 MHz) (США), растворитель $DMSO-D_6$ (внутренний стандарт TMS). Химические сдвиги приведены в шкале б (м.д.). Масс-спектры измерены на приборе Varian 1200 L (США) (температура ионизационной камеры 150 – 300 °C, ионизирующее напряжение 70 эВ, 40 – 600 m/z).

Результаты и обсуждение. Вещество **1** – порошок желтого цвета, растворимый в метаноле, этаноле, хлороформе, $t_{пл}=230 – 231^{\circ}C$. Молекулярная формула $C_{16}H_{12}O_6$ отвечает масс-спектру, m/z: 300 (M+). При хроматографическом анализе ТСХ в системе *n*-бутанол – уксусная кислота – вода (БУВ) (4:1:2), (R_f 0,9) вещество **1** проявляется в виде пятна с темной флуоресценцией, которая усиливается под действием паров аммиака.

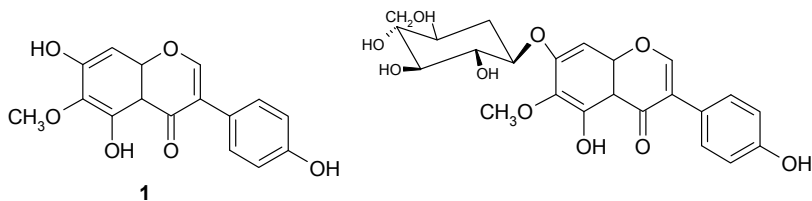


Рис. 1. Текторигенин **1**, текторидин **2**.

Изофлавоноидная природа вещества **1** подтверждена УФ-спектром, где наблюдаются максимумы поглощения при 270 и 335

нм, а также наличием сигнала протона при С-2 изофлавонового скелета, который находится при δ 8,25 м.д., что подтверждает природу цикла [7]. В ИК-спектре отмечено полосы поглощения при 3478 см^{-1} (–ОН), 1640 см^{-1} (C=O), 1610 , 1512 см^{-1} (C=C), 1063 см^{-1} (–ОСН₃).

В ¹H-ЯМР-спектре (200 МНз, DMSO-*D*₆) вещества **1** отмечаются синглетные сигналы протонов при δ 13,05 м.д., δ 10,75 м.д. и 9,55 м.д., которые отвечают трем гидроксильным группам при С-5, С-6 и С-4', соответственно. Сигналы ароматических протонов зарегистрированы при δ 7,35 (2H, д, *J*=8 Гц, Н-2',6') и 6,82 (2H, д, *J*=7,5 Гц, Н-3',5'). Сигнал протона С-8 проявляется в виде синглета при 6,45 м.д. (с, 1H). Сигнал при 3,75 м.д. (с, 3H) характеризует наличие метоксильной группы при С-6 изофлавонового скелета. ЯМР спектр не противоречит приведенной структуре вещества **1** (рис. 1). На основании спектрального анализа, а также данных литературы, строение вещества **1** охарактеризовано как 5,7,4'-тригидрокси-6-метоксиизофлавоон или текторигенин.

Строение вещества **2** устанавливали аналогично. При проведении кислотного гидролиза вещество **2** расщепляется на текторигенин и *D*-глюкозу, которые идентифицированы хроматографическим методом в сравнении с достоверным образцом. В ¹H-ЯМР-спектре в отличие от спектров агликона текторигенина дополнительно отмечено наличие группы сигналов, которые отвечают наличию 6 протонов, что подтверждает монозидную природу данного гликозида. Сигнал аномерного протона *D*-глюкозы проявляется при 5,41 м.д. в виде дуплета с КССВ 7,2 Гц, что характеризует β-гликозидную связь и пиранозный окисный цикл углеводного скелета. На основании спектрального анализа, строение вещества **2** охарактеризовано как 4',5-дигидрокси-6-метокси-7-о-β-*D*-глюкозидизофлавоона или 7-глюкозид текторигенина, или текторидин (рис. 1).

Данные физико-химических методов анализа для соединений **1** и **2**.

Вещество **1** – С₁₆Н₁₂О₆, аморфный порошок желтого цвета, *t*_{пл} 230 – 231 °С. М 300 г/моль. Масс-спектр, *m/z* 300 (*M*⁺). УФ-спектр (СН₂ОН, λ_{max}, нм): 276, 338. ИК-спектр (KBr, см⁻¹) ν: 3478 (–ОН), 1640 (C=O), 1610 (C=C), 1512 (C=C), 1063 (–ОСН₃). Спектр ЯМР ¹H (DMSO-*d*₆, δ , м.д.): 13,05 (1H, с, 5-ОН), 10,75 (1H, с, 7-ОН), 9,55 (1H, с, 4'-ОН), 8,25 (1H, с, Н-2), 7,35 (2H, д, *J* = 8 Гц, Н-2', 6'), 6,82 (2H, д, *J* = 7,5 Гц, Н-3', 5'), 6,45 (1H, с, Н-8), 3,75 (3H, с, 6-ОСН₃). При сравнении с литературными данными вещество **1** идентифицировано, как текторигенин.

Вещество 2 – $C_{22}H_{22}O_{11}$, порошок желтого цвета, $t_{пл}$ 273 – 274 °С. М 462 г/моль. Масс-спектр, m/z 300 ($-C_6H_{11}O_5$) (M^+). УФ-спектр (CH_2OH , λ_{max} , нм): 267, 332. ИК (KBr, cm^{-1}) ν : 3373 (-OH), 1658 (C=O), 1612 (C=C), 1510, 1089 (-OCH₃). Спектр ЯМР ^1H (DMSO- d_6 , δ , м.д.): 12.91 (1H, с, 5-OH), 9.59 (1H, с, 4'-OH), 8.45 (1H, с, 2-H), 7.38 (2H, д, $J = 10$ Гц, H-2', 6'), 6.86 (1H, с, 8-H), 6.79 (2H, д, $J = 10$ Гц, H-3', 5'), 5.41 (1H, д, $J = 7,2$ Гц, 1''-H), 5.13 (2H, д, $J = 7,2$ Гц, 2''-CH₂OH), 3.75 (3H, с, 6-OCH₃), 3.68 – 3.65 (2H, м, 6''-H), 3.43 – 3.40 (1H, м, 5''-H), 3.28 – 3.24 (2H, м, 2'', 3''-H), 3.16 – 3.12 (1H, м, 4''-H). При сравнении с литературными данными вещество 2 идентифицировано, как текторидин.

Выводы: Из корневищ *Iris carthaliniae* выделены текторигенин и текторидин.

Список литературы:

1. Родионенко Г.И. Ирисы. М.: «Колос», 1981. 156 с.
2. Kassak P. Secondary metabolites of the choosen genus *Iris* spesies // Journal acta universitatis agriculturae et silviculturae mendelianae brunensis. 2012. Vol. LX, N 8. P. 269-280.
3. Khare C.P. Indian medicinal plants. Berlin, Heidelberg: Springer – Verlag, 2007. 836 p.
4. Хохлова Н.А., Деркач Н.В., Затыльников О.А., Ковалев В.Н., Волковой В.А. Фармакологическое изучение *Iris pseudacorus* // Украинський біофармацевтичний журнал. 2012. № 1-2 (18-19). С. 42-45.
5. Затыльнікова О.О., Осолодченко Т.П., Ковальов В.М. Антимікробна активність екстрактів з *Iris pseudacorus* L. // Аналі Мечниковського Інституту. 2010. № 4. С. 43-47.
6. Флора Азербайджана, в 8-х томах. Баку, 1952. Т. 2. С. 214-236.
7. Коруткин Д.Ю., Абилов Ж.А., Музычкина Р.А., Толстиков Г.А. Природные флавоноиды. Новосибирск: Гео, 2007. 229 с.

ТЕРМОДИНАМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ФЛАВОНОИДА САЛВИГЕНИНА

Касенова Ш.Б.¹, Мукушева Г.К.², Касенов Б.К.¹, Сагинтаева Ж.И.¹, Жанымханова П.Ж.², Адекенов С.М.²

¹Химико-металлургический институт им. Ж. Абишева, Караганда, Казахстан, ksenov1946@mail.ru

²АО «Международный научно-производственный холдинг «Фитохимия», Караганда, Казахстан, e-mail: phyto_pio@mail.ru

Флавоноиды – наиболее многочисленный класс природных фенольных соединений, которым характерно структурное

многообразие, высокая и разносторонняя активность и малая токсичность [1]. Направление биологического действия флавоноидов связано с их физико-химическими свойствами, знание которых необходимо не только для углубленного изучения фундаментальных основ их химии и физиологических функций, но и для расширения области их практического применения. Все флавоноиды достаточно хорошо растворяются в спиртах [2].

Благодаря успехам калориметрии сгорания, растворения, дифференциальной сканирующей микрокалориметрии, калориметрических измерений в динамичных условиях и при значительных изменениях состава, температуры и давления существенно обогатился метрологический базис науки – фонд термодинамических характеристик индивидуальных веществ [3]. Термохимические и термодинамические константы обладают исключительной информативностью. Это по существу метрологические константы, связанные с термодинамическими соотношениями с десятками других важнейших свойств вещества. Они имеют междисциплинарный характер, так как одни и те же величины характеристик свойств вещества могут использоваться в расчетах во многих сотнях реакций и процессов, позволяя, на основе измеряемых параметров, получать недоступную ранее информацию [4]. Экспериментальные данные о термодинамических свойствах, полученные в ходе лабораторных исследований, имеются лишь для ограниченного числа соединений и поэтому необходимо развитие и совершенствование методов прогнозирования термодинамических свойств. Значения аддитивных вкладов, получаемых из экспериментальных данных, позволяют рассчитывать термодинамические свойства неисследованных соединений. Это открывает новые перспективы развития и применения аддитивных методов прогнозирования значений термодинамических свойств. Аддитивные методы, разработанные на основе установленных закономерностей, позволяют прогнозировать термодинамические свойства неисследованных соединений, и служат расширению возможностей термодинамического моделирования разнообразных химических процессов [5].

Подвергаемый к калориметрическому исследованию флавоноид салвигенин $C_{18}H_{16}O_6$ получен в АО «Международный научно-производственный холдинг «Фитохимия» (Караганда).

Салвигенин $C_{18}H_{16}O_6$ получен по [6] по следующей методике. Воздушно-измельченное сырье василька ложнопятнистого (*Centaurea pseudomaculosa* Dobroc.) исчерпывающее экстрагировали хлороформом. Полученный экстракт обрабатывали

смесью этанол-вода, последовательно петролевым эфиром, бензолом, хлороформом. Водно-спиртовые извлечения отогнали под вакуумом. Из концентрированного водно-спиртового экстракта при хроматографировании на колонке с силикагелем в соотношении сумма-носитель 1:20, элюируя градиентной смесью бензол:этилацетат (20:1) выделен салвигенин с выходом 0,06%. Салвигенин: кристаллическое вещество желтого цвета с т. пл. 196-171°C. Чистота продукта 99,96% (по данным ВЭЖХ).

Теория и методика проведения применяемых нами калориметрических исследований подробно описаны в [7-10].

В исследованиях использован серийный дифференциальный автоматический калориметр ДАК-1-1А. Работа калориметра базируется на измерении величины интегрального теплового потока, идущего от ампулы с веществами через дифференциально включенные термобатареи и массивный центральный блок микрокалориметра. Теплота растворения исследуемого соединения определялась в режиме автоматической компенсации тепла. Регистрация тепловых эффектов осуществлялась с помощью самопишущего потенциометра КСП-4 и параллельно с прецизионным интегратором ИП-4. Время предварительного термостатирования вещества 2 ч. Дрейф нуля интегратора не превышал 3 единиц последнего разряда за 100 с. Перед началом опыта производилась калибровка прибора по Джоулеву теплу путем подачи на встроенный нагреватель калиброванного напряжения и измерения выделяющейся мощности. Проверку калибровки прибора проводили путем измерения теплоты растворения трижды перекристаллизованного хлорида калия при разбавлениях, равных 1:1600, 1:2400, 1:3200 (моль соли : моль воды). Средняя теплота растворения KCl в воде (17860 ± 283 Дж/моль) хорошо согласуется с рекомендованной величиной, равной 17577 ± 34 Дж/моль [11] и справочными данными по энтальпии растворения KCl при указанных разбавлениях [12]. Полученные термохимические константы обрабатывались методами математической статистики: погрешности экспериментов и однородности их дисперсий были рассчитаны с применением критериев Стьюдента и Кокрена. Уровень значимости критериев 5 %-ная [13].

Исследование энтальпии растворения салвигенина проводили при разбавлениях, равных 1:9000, 1:18000, 1:36000 (моль флавоноида:моль 96%-ного этанола). Ниже в таблице приведены результаты калориметрических исследований при различных уровнях разбавления.

Далее экспериментально определенные усредненные

значения энтальпии растворения $C_{18}H_{16}O_6$ при различных разбавлениях экстраполированы в область бесконечного разбавления по известной зависимости [13] $\Delta H^0_{\text{раст.}} = a + b\sqrt{m}$.

Таблица.
Энтальпии растворения флавоноида салвигенина в 96%-ном этаноле при разбавлениях (моль флавоноида:моль 96%-ного этанола)

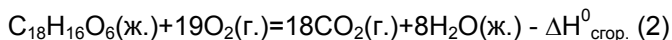
№ п.п.	Масса, г	$\Delta H_{\text{раст.}}, \text{Дж}$	$\Delta H^m_{\text{раст.}}, \text{кДж/моль}$
1:9000			
1	0,0031	0,145	15,36
2	0,0031	0,149	15,78
3	0,0031	0,149	15,78
4	0,0031	0,146	15,46
5	0,0031	0,146	15,46
среднее $\Delta H^m_{\text{раст.(I)}} = 15,57 \pm 0,25$			
1:18000			
1	0,0016	0,120	24,62
2	0,0016	0,116	23,80
3	0,0016	0,119	24,42
4	0,0016	0,118	24,21
5	0,0016	0,118	24,21
среднее $\Delta H^m_{\text{раст.(II)}} = 24,25 \pm 0,38$			
1:36000			
1	0,0008	0,078	32,01
2	0,0008	0,080	32,83
3	0,0008	0,077	31,60
4	0,0008	0,079	32,42
5	0,0008	0,079	32,42
среднее $\Delta H^m_{\text{раст.(III)}} = 32,26 \pm 0,58$			

Данная зависимость в стандартном (бесконечно) разбавленном 96%-ном растворе этанола для салвигенина описывается следующим уравнением (кДж/моль):

$$\Delta H^m_{\text{раст.}} C_{18}H_{16}O_6 = 49,08 - 688,24 \sqrt{m}, (1)$$

решением которого вычислена стандартная энтальпия растворения $C_{18}H_{16}O_6$ в бесконечно разбавленном (стандартном) растворе 96%-ного этанола, равная $49,08 \pm 0,03$ кДж/моль.

Методами Караша и Фроста [14] рассчитана энтальпия сгорания $C_{18}H_{16}O_6$, усредненное значение которой равно – 9040 кДж/моль. Исходя из реакции:



вычислили $\Delta\text{H}^0(298,15)$ $\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{O}_6$ жидкогоравное – 336,2 кДж/моль. Для расчета $\Delta\text{H}_{\text{пл}}^0$ использовали уравнение Гамбилла [15]:

$$\Delta\text{H}_{\text{пл}}^0 / \text{T}_{\text{пл.}} = 20,72 \cdot 10^{0,00324 \text{ M}}, \quad (3)$$

где М – молекулярная масса соединения, вычислили $\Delta\text{H}_{\text{пл.}}^0$, равное 111,8 кДж/моль. Далее по уравнению:

$$\Delta\text{H}^0(298,15) \text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{O}_6(\text{тв.}) = \Delta\text{H}^0(298,15) \text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{O}_6(\text{ж.}) - \Delta\text{H}_{\text{пл.}}^0 \quad (4)$$

вычислена $\Delta\text{H}^0(298,15)$ равная – 448,0 кДж/моль.

Таким образом, методом экспериментальной калориметрии определена стандартная энтальпия растворения в стандартном (бесконечно) разбавленном 96%-ном растворе этанола флавоноида салвигенина. Вычислены стандартные энтальпии сгорания, плавления и образования $\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{O}_6$.

Список литературы

1. Корулькин Д.Ю., Абилов Ж.А., Музычкина Р.А., Толстиков Г.А. Природные флавоноиды. Новосибирск, Академическое изд-во «Гео», 2007. 232 с.
2. Костюк В.А., Потапович А.И. Биорадикалы и биоантиоксиданты. Мн.: БГУ, 2004. 174 с.
3. Крестов Г.А., Лебедев Ю.А. Возможности современной химической термодинамики // Вестник АН СССР. 1991. № 11. С. 46-54.
4. Сайфуллин И.Ш., Лебедев Ю.А., Кизин А.Н. Информационные аспекты термодинамики и проблемы стандартизации и технологий. 2012. <http://www.neftegazavtomatika.ru/reports/id52/>.
5. Долوماتов М.Ю., Журавлева Н.А., Нигматуллина А.В., Танатарова Д.Р., Казаков М.А. Разработка информационной системы расчета термодинамических функций // Современные проблемы науки и образования. № 3. 2014. www.science-education.ru
6. Адекенов С.М., Кадирберлина Г.М., Садыков В.И. Биологически активные соединения *Centaurea pseudomaculosa* // Изв. АН Каз ССР. Серия хим. 1986. №3. С.65-69.
7. Скуратов С.М., Колесов В.П., Воробьев А.Ф. Термохимия – М.: изд-во МГУ, 1964. – Т. 1. – 302 с.
8. Кальве Э., Прат А. Микрокалориметрия – М.: ИЛ, 1963. – 477 с.

-
9. Топор Н.Д., Супоницкий Ю.Д. Высокотемпературная калориметрия неорганических веществ //Успехи химии. – 1984. – Т. 53, вып. 9. – С.1425-1462.
 10. Кальве Э. Последние достижения микрокалориметрии //Журнал физ. химии. – 1959. – Т. 33, № 6. – С. 1161-1175.
 11. Мищенко К.П., Полторацкий Г.М. Термодинамика и строение водных и неводных растворов электролитов – Л.:Химия, 1977. – 328 с.
 12. Термические константы веществ. Справочник /Под ред. Глушко В.П. – М.: Наука, 1982. – Вып. X. – Ч. 2. – 442 с.
 13. Спиридонов В.П., Лопаткин А.А. Математическая обработка экспериментальных данных.– М.: МГУ, 1970. – 221 с.
 14. Казанская А.С., Скобло В.А. Расчеты химических равновесий. М.: Высшая школа, 1974. 288 с.
 15. Викторов В.В. Методы вычисления физико-химических величин и прикладные расчеты. – М.: Химия, 1977. – 360 с.
-

УДК 544.526:544.431.6 + 577.355

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ХЛОРОФИЛЛА И НАФТОХИНОНА: КОМПЛЕКСООБРАЗОВАНИЕ И РАЗДЕЛЕНИЕ ЗАРЯДОВ

Клименко И.В.¹, Лобанов А.В.², Журавлева Т.С.¹

¹ФГБУН Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва, Россия, +7(495)939-71-97, inna@deom.chph.ras.ru

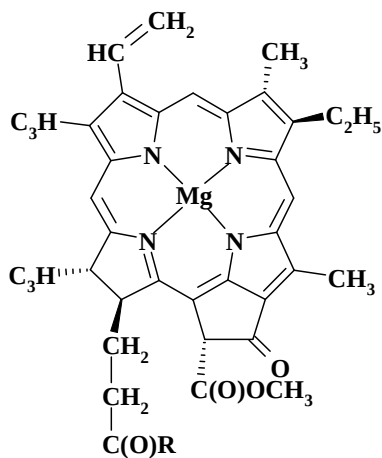
²ФГБУН Институт химической физики им. Н.Н. Семенова РАН, Москва, тел. +7(495)939-79-45, avlobanov@mail.ru

Взаимодействие природных и синтетических порфиринов с биологически активными соединениями, включающее перенос электрона, энергии и, в ряде случаев, стадии надмолекулярной самоорганизации, играет важную роль в фотобиологических и фотомедицинских процессах. В природном фотосинтезе электроны от молекул хлорофилла (Хл) в возбужденном синглетном состоянии последовательно передаются по электронтранспортной цепи с участием обратимых переносчиков, таких как, например, производные хинонов.

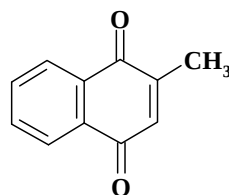
Хиноидные соединения группы витаминов К, к которым относится 2-метил-1,4-нафтохинон (МНХ), восстанавливаясь до соответствующих фенолов, служат переносчиками электронов в биохимических реакциях, в результате которых синтезируется клеточный источник энергии АТФ. Кроме того молекулу МНХ можно рассматривать в качестве упрощенного аналога витамина К₁, участвующего в качестве переносчика электрона в работе фотосистемы I [1]. Энергетика и динамика переноса электрона от

Хл к хинонам изучены достаточно подробно на нативных объектах и в условиях, моделирующих количественный состав фотосинтетического аппарата [2, 3]. Однако сложность молекулярной структуры Хл и МНХ и наличие полос поглощения в видимой области и ближнем УФ - диапазоне позволяет не исключать и альтернативные пути взаимодействия Хл и МНХ в зависимости от их количественного соотношения, например, комплексообразование и перенос энергии возбуждения. В настоящей работе рассмотрено взаимодействие Хл с МНХ в широком интервале концентраций с использованием спектральных методов.

Экспериментальная часть. Хлорофилл а (Хл) выделяли из листьев крапивы по известной методике [4]. 2-Метил-1,4-нафтохинон (Acros Organics, США) использовали без дополнительной очистки. Чистоту пигментов контролировали методом ТСХ и по электронным абсорбционным спектрам с помощью спектрофотометра DR/4000V (HACH-Lange, США) в диапазоне длин волн $\lambda = 320-800$ нм. Спектральные свойства соединений соответствовали представленным в литературе [5]. В эксперименте использовали растворы Хл и МНХ ($[Хл] = 1 \times 10^{-5}$ М, $[МНХ] = 6.7 \times 10^{-6} - 1 \times 10^{-1}$ М) в этаноле.



Хл: $R^2 = -OCH_2CH=C(CH_3)(CH_2)_3[CH(CH_3)(CH_3)_3]_2CH(CH_3)_2$



МНХ

Спектры оптического поглощения (200-900 нм) регистрировали с помощью спектрофотометра TU-1901 фирмы "Beijing Purkinje General Instrument Co, Ltd". Анализ плохо разрешенных спектров поглощения проводили на основе

математического разложения его на гауссовы составляющие. Регистрацию спектров флуоресценции в области 600-800 нм проводили с использованием спектрофлуориметра «Флюорат-02 Панорама» фирмы «Люмэкс». Длина волны возбуждения составляла 430 нм. Все измерения проводили при комнатной температуре в стандартных кварцевых кюветах К10 с длиной оптического пути 1 см.

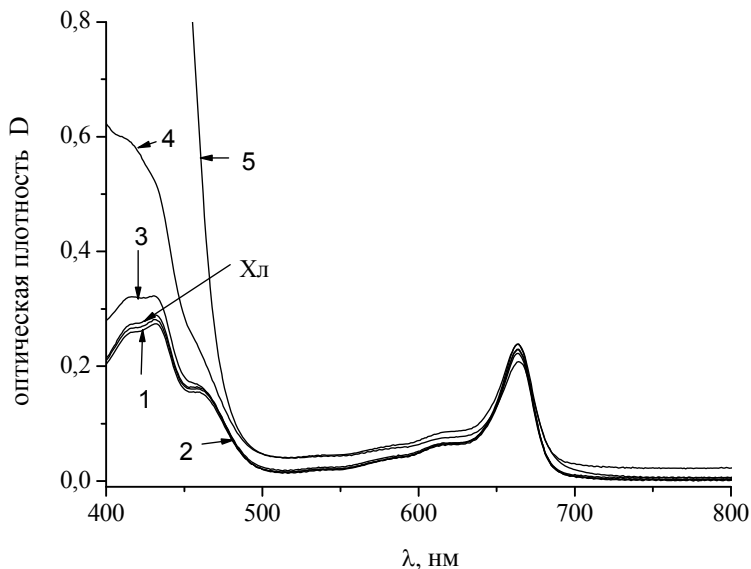


Рис. 1. Спектры поглощения системы Хл-МНХ. Концентрация Хл 1×10^{-5} М. Концентрация МНХ: 1 - 6.7×10^{-5} М, 2 - 1×10^{-4} М, 3 - 1×10^{-3} М, 4 - 1×10^{-2} М, 5 - 1×10^{-1} М. Хл – раствор индивидуального хлорофилла.

Обсуждение результатов. В этаноле в структуре спектра поглощения Хл наблюдаются два основных максимума, соответствующие полосе Соре при 430 нм и Q-полосе при 664 нм (рис. 1). Учитывая данные по склонности Хл к образованию димеров и агрегатов [6], можно полагать, что доля нековалентно связанных димеров Хл при используемой концентрации 1×10^{-5} М не превышает 10%. Спектрального проявления таких димеров не наблюдается. Известно, что тушение флуоресценции может иметь различные механизмы: перенос энергии, изменение внутримолекулярных констант, деградация электронного

возбуждения, межмолекулярный перенос электрона [7]. В рассматриваемых растворах перенос энергии электронного возбуждения от Хл к НАДФ по синглетным уровням исключен, так как длинноволновый край полосы поглощения лежит в более коротковолновой области по отношению к полосе флуоресценции Хл (рис. 1).

В спектре флуоресценции наблюдается основная полоса при 672 нм и плечо при 725 нм (рис. 2). Максимумы флуоресценции при 672 и 725 нм соответствуют электронным переходам с уровня S_1 на уровень S_0 и его первый колебательный подуровень, что для соединений порфиринового ряда было установлено по определению разности между соответствующими уровнями в спектрах поглощения и флуоресценции по шкале частот $\Delta\nu$ (в шкале энергий эта разница составляет ~ 0.2 эВ), а также из независимости соотношения амплитуд максимумов эмиссии от температуры в интервале от комнатной до температуры жидкого азота [7].

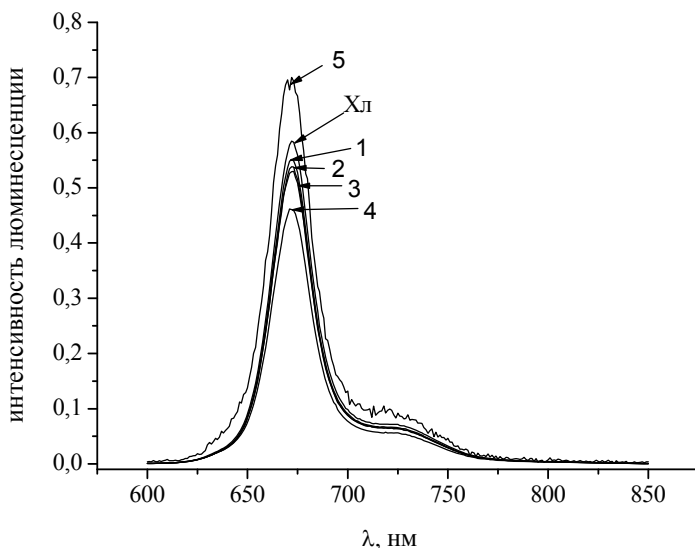


Рис. 2. Спектры флуоресценции системы Хл-МНХ. Концентрация Хл 1×10^{-5} М. Концентрация МНХ: 1 - 6.7×10^{-5} М, 2 - 1×10^{-4} М, 3 - 1×10^{-3} М, 4 - 1×10^{-2} М, 5 - 1×10^{-1} М. Хл – раствор индивидуального хлорофилла.

Дополнительное подтверждение этого следует также из

приблизительного равенства между временами жизни τ для эмиссионных полос 672 и 725 нм, составляющих ~ 5 нс. В смешанных этанольных растворах с концентрацией Хл 1×10^{-5} М и МНХ $6.7 \times 10^{-6} - 1 \times 10^{-4}$ М спектры поглощения имеют аддитивный характер с постоянством положения максимумов поглощения (рис. 1), а квантовый выход флуоресценции Хл линейно снижается с увеличением концентрации МНХ (рис. 2), что указывает на быстрый перенос электрона от фотовозбужденного Хл к молекуле МНХ.

Подобная картина наблюдается в большинстве аналогичных систем, в том числе в случаях фотопереноса электрона между хлорофиллом и бензохиноном [8], а также другими порфиринами и хинонами [9]. В случаях, когда концентрация МНХ превышает 1×10^{-4} М, напротив, происходит усиление флуоресценции Хл при возбуждении на 430 нм вследствие индуктивно-резонансного переноса энергии от МНХ к Хл. Это объясняется тем, что спектр излучения МНХ и спектр поглощения Хл перекрываются, на длине волны возбуждения 430 нм поглощают как Хл, так и МНХ (рис. 1).

Особенность поведения бинарной смеси Хл и МНХ заключается в том, что электронный спектр является суперпозицией спектров Хл и МНХ, а тушение флуоресценции Хл описывается линейными участками в координатах Штерна-Фольмера в случае концентрации Хл 1×10^{-5} М и МНХ $6.7 \times 10^{-6} - 1 \times 10^{-4}$ М. В этих условиях комплексообразование между Хл и МНХ не происходит, и процесс переноса электрона имеет динамический тип. С повышением концентрации МНХ доминирует перенос энергии с МНХ на Хл, и наблюдается небольшой гипсохромный сдвиг 4 нм длинноволновой полосы поглощения Хл, что может указывать на координационное взаимодействие между Хл и МНХ. Вероятно, процесс переноса энергии в данном случае имеет статический тип или сочетает в себе оба механизма, как статический, так и динамический. Из наблюдаемого характера изменений в спектрах поглощения и флуоресценции Хл, вызванных добавлением МНХ, можно сделать вывод о том, что координационное взаимодействие происходит с участием сопряженной системы двойных связей макрогетероцикла Хл, поскольку граничные молекулярные орбитали молекулы Хл локализованы на лиганде и не захватывают ион магния [10].

Таким образом, на примере Хл показано, что фотофизические свойства биологически и фармакологически активных тетрапирролов существенно зависят от природы и относительного количества фото- и редокс-активных соединений,

присутствующих в многокомпонентных биологических системах.

Работа выполнена при финансировании РФФИ (проект № 15-03-03591).

Список литературы

1. Рубин А.Б. Биофизика, Т. 2. М.: Книжный дом «Университет», 2000. 468 с.
2. Iwaki M., Kumazaki S., Yoshihara K. et al. // J. Phys. Chem. 1996. V. 100. P. 10802.
3. Sherman G., Fujimori E. // J. Phys. Chem. 1968. V. 72. P. 4345.
4. Гавриленко В.Ф., Жигалова Т.В. Большой практикум по фотосинтезу. М.: Издательский центр "Академия", 2003. 256 с.
5. Досон Р., Эллиот Д., Эллиот У., Джонс К. Справочник биохимика. Перевод с англ. М.: Мир, 1991. 544 с.
6. Sauer K., Smith J.R.L., Shultz A.J. // J. Amer. Chem. Soc. 1966. V. 88. № 12. P. 2681.
7. Столовицкий Ю.М., Киселев Б.А., Супонева Е.П. и др. // Биофизика. 1995. Т. 40. С. 19.
8. Гудков Н.Д., Столовицкий Ю.М., Евстигнеев В.Б. // Биофизика. 1978. Т. 23. С. 571.
9. Sakata Y., Tsue H., Goto Y. et al. // Chemistry Lett. 1991. P. 1307.
10. Лобанов А.В., Комиссаров Г.Г. // Биофизика. 2013. Т. 58. С. 64.

УДК 633.71

КОЛИЧЕСТВЕННАЯ ОЦЕНКА АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ЛИСТЬЯХ РАСТЕНИЙ ТАБАКА РАЗЛИЧНЫХ СОРТОВ

Козлова З.Г.

ФГБУН Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва,
Россия, +7(495)939-71-05, e-mail: zg-kozlova@mail.ru

Табак – природная биологически активная система. Листья табака обладают рядом полезных свойств. Их применяют как противовоспалительное и инсектицидное средство, при острых болях в суставах, беспокойном сне, при столбняке, при ущемленных грыжах, при головокружении, рвоте беременных, при лечении морской болезни.

Растительный мир богат фенольными соединениями, которые обладают антиокислительными свойствами и биологической активностью, обусловленной их способностью принимать участие в регуляции окислительных процессов в организме человека. Антиоксиданты, содержащиеся в растениях,

являются ценными биологически-активными веществами и выполняют защитную функцию, в частности, они в значительной степени обеспечивают их сохранность против окислительной и микробиологической порчи.

Поэтому вопрос о количественном содержании антиоксидантов в листьях табака представляет значительный интерес и является целью настоящей работы.

Попробуем проанализировать содержание антиоксидантов (АО) в табаке, исходя из предположения относительно высокого их содержания, а также возможной корреляции между качественным и количественным составом АО в различных сортах табака и качеством табака. В работе были изучены листья табака, различающиеся как по сортам, так и по ареалам произрастания. Исследованы сухие листья следующих сортов табака: Вирджиния (Индия), Дюбек (Таджикистан), Зигрин (Сирия), Самсун (Армения), Евлах (Азербайджан). В эксперименте листья табака экстрагировали в кумоле в течение суток и далее делали анализ на антиоксидантную активность (АОА) в различных сортах исходных табаков.

Для нормального функционирования организма и предотвращения болезней, а также борьбы с ними важны АО, к которым относятся многие биологически активные вещества, синтезируемые в растениях, такие как биофлавоноиды, витамины и гормоны, поступающие из растений или синтезируемые в живом организме. Поэтому важно иметь достаточно простой и надежный метод количественного анализа АО, который и был разработан в ИХФ РАН под руководством ак. Н.М. Эмануэля. /1/

Метод основан на использовании модельной реакции жидкофазного окисления углеводорода молекулярным кислородом. Реакция проводится в условиях, при которых процесс окисления протекает с постоянной скоростью в течение длительного времени. При введении в реакцию антиоксиданта, являющегося ингибитором процесса окисления, скорость реакции существенно замедляется и по мере расходования ингибитора возрастает до величины неингибированной реакции.

$$\tau = \frac{f n [I n H]_0}{W_i} \quad (1)$$

$$\frac{\Delta O_2}{[RH]} = - \frac{k_3}{k_7} \ln (1 - t/\tau) \quad (2)$$

Здесь W_i - скорость инициирования, рассчитываемая по формуле

$$W_i = 6,8 \times 10^{-8} [AIBN] \text{ М/л} \cdot \text{сек} \quad (3)$$

где АИБН - концентрация инициатора в мг на мл углеводорода.

Из выражения (1) по экспериментально определяемому периоду индукции τ и известной скорости иницирования W_i рассчитывается концентрация анализируемого АО [InH].

Константа скорости ингибирования K_7 , определяющая антирадикальную активность АО и являющаяся его качественной характеристикой, находится из соотношения (2) по известной константе скорости продолжения цепи K_3 , концентрации $[RH]$ для углеводорода, экспериментально определяемому периоду индукции τ и количеству поглощенного кислорода ΔO_2 .

Таким образом, метод позволяет дать качественную и количественную характеристику АО, содержащимся в сложных системах.

Все АО условно можно разделить на три части: сильные, слабые и средней силы. В первую очередь в окислительном процессе расходуются сильные АО, а затем все остальные.

Таблица.

Ряд активности (качественная характеристика) табаков по суммарному содержанию АО

№ п/п	Название табака	Содержание антиоксидантов (М/кг) [InH]		
		Сильные АО	Слабые АО	Суммарное содержание
1	Самсун	$5,0 \times 10^{-3}$	-	$5,0 \times 10^{-3}$
2	Зигрин	$7,2 \times 10^{-3}$	-	$7,2 \times 10^{-3}$
3	Евлах	$3,6 \times 10^{-3}$	$1,7 \times 10^{-2}$	$2,1 \times 10^{-2}$
4	Дюбек	$8,5 \times 10^{-3}$	$8,5 \times 10^{-3}$	$1,7 \times 10^{-2}$
5	Вирджиния	$3,8 \times 10^{-3}$	$3,7 \times 10^{-1}$	$3,8 \times 10^{-1}$

В листьях табака обнаружено относительно высокое содержание двух групп (от 10^{-3} до 10^{-1} моль/кг) АО, различающихся по константам скорости ингибирования. Качественный и количественный состав существенно зависит от сорта табака. Например, суммарное содержание АО в сорте «Вирджиния» ($3,8 \times 10^{-1}$ моль/кг) на два порядка превышает суммарное содержание АО в сорте «Самсун» ($5,0 \times 10^{-3}$ моль/кг). Известно, что сорт «Вирджиния» является по многим характеристикам одним из лучших в мире сортов табака, что может быть обусловлено большим содержанием АО в нём.

Результаты расчёта концентрации АО приведены в таблице.

Измерена АОА 5 сортов листьев табака. Она оказалась сравнима с АОА многих специй, пряно-ароматических и некоторых

лекарственных растений, таких как гвоздика, перец красный, мускат, перец черный, горчица, крапива, валериана, расторопша, подорожник и др. /2,3/, полезность которых научно доказана. Эти табаки могут быть использованы как источники природных АО для решения конкретных практических задач (в медицине, в пищевой промышленности и т.д.).

Список литературы

1. Цепалов В.Ф. Метод количественного анализа антиоксидантов с помощью модельной реакции инициированного окисления // Исследование синтетических и природных антиоксидантов *in vitro* и *in vivo*. М.: Наука, 1992. С. 16 - 26.
2. Козлова З.Г., Харитонов А.А., Цепалов В.Ф. Антиоксиданты фенольного типа // Фенольные соединения: фундаментальные и прикладные аспекты. М.: Научный мир, 2010. С. 73 - 77.
3. Козлова З.Г. Количественная оценка антиоксидантной активности фенолов в дикорастущих лекарственных растениях. // Фенольные соединения: фундаментальные и прикладные аспекты: материалы докладов VIII Международного симпозиума. Москва, 2-5 октября 2012 г. С. 87 - 91.

УДК 582.665.11: 577.13

ИЗУЧЕНИЕ СОСТАВА И СОДЕРЖАНИЯ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ *ATRAPHAXIS FRUTESCENS* (L.) С. КОСН. И *A. PUNGENS* (BIEB.) JAUB. ET SPACH. МЕТОДОМ ВЭЖХ

Костикова В.А., Костиков Д.К., Высочина Г.И., Петрук А.А.

Центральный сибирский ботанический сад СО РАН; Россия, Новосибирск,
+7 (383) 3399814; e-mail: serebryakova-va@yandex.ru

Лекарственные растения народной медицины являются неисчерпаемым источником лечебных средств. Биохимический потенциал таких растений очень высок, так как их разнообразные полезные свойства обусловлены содержащимися в них биологически активными веществами (БАВ). Исследование состава и содержания этих соединений новыми методами является важным этапом в решении проблемы освоения растительных ресурсов.

Растения рода *Atraphaxis* L. проявляют антибактериальную [1] и антиоксидантную активность [2], используются как красильные, дубильные, жирномасличные, кормовые и медоносные, побеги их применяют при диарее [3].

Комплекс БАВ растений рода *Atraphaxis* обуславливает их полезные свойства. В надземных и подземных органах

идентифицированы флавонолы, флаваны, флавоны, антрахиноны, фенолкарбоновые кислоты и их производные [1, 3, 4].

Целью настоящей работы является сравнительное изучение состава и содержания фенольных соединений в листьях растений *Atraphaxis frutescens* (L.) C. Koch. и *A. pungens* (Bieb.) Jaub. et Spach.

Содержание биологически активных соединений определяли в образцах с типичными морфологическими признаками из природных популяций Сибири, собранных в фазах цветения и плодоношения в разные годы (табл. 1).

Таблица 1

Список образцов для исследования

№	Место сбора, местообитание	Дата сбора
<i>A. frutescens</i> (фаза плодоношения)		
1	Новосибирская область, Ордынский р-н, окр. с. Антоново, берег р. Обь, степной песчано-глинистый склон	10.07.13 г.
2	Республика Тыва, Кызылский р-н, окр. Кара-Хаак, дол. р. Таисы, разнотравно-злаковая степь с кустарниками	07.07.89 г.
3	Омская область, г. Калачинск, правый берег р. Омь, песчано-глинистый склон, полынно - курчавковые заросли	05.08.14 г.
<i>A. pungens</i> (фаза цветения)		
4	Республика Бурятия, Селенгинский р-н, окр. пос. Селендума, хребет Селендумский, крупнокаменистый песчаный склон	31.05.2008
5	Республика Хакасия, Ширинский р-н, берег оз. Беле, 16 км от п. Жемчужный, распадок среди холмов, каменистый склон	09.05.1982
6	Республика Хакасия, Боградский р-н, окр. с. Бей-Бурук, распадок среди каменистых скал	10.06.1982
<i>A. pungens</i> (фаза плодоношения)		
7	Республика Хакасия, Орджоникидзевский р-н, окр. с. Июс, гора Сундук, склон, задернованная каменистая степь	05.07.14 г.
8	Республика Хакасия, Ширинский р-н, окр. с. Фыркал, берег оз. Фыркал, каменисто-степной склон, карагановые заросли	05.07.14 г.
9	Республика Хакасия, Аскизский р-н, по трассе Ак-Довурак – Абакан (А161), между ст. Скальная и ст. Камышта, степь	06.07.14 г.
10	Республика Тыва, Тандинский р-н, берег оз. Сватиково, расположено на 45 км южнее г. Кызыл, степь	09.07.69 г.
11	Республика Тыва, Кызылский р-н, окр. п. Сукпак, вдоль дороги, степь	10.07.14 г.

12	Республика Тыва, левый берег р. Элегест, отроги Восточного Тану-Ола, вдоль дороги, осыпи каменистого степного склона	10.07.14 г.
13	Республика Тыва, Чаа-Хольский р-н, Саяно-Шушенское водохранилище, осыпи каменистого степного склона	12.07.14 г.
14	Республика Бурятия, Селенгинский р-н, окр. д. Поворот, правый берег р. Селенги, вдоль дороги, каменистые осыпи степного склона	28.07.14 г.
15	Республика Бурятия, Кяхтинский р-н, гора Битухаг, окр. с. Усть-Кяхта, тонконогово - типчаковая разнотравная предгорная степь	28.07.14 г.

Для хроматографического исследования фенольных соединений использовали этанольные извлечения из сырья, полученные экстракцией на водяной бане [4]. Гидролиз этанольных экстрактов проводили 2 н соляной кислотой (1:1) в течение двух часов. Для анализа проб использовали аналитическую ВЭЖХ-систему, состоящую из жидкостного хроматографа Agilent 1200 с диодноматричным детектором и системы для сбора и обработки хроматографических данных ChemStation. Разделение проводили на колонке Zorbax SB–C18, размером 4,6×150 мм, с диаметром частиц 5 мкм, при градиентном режиме элюирования. Для приготовления стандартных образцов применяли препараты фирмы «Fluka» и «Sigma». Вещества идентифицировали методом сравнения времени удерживания пиков веществ на хроматограммах анализируемых образцов с временами удерживания пиков стандартных образцов и УФ спектров. Количественное определение индивидуальных компонентов в образцах растений проводили по методу внешнего стандарта в пересчёте на кверцетин [5].

Исследование состава фенольных соединений в гидролизатах экстрактов методом ВЭЖХ показало наличие 9 соединений (табл. 2). Четыре соединения (III, IV, VI, IX) являются основными, так как обнаружены у всех исследованных образцов в большем количестве. При идентификации были выявлены агликоны флавонолов – мирицетин (соединение IV), кверцетин (VI) и кемпферол (IX). Гликозиды этих веществ были найдены ранее в экстрактах из листьев растений рода *Atraphaxis* [4]. Остальные вещества не идентифицированы. Вещество II имеет максимумы поглощения 280, 330 нм; соединение III – 250, 310, 350 нм.

Гидролизаты экстрактов из листьев *A. frutescens* отличаются от *A. pungens* наличием соединения II у всех образцов и соединения VII у образцов № 1, 2 (табл. 2). Для *A. pungens* характерно некоторое уменьшение состава фенольных

соединений. В некоторых образцах (№ 4 и 10) присутствует вещество VIII, которого нет у *A. frutescens*.

Качественный состав фенольных соединений *A. pungens* в стадии цветения ничем не отличается от состава в стадии плодоношения (табл. 2).

Таблица 2

№ образца	Содержание, % (время удерживания, мин)								
	I (2,2)	II (2,4)	III (2,8)	IV (3,8)	V (4,5)	VI (6,4)	VII (7,1)	VIII (8,5)	IX (11)
<i>A. frutescens</i> (фаза плодоношения)									
1	0,23	0,22	1,74	0,28	0,44	0,17	0,10	–	0,04
2	–	0,09	0,52	0,91	0,13	0,42	0,37	–	0,25
3	0,03	0,06	0,43	0,04	0,15	0,20	–	–	0,11
<i>A. pungens</i> (фаза цветения)									
4	0,01	–	1,47	0,29	–	0,68	–	0,31	0,39
5	0,21	–	4,39	0,27	0,67	0,92	–	–	0,53
6	0,14	–	3,12	0,46	0,83	0,92	–	–	0,38
<i>A. pungens</i> (фаза плодоношения)									
7	0,06	–	1,06	0,05	0,27	0,29	–	–	0,13
8	–	–	0,85	0,06	0,25	1,49	–	–	0,11
9	0,09	–	0,68	0,05	0,18	0,64	–	–	0,11
10	0,32	–	1,29	0,17	0,27	1,10	–	0,12	0,19
11	0,32	–	0,17	0,06	0,02	1,37	–	–	0,09
12	0,05	–	0,05	0,07	–	0,83	–	–	0,05
13	–	–	0,04	0,01	–	1,47	–	–	0,16
14	–	–	0,09	0,05	–	0,80	–	–	0,11
15	0,08	–	0,49	0,03	–	0,78	–	–	0,09

Примечание: « – » означает, что компонент отсутствует

По содержанию веществ наблюдаются следующие отличия. В листьях *A. frutescens* в фазе плодоношения больше всего содержится соединения III (1,74 %), достаточно много мирицитина (IV) (0,91 %) и соединения V (0,44 %). В листьях *A. pungens* в этой же фазе содержится 1,49 % кверцетина, 1,29 % соединения III и 0,32 % соединения I. В листьях цветущих растений *A. pungens* содержание веществ меняется: большое количество соединения III

(4,39 %), меньше кверцетина (0,92 %) и соединения V (0,83 %).

Вещества, идентифицированные нами методом ВЭЖХ, распределяются по видам следующим образом: у *A. pungens* в гидролизатах преобладает кверцетин, причём в фазе плодоношения его больше, чем в фазе цветения (1,49 % и 0,92 %, соответственно). Листья *A. frutescens* содержат больше мирицетина (0,91 %), чем кверцетина (0,42 %) и кемпферола (0,25 %). У *A. pungens* в фазе плодоношения мирицетин обнаружен в очень небольших количествах (0,17 %). Больше всего кемпферола найдено в листьях *A. pungens* в фазе цветения (0,53 %).

Таким образом, в гидролизатах экстрактов из листьев растений рода *A. frutescens* и *A. pungens* с типичными морфологическими признаками методом ВЭЖХ обнаружено 9 соединений, 4 из которых являются основными. Идентифицировано три агликано флавонола – мирицетин, кверцетин и кемпферол. По содержанию основных веществ *A. frutescens* и *A. pungens* различаются. Из основных агликонов флавоноидов, которые были идентифицированы, у *A. pungens* преобладает кверцетин, причём в фазе плодоношения его количество больше (1,49 %). Листья *A. frutescens* содержат больше мирицетина (0,91 %). По качественному составу фенольных соединений листья *A. pungens* в стадии цветения ничем не отличаются от стадии плодоношения.

Список литературы

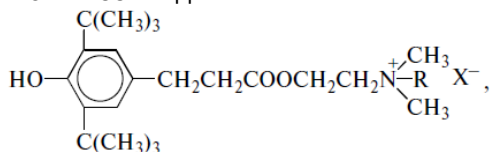
1. Nakano H., Schrader K.K., Mamonov L.K., Kustova T.S., Mursaliyeva V.K. and Cantrel C.L. Isolation and Identification of Flavobacterium columnare and Streptococcus iniae Antibacterial Compounds from the Terrestrial Plant *Atraphaxis laetevirens* // J. Agric. Food Chem. 2012. V. 60. P. 10415 – 10419.
2. Костикова В.А., Шалдаева Т.М., Костиков Д.К. Изучение антиоксидантной активности *Atraphaxis frutescens* (L.) С. Koch, произрастающего в Сибири // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. Москва. 2014. № 4. С. 51 – 52.
3. Растительные ресурсы СССР: цветковые растения, их химический состав, использование. Семейства Magnoliaceae – Limoniaceae. Л.: Наука. 1984. 460 с.
4. Высочина Г.И. Фенольные соединения в систематике и филогении семейства гречишных. Новосибирск: Наука. 2004. 240 с.
5. Храмова Е.П., Комаревцева Е.К. Изменчивость флавоноидного состава листьев *Potentilla fruticosa* (Rosaceae) разных возрастных состояний в условиях Горного Алтая // Растительные ресурсы. 2008. № 3. Т. 44. С. 96 – 102.

РЕНТГЕНОДИФРАКЦИОННОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЛИПИДНЫХ ПЛЁНОК С ФЕНОЛЬНЫМ АНТИОКСИДАНТОМ ИХФАН

**Кривандин А.В., Шаталова О.В., Фаткуллина Л.Д., Голощапов
А.Н., Бурлакова Е.Б.**

ФГБУН Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва,
Россия, тел. 84959397324, e-mail a.krivandin@sky.chph.ras.ru

Одним из важных направлений современной химии биоантиоксидантов является синтез «гибридных» соединений, молекулы которых содержат фрагменты, обеспечивающие этим соединениям помимо антиоксидантной активности ряд других специфических функций [1]. К таким соединениям относится группа фенольных антиоксидантов, синтезированных в ИБХФ РАН и получивших название ИХФАНы [1, 2]. ИХФАНы являются производными антиоксиданта фенозана-1 – 3-(3,5-ди-*трет*-бутил-4-гидроксифенил)пропионовой кислоты. Общая структурная формула ИХФАНов имеет вид



где R – атом водорода или алкил $\text{C}_n\text{H}_{2n+1}$, содержащий от 1 до 16 атомов углерода, X – атом Cl, Br или J [2].

Присутствие в структуре ИХФАНов фрагмента экранированного фенола обеспечивает им антиоксидантные свойства, фрагмент триметиламиноэтанола предполагает наличие антихолинэстеразной активности, а жирнокислотный фрагмент (алкил) должен способствовать их встраиванию в биологические мембраны и проникновению через гематоэнцефалический барьер.

Высокая антиоксидантная активность ИХФАНов и способность ингибировать действие холинэстеразы были продемонстрированы экспериментально [3–5]. Благодаря сочетанию этих свойств, ИХФАНы являются перспективными соединениями для разработки новых эффективных средств лечения нейродегенеративных заболеваний, в том числе и болезни Альцгеймера – главной причины деменции у пожилых людей.

Свойства ИХФАНов в значительной степени зависят от длины алифатической цепи входящего в их состав алкильного

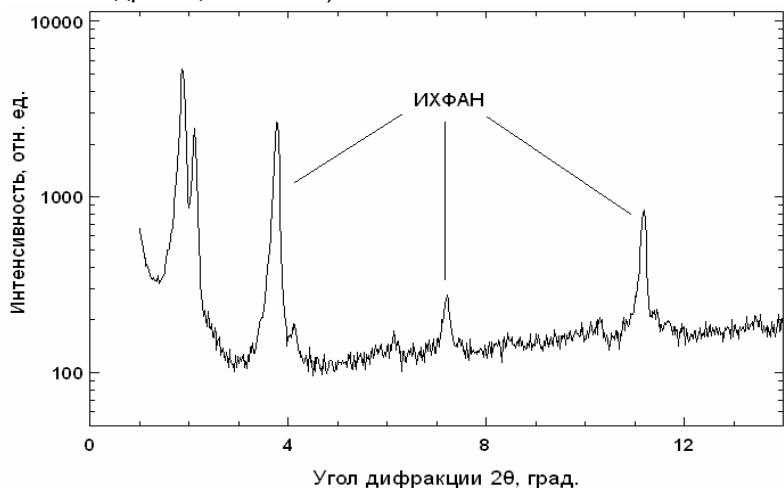
заместителя. Оптимальным сочетанием антиоксидантной и антихолинэстеразной активностей по данным исследований, проведенных *in vitro* [4], обладает ИХФАН, у которого алкильный заместитель содержит 10 атомов углерода. Следуя работе [5], будем обозначать этот ИХФАН как ИХФАН-10-С-10.

Одним из необходимых условий понимания молекулярных механизмов биологического действия ИХФАНов является изучение возможности ИХФАНов встраиваться в липидные мембраны и действовать на их структурно-функциональные характеристики. Исследованию этих вопросов, насколько нам известно, было посвящено лишь небольшое число работ. Так, на основании анализа кинетики аскорбат-индуцированного восстановления радикальных центров спиновых зондов в липосомах был сделан вывод, что ИХФАНы могут оказывать модифицирующее действие на структуру липидного бислоя [6]. Методом сканирующей электронной микроскопии для ИХФАНов с алкильным заместителем, содержащим 10 или 12 атомов углерода, была показана способность эффективно модифицировать морфологию эритроцитов, что авторы объяснили встраиванием ИХФАНов в эритроцитарную мембрану [7, 8]. Методом малоуглового рентгеновского рассеяния было показано, что в присутствии ИХФАН-10-С-10 происходит изменение структуры липидного мультислоя в липосомах, что свидетельствует о встраивании этого ИХФАН-а в липидный мультислой [9].

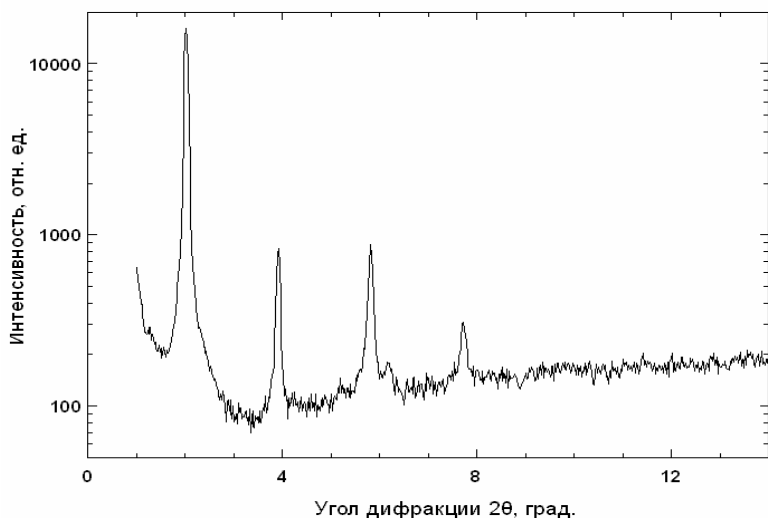
В настоящей работе проведено рентгенодифракционное исследование ориентированных многослойных липидных плёнок, содержащих ИХФАН, что позволило получить новые, более точные, структурные данные о встраивании ИХФАН-а в липидные мембраны.

Многослойные плёнки получали на алюминиевой подложке из совместных растворов в хлороформе яичного фосфатидилхолина (Sigma) и ИХФАН-10-С-10, синтезированного в ИБХФ РАН. Содержание ИХФАН-а в плёнках варьировали от 0% (без ИХФАН-а) до ~30% от массы липидов. Измерение дифрактограмм проводили на дифрактометре HZG4 по методу Брэгга-Брентано (излучение $\text{CuK}\alpha$) при разной степени гидратации плёнок, которую варьировали при помощи изменения относительной влажности воздушной среды, в которой находились плёнки, аналогично методике, использованной в [10]. Одномерные профили электронной плотности липидных мембран в направлении перпендикулярном плоскости мембран рассчитывали центросимметричным фурье-синтезом с разрешением ~1.2 нм. Фазовые знаки структурных амплитуд определяли, используя

дифрактограммы, измеренные при разных периодах укладки мембран в плёнках как в [10] (период меняется при изменении степени гидратации плёнок).



а



б

Рис. 1. Дифрактограммы воздушно-сухой (а) и гидратированной (б) липидной пленки с содержанием ИХФАНа 32% от массы липидов.

Результаты проведенного рентгенодифракционного исследования показали, что воздушно-сухие плёнки, состоящие из липидов и ИХФАНа, были многофазными и помимо липидных фаз

содержали кристаллическую фазу ИХФАНа (рис. 1, а). При увеличении степени гидратации такие плёнки становились однофазными (дифракционных максимумов ИХФАНа не наблюдалось, рис. 1, б) и состояли из одной ориентированной ламеллярной фазы, образованной липидами и ИХФАНа. Значения периода повторяемости мембран в таких пленках было меньше, чем в плёнках, полученных из липидов без ИХФАНа. Эффект выделения и исчезновения кристаллической фазы ИХФАНа в исследованных плёнках при изменении степени гидратации был обратимым. Плёнки, полученные из одного ИХФАНа (без липидов), имели ориентированную кристаллическую структуру, которая не зависела от влажности воздушной среды и была идентична структуре кристаллической фазы ИХФАНа в воздушно-сухих плёнках, состоящих из смеси липидов и ИХФАНа.

Профили электронной плотности липидных мембран, рассчитанные для однофазных плёнок, состоящих из одних липидов и липидов с ИХФАНа, существенно различаются (рис. 2). Как следует из этих профилей, в присутствии ИХФАНа толщина мембраны уменьшается и ее структурированность в области локализации углеводородных цепей понижается.

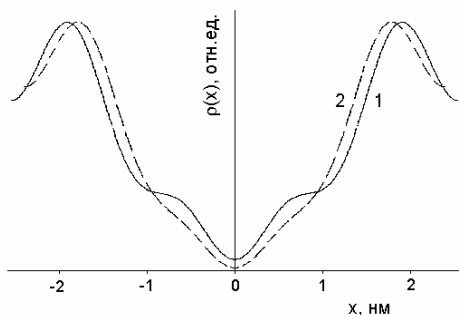


Рис. 2. Профили электронной плотности липидной мембраны без ИХФАНа (1) и при содержании ИХФАНа в липидной пленке 12% от массы липидов (2).

Отсутствие отдельной фазы ИХФАНа в гидратированных пленках, состоящих из липидов и ИХФАНа, и наблюдаемые при этом в таких пленках изменения профиля электронной плотности липидных мембран показывают способность ИХФАНа встраиваться в липидные мембраны в высоких концентрациях (до ~30% от массы липидов).

Список литературы

1. Burlakova E.B., Molochkina E.M., Nikiforov G.A. Hybrid Antioxidants // Chemical and biochemical physics, kinetics, and thermodynamics: new

-
- perspectives. Editors Stott P.E., Zaikov G.E., Kablov V.F. N.Y.: Nova Science Publishers, Inc., 2007. P. 1.
2. Никифоров Г.А., Брагинская Ф.И., Ершов В.В., Бурлакова Е.Б. Патент РФ 2029760 // Б.И. 1995. № 6.
 3. Брагинская Ф.И., Зорина О.М., Молочкина Е.М., Никифоров Г.А., Бурлакова Е.Б. // Изв. АН СССР. 1992. № 5. С. 690.
 4. Озерова И.Б. Дис. канд. биол. наук. М.: ИБХФ РАН, 2000.
 5. Сторожок Н.М., Перевозкина М.Г., Никифоров Г.А. // Изв. АН. Сер. хим. 2005. № 2. С. 323.
 6. Паршина Е.Ю., Гендель Л.Я., Рубин А.Б. // Биофизика. 2005. Т. 50. № 4. С. 676.
 7. Паршина Е.Ю., Гендель Л.Я., Рубин А.Б. // Биофизика. 2004. Т. 49. № 6. С. 1094.
 8. Паршина Е.Ю., Гендель Л.Я., Рубин А.Б. // Изв. РАН. Сер. биол. 2007. № 6. С. 645.
 9. Кривандин А.В., Фаткуллина Л.Д., Шаталова О.В., Голощапов А.Н., Бурлакова Е.Б. // Химическая физика. 2013, Т. 32, № 5, С. 91.
 10. Кривандин А.В., Протасова Т.Б., Федорович И.Б., Фейгин Л.А. // Биологические мембраны. 1992, Т. 9, № 1, С. 40.
-

УДК 577.16; 577.151.33

ОПРЕДЕЛЕНИЕ МЕТОДОМ ВЭЖХ ПОЛИФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В СУБСТАНЦИИ И КАПСУЛАХ ПРЕПАРАТА ИЗ *EUPHORBIA SOONGARICA* BOISS.

Кушнаревич Д.А.¹, Рахмадиева С.Б.¹, Мурзагулова К.Б.²

¹Евразийский национальный университет им. Л.Н. Гумилева, Астана, Казахстан, +7(700)3131270, rakhmadiyeva_sb@enu.kz

²ТОО «ФК РОМАТ», Павлодар, Казахстан.

Как источники биологически активных веществ большой интерес представляют растения рода *Euphorbia* L. (молочай). Дикорастущая флора Казахстана включает более 50 видов растения этого рода, одним из которых является *Euphorbia soongarica* Boiss. (молочай джунгарский), вошедший в Государственную Фармакопею РК [1]. Из травы *Euphorbia soongarica* Boiss. отечественными учеными была разработана оптимальная технология получения нового фитопрепарата Суттиген на основе гидролизуемых дубильных веществ [2]. Основными группами биологически активных веществ этого препарата являются гидролизуемые дубильные вещества, фенолокислоты, флавоноиды, углеводы, полисахариды, аминокислоты. Препарат обладает широким спектром

биологического действия, в том числе иммуномоделирующей, антиоксидантной [3] и гепатопротекторной активностями[4].

На основе субстанции Суттиген были созданы желатиновые капсулы, с целью непосредственной доставки к больному органу.

Целью данного исследования является определение методом ВЭЖХ полифенольных соединений в субстанции и капсулах Суттиген.

Полифенольные соединения субстанции и капсул определялись с помощью прибора марки Agilent 1290 Infinity.

Условия проведения анализа. Разделение в градиентном режиме осуществлялось на колонке ZORBAX RRHD SB-C18 2.1 × 100 мм, 1.8 мкм. Подвижная фаза состояла из А: 0,1% водного раствора муравьиной кислоты и В: ацетонитрила, содержащего муравьиную кислоту в концентрации 0,1%. Скорость потока равна 0,3 мл/мин при 30°C (образцы сохраняли при 4°C во флаконах из тёмного стекла). Регистрация осуществлялась диодно-матричным детектором при 280 нм и 325 нм. Градиент осуществлялся в следующей последовательности:

Время, мин	% А	% В	Комментарии
0	100	0	
5	90	10	
10	90	10	
25	65	35	
26	0	100	Очистка колонки
30	0	100	
31	100	0	Уравновешивание
35	100	0	

Внешними стандартами служили:

- Сертифицированный референсный материал: gallic acid, trans-ferulic acid
- Первичный референсный стандарт: epigallocatechingallate, epicatechingallate, quercitrin, quercetin,
- Аналитические стандарты: (-)-epigallocatechin, (+)-catechin,; (-)-Epicatechin, trans-p-Coumaricacid, trans-3-Hydroxycinnamic acid (m-Coumaric acid) (99%); 2-Hydroxycinnamic acid (o-Coumaric acid) (97%); quercetin-3-O-rutinosid, quercetin-3-O-glucoside, catechin gallate, (±)-naringenin, apigenin, apigenin 7-glucoside, kaempferol, kaempferol 3-glucoside.

Подготовка стандартов ГСО. Quercetin, apigenin и kaempferol растворяли в 96% этаноле, остальные стандарты

растворяли в смеси этанол/вода 1:1 до концентрации 5 мг/мл. Затем готовили калибровочные смеси с различными концентрациями. Смеси были сделаны путем разведения стандартных исходных растворов в смеси этанол/вода 1:1 в диапазоне 10-60 частей на миллион. [1]

Подготовка субстанции Суттигена. 10 мг (точная навеска) пробы субстанции Суттигена помещенного в темный эпандорф растворяли в 1 мл смеси этанол(96%)/вода 50/50, с помощью шприца на 1000 мкл, 100 мкл из полученного раствора шприцом переносили во флакон из темного стекла, доводили шприцом до 1000 мкл для дальнейшего его помещения в прибор. Полученная концентрация равна 1мг/мл.

Подготовка лекформы Суттигена в виде капсул. 40 мг содержимого капсул Суттигена растворяли в 1 мл смеси этанол (96%)/вода 50/50 и фильтровали через нейлоновые фильтры 0,2 мкм (UniPrep TM Syringeless Filters, UP 0.2uM NYL); содержимое нейлонового фильтра с помощью шприца на 100 мкл переливали во флакон из темного стекла и доводили до 1000 мкл для дальнейшего помещения в прибор. Полученная концентрация равна 4мг/мл.

Проведение анализа на приборе. Для анализа использовали 3 мкл приготовленного раствора субстанции или капсул Суттигена, введенного в инжектор с помощью шприцов, разделение веществ происходит на капиллярных колонках с сорбентом в условиях, указанных выше.

На рисунке 1 и 2 представлены хроматограммы субстанции Суттиген при 280 нм и при 325 нм соответственно.

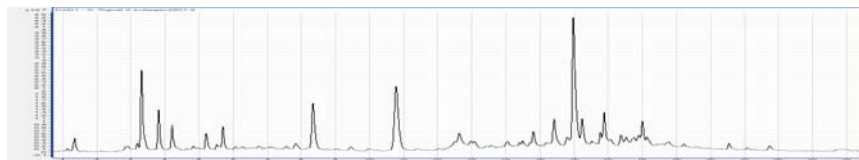


Рис. 1. Хроматограмма Суттигена при 280 нм

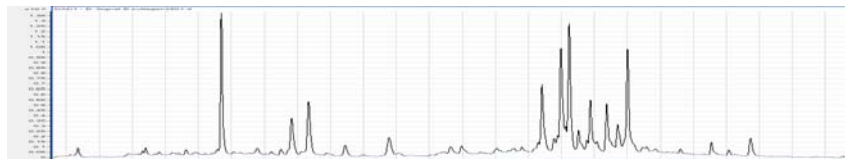


Рис. 2. Хроматограмма Суттигена при 325 нм

На рисунке 3 представлены хроматограммы совместимости при 280 нм субстанции Суттиген и капсул на их основе. Хроматограмма красного цвета соответствует капсуле, хроматограмма черного цвета субстанция Суттиген.

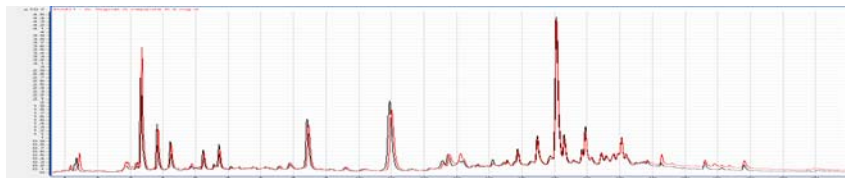


Рис. 3 Хроматограммы в субстанции Суттиген (черная линия) и капсул (красная линия) при 280 нм

Так как хроматограммы полностью совпадают можно сделать вывод, что на активность субстанции в капсуле практически не влияют другие компоненты, составляющие содержимое капсулы.

Таблица 1.

Время удерживания ГСО

№	Полифенол	Среднее время удерж.	№	Полифенол	Среднее время удерж.
	Gallic acid	3,293	11	Catechin gallate	16,447
	(-)-Epigallocatechin	6,613	12	Quercetin-3-O-glucoside	16,52
	(+)-Catechin	7,273	13	2-Hydroxycinnamic acid	16,867
	(-)-Epicatechin	10,427	14	Kaempferol 3-glucoside	17,960
	Epigallocatechin gallate	11,467	15	Quercitrin	17,99
	trans-p-Coumaric acid	12,507	16	Apigenin 7-glucoside	18,300
	trans-Ferulic acid	14,620	17	Quercetin	21,787
	trans-3-Hydroxycinnamic	14,947	18	(±)-Naringenin	23,753
	Epicatechingallate	16,007	19	Apigenin	24,240
	Quercetin-3-O-rutinosid	16,12	20	Kaempferol	24,593

Идентификация флавоноидов

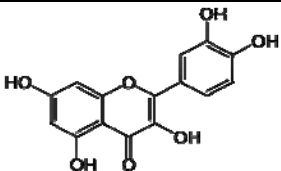
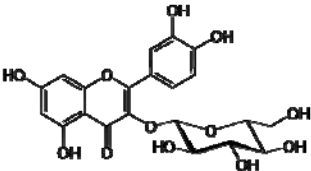
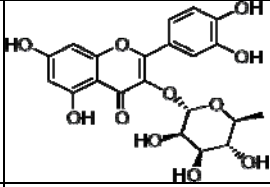
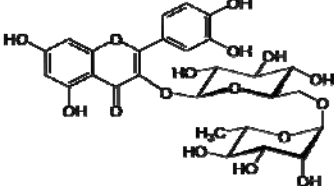
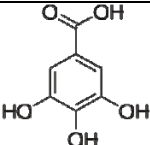
Идентификацию флавоноидов в образцах проводили по

времени удерживания соответствующих стандартов (см. таблице 1) и контролировали на основе различий спектров поглощения полифенолов в ультрафиолетовом диапазоне при 280 нм и 325 нм. В таблице 2 представлены результаты анализа образца.

В сравнении с 20 имеющимися в базе данных стандартами полифенолов были идентифицированы в субстанции и капсулах Суттигена 5 полифенолов (см. Таблица 2).

Таблица 2

Количественное определение флавоноидов в субстанции и капсулах
Суттиген

Полифенол	Содержание в субстанции Суттиген (мкг/мг)	Содержание в капсулах (мкг/мг)	Формула
Quercetin	1,42	1,42	
Quercetin-3-O-glukoside	0,69	0,65	
Quercitrin	4,42	4,42	
Quercetin-3-O-rutinosid	0,36	0,32	
Gallic acid	7,31	7,28	

Идентификация гидролизующих дубильных веществ с ГСО танина.

В качестве ГСО использовали танин фирмы «Sigma» с содержанием основного вещества $\geq 95\%$. При этом установлено, что танин фиксировался на хроматограмме в виде множественных пиков (см. Рис. 4). Наличие этих пиков на хроматограмме у танина можно объяснить его полимерной структурой, в основе которой лежат мономерные субъединицы окта- и нонагаллоилглюкозы и гекса- и гептагаллоилглюкозы [6,7]. Это обусловлено тем, что процесс в растении протекает в основном в сторону укрупнения молекул как под действием фермента фенолоксидазы, так и в результате образования семихинонных радикалов из мономерных фрагментов в окислительно-восстановительных процессах с их последующей спонтанной полимеризацией с образованием танинов и является практически необратимым [8].



Рис. 4 Хроматограмма ГСО танина при 280 нм (красная линия) и 325 нм (черная линия)

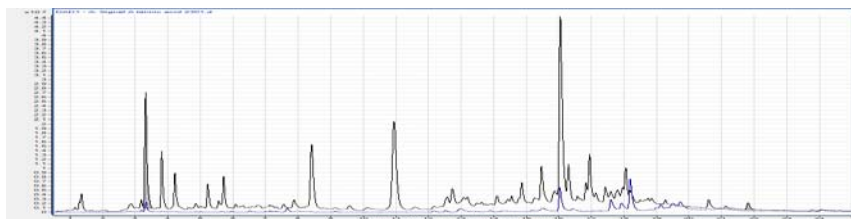


Рис. 5 Хроматограммы ГСО танина (синяя линия) и субстанции Суттигена (черная линия) в сравнении при 280 нм

На рисунке 5 представлены хроматограммы ГСО танина и субстанции Суттиген в сравнении.

Метод ВЭЖХ дает четкое представление о качественном и количественном составе субстанции Суттиген, но не может быть использован для определения гидролизующих дубильных веществ, из-за использования в качестве стандарта ГСО танина, представляющий собой по хроматограмме смесь близких по

структуре галлотанинов, дающих множество пиков на ВЭЖХ.

Список литературы.

1. Государственная Фармакопея Республики Казахстан, 2009.
2. S. Rakhmadiyeva, D. Kassenova, D. Kushnarevich. Optimal process of obtaining of biologically active substance from *Euphorbia soongarica* Boiss. Proceeding of International Conference on Advances in Bio-Informatics, Bio-Technology and Environmental Engineering, 2014. P: 17-21
3. Рахмадиева С.Б., Тулегенова А.У., Дуйсенбекова Д.Б. Патент РК № 11166 от 20.07.2000г. Средство с антиоксидантной активностью на основе растительного сырья
4. Рахмадиева С.Б., Мухамбетов Д.Д., Шайдаров М.З. Профилактическое и гепатозащитное действие нового фитопрепарата из *Euphorbia soongarica* Boiss./Фенольные соединения: фундаментальные и прикладные аспекты. М.: Научный мир. 2010, с. 365-373.
5. Judy Berry and John W. Henderson, Jr. Agilent Technologies, Inc. 2850 Centerville Road Wilmington, DE 19808. USA HPLC of Polyphenols in Red Wine.
6. M. Ding, H. Yang and S. Xiao, J. Chromatogr. A, 1999. P: 637-640.
7. C. Santos-Buelga and A. Scalbert, J. Sci. Food Agric., 2000. P: 1094-1988.
8. V. Cheynier, H. Fulcrand, S. Guyot, et al., Acts of Symposym Series, Vol.600, Am.Chem.Soc., Washington, 1995, P: 130

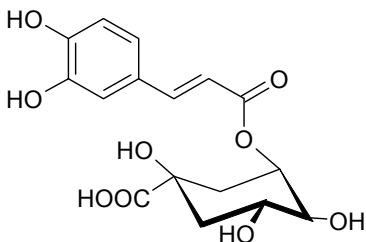
УДК 542.06.542.61.542.46.808.542.97.542.93

ИЗВЛЕЧЕНИЕ ХЛОРОГЕНОВОЙ КИСЛОТЫ ИЗ САБЕЛЬНИКА БОЛОТНОГО *COMARUM PALUSTRE* L.

**Максименко Е.В., Филонова О.В., Лекарь А.В., Борисенко С.Н.,
Ветрова Е.В., Кабанова А.Д., Борисенко Н.И.**

НИИ физической и органической химии ЮФУ, Ростов-на-Дону, пр. Стачки
194/2. E-mail: boni@ipoc.rsu.ru

Цель состояла в разработке и изучении методики экологически чистой экстракции хлорогеновой кислоты из сабельника болотного в среде субкритической воды. Хлорогеновая кислота (ХК) – 3-О-кофеил-хинная кислота и ее изомеры являются мощными антиоксидантами. ХК содержится в различных плодах и напитках, например, в чернике, баклажанах, яблоках и особенно высокое ее содержание регистрируется в зеленых зернах кофе. Свойства ХК интенсивно изучаются последние несколько лет, благодаря обнаружению широкого спектра биологической активности. ХК проявляет способность ингибировать рост опухолей (*in vitro*) [1]



Хлорогеновая кислота $C_{16}H_{18}O_9$

Методом высокоэффективной жидкостной хроматографии определены количества хлорогеновой кислоты в экстрактах, полученных в среде субкритической воды и в водном растворе этанола. Продемонстрирована высокая эффективность экстракции хлорогеновой кислоты из корневищ сабельника болотного в среде субкритической воды без использования дорогостоящих органических растворителей.

Список литературы.

1. Xu R., Kang Q., Ren J., Li Z., Xu X. Antitumor molecular mechanism of chlorogenic acid on inducing genes gsk-3b and apc and inhibiting gene b-catenin // Journal of Analytical Methods in Chemistry. 2013. Vol. 2013. P. 1-7.

УДК 547.99; 547.36

АЦИЛИРОВАНИЕ ПОЛИПРЕНОЛА ХЛОРАНГИДРИДАМИ АРОМАТИЧЕСКИХ КАРБОНОВЫХ КИСЛОТ

Маленковская М.А., Расакина Е.Н., Пугашова Н.М.

ФГБОУВПО «Московский педагогический государственный университет»
(МПГУ),

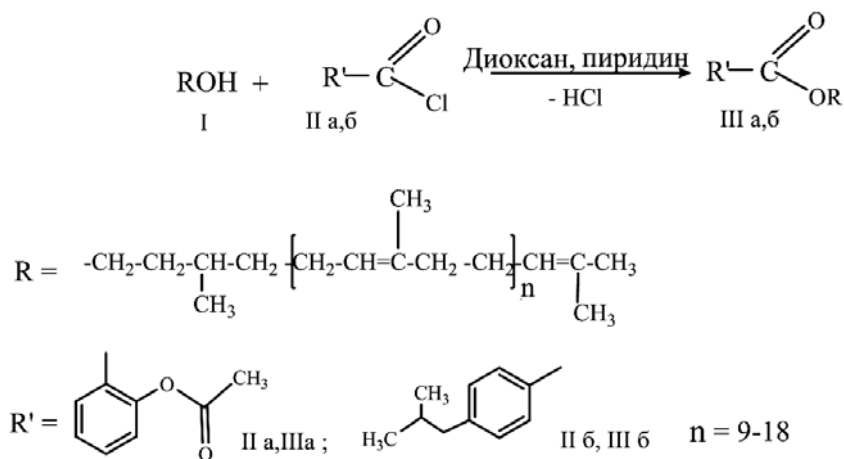
Институт биологии и химии, кафедра органической химии, Москва, Россия,
8(499)246-57-90, e-mail: chemdept@mail.ru

Поиск новых биологически активных веществ путем введения в структуру природных соединений дополнительных фармакофорных групп является в настоящее время актуальной задачей фармацевтической химии. Исходя из этого, мы продолжили изучение активации гидроксильных групп полипренола, полученного из хвои ели, не только методом фосфорилирования [1, 2], но и путем ацилирования.

Известно, что многие биологически активные соединения

являются производными алифатических, ароматических и гетероциклических карбоновых кислот, таких как бензойная, п-нитробензойная, ацетилсалициловая, фенилуксусная, пальмитиновая, никотиновая и др. Так, например, бензилированием этил-D-глюкофуранозидом был получен препарат «Трибенозид», который применяется в медицине при лечении флебитов, трофических язв и др. [3]. Известно ацилирование кверцетина до пентаникотината, обладающего эффективным противовоспалительным действием [4]. В работах последних лет приводятся факты введения остатков данных кислот в дигидрокверцетин или циклодекстрин, что значительно увеличивало их биологическую активность [5, 6]. Таким образом, этерификация полипренола хлорангидридами некоторых ароматических карбоновых кислот может привести к получению потенциальных биоактивных структур нанотипа.

Реакцию проводили хлорангидридами ацетилсалициловой и 2-(4-изобутилфенил)-пропионовой кислот в 1,4-диоксане при комнатной температуре в присутствии пиридина:



Образующиеся эфиры (Ш а,б) выделяли путем концентрирования реакционного раствора, добавления воды для удаления соли и остатков пиридина и экстракцией их хлороформом. После высушивания хлороформного раствора растворитель удаляли и сушили остаток в вакууме. Полученные ацилированные производные представляли собой масла. В их спектрах ЯМР ^1H наблюдали наличие сигналов полипренола, а также остатков ароматических кислот. Кроме того следует

отметить, что отнесение сигналов протонов соединений (Ш а,б) было проведено на основе двойного магнитного резонанса и гетероядерной коррекционной спектроскопии (HETCOR ^1H - ^{13}C). Спектры ЯМР ^{13}C также подтвердили образование полиэфиров (Ш а,б). Следует отметить, что выходы составляли 60-70%, что связано, как мы полагаем, со структурой самого полипренола, которая затрудняет в некоторых случаях подход ацилирующего реагента к гидроксильной группе.

Таким образом, впервые было осуществлено ацилирование полипренола хлорангидридами фармакологически важных карбоновых кислот и синтезированы первые представители таких соединений.

Работа выполнена в рамках Государственного задания Министерства образования и науки РФ.

Список литературы

1. Rasadkina E.N., Malenkovskaya M.A., Pugashova N.M. Phosphorylation of Polyprenols by Phosphorous Acid Amides// Russian Journal of Bioorganic Chemistry.2013.Vol. 39. No. 7. P. 704–706.
2. Маленковская М.А., Расадкина Е.Н., Пугашова Н.М. Фосфорилирование полипренолов производными 1,3,2-диаксафосфоринанов // Химия растительного сырья. 2014. №1. С.97-103.
3. Регистр лекарственных средств России. РЛС. Энциклопедия лекарств. /Под ред. Г.Л. Вышковского. М.: ООО «РЛС-2004». 2004. № 11. С. 807.
4. Пат. 2394367 Япония // С.А. 1968. Vol. 63. 114445.
5. Нифантьев Э.Е., Коротеев М.П., Кухарева Т.С., Коротеев А.М., Пугашова Н.М., Мосюров С.Е., Кугузова Н.М., Казиев Г.З. Химическая модификация и биологическая активность флавоноида дигидрокверцетина// Наука и школа. 2012. № 6. С. 179-188.
6. Пат. 2428205 Российская Федерация, Способ стимуляции условно-рефлекторной деятельности в модульном устройстве /Сергиевич А.А., Грачев М.К., Курочкина Г.И., Баталова Т.А., Пластинин М.Л., Доровских В.А., Григорьев Н.Р.; заявитель и патенообладатель Амурская государственная медицинская академия РОСЗДРАВа.- № 2010113231; заявл. 05.04.2010; опубл. 10.09.2011; Пат. 2440370 Российская Федерация, Способ усиления антиагрегантной активности/ Баталова Т.А., Грачев М.К., Курочкина Г.И.; заявитель и патенообладатель Амурская государственная медицинская академия РОСЗДРАВа.- № 2020113228; заявл. 05.04.2010; опубл. 20.01.2012.

АНТИОКСИДАНТ ФЕНОЗАН К ВЫЗЫВАЕТ ИНДУКЦИЮ АНТИАПОПТОЗНОГО БЕЛКА BCL-2

Миль Е.М.

Институт биохимической физики им. Н.М.Эмануэля, Москва, (499) 137-41-81, e-mail: elenamil2004@mail.ru

При исследовании биологического действия пространственно затрудненного фенола антиоксиданта фенозана К– (β -(4-гидрокси 3,5- дитретбутилфенил) пропионовой кислоты), синтезированного в ИБХФ РАН, был обнаружен широкий спектр его воздействия – антимикробное, противоожоговое и радиопротекторное, а также предотвращение возникновения инфарктов и инсультов. Сверхмалые дозы фенозана К показали высокую эффективность при гипоксических поражениях мозга, он также нашел свое применение в медицине как эффективное проитивоэпилептическое средство [1,2]. Ранее было показано, что антиоксидант фенозан К может оказывать влияние на структуру клеточных мембран клеток, на Ca^{2+} - сигнализацию [3] и на осмотическое состояние эритроцитов [4]. Препарат снижает интенсивность окислительных процессов в липидах после облучения [5], а также уменьшает пострадиационные изменения в структуре ДНК [6]. В то же время введение фенозана в сверхмалой дозе 10^{-14} моль/кг приводило к существенному увеличению продолжительности жизни мышей лейкозной линии АКР (асцитная карцинома Эрлиха) [7]. Можно было полагать, что положительное воздействие фенозана К в малых и терапевтических дозах на организм и на последствия облучения [8, 9] обусловлено его влиянием на процессы репарации и апоптоза. Поэтому в работе было изучено влияние антиоксиданта фенозана в дозах 10^{-14} моль/кг и 10^{-4} моль/кг на содержание антиапоптозного белка Bcl-2 в сыворотке крови и селезенке мышей. При этом, одной из функций антиапоптозного белка Bcl-2, препятствующего реализации программируемой гибели клеток по механизму апоптоза, является его роль в выживаемости и узнаваемости гемопоэтических клеток в центрах размножения [9].

Материалы и методика. Опыты проводили на мышах массой 19–20г двух линий: низкоракowej F1(CBA $\times$ C57Bl) и лейкозной АКР. Контрольная и опытная группа, состояла из 8–10 особей. Фенозан К в виде водного раствора вводили мышам однократно в конечной концентрации в 10^{-14} или 10^{-4} М/кг. Определение содержания белка Bcl-2 в сыворотке крови и в

клетках ткани селезенки проводили методом иммуноблоттинга. В эксперименте использовали моноклональные антитела "Monoclonal Anti-Bcl-2 clone10C4", и иммуноглобулин anti-rabbit IgG ("Sigma") меченый пероксидазой хрена. Определение концентрации белков проводили проявляющим набором AEC Staining Kit ("Sigma Aldrich").

Результаты и обсуждение. В работе определяли индукцию белка Bcl-2 при введении фенозана К у мышей – гибридов первого поколения низкоракowej линии F1(CBA × C57Bl), и также у мышей лейкозной линии АКР, которые являются носителями вируса Т-лимфоцитарного лейкоза Гросса и отличаются высокой радиочувствительностью.

На рис. 1–2. представлены результаты экспериментов по определению методом иммуноблоттинга содержания белка Bcl-2 в сыворотке крови мышей АКР, а также белка Bcl-2 в экстракте белков селезенки мышей F1.

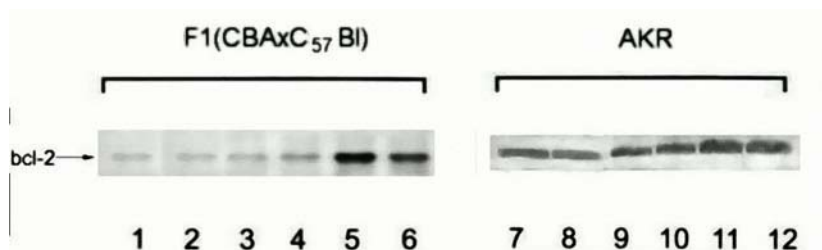


Рис. 1. Иммуноблоттинг белков Bcl-2 в экстракте селезенки мышей F1 и в сыворотке крови мышей АКР (на 4-е сут.) после введения фенозана: (1, 2) и (7, 8) – контроль; (3,4) и (9,10) – 10^{-14} моль/кг; (5, 6) и (11, 12) – 10^{-4} моль/кг.

Как можно видеть из рисунка, (рис. 1-2), введение фенозана К мышам линии АКР приводило к повышению содержания антиапоптозного белка Bcl-2 (рис. 2а) в сыворотке крови. При измерении на 1-е сутки фенозан в малой дозе 10^{-14} моль/кг оказывал большее влияние на индукцию белка Bcl-2, чем в дозе 10^{-4} моль/кг. В то же время на 4-е сутки эффект повышения Bcl-2 сохранялся, и содержание белка Bcl-2 возрастало по мере увеличения концентрации фенозана.

Результаты эксперимента (рис 2б) свидетельствуют о том, что у устойчивой к лейкозу мышей-гибридов F1 линий (CBA × C57Bl), в экстрактах селезенки мышей также наблюдается увеличения содержания антиапоптозного белка Bcl-2, причем в большей степени, чем в сыворотке крови мышей АКР, что может

свидетельствовать об усилении процессов репарации ДНК клеток от повреждений и снижении процессов апоптоза.

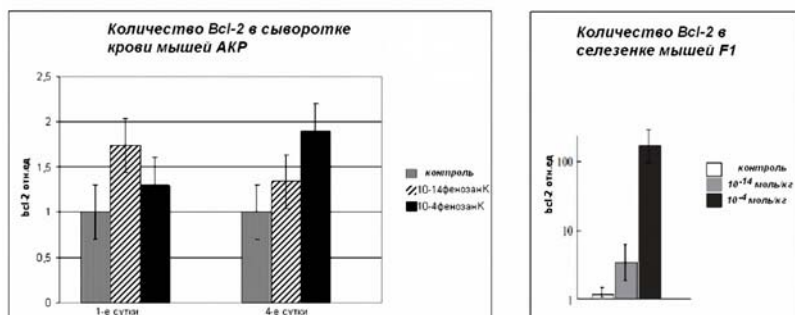


Рис. 2. Изменение количества белка Bcl-2 в контроле и после введения фенозана К в сыворотке крови мышей АКР на 1-е сут. и 4-е сут. и в селезенке мышей F1.

Это подтверждают данные параллельных исследований [6] по снижению количества двунитевых разрывов ДНК в клетках селезенки у мышей линии АКР и F1(СВА × С57В1). При этом фенозан К влиял на процессы старения [7], существенно увеличивая продолжительность жизни мышей лейкозной линии АКР, а также увеличивал содержание антиоксидантных ферментов, таких как супероксидоксидаза и глютатионпероксидаза.

Следует отметить, что малые дозы облучения (1,2 сГр) [10], как и дозы 20 сГр [11] также вызывали индукция белка Bcl-2 в экстрактах тканей селезенки мышей F1(СВА × С57В1), в отличие от облучения в большой дозах. При малых и больших дозах облучения происходит стимуляция гена Рима и активация белка р53, но меняется соотношение количества белков Вах и Bcl-2. Так, облучение в сублетальной для мышей дозе (0.2 Гр) [11] стимулирует проапоптотный ген ВАХ (ответственный за белок Вах), приводя к клеточной гибели, в то время как при малых дозах облучения в клетках селезенки активируется ген BCL-2 и белок Bcl-2 [11], что может приводить к эффекту снижения апоптоза и, возможно, последующему адаптивному ответу. Следует отметить, что эффект введения антиоксиданта фенозана и действие облучения в малой дозе на индукцию Bcl-2 оказались сходными, что играет важную роль в защите клеток от апоптоза и выживаемости гемопоэтических клеток.

Было обнаружено, что ряд антиоксидантов, такие как пространственно затрудненный фенол ИХФАН-10 в сыворотке

крови и регулятор роста растений мелафен в клетках мышей АКР [12, 13], не вызывали индукцию белка Bcl-2, а приводили к снижению его содержания. К тому же многие флавоноиды растительного происхождения, такие как теафлавины [14], также инициировали проапоптотические эффекты и приводили к повышению белка апоптоза Вах и экспрессии белка p53, а также к снижению экспрессии белков Bcl-XL и Bcl-2.

Таким образом, показано, что фенозан К (в концентрации 10^{-14} М и 10^{-4} М) влиял на систему сигнальной трансдукции, репарации и апоптоза клеток и вызывал индукцию антиапоптозного белка Bcl-2, который пролонгирует выживаемость клеток. Тем самым фенозан К может оказывать ряд положительных эффектов такие как адаптационные, противовоспалительные, противоопухолевые и репаративные.

Список литературы

1. Булакова Е.Б. Особенности действия сверхмалых доз биологически активных веществ и физических факторов низкой интенсивности Т. 43. № 5.С. 3–11.
2. Хайбуллина З.Р. Сравнительный анализ эффективности альфа-токоферола и фенозана в сверхмалых дозах в ткани мозга и крови при экспериментальной гипоксии плода. Здоровье ребенка 2011р. N 6 - С.137-142.
3. Алексеева О.М., Рыков В.А., Голощапов А.Н., Миль Е.М. Влияние экранированных фенолов на структуру липидов, а также растворимых и мембранных белков // Фенольные соединения: фундаментальные и прикладные аспекты. М. : Научный мир, 2010. - 399 с. - С.116-126.
4. Бинюков В.И., Алексеева О.М., Миль Е.М., Албантова А.А., Фаттахов С.Г., Голощапов А.Н., Бурлакова Е.Б., Коновалов А.И. // Изучение влияния фенозана, Ихфан-10 и мелафена на эритроциты in vivo методом атомно-силовой микроскопии // Доклады РАН. -2011. – Т.441, № 1. – С. 114-117.
5. Шишкина Л.Н., Полякова Н.В., Мазалецкая Л.И. Противолучевые свойства феноксана при низкоинтенсивном гамма облучения в малой дозе. // Радиационная биология. Радиационная экология. 1999. Т.39 , №23, С. 322–329.
6. Жижина Г.П., Т.М. Заварыкина Т.М., Миль Е.М., Бурлакова Е.Б. Изменение структурных характеристик ДНК селезенки у мышей после введения фенозана и общего воздействия гамма-радиации в малой дозе с малой мощностью. // Радиационная биология. Радиационная экология. 2007. Т. 47, С. 414–422.
7. Бурлакова Е.Б., Ерохин В.Н., Семенов В.А. Влияние малоинтенсивного облучения на возникновение и развитие злокачественных новообразований // Радиационная биология. Радиационная экология.. 2006. Т. 46, № 5, С. 572–530.

-
8. Михайлов В.Ф., Мазурик В.К., Бурлакова Е.Б. Система окислительно-восстановительного гомеостаза при радиационно-индуцируемой нестабильности генома // Радиационная биология. Радиоэкология. 2001. Т. 41, № 5, С. 489–499.
 9. Копнин Б.П. Мишени действия онкогенов и опухолевых супрессоров: ключ к пониманию базовых механизмов канцерогенеза // Биохимия. 2000. Т. 65, №1, С.5-33.
 10. Миль Е.М., Албантова А.А., Бурлакова Е.Б.. Влияние антиоксиданта фенозана и облучения в малой дозе на содержание белков p53 и Bcl-2 у мышей разных линий. Радиационная биология. // Радиоэкология. 2010, т.50, N1, Стр.1-8.
 11. Пушкарева Н.Б., Сорокина Н.И., Котеров А.Н., Никольский А.В., Филиппович И.В. Белки регуляторы апоптоза из семейства Bcl-2 после воздействия облучения в дозе 20- сГр.// Радиационная биология. Радиоэкология. 2004. Т. 44, № 1, С. 23 – 26.
 12. Albantova A.A., Gößner I, Mil E.M, Binjukov V.I., Aleksejeva O.M., Burlakova E.B. Influence of Ichfan-10 and Phenozan on the content of two apoptotic proteins in the blood and the spleen of mice: on the regulator of apoptosis p53 and the antiapoptotic protein Bcl-2 / // Modern Problems in Biochemical Physics. Nova Science Publishers. New York. 2012. -V. 1. - P.1-10.
 13. А.А. Албантова, Е.М. Миль, В.И. Бинюков, О.М. Алексеева, С.Г. Фаттахов, А.И. Коновалов, Е.Б. Бурлакова Влияние мелафена на содержание белков p53 и Bcl-2 в клетках асцитной карциномы Эрлиха // В сб. Межд. Научн. конф. по биоорганической химии, биотехнологии и бионанотехнологии. Пущино. – 2009. – С.113–114.
 14. Тараховский Ю. С., Ким Ю. А., Абдралилов Б. С., Музафаров Е. Н.; Флавоноиды: биохимия, биофизика, медицина // [отв. ред. Е.И. Маевский] – Пущино: Synchrobook, 2013. – 310 с.
-

ПОЛУЧЕНИЕ СУЛЬФОКИСЛОТ ОКСИАНТРАХИНОНОВ И ИЗУЧЕНИЕ ИХ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ

Музыкакина Р.А., Корулькин Д.Ю., Бажаканова С.К.

Казахский национальный университет имени аль-Фараби, Алматы,
Казахстан, 87022596499, bazhakanova.saltanat@gmail.com

Отработаны оптимальные технологические параметры реакции сульфирования диоксидантрахинонов. Осуществлен синтез серии новых, потенциально биологически активных антрахинонов.

Сульфокислоты оксиантрахинонов обладают микоцидной, бактерицидной, фунгицидной и противоопухолевой активностью, высоким радиозащитным эффектом.

Реакции получения сульфокислот перспективны в плане

поиска биологически активных соединений, поскольку практически все сульфокислоты на основе оксиантрахинонов и их соли растворимы в воде и это облегчает исследование их активности.

Введение. Актуальность обусловлена потребностью здравоохранения и фармацевтической промышленности Республики Казахстан в новых, эффективных лекарственных средствах отечественного производства.

Антрахиноны отличаются большим структурным многообразием, широким спектром биологической активности и низкой токсичностью. Они обладают вяжущим, слабительным, противовоспалительным, умеренным противоопухолевым, бактерицидным действием; участвуют в процессах обмена, дыхания, деления клеток, окислительного фосфорилирования, комплексообразования с ДНК и РНК и, возможно, в других жизненно важных физиологических процессах; входят в состав многих лекарственных средств растительного происхождения.

Благодаря высокой активности исходных антрахинонов, поиск путей их химической модификации, создание на их основе новых высокоэффективных препаратов, отработка оптимальных технологических параметров синтеза биологически активных соединений с целью их возможного последующего внедрения в производство является актуальным.

Результаты и обсуждение. Эксперименты были проведены в лаборатории Казахского Национального университета им. аль-Фараби Республики Казахстан.

Сульфирование проводили на диоксиантрахинонах: ализарине и хинизарине. Варьируя температурным режимом, продолжительностью реакции, концентрацией олеума и растворителем были отработаны оптимальные технологические параметры реакции сульфирования диоксиантрахинонов.

Температурный режим начали с 50⁰С до 200⁰С, продолжительность реакции – 1-16 часов.

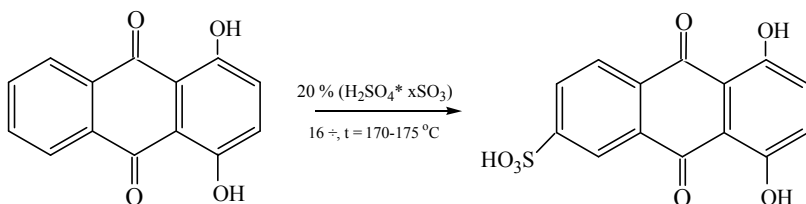
Сульфлирующими агентами служили концентрированная серная кислота и олеум разной концентрации

Использовали растворитель диоксан-1,4, который создает гомологическую среду, обеспечивая контакт между реагирующими частицами, и увеличивает скорость химической реакций.

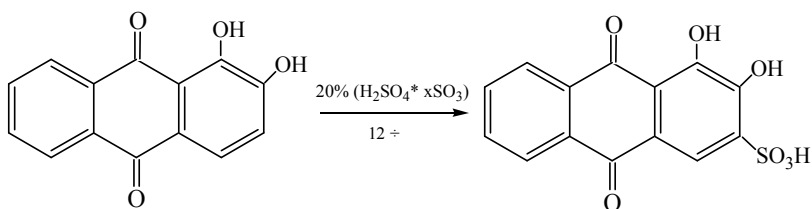
Хороший выход получается при таких условиях:

1. В круглодонной колбе, снабженной обратным холодильником, обрабатывают хинизарин (1,4-дигидроксиантархинон) 12,5% - ным олеумом с добавкой Na₂SO₄ при 90-120⁰С в течение 12 ч. 1,4-Дигидроксиантархинон с хорошим выходом (91%) превращается в 1,4-дигидроксиантрахинон-2-

сульфокислоту, а при обработке 20 % - ным олеумом с добавкой H_3BO_3 и HgO при 170-175 °С в течение 26 ч – в 1,4-гидроксиантрахинон-6-сульфокислоту, выделенную в виде магниевой соли ($\omega = 83\%$).

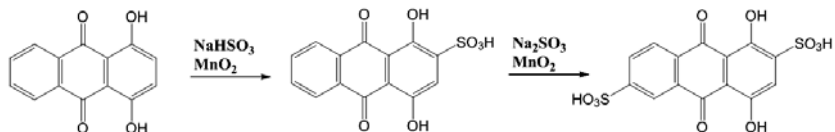


2. В круглодонной колбе, снабженной обратным холодильником, помещают растворенный в диоксане ализарин (1,2-дигидроксиантрахинон) и 20%-ный олеум при 90 - 100 °С в течение 12 ч. Образуется 3,4-дигидроксиантрахинон-2-сульфокислота с примесью 1-сульфокислоты. Выход 86%.



При обработке оксиантрахинонов олеумом или хлорсульфоновой кислотой в присутствии третичных аминов без применения восстановителя получают сернокислые эфиры, преимущественно β -ориентации. Добавление фосфорной кислоты в процессе сульфирования способствует подавлению возможных побочных реакций гидроксилирования [1,2]. Реакции α -сульфирования осуществляют в присутствии катализаторов: Hg , HgO , Hg_2SO_4 , Ti (III) , Pd (II) , Se (III) , Cr (III) и др.

Окислительное сульфитирование хинизарина и его производных, 1,4-диаминоокси- и 1,4-диаминоантрахинона при нагревании с водным раствором Na_2SO_3 или NaHSO_3 в присутствии таких окислителей как MnO_2 , PbO_2 , NaClO , а также $\text{C}_6\text{H}_5\text{SO}_3\text{H}$ с образованием β -сульфокислот по схеме [3]:



Нагревание оксиантрахинонов с солями сернистой кислоты в водно-диоксановых растворах при температурах выше 150°C также сопровождается образованием семихинона, затем к исходному антрахинону или к семихинону присоединяется радикал $\text{SO}_3^{\cdot-}$. Примером такой реакции может служить получение 1,4-диокси-антрахинон-, 2,6-дисульфокислоты из хинизарина [4].

В среде моногидрата образуются только β -сульфокислоты, в олеуме α - и β -, а в присутствии катализаторов этой реакции - α -производные, причем селективность α -сульфирования сохраняется только до температур $70\text{--}80^\circ\text{C}$. Максимальный выход суммы α -сульфокислот (93–95%) получен в олеуме в присутствии катализаторов: Pd/C , PtO_2 , PdO_2 , Pt и Pd -черной [5].

Интересна и возможность получения солей сульфокислот с различными катионами. Так получены K^- , Na^- , Ca^- , Ba^- , Fe^- , Cu^{+} , Cu^{+2} -, Co^{+2} - и Ag -соли сульфокислот и показана их различная биодоступность и активность.

Как показали проведенные исследования, α -сульфокислоты оксиантрахинонов обладают более высокой противоопухолевой активностью, а β -изомеры - высоким радиозащитным эффектом, причем количество сульфогрупп и их положение (α - или β) оказывают влияние на избирательность противоопухолевого действия в отношении различных опухолей животных [5].

Кроме отмеченной выше активности, установлена также микоцидная, бактерицидная и фунгицидная активности сульфокислот хризофанола, эмодина и фисциона [6-8].

Реакции получения сульфокислот перспективны в плане поиска биологически активных соединений, поскольку практически все сульфокислоты на основе оксиантрахинонов и их соли растворимы в воде и это облегчает исследование их активности [9].

Полученные данные были обработаны на ТСХ, масс-спектре.

Закключение. В результате исследований можно сделать следующие выводы:

1. Разработаны оптимальные технологические параметры реакции сульфирования дигидроксиантрахинонов.
2. Осуществлен синтез серии новых, потенциально биологически активных антрахинонов.

Разработанная технология получения сульфокислот дигидроксиантрахинонов имеет практический интерес для здравоохранения и фармацевтической промышленности Республики Казахстан.

Список литературы

- 1 Корнев М.С. Получение и исследование физико-химических свойств хелатных комплексов хинизарина и его производных: автореф. ..к. х. н.: 02.00.04. - Кемерово, 2003. - 3-11 с.
- 2 Caro Y., Anamale L., Fouillaud M., Laurent P. Natural hydroxyanthraquinoid pigments as potent food grade colorants: an overview // Natural Products and Bioprospecting. – 2012. – V. 2, № 5. - P. 174-193.
- 3 Tamura K., Alwi R.S. Solubility of anthraquinone derivatives in supercritical carbon dioxide // Dyes and Pigments. – 2015. – V. 113. - P. 351-356.
- 4 Zhao L.M., Zhang L.M., Ma F.Y., Wang X.S. Catalyst-free Mannich reaction of hydroxyanthraquinone: facile access to emodin Mannich bases and anthraoxazines // Tetrahedron Letters – 2013. V. 54, № 22. - P. 2802-2805.
- 5 Горелик М.В. Химия антрахинонов и их производных. - Москва: Химия, 1983. - 170-173с.
- 6 Клименко Л.С. Фотохимические перегруппировки и синтез производных антрахинона: автореф. д. х. н.: 02.00.03. – Новосибирск, 2003. - 5-11 с.
- 7 Иоффе И.С. Сульфирование органических веществ. - Л: Изд Военно-морской мед.акад., 1944. - 268-299 с.
- 8 Файн В.Я. 9,10 Антрахиноны и их производные. - Москва: Изд.центра фотохимии РАН, 1999. - 55с.
- 9 Э.Е. Джильберт. Сульфирование органических соединений. - Москва: 1969. - С. 91.

УДК 547.972

**ВЫДЕЛЕНИЕ И ФИТОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ
БАВ КАЗАХСТАНСКОГО РАСТЕНИЯ *TILLAEA VAILLANTII*
WILLD.**

Музыкакина Р.А., Нуралиев Р.М., Корулькин Д.Ю.

Казахский национальный университет имени аль-Фараби, Алматы,
Казахстан, тел. 727-2923731, e-mail: rmuz@mail.ru

Объектом исследования была надземная часть *Tillaea vaillantii* Willd., семейства *Crassulaceae*, заготовленная в 2014 г. в предгорьях Заилийского Алатау в 4 фазы вегетации.

Заготовленное сырье высушивали, измельчали до размера

частиц 3-7 мм и использовали для экстракции индивидуальными и смешанными экстрагентами. Измельченное воздушно-сухое сырье для удаления липофильных веществ последовательно настаивали при комнатной температуре с бензолом и хлороформом в течение 48 часов. Полифенольный комплекс, после удаления растворителей, извлекали трехкратным настаиванием с 70% водным этанолом, сочетая при этом способ мацерации (24 ч.) с последующей термической экстракцией (с обратным холодильником) при температуре 60-65°C. Сухой остаток водно-спиртового извлечения растворяли в минимальном количестве воды. Последовательно обрабатывали органическими растворителями различной полярности (эфир, этилацетат), что позволило провести предварительное разделение полифенолов в зависимости от их растворимости.

Для разделения и идентификации БАВ *Tillaea vaillantii* Willd. использовали три фракции: эфирную, этилацетатную и водную.

Концентрированный этилацетатный экстракт наносили на колонку с полиамидом и элюировали смесью CHCl_3 -MeOH 9:1 с последующим увеличением концентрации MeOH до 1:1, собирая фракции по 50 мл. Фракции 6-17 концентрировали (вакуум, темп. 40-45°C) и разделяли на колонке с сефадексом LH-20; элюирование проводили водой и водно-спиртовыми смесями состава от 1:9 до 7:3. Фракции 1-14 подвергали разделению на колонке с силикагелем L100/160, с элюированием смесью гексан-ацетон состава от 7:3 до 1:1. Концентраты фракций 18-32 наносили на колонку с сефадексом LH-20 и элюировали вещества водой.

Концентрат эфирной фракции наносили на колонку с полиамидом. Элюирование осуществляли водой и водно-спиртовыми смесями состава от 1:9 до 3:7. Разделение элюата фракций 5-12 проводили рехроматографированием на колонке с сефадексом LH-20, используя для элюирования воду и водный спирт состава от 1:9 до 3:7.

Концентрированную водную фракцию вносили на колонку с сефадексом LH-20. Элюирование веществ осуществляли водой и водно-спиртовыми смесями состава от 1:9 до 1:1. Фракции 4-8 подвергали перехроматографированию на колонке с полиамидом, используя воду и водный спирт состава от 1:9 до 3:7, в качестве подвижной фазы. Разделение веществ фракций 1-9 осуществляли препаративной хроматографией на бумаге в системе бутанол – уксусная кислота вода 40:12,5:29. Разделение веществ фракций 10-39 проводили перехроматографированием на колонке с силикагелем L100/160, используя в качестве элюента смеси гексан-ацетон состава от 7:3 до 1:1. Перекристаллизацию выделенных

соединений проводили из эфира.

Для идентификации структур выделенных соединений использованы химические (качественный функциональный анализ, кислотный гидролиз, щелочная деструкция, получение перметильных и перацетильных производных) и физико-химические методы (определение температур плавления, удельного вращения, УФ-, ИК-, (^1H и ^{13}C)-ЯМР- и масс-спектрометрия). Структура выделенных веществ также устанавливалась ВЭЖХ-сравнением с ранее выделенными и однозначно доказанными аутентичными образцами вторичных метаболитов семейства *Crassulaceae*, а также сравнением их химических свойств и физико-химических констант.

Количественное содержание основных групп БАВ определяли по фармакопейным методикам. Сводные данные по качественному компонентному составу и количественному содержанию фенолов, феноло- и оксикоричных кислот, углеводов, кумаринов и таннинов сведены в таблице 1.

Таблица 1.
Качественный и количественный анализ *Tillaea vaillantii*
Willd. на основные классы БАВ

Идентифицированное соединение	Бутонизация	Цветение	Плодоношение	Покой
1	2	3	4	5
Фенолы	0.12	0.16	0.18	0.19
гидрохинон	-	+	+	+
флороглюцин	+	+	++	++
пирокатехин	-	-	-	+
пирогаллол	-	-	+	+
1	2	3	4	5
арбутин	+	+	+	++
Феноло- и оксикоричные кислоты	0.15	0.19	0.20	0.21
галловая	+	+	+	++
кофейная	+	+	+	++
феруловая	+	+	+	+
сиреневая	+	-	-	-
гентизиновая	+	+	+	-
ванилиновая	-	+	+	++
о-кумаровая	+	+	+	+
Углеводы	0.31	0.36	0.38	0.35
глюкоза	+	+	+	+
галактоза	-	+	+	+

рамноза	+	+	+	++
манноза	+	-	-	-
ксилоза	-	-	+	+
арабиноза	-	-	-	+
рутиноза	-	+	+	+
Кумарины	0.89	1,23	1.35	1.41
кумарин	+	+	++	+
4,5-диоксикумарин	-	+	+	+
7-оксикумарин	+	+	+	+
скополетин	-	-	-	+
Флавоноиды	1.55	2.01	2.25	2.47
кемпферол	+	+	+	+
кверцетин	+	+	+	+
госсипетин	+	+	+	+
мирицетин	-	-	-	сл
(+)-катехин	-	+	+	сл
(-)-эпикатехин	-	-	сл	сл
3- <i>O</i> - α - <i>L</i> -рамнопиранозид кемпферола	-	+	+	+
3- <i>O</i> - α - <i>L</i> -рамнопиранозид кверцетина	+	+	+	+
3- <i>O</i> - β - <i>D</i> -(2"- <i>O</i> -галлоил) глюкопиранозид кверцетина	-	-	-	сл
3- <i>O</i> - β - <i>D</i> -галактопиранозидо-(6 $\rightarrow$ 1)- <i>O</i> - β - <i>D</i> -ксилопиранозид кверцетина	-	-	-	-
3- <i>O</i> -рутинозид кверцетина	+	+	+	+
3- <i>O</i> - β - <i>D</i> -глюкопиранозид кверцетина	+	+	+	+
7- <i>O</i> - β - <i>D</i> -ксилопиранозид госсипетина	-	+	+	+
3- <i>O</i> - β - <i>D</i> -глюкопиранозид пеонидина	+	-	-	-
3- <i>O</i> - β - <i>D</i> -глюкопиранозид пеларгонидина	-	+	+	сл
Дубильные вещества	3.91	4.77	4.98	5.14
2,3- <i>O</i> -гексаоксидифеноил-4,6- <i>O</i> - сангвисорбил- <i>D</i> -глюкоза	-	+	+	++
2,3-ди- <i>O</i> -галлоил- <i>D</i> -глюкоза	+	+	+	+
1,2,4-три- <i>O</i> -галлоил- β - <i>D</i> -глюкоза	-	-	-	-
1,3,4-три- <i>O</i> -галлоил- β - <i>D</i> -глюкоза	-	+	+	сл
3,6- <i>O</i> -гексаоксидифеноил- <i>D</i> - глюкоза	-	-	-	-
1,4-ди- <i>O</i> -галлоил-3,6- <i>O</i> - гексаоксидифеноил - β - <i>D</i> -глюкоза	+	+	+	+

Таким образом, в результате нами была выявлена динамика накопления фенолов, феноло- и оксикоричных кислот, углеводов, кумаринов, флавоноидов и дубильных веществ казахстанского вида *Tillaea vaillantii* Willd. по фазам вегетации.

УДК 577.13:582.711.71

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СОСТАВА ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ ФРАКЦИЙ СУХОГО ЭКСТРАКТА *COLURIA GEOIDES* (ROSACEAE)

Мяделец М.А.¹, Дутова С.В.²

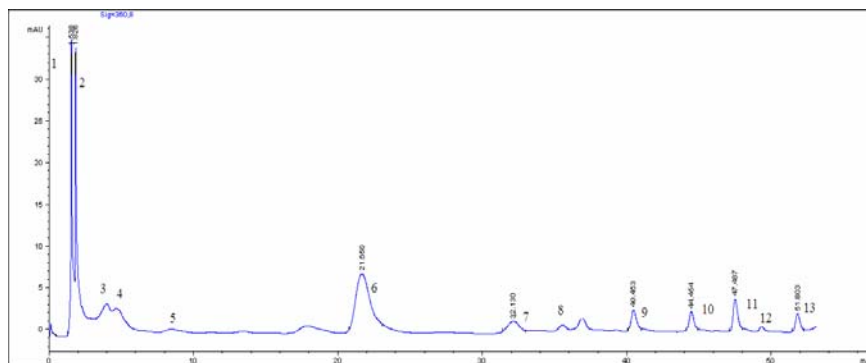
¹ФГБУН Центральный сибирский ботанический сад СО РАН, Новосибирск, Россия, тел. (383) 339-98-14, e-mail: MarinaMyadelets@yandex.ru

²Хакасский государственный университет им. Н.Ф. Катанова, Абакан, Россия, (3902) 34-27-20, e-mail: coluria@mail.ru

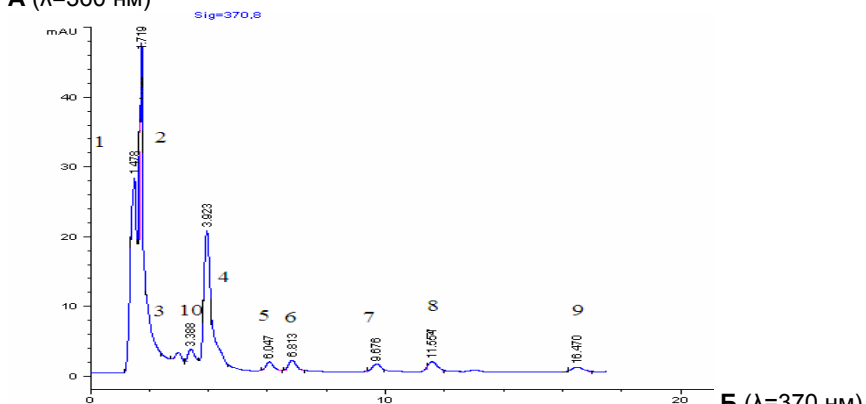
Coluria geoides (Pall.) Ledeb. (колюрия гравилатовидная) – многолетнее короткостебельное травянистое растение сем. *Rosaceae*, гемизндемик Южной Сибири [1], является перспективным источником биологически активных веществ с противомикробной, иммуностимулирующей и иммунокорректирующей активностью, протективным действием при стафилококковой инфекции [2-7]. Исследование острой и хронической токсичности настойки *C. geoides* при пероральном введении в дозе 100 мг/кг аутбредным мышам показало её отсутствие [8]. При оценке безвредности этого препарата для инбредных животных линии СВА/СаЛас, на которых была доказана фармакологическая активность, установлено, что исследуемый растительный препарат не обладает токсическим эффектом при однократном и длительном пероральном введении и относится к классу малотоксичных веществ [9].

Сравнение влияния на различные стадии клеточного иммунного ответа показало, что отдельные фракции (водная и этанольная) биологически активных соединений (БАС) сухого экстракта *C. geoides* в целом влияют на клеточно-опосредованный иммунный ответ так же, как и цельный экстракт. Однако, водная фракция, содержащая гидрофильные БАС, проявляет более выраженное стимулирующее действие, направленное на синтез противовоспалительных цитокинов на разрешающей стадии иммунного ответа [10]. Это дало основание авторам предположить, что действующие вещества *C. geoides* по-видимому содержатся во

фракции БАС, извлекаемых водой. В составе БАС *S. geoides* установлено наличие не менее 15 соединений фенольной природы, определено относительное содержание фенолкарбоновых кислот (галловая, *м*-кумаровая, протокатеховая, хлорогеновая, эллаговая), флавоноидов (кверцетин, кемпферол) и кумаринов [11,12].



А (λ=360 нм)



Б (λ=370 нм)

Рис. Хроматографические профили водных фракций сухих экстрактов *S. geoides* до (А) и после кислотного гидролиза (Б).

А: 1 – галловая кислота, 2 – *м*-кумаровая кислота, 3 – ванилиновая кислота, 4 – соединение I, 5 – *п*-кумаровая кислота, 6 – эллаговая кислота, 7 – соединение II, 8 – соединение III, 9 – кверцетин, 10 – соединение IV, 11 – кемпферол, 12 – соединение V, 13 – соединение VI.

Б: 1 – соединение VII, 2 – протокатеховая кислота, 3 – *п*-кумаровая кислота, 4 – эллаговая кислота, 5 – соединение VIII, 6 – кверцетин, 7 – соединение IX, 8 – кемпферол, 9 – соединение X, 10 – соединение XI.

Цель данной работы – изучение степени перехода фенольных соединений во фракции биологически активных веществ сухого экстракта *C. geoides*.

Таблица

Характеристика и содержание фенольных соединений фракций сухих экстрактов *C. geoides*

Соединение	Время удерживания (t_R), мин	Спектральные данные λ_{max} , нм
Фракции до кислотного гидролиза		
1. Галловая кислота	1,55	220, 280
2. <i>m</i> -Кумаровая кислота	1,82	235, 320
3. Ванилиновая кислота	4,83	210, 250, 290
4. Соединение I	6,53	260, 330
5. <i>p</i> -Кумаровая кислота	8,39	210, 290, 310
6. Эллаговая кислота	21,60	255, 370
7. Соединение II	32,18	290, 340
8. Соединение III	36,90	255, 290
9. Кверцетин	40,25	256, 370
10. Соединение IV	44,45	220, 370
11. Кемпферол	47,49	250, 360
12. Соединение V	49,20	220, 370
13. Соединение VI	51,80	255, 370
Фракции после кислотного гидролиза		
14. Соединение VII	1,40	220, 280
15. Протокатеховая кислота	1,72	210, 240, 280
16. <i>p</i> -Кумаровая кислота,	2,50	210, 223, 310
17. Эллаговая кислота	3,83	255, 370
18. Соединение VIII	5,89	225, 350
19. Кверцетин	6,59	256, 370
20. Соединение IX	9,55	220, 270
21. Кемпферол	11,45	255, 365
22. Соединение X	16,46	250, 370
23. Соединение XI.	3,35	220, 270, 325

Объектом исследования являлись растения *C. geoides*, собранные в фазе цветения в местах естественного произрастания на территории Республики Хакасия. Материалом служили образцы сухого экстракта сырья *C. geoides* (надземная и подземная части), полученные методом перколяции 40 %-ным этанолом [12]. Комплексы БАС получали из сухого экстракта последовательным фракционированием 96 %-ным этанолом, водой, бутанолом и ацетоном [10]. Сухой остаток водной, этанольной, бутанольной и ацетоновой фракций растворялся в 95 %-ном этаноле. Изучение

состава и степени извлечения фенольных соединений проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) на приборе “Agilent 1200” с диодноматричным детектором и системой ChemStation [11, 12]. Анализировались фракции до и после кислотного гидролиза.

Таблица

Степень извлечения фенольных соединений (% от общего содержания в сухом экстракте)

	Водная	Этанольная	Бутанольная	Ацетоновая
Фракции до кислотного гидролиза				
1. Галловая кислота	53,67	18,27	8,80	19,25
2. <i>m</i> -Кумаровая кислота	43,19	36,41	20,40	—
3. Ванилиновая кислота	19,54	8,42	72,03	—
4. Соединение I	31,65	21,46	46,90	—
5. <i>p</i> -Кумаровая кислота	12,00	6,13	81,87	—
6. Эллаговая кислота	61,78	21,92	16,30	—
7. Соединение II	81,00	19,00	—	—
8. Соединение III	11,86	25,43	62,71	—
9. Кверцетин	11,64	6,30	82,06	—
10. Соединение IV	8,77	13,08	26,96	51,19
11. Кемпферол	11,13	16,88	35,82	36,17
12. Соединение V	17,68	3,92	78,40	—
13. Соединение VI	6,10	15,67	15,05	63,18
Фракции после кислотного гидролиза				
14. Соединение VII	26,16	35,19	17,57	21,07
15. Протокатеховая кислота	25,83	21,86	27,36	24,94
16. <i>p</i> -Кумаровая кислота,	6,92	27,24	24,71	41,12
17. Эллаговая кислота	9,75	21,91	15,53	52,81
18. Соединение VIII	6,54	29,25	18,32	45,89
19. Кверцетин	6,55	34,18	15,61	43,67
20. Соединение IX	5,90	36,93	18,29	38,89
21. Кемпферол	4,18	26,34	17,07	52,41
22. Соединение X	6,44	34,49	23,44	35,63
23. Соединение XI.	100,00	—	—	—

Примечание: “—” данное соединение во фракции не обнаружено.

Методом ВЭЖХ в выбранных условиях хроматографического разделения в исследуемых фракциях сухих экстрактов *C. geoides* было установлено наличие не менее 22 соединений фенольной природы (таблица), 10 из которых (протокатеховая, *п*-кумаровая, эллаговая кислоты, соединения VII, VIII, IX, X, XI, агликоны кверцетин и кемпферол) были обнаружены во фракциях после кислотного гидролиза. В извлечениях, не подвергавшихся кислотному гидролизу, было отмечено 13 соединений. По времени удерживания стандартных веществ и УФ-спектрам 6 соединений были идентифицированы как гликозиды кверцетина, кемпферола, ванилиновая, галловая, *м*-кумаровая, *п*-кумаровая, эллаговая кислоты (рисунок). Неидентифицированные компоненты (соединения I-VI) были зарегистрированы на длине волны 360, 370 нм, что позволяет отнести их к группе фенольных соединений.

В водной фракции после кислотного гидролиза было обнаружено соединение XI, которое по спектральным характеристикам и времени удерживания соответствует ГСО 20-гидроксиэкдизона. Это соединение полностью переходит в водную фракцию экстракта, что будет оказывать влияние на ее физиологическую активность, поскольку имеются сведения о влиянии 20-гидроксиэкдизона на фагоцитарную активность лейкоцитов крови животных, где исследователи отмечают данное соединение как перспективное для использования в качестве иммуностимулятора [13].

Анализируя степень извлечения (% от общего содержания в сухом экстракте) фенольных соединений во фракции биологически активных веществ сухого экстракта *C. geoides*, следует отметить, что наибольшее содержание изучаемых компонентов отмечено в водной и этанольной фракциях. В водную фракцию в значительной степени переходят коричневые кислоты (эллаговая (61,78 %), галловая (53,67 %), *м*-кумаровая (43,19 %)), являющиеся простыми фенилпропаноидами, которые могут обуславливать фармакологическую активность.

Список литературы

1. Флора Сибири. Rosaceae. Т. 8. Новосибирск, 1988. 200 с.
2. Водоплазова С.В., Мяделец М.А., Карпова М.Р., Саранчина Ю.В. Антимикробная активность эфирных масел и водных извлечений из лекарственных растений Хакасии // Сиб. мед. журн. 2011. Т. 26. № 2, вып. 2. С. 54-58.
3. Водоплазова С.В., Агеева Е.С., Саранчина Ю.В. Влияние препаратов колюрии гравилатовидной на фагоцитарную активность и

-
- цитокинпродуцирующую способность лейкоцитов периферической крови // Дни иммунологии в Сибири / Материалы Всероссийской научно-практ. конф. с межд. участием. Абакан, 2011. С. 192-194.
4. Дутова С.В., Карпова М.Р., Мяделец М.А. Иммуностимулирующие свойства эфиромасличных растений, содержащих фенилпропаноиды // Фундаментальные аспекты компенсаторно-приспособительных процессов / Материалы VI Всероссийской научно-практической конференции. Новосибирск, 2013. С. 46-47.
 5. Дутова С.В., Карпова М.Р., Мяделец М.А. Иммунокорригирующее действие препаратов колюрии гравилатовидной при цитостатической болезни // Дни иммунологии в Сибири / Материалы Всеросс. научно-практ. конф. Красноярск, 2013. С. 54-56.
 6. Дутова С.В., Неделькина Н.П., Карпова М.Р., Чумаков В.Ю. Протективное действие настойки *Coluria geoides* (Rosaceae) на модели генерализованной стафилококковой инфекции // Российский иммунологический журн. 2012. Т. 6 (14). № 3. С. 74-75.
 7. Дутова С.В., Неделькина Н.П., Карпова М.Р., Чумаков В.Ю., Мяделец М.А. Изучение протективных свойств нового фитопрепарата при стафилококковой инфекции // Человек и лекарство: сб. мат. XXI российского национального конгресса. М., 2014. С. 237-238.
 8. Дутова С.В. Чумаков В.Ю., Неделькина Н.П., Карпова М.Р. и др. Исследование токсичности настойки Колюрии гравилатовидной // Фундаментальные исследования. 2013. № 9. Ч. 2. С. 277-280.
 9. Дутова С.В., Неделькина Н.П., Карпова М.Р., Чумаков В.Ю., Мяделец М.А. Острая и хроническая токсичность настойки *Coluria geoides* (Rosaceae) // Современные проблемы науки и образования. 2014. № 3; URL: <http://www.science-education.ru/117-13408> (дата обращения: 09.06.2014).
 10. Дутова С.В., Ростовцева Ю.В., Карпова М.Р., Мяделец М.А. Влияние БАС колюрии гравилатовидной *Coluria geoides* (Rosaceae) на клеточный иммунный ответ // Фармация и фармакология. 2014. № 6 (7). С. 77-79.
 11. Мяделец М.А., Дутова С.В. Хроматографическое изучение фенольных соединений *Coluria geoides* (Rosaceae) // Раст. мир Азиатской России. 2012. № 2(10). С. 43-48.
 12. Мяделец М.А., Дутова С.В. Фенольные соединения сухих экстрактов *Coluria geoides* (Rosaceae) // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2014. № 9. С. 60-61.
 13. Репина Е.Н., Моисеенко Н.А., Иванкова Ж.Е. Влияние 20-гидроксиэкдизона из растений *Serratula coronata* L. на свойства белой и красной крови кроликов породы шиншилла // Фундаментальные исследования. 2004. № 2. С. 151-153.
-

НЕКОВАЛЕНТНЫЕ КОНЬЮГАТЫ 3-ГИДРОКСИФЛАВОНОВ С УГЛЕВОДАМИ В ВОДНЫХ РАСТВОРАХ

Погодаева Н.Н.¹, Сухов Б.Г.¹, Медведева С.А.²

¹ Иркутский институт химии им. А.Е. Фаворского СО РАН, Иркутск, Россия,
e-mail: nat_pogodaeva@irioch.irk.ru

² Иркутский научно-исследовательский технический университет, Иркутск,
Россия

Интерес к флавоноидным соединениям (вторичным метаболитам растений) велик благодаря присущему им широкому спектру биологического действия [1] и выраженной антиоксидантной активности [2]. Лекарственные препараты, полученные на основе флавоноидов, занимают одно из ведущих мест в области профилактики и лечения заболеваний [1]. Однако, разработка биомедицинских препаратов на основе флавоноидов осложнена их высокой гидрофобностью [3].

В современной фармацевтической химии одним из способов повышения растворимости биологически активных веществ и лекарственных препаратов является использование гидротропных полимеров, способных образовывать с гидрофобными соединениями молекулярные комплексы и тем самым повышать их растворимость в воде [3].

Ранее нами установлено [4], что повысить растворимость в воде флавонолов можно с помощью молекулярных комплексов, которые природный полисахарид арабиногалактан (AG) образует с таутомерной α -дикетоформой 3-гидроксифлавонов (рис.).

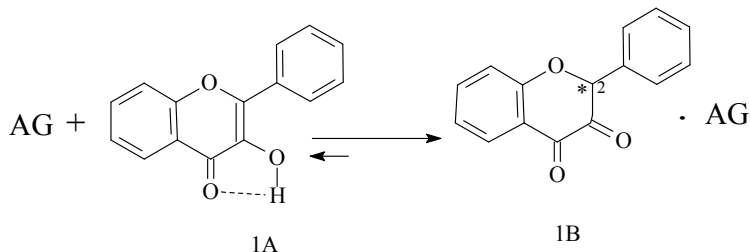


Рис.. Схема образования молекулярного комплекса 3-гидроксифлавона с арабиногалактаном (AG)

Определить конкретные комплексообразующие фрагменты в этом процессе с использованием нерегулярного высокоразветвленного полисахарида оказалось сложно. Цель настоящей работы заключалась в детализации строения

молекулярных комплексов таутомерных дикетоформ 3-гидроксифлавонов с углеводами в водных растворах.

Данное исследование межмолекулярного комплексообразования 3-гидроксифлавонов с углеводами представляет большой интерес, так как последние участвуют в различных биохимических процессах, связанных с образованием подобных нековалентных конъюгатов. Являясь компонентами гликопротеинов и гликолипидов, олигосахариды на поверхности клеточных мембран выполняют рецепторные функции по отношению к биологически активным веществам [5].

Для решения поставленной задачи были использованы флавоноиды 3-гидроксифлавонон (1), 3-гидрокси-5-метоксифлавонон (2), 3-гидрокси-4'-метоксифлавонон (3) и природный флавоноид кверцетин (4). В качестве второй комплексообразующей компоненты мы выбрали *L*-арабинозу и *D*-галактозу, которые являются основными структурными звеньями АГ, *D*-глюкозу, *D*-мальтозу и АГ. Все эти сахара отличаются количеством и пространственным расположением (аксиальным или экваториальным) гидроксильных групп в углеводном цикле.

Для исследования был использован комплекс спектральных методов: ИК- и УФ-спектроскопия и дисперсия оптического вращения (ДОВ).

Установлено, что 3-гидроксифлавоны в водных растворах образуют молекулярные комплексы не только с АГ, но и с моносахаридами и мальтозой. В этом процессе участвует α -дикетоформа 3-гидроксифлавонов, вклад которой резко увеличивается за счет формирования циклического межмолекулярного комплекса, в котором α -дикетогруппа связана водородными связями с *цис*-диольными группами углевода.

При образовании комплексов с энантиомерно чистыми углеводами имеет место ассиметрическая индукция на вновь образующийся хиральный центр С-2 флавонона, о чем свидетельствует наблюдаемый на кривых ДОВ изучаемых комплексов эффект Коттона в области поглощения образующегося дикетонного хромофора при 420 нм.

Исследованные углеводы обнаруживают различную способность к взаимодействию с флавоноидами: комплексообразующая способность углевода определяется количеством и стереохимической направленностью гидроксильных заместителей и уменьшается в ряду мальтоза – глюкоза – галактоза – арабиноза.

Тот же самый эффект Коттона наблюдается при молекулярном комплексообразовании 3-гидроксифлавонов (1- 4) в

случае использования в качестве углеводной компоненты полисахарида АГ. Исходя из строения арабиногалактана лиственницы [6], можно предположить, что в комплексообразовании с флавонолами участвуют звенья *L*-арабинозы и *D*-галактозы боковых цепей АГ, обладающие циклидными группами.

Таким образом повышение растворимости 3-гидроксифлавонов обеспечивается образованием молекулярного комплекса α -дикетоформы флавонолов с гидротропными углеводами.

Полученные результаты могут быть важными как для понимания механизмов биологического действия флавонолов с возможным участием энантиоселективной α -дикетоформы, так и функционирования сахаридов в биохимических процессах, связанных с образованием межмолекулярных комплексов.

Список литературы

1. FLAVONOIDS. Chemistry, Biochemistry and Applications, Ed. Q. M. Andersen, K. R. Markham, Taylor & Francis Group, 2006, 1237 p
2. Elliott Middleton, J. R., Chithan Kandaswami, Theoharis C. Theoharides, Pharmacol. Rev. 52, (4), 673 (2000)
3. Н. Н. Погодаева, С. А. Медведева, Журн. физич. химии, 79 (4), 751 (2005)
4. 4.N. N. Pogodaeva, S. A. Medvedeva, B. G. Sukhov, L. I. Larina, Chem.f Nat. Comp., 48, (5), 723 (2012)
5. Научные основы химической технологии углеводов, под. ред. А. Г. Захарова, ЛКИ, Москва, 2008, 528 с.
6. G. F. Antonova, A. I. Usov, Bioorg. Khim., 10 (12), 1664 (1984)

УДК 541.183

ОПТИМИЗАЦИЯ ПАРАМЕТРОВ ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОГО РАЗДЕЛЕНИЯ СМЕСЕЙ ПРИРОДНЫХ ПОЛИФЕНОЛОВ

Полунина И.А., Полунин К.Е.

ФГБУН Институт физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина
РАН, Москва, РФ, polunina@phychе.ac.ru

Широкий ассортимент коммерческих продуктов, выпускаемых на основе природных полифенолов – фармацевтических, косметических, пищевых, конструкционных и других материалов, – требует разработки простых, доступных и эффективных методов разделения смесей полифенолов, идентификации и количественного определения целевых

соединений в сложных для анализа объектах растительного и животного происхождения.

Одним из таких методов является хроматография. Протокол получения полифенолов из водно-органических экстрактов обязательно включает стадию их препаративного выделения и очистки адсорбционными методами, в том числе, методами тонкослойной (ТСХ) и жидкостной хроматографии (ЖХ). Для оптимизации процессов разделения, выделения и концентрирования целевых компонентов необходимо знание кинетических и равновесных параметров, характеризующих процессы распределения вещества между подвижной и неподвижной фазами. Особенностью хроматографических методов является необходимость выбора условий сорбционного разделения сложных смесей всякий раз, когда характер пробы меняется. Ошибка, допущенная при выборе условий разделения, может повлечь за собой неправильную идентификацию компонентов.

Метод ТСХ, представляющий собой процесс разделения в тонком слое сорбента, наиболее используемый хроматографический метод из-за его несложного аппаратного оформления. Он позволяет при небольших затратах времени и реактивов быстро и эффективно проводить разделение сложных смесей на аналитическом и препаративном уровне. Существенным преимуществом метода ТСХ по сравнению с колоночной хроматографией является то, что образец не требует никакой предварительной подготовки, т.е. анализу могут подвергаться смеси природных или синтетических соединений, включая первичные экстракты. Разделение в ТСХ осуществляется вследствие многократного процесса распределения вещества на межфазной границе.

Интенсификация процесса разделения полифенолов возможна с использованием производительных методов радиальной хроматографии – центрифужной ПТСХ с применением хроматотрона, который получил широкое распространение благодаря скорости и эффективности разделения смесей с минимальными затратами растворителя и сорбента.

Процессы движения веществ в хроматографических системах описывает теория неравновесной динамики адсорбции, или адсорбционной хроматографии, на основе решения уравнения материального баланса для соответствующих изотерм адсорбции. Прежде чем приступить к препаративному разделению смесей, необходимо оптимизировать процесс на аналитическом уровне путем подбора системы растворителей и условий разделения.

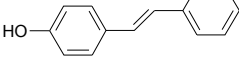
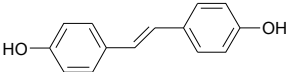
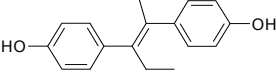
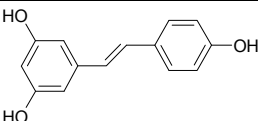
Адекватная математическая модель позволяет отказаться от проведения дорогостоящих и трудоемких экспериментов с микроколичествами малодоступных полифенолов. Моделирование множества вариантов выбора растворителей, параметров хроматографической системы осуществляется значительно быстрее, чем проведение натурного эксперимента. В связи с этим математическое описание и моделирование процессов, разделения и детектирования компонентов смесей является актуальной технологической и фундаментальной проблемой. При ее разработке проводятся экспериментальные исследования в области селективности и кинетики сорбционных процессов, определение связи химической природы компонентов с их сорбируемостью, подвижностью и т.п. В результате математического анализа экспериментальных данных определяются оптимальные параметры системы и условия для осуществления разделения конкретных смесей. От качества математической модели, описывающей хроматографический процесс, зависят ее предсказательная сила и экономическая эффективность предложенной технологии. В данной работе на примере смесей гидроксистильбенов математические эксперименты позволили рассчитать оптимальные условия для проведения их разделения методом ПТСХ на хроматотроне.

Динамика процесса разделения смесей исследовалась путем выявления закономерностей движения концентрационных и адсорбционных фронтов веществ, адсорбирующихся из потока подвижной фазы, которая протекает через неподвижный слой адсорбирующего материала. Основными факторами, влияющими на разделение веществ в препаративной жидкостной хроматографии, являются химический состав и структура адсорбента, размер его частиц, геометрия колонки или пластинки с адсорбентом, а также состав, температура и скорость подачи растворителя (элюента), характер его взаимодействия с компонентами разделяемой смеси (элюатами), количество этой смеси и способ ее ввода. Эти параметры определяют селективность, разрешающую способность и скорость разделения в хроматографических системах. Теория движения элюатов в колонках относительно малой длины и с постоянным ее сечением в настоящее время разработана достаточно надежно, однако в условиях радиальной хроматографии развитие профиля проявительных кривых более сложное, т.к. оно сопровождается расширением сечения слоя адсорбента и, одновременно, изменением скорости движения подвижной фазы. Модель слоя равновесной адсорбции, предложенная в [1-3], позволяет получать

математические выражения для выходных проявительных кривых в различных вариантах хроматографии в широком интервале изменения концентрации и длины слоя адсорбента, включая относительно малые длины слоев адсорбента.

Таблица 1.

Значения удельных удерживаемых объемов (V_m) *транс*-гидроксистильбенов при разном содержании этилацетата (X_m – мольная доля) в *n*-гексане

Вещество	Структурная формула	V_m , мкл/мг	
		$X_m = 0.35$	$X_m = 0.5$
4'-гидроксистильбен		1.6	0.8
4,4'-дигидроксистильбен		3.2	1.6
α,α' -диэтил-4,4'-дигидроксистильбен (диэтилстильбэстрол)		4.0	1.9
3,5,4'-тригидроксистильбен (резвератрол)		14.4	4.6

Объектами исследования служили химически чистые гидроксипроизводные *транс*-стильбена (табл. 1): 4-гидроксистильбен, 4,4'-дигидроксистильбен, α,α' -диэтил-4,4'-дигидроксистильбен (диэтилстильбэстрол) и 3,5,4'-тригидроксистильбен (резвератрол). В качестве компонентов подвижной фазы использовали *n*-гексан и этилацетат. Моделирование процесса препаративного разделения смесей синтетических стильбеноидов методом центрифужной ПТСХ проводили для хроматофона Harrison Research 8924 со слоем адсорбента Silica gel 60 PF₂₅₄, нанесенного на стеклянную пластинку, закрепленную на центрифуге.

Численное моделирование для смесей гидроксистильбенов проведено с использованием значений их удельных удерживаемых объемов (V_m), которые экспериментально определяли методом

нормально-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии на силикагеле Силасорб-600 по времени появления максимума хроматографического пика исследуемого вещества в пробе с элюентом *n*-гексан – этилацетат 1:1 в изократическом режиме элюирования. Поскольку величины констант Генри значительным образом изменяются в зависимости от мольной доли X_m полярного растворителя в жидкой фазе, в табл. 1 приведены значения V_m , измеренные при двух значениях мольной доли этилацетата в *n*-гексане.

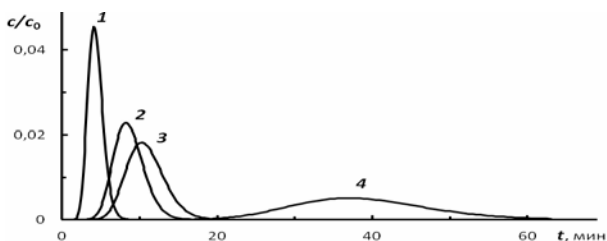


Рис. 1. Модельные проявительные кривые *транс*-4'-гидроксистильбена (1), *транс*-4,4'-дигидроксистильбена (2), диэтилстильбэстрола (3) и резвератрола (4), рассчитанные для условий разделения на хроматотроне $X_m = 0.35$, $n = 20$.

На рис. 1 представлены результаты моделирования процесса разделения смеси гидроксистильбенов, выполненного при значениях $X_m = 0.35$ (мольная доля этилацетата в подвижной фазе) и $n = 20$ (эффективность слоя адсорбента). Теоретически рассчитанные модельные хроматограммы удовлетворительно согласуются с экспериментальными результатами, полученными при разделении смесей стильбеноидов методом центрифужной ПТСХ и жидкостной колоночной хроматографии. Это свидетельствует о справедливости предложенной модели.

Таким образом, на основе уравнения, используемого в теории слоя равновесной адсорбции для описания выходной проявительной кривой на колонке малой длины, получено рациональное приближение для моделирования процессов разделения стильбеноидов в условиях нормально-фазовой ПТСХ на хроматотроне.

Работа проводилась при финансовой поддержке РФФИ (гранты № 15-08-08006 и № 14-08-00780).

Список литературы

1. Ларин А.В. // Изв. АН. Сер. хим. 2011. № 2. С. 367.
 2. Ларин А.В. // Физикохимия поверхности и защита материалов. 2011. Т. 47. № 6. С. 616.
 3. Ларин А.В. // Коллоид. журн. 2012. Т. 74. №. 3. С. 430.
-

УДК 547.972

ПОЛИФЕНОЛЬНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ РАСТЕНИЯ *LEPIDIUM RUDERALE* LINN. И ИХ БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ

Рахмадиева С.Б., Кударова А.Н., Шертаева Н.Т.

Евразийский национальный университет имени Л.Н.Гумилева, Астана,
Казахстан rakhmadiyeva_sb@enu.kz

Lepidium ruderale L., известный как Бан Хэлэм в Гималаях, используется как еда и лекарственное растение области. Он используется для лечения кашля, астмы, геморроя, кожных заболеваний и ревматизма племенными жителями центральных Гималаи [1].

Lepidium ruderale L. был проверен на различную биологическую активность как противогрибковое, антибактериальное и противовирусное средство.

Бензилглюкозинолаты, принципиальные элементы *Lepidium ruderale* L., показали антиамебную активность. В составе растения *Lepidium ruderale* L. был обнаружен кверцетин и его производные. Кверцетин – флаванол, относящийся к группе катехинов наиболее распространенный элемент во фруктах и овощах, имеет более высокий антиоксидантный потенциал, чем витамины С и Е и обладает огромной биологической активностью [2-3]. В Казахстане встречается 20 видов клоповников [4].

Объект исследования: растение *Lepidium ruderale* L. (клоповник сорный), собранное в Павлодарской области, на территории заповедника Баян-ауыл в Республике Казахстан.

Цель данного исследования: изучить полифенольные соединения растения *Lepidium ruderale* L. и определить их биологическую активность.

В ходе проведенного исследования был разработан оптимальный способ экстрагирования полифенольных соединений из наземной части *Lepidium ruderale* L. , при этом были использованы 3 различных способа извлечения веществ: горячей водой, этиловым спиртом и метанолом.

Как видно из таблицы 1 наиболее полное извлечение

достигается с применением экстракции с метанолом.

Таблица 1.
Общее содержание полифенольных соединений в различных экстрактах

Растение	Метанол	Этанол	Вода
	Общее кол-во фенольных соединений, мг GAE/100 г	Общее кол-во фенольных соединений, мг GAE/100 г	Общее кол-во фенольных соединений, мг GAE/100 г
<i>Lepidium ruderale</i> L.	71,4	51,9	56,3

На рисунке 1 приведены спектры поглощения полученных экстрактов из *Lepidium ruderale* L.

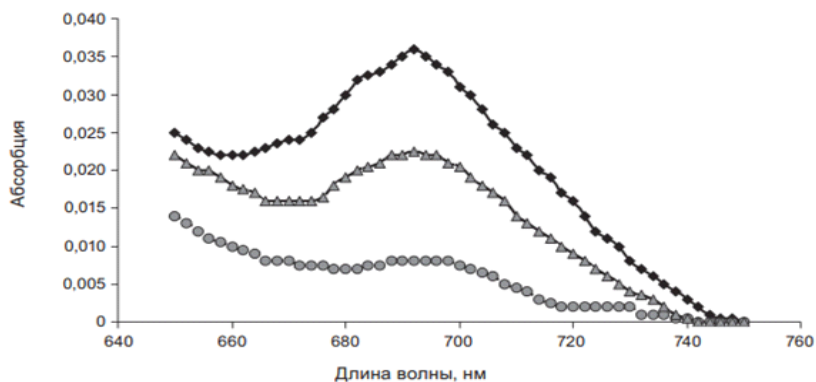


Рис. 1. Спектры поглощения различных экстрактов: 1- спектр метанольного экстракта, 2- спектр этанольного экстракта, 3- спектр водного экстракта растения.

Было проведено разделение полифенольных соединений с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии. Для эффективности разделения была подобрана соответствующая колонка Zorbax SB C₁₈ (3,5μm) 3x150 мм, подвижная фаза: метанол-раствор уксусной кислоты 0,01 % (25: 75); скорость подвижной фазы: 1,2 см³/мин; температура колонки: 25⁰С; детектирование при УФ, λ= 254нм, объем вводимой пробы 20мм³. Хроматограмма флавоноидов приведена на рисунке 2, время удерживания указано в таблице 3.

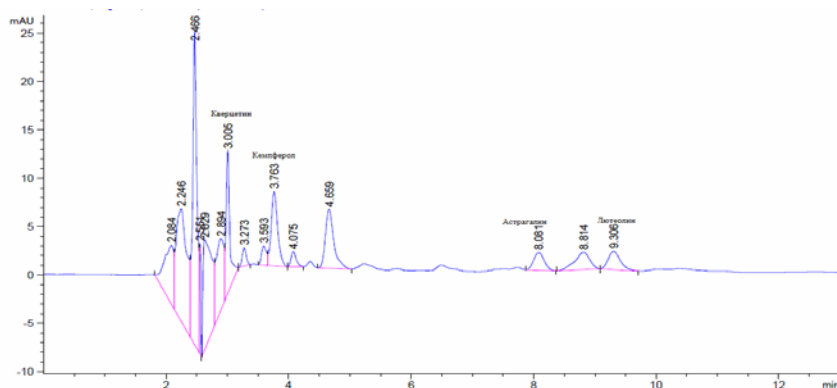


Рис. 2. Хроматограмма флавоноидов растения *Lepidium ruderae* L

Таблица 2.

Количественное содержание флавоноидов

Растение	Астрагалин, г/кг	Лютеолин, г/кг	Кверцетин, г/кг	Кемпферол, г/кг
<i>Lepidium ruderae</i>	1,03	1,32	3,04	0,63
Общее содержание	6, 02			

Таблица 3.

Идентификация флавоноидов *Lepidium ruderae* L.

Название вещества	Время удерживания	Формула
Кверцетин	3,005	<chem>Oc1cc(O)c2c(c1)c3cc(O)c(O)c3oc2=O</chem>
Кемпферол	3,763	<chem>Oc1cc(O)c2c(c1)c3cc(O)c(O)c3oc2=O</chem>
Астрагалин	8,081	<chem>Oc1cc(O)c2c(c1)c3cc(O)c(O)c3oc2=O</chem>
Лютеолин	9,306	<chem>Oc1cc(O)c2c(c1)c3cc(O)c(O)c3oc2=O</chem>

Для идентификации веществ, не определенных методом ВЭЖХ, был использован метод масс-спектрометрии. Для определения флавоноидов методом масс-спектрометрии использовали методику [5]. Результаты приведены на рисунке 3.

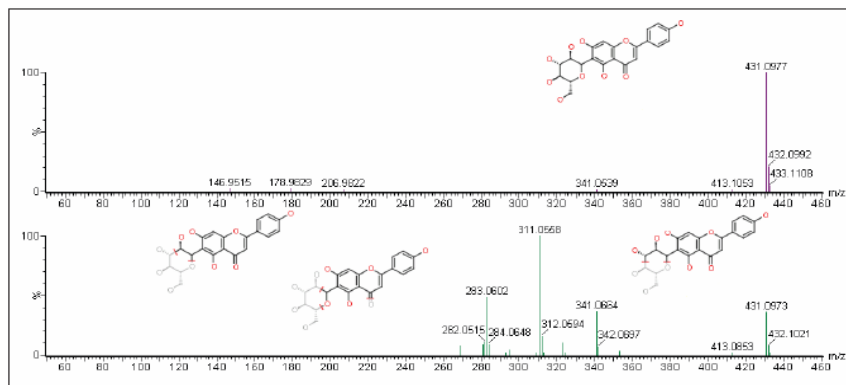


Рис. 3. Масс-спектры изовитексина

Условия масс-спектрометрического анализа: ионизация - негативная, температура ячейки - 120⁰С, температура источника - 500⁰С, температура колонки - 40⁰С, объем вводимой пробы – 5мл, время анализа -10 мин (таблица 4).

Таблица 4.

Идентификация флавоноидов *Lepidium ruderae* L.

Название вещества	Время удержания	Формула
Изовитексин	4,07	

Было проведено изучение хелатирующих свойств клоповника сорного и при этом было обнаружено, что различные экстракты из растения проявляют различную хелатирующую способность, данные приведены в таблице 5 .

Было установлено, что наибольшей хелатирующей активностью обладает метанольный экстракт растения - 77,7 %, и

немногим меньше - обладает водный экстракт - 61,5 %.

Таблица 5.
Хелатирующая активность различных экстрактов надземной части
клоповника сорного

Растение	Экстракт	Концентрация, мг/мл	Хелатирующая активность (%)
<i>Lepidium ruderale</i> L.	Метанол	50	33,2
		100	45,6
		250	62,3
		500	77,7
	Этанол	50	15,2
		100	25,9
		250	33,9
		500	51,5
	Вода	50	23,1
		100	33,4
		250	46,7
		500	61,5

Для определения органических кислот использовался методом капиллярного электрофореза и в экстракте были обнаружены 4 органические кислоты, которые разделялись на капилляре длиной 55 см с внутренним диаметром 0,25 мкм, результаты исследования приведены в таблице 6.

Таблица 6.
Содержание органических кислот

Вещество	Содержание, г/кг
Винная кислота (Tartaric acid)	0,4
Яблочная кислота (Malic acid)	0,7
Лимонная кислота (Citric acid)	1,2
Янтарная кислота (Succinic acid)	0,9
Общее содержание органических кислот - 3,2	

Выводы: в растении *Lepidium ruderale* L. в ходе исследования:

- была разработана методика полного извлечения полифенольных веществ из растения, при этом определено, что экстракция метанолом в 1,5 -2 раза эффективней экстракции этиловым спиртом;
- с помощью метода высокоэффективной жидкостной хроматографии в растении были идентифицированы и определены

флаванойды 6,02г/кг: с астрагалина - 1,03г/кг; лютеолина-1,32 г/кг; кемпферола-0,63 г/кг и кверцетина- 3,04г/кг;

- методом масс-спектрометрии был идентифицирован изовитексин, относящийся к классу С- флавоноидов;

- изучена хелатирующая активность растения *Lepidium ruderae* L., и выявлено, что растение обладает высокой биологической активностью 77,7% в экстракте метанола и 61,5% в водном экстракте ;

- методом капиллярного электрофореза определено содержание органических кислот 3,2 г/кг: винная кислота - 0,4 г/кг; яблочная кислота-0,7 г/кг; лимонная кислота - 1,2г/кг; янтарная кислота- 0,9г/кг.

Список литературы:

1. Baoliang Cui, Bolin Zheng, Kan He and Qun Yi Zheng. Imidazole Alkaloids from *Lepidium meyenii*.// *Jornal of Natural Products*, vol.66, No 8,2003.- p.1101-1103
2. Jyota Agarwal and D.L. Verma. Quercetin Glycosides from Antioxidative Active aqueous Ethanolic Extract of *Lepidium ruderae* L.// *Academia Arena*, 3(3) 2011.- p.25-33
3. Абу Закер Кхалед, Журавлев Н.С. Количественное определение флавоноидов в листьях некоторых видов рода *Rume* L.//Национальная фармацевтическая академия Украины, 2001. –С. 67-72.
4. Байтенов М.С. Флора Казахстана. Алматы, 2001.- Т. 4 - 320 с.

ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЕ ПОВЕДЕНИЕ РУТИНА И ГАЛЛОВОЙ КИСЛОТЫ В ИЗОКРАТИЧЕСКОМ РЕЖИМЕ ОФ ВЭЖХ

Санжиев А.Н.¹, Марченко Р.Д.¹, Кривошеков С.В.^{1,2}

¹ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский политехнический университет», Томск, Россия, +73822529832, mr.nuts1993@gmail.com

²ГБОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Томск, Россия, +73822529832, ksv_tsu@mail.ru

В настоящее время наиболее широко используется хроматография в обращенной фазе. Обращено-фазная высокоэффективная хроматография твердо занимает позиции основного метода рутинного количественного и качественного анализа веществ. Главным условием является то что вещество должно быть растворимо в одном из растворителей для ВЭЖХ.

Привитая гидрофобная фаза C18 является самым распространенным сорбентом из ряда гомологов C2, C4, C8, C16. Существует еще неподвижные фазы C6H5, но они менее популярны чем C18. Широкая используемость C18 сорбента обусловлена наибольшей гидрофобностью, что приводит к увеличению времени удерживания вещества [1], и разделение происходит преимущественно по обращено-фазному механизму за счет гидрофобных (солюфобных) взаимодействий.

В ОФ ВЭЖХ используются полярные растворители такие как ацетонитрил, вода, реже тетрагидрофуран (при долгом хранении образует перекиси) и метанол (токсичен и вязок). В качестве подвижной фазы преимущественно используются водно-органические растворы, также для элюирования применяются буферные растворы минеральных кислот, солей и оснований с заданным значением pH.

Флавоноиды это группа биологически активных веществ производных дифенил пропановой структуры полифенольной природы. Они входят в число крупнейших групп фенольных соединений, и включают в свою структуру два ароматических кольца, соединенных алифатическим трехуглеродным звеном. Общая структура флавоноидов записывается следующим образом: C₆-C₃-C₆. Особый интерес к этой группе веществ объясняется их широким диапазоном биологического действия, малой токсичностью, а в некоторых случаях её полным отсутствием, огромным распространением в природе [2,3]. Рутин является хорошим антиоксидантом, проявляет Р-витаминные свойства и совместно с аскорбиновой кислотой участвует в укреплении стенок сосудов. Галловая кислота также проявляет Р-витаминные свойства.

Экспериментальная часть. Целью исследования являлось изучение хроматографического поведения рутина и галловой кислоты в условиях обращено-фазовой хроматографии. Для этого были использованы колонки – Hypersil ODS C18, 5μm, 250x4,6 mm (НФ1); Pinnacle II C18, 5μm, 150x4,6 mm (НФ2); Acclaim 120, 5μm, 120Å 150x4,6mm (НФ3); Luna 5u C18(2) 100Å 250x4,6 (НФ4) и подвижные фазы: MeCN-25%, В: 0,1% H₃PO₄ (pH=3,5)-75% (ПФ1), MeCN-10%, В: 0,1% H₃PO₄ (pH=3,5)-90% .(ПФ2).

Все разделения проводились на хроматографе Ultimate 3000 (Thermo), оснащенном насосом со встроенным дегазатором, и однолучевым УФ детектором. В эксперименте использовались следующие реагенты: рутин (Sigma-Aldrich), галловая кислота (Sigma-Aldrich), ортофосфорная кислота (чда), ацетонитрил (Криохром, сорт 0), вода деионизированная.

Стандартные растворы готовились путем перемещения точной навески вещества в мерную колбу на 100 мл, с последующим добавлением 20 мл воды деионизированной и растворения на ультразвуковой бане. Полученный раствор доводился до метки деионизированной водой. Детектирование проводилось на следующих длинах волн: рутин – 256нм; галловая кислота – 271нм.

Результаты и обсуждение. Согласно [4] октодецильная стационарная фаза является одной из самых часто используемых фаз для разделения биологически активных веществ. Но результаты разделения веществ на колонках с привитыми C18 радикалами разных производителей могут сильно отличаться. Мы сравнили параметры удерживания рутина и галловой кислоты на четырех типах хроматографических колонок: Hypersil ODS C18 5μm 250x4,6 mm, Pinnacle II C18 5μm 150x4,6 mm, Acclaim 120 5μm 120 Å 150x4,6 mm, Luna 5u C18(2) 100A 250x4,6 в условиях изократического элюирования с различным содержанием органического модификатора в подвижной фазе. Результаты представлены в таблице 1.

По данным таблицы 1 можно сделать вывод о том, что самой лучшей способностью к разделению обладает колонка Acclaim разрешение между пиками – 1,59. На колонке LunaC18(2) 100A 250x4,6 (17,5% углерода) в условиях анализа рутина обнаружить не удалось.

Таблица 1.

Результаты хроматографирования рутина и галловой кислоты в различных условиях

		Рутин			Галловая кислота			Rs
		t _R	As	N	t _R	As	N	
ПФ1	НФ1	3,16	1,74	1503	3,3	6,6	5997	0,6
	НФ2	2,3	1,63	670	1,9	0,88	2224	0,71
	НФ3	2,43	1,1	5402	2,36	0,99	5295	1,59
	НФ4	-	-	-	3,467	0,76	3184	-
ПФ2	НФ1	3,3	2,87	9195	3,8	2,55	2909	1,94
	НФ2*	-	-	-	-	-	-	-
	НФ3	2,993	2,00	4915	3,067	1,02	8278	0,124
	НФ4	-	-	-	4,63	1,22	5393	-

*Разделение на колонке PinnacleII C18 5μm 150x4,6 (13% углерода) с подвижной фазой MeCN – 10%; 0,1% H3PO4(pH=3,5) – 90% не проводилось из-за отсутствия литературных данных о критическом содержании водной фазы в элюенте.

Одним из главных условий для достижения хорошего разделения является подбор подвижной фазы. В нашем случае мы варьировали содержание ацетонитрила. По полученным данным можно сделать вывод, что уменьшение содержания ацетонитрила в подвижной фазе до 10% приводит к незначительному увеличению времен удерживания. На колонке Acclaim 120 C18 5 μ m 120A 4,6x150 (18% углерода) при уменьшении содержания ацетонитрила в подвижной фазе до 10% время удерживания галловой кислоты увеличивается, а время удерживания рутина практически не изменяется.

Заключение.

По данной работе можно сделать вывод о том, что такие характеристики неподвижной фазы как содержание углерода, наличие эндкеппинга сильно влияет на разделение. Так же большое влияние оказывает состав подвижной фазы.

Список литературы

1. Ю. Бёккер, Хроматография Инструментальная аналитика: методы хроматографии и капиллярного электрофореза, ТЕХНОСФЕРА, Москва (2009).
2. С. Я. Соколов, Фитотерапия и фитофармакология: Руководство для врачей, Медицинское информационное агенство, Москва (2000).
3. В. Л. Шелюто, Диссертация доктора фармацевтических наук, Москва (1988).
4. Eitenmiller, R. R., Ye, L., and Landen, W. O., Vitamin Analysis for the Health and Foot Science, Boca Raton, 2008.

СИНТЕЗ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ПОЛУСИНТЕТИЧЕСКИХ ИЗОБОРНИЛФЕНОЛОВ

Сукрушева О.В., Шумова О.А., Чукичева И.Ю., Кучин А.В.

Институт химии Коми НЦ УрО РАН, Россия, Сыктывкар, тел.: 89041003082,
Sukrusheva@mail.ru

В настоящее время среди синтетических и природных антиоксидантов наиболее широко используются пространственно-затрудненные фенолы. Благодаря способности эффективно ингибировать радикально-цепные окислительные процессы, данные соединения широко используются в качестве антиоксидантов для стабилизации топлив, масел, полимерных материалов, пищевых продуктов и т.д. Кроме того, алкилфенолы

проявляют и биологическую активность, в том числе противоопухолевые, радиозащитные и антимуtagenные свойства, отдельные представители этого класса используются в качестве лекарственных препаратов [1-3].

Среди продуктов растительного происхождения наиболее распространенными классами являются терпены и фенольные соединения. Данные соединения представляют интерес в связи с их структурным разнообразием. В природе были обнаружены продукты смешанного биосинтеза обоих классов, так называемые терпенофенолы [4]. Исследованные терпенофенолы являются биологически активными веществами с низкой токсичностью и широко применяются в качестве антиоксидантов в различных отраслях промышленности, как исходные компоненты в синтезе антисептических препаратов, инсектицидов, душистых веществ [5-7]. Показано, что 2,6-диизоборнил-4-метилфенол обладает комплексным влиянием на гемореологию, сосудистотромбоцитарный гемостаз и антиоксидантной, нейропротекторной и ретинопротекторной активностью, поэтому данное соединение перспективно при создании лекарственных средств для профилактики и терапии тромбофилических состояний, синдрома повышенной вязкости крови и эндотелиальной дисфункции при сердечно-сосудистых заболеваниях и сахарном диабете [8].

Одним из наиболее перспективных направлений в совершенствовании фенольных антиоксидантов является разработка на их основе полифункциональных стабилизаторов или гибридных структур, способных ингибировать радикально-цепные процессы по различным механизмам. Сочетание компонентов разных биологически активных веществ в одном соединении, способствует разработке более активных и менее токсичных лекарственных препаратов [9].

Среди «гибридных» антиоксидантов важное место занимают серосодержащие фенольные антиоксиданты. Данные соединения эффективно замедляют процессы свободнорадикального окисления различных полимерных материалов и липидных субстратов. Высокая антиоксидантная активность обусловлена синергическим сочетанием антирадикальной активности фенольных фрагментов с противопероксидной активностью серосодержащих групп [10].

В настоящей работе на основе изоборнилфенолов был синтезирован ряд функциональных производных, содержащих галоген-, гидроксигруппы в *пара*-положении относительно фенольного гидроксила, получены дисульфиды и бисульфиды на их основе.

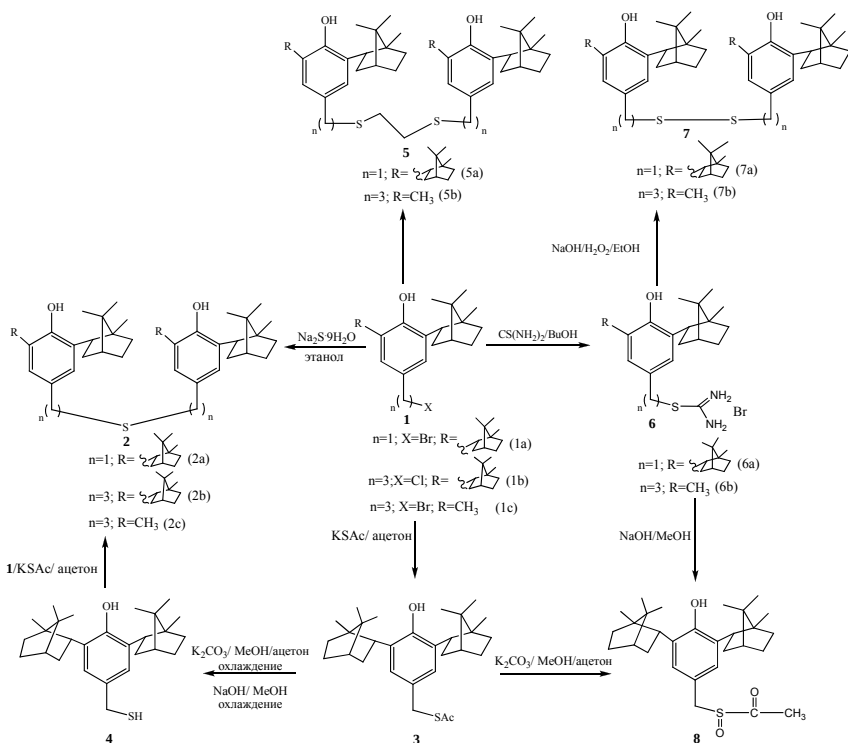


Схема 1. Синтез серосодержащих изоборнилфенолов

Полученные соединения представляют интерес в качестве перспективных антиоксидантов и фармакологических субстанций.

Список литературы:

- Олудина Ю.Н. Синтез и свойства новых гибридных структур на основе азот- и фосфорсодержащих пространственно затрудненных фенолов. Дис.: к.х.н. Казань 2014. 141 с.
- Чукичева И.Ю., Федорова И.В., Кучин А.В. Известия Коми научного центра УрО РАН Выпуск 2. Сыктывкар, 2010. С. 18-24.
- Просенко А. Е. Полуфункциональные серо-, азот-, фосфорсодержащие антиоксиданты на основе алкилированных фенолов: синтез, свойства, перспективы применения: Дис.: д.х.н. Новосибирск, 2010. 462 с.
- Кузаков Е.В., Шмидт Э.Н. Химия природных соединений. 2000. № 3. С. 198-207.
- Kukovinets O.S., Zainullin R.A., Kisilitsyn M.I. Chemistry of Natural Compounds. 2006. 42(1). P. 1-15.

-
6. 6 Cirri M., Mura P., Corvi Mora P. Int. J. Pharm. 2007, 30. P. 84.
 7. Чукичева И.Ю., Буравлев Е.В., Федорова И.В., Борисенков М.Ф., Кучин А.В. Изв. АН. Сер. хим. 2010, 12. С. 2220-2224.
 8. Патент RU № 2347561 опубл. 27.02.2009 Бюл. №6; № 2351321 опубл. 10.04.2009. Бюл. № 10; № 2406488 опубл. 20.12.2010; № 2406487 опубл. 20.12.2010.
 9. Воловьева В.Б., Домнина Н.С., Сергеева О.Ю., Комарова Е.А., Белостоцкая И.С., Комиссарова Н.Л. ЖОрХ. 2011. Т.47. Вып.4. С. 484-489.
 10. Просенко А.Е., Терах Е.И., Кандалинцева Н.В., Пинко П.И., Горох Е.А., Толстиков Г.А. Журнал прикладной химии.2010. Т. 74. Вып. 11. С. 1839-1842.
-

ВЛИЯНИЕ ПОЛИФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ ПАДУБА ПАРАГВАЙСКОГО (*ILEX PARAGUARIENSIS*) НА ПРОЦЕСС ПЕРОКСИДНОГО ОКИСЛЕНИЯ ФОСФОЛИПИДОВ

Теселкин Ю.О.¹, Буравлев Е.А.¹, Буравлева К.В.³, Любицкий О.Б.¹, Бобок М.Н.², Павлова Л.А.^{1,2}

¹ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова, Москва, Россия, (495) 434-8192, yu_teselkin@mail.ru

²ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, Москва, Россия, (495) 708-3971, id@mma.ru

³ФГБУН НИИ ФХМ ФМБА, Москва, Россия, (499) 246-4409, niifhm@fmbamail.ru

Известно, что развитие оксидативного стресса играет важную роль в патогенезе многих заболеваний человека. В связи с этим актуальной задачей является разработка новых антиоксидантных препаратов. Применение в качестве антиоксидантов биологически активных веществ растительного происхождения имеет большие перспективы, поскольку природные антиоксиданты обладают меньшей токсичностью, чем синтетические.

Одним из растений, обладающим уникальными свойствами, является падуб парагвайский (*Ilex paraguariensis*), произрастающий в Андах, листья и стебли которого, заготовленные по традиционной технологии, получили название “Yerba Maté” и используются для приготовления чайного напитка. Показано, что экстракты падуба парагвайского оказывают стимулирующее действие на центральную нервную систему, положительно влияют на кардиоваскулярную систему, обладают гипохолестеринемическими, гепатопротекторными, диуретическими и антиоксидантными свойствами [1]. Антиоксидантные свойства

экстрактов падуба парагвайского связывают с присутствием в них различных полифенольных соединений: кофейной и хинной кислот, хлорогеновых кислот (3-кофеилхинная кислота, цинарин), флавоноидов [2].

Цель работы – изучение способности антиоксидантов падуба парагвайского ингибировать процесс пероксидного окисления фосфолипидов (ФЛ) *in vitro*.

В качестве сырья использовали листья и побеги падуба парагвайского, собранные в месте его произрастания в Андах (Аргентина), а также листья березы карликовой (*Betula nana* L.), березы бородавчатой (*Betula pendula* Roth.) и траву зизифоры (*Ziziphora clinopodioides*), собранные в республике Тыва (лето 2014 г.).

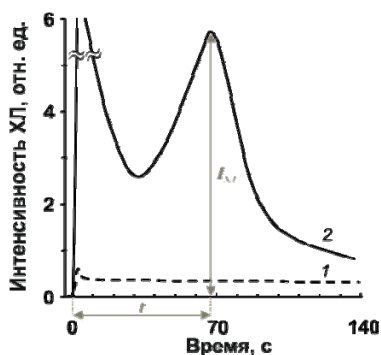


Рис. 1. Типичная кинетика Fe^{2+} -индуцированной ХЛ яичных ФЛ. 1 – в отсутствие С-525; 2 – в присутствии С-525. $I_{\text{ХЛ}}$ – амплитуда медленной вспышки ХЛ (отн. ед.); t – время достижения максимума медленной вспышки ХЛ (с).

Процесс пероксидного окисления яичных ФЛ индуцировали ионами Fe^{2+} . За протеканием пероксидации ФЛ наблюдали, регистрируя кинетику хемилюминесценции (ХЛ) [3]. Антиоксидантную активность (АОА) водных экстрактов растений изучали по их способности ингибировать ХЛ яичных ФЛ. Реакционная среда имела следующий состав: 0,4 мг/мл яичных ФЛ, 0,16% тритона Х-100 (объемные проценты), 1,25 мкМ С-525, 32 мкМ сульфата железа(II) в 20 мМ Трис-НСl буфере (рН 7,4). В качестве основных измеряемых параметров ХЛ (рис. 1) использовались максимальная интенсивность (амплитуда) “медленной” вспышки свечения ($I_{\text{ХЛ}}$) и время достижения максимальной интенсивности “медленной” вспышки (t). Об антиоксидантных свойствах водных экстрактов исследуемого растительного сырья судили на основе сравнения концентраций, вызывающих ингибирование $I_{\text{ХЛ}}$ на 50% (C_{50}).

На рис. 1 показаны типичные кинетические кривые Fe^{2+} -

индуцированной ХЛ яичных ФЛ, солюбилизированных детергентом тритоном X-100. Видно, что в отсутствие физического активатора свечения С-525 интенсивность ХЛ ФЛ была невысока. Добавление С-525 в реакционную среду приводило к значительному увеличению интенсивности их свечения. При этом кинетика Fe^{2+} -индуцированного свечения имела двухфазный вид: вначале регистрировалась “быстрая” вспышка ХЛ продолжительностью около 20 с, интенсивность которой уходила за пределы области регистрации, а затем – более длительная “медленная” вспышка. Развитие “быстрой” вспышки ХЛ связано с разрушением липидных гидропероксидов, которое катализируют ионы Fe^{2+} , тогда как “медленная” вспышка обусловлена последующим свободнорадикальным окислением ФЛ.

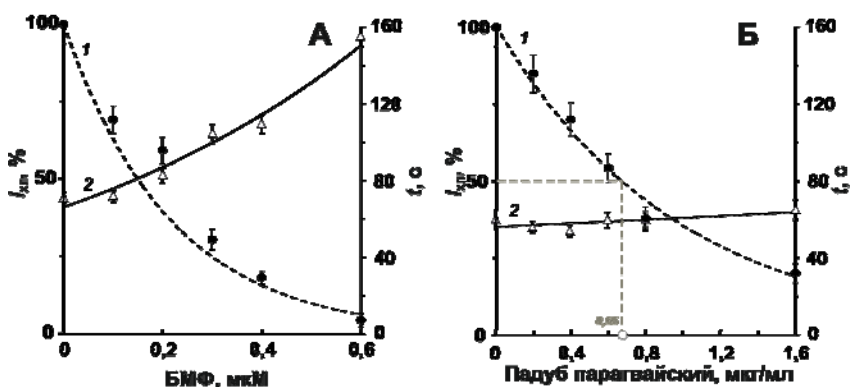


Рис. 2. Зависимость параметров I_{HL} (1) и t (2) Fe^{2+} -индуцированной ХЛ яичных ФЛ от концентрации БМФ (А) и экстракта падуба парагвайского (Б). I_{HL} – в % от контроля.

В настоящее время ХЛ липидсодержащих объектов (например, фосфолипидных липосом): индуцированная ионами Fe^{2+} , широко используется для изучения антирадикальных и Fe^{2+} -хелатирующих свойств биологически активных веществ. Так, установлено, что вещества, перехватывающие липидные радикалы, уменьшают I_{HL} и увеличивают t . Вещества, связывающие ионы Fe^{2+} , также вызывают понижение I_{HL} , но в противоположность радикальным ингибиторам уменьшают t .

Нами было изучено влияние цепь-обрывающего антиоксиданта 2,6-ди-*трет*-бутил-4-метилфенола (БМФ) или ионола на Fe^{2+} -индуцированную ХЛ яичных ФЛ, солюбилизированных тритоном X-100. Известно, что БМФ

относится к жирорастворимым антиоксидантам, механизм антирадикального действия которого связан с перехватом липидных радикалов. Как видно из рис. 2А, с повышением концентрации БМФ в модельной системе происходило дозозависимое изменение измеряемых параметров свечения яичных ФЛ: уменьшение $I_{ХЛ}$ и увеличение t .

На рис. 2Б показано влияние водного экстракта падуба парагвайского на Fe^{2+} -индуцированную ХЛ яичных ФЛ. Обнаружено, что с повышением концентрации экстракта падуба парагвайского в модельной системе, так же как и в случае с БМФ, наблюдалось уменьшение $I_{ХЛ}$. При этом значение C_{50} для экстракта падуба парагвайского составило 0,65 мкг/мл. Однако, в отличие от БМФ, значения второго параметра – t практически не изменялись. Полученный результат можно, по-видимому, объяснить тем, что в составе водного экстракта падуба парагвайского содержатся вещества, не только перехватывающие липидные радикалы, но и связывающие ионы Fe^{2+} . Поскольку ингибиторы радикалов и хелаторы ионов Fe^{2+} действуют на t разнонаправленным образом, этот параметр в исследуемом интервале концентраций экстракта падуба парагвайского остается постоянным.

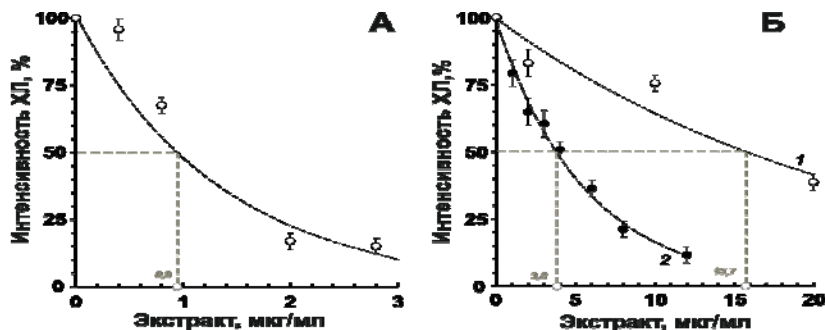


Рис. 3. Влияние экстрактов некоторых растений на интенсивность Fe^{2+} -индуцированной ХЛ яичных ФЛ. А: береза карликовая; Б: 1 – береза бородавчатая; 2 – зизифора.

Нами проведено сравнение АОА водных экстрактов падуба парагвайского с АОА водных экстрактов некоторых растений – березы карликовой, березы бородавчатой и зизифоры, антиоксидантные свойства которых были изучены ранее с использованием модельной системы, основанной на окислении люминола водорастворимыми пероксильными радикалами, образующимися при термическом разложении 2,2'-азобис(2-

амидинопропан) дигидрохлорида [4]. Обнаружено (рис. 3), что водные экстракты всех перечисленных растений дозозависимым образом уменьшают амплитуду «медленной» вспышки Fe^{2+} -индуцированной ХЛ яичных ФЛ – $I_{\text{ХЛ}}$. По результатам этих экспериментов для каждого экстракта было определено значение C_{50} . Значения C_{50} увеличивались в следующем ряду: падуб парагвайский – 0,7 мкг/мл, береза карликовая – 1,0 мкг/мл, зизифора – 3,8 мкг/мл, береза бородавчатая – 15,6 мкг/мл. Чем выше значение C_{50} , тем ниже АОА соответствующего растительного экстракта. Наибольшее АОА в используемой модельной системе обладал водный экстракт падуба парагвайского. Его АОА была выше АОА водных экстрактов других растений в 1,6, 5,8 и 23,1 раза, соответственно ($p < 0,05$).

Таким образом, полученные результаты показывают, что водный экстракт падуба парагвайского ингибирует процесс Fe^{2+} -индуцированного пероксидного окисления яичных ФЛ, солюбилизированных тритоном X-100. Способность тормозить пероксидацию яичных ФЛ у водного экстракта падуба парагвайского выше, чем у водных экстрактов березы карликовой, березы бородавчатой и зизифоры. Можно предположить, что существенный вклад в эту активность вносят вещества полифенольной природы, обнаруженные в составе экстрактов падуба парагвайского [5].

Список литературы:

1. Heck C, de Mejia E. Yerba Maté tea (*Ilex paraguariensis*): a comprehensive review on chemistry, health implications, and technological considerations // J Food Sci. 2007. V. 72. P. 138–151.
2. Markowicz Bastos D.H., Saldanha L.A., Catharino R.R., Sawaya A.C.H.F., Cunha I.B.S., Carvalho P.O., Eberlin M.N. Phenolic Antioxidants Identified by ESI-MS from Yerba Maté (*Ilex paraguariensis*) and Green Tea (*Camellia sinensis*) Extracts // Molecules. 2007. V. 12. p. 423–432.
3. Владимиров Ю.А., Проскурнина Е.В. Свободные радикалы и клеточная хемилюминесценция // Успехи биологической химии. 2009. Т. 49. С. 341–388.
4. Чехани Н.Р., Теселкин Ю.О., Павлова Л.А., Козин С.В., Любицкий О.Б. Антиоксидантная активность растений, используемых в этномедицине Тувы // Вестник РГМУ. 2013. №6. С. 66–69.
5. Bravo L., Mateos R., Sarriá B., Baeza G., Lecumberri E., Ramos S., Goya L. Hypocholesterolaemic and antioxidant effects of Yerba Maté (*Ilex paraguariensis*) in high-cholesterol fed rats // Fitoterapia. 2014. V. 92. P. 219–229.

УДК: 634*813.2

ГРУППОВОЙ СОСТАВ И ФЕНОЛЬНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ ЭКСТРАКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ ДРЕВЕСНОЙ ЗЕЛЕНИ ЛИСТВЕННИЦЫ СИБИРСКОЙ.

Транчук Н.В., Рошин В.И.

Санкт-Петербургский государственный лесотехнический университет
имени С.М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия, +79112544886, E-mail:
tran4uk@yandex.ru

Лиственница является главной лесообразующей породой России. Лиственничные леса занимают площадь в 278 млн. га, что составляет 40% от общей площади лесного фонда России [1]. Лиственница сибирская (*Larix sibirica* Ledeb.) – один из наиболее распространенных и важнейших лесообразующих видов рода *Larix*. В настоящее время для промышленной переработки используется лишь стволовая часть дерева, а крона относится к отходам. Это не рационально с точки зрения комплексного подхода к переработки древесины. Кроме того древесная зелень лиственницы из-за опадения хвои не имеет в течение года постоянного химического состава в исходном сырье. Это создает определенные трудности для ее промышленной переработки.

Общеизвестным фактом является то, что древесная зелень хвойных деревьев чрезвычайно богата биологически активными веществами, к которым относятся фенольные соединения. Такие вещества могут быть использованы в медицине, ветеринарии, косметологии, сельском хозяйстве. [2].

Целью данного исследования является изучение состава фенольных соединений древесной зелени лиственницы сибирской.

Методическая часть.

Объектом исследования в данной работе является древесная зелень лиственницы сибирской (*Larix sibirica* Ledeb.). Для наработки экстрактивных веществ (ЭВ) пробы сырья были отобраны в июле 2013 г в Томской области и в ноябре 2014г. в ботаническом саду Санкт-Петербургского государственного лесотехнического университета.

Сырье делили на несколько частей: летнее - хвоя, кора, древесина; осеннее – желтая хвоя, ветви. Опавшую хвою собирали с почвы.

Влажность сырья определяли по методике [3]. Для наработки экстрактивные вещества извлекали ИП из измельченного сырья путем экстракции в аппарате Сокслета емкостью 1.0 л в течение 8 часов. ИП удаляли под вакуумом.

Концентрированный экстракт разбавляли водой в соотношении 1:1 и последовательно трехкратно экстрагировали растворителями различной полярности при соотношении экстракт - растворитель 1:1:

-ПЭ (пределы кипения 40-70 °С) (ПЭ) – для извлечения липофильных соединений;

-ДЭ – для извлечения фенольных соединений (ФС);

-ЭА – для выделения полярных ФС и их гликозидов [4].

Результаты разделения ИП экстракта приведены в табл. 1.

Таблица 1.
Содержание фенольных соединений в отдельных частях древесной зелени
лиственницы сибирской.

Исходное сырье	Содержание ФС, растворимых в			
	диэтиловом эфире, в % от массы		этилацетате, в % от массы	
	ИП экстракта	сух. сырья	ИП экстракта	сух. сырья
Летний сбор				
хвоя	3.2	1.1	4.7	1.6
древесная часть	2.7	0.2	9.4	0.6
кора	4.8	1.0	2.1	0.4
Осенний сбор				
хвоя	10.5	0.7	4.2	0.3
ветви	11.5	2.9	5.7	1.4

Вещества, растворимые в ДЭ, делили на три условно названные группы:

- -фенолокислоты - обработкой экстракта 1 %-ым раствором гидрокарбоната натрия;
- -фенолы - обработкой экстракта 2 %-ым раствором щелочи;
- -нейтральные соединения – вещества, не извлекаемые щелочными реагентами.

Вещества, перешедшие в водно-бикарбонатный и водно-щелочной растворы, экстрагировали ДЭ после подкисления растворов 10 %-й серной кислотой. Результаты приведены в таблице 2.

Содержание фенольных соединений подтверждали методом ИК-спектрометрии, идентифицировали соединения методом хроматомаасс-спектрометрии.

Результаты и их обсуждение

Влажность сырья летнего сбора составила: 44% - для хвои, 22% - для коры, 26% - для древесины; для хвои и ветвей осеннего сбора 54% и 23% соответственно. Образцы разных частей

древесной зелени летнего и осеннего экстрагировали в одинаковых условиях.

Наработку ЭВ проводили из хвои осеннего сырья, собранного с почвы, а побегов – с ветвей, находящихся на высоте 1.5-3.0 метров над уровнем земли.

По данным ИК-спектроскопии ЭВ, извлекаемые из ИП экстракта диэтиловым эфиром и этилацетатом, содержат фенольные соединения: 1520 см^{-1} слабая полоса и 1600 см^{-1} сильная полоса. [5]

Из результатов, представленных в таблице 1, следует, что в сырье летнего сбора преобладает содержание соединений, растворимых в ЭА. При этом максимальный выход таких веществ наблюдается в хвое и древесной части ветвей. Выход соединений, растворимых в ДЭ, в хвое и побегах летнего сырья примерно одинаков. Следует отметить, что молодая хвоя лидирует по суммарному содержанию фенольных соединений, в то время как в древесине ветвей содержится их минимальное количество (в % от массы сух. сырья).

Таблица 2.

Групповой состав фенольных соединений древесной зелени лиственницы сибирской

Исходное сырье	Содержание фенольных соединений, % от массы экстрактивных веществ, растворимых в ДЭ		
	Фенолокислоты	Фенолы	Нейтральные вещества
Летний сбор			
хвоя	44.3	28.8	4.4
древесная часть	82.1	6.3	1.1
кора	75.8	6.1	2.1
Осенний сбор			
хвоя	23.3	40.5	25.0
ветви	64.6	16.9	9.3

В осеннем сырье содержание соединений, растворимых в ДЭ, почти вдвое превышает содержание веществ, растворимых в ЭА. Суммарное содержание фенольных соединений в осенних ветвях в несколько раз выше, чем в хвое.

Общее содержание фенольных соединений в осеннем сырье больше, чем в летнем.

Выделенные из ИП экстракта вещества диэтиловым эфиром разделены на группы соединений (таблица 2).

Исходя из результатов исследования, представленных в

таблице 2, следует, что фенолокислоты являются доминирующей группой фенольных соединений древесной зелени. Наибольшее их количество сосредоточено в ветвях летнего и осеннего сборов. Группа фенолов составляет меньшую часть веществ. Основная их масса содержится в хвое. Нейтральные вещества содержатся в незначительных количествах, за исключением хвои осеннего сбора (25%).

Согласно приведенным данным можно проследить динамику - к осени в древесной зелени количество фенолов и нейтральных веществ значительно увеличивается, причем основная их масса накапливается в хвое. При этом количество фенолокислот в древесной зелени к осени уменьшается (в хвое - вдвое).

Часть соединений идентифицировали методом хроматомасс-спектрометрии, среди них *п*-гидроксibenзойная бензойная, 3,4-дигидроксibenзойная бензойная, *п*-гидрокси- и 3,4-дигидроксibenзилуксусная, *п*-кумаровая и феруловая кислоты. Среди фенольных соединений идентифицированы соединения со спиртовыми и альдегидными группами в боковой цепи и *п*- и 3,4-гидрокси, 3-метокси-4-гидрокси- замещением бензольного ядра.

Выводы.

На основе полученных результатов можно сделать следующие выводы:

1. летом в хвое лиственницы содержание фенольных соединений довольно высоко, но к осени их количество снижается. Обратная динамика наблюдается в побегах – к осени содержание фенольных соединений в ветвях увеличивается в 2-3 раза;

2. доминирующей группой фенольных соединений являются фенолокислоты, их основное количество обнаружено в молодых побегах и ветвях осеннего сбора;

3. осенью древесная зелень в целом наиболее богата фенольными соединениями и, следовательно, представляет наибольший интерес для ее промышленной переработки с целью получения биологически активного полифенольного комплекса веществ.

Список литературы

1. Милютин Л.И. Биоразнообразие лиственниц России.// Хвойные бореальной зоны, 2003 г, №1, 4 с.
2. Харборн Дж. Биохимия фенольных соединений/ Дж. Харборн. – М.: Мир, 1968. - 452 с.
3. Ушанова В.М., Лебедева О.И., Девятловская А.Н. Основы научных исследований. Часть 2. Контроль качества и экстрагирование

-
- растительного сырья. – Красноярск, 2004, с. 32.
4. Артемкина Н.А. Низкомолекулярные фенольные соединения древесной зелени ели европейской *Picea Abies* (L) Karst: дис. ... канд. хим. наук. СПб., 2001. 177 с.
 5. Наканиси К. Инфракрасные спектры и строение органических соединений. Практическое руководство/ К. Наканиси. - М.: Мир, 1965. - 216 с.
-

УДК 577.2; 577.352.3

ДЕЙСТВИЕ АНТИОКСИДАНТА ФЕНОЗАНА НА СТРУКТУРНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ МЕМБРАН И ДНК ПРИ РАЗВИТИИ СПОНТАННОГО ЛИМФОЛЕЙКОЗА МЫШЕЙ

Фаткуллина Л.Д., Бурлакова Е.Б., Заварыкина Т.М., Жижина Г.П.

ФГБУН Институт биохимической физики им.Н.М. Эмануэля РАН, Москва, Россия, Тел. +7(495)939-74-00; e-mail: bcp-lfat@mail.ru

Лейкоз человека является распространенным, социально значимым заболеванием. Вероятность возникновения лейкоза в настоящее время возрастает в связи с ухудшающейся экологической обстановкой и радиационным загрязнением окружающей среды после Чернобыльской катастрофы. Лейкозы являются одним из наиболее вероятных отдаленных последствий облучения в малых дозах. В патогенезе злокачественных новообразований важную роль играет окислительный стресс. Существенно снизить последствия окислительного стресса позволяет регулярный прием антиоксидантов. Антиоксиданты способны не только подавлять окислительный стресс, но и затормозить развитие лейкоза и уменьшить повреждения структуры биологических макромолекул (ДНК, ферментов, иммуноглобулинов) и мембран клеток.

Цель данной работы – изучить возможности применения фенольного антиоксиданта (АО) фенозана, синтезированного в ИБХФ РАН, в малых и сверхмалых дозах для профилактики и терапии лейкозов. Объектом исследования выбран спонтанный лимфоидный лейкоз мышей линии AKR, поскольку лейкозы мышей по этиологии и клиническим проявлениям близки лейкозам человека.

Фенозан [β -(3,5-дитрет-бутил-4-гидроксифенил) пропионат K] вводили 3-месячным мышам на стадии предлейкоза, ежедневно внутрибрюшинно, в виде водного раствора в дозах 10^{-4} и 10^{-14} моль/кг в течение 4 дней. В данной работе исследовали

интенсивность ПОЛ и структурные параметры ДНК и мембран в организме мышей линии AKR через 2 и 30 суток после введения фенозана.

Микровязкость липидов мембран эритроцитов оценивали методом ЭПР-спектроскопии по времени вращательной корреляции включенного в мембрану спинового зонда 2,2,6,6-тетраметил-4-каприлоил-оксипиперидин-1-оксила, который преимущественно локализуется в поверхностных областях липидной мембраны в области bulk-липидов на расстоянии 2-4 Å от поверхности. По полученным спектрам ЭПР, используя формулы для быстровращающихся зондов, рассчитывали время вращательной корреляции зонда $\tau_c \times 10^{-10}$ с, которое представляет собой время переориентации зонда на угол $\sim \pi/2$ и характеризует микровязкость липидов в мембране. *Содержание продуктов ПОЛ* (малонового диальдегида – МДА) определяли с помощью стандартной реакции с тиобарбитуровой кислотой. *Тестом* на наличие в В-спирали ДНК Z-участков служила адсорбция раствора ДНК селезенки мышей в 1SSC на нитроцеллюлозных фильтрах (НЦ) фильтрах. *Двунитевые разрывы (ДР) ДНК* селезенки измеряли методом электрофореза в 0,7% нейтральном агарозном геле.

Результаты выражали в относительных единицах (по отношению к соответствующим параметрам у лейкозных мышей без введения фенозана).

Ранее при изучении влияния фенозана на процесс развития спонтанного лейкоза AKR было выявлено отчетливое противолейкозное действие данного антиоксиданта: увеличение средней продолжительности жизни мышей в среднем на 30 суток (12% от контроля) и уменьшение процента возникновения лейкоза в среднем на 6% при 93% в контроле [1].

Нами изучены изменения структурных характеристик ДНК, выделенной из селезенки мышей AKR. Адсорбция ДНК на нитроцеллюлозных фильтрах характеризует степень компактизации хроматина (ДНК) и обусловлена как прочно связанными белками, так и наличием Z-сайтов. ДНК лейкозных лейкоцитов и других опухолевых клеток отличается от ДНК нормальных клеток состоянием вторичной структуры и повышенной адсорбцией на НЦ фильтрах. Введение фенозана в дозах 10^{-14} и 10^{-4} моль/кг на 2-е сутки вызывало повышение адсорбции, причем эффект равен 30% и 45% соответственно (табл.). Через 30 дней после введения фенозана изменений адсорбции после введения фенозана в дозе 10^{-14} моль/кг практически не было, а для дозы 10^{-4}

моль/кг обнаружено 32%-ное увеличение адсорбции относительно контроля. В ДНК селезенки лейкозных мышей AKR обнаружено наличие двойных разрывов (ДР) ДНК (табл.) . Количество ДР снижалось на 2-е сутки после введения фенозана на 25% (доза 10^{-14} моль/кг) и 31% (доза 10^{-4} моль/кг). Через 30 дней после введения антиоксиданта число ДР в контроле повышалось на 25%, фенозан в дозе 10^{-14} моль/кг предотвращал это повышение, а в случае дозы 10^{-4} моль/кг снижал в 2 раза по сравнению с 30-дневным контролем.

Эти данные могут служить указанием на то, что фенозан защищает ДНК от образования сопряженных разрывов в противоположных нитях ДНК под действием активных форм кислорода. Таким образом, фенозан как в малой, так и в сверхмалой, дозах, снижал повреждения структуры ДНК селезенки мышей со спонтанным лейкозом AKR на раннем и отдаленном сроках после его введения.

Были исследованы параметры пероксидного окисления липидов (ПОЛ) эритроцитов и структурные характеристики липидов мембран эритроцитов мышей AKR в процессе развития спонтанного лейкоза через 2 суток и 1 месяц после введения фенозана.

Таблица. 1.

Изменения структурных параметров ДНК и мембран у лейкозных мышей AKR при действии малых доз фенозана через 2 и 30 сут после введения (в отн. ед.)

Доза фенозана	Время после введения фенозана	Количество ДР ДНК в селезенке	Адсорбция ДНК в селезенке	Количество МДА в эритроцитах	Микровязкость мембран эритроцитов
10^{-14} моль/кг	2 суток	0.75	1.30	0.98	0.82
	30 суток	1.00	1.00	0.79	0.88
10^{-4} моль/кг	2 суток	0.69	1.45	0.83	0.63
	30 суток	0.62	1.32	0.75	0.73

Изучение содержания продукта ПОЛ МДА в эритроцитах мышей линии AKR (табл. 1) показало, что обе дозы фенозана вызывали значительное уменьшение количества МДА в эритроцитах в среднем в 1,3 раза через 30 суток после введения, причем максимальное снижение наблюдалось при дозе 10^{-14} моль/кг. Через 2 суток после введения антиоксиданта заметных изменений количества МДА не обнаружено. Таким образом, фенозан замедляет интенсивность ПОЛ в крови опухолевых животных, причем в наибольшей степени в отдаленные сроки

после введения.

При исследовании структурного состояния мембран эритроцитов при развитии спонтанного лейкоза и действии фенозана у мышей AKR обнаружено, что микровязкость липидного бислоя эритроцитарной мембраны снижалась до 30-40% при введении обеих изученных доз антиоксиданта. Получены однонаправленные изменения микровязкости липидного бислоя мембран для обеих доз фенозана, причем доза 10^{-14} моль/кг вызывает более существенный эффект, чем доза 10^{-4} моль/кг.

Следовательно, введение фенозана в малых дозах влияет на интенсивность ПОЛ и микровязкость липидов мембран эритроцитов при развитии спонтанного лейкоза. Предварительное введение фенозана снижает развитие ПОЛ в организме лейкозных животных. Обнаружены однонаправленные изменения микровязкости для обеих доз препарата, при этом вязкость липидного бислоя мембраны эритроцитов снижается как через 2 суток, так и через месяц после действия антиоксиданта. Обнаруженные изменения структурного состояния мембран происходят на фоне значительного снижения содержания МДА в крови под действием антиоксиданта.

Таким образом, нами обнаружено, что предварительно введенный фенозан снижает вероятность и скорость развития лимфолейкоза при введении в малых и сверхмалых дозах мышам AKR со спонтанным лейкозом и влияет на структурные свойства важнейших компонентов клеток: ДНК и мембран. Фенольный антиоксидант фенозан в малых и сверхмалых дозах снижал повреждения структуры ДНК селезенки и замедлял интенсивность ПОЛ в крови опухолевых мышей. Можно говорить о способности данного фенольного антиоксиданта в малых дозах защищать организм от окислительного стресса. Полученные нами результаты дают возможность рассматривать фенозан в качестве перспективного средства для профилактики онкологических заболеваний

Список литературы

1. Бурлакова Е.Б., Ерохин В.Н.// Радиационная биология. Радиозэкология. 2001. Т. 41. № 4. С.385-388.

СУПРАМОЛЕКУЛЯРНЫЙ КОМПЛЕКС МЕГОСИНА

Хаитбаев А.Х.

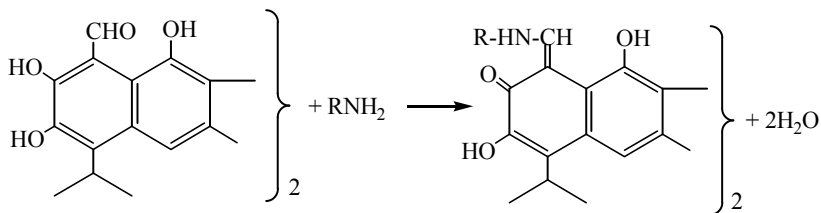
Национальный университет Узбекистана, Химический факультет, Ташкент,
тел. +99893-549-9966, polyphenol-10@yandex.ru

Среди синтезированных азометиновых производных госсипола в плане создания на их основе лекарственных препаратов представляет интерес соединения госсипола с глицирризиновой кислотой.

Изыскание новых неординарных, рациональных подходов к профилактике и лечению инфекционных патологий с использованием современных методов химиотерапии, создание новых эффективных бактерицидных препаратов, направленных на повышение действенности и сокращения сроков лечения, устойчивых к антибиотикам инфекционных патологий является одним из актуальных задач современной биоорганической химии. Наиболее интересным среди синтезированных азометиновых производных госсипола в плане создания на их основе лекарственных препаратов представляет соединения госсипола, содержащий радикал $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SO}_3\text{ONa}$ (*мегосин*) для которого учеными института Биоорганической химии АН РУз была выявлена высокая антигерпесная активность [1,2].

Поэтому, целью настоящей работы являлось изучение гидролиза как первоначального азометинового производного госсипола, так и изучение гидролиза соответствующего супрамолекулярного комплекса полученного на основе МАСГК (моноаммониевой соли глицирризиновой кислоты) в соотношении 1:2 и 1:4 (названный нами *мегафероном*). Так же, изучение интерферон индуцирующей активности полученного супрамолекулярного комплекса.

Синтез азометинового производного госсипола осуществляли по следующей схеме:



Известно, что водные растворы оснований Шиффа нестабильны и гидролизуются до первоначальных аминов и альдегидов [3]. Такое свойство также встречается и для азометиновых производных госсипола в водном растворе уже через 30 минут.

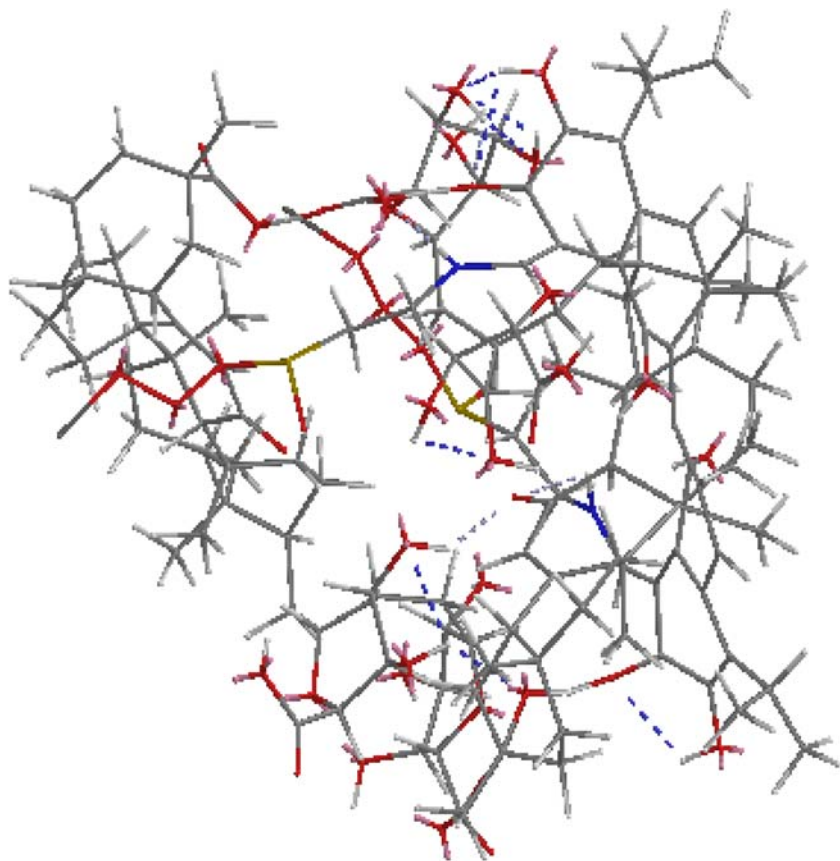


Рис.1 Супрамолекулярный комплекс мегаферона с МАСГК в соотношении 1 : 2

Учитывая гидролиз азометиновых производных госсипола в водных растворах, был получен супрамолекулярный комплекс синтезированного вещества с моноаммониевой солью глицирризиновой кислоты (МАСГК) в различных соотношениях (рис.1, рис.2).

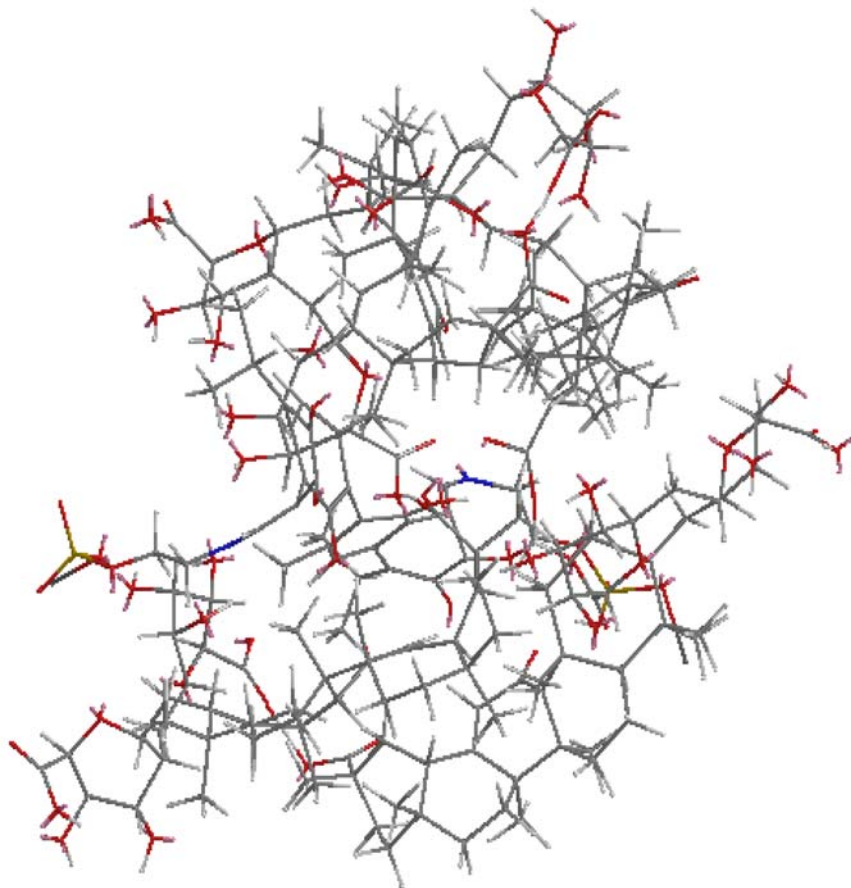


Рис.2 Супрамолекулярный комплекс мегосина с МАСГК в соотношении 1 : 4

Интересным является тот факт что при квантово-химических расчетах в случае супрамолекулярного комплекса мегосина с МАСГК в соотношении 1 : 2, если молекула мегосина находится над молекулой МАСГК то, в случае соотношения 1 : 4 молекула мегосина находится в полости молекулы МАСГК.

Главной причиной создания лекарственных средств, на основе глицирризиновой кислоты и ее производных, является ее хорошо выраженное солюбилизирующее свойство. Многие плохо растворимые или даже не растворимые в воде субстанции лекарственных препаратов (аспирин, индометацин и др.), хорошо растворяются в воде в присутствии даже небольшого количества

глицирризиновой кислоты. Причиной солюбилизирующего свойства этого природного вещества является, естественно, межмолекулярное взаимодействие, возникающее при контакте глицирризиновой кислоты с различными органическими веществами в растворе [4].

При изучение гидролиза супрамолекулярного комплекса мегосина с МАСГК (моноаммонийной соли глицирризиновой кислоты) в соотношении 1:2 и 1:4 (названный нами *мегофероном*) было выявлено, что водные растворы супрамолекулярных комплексных соединений, в отличие от самого мегосина, в течение 48 часов подвергаются частичному гидролизу. А это свойство супрамолекулярных комплексных соединений является толчком при создании лекарственных препаратов. Получение супрамолекулярных комплексных соединений лекарственных препаратов также придает этим препаратам водорастворимое свойство, а это увеличивает биодоступность препаратов.

Было выявлено, что полученный комплекс по своей интерферон индуцирующей и противовирусной (против вируса гриппа) активности оказался более эффективным, чем мегосин. Для мегоферона выявлена наиболее эффективная доза (10 мкг/мл).

Исходя из полученных результатов по специфической активности субстанция мегоферона передана в лабораторию фармакологии для углубленных фармако-токсикологических исследований. Для самого мегоферона разработан лабораторно-технологический регламент получения субстанции.

Список литературы:

1. М.Д.Машковский, Лекарственные средства, Т.1, Изд-во медицинской литературы, Ташкент (1998).– С. 362.
 2. Л.Биктимиров, Х.Л.Зияев, Н.И.Барам и др., Вопросы трансплантологии и иммуносупрессии, Ташкент, 1983.– С. 3–12.
 3. Г.А Толстиков, Ю.И.Муринов, Л.А.Балтина, Хим.–фарм. журн.,24(9), 26–27(1990).
 4. Хисамутдинов Э.Ф. Изучение механизма комплексообразования глицирризиновой кислоты с противотуберкулезными препаратами: тубазид и фтивазид методами спектроскопии ЯМР // Вып. работа. -Т.: ТашГУ. Химич. Фак. -2005.
-

АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ И СОДЕРЖАНИЕ АНТОЦИАНОВ В ПЛОДАХ ДИКОРАСТУЩИХ И КУЛЬТУРНЫХ СОРТОВ ЧЕРНИКИ В АДЖАРИИ

Хахутаишвили М., Джараридзе И., Ванидзе М.

Батумский Государственный университет им.Шота Руставели, Грузия, e-mail
vanidzemaia@gmail.com

Аннотация. Представлены результаты сравнительного исследования 9 сортов Черники (Mist, Legacy, Oneal, Bluecrop, Chandler, Reka, Bluearay, Bluegold и Earliblue) и дикорастущих плодов черники на содержание мономерных антоцианов и на антирадикальную способность с использованием свободного радикала DPPH.

Антиоксиданты играют важную роль в регуляции протекания свободно-радикальных превращений в организме, существенно влияя на его состояние, поэтому антиоксиданты и исследование антиокислительных свойств соединений в последнее время получили широкое распространение. Наиболее типичными представителями антиоксидантов считаются водорастворимые флавоноиды – антоцианы. Эти пигменты являются основными красящими веществами плодов и ягод, обуславливающих красную, синюю и фиолетовую окраску плодов, цветков, листьев и других частей растений. Общее содержание мономерных антоцианинов в растениях может достигать до 2%. Антоцианы также ответственны за определенный уровень антиоксидантной способности.

В последние годы наиболее перспективными источниками биологически активных соединений считаются плоды черники, как дикорастущих так интродуцированной из северной америки. Отличительной особенностью ягод черники является накопление значительного количества антоцианов, обладающих высокими антиоксидантными свойствами - подавляют активность свободных радикалов, препятствуют их воздействию на биологические мембраны и таким замедляют процесс старения.

В данный момент на территории *Адджарии* в культуру введено широкий ассортимент сортов нескольких видов голубики, а именно: Mist, Legacy, Oneal, Bluecrop, Chandler, Reka, Bluearay, Bluegold и Earliblue.

Целью данной публикации является исследование и сравнение содержания антоцианов и антиоксидантной активности плодов черники *распространенный в Западной Грузии*.

Объектами исследования служили плоды дикорастущих - черники обыкновенной (*Vaccinium myrtillus* L.)- образцы были

собраны в горах Аджарии и плоды культурных сортов Mist, Legacy, Oneal, Bluecrop, Chandler, Reka, Blue ray, Bluegold и Earliblue - образцы были собраны в культурных плантациях.

Количество мономерных антоцианов определяли – методом pH-дифференциальной спектроскопии по Giusti и Wrolstad (Giusti M., Wrolstad R.E., 2001). Оптическое поглощение экстрактов плодов черники, разбавленных буферами pH 1.0 и pH 4.5, измеряли при 520 нм и 700 нм и определяли по формуле: $A = (A_{520} - A_{700})_{pH\ 1.0} - (A_{520} - A_{700})_{pH\ 4.5}$ Количество мономерных антоцианов в экстракте составляло: $MA\ (мг/л) = (A \cdot MW \cdot DF \cdot 1000) / E$, где MA – концентрация мономерных антоцианов, MW – молекулярная масса цианидина-3-гликозида (449,2), DF – фактор разбавления (50), E – молярное поглощение цианидина-3- гликозида (26900).

Для оценки антиоксидантной активности использовали колориметрию свободных радикалов, основанная на реакции DPPH (2,2-дифенил-1-пикрилгидразил ($C_{18}H_{12}N_5O_6$, $M = 394,33$), растворенного в метаноле, с образцом антиоксиданта (АН) по схеме: $DPPH^* + AH \rightarrow DPPH-H + A^*$. В результате восстановления DPPH антиоксидантом снижается пурпурно-синяя окраска DPPH в метаноле, а реакция контролируется по изменению оптической плотности при 514 нм методами спектрофотометрии.

Растения являются многолетним листопадным кустарником. Они внешне отличается: ягоды культурных сортов крупнее и более продолговатые. На вкус менее сладкие, мякоть зеленоватого цвета. Шаровидные ягоды дикой черники - сочные черно-синие с сизым налетом, с многочисленными светло-бурыми семенами, длиной около 1 мм.

Расчет суммарного содержания антоцианинов проводится по коэффициенту молярной экстинкции, удельному показателю поглощения или коэффициенту пересчета и молекулярной массе цианидин-3-глюкозида, как наиболее распространенного в природе антоцианина (Таблица 1).

Анализируя представленные данные можно отметить, что содержание антоцианов в исследуемом ягодном сырье различно и составляет: для ягод Bluecrop и Oneal – 405.4 мг/100 г – 480.1 мг/100 г, для ягод Blue ray, Reka, Chandler, Legacy и Mist от 755.5 мг/100 г до 979.5 мг/100 г. Количество антоцианов практически идентичны в ягодах Bluegold (1334.4 мг/100 г и черники обыкновенной (1370.5 мг/100 г).

Одним из основных показателей, характеризующих антирадикальную активность по методу DPPH, является EC50 – концентрация экстракта антиоксиданта, при которой наблюдается 50%-ное ингибирование радикалов DPPH.

Таблица 1

Содержание мономерных антоцианинов в плодах черники

Образец (Экстракт черники)	Содержание антоцианинов, (ц- 3 -г) mg/100g в пересчете на свежую массу	Содержание антоцианинов, (ц- 3 -г) mg/100g в пересчете на сухую массу
Mist	118.5	828.7
Legacy	145.9	979.5
Oneal	14.9	80.1
Bluecrop	57.7	405.4
Chandler	126.7	938.8
Reka	132.9	869.4
Blueray	97.3	755.5
Bluegold	184.2	1334.4
Earliblue	163.3	1126.2
	261.1	1370.5

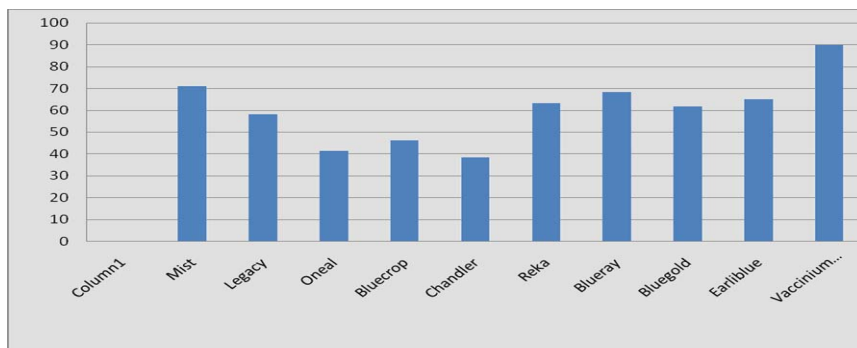


Диаграмма 1. Данные по ингибирования (%) радикалов DPPH

Исследования антиоксидантной активности по методу DPPH, показали, что самым мощным антиоксидантным эффектом в борьбе против свободных радикалов обладает дикая черника (89,93% ингибирование), после ягоды Mist (71,03%), Blueray (68,35%), Earliblue (64,93%), Reka (63,15%) и Bluegold (61,66%).

По итогам проведенных исследований, можно сделать вывод, что ягоды дикорастущих - черники обыкновенной (*Vaccinium myrtillus* L.) и ягоды культурных сортов являются ценным источником биологически активных веществ – антоцианов (405.4 - 1370.5 мг/100 г). Как по содержанию антоцианов, так и по

ингибирования (%) радикалов DPPH лидером оказались ягоды дикой черники.

Список литературы:

1. Asadujaman Md., Md. Aslam Hossain, Utpal Kumar Karmakar Assessment of DPPH free radical scavenging activity of some medicinal plants Pharmacy Discipline, Life Science School, Khulna University, Khulna - 9208, Bangladesh *email: asadjaman@outlook.com
2. MARINOVA* G. and V. Batchvarov evaluation of the methods for determination of the free radical scavenging activity by dpph Institute of Cryobiology and Food Technologies, BG – 1407 Sofia, Bulgaria
3. Vivian Maria BURIN, Leila Denise FALCÃO, Luciano Valdemiro GONZAGA, Roseane FETT, Jean Pierre ROSIER, Marilde Terezinha BORDIGNON-LUIZ Colour, phenolic content and antioxidant activity of grape juice Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas, 30(4): 1027-1032, out.-dez. 2010
4. Dangles, O.; Wigand M. C.; Brouillard, R. Anthocyanin anticopigment effect. Phytochemistry, v. 31, p. 3811-3812, 1992
5. Scalbert, A.; Williamson, G. Dietary intake and bioavailability of polyphenols. American Society for Nutritional Sciences, v. 130, p. 2073S-2085S, 2000.
6. Fuleki, T.; Ricardo-Da-Silva, M. J. Effects of cultivar and processing method on the contents of catechins and procyanidins in grape juice. Journal of Agriculture and Food Chemistry, v. 51, p. 640-646, 2003.
7. УДК 664.8.014/.019 Н.В. Макарова, А.В. Зюзина Исследование антиоксидантной активности по методу dpph полуфабрикатов производства соков ISSN 2074-9414. Техника и технология пищевых производств. 2011. № 3

УДК 582.28:57.083

ВЛИЯНИЕ НЕКОТОРЫХ ПАРА-ЗАМЕЩЕННЫХ ФЕНОЛОВ НА КУЛЬТУРЫ МАКРОБАЗИДИОМИЦЕТОВ

**Цивилева О.М.¹, Панкратов А.Н.², Цымбал О.А.², Юрасов Н.А.²,
Дойкова Д.О.², Пучкова Т.А.³, Капич А.Н.³**

¹ФГБУН Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, Саратов, Россия, тел. (8452)970444, e-mail: tsivileva@ibppm.sgu.ru

²ФГОУ ВПО Саратовский государственный университет имени Н.Г.

Чернышевского, Саратов, Россия, тел. (8452)516960, e-mail:

PankratovAN@info.sgu.ru

³Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь, тел. +(375)17-267-47-66, e-mail: microbio@mbio.bas-net.by

Одним из важных механизмов нормального развития живого является поддержание баланса окислительных процессов и

состояния антиоксидантной защиты. Установлено, что наряду с активацией ферментного защитного звена значительную роль играют неферментные факторы. В литературе накоплен большой экспериментальный материал об антиоксидантной активности производных фенолов различного строения.

Актуально исследование биотехнологически значимых высших грибов - представителей разных систематических групп, биологических эффектов химических соединений. Было обнаружено, что антиоксидантная активность экстрактов грибов коррелирует с общим содержанием фенольных соединений [1].

Цель настоящей работы - выявление биохимического отклика грибных культур на присутствие пара-замещенных фенолов; обоснование полученных результатов методом квантовой химии.

Для достижения поставленной цели нами решены следующие задачи:

- определение суммарного содержания фенольных соединений в мицелии; выращенном в присутствии ароматических соединений оценка различных методических подходов к обработке экспериментальных данных;
- изучение уровня пероксидного окисления липидов в мицелии, выращенном в присутствии ароматических соединений;
- изучение состояния неферментной системы антиоксидантной защиты мицелия по содержанию кориллона (топологического аналога аскорбиновой кислоты), 3,5-дигидрокси-6-метил-2,3-дигидро-4H-пиран-4-она (структурного аналога койевой кислоты), 3- метилпирокатехина; свободных жирных кислот;
- выявление корреляции величин суммарного содержания фенольных соединений с уровнем пероксидного окисления липидов в зависимости от биологического объекта и выявленного статуса неферментной системы антиоксидантной защиты мицелия;
- обоснование полученных результатов методом квантовой химии.

В работе использованы четыре культуры базидиомицетов *Lentinula edodes* (шиитаке), штаммы F-249 и 198; *Grifola umbellata* (грифола зонтичная), штамм 1622; *Ganoderma applanatum* (трутовик плоский), штамм 0154, полученные из коллекций высших базидиальных грибов кафедры микологии и альгологии Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова и лаборатории экспериментальной микологии и биоповреждений Государственного научного учреждения «Институт микробиологии Национальной академии наук Беларуси». Культуры грибов поддерживали на агаризованном пивном сусле при 4 °С.

В качестве компонентов сред культивирования использовали 2-фенилэтанол (фенетиловый спирт), 4-(2-гидроксиэтил)фенол (2-(4-гидроксифенил)этан-1-ол, тирозол), 4-гидроксифенилуксусную, 4-гидроксibenзойную и 3,5-диметокси-4-гидроксibenзойную (сиреневую) кислоты.

Анализ общего содержания фенольных соединений проводили методом Фолина - Чиокалтеу с использованием одноименного реактива.

Уровень пероксидного окисления липидов определяли по содержанию ТБК-активных продуктов (ТБК - тиобарбитуровая кислота). Суммарное содержание ТБК-активных продуктов выражали в пересчете на малоновый диальдегид.

Хромато-масс-спектрометрический анализ проводили в варианте газовой хроматографии с масс-селективным детектированием (ГХ-МС). Использовали следующие условия для разделения и идентификации веществ. Газовый хромато-масс-спектрометр Finnigan, модель Trace DSQ (фирма "ThermoFinnigan", США). Подвижная фаза: гелий 99.995 %-ной чистоты, скорость потока 1.0 мл/мин. Марка хроматографической колонки: Restek Stabilwax, 30 м, внутренний диаметр 0.25 мм, толщина фазы 0.25 мкм. Температура инжектора (испарителя) 200 °С, температура источника ионов 220 °С. Температура MS Transfer Line 240 °С. Энергия электронов -70 эВ.

Методом Фолина - Чиокалтеу мы определили общее содержание фенольных веществ в экстрактах мицелиев. Оценку проводили как по общепринятому стандарту - галловой кислоте, так и с применением методологии профессора Вячеслава Исааковича Вершинина для сектора пространства градуировочных зависимостей, отвечающего сравнительно небольшому наклону прямых (до 1.3 л/моль). Общая тенденция для всех базидиомицетов в рядах веществ-добавок одинакова в обоих вариантах.

Выявили, что 4-гидроксифенилуксусная кислота в наибольшей степени способствует накоплению фенольных веществ в мицелии.

Свободнорадикальные реакции окисления, наряду с известными полезными функциями, приводят к разрушению органических молекул, в первую очередь липидов, и, соответственно, мембранных структур клеток, что часто заканчивается их гибелью. Поэтому в организме функционирует эффективная система ингибирования пероксидного окисления липидов. По фотометрической реакции с тиобарбитуровой кислотой (ТБК) нами оценен уровень пероксидного окисления

липидов в образцах мицелиев изученных базидиомицетов.

Данные, полученные с использованием электронных спектров поглощения реакционных смесей пероксидного окисления липидов мицелия, позволили рассчитать концентрацию ТБК-активных продуктов в биообъектах, отражающую эффект экзогенного присутствия в культуральной жидкости ароматических соединений. Оказалось, что концентрация ТБК-активных продуктов минимальна в случае использования тирозола как добавки к среде культивирования, что согласуется с выявленной нами ранее ауторегуляторной ролью этого соединения в отношении грибных культур [2].

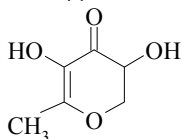
Для высшего гриба *Grifola umbellata* наблюдается антибатная зависимость между общим содержанием фенолов и уровнем пероксидного окисления липидов, что соответствует общепринятым представлениям о роли антиоксидантов как веществ, снижающих концентрацию свободных радикалов в биологических системах. Выявленная зависимость согласуется с тем фактом, что только для *Grifola umbellata* нами в культуральной жидкости не обнаружен корилон, характерный для других изученных биообъектов и, по-видимому, вносящий свой вклад в несоблюдение названной зависимости.

Методом ГХ-МС в культуральных жидкостях с добавлением и без добавления фенольных соединений нами детектирован ряд веществ, включая корилон. Корилон (3-метил-1,2-циклопентандион, 3-метилциклопентан-1,2-дион, циклотен) - пятичленное карбоциклическое соединение, структурный аналог аскорбиновой кислоты, существующий в виде смеси дионового и енолонового таутомеров. Корилон не обнаружен нами в вариантах опытов без добавок. По-видимому, ароматические антиоксиданты индуцируют продукцию этого соединения в грибных культурах.

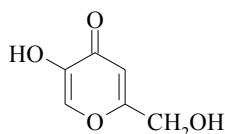
Через 14 сут культивирования в составе культуральной жидкости в ряде случаев обнаруживался пиранон - структурный аналог койевой кислоты, а также 3-метил-пирокатехин, обладающий выраженными антиоксидантными свойствами.

Нельзя не отметить сходство структуры обнаруженного соединения - 3,5-дигидрокси-6-метил-2,3-дигидро-4*H*-пиран-4-она и 5-гидрокси-2-гидроксиметил-4*H*-пиран-4-она, называемого также койевой кислотой. Койевая кислота - известный ингибитор меланиногенеза у грибов, который имеет место в условиях окислительного стресса [3]. Усиленный синтез этого вещества (в сравнении с культурой без добавки) - еще одно свидетельство повышенной антиоксидантной активности глубинного мицелия, выращенного в присутствии исследуемых в работе ароматических

соединений. Исключение составила 4-гидроксibenзойная кислота, не индуцировавшая появление указанного пирона в культуральной жидкости ни одного из базидиомицетов.



3,5-Дигидрокси-6-метил-2,3-дигидро-4H-пиран-4-он



5-Гидрокси-2-гидроксиметил-4H-пиран-4-он (койевая кислота)

С помощью метода ГХ-МС нами также исследованы водные экстракты мицелия ганодермы. Наблюдалось высокое содержание длинноцепочечных жирных кислот, выявленных нами в виде их сложных эфиров методом ГХ-МС. Сверхпродукция жирных кислот является, на наш взгляд, предшественником образования фактора *d2* автолиза мицелия, имеющего, как известно, жирнокислотную природу. На обсуждаемой стадии корилон можно рассматривать в качестве своего рода биостимулятора, активирующего метаболические процессы для достижения сбалансированного состояния системы антиоксидантной защиты.

Для трактовки полученных экспериментальных данных нами изучена пространственная и электронная структура молекул, катион-радикалов и анионов диссоциированных форм исследованных антиоксидантов. Результаты квантовохимического исследования позволяют прогнозировать региоселективность реакций гидроксирования фенольных соединений **2-5** и 2-фенилэтанрола **1**.

Таким образом, выявлена способность 4-(2-гидроксиэтил)фенола, 4-гидроксибензилуксусной кислоты, 4-гидроксibenзойной кислоты, 3,5-диметокси-4-гидроксibenзойной (сиреневой) кислоты в определенной концентрации влиять на баланс в системе антиоксидантной защиты макробазидиомицетов *Lentinula edodes*, *Ganoderma applanatum* и *Grifola umbellata* и минимизировать окислительный стресс. Проведен анализ полученных данных в связи с биологическими особенностями окислительного метаболизма базидиомицетов, их адаптационными возможностями.

Список литературы

1. Cheung L.M., Cheung P.C.K., Ooi V.E.C. Antioxidant activity and total phenolics of edible mushroom extracts // Food Chem. 2003. Vol. 81, № 2. P. 249-255.

-
2. Цивилева О.М., Макаров О.Е., Никитина В.Е. Пара-гидроксиэтилфенол - ауторегуляторный метаболит мицелиальных культур // Фенольные соединения: фундаментальные и прикладные аспекты: Материалы докладов VIII Международного симпозиума. Москва, 2-5 октября 2012 г. / отв. ред. Н.В. Загоскина. - М.: ИФР РАН, РУДН, 2012. С. 187-190.
 3. Kim Y.M., Yun J., Lee C.K., Lee H., Min K.R., Kim Y. Oxyresveratrol and hydroxystilbene compounds inhibitory effect on tyrosinase and mechanism of action // Journal of Biological Chemistry. 2002. Vol. 277, № 18. P. 16340-16344.
-

УДК 581.19+547.992+ 543.429

ФЕНОЛЬНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ ПОЛИФЕНОЛЬНОГО ЭКСТРАКТА ХМЕЛЯ

Чеснокова А.Н.¹, Кунц Т.², Луцкий В.И.¹, Метнер Ф.-Ю.²

¹ФГБОУ ВПО Национальный исследовательский государственный технический университет, Иркутск, Россия, тел. (3952) 40-51-22, alex_chesnokova@yahoo.com

²Технический университет Берлина, Берлин, +49 (30) 314-27504, brauwesen@tu-berlin.de

Хмель (*Humulus lupulus* L.) является важным источником полифенолов. Он широко культивируется для использования как в пивоваренной промышленности, так и в медицине. Многочисленные исследования доказали, что потребление продуктов питания и напитков, включая пиво, богатых полифенолами может уменьшить факторы риска сердечно-сосудистых заболеваний, некоторых типов рака, воспалительных заболеваний и др. [1-2]. Полифенолы играют двойственную роль в пивоварении. С одной стороны, они являются природными антиоксидантами, способными замедлять или предотвращать окислительные процессы. Как следствие, полифенолы положительно влияют на вкусовую стабильность пива во время хранения [3]. С другой стороны, некоторые полифенолы, такие как проантоцианидины, могут вступать во взаимодействие с белками и вызывают формирование коллоидного помутнения пива во время хранения [4-5]. Основное внимание ученых было сосредоточено на влиянии полифенолов солода на коллоидную стабильность пива. Влияние же полифенолов хмеля изучено недостаточно.

Для сохранения ценных компонентов хмеля и более эффективного его применения на современных пивоваренных заводах используют не шишки хмеля, а различные хмелевые продукты и экстракты. Наряду с уже ставшими традиционными

хмелепродуктами (гранулированный хмель, этанольный и углекислотный экстракт хмеля и т.д.) выпускаются также и новые специфические виды хмелевых экстрактов, такие как, например, полифенольный экстракт хмеля.

Таблица 1.

Катехины и фенолкарбоновые кислоты полифенольного экстракта хмеля

Название соединения	Максимумы поглощения в УФ спектре, нм	Время удерживания пиков исследуемом образце, мин	Время удерживания пиков стандартов, мин
протокатеховая кислота	260; 294	15.288	15.203
п-гидроксibenзойная кислота	256	20.232	20.183
(±)-катехин	280	22.982	22.984
ванилиновая кислота	260; 292	23.922	23.886
кофейная кислота	324; 236 (пл.*); 298(пл.)	24.665	24.682
сиреневая кислота	274	не обнаружено	25.816
(-)-эпикатехин	278	27.373	27.331
оксикоричная (п-кумаровая) кислота	226; 310	30.428	30.405
феруловая кислота	236; 322; 294 (пл.)	33.550	33.500
коричная кислота	278	не обнаружено	49.056

Полифенольный экстракт хмеля предоставлен для исследования фирмой Hopsteiner, (Германия) – одним из крупных мировых хмелепроизводителей, в том числе и на российские пивзаводы. Он представляет собой водорастворимую фракцию этанольного экстракта хмеля. Задачей нашей работы являлось изучение состава фенольных соединений полифенольного экстракта хмеля и определение влияния отдельных компонентов на образование коллоидного помутнения пива в модельных растворах.

В полифенольном экстрактенами были изучены фенолкарбоновые кислоты, катехины и гликозиды фенолов. Полифенольный экстракт хмеля трехкратно экстрагировали диэтиловым эфиром. Объединенную эфирную фракцию

анализировали методом ВЭЖХс УФ-детектированием. Детектирование проводили на трех длинах волн, соответствующих максимумам поглощения анализируемых соединений: 260 нм – для производных оксибензойных кислот, 280 нм – для катехина, эпикатехина, 325 нм – для производных коричной кислоты. Идентификация соединений производилась по временам удерживания в сравнении со стандартами и по УФ-спектрам; результаты приведены в таблице.

Таким образом, в полифенольном экстракте хмеля идентифицированы соединения группы катехинов: ($\pm$)-катехин и (-)-эпикатехин, а также *п*-оксибензойная кислота и ее производные (ванилиновая и протокатеховая кислоты); оксикоричная (*п*-кумаровая) кислота и ее производные (кофейная, феруловая кислоты). Среди указанных соединений впервые обнаружены в хмелевом сырье *п*-гидроксibenзойная, протокатеховая и феруловая кислоты. Несмотря на то, что в литературе имеются сведения о содержании в шишках хмеля коричной кислоты [6], в полифенольном экстракте хмеля она не обнаружена. Сиреневая кислота также не найдена в исследованном объекте.

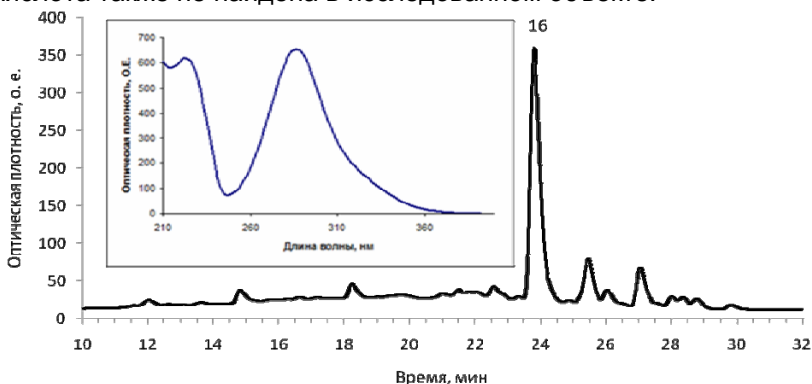


Рис.1 - Фрагмент хроматограммы метанольно-водной фракции полифенольного экстракта хмеля при 280 нм(а)и УФ-спектр соединения **16** (б)

Задачей второй части работы являлось идентификация фенольных соединений, влияющих на коллоидное помутнение пива. Используя методику, описанную в [7-9], была получена водно-метанольная фракция полифенольного экстракта хмеля. На ВЭЖХ хроматограмме данной фракции(Рис.1 а) имеется доминантный пик, принадлежащий соединению **Р1**, максимумы поглощения которого в УФ-спектре составляют 222 и 286 нм(Рис. 1 б), что

указывает на принадлежность к полифенолам. Однако УФ спектр данного соединения не характеристичен для проантоцианидинов – фенольных соединений, участие которых в образовании коллоидного помутнения пива описано в литературе. Данное соединение обнаружено нами также в нефiltroванном пиве и в растворе регенерации поливинилполипирролидона, используемого на производстве для фильтрации пива, что косвенным образом указывает на возможный вклад соединения в образование коллоидного помутнения пива. Поэтому нам представилось интересным выделить данное соединение и провести его идентификацию.

С помощью препаративной ВЭЖХ выделено индивидуальное соединение (**P1**). Методами ^1H , ^{13}C и 2D ЯМР и МС в сравнении с литературными данными [10] соединение **P1** было идентифицировано как 1-[(2-метилпропаноил) флороглюцинил]- β -D-глюкопиранозид (Рис. 2).

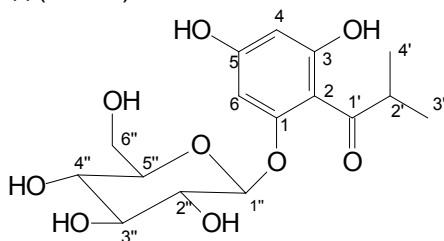


Рис.2 - Структура соединения **P1**

Выделенное соединение исследовали согласно общепринятой методике, используемой при тестировании пива на склонность к образованию коллоидного помутнения в производственных условиях [9]. В качестве модельного белка использовали глиадин. В результате было установлено, что данный компонент участвует в формировании обратимого коллоидного помутнения пива.

Участие производных ацилфлороглюцина в образовании коллоидного помутнения пива установлено нами впервые. Полученные данные позволяют получить дополнительную информацию о природе образования коллоидного помутнения пива и разработать комплекс мер по его предотвращению.

Список литературы

1. Araki S., Kimura T., Shimizu C., Furusho S., Takashio M. and Shinotsuka K. Estimation of Antioxidative Activity and Its Relationship to Beer Flavor Stability // J. Am. Soc. Brew.Chem. 1999. Vol. 57(1). P.34–37.

-
2. Krofta K., Mikyška A., Hašková D. Antioxidant Characteristics of Hops and Hop Products // J. Inst. Brew. 2008. Vol. 114(2). P. 160-166.
 3. McMurrough I., Madigan D., Kelly R.J. and Smyth M.R. The Role of Flavonoid Polyphenols in Beer Stability // J. Am. Soc. Brew. Chem. 1996. Vol. 54. P. 141-148.
 4. Vancraenebroeck R., Kara-Zaitri M., Devreux A. Influence de la Teneur en Proanthocyanidines dimères et en Catéchines de la Bière sur la Stabilité colloïdale // Proc. EBC Congr. 1979. P. 293-307.
 5. McMurrough I., Kelly R., Byrne J., and O'Brien M. Effect of the removal of sensitive proteins and proanthocyanidins on the colloidal stability of lager beer // J. Am. Soc. Brew. Chem. 1992. Vol. 50. P. 67-76.
 6. Горошко О.А. Фармакогностическое исследование соплодий хмеля // автореферат дис. на соиск. учен. степ. к. фарм. н. (15.00.02). Москва, РГБ, 2006.
 7. Vancraenebroeck R., Kara-Zaitri M., Devreux A. Influence de la Teneur en Proanthocyanidines dimères et en Catéchines de la Bière sur la Stabilité colloïdale // Proc. EBC Congr. 1979. P. 293-307.
 8. Anger H.-M. Über die Stabilisierung von Bier unter besonderer Berücksichtigung der Polyphenole. Dissertation, TU Berlin. 1983. P. 40-41.
 9. Kunz Th., Chesnokova A., Wietstock P., Lutsky V. and Methner F.-J. Acylphloroglucinol Glucoside from Hops: Isolation, Identification and Haze-activity / Brewing Science Vol. 65 (2012), pp 65-71.
 10. Bohr G., Gerhäuser C., Knauff J., Zapp J., Becker H. Anti-inflammatory Acylphloroglucinol Derivates from Hops (*Humulus lupulus*). J. Nat. Prod. 2005, 68, 1545-1548.
-

АНАЛОГИ ПРИРОДНЫХ ПРЕНИЛФЕНОЛОВ: СИНТЕЗ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ

Чукичева И.Ю., Федорова И.В., Королева А.А., Кучин А.В.

Институт химии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук, Сыктывкар, Россия, тел. (8212)21-9916, chukicheva-iy@chemi.komisc.ru

Природные пренилированные производные фенолов выполняют важнейшие функции в различных биосистемах. Известно об их антиоксидантных [1], антимикробных [2] и противоопухолевых [3-5] свойствах. Цитотоксические и антипролиферативные свойства многих природных терпенохинонов и гидрохинонов предлагают многообещающие возможности для разработки новых лекарственных препаратов [5]. Синтез подобных соединений требует тщательной разработки условий реакции и приводит к интересным результатам. Анализ литературных данных показывает, что существует несколько

стратегий, приводящих к алкилированным ароматическим продуктам. В зависимости от условий реакции, применяемых алкилирующих агентов и катализаторов с различным уровнем селективности происходит процесс С- и О-алкилирования ароматических соединений [5,6].

Одним из способов получения аналогов природных замещенных фенолов является алкилирование фенолов терпеноидами. В условиях этой реакции под воздействием температуры и катализаторов происходит модификация терпенового заместителя (замыкание в гетероциклические и карбоциклические структуры), что приводит к разнообразию образующихся продуктов. Данное обстоятельство позволяет получать соединения с новыми структурами, и возможно со специфической биологической активностью.

Нами разработаны селективные способы направленного синтеза полусинтетических терпенофенолов с различным структурным типом, которые являются перспективными антиоксидантами и стабилизаторами различного назначения, фармакологическими субстанциями. Установлен ряд особенностей алкилирования одно- и двухатомных фенолов аллильными терпеновыми спиртами [7], в том числе бетула-пренолами и полипренолами, выделенными из хлопка [8].

Список литературы.

1. R.H. Thomson, «Naturally Occurring Quinones III», Chapman and Hall, New York. 1987; K. Weissmehl, H.-J. Arpe, «Industrial Organic Chemistry», 4th end., Wiley-VCH, Weinheim, Germany, 2003. P. 363.
2. S. Loy, R. Tal, Y. Kashman, A. Hizi, *Antimicrob. Agents Chemother.* 2009. 34. P. 1990.
3. R.A.A. Mothana, R. Jansen, W.-D. Julich, U. Lindequist, *J. Nat. Prod.*, 2000. 63. P. 4.
4. B. V. Subba Reddy, B. Anusha, U. V. Subba Reddy, J. S. Yadav, C. S. Reddy, *Helvetica Chimica Acta.* 2013. Vol. 96. P. 1983.
5. Marina Gordaliza. *Mar. Drugs.* 2012. 10. P. 358.
6. C. Hoarau, T.R.R. Pettus. *Synlett.* 2003. No.1. P.127.
7. I.Yu. Chukicheva, I.V. Fedorova, A.A. Koroleva, and A.V. Kuchin. *Chemistry of Natural Compounds.* 2012. Vol. 48. No. 4. P. 535.
8. Чукичева И.Ю., Королева А.А., Тимушева И.В., Кучин А.В. Изв. ВУЗов. Химия и химическая технология. Вып. 1. 2009. С. 27; N. K. Khidyrova, U. T. Zokirova, A. A. Koroleva, A. V. Kuchin and Kh. M. Shakhidoyatov. *Chemistry of Natural Compounds.* 2011. Vol. 47. No. 6. 983.

ФЛАВОНОИДЫ НЕКОТОРЫХ СОРТОВ *GOSSYPIUM* L.

Шамуратов Б.А., Мавлянов С.М.

Институт биоорганической химии им. акад. А.С.Садыкова, АН РУз,
Ташкент, Узбекистан, тел. (99871) 262-35-40; факс. (99871) 262-70-63, e-mail: ibchem@uzsci.net

Известно, что природные вещества, в частности фенольные соединения являются доступным источником для создания различных лекарственных препаратов с широким спектром биологического действия.

Продолжая исследования химического состава различных сортов хлопчатника *Gossypium hirsutum* L., нами изучены фенольные соединения двух сортов - С-6524 и «Омад», культивируемых на территории Республики Узбекистан [1].

Последовательной экстракцией листьев хлопчатника хлороформом, 70% водным ацетоном, концентрированием экстракта под вакуумом до удаления ацетона, обработкой водного остатка этилацетатом, сгущением этилацетатного экстракта под вакуумом и добавлением к концентрату гексана, выделили суммы полифенолов. Выход составил - 3,9% от сухой массы сырья.

Суммы полифенолов подвергли хроматографированию на колонке с силикагелем (silica gel 200/300 mesh), используя систему MeOH:H₂O. Получили несколько фракций, каждая из которых содержит различные полифенолы. Рехроматографированием отдельных фракций на колонке ODS Develosil (MeOH:H₂O) и разделением их с помощью гель-фильтрации (LH-20), получили фракции, содержащие по 2 -4 компонента. Далее, полученные фракции были разделены с помощью ВЭЖХ (Agilent 1200) на препаративной колонке и очищены. В результате были выделены несколько флавоноидов, которые ранее не выделялись из этих растений: (I) 4',5',7-тригидроксифлавоны (апигенин), (II) кемпферол 3-О-глюкоза (астрагалин), (III) 3',4',5,7-тетрагидроксифлавоны (лютеолин) и (IV) 3,3',4',5,5',7-гексагидроксифлавоны (мирицетин) [2].

Химические структуры выделенных веществ были установлены на основе их физико-химических характеристик и сравнением с литературными данными [3-5].

В настоящее время продолжается установление структуры других выделенных фенольных соединений, а также изучение их физиологических роли в период вегетации растений.

Список литературы

1. Шамуратов Б.А., Мавлянов С.М., Далимов Д.Н., Алланиязова М.К. Полифенолы некоторых сортов *Gossypium hirsutum*.// Химия природ. соедин.2003, с.494-495.
2. Helen L. Steele, D. Werner and J.E. Cooper. Flavonoids in seed and root exudates of *Lotus pedunculatus* and their biotransformation by *Mesorhizobium loti*. *Physiol. plant.*, 1999, 107: 251-258.
3. Nakaoki, T. et al., *Yakugaku Zasshi*, 1956, 76, 323-324; 1961, 81, 1158-1159
4. Gen-ichiro Nonaka et al., Tannins and related compounds. I. *Rhubarb*. *Chem. Pharm. Bull.*, 1981, 29(10) 2862-2870.
5. Makoto Nishizawa et al., Tannins and related compounds. XII. Isolation, characterization of galloglucoses from *Paeoniae Radix* and their effect on urea-nitrogen concentration in Rat Serum. *Chem. Pharm. Bull.*, 1983, 31(8) 2593-2600.

БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ А-МАНГОСТИНА

Шевченко О.Г.¹, Буравлев Е.В.², Кучин А.В.²

¹Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар, Россия, тел.: 8(8212)430478, e-mail: microtus69@mail.ru

²Институт химии Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар, Россия, тел.: 8(8212)219916, e-mail: eugeneburavlev@gmail.com

Мангостан (*Garcinia mangostana* L.) – широко распространенное плодовое растение Юго-Восточной Азии, Индии, Шри-Ланки, используемое в народной медицине этих стран [1]. Основными биоактивными вторичными метаболитами мангостана являются полифункциональные конденсированные фенольные соединения – гидроксиксантоны, которые обеспечивают широкий спектр фармакологической активности, включающий антибактериальную, противовирусную, противогрибковую, противоопухолевую, противовоспалительную, антиоксидантную и другие [1–4]. На сегодняшний день из кожуры мангостана изолировано более 25 различных производных ксантонов [1], основным из которых является пренилированный гидроксиксантон – α -мангостин. Это соединение представляет значительный интерес не только для фармакологии, но и для пищевой промышленности, поскольку кожура мангостана в странах Азии является дешевым и доступным сырьем. Однако имеющиеся в литературе данные о токсичности α -мангостина и иных природных ксантонов [5] в отношении клеток млекопитающих ограничивают их

применение и обуславливают необходимость их тестирования в биологических системах.

Биологическая активность α -мангостина может быть существенно изменена путем структурной модификации молекулы – введением дополнительных функциональных групп [4]. В этой связи представляет интерес исследование связи «структура–активность» производных α -мангостина с целью оптимизации фармакологических характеристик –снижения токсичности и улучшения биодоступности. Мы предположили, что положение С-4 α -мангостина может быть активно в реакциях электрофильного замещения за счет согласованного +М-эффекта двух гидроксильных групп резорцинового фрагмента и эфирной группы пиринового цикла. До недавнего времени было известно четыре С-4-производных α -мангостина: два растительных метаболита (cratoxanthone [6, 7] и cowaxanthone E [8]), а также два синтетических производных, содержащих атомы хлора и брома [9, 10].

Целью настоящей работы является синтез новых производных α -мангостина и сравнительная оценка их биологических свойств – токсичности, мембранопротекторной и антиоксидантной активности с использованием эритроцитов крови млекопитающих, удобной и доступной модели, широко применяемой в фармакологии [11–13].

α -Мангостин выделяли методом колоночной хроматографией на силикагеле из желтой смолы, собранной с поверхности покупных фруктов (о. Самуи, Таиланд). С использованием реакций аминометилирования и алкилирования 2,6-диалкил-4-бромометилфенолами синтезированы С-4-производные α -мангостина – соединения (1–5) (схема).

Оценку биологической активности α -мангостина и его производных (1–5) проводили *in vitro* на суспензии эритроцитов крови лабораторных мышей в фосфатно-солевом буфере. Токсичность ксантонов в концентрациях 1, 10 и 30 мкМ оценивали по их способности индуцировать гемолиз. Мембранопротекторную и антиоксидантную активность определяли по степени ингибирования H_2O_2 -индуцированного гемолиза, торможения накопления вторичных продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и окисления оксигемоглобина в эритроцитах. Степень гемолиза оценивали по содержанию гемоглобина в супернатанте на спектрофотометре Thermo Spectromic Genesys 20 при λ 524 нм [11], процент гемолиза рассчитывали по отношению к полному гемолизу образца [12, 13]. Содержание вторичных продуктов ПОЛ, реагирующих с 2-тиобрабитуровой кислотой (ТБК-АП), определяли

спектрофотометрически [14]. Для оценки накопления продуктов окисления гемоглобина анализировали спектр поглощения в интервале λ 540–640 нм; содержание различных форм гемоглобина рассчитывали с учетом соответствующих коэффициентов экстинкции [15]. Каждый эксперимент проводили в 4–6 повторностях. Статистическую обработку данных осуществляли с помощью пакета программ Microsoft Office Excel.

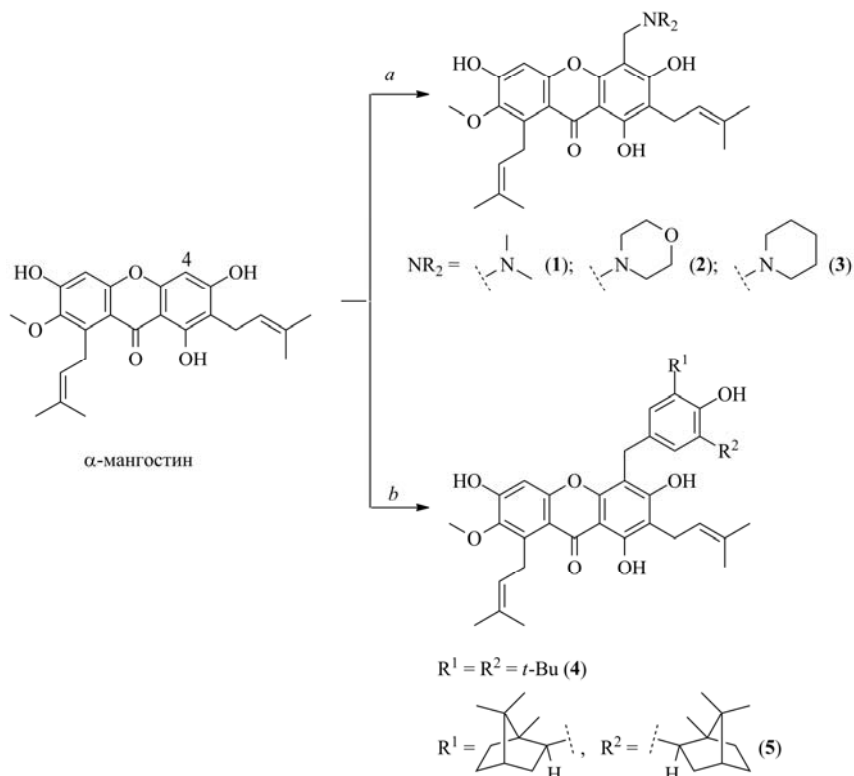


Схема. Синтез новых производных α -мангостина. Реагенты и условия: *a.* N,N,N',N' -тетраметилметандиамин, бензол, 25°C или HCHO, морфолин (пиперидин), бензол, кипячение; *b.* $\text{HO}_2\text{C}_6\text{H}_2\text{R}^1\text{R}^2\text{CH}_2\text{Br}$, K_2CO_3 , ацетон, 25°C.

Анализ гемолитической активности α -мангостина и соединений (1–5) показал существенную зависимость цитотоксичности от структуры молекулы. Наибольшей цитотоксичностью отличался α -мангостин, введение дополнительных функциональных групп в положение С-4 привело к существенному снижению гемолитической активности. Полученные

нами данные о цитотоксичности α -мангостина согласуются с результатами, представленными в работе [16], указывающими на способность этого ксантона вызывать нарушение структуры клеточной мембраны, что является одним из механизмов, обуславливающих высокую антибактериальную активность этого соединения. Несмотря на специфичность α -мангостина по отношению к мембранам бактерий по сравнению с мембранами клеток млекопитающих, стоит отметить, что его присутствие в среде инкубации в концентрациях 7.8–15.6 мкМ приводит к гибели 10.5% эритроцитов кроликов уже в течение 1 ч [16], что свидетельствует о его потенциальной гемолитической активности. Близкие результаты (гемолиз 10.1% клеток в течение 1 ч) получены и в наших экспериментах при использовании α -мангостина в концентрации 10 мкМ.

Таблица.

Влияние α -мангостина и соединений (1–5) в концентрациях 1, 10 и 30 мкМ на уровень индуцированного гемолиза эритроцитов спустя 5 ч после внесения H_2O_2 .

Вариант	Уровень гемолиза, %		
	1 мкМ	10 мкМ	30 мкМ
Контроль	77.78 $\pm$ 1.31		
α -мангостин	52.57 $\pm$ 2.04	27.10 $\pm$ 2.62	–
1	51.89 $\pm$ 5.64	26.58 $\pm$ 2.10	78.80 $\pm$ 0.60
2	65.0 $\pm$ 83.05	22.90 $\pm$ 2.59	23.54 $\pm$ 1.95
3	49.57 $\pm$ 4.61	14.66 $\pm$ 0.49	19.99 $\pm$ 1.91
4	66.62 $\pm$ 3.22	53.21 $\pm$ 2.95	20.53 $\pm$ 1.55
5	40.43 $\pm$ 2.66	72.90 $\pm$ 4.87	78.80 $\pm$ 3.85

Результаты исследования мембранопротекторной активности изученных соединений свидетельствуют о сложной зависимости их биологической активности от концентрации в связи с мультитаргентностью соединений («наложением» антиоксидантного и цитотоксического эффектов) (таблица). Мембранопротекторная активность α -мангостина увеличивалась с ростом концентрации от 1 до 10 мкМ, однако при дальнейшем увеличении концентрации начинал преобладать токсический эффект, что не дало возможность провести оценку мембранопротекторных свойств α -мангостина в высокой концентрации. Аналогичная зависимость отмечена и для диметиламинометильного производного (1) – существенное усиление токсичности с ростом концентрации до 30 мкМ обуславливает высокую протекторную активность этого соединения лишь в концентрации 10 мкМ. Аминометильные производные, содержащие фрагменты морфолина (2) и пиперидина (3),

оказались наиболее эффективными в условиях острого окислительного стресса в средних (10 мкМ) и высоких концентрациях (30 мкМ), соединение (4) – только в высокой (30 мкМ), что обусловлено как низкой токсичностью этих соединений, так и усилением антиоксидантной активности с ростом концентрации. Умеренная мембранопротекторная активность производного (5) выявлена лишь при использовании его в низкой концентрации (1 мкМ), что, возможно, связано со стерическими свойствами молекулы этого соединения, затрудняющими ее взаимодействие с клеточной мембраной.

Антиоксидантная активность исследуемых соединений подтверждается и биохимическими исследованиями. α -Мангостин и его производные (1–5) в большинстве вариантов эксперимента статистически значимо ингибируют процессы перекисного окисления липидов и окисления оксигемоглобина в эритроцитах в условиях H_2O_2 -индуцированного острого окислительного стресса.

Таким образом, функционализация α -мангостина позволила значительно снизить его цитотоксичность по отношению к эритроцитам даже при использовании в относительно высоких концентрациях, что существенно улучшило фармакологические характеристики полученных соединений. На модели H_2O_2 -индуцированного гемолиза эритроцитов показано, что аминотетильные производные с фрагментами морфолина (2) и пиперидина (3) выгодно отличаются от исходного α -мангостина способностью эффективно защищать клетки в условиях острого окислительного стресса.

Подробное описание приведенных выше исследований представлено в работе [17].

Список литературы.

1. Pedraza-Chaverri J., Cárdenas-Rodríguez N., Orozco-Ibarra M., Pérez-Rojas J.M. *Food Chem. Toxicol.* 2008, 46, 3227.
2. Obolskiy D., Pischel I., Siriwatanametanon N., Heinrich M. *Phytother. Res.* 2009, 23, 1047.
3. Hemshekhar M., Sunitha K., Sebastin Santhosh M., Devaraja S., Kemparaju K., Vishwanath B.S., Niranjana S.R., Girish K.S. *Phytochem. Rev.* 2011, 10, 325.
4. Ibrahim M.Y., Hashim N.M., Mariod A.A., Mohan S., Abdulla M.A., Abdelwahab S.I., Arbab I.A. *Arabian J. Chem.* 2014, <http://dx.doi.org/10.1016/j.arabjc.2014.02.011>
5. Han Q.-B., Xu H.-X. *Curr. Med. Chem.* 2009, 16, 3775.
6. Sia G.-L., Bennett G.J., Harrison L.J., Sim K.-Y. *Phytochemistry* 1995, 38, 1521.

-
7. Han A.-R., Kim J.-A., Lantvit D.D., Kardono L.B.S., Riswan S., Chai H., Carcache de Blanco E.J., Farnsworth N.R., Swanson S.M., Kinghorn A.D. *J. Nat. Prod.* 2009, 72, 2028.
 8. Panthong K., Pongcharoen W., Phongpaichit S., Taylor W.C. *Phytochemistry* 2006, 67, 999.
 9. Nishihama Y., Ogamino T., Shi W.L., Cha B.-Y., Yonezawa T., Teruya T., Nagai K., Suenaga K., Woo J.-T., Nishiyama S. *Heterocycles* 2009, 77, 759.
 10. Fei X., Jo M., Lee B., Han S.-B., Lee K., Jung J.-K., Seo S.-Y. Kwak Y.-S. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2014, 24, 2062.
 11. Takebayashi J., Chen J., Tai A.A. *Methods Mol. Biol.* 2010, 594, 287.
 12. Costa R.M., Magalhães A.S., Pereira J.A., Andrade P.B., Valentão P., Carvalho M., Silva B.M. *Food Chem. Toxicol.* 2009, 47, 860.
 13. Wang J., Sun B., Cao Y., Tian Y. *Food Chem. Toxicol.* 2009, 47, 1591.
 14. Asakawa T., Matsushita S. *Lipids* 1980, 15, 137.
 15. van den Berg J.J.M., Op den Kamp J.A.F., Lubin B.H., Roelofsen B., Kuypers F.A. *Free Radical Biol. Med.* 1992, 12, 487.
 16. Koh J.-J., Qiu S., Zou H., Lakshminarayanan R., Li J., Zhou X., Tang C., Saraswathi P., Verma C., Tan D.T.H., Tan A.L., Liu S., Beuerman R.W. *Biochim. Biophys. Acta* 2013, 1828, 834.
 17. Buravlev E.V., Shevchenko O.G., Kutchin A.V. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2015, 25, 826.
-

УДК 581.192(571.1)

ФЕНОЛЬНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ ЭКСТРАКТА И ФРАКЦИЙ *ALFREDIA CERNUA*

Шилова И.В.^{1,2}

¹ФГБНУ НИИ фармакологии и регенеративной медицины им. Е.Д. Гольдберга, Томск, Россия, +79138087736, e-mail: inessashilova@gmail.com

²ФГАОУ ВО Национальный исследовательский Томский государственный университет, Томск, Россия, +79138087736, e-mail: inessashilova@gmail.com

Экстракт альфредии поникшей (*Alfredia cernua* (L.) Cass.) на 95 % этаноле обладает ноотропным, антигипоксическим, антистрессорным, адаптогенным, анксиолитическим, антидепрессантным действием. При его фракционировании обнаружили рассредоточение эффектов по составляющим: выраженную антигипоксическую, антиоксидантную и анксиолитическую активность проявляет хлороформная фракция, а антиамнестические свойства – водный остаток и бутанольная фракция. Для выявления носителей активности экстракт и его фракции подвергли детальному химическому исследованию.

Сгущенный экстракт растения растворяли в воде (1:4) и экстрагировали в делительной воронке последовательно хлороформом, этилацетатом и бутанолом–1. Полученные фракции упаривали в вакууме при температуре не выше 60 °С. В результате получили хлороформную, этилацетатную, бутанольную фракции и водный остаток с выходами 31,4 %, 11,5 %, 10,3 % и 46,8 % от массы экстракта соответственно. Исследование химического состава осуществляли с помощью качественных реакций, хроматографии в тонком слое и на бумаге в сравнении с достоверными образцами. Для разделения сложных смесей веществ использовали методы адсорбционной колоночной и флэш-хроматографии на полиамиде и силикагеле, хромато-масс-спектрометрии, противоточного распределения и дробной кристаллизации.

В хлороформной фракции экстракта обнаружены гидроксикумарины (эскулетин), фенолокислоты (ванилиновая). ГХ/МС анализ дополнительно выявил присутствие кониферилового (1,11 %) спирта, ванилина (0,19 %), сиреневого альдегида (0,15 %), салициловой (0,46 %) и галловой (0,41 %) кислот, этилсалицилата (0,1 %). Выделение фенольных соединений проводили методом колоночной хроматографии на силикагеле. Фракцию, полученную смесью хлороформ-этанол 93:7–90:10, рехроматографировали на силикагеле с последующим противоточным распределением в системе хлороформ-метанол-вода (5:6:4) из нижней фазы, выделили вещество **1** – белый мелкокристаллический порошок, $C_{27}H_{34}O_{11}$; т. пл., °С: 250 (с разл.); р. в хлороформе, ацетоне, этаноле и метаноле. УФ-спектр (C_2H_5OH), λ_{max} , нм: 224, 255, (274), (298). Согласно физическим и физико-химическим характеристикам вещество идентифицировали с 3-(3-метокси-4- β -D-глюкопиранозилоксибензил)-4-(3,4-диметоксибензил)-бутиролактоном (арктиин).

В этилацетатной фракции обнаружили простые фенолы, флавоноиды (кверцетин, кемпферол, таксифолин, апигенин, лютеолин, изокверцитрин, лютеолин-7-глюкозид), фенолокислоты (ванилиновая, кофейная, хлорогеновая), лигнаны (арктиин), кумарины. Разделение фракции осуществляли методом колоночной хроматографии на силикагеле. При элюировании смесью хлороформ-этанол 98:2 в индивидуальном состоянии получили вещество **2** (кверцетин), хлороформ-этанол 88:12 – вещество **3** (желтый мелкокристаллический порошок, т. пл. 238–240 °С; УФ-спектр (C_2H_5OH), λ_{max} , нм: 258, (300), 360; (+ $AlCl_3 + HCl$): 268, 410; изокверцитрин). Фракцию, элюированную хлороформом, разделяли рехроматографией на силикагеле и при промывании

колонки смесью гексан-ацетон 80:20 выделили вещество **4** (белый мелкокристаллический порошок, т. пл. 210-212 °С; УФ-спектр (C_2H_5OH), λ_{max} , нм: 220, 260, 290; масс-спектр, m/z , ЭУ, 70 eV: 168 (M^+), 153, 151, 125, 97; ванилиновая кислота).

В бутанольной фракции выявлены простые фенолы, флавоноиды (лютеолин-7-глюкозид), фенолокислоты (ванилиновая, кофейная). При разделении фракции методом флэш-хроматографии на силикагеле и элюировании смесью хлороформ-метанол 2:8 получили вещество **5** (белый кристаллический порошок, т. пл. 203-204 °С; УФ-спектр (C_2H_5OH), λ_{max} , нм: 243, (299), 326; хлорогеновая кислота). Из фракции, элюированной смесью хлороформ-метанол 6:4, рехроматографией на полиамиде получили вещества **6** (рутин) и **7** (изокверцитрин). В водном остатке содержится следовые количества флавоноидов.

ИНГИБИРУЮЩАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ КОМПОНЕНТОВ РАСТИТЕЛЬНЫХ КЛЕТОК В ПРОЦЕССАХ АВТООКИСЛЕНИЯ

**Шишкина Л.Н., Козлов М.В., Мазалецкая Л.И., Хрустова Н.В.,
Шелудченко Н.И.**

ФГБУН Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук, Москва, Россия, +7(495)939-7186, shishkina@sky.chph.ras.ru

Как известно, большинство природных биологически активных веществ (БАВ), обладающих антиоксидантными (АО) свойствами, являются фенольными соединениями [1, 2]. Однако механизм ингибирования реакций окисления в модельных системах наиболее изучен для таких природных фенольных соединений, как α -токоферол и его гомологи [3, 4], ряд флавоноидов и родственных им соединений [5-7], β -каротин [8]. Показано, что при высокой антирадикальной активности (АРА) природных фенольных антиоксидантов (АО), т.е. величины константы скорости их взаимодействия с пероксирадикалами, ингибирующая эффективность природных АО зависит также от их концентрации, степени ненасыщенности субстрата окисления, структуры ведущих цепь окисления радикалов, скорости зарождения радикалов в системе, участия АО в побочных реакциях.

Как процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ) в сложных биологических системах, так и процессы окислительной порчи преимущественно протекают в режиме автоокисления. Это

обуславливает необходимость детального изучения ингибирующей эффективности БАВ, являющихся компонентами растительных клеток, именно в реакциях автоокисления, представляющих собой автоиницированный процесс с положительной обратной связью, которая осуществляется через гидропероксид [9]. Одной из наиболее используемых для этих целей является метилолеатная окислительная модель, т.е. термическое автоокисление метилового эфира олеиновой кислоты [10]. Детальный компьютерный анализ кинетики накопления гидропероксидов при низкотемпературном автоокислении метилолеата (RH), в том числе и в присутствии АО и липидов из биологических объектов [11-13] позволяет существенно расширить возможности использования данной модельной системы для исследования механизма ингибирования окислительных процессов различными АО, компонентами клеток и их смесями.

Объектами данного исследования являлись липиды (LH), выделенные из бурых водорослей *Laminaria japonica*; 20%-ная спиртовая настойка плодов *Sophora japonica*; кверцетин и дигидрокверцетин; смесь растительных стеринов (серпистен), 75% которых представлены 20-гидроксиэкдизином; β -каротин и Веторон, являющийся смесью 200 мкг β -каротина + 80 мкг аскорбиновой кислоты + 80 мкг α -токоферола (α -ТФ); смесь α -ТФ и серпистена.

Скорость зарождения радикалов (W_0) при автоокислении RH модифицировали проведением процесса при разных температурах или используя RH разной степени окисленности. С помощью пакета программ KINS [14] было показано, что накопление пероксидов при автоокислении самого RH и во всех вариантах экспериментов описывается экспоненциальным законом $[ROOH] = a \exp(kt)$ с коэффициентом корреляции 0,94 – 1,0. Ранее было установлено, что величина множителя a экспоненциальной кривой линейно возрастает с ростом W_0 и имеет обратную корреляцию с уровнем антиокислительной активности (АОА) липидов, выделенных из тканей млекопитающих [13]. На начальных стадиях процесса окисления, когда расходом субстрата можно пренебречь, величина показателя экспоненты k пропорциональна общей скорости окисления и снижается с возрастанием W_0 [13].

Поскольку исследованные объекты различаются по химической природе входящих в их состав соединений и наличию АО, то неудивительно, что они обладают не только разной ингибирующей эффективностью, которую оценивали по разности величин периода индукции окисления RH в присутствии и отсутствие исследуемых добавок, отнесенной к периоду индукции

окисления самого RH, но и существенными различиями во влиянии на параметры кинетических кривых окисления RH. Однако все изученные в данной работе компоненты растительных клеток обладают способностью разлагать пероксиды на молекулярные продукты, т.е. антипероксидной активностью (АПА). Выявлено, что наиболее высокой АПА среди исследованных препаратов обладает Веторон.

Как известно, 3,5-дийодтирозин, альгиновая кислота и пигмент бурых водорослей являются наиболее важными БАВ, содержащимися в *Laminaria japonica*. Исходя из растворимости этих соединений в органических растворителях, можно ожидать, что вместе с LH в процессе их выделения экстрагируется именно пигмент *Laminaria japonica*, содержащий каротиноиды (β -каротин и фукоксантин). Анализ физико-химических характеристик LH, выделенных из *Laminaria japonica*, показал, что при $W_0 = (3,26 \pm 0,02) \times 10^{-10}$ М.с⁻¹ в диапазоне концентраций от 1 мг/мл до 20 мг/мл RH они проявляют как АО, так и прооксидантную активность, практически не влияя на величину показателя экспоненты ($k_{отн} = 1,125 \pm 0,058$). При этом снижение ингибирующей эффективности LH из *Laminaria japonica* сопровождается линейным ростом величины a ($R = -0,94 \pm 0,055$, $n = 5$), что свидетельствует об их участии в зарождении и продолжении цепи при автоокислении RH.

Интересно отметить, что в аналогичных условиях окисления β -каротин в диапазоне концентраций $(1,9 \div 3,7) \times 10^{-7}$ моль/л проявляет только прооксидантные свойства, более выраженные при снижении W_0 , не оказывая влияния на величину показателя экспоненты ($k_{отн} = 0,98 \pm 0,085$). При этом ингибирующая эффективность, как и в случае LH из *Laminaria japonica*, линейно уменьшается с ростом величины a ($R = -0,985 \pm 0,015$, $n = 5$) при автоокислении RH ($W_0 = 3,4 \times 10^{-10}$ М.с⁻¹, температура 60° С). Присутствие в составе Веторона, кроме β -каротина, аскорбиновой кислоты и α -ТФ обуславливает появление слабых АО свойств при более высокой W_0 и сохранение прооксидантной активности препарата при $W_0 = 3,15 \times 10^{-10}$ М.с⁻¹. Обнаружено отсутствие влияния Веторона во всех вариантах экспериментов на величину a ($0,97 \pm 0,07$, $n = 14$), в то время как относительное значение k уменьшается с $1,435 \pm 0,095$ до $1,10 \pm 0,08$ при возрастании W_0 от $3,15 \times 10^{-10}$ до $3,4 \times 10^{-10}$ М.с⁻¹.

Основным БАВ спиртовой настойки плодов *Sophora japonica*, как полагают, является рутин (глюкорамногликозид кверцетина). 20%-ный спиртовый экстракт плодов *Sophora japonica*

в диапазоне концентраций 5÷50 мкл/мл обладает высокой АОА, которая равна 14150 ± 640 ч.мл/г ($n=4$) при 15 и 50 мкл/мл и возрастет в 1,7 раза при снижении концентрации экстракта. Обнаружена линейная корреляция между ингибирующей эффективностью экстракта и его концентрацией ($R=0,945 \pm 0,06$, $n=6$). При этом выявлено существенное снижение относительной величины a от $0,034 \pm 0,014$ до $0,003 \pm 0,001$ и уменьшение относительного значения k от $0,85 \pm 0,15$ до $0,30 \pm 0,01$ с ростом концентрации экстракта от 5 до 50 мкл/мл. Ранее линейная зависимость периода индукции окисления от концентрации, значительное снижение величины a и отсутствие достоверного влияния на значение k было показано для кверцетина и дигидрокверцетина при автоокислении RH в тонком слое (диффузионная область окисления) при 50°C [15]. Представленные результаты позволяют предположить преимущественное взаимодействие флавоноидов с пероксирадикалами в реакциях автоокисления, а снижение скорости автоокисления RH после окончания периода индукции обусловлено наличием у экстракта плодов *Sophora japonica* АПА.

Как известно, α -ТФ активно участвует в побочных реакциях, независимо от условий окисления в системе [4], что приводит к снижению периода индукции процесса окисления с ростом его концентрации [4, 15]. При автоокислении метилолеата со скоростью зарождения радикалов $W_0 = (2,98 \div 3,44) \times 10^{-10} \text{ М.с}^{-1}$ (температура 60°C) выявлены более высокая ингибирующая эффективность и существенное снижение величин a и k именно при низкой W_0 и наименьшей концентрации АО, что соответствует данным литературы.

Важным компонентом растительных клеток являются стерины, которые играют существенную роль в их метаболизме и в последнее время находят применение в качестве БАД [16, 17]. Показано, что в основе биологической активности растительных стеринов лежит их способность принимать участие в регуляции процессов ПОЛ при введении в организм животных [18]. В связи с этим ингибирующая активность серпистена в диапазоне концентраций от $9,5 \times 10^{-6}$ до $1,14 \times 10^{-3}$ моль/л определяли при автоокислении RH как при физиологической температуре 37°C , так и при 60°C . Обнаружено, что при 37°C серпистен обладает только прооксидантными свойствами при отсутствии линейной зависимости от концентрации препарата, практически не влияет на величину a во всем изученном диапазоне концентраций ($a_{\text{отн}} = 1,09 \pm 0,03$) и значение k , если его концентрация не превышает

$5,7 \times 10^{-4}$ моль/л ($k_{\text{отн}} = 1,04 \pm 0,03$). В миллимолярных концентрациях серпистен увеличивает показатель экспоненты в 1,55 раза, что свидетельствует об его участии в процессе автоокисления в качестве субстрата.

Способность серпистена принимать участие в процессах автоокисления на стадиях зарождения радикалов и продолжения цепи еще более четко проявляется при проведении процесса при 60° С. При этих условиях окисления также отсутствует линейная зависимость ингибирующей эффективности серпистена от его концентрации, препарат проявляет как АО, так и прооксидантные свойства и практически не изменяет значение показателя экспоненты во всех вариантах экспериментов. При этом величина a линейно уменьшается с увеличением ингибирующей эффективности серпистена, однако коэффициент линейной регрессии данной корреляционной зависимости различается в 3,7 раза в зависимости от скорости зарождения радикалов в системе. Необходимо отметить также, что серпистен может оказывать модифицирующее влияние на ингибирующую эффективность АО. Так, присутствие серпистена в реакционной системе не только влияет на параметры кинетических кривых накопления гидропероксидов, но и снижает ингибирующую активность α -ТФ в 5,6 раза.

Таким образом, ингибирующая эффективность компонентов растительных клеток в реакциях автоокисления обусловлена физико-химическими свойствами входящих в их состав соединений и существенно зависит от концентрации компонентов и скорости зарождения радикалов в процессах автоокисления.

Список литературы

1. Биохимия фенольных соединений / Под ред. Дж. Харборна. М.: Мир, 1968. 452 с.
2. Фенольные соединения: фундаментальные и прикладные аспекты / Отв. ред Н.В. Загоскина. Е.Б. Бурлакова. М.: Научный мир, 2010. 400 с.
3. Burton G.W., Ingold K.U. // Acc. Chem. Rev. 1986. Vol. 19. P. 194-201.
4. Бурлакова Е.Б., Крашаков С.А., Храпова Н.Г. // Хим. физика. 1995. Т. 14. № 10. С. 151-182.
5. Gody V., Middleton E., Harborne J.B. Plant flavonoids in biology and medicine: biochemical, pharmacological and structure-active relationships. New York: Liss, 1986. 330 p.
6. Belyakov V.A., Roginsky V.A and Bors W. // J. Chem. Soc. Perkin Trans 1995. No 2. P. 2319-2326.
7. Mazaletskaya L.I., Sheludchenko N.I., Shishkina L.N. // Chemistry & Chem. Technology. 2012. Vol. 6. No 1. P. 35-41.
8. Касаикина О.Т. // Панорама современной химии в России. Химическая

-
- и биологическая кинетика. Новые горизонты. Том 1. Химическая кинетика. М.: Химия, 2005. С. 531-552.
9. Денисов Е.Т., Азатян В.В. Ингибирование цепных реакций. Черноголовка. 1997. 268 с.
 10. Бурлакова Е.Б., Алесенко А.В., Молочкина Е.М., Пальмина Н.П., Храпова Н.Г. Биоантиоксиданты в лучевом поражении и злокачественном росте. М.: Наука, 1975. 214 с.
 11. Шишкина Л.Н., Меньшов В.А., Брин Э.Ф. // Изв. РАН. Сер. биологическая. 1996. № 3. С. 292-297.
 12. Шишкина Л.Н. Особенности функционирования физико-химической системы регуляции перекисного окисления липидов в биологических объектах разной степени сложности в норме и при действии повреждающих факторов. Автореф. дис. ... д.х.н. М., 2003. 45 с.
 13. Шишкина Л.Н., Хрустова Н.В. // Биофизика. 2006. Т. 51. Вып. 2 С. 340-346.
 14. Брин Э.Ф., Травин С.О. // Хим. Физика. 1990. Т. 10. № 6. С. 830-837.
 15. Mazaletskaya L.I., Sheludchenko N.I., Shishkina L.N. // In Chemical Reaction in Gas, Liquid and Solid Phases: Synthesis, Properties and Application. New York: Nova Science Publishers, 2012. P. 11-20.
 16. Фитозекдистериоды / Под ред. В.В. Володина. СПб.: Наука, 2003. 293 с.
 17. Володин В.В., Пчеленко Л.Д., Володина С.О. и др. // Растительные ресурсы. 2006. Т. 42. Вып. 3. С. 113-130.
 18. Shishkina L.N., Shevchenko O.G., Zagorskaya N.G. // Oxidation Commun. 2011. Vol. 34. No. 3. P. 711-725.
-

ФЕНОЛЬНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ ТРЁХ ВИДОВ *PULICARIA* И ИХ БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ

**Эшбакова К.А.¹, Комилов Б.Д.¹, Тошматов З.О.², Айса Н.А.³,
Абдуллаев Н.Д.¹**

¹Институт химии растительных веществ им.акад.С.Ю.Юнусова АН РУз,
700170, Ташкент пр. М.Улугбека 77, факс(99871) 120 64 75, e-mail:
e_komila@yahoo.com

²Graduate University of the Chinese Academy of Sciences, 80 Zhongguancun
East Rd. Beijing, 100190 China

³State Key Laboratory Basis of Xinjiang Indigenous Medicinal Plants Resource
Utilization, Xinjiang Technical Institute of Physics and Chemistry, Chinese
Academy of Sciences, Urumqi 830011, China E-mail: haji@ms.xjb.ac.cn;

Растения рода *Pulicaria* семейства *Acteraceae* включает около 50 видов, распространенных в Европе, Азии и Африке. На территории СНГ произрастает 5 видов, из них четыре встречаются в основном в Центральной Азии [1].

Представители рода *Pulicaria* (блошница) использовались в

лечебных целях с глубокой древности. Сведения о применении ограничиваются в литературе тем, что разные виды блошницы используются в народе от блох, что, по видимому, обусловлено антифидантным действием продуцируемых ими веществ. *Pulicaria dysenterica* (*P. uliginosa*) в народной медицине применяется как средство от дизентерии [2].

Pulicaria crispa, произрастающая в Саудовской Аравии, относится к лекарственным растениям и применяется как противовоспалительное и отпугивающее насекомых средство [3].

Растения рода *Pulicaria* содержат разнообразные классы природных соединений, многие виды имеют большие сырьевые запасы. Это дает возможность углубленного химического исследования растений этого рода.

Мы исследовали трёх видов растений рода *Pulicaria* – *P. salviifolia*, *P. gnaphloides* *P. uliginosa* и все выделенные вещества в основном относятся к классу терпеноидов и флавоноидов [4-10].

В продолжение наших исследований химических компонентов растения *P. salviifolia*, *P. gnaphloides* и *P. uliginosa*, путем колоночной хроматографии этилацетатные фракции, элюирования проводили с помощью градиенте CHCl_3 и $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}$ (9:1 - 4:1) и выделили из *P. gnaphloides* девять (**1-9**), из *P. uliginosa* четыре (**3-7**) и из *P. salviifolia* три (**3, 5, 7**) соединения фенольного характера. Строение выделенных веществ установили на основании их спектральных данных (^1H , ^{13}C ЯМР и использованием экспериментов DEPT, HSQC, HMBC, COSY) и прямого сравнения с подлинными образцами и идентифицировали как *p*-гидроксibenзойной кислоты (**1**), метиловый эфир 3,4-дигидроксibenзойной кислоты (**2**), лютеолин (**3**), кемпферол (**4**), кверцетин (**5**), изокверцитрин (**6**), гиперозид (**7**), рутин (**8**) и кверцетин 3-рамнозил-(1→6)-галактозид (**9**).

p-Гидроксibenзойной кислоты (**1**), $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_3$, т.пл. 159.5°C

^1H ЯМР-спектр (600 MHz, CD_3OD , δ , м.д): 7.87 (2H, д, $J=8.0$, H-2,6), 6.81 (2H, д, $J=8.0$, H-3,5).

^{13}C ЯМР-спектр (150 MHz, CD_3OD , δ , м.д): 170.06 (C-7), 163.35 (C-4), 132.99 (C-2,6), 122.70 (C-1), 116.02 (C-3,5).

Метиловый эфир 3,4-дигидроксibenзойной кислоты (**2**) $\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_4$, т.пл. 137-138°C

^1H ЯМР-спектр (600 MHz, DMSO , δ , м.д): 7.44 (2H, дд, $J=1.8$; 8.4, H-2,6), 6.84 (1H, д, $J=8.4$, H-5), 3.33 (3H, с, OCH_3), 9.91 (1H, уш.с, OH-3), 12.55 (1H, уш.с, OH-4)

^{13}C ЯМР-спектр (150MHz, DMSO , δ , м.д): 123.44 (C-1), 114.99 (C-2), 147.19 (C-3), 151.06 (C-4), 112.70 (C-5), 123.44 (C-6), 167.19

(C-7), 55.53(C-8).

Лютеолин (3) $C_{15}H_{10}O_6$, т.пл. 328–330°C.

^1H ЯМР-спектр (600 MHz, DMSO, δ , м.д): 7.94 (2H, д, $J=8.0$, H- H-2', 6'), 7.24 (1H, $J=8.0$, H-5'), 6.93 (1H, с, H-3), 6.84 (1H, д, $J=1.8$, H-8), 6.77 (1H, д, $J=1.8$, H-6), 13.79 (1H, OH-5).

Кемпферол (3) $C_{15}H_{10}O_6$, т.пл. 277–279°C. УФ-спектр (MeOH, λ_{max} , nm): 294, 367.

^1H ЯМР-спектр (400 MHz, DMSO, δ , м.д): 6.20 (1H, д, $J = 2.0$, H-6), 6.46 (1H, д, $J = 2.0$, H-8), 6.98 (2H, д, $J = 8.5$, H-3',5'), 8.10 (2H, д, $J = 8.5$, H-2',6'), 9.40 (1H, с, 4'-OH), 10.9 (1H, с, 3-OH).

Кверцетин (4), $C_{15}H_{10}O_7$, т.пл. 305–307°C.

^1H ЯМР-спектр (600 MHz, DMSO, δ , м.д): 7.71 (1H, д, $J=1.8$, H-2'), 7.53 (1H, дд, $J=1.8$; 9.0, H- 6'), 6.89 (1H, $J=9.0$, H-5'), 6.40 (1H, д, $J=2.4$, H-8), 6.18 (1H, д, $J=2.4$, H-6), 12.48 (1H, OH-5)

^{13}C ЯМР-спектр (150 MHz, DMSO, δ , м.д): 160.02(C-2), 135.68 (C-3), 176.79 (C-4), 160.68 (C-5), 98.13 (C-6), 163.85 (C-7), 93.30 (C-8), 156.10 (C-9), 102.96 (C-10), 121.90 (C-1'), 115.55 (C-2'), 145.02 (C-3'), 146.76 (C-4'), 115.02 (C-5'), 119.92 (C-6').

Изокверцитрин (5) $C_{21}H_{20}O_{12}$, т.пл. 248–250°C.

^1H ЯМР-спектр (600 MHz, DMSO, δ , м.д): 7.58 (1H, д, $J=1.8$, H-2'), 7.57 (1H, д, 9.0, H- 5'), 6.85 (1H, $J=1.8$; 9.0, H-6'), 6.39 (1H, д, $J=2.4$, H-8), 6.19 (1H, д, $J=2.4$, H-6), 5.46 (1H, д, $J=7.8$, H-1'), 12.63 (1H, OH-5), 10.92 (1H, OH-7), 9.67 (1H, OH-4'), 9.41 (1H, OH-3').

^{13}C ЯМР-спектр (150 MHz, DMSO, δ , м.д): 156.29 (C-2), 133.28 (C-3), 177.38(C-4), 161.21 (C-5), 98.65(C-6), 162.21 (C-7), 93.47 (C-8), 156.11 (C-9), 103.90 (C-10), 121.56 (C-1'), 116.15 (C-2'), 144.78 (C-3'), 148.44 (C-4'), 113.41 (C-5'), 121.12 (C-6'), 104.84 (C-1''), 74.07 (C-2''), 76.48 (C-3''), 70.91 (C-4''), 77.55 (C-5''), 60.95 (C-6'').

Кислотный гидролиз соединения **5** привел к получению кверцетина и D-глюкозы.

Гиперозид (5) $C_{21}H_{20}O_{12}$, т.пл. 231–232°C.

^1H ЯМР-спектр (600 MHz, DMSO, δ , J/Гц, м.д): 7.57 (1H, д, $J=1.8$, H-2'), 7.58 (1H, д, 9.0, H- 5'), 6.87 (1H, $J=1.8$; 9.0, H-6'), 6.41 (1H, д, $J=2.4$, H-8), 6.21 (1H, д, $J=2.4$, H-6), 5.45 (1H, д, $J=7.8$, H-1'), 12.61 (1H, OH-5), 10.90 (1H, OH-7), 9.67 (1H, OH-4'), 9.43 (1H, OH-3').

^{13}C ЯМР-спектр (150 MHz, DMSO, δ , м.д): 156.31 (C-2), 133.27 (C-3), 177.37 (C-4), 161.21 (C-5), 98.63 (C-6), 162.21 (C-7), 93.49 (C-8), 156.14 (C-9), 103.91 (C-10), 121.54 (C-1'), 116.15 (C-2'), 144.77 (C-3'), 148.43 (C-4'), 113.41 (C-5'), 121.12 (C-6'), 104.85 (C-1''), 74.07 (C-2''), 76.46 (C-3''), 70.91 (C-4''), 77.57 (C-5''), 60.97 (C-6'') В кислотном гидролизате идентифицировали кверцетин и D-галактозу.

Рутин (7) $C_{27}H_{30}O_{16}$, т.пл. 193-195°C. Кислотный гидролиз соединения 7 привел к получению кверцетина и D-глюкозы, L-рамнозы.

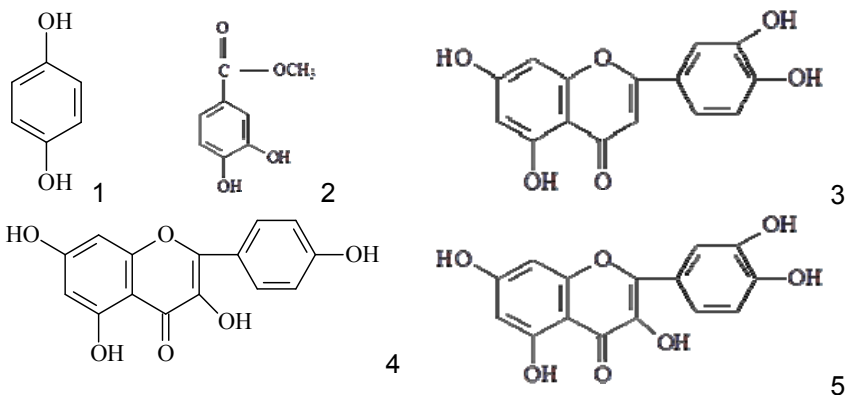
Кверцетин 3-рамнозил-(1→6)-галактозид (8) $C_{27}H_{30}O_{16}$, т.пл. 186-188°C.

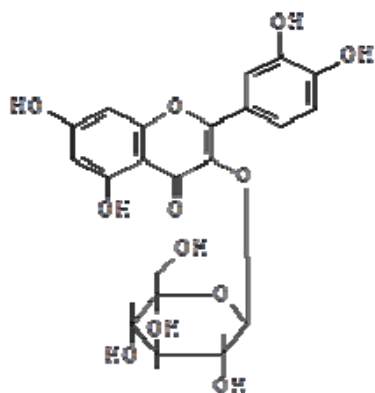
^1H ЯМР-спектр (400 MHz, DMSO, δ , м.д): 7.55 (2H, dd, $J=1.8$, 8.5, H-2', H-6'), 6.84 (1H, d, $J=8.5$, H-5'), 6.33 (1H, d, $J=2.0$, H-8), 6.14 (1H, d, $J=2.0$, H-6), 5.33 (1H, d, $J=7.5$, H-1''), 4.39 (1H, s, H-1'''), 1.01 (3H, d, $J=6.0$, CH_3-6'''), 3.04-3.40 протоны галактозы и рамнозы, 12.56 (1H, c, OH-5)

^{13}C ЯМР-спектр (100 MHz, DMSO, δ , м.д): 156.94 (C-2), 133.62 (C-3), 177.52 (C-4), 161.55 (C-5), 99.48 (C-6), 165.21 (C-7), 94.20 (C-8), 156.74 (C-9), 103.81 (C-10), 121.99 (C-1'), 116.52 (C-2'), 145.24 (C-3'), 149.07 (C-4'), 115.63 (C-5'), 121.43 (C-6'), 101.79 (C-1''), 74.51 (C-2''), 76.29 (C-3''), 70.97 (C-4''), 76.87 (C-5''), 67.42 (C-6''), 101.17 (C-1'''), 70.77 (C-2'''), 70.39 (C-3'''), 72.26 (C-4'''), 68.66 (C-5'''), 18.17 (C-6''').

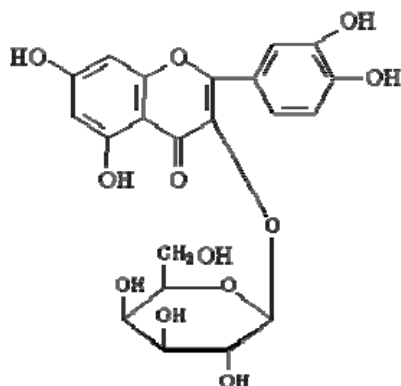
Кислотный гидролиз флавоноида 8 привел к получению кверцетина и D-галактозы, L-рамнозы.

p-Гидроксibenзойной кислоты, метиловый эфир 3,4-дигидроксibenзойной кислоты, лютеолин, кэмпферол, кверцетин и кверцетин 3-рамнозил-(1→6)-галактозид из рода *Pulicaria*, изокверцитрин, рутин из растений *Pulicaria gnaphaloides*, гиперозид из *P. uliginosa* и *P. salviifoli*. были выделены впервые.

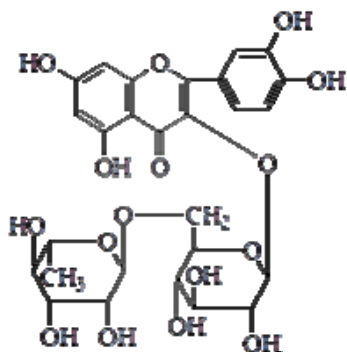




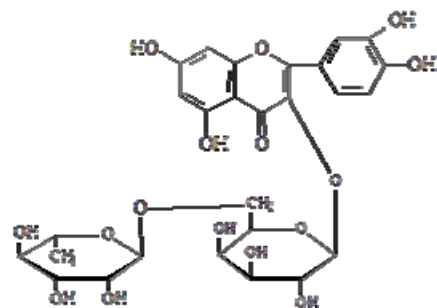
6



7



8



9

Благодарность:

Работа выполнена при поддержке Фондов программ для международного сотрудничества и обмена Национального фонда естественных наук Китая (№ 31110103908) и фондов для Международного научно-технического сотрудничества Синьцзян-Уйгурского Автономного Района (№ 20126023).

Список литературы

1. Флора Узбекской ССР, Ташкент, Изд. АН УзССР, 1959, Т.4., С.437; Т.6., С.91-96.
2. Государственная фармакопея СССР, -М.: Медицина, 1968, С.1080.
3. Farnworth N.R. Biological and phytochemical screening of plants// J.Pharmac.Sci. 1996, V. 55, P.225-276.
4. Chemical constituents of *Pulicaria gnaphaloids*, K.A.Eshbakova //Medicinal Plants. 3(2), P. 161, 2011
5. Hautriwaic acid from *Pulicaria salviifolia*. Eshbakova K.A., Saidkhodzhaev A.I. // Chemistry of Natural Compounds. P. 326, 2002.

-
6. Triterpenoids and sterols from Three Species of *Pulicaria*. Eshbakova K.A., Saidkhodzhaev A.I. // *Chemistry of Natural Compounds*. P. 197, 2001.
 7. Diterpenoids of *Pulicaria salviifolia* IV. Structure of Salvicionolide and Salvicinolin. Eshbakova K.A., Sagitdinova G.V., Levkovich M.G., Rasulov B.F., Abdullaev N.D., Malikov V.M. // *Chemistry of Natural Compounds*. P. 458, 1997.
 8. Diterpenoids of *Pulicaria salviifolia* III. The Structure of Salvicin. Sagitdinova G.V., Eshbakova K.A., Malikov V.M. // *Chemistry of Natural Compounds*. P. 226, 1994.
 9. Flavonoid Pulicarpin from *Pulicaria salviifolia* and its Hypolipidemic activity. Sagitdinova G.V., Eshbakova K.A., Khushbaktova Z.A., Malikov V.M. and Olimov V. // *Chemistry of Natural Compounds*. P. 286, 1992.
 10. Phenol components of *Pulicaria gnaphaloides*, K.A.Eshbakova, A.Yili, H.A. Aisa // *Chemistry of Natural Compounds*, No 4, 2014
-

ПРОЯВЛЕНИЕ МЕМБРАНОТРОПНЫХ СВОЙСТВ ФЛАВОНОИДОВ И ИХ КОМПЛЕКСОВ С КАТИОНАМИ ЖЕЛЕЗА (II)

Ягольник Е.А.¹, Музафаров Е.Н.¹, Ким Ю.А.², Тараховский Ю.С.³

1 ФГБОУ ВПО «Тульский государственный университет», Тула, Россия,
yea_88@mail.ru, enmuzafarov@mail.ru, 8 (920) 272-60-83

2 Институт биофизики клетки РАН, Пущино, Россия, yuk01@rambler.ru

3 Институт теоретической и экспериментальной биофизики, Пущино,
Россия, tarahov@rambler.ru

Флавоноиды - класс полифенольных соединений растительного происхождения, интерес к которым обусловлен перспективой получения синтетических аналогов этих веществ, обладающих лекарственным действием [1, 2]. Важным вкладом флавоноидов в защиту организма от окислительного стресса является их способность связывать металлы переменной валентности [3]. Для флавоноидов, так же как для многих других биологически-активных веществ, гидрофобность и, соответственно, способность взаимодействовать с биологическими мембранами является одним из необходимых условий проявления фармакологической активности [4].

В ранних работах нами было показано, что при взаимодействии флавоноидов с Fe^{2+} могут образовываться комплексы преимущественно в соотношении 2:1 и 3:2 [5, 6]. Данный параметр и определяет характер их взаимодействия с фосфолипидным бислоем и может влиять на различные

физические свойства бислоя, включая термодинамические характеристики фазовых переходов, процессы взаимодействия между мембранами и их слияние. Липосомы из фосфатидилхолина образуют агрегаты, обмениваются липидами и сливаются под действием комплексов флавоноидов с катионами железа (II).

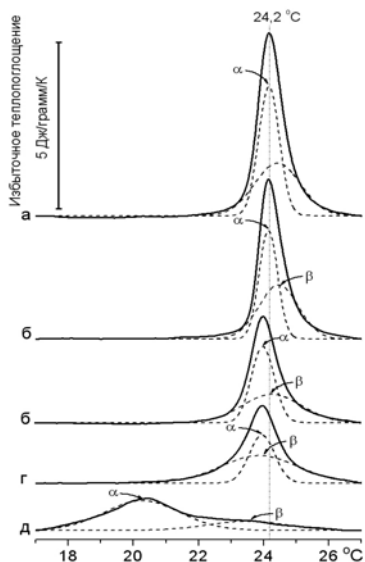


Рис. 1. Термограммы плавления липидов в липосомах из DMPC 0,2 мг/мл ($2,95 \cdot 10^{-4}$ М) в присутствии флавоноидов ($4 \cdot 10^{-5}$ М).

А – исходные липосомы (контроль)

Б – в присутствии катехина

В – в присутствии таксифолина (ДКВ)

Г – в присутствии кверцетина

Д – в присутствии флоретина

На этом и последующих рисунках пунктиром обозначены результаты деконволюции термограмм на 2 или 3 кривых Гаусса. Сумма кривых, полученных при деконволюции, совпадала с исходной кривой термограммы ($R \geq 0,996$).

При соотношении молекул в комплексе флавоноид:железо равном 2:1 образуется мостик между соседними мембранами липосом. При этом молекулы флавоноидов погружаются в гидрофобную область липидов, а полярная часть комплекса, содержащая атом железа, образует мостик (скрепку) между соседними мембранами [5].

Флавоноиды, добавленные к липосомам в соотношении флавоноид-липид 1:10 в различной степени способны влиять на процесс плавления липида. Так, катехин в указанной концентрации, оказывал незначительное влияние на плавление липидов (термограмма на рис. 1Б). Большие изменения формы кривой плавления наблюдались при действии таких же количеств таксифолина, кверцетина и, особенно, флоретина (рис. 1В–Д), который сдвигал положение температуры максимума перехода приблизительно на 4°C в низкотемпературную область,

значительно увеличивал ширину и уменьшал высоту перехода (рис. 1Д).

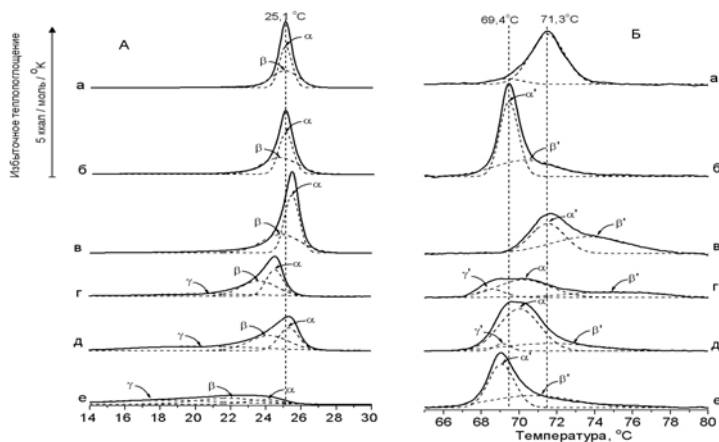


Рис. 2. Термограммы плавления липидов липосомах из POPE (2 мг/мл или $2,95 \cdot 10^{-3} \text{M}$) в присутствии флавоноидов ($4 \cdot 10^{-4} \text{M}$). Даны два температурных диапазона, в которых наблюдаются фазовые переходы (А и Б).

А – исходные липосомы (первое сканирование)

Б – те же липосомы (второе сканирование)

Вторые сканирования липосом с добавленными флавоноидами

В – катехин, Г – кверцетин, Д – таксифолин, Е – флоретин

Пунктирной линией проведены кривые Гаусса, полученные путем деконволюции термограмм. Сумма кривых Гаусса совпадает с исходными термограммами ($R > 0,995$). Шкалы правой и левой панелей отличаются.

При всех указанных концентрациях флавоноидов наблюдалось также исчезновение предперехода, который наблюдается при $14 - 15^{\circ}\text{C}$.

Действие флавоноидов на процесс плавления POPE, происходящий в температурном интервале около 25°C (рис. 2), обнаруживает некоторое сходство с процессом плавления липидов в липосомах из DMPC, представленном нами выше. Так, катехин оказывал наименьшее влияние на характеристики плавления, тогда как таксифолин и кверцетин более существенно подавляли высоту перехода α , а также в различной степени сдвигали максимумы переходов α и β в сторону более низких значений температур. Наибольшее влияние оказывал флоретин, который значительно снижал высоту пика и увеличивал ширину перехода. Действие флавоноидов на переход из бислоя в гексагональную H_{II} фазу,

происходящий при температуре около 69⁰С, существенно отличалось от того, что мы наблюдали в температурной области плавления бислойной структуры этого липида. Здесь флоретин оказывал наименьшее влияние на плавление липида (Рис.2, панель А).

Катионы железа (II) в концентрациях характерных для крови человека [7], не оказывает существенного влияния на плавление DMPC. В то же время, комплекс кверцетин-Fe²⁺ влияет на плавление липидов в липосомах из DMPC иначе, чем свободный кверцетин [8]. Эти различия проявляются в том, что производимый кверцетином сдвиг максимума в низкотемпературную область существенно уменьшается в присутствии Fe²⁺. Это изменение можно наблюдать только в том случае, если в начале к суспензии липосом был добавлен кверцетин, и после выдерживания в течение нескольких минут при комнатной температуре, был добавлен раствор Fe²⁺. Действие Fe²⁺ на плавление POPE, происходящее при 25⁰С, мало отличается от действия кверцетина. Взаимодействие комплексов флавоноид-железо с липосомами зависит от последовательности смешивания компонентов. Необходимо сначала сформировать комплекс флавоноида с липосомами, а затем добавлять железо. При этом растворимость флавоноидов в липидном бислое должна возрастать вследствие увеличения липофильности комплекса флавоноида с ионами железа. Этот факт важен при создании липосом, содержащих комплексы флавоноидов с ионами железа.

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ 13-04-97526 и 14-04-31308

Список литературы

1. Ferrazzano, G. F., I. Amato, A. Ingenito, A. Zarrelli, G. Pinto, and A. Pollio, 2011, Plant polyphenols and their anti-cariogenic properties: a review: Molecules., v. 16, no. 2, p. 1486-1507.
2. Garcia, A., V. Bocanegra-Garcia, J. P. Palma-Nicolas, and G. Rivera, 2012a, Recent advances in antitubercular natural products: Eur.J.Med.Chem., v. 49, p. 1-23.
3. Perron, N. R., and J. L. Brumaghim, 2009, A review of the antioxidant mechanisms of polyphenol compounds related to iron binding: Cell Biochem.Biophys., v. 53, no. 2, p. 75-100
4. Hendrich, A. B., 2006, Flavonoid-membrane interactions: possible consequences for biological effects of some polyphenolic compounds: Acta Pharm.Sinica., v. 27, no. 1, p. 27-40.
5. Tarahovsky Y.S., Yagolnik E.A., Muzafarov E.N., Abdrasilov B.S., Kim Yu. A. «Calcium-dependent aggregation and fusion of phosphatidylcholine liposomes induced by complexes of flavonoids with divalent iron» Biochem.

Biophys. Acta. 1818, 3, 695-702, 2012

6. Y.A. Kim, Y.S. Tarahovsky, E.A. Yagolnik, S.M. Kuznetsova, E.N. Muzafarov, «Lipophilicity of flavonoid complexes with iron(II) and their interaction with liposomes», Biochemical and Biophysical Research Communications, 431, 680–685, 2013
7. Kasvosve, I, J Delanghe, 2002, Total iron binding capacity and transferrin concentration in the assessment of iron status: Clin.Chem.Lab Med., v. 40, p. 1014-1018.
8. Ягольник Е.А., Махмутов Б.Б., Тараховский Ю.С., Музавфаров Е.Н., Алексеева О.М., Ким Ю.А., «Влияние комплекса кверцетин-железо на фосфолипидные мембраны», Известия Тульского Государственного Университета (Естественные науки), вып.2, 2010, 295-305.

РАЗДЕЛ 2.

УЧАСТИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ЖИЗНИ РАСТЕНИЙ

РОЛЬ САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ В ФУНКЦИОНИРОВАНИИ ПРО- И АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМ РАСТЕНИЙ ОГУРЦА ПРИ ЗАСОЛЕНИИ СРЕДЫ

Абилова Г.А.

Дагестанский государственный университет, Махачкала, Россия,
89285501570, e-mail gulyaraabilova@mail.ru

Салициловая кислота (СК) относится к эндогенным регуляторам роста фенольной природы. У растений она участвует в индукции системной приобретенной устойчивости к патогенам (Шакирова, 2000), регуляции процессов цветения (Молодченкова, 2001), дыхания (Рахманкулова и др., 2010), роста (Дитченко, Юрин, 2007). В ряде работ приводятся свидетельства защитной роли СК при действии на растения некоторых форм абиотического стресса – водного дефицита (Безрукова и др., 2001), низких и высоких температур (Абилова, 2014), тяжелых металлов, засоления (Абилова, 2011). Стрессовые факторы вызывают существенное усиление продукции активных форм кислорода (АФК), которые, реагируя с липидами, белками и ДНК, повреждают мембраны и макромолекулы в результате перекисного окисления липидов (ПОЛ) (Барабой и др., 1992). Показано, что СК стимулирует образование АФК и развитие ПОЛ. Одновременно предполагается, что СК выполняет защитные функции у растений, сдерживая окислительные процессы. В связи с этим целью настоящего исследования было изучение влияния СК на интенсивность ПОЛ и активность супероксиддисмутазы (СОД) в проростках огурца в условиях засоления среды. Для того, чтобы выяснить, какой процесс вносит больший вклад в образование АФК – фотосинтез или дыхание, опыты проводились на зеленых проростках, выросших на свету, и этиолированных проростках.

Объектом исследования были огурцы (*Cucumis sativus* L) сорта Феникс. Для изучения влияния предпосевной обработки семян СК на интенсивность ПОЛ и активность СОД в семядольных листьях проростков семена замачивали в течение 3-х часов в 1 мМ растворе СК. Контрольные семена находились в дистиллированной воде. Затем семена проращивали на фильтровальной бумаге в чашках Петри с периодическим поливом в опыте 50мМ NaCl, в контроле – дистиллированной водой при свете дневных ламп ЛД-40 с интенсивностью освещения 12000 лк и длительностью светового дня 16 часов и в условиях полной этиоляции. Через 10 дней в семядольных листьях определяли активность ПОЛ по накоплению

малонового диальдегида (МДА) (Мерзляк и др., 1978) и активность СОД по способности фермента ингибировать фотохимическое восстановление нитросинего тетразолия (Giannopolitis et al, 1977).

Опыты проводили в 3-х биологических и 4-х аналитических повторностях. В таблице 1 приведены средние арифметические значения и их стандартные ошибки.

Результаты определения МДА показали, что в семядольных листьях этиолированных проростков огурца исходный уровень ПОЛ был выше на 10% по сравнению с теми проростками, что росли на свету. Под влиянием засоления NaCl содержание МДА в этиолированных и зеленых семядольных листьях снизилось на 45% и 32%, соответственно. По-видимому, в условиях хлоридного засоления проникающая в клетки соль обуславливает резкое снижение транспирации и увеличение объема клеток, которые берут на себя водозапасающую функцию. Достоверно низкий уровень ПОЛ можно объяснить большой обводненностью тканей, что при расчете количества образующегося МДА на единицу сырого веса дало более низкие результаты по сравнению с контрольными. Большая разница между количеством образующегося МДА в контрольных и опытных проростках, выращенных в темноте по сравнению с данными опыта, проведенного при освещении, по-видимому, отражает тот факт, что засоление вызывает значительные энергетические затраты, связанные не только со стимуляцией дыхания, но и с формированием и поддержанием антиоксидантного баланса.

Предпосевная обработка 1мМ раствором СК семян, которые далее выращивались на воде, вне зависимости от условий освещения не влияла на интенсивность ПОЛ в семядольных листьях проростков. В условиях же засоления в обработанных СК растениях содержание МДА не изменилось в этиолированных проростках и увеличилось на 26% в зеленых по сравнению с той же серией опытов, но без обработки СК.

Изучение антиоксидантной активности клеток семядольных листьев растений огурца показало, что активность СОД достоверно снижалась при засолении в автотрофных и этиолированных проростках, ингибирование фермента было в большей степени выражено на

свету. Под влиянием СК активность СОД не изменялась, оставаясь на том же уровне, что и при засолении. Считается, что при неблагоприятных воздействиях наблюдается активация СОД, которое является ответом на увеличение продукции супероксидадикала. Однако при достижении определенного уровня окислительного стресса активность фермента может

снижаться. В наших опытах снижение активности СОД может быть результатом истощения пула фермента вследствие длительного воздействия засоления на проростки огурца.

Таблица 1.

Влияние предпосевого замачивания семян в 1мМ растворе СК на активность ПОЛ и СОД в семядольных листьях 10-дневных проростков огурца сорта «Феникс», выращенных на свету и в темноте

Условия опыта (освещенность и полив)	Содержание МДА (мкг/г сырой массы)		Активность СОД (ед СОД/мг сырой массы)	
	Замачивание семян в дист. воде	Замачивание семян в 1мМ растворе СК	Замачивание семян в дист. воде	Замачивание семян в 1мМ растворе СК
Свет → дист. вода	0,115 ± 0,005	0,104 ± 0,004 0,05<P ₂ <0,1	0,65 ± 0,014	0,68 ± 0,021 P ₂ >0,1
Свет → раствор 0,05M NaCl	0,078 ± 0,006 *P ₁ <0,001	0,098 ± 0,007 P ₁ >0,1 0,05<P ₂ <0,1	0,40 ± 0,051 *P ₁ <0,001	0,43 ± 0,038 *P ₁ <0,001 P ₂ >0,1
Темнота → дист. вода	0,127 ± 0,004 P ₁ >0,05	0,124 ± 0,005 0,001<*P ₁ <0,01 P ₂ >0,1	0,64 ± 0,026 P ₁ >0,1	0,66 ± 0,029 P ₁ >0,1 P ₂ >0,1
Темнота → раствор 0,05M NaCl	0,070 ± 0,003 *P ₁ <0,001	0,067 ± 0,003 *P ₁ <0,001 P ₂ >0,1	0,55 ± 0,038 *P ₁ =0,02	0,51 ± 0,060 0,01<*P ₁ <0,002 P ₂ >0,1

Звездочкой обозначены достоверные отличия

P₁ – по сравнению с серией опытов свет → дистиллированная вода;

P₂ – по сравнению с той же серией опытов, но без обработки СК

Таким образом, обработка семян СК, с одной стороны, вносит вклад в увеличение водоудерживающей способности проростков огурца при засолении. С другой стороны, СК участвует в формировании преадаптации к последующим стрессам, которое проявляется в снижении степени повреждающего действия стрессоиндуцированного накопления АФК, о которой судили по уменьшению уровня ПОЛ и активности СОД проростков в условиях засоления.

Список литературы.

1. Шакирова Ф.М. СК – индуктор устойчивости растений //Агрохимия. 2000, №11. – С.87-95.
2. Молодченкова О.О. Предполагаемые функции салициловой кислоты в растениях //Физиология и биохимия культурных растений. 2001, т.33, №6. – С.463-473.

-
3. Рахманкулова З.Ф., Федяев В.В., Рахматуллина С.Р., Иванов С.П., Гильванова И.Р., Усманов И.Ю. Влияние предпосевной обработки семян пшеницы салициловой кислотой на ее эндогенное содержание, активность дыхательных путей и антиоксидантный баланс растений // Физиология растений. 2010. – т.57, вып.6. – С.835-840.
 4. Дитченко Т.И., Юрин В.М. Исследование рострегуляторных свойств салициловой кислоты // Материалы докладов Международной конференции «Современная физиология растений: от молекул до экосистем», Сыктывкар, 2007, С.275-277.
 5. Безрукова М.В., Сахабутдинова А.Р., Файхутдинова Р.А., Кильдиярова И.А., Шакирова Ф.М. Влияние салициловой кислоты на содержание гормонов в корнях и рост проростков пшеницы при водном дефиците // Агрохимия. 2001. – №2. – С.51-54.
 6. Абилова Г.А. Влияние салициловой кислоты на перекисное окисление липидов и содержание пролина в растениях огурца в связи с преадаптацией к холодовому стрессу // Вестник Дагестанского государственного университета. 2014. - №6.- С.66-70.
 7. Абилова Г.А. Салициловая кислота как возможный фактор повышения устойчивости растений огурца к окислительному стрессу, вызванному засолением среды // Вестник Дагестанского государственного университета. 2011. - №1.- С.103-106.
 8. Барабой В.А., Блехман Н.Н., Голотин В.Г., Кудряшов Ю.Б. Перекисное окисление и стресс. СПб.: Наука, 1992. 148 с.
 9. Мерзляк М.К. Использование α -тиобарбитуровой кислоты при исследовании перекисного окисления липидов в тканях растений // Биологические науки. 1978. - №9. С.132-135.
 10. Giannopolitis C.N., Ries S.K. Superoxide Dismutase. Occurrence in Higher Plants // Plant Physiol. 1977. – v.59. - P.309-314.
-

УДК 577.13:582.711.71:571.61

СЕЗОННАЯ ДИНАМИКА НАКОПЛЕНИЯ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ *PENTAPHYLLOIDES FRUTICOSA* ПРИ ИНТРОДУКЦИИ НА ЮГЕ АМУРСКОЙ ОБЛАСТИ

Андышева Е.В.¹, Храмова Е.П.²

¹Амурский филиал Ботанического сада-института ДВО РАН, 675000, Амурская область, Благовещенск, т/факс: 8(4162)33-32-53, e-mail: lenok-luchik@mail.ru

²Центральный Сибирский Ботанический сад СО РАН, 630090, Новосибирск, т/факс: 8(383)3301986, e-mail: khramova@ngs.ru

Перспективность использования *Pentaphylloides fruticosa* (пятилистника кустарникового) из сем. *Rosaceae* в качестве лекарственного и пищевого сырья делает актуальным

исследование биохимических особенностей этого растения для целей интродукции. *P. fruticosa* относится к растениям, продуцирующим значительное количество фенольных соединений (ФС), в основном флавонолов, содержание которых варьирует от 0.7 до 6.0% [1-4]. Хорошо известно, что фаза развития растения, его генотип, условия произрастания и другие факторы оказывают влияние на состав и накопление ФС [5-7].

Цель работы заключалась в изучении сезонной динамики содержания фенольных соединений в листьях *Pentaphylloides fruticosa* в условиях культуры на юге Амурской области.

Исследования проводились в интродукционной популяции Амурского филиала Ботанического сада-института ДВО РАН в г. Благовещенске. Материалом служили образцы *P. fruticosa*, собранные с апреля по июль 2014 г, начиная с периода набухания почек и заканчивая периодом массового созревания семян: в фазе вегетации – период набухания почек (24 апреля, I) и начало вегетации (19 мая, II); в фазе бутонизации – начало бутонизации (3 июня, III) и массовая бутонизация (10 июня, IV); в фазе цветения – начало цветения (17 июня, V), массовое цветение (24 июня, VI) и окончание цветения (30 июня, VII); в фазе плодоношения – начало плодоношения (7 июля, VIII) и массовое плодоношение (14 июля, IX).

Для определения содержания ФС (суммарного содержания, по группам и отдельным компонентам) брали среднюю пробу с 30 особей в каждую стадию вегетационного периода. Анализ ФС выполняли методом ВЭЖХ на жидкостном хроматографе Agilent 1200 (Agilent Technologies, США) с диодно-матричным детектором.

В результате исследования идентифицированы шесть гликозидов – гиперозид, изокверцитрин, рутин, авикулярин, кверцитрин, астрагалин, три агликона – кверцетин, кемпферол и рамнетин, а также эллаговая кислота и ее гликозид. Остальные компоненты на основании УФ-спектров, зарегистрированных в процессе хроматографирования в режиме *on-line*, отнесены к флавоноидным структурам.

Показано, что в течение вегетационного периода основной состав ФС в листьях *P. fruticosa* сходен, но их содержание изменяется. Минимальное содержание ФС отмечено в фазе вегетации (Рис.1). Максимум (40.9 мг/г) приходится на период начала цветения (17 июня, V), после чего следует спад и вновь подъем к фазе начала образования плодов (7 июля, VIII).

По результатам анализа агликонов, образующихся после кислотного гидролиза гликозидов, установлено три агликона: кверцетин, кемпферол и рамнетин. При этом производные

рамнетина не обнаружены в фазе вегетации и начале бутонизации (Рис. 2). В накоплении производных кверцетина, кемпферола и рамнетина отмечено 2 максимума: первый – в фазу цветения (V, VI), второй – в фазу плодоношения.



Рис.1. Суммарное содержание ФС в листьях *Pentaphylloides fruticosus* в течение вегетационного сезона.

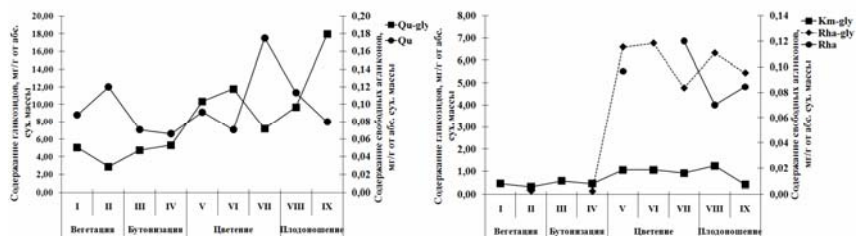


Рис.2. Содержание суммы свободных и гликозидированных флавоноидов в течение вегетационного сезона. Qu-gly – гликозиды кверцетина, Km-gly – гликозиды кемпферола, Rha-gly – гликозиды рамнетина, Qu – свободный кверцетин, Rha – свободный рамнетин.

В динамике свободных агликонов – кверцетина и рамнетина наблюдалась иная картина. Установлены 2 максимума содержания кверцетина: в молодых энергично развивающихся листьях в начале вегетации (II) и в зрелых в конце цветения. Свободный рамнетин не обнаружен в фазе вегетации, начале бутонизации и массового цветения, а наибольшее его количество выявлено в конце цветения. Свободный кемпферол в листьях не найден в течение всего вегетационного сезона. Отмечен факт несовпадения динамики накопления гликозидированных и негликозидированных

форм кверцетина и рамнетина, что свидетельствует об их взаимопревращениях.

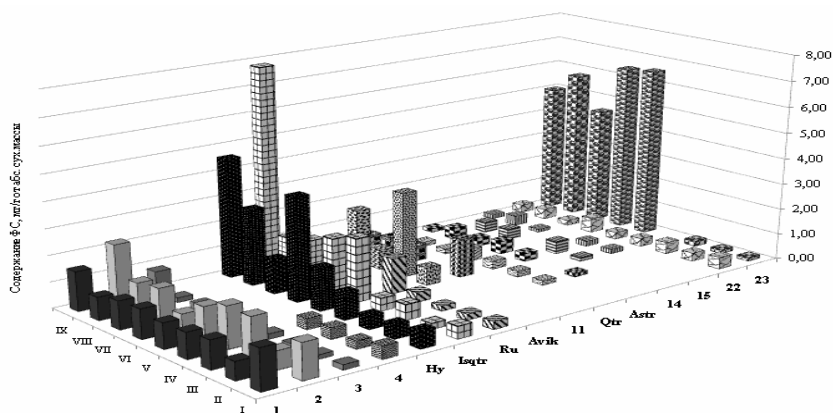


Рис. 3. Содержание фенольных соединений в листьях *Pentaphylloides fruticosa*.

По горизонтали – компоненты, из них Hy – гиперозид, Isqtr – изокверцитрин, Ru – рутин, Avik – авикулярин, Qtr – кверцитрин, Astr – астрагалин.

Установлены различия в накоплении отдельных компонентов в течение вегетационного сезона (Рис. 3). Количество большинства компонентов минимально в начале вегетации и максимально в фазу цветения и плодоношения. Так, в наибольшей мере в период цветения и плодоношения накапливаются гиперозид, изокверцитрин, авикулярин, компонент 23. Содержание рутина максимально в фазу начала цветения, компонентов 2 и 3 – в конце плодоношения. Компонент 4 отмечен только в фазе вегетации, авикулярин и компонент 11 в фазе цветения и плодоношения. Астрагалин не выявлен в фазе вегетации и массовой бутонизации, кверцитрин – в фазе вегетации. Компоненты 14 и 15 не установлены в молодых листьях. Варьирование в содержании компонентов 1 и 22 в процессе вегетации не значительны.

В динамике эллаговых дубильных соединений установлено, что содержание эллаговой кислоты максимально в фазу бутонизации и минимально в конце плодоношения, а максимум ее гликозида, напротив, наблюдался в период массового цветения. К концу сезона содержание обоих соединений снижалось до минимума (Рис. 4).

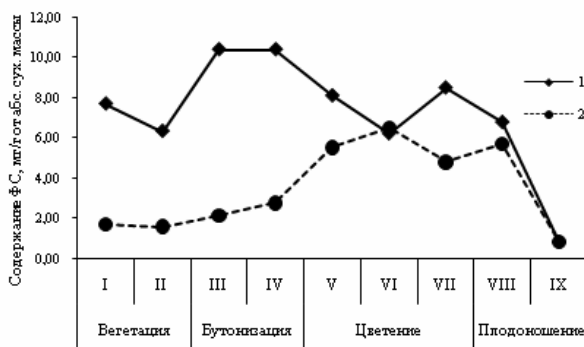


Рис. 4. Динамика накопления эллаговых дубильных веществ. 1 – эллаговая кислота, 2 – гликозид эллаговой кислоты.

В результате проведенного исследования установлено, что фенольный состав *P. fruticosa* достаточно лабилен, но при этом качественный состав основного фенольного комплекса *P. fruticosa* вне зависимости от стадии вегетации остается постоянным. Варьирование качественного состава происходит, в основном, за счет минорных компонентов. Наибольшее суммарное содержание ФС в листьях *P. fruticosa* установлено в фазу начала цветения и плодоношения. В процессе вегетации гликозиды кверцетина и кемпферола обнаружены во всех фазах развития, гликозиды рамнетина – только в зрелых листьях. Максимум флавонолгликозидов отмечен в фазе начала и массового цветения и плодоношения, агликонов (кверцетина) – в начале вегетации и конце цветения. Выявлены факты несовпадения динамики накопления гликозидов и их агликонов. Содержание большинства отдельных фенольных компонентов максимально в зрелых листьях в фазу цветения и плодоношения. В молодых листьях в наибольшем количестве выявлена эллаговая кислота, а в зрелых – ее гликозид.

Список литературы.

1. Триль В.М., Стальная М.И., Иващенко Т.А. Курильский чай в природе и культуре (перспективы его использования). – Майкоп: Изд-во «Магарин О.Г.», 2008. 264 с.
2. Николаева И.Г., Хобракова В.Б., Арьяева М.М. Пятилистник кустарниковый (Курильский чай кустарниковый). Улан-Удэ: Изд-во Бурятского научного центра СО РАН, 2001. 110с.
3. Храмова Е.П. Динамика содержания флавонолов в надземных органах *Pentaphylloides fruticosa* (L.) O.Schwarz различных экотипов,

-
- выращиваемых в Новосибирске // Растительные ресурсы. 1999. Вып. 4. С. 31 – 38.
4. Tomczyk M., Pleszczynska M., Wiater A. Variation in Total Polyphenolics Contents of Aerial Parts of *Potentilla* Species and Their Anticariogenic Activity // *Molecules*. 2010. V. 15. P. 4639 – 4651.
 5. Минаева В.Г. Флавоноиды в онтогенезе растений и их практическое использование. Новосибирск: Наука, Сибирское отд-ние, 1978. 253 с.
 6. Chaves N., Escudero J. C., Gutierrez-Merino C. Role of ecological variables in the seasonal variation of flavonoid content of *Cistus ladanifer* exudates // *Journal of Chemical Ecology*. 1997. V. 23, №. 3. P. 579 – 603.
 7. Riipi M., Ossipov V., Lempa K., Haukioja E., Koricheva J., Ossipova S., Pihlaja K. Seasonal changes in birch leaf chemistry: are there trade-offs between leaf growth and accumulation of phenolics? // *Oecologia*. 2002. V.130. P. 380 – 390.
-

УДК 633.11:577.1

ФЕНОЛОКСИДАЗА СЕМЯН ПШЕНИЦЫ, ЕЕ ИНГИБИТОРЫ И АКТИВАТОРЫ

Бабицкий А.Ф.

Славянский Университет, Кишинев, Молдова, babandre@mail.ru

Одним из самых древних ферментов является класс родственных медьсодержащих ферментов, которые катализируют окисление фенол-подобных молекул, т. е соединений, которые имеют гидроксильные группы, прикрепленные к ароматическому кольцу, до уровня соответствующих хинонов с их последующей полимеризацией в меланины. Некоторые из этих энзимов, присутствующих во всех живых организмах, такие как тирозиназа, монофенолоксидаза, дифенолоксидаза или катехолаза получили название по своей специфичности к тем субстратам, которые они окисляют и в обобщенном виде именуются как *полифенолоксидаза* (ПФО). Продукт действия монофенолоксидазы и тирозиназы - меланин явился первичной матрицей, на которой зарождалась жизнь на земле.

У растений ПФО участвует в синтезе пигментов и в иммунном ответе на микробную, грибную и нематодную инфекцию. Что касается вирусной инфекции, то пока нет полной ясности защитного участия ПФО. Синтез фенольных субстратов и самого энзима усиливается в ответ на заражение тлями, гусеницами и насекомыми. Все покровные ткани, как растений, так и их семена имеют активную ПФО, промежуточные полупродукты которой инактивируют пищеварительные ферменты вредителей и сшивают

их в меланин - белковый комплекс. Перикарп семян мягкой пшеницы инкрустирован как ферментами ПФО класса, так и субстратами этих ферментов полифенолами и представляет высокоактивную защитную систему против различных инвазий. В свою очередь для внедрения в семена пшеницы различные патогенные виды организмов содержат ингибиторы этого фермента.

Поэтому представляет особое значение выявление различных классов как неорганических, так и органических соединений, блокирующих активность фермента ПФО. ПФО пшеницы имеет не практическое значение в селекции на устойчивость растений к неблагоприятным факторам среды, но большое значение на пищевое качество зерна. При приготовлении теста и выпечке хлеба активируется ПФО и продуцируемые ею хиноны взаимодействуют с концевыми и боковыми аминокислотами белков инактивируя эти аминокислоты. Инактивируется незаменимая аминокислота лизин и такой хлеб становится неполноценным и дефицитным по лизину. Это наиболее сильно выражено у злаков с высокой ПФО активностью, как например у ржи. Питание ржаным хлебом тормозит рост детей и ингибирует развитие нервной системы. Это особенно актуально при питании растительной пищей. В Индии у высокоурожайного мексиканского сорта Сонора, дающего серый дефицитный по лизину хлеб, путем мутагенеза инактивировали ген ПФО, локализованный в 2D хромоsome и получили сорт Шарбати Сонора с белым хлебом и высоким питательным качеством. Наибольшая активность ПФО в перикарпе проявляется у семян ржи, затем следует тритикале и, наконец, семена мягкой пшеницы. Семена твердой пшеницы не проявляют фенолоксидазной активности и при действии фенола меланина не образуют и выглядят белыми.

В данной статье приводятся данные исследования фенолазы путем наблюдения процесса образования меланина в перикарпе прораставших в воде в течение суток семян пшеницы под действием паров 1% водного раствора фенола. Исследования активности ПФО проводились на семенах мягкой пшеницы сорта *Куяльник* урожая 2013 года. Семена в количестве 10 штук сутки выдерживались в бюксах на 20 мл в 2 мл указанных ниже растворов, приготовленных на 0,05M фосфатном буфере pH 7,4 и затем вынимались и ложились на влажные диски фильтровальной бумаги в нижнюю часть чашек Петри, а в верхнюю половину помещались диски фильтровальной бумаги, пропитанные 1% водным раствором фенола. Чашки закрывались и семена оказывались в атмосфере паров фенола. Инкубация

производилась в течение 4 – 24 часов при комнатной температуре. Образовавшиеся на поверхности семян меланин измерялся как визуально, так и микрохимически [1] либо целые семена фотографировались цифровой фотокамерой и фотоснимки переносились в память компьютера. После инкубации в парах фенола семена сохраняют жизнеспособность и пригодны для посадки в землю для получения потомства.

В доступной нам литературе весьма скудно освещены ингибиторы фермента ПФО. Пока известно, что он ингибируется тиомочевинной, фенилтиомочевинной и койевой кислотой. Поэтому нами проведен широкий скрининг иных химических соединений, обладающих ингибиторной функцией. При этом нами найдены новые высоко активные ингибиторы: – рубеановодородная кислота и 8-оксихинолин, являющиеся мощными комплексообразователями катиона меди в активном центре фенолазы; 4-гидроксифенил арсоновая кислота, азотнокислый цирконий, используемый в кожевенном производстве, как дубитель и отбеливатель тонких и наиболее ценных сортов кожи. Особое внимание заслуживает обнаружение высокой ингибиторной активности у молекулы 2-метил-1,3-циклопентандиона, существующей в нескольких таутомерных формах и представляющей собой молекулу в устойчивом енольном состоянии. Дальнейшее изучение механизма ингибиторного действия этого соединения может быть перспективным в выяснении строения и механизма действия молекулы фермента ПФО.

В настоящее время на основе 2-метил-1,3-циклопентандиона, путем замены метильной группы на другие радикалы создан новый класс гербицидов, а в медицине созданы модуляторы активности специфических к различным белкам протеинокиназ, активирующихся в опухолях различной этиологии и раковой ткани человека. Что касается 4-гидрокси арсоновой кислоты, то в настоящее время известно, что путем ее нитрования в мета – положение фенильного кольца создан широко используемый в США усилитель накопления биомассы при откорме бройлеров, индеек и свиней, а также увеличения яйценоскости курей на птицефабриках. Механизм действия –увеличение деления клеток и замедления их дифференцировки и недоразвития координации движения. Вся животноводческая продукция США пропитана этим стимулятором, что возможно является акселерацией американского населения по росту и одновременным снижения его интеллектуального состояния, из которого и избирается такое же правительство США.

В настоящее время в Америке весь интеллектуальный и научный потенциал это эмигранты из других стран. Высокая ингибиторная активность гетероциклического фенола 8-оксихинолина может быть объяснена его комплексированием с атомом меди, входящим в активный центр ПФО. Вторым сильным комплексообразователем меди является рубеановодородная кислота [2], которая показала абсолютную ингибирующую способность при ее концентрации 5 мг/мл и дифференцирующую активность при выявлении топологии содержания ПФО по поверхности зерновки пшеницы при концентрации 1 мг/мл

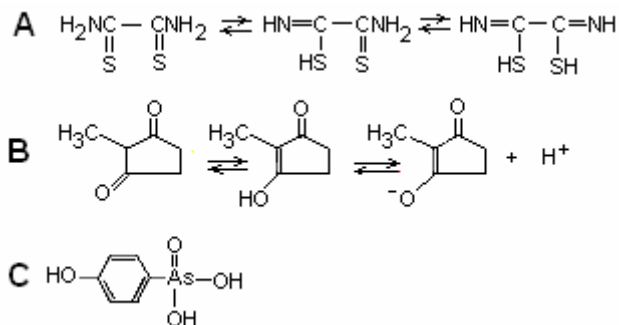


Рис. 1. Таутомерные формы: А - рубеановодородной кислоты, В - 2-метил-1,3-циклопентандиона; С - 4-гидроксифкниларсоновая кислота.

При этом наблюдалось ингибирование наклевывания зародыша и прилегающая к зародышу поверхность зерновки была намного сильнее ингибирована и выглядела более светлой, чем дистальная более темная часть зерновки, а находящийся на ней хохолок с волосками также выглядел более светлым и более сильно ингибировался, либо там вовсе нет ПФО (Рис. 2). Это позволяет использовать ингибитор рубеановодородную кислоту для выявления поверхностной неоднородности содержания ПФО на перикарпе зерновок пшеницы.

Учитывая известные сведения, что наркотики ослабляют иммунитет к вирусным заболеваниям, в частности к СПИДу. Вполне возможно, что ПФО растений также защищает растения и к вирусным заболеваниям и поэтому может как то модифицироваться наркотиками. Поэтому вторым направлением наших исследований было изучение влияния общепринятых в медицине обезболивающих веществ, по своей сути, являющихся слабыми наркотиками на активность ПФО, используя для этого тест-систему с зерновками пшеницы



Рис. 2. Специфика ингибирования активности полифенолоксидазы у семян мягкой пшеницы сорта *Куяльник* с помощью рубеоановодородной кислоты в зависимости от ее концентрации, слева: 5 мг/мл, в центре: 1 мг/мл, справа: контроль, без ингибитора

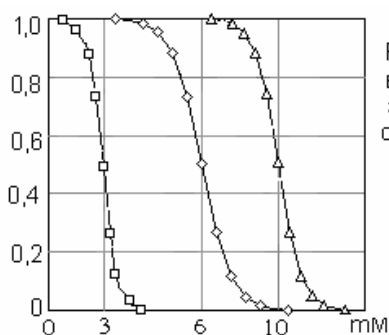


Рис. 3 Влияние обезболивающих веществ класса наркотиков на активность полифенолоксидазы семян пшеницы, где: —□— Левамизол —◇— Папаверин, —△— Дротаверин.

На примере модельной тест-системы ПФО семян пшеницы изучены доступные нам из аптеки ампулы медицинских обезболивающих препаратов: природный алкалоид мака папаверин и его синтетический аналог дротаверин или Но-шпа. Третьим веществом был взят левамизол или декарис, описанный в фармации как иммуномодулятор, применяемый также как легкий, преимущественно детский, антигельминтный препарат. Наши пилотные исследования обнаружили значительный ингибирующий эффект вышеуказанных веществ на активность ПФО и, следовательно, и на активность меланиногенеза в ответ на инфекционную инвазию чужеродных организмов.

Ввиду прикладной важности этих исследований нами была

изучена зависимость ингибиторной активности наркотических веществ от их концентрации. Результаты представлены на Рис. 3. По оси абсцисс представлена действующая концентрация, наркотиков, а по оси ординат активность ПФО по степени образования меланина в единицах оптической плотности Е.

Полученные результаты показывают, что указанные обезболивающие вещества ингибируют меланиногенез. Наиболее сильным ингибитором активности ПФО оказался левамизол или декарис. До концентрации 0,5 mM левамизол не влияет на активность фенолазы и семена полностью окрашиваются в черный цвет, затем по мере повышения концентрации левамизола активность фенолоксидазы уменьшается по сигмоидальному закону, достигая 50% ингибирования при концентрации 3 mM и полного ингибирования образования меланина при достижении 4 mM. Далее по ингибиторной активности следует один из компонентов опиума: - папаверин и затем его синтетический аналог дротаверин (Но-шпа). Функциональная зависимость ингибиторной активности наркотиков и концентрации 50% ингибирования фенолоксидазы эндосперма пшеницы представлена на Рис.2. Исходя из полученных результатов необходимо отметить высокую ингибиторную активность левамизола на меланиногенез и его высокую опасность применения в медицине и особенно в качестве детского препарат.

Меланиногенез в организме животных является одним из важнейших процессов, обеспечивающих нормальную работу иммунной системы.

Вторая важная функция меланина, в том, что он является полимерной матрицей, в которую погружены тела (сомы) нервных клеток. Так построена кора головного мозга, ганглии вегетативной нервной системы и ретина глаза. В этих образованиях происходит обмен и переработка информации между нервными клетками, погруженными в меланин, где меланин проявляет себя как изолятор и, до настоящего времени не совсем изученные в медицине, но хорошо доказанные в физической химии, полупроводниковые свойства. Пока же становится ясно, что, на примере нервных клеток, погружение клеток в меланиновую матрицу позволяет этим клеткам действовать как единое целое, что возможно и объясняет синтез меланина в инфицированной растительной ткани и участие ПФО в иммунитете растений. Что касается стимуляторов активности ПФО семян пшеницы, то нами найдено, что присутствие анионов фосфата в растворе для замачивания семян по сравнению с чистой водой в некоторой степени усиливает ПФО активность в перикарпе семян, что

позволяет предположить, что для действия ПФО необходима активация в семенах фосфорилирования с синтезом АТФ либо в процессе гликолиза или в митохондриях. Вторым активатором ПФО является сульфат меди в концентрации 1 мг/мл, что позволяет считать, что в полевых условиях растения пшеницы испытывают дефицит по микроэлементу меди и многие синтезированные молекулы ПФО не укомплектованы в своем активном центре необходимыми атомами меди. Также обнаружено, что присутствие парацетамола в растворе для замачивания семян усиливает ПФО активность в перикарпе семян пшеницы. Объяснения этому явлению пока не найдено.

Итак, нами разработан метод массового отбора семян пшеницы по фенолазной активности. Найдены новые ингибиторы ПФО семян пшеницы, среди которых комплексоны атомов меди рубеановодородная кислота и 8-оксихинолин; азотнокислый цирконий, молекула в стабильной енольной форме: 2-метил-1,3-циклопентандион, иммуномодулятор левамизол и слабые наркотические вещества папаверин и дротаверин. Показано, что рубеановодородная кислота позволяет выявлять поверхностную неоднородность содержания фермента ПФО по поверхности перикарпа зерновки пшеницы. Из наркотиков наиболее сильный ингибитор это левамизол. Рубеановодородная кислота позволяет выделять топографию распределения ПФО по поверхности зерновки. Наиболее высокое содержание ПФО находится в районе верхушки зерновки пшеницы и градуально уменьшается по направлению к зародышу. Предлагается использовать ПФО тест-систему из семян пшеницы для массового скрининга лекарственных препаратов на ингибиторную активность к ПФО.

Список литературы.

1. Тома З. Г., Бабицкий А. Ф. Полифенолоксидаза семян пшеницы как тест-система для изучения природы биологически активных соединений //Materialele Conferinței științifice internaționale (Ediția V) «Genetica, Fiziologia și Ameliorarea Plantelor», 23 - 24 Octombrie 2014, Chișinău, Moldova, 2014, P. 460 - 463.
 2. Thornburg L. P., Beissengerz M., Dolan M., Raisbeck M. F. Histochemical demonstration of copper and copper-associated protein in the canine liver // Veterinary Pathology, 1985, vol. 322, p. 327 – 332.
-

ДИНАМИКА НАКОПЛЕНИЯ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В РАЗЛИЧНЫХ ОРГАНАХ КРОВОХЛЕБКИ (*SANGUISORBA OFFICINALIS* L. (ROSACEAE) В ОНТОГЕНЕЗЕ

Бахтенко Е.Ю.¹, Курапов П.Б.²

¹Вологодский государственный университет, Россия, 160035, Вологда, ул. Ленина, 15, тел. +7(911)508-40-07, e-mail: bakhtenko@yandex.ru

²Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И.Пирогова, Россия, 117997, Москва, ул. Островитянова, д. 1, тел. +7(916)255-78-99, e-mail: kurapoff@mail.ru

В литературе¹ имеются данные о высоком содержании фенольных соединений (танины, фенолы и фенолкарбоновые кислоты, флаваноиды), а также сапонинов, стеролов и терпеновых гликозидов в кровохлебке лекарственной (*Sanguisorba officinalis* L.). Содержание фенольных соединений в растении зависит от места произрастания, климатических, генетических факторов и почвенных условий, а также изменяется в зависимости от органа и периода вегетации.

Для пойменных лугов европейской части России описана стержнекорневая короткокорневищная форма с хорошо развитым каудексом. Этот вид представляет собой мезофит, гемикриптофит, обитающий на суходольных и заливных, иногда солонцеватых лугах, в луговых степях, по опушкам, берегам водоемов. На пойменных лугах по берегам водоемов иногда образует сплошные заросли этого растения.

С целью поиска новых природных источников и разработки технологии получения перспективных Р-витаминных лекарственных средств нами была изучена динамика накопления суммы растворимых фенольных соединений и отдельно флавоноидов в органах кровохлебки лекарственной. Сырье кровохлебки заготавливалось в двух различных по своим экологическим показателям природных ценопопуляциях, расположенных в пойме реки Кубена (пос. Нижне-Кубенский Харовского района Вологодской области).

Ценопопуляция 1 (ЦП1) - песчано-каменистый участок прирусловой поймы площадью около 3000 м² хорошо увлажненный и освещенный. Микрорельеф — равнинный. Кровохлебки - до 8-10%. В составе фитоценоза преобладают также *Leucanthemum vulgare* Lam., *Cyanus jacea* L.; ПП 2-5% имеют *Astragalus danicus* Retz., *Anthyllis macrocephala* Wend., *Sedum acre* L., *Dactylis glomerata* L. Для прирусловой поймы характерен глубокий уровень залегания грунтовых вод. Почвы здесь песчаные, хорошо

аэрируемые. В прирусловой полосе интенсивно откладывается наилок.

Ценопопуляция 2 (ЦП2) расположена на второй надпойменной террасе правого берега реки Кубены. Участок суходольного луга, подвергающийся сукцессии, интенсивно использовавшийся под покос и неактивный выпас животных частных подворий. Этому участку свойственно значительное застойное увлажнение, почвы здесь илистые, суглинистые и уплотненные. Общая площадь участка - около 800м². Кровохлебки - до 15-20%. Доминирующие виды - *Alchemilla vulgaris* L., *Hieracium umbellatum* L.; ПП 1-3% имеют *Dactylis glomerata* L., *Pimpinella saxifrage* L., *Leucanthemum vulgare* Lam., *Festuca pratensis* L., *Trifolium repens* L., *Festuca ovina* L., *Bromopsis inermis* (Leyss) Holub., *Taraxacum officinale* L.

В процессе вегетации отбирались пробы растительного сырья кровохлебки лекарственной, произрастающей в условиях этих двух ценопопуляций. Для исследования были выбраны ключевые фазы развития растений (вегетация, бутонизация, цветение и плодоношение).

Концентрацию растворимых фенольных соединений и флаваноидов в отобранных пробах определяли спектрофотометрическим методом по известной методике². Содержание фенолов анализировалось в различных органах кровохлебки: корневища с корнем, листья, стебли, соцветия.

Нами установлено, что содержание растворимых фенольных соединений варьирует в широких пределах от 10 до 100 мг/г сухой массы. Максимальное количество фенолов содержится в корнях и корневищах (80 – 100 мг/г). Уровень растворимых фенолов в листьях кровохлебки довольно высок (50 – 80 мг/г), в стеблях фенолов несколько меньше (30 - 55 мг/г). Уровень флаваноидов в различных органах кровохлебки лекарственной колеблется в пределах от 10 до 40 мг/г сухой массы. Флаваноидные соединения в основном сконцентрированы в корнях, корневищах и листьях растений.

Такое высокое содержание биологически активных фенольных соединений в листьях и стеблях позволяет использовать для заготовки в качестве лекарственного сырья кровохлебки не только корни и корневища, но и надземную часть растения.

Полученные нами данные по динамике накопления биологически активных фенолов по фазам развития позволяют выбрать оптимальные сроки сбора лекарственного сырья. Максимальное содержание биофлаваноидов и других фенольных

соединений наблюдается в стадии плодоношения. Однако, и в другие периоды (бутионизация и цветение) содержание этих соединений в растительном сырье довольно высокое.

Мы не выявили существенных отличий в содержании фенольных соединений в растениях кровохлебки, произрастающих в двух различных ценопопуляциях, тем не менее в целом содержание этих биологически активных соединений выше у растений, выращенных на более благоприятных почвах притеррасной поймы.

Список литературы.

1. Shuang Zhang, Xin Liu, Zi-Long Zhang, Lu He, Zhe Wang and Guang-Shu Wang. Isolation and identification of the phenolic compounds from the roots of *Sanguisorba officinalis* L. and their antioxidant activities. *Molecules* **2012**, 17, 13917-13922.
2. Запрометов М. Н. Основы биохимии фенольных соединений / Учеб. пособие. – М.: Высшая школа, 1974. – 214 с.

УДК 577.122:633.11

ВЛИЯНИЕ АЗП НА КАДМИЙ-ИНДУЦИРУЕМУЮ ЛОКАЛИЗАЦИЮ ЛИГНИНА И СУБЕРИНА В КОРНЯХ ПШЕНИЦЫ

Безрукова М.В., Лубянова А.Р., Шакирова Ф.М.

ФГБУН Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра
Российской академии наук, Уфа, Россия, тел. +7 347 2356088, e-mail:
lectin@anrb.ru

Известно, что важную роль в защите корней и в целом растений от поступления в них токсических ионов играет укрепление эндо- и экзодермального апопластных барьеров. У растений-исключателей аккумуляторами тяжелых металлов являются отдельные ткани корня: эндодерма и перицикл, а при нелетальных концентрациях наибольшая часть кадмия локализуется в ризодерме и коре [1]. В предыдущих исследованиях нами выявлено быстрое кадмий-индуцированное обратимое увеличение содержания АБК, предшествующее накоплению АЗП в корнях пшеницы, сопровождающееся усилением экскреции этого лектина в окружающую среду, обусловленное его АБК-регулируемым новообразованием [2]. Это отразилось на специфическом для лектина пшеницы усилении отложения лигнина в предобработанных АЗП и подвергнутых действию ацетата кадмия

клеточных стенках базальной части корней проростков, что способствовало их укреплению и торможению проникновения токсических ионов в сосуды ксилемы и далее в побег, при этом кадмий выявлялся только в ризодерме и наружных слоях первичной коры.

Очевидно, что принципиальную роль в выполнении антистрессовой функции АЗП играет его локализация. Сопоставление результатов по количественному содержанию АБК и АЗП в корнях проростков пшеницы при воздействии кадмия и их иммуногистохимической локализации показало, что накопление лектина в корнях пшеницы под влиянием кадмия привело к увеличению его иммуногистохимической локализации преимущественно в клетках ризодермы, перицикла, сосудах мета- и протоксилемы, а также, хотя и менее интенсивно, к накоплению в клетках первичной коры и сосудистой паренхимы [3]. При этом обнаружена колокализация АЗП и АБК, выявленная нами в тканях корней, подвергнутых воздействию кадмия, иллюстрирующая вовлечение лектина в спектр АБК-контролируемых защитных реакций растений пшеницы на стресс. Иммуногистохимическое распределение АБК и АЗП при этом преимущественно выявлялось в области ризодермы, клетках первичной коры, а также перицикле и клетках сосудистой системы, однако характеризовалось меньшей иммунофлуоресценцией по сравнению с необработанными лектином корнями. Эти данные подтверждались полученными методом иммуноанализа результатами об уменьшении уровня кадмий-индуцированного накопления АБК в корнях предобработанных АЗП проростков в сравнении с необработанными АЗП. АЗП-индуцированное накопление лигнина, вероятно, способствовало ограничению передвижения токсических ионов в сосуды ксилемы и вдвое меньшему накоплению кадмия в побегах [2]. Цель данной работы заключалась в выявлении вовлечения под влиянием предобработки АЗП в спектр торможения поступления кадмия в корни пшеницы отложения в них лигнина и суберина.

Опыты по 7 ч влиянию 1мМ ацетата кадмия ($\text{Cd}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$) проводили на 7-суточных проростках пшеницы *Triticum aestivum* L. сорта Башкирская 26. Для этого 6-суточные проростки предварительно изолировали от эндосперма и выдерживали корнями в стаканах на смеси 2% сахарозы и 28 нМ АЗП в течение 24 ч. Контролем служили растения, инкубированные на растворе 2% сахарозы. Сегменты базальной части корней были зафиксированы в реактиве Чемберлена (формальдегид : уксусная кислота : 50% этанол объем/объем 5:5:90), которые затем

переносили в 30% этанол, промывали дистиллированной водой и нарезали поперечные срезы от руки безопасной бритвой. Лигнин и суберин были выявлены с использованием водного раствора берберина гемисульфата (0.1% вес/объем). Для усиления интенсивности флуоресценции срезы докрашивали в течение 15 мин толуидиновым синим (0.05% вес/объем) в 0.1 М фосфатном буфере, pH 5.6. Окрашенные срезы заключали в смесь 0.1% FeCl₃ / 50% глицерина и просматривали с помощью конфокального микроскопа (LSM 510, Германия), с использованием комбинации фильтров BP 450-490/FT 510/LP 520 [4]. Для гистохимического исследования лигнина поперечные сечения корней в течение 3 мин окрашивали реагентом Визнера (5% раствор флороглюцина в 96%-ном этаноле) и обрабатывали 30% HCl в течение 5 мин [5]. Затем срезы корней исследовали с использованием флуоресцентного микроскопа (Keyence BZ-8100, Япония) в видимой области спектра (лигнин) и при возбуждающей 360/40 и поглощающей 460/50 длине волны после отражения через дихроичное зеркало при длине волны 400 (суберин).

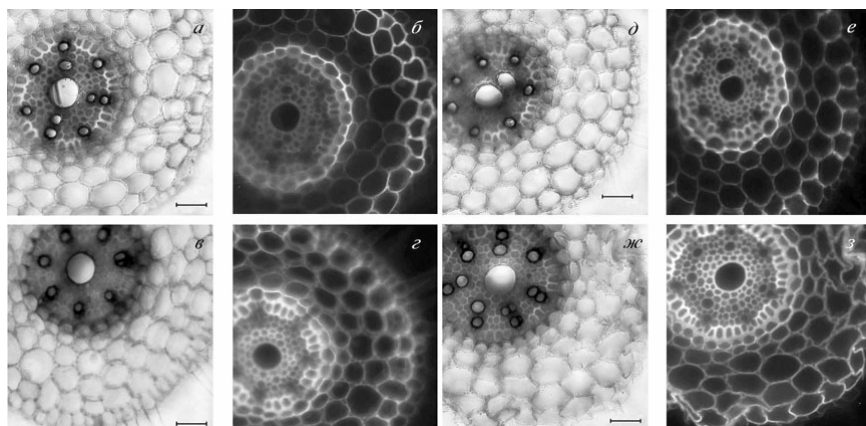


Рис. 1. Локализация лигнина (а, в, д, ж) и суберина (б, г, е, з) на поперечных срезах корней 7-суточных проростков пшеницы, окрашенных реагентом Визнера, в видимой и ультрафиолетовой области спектра соответственно. а, б – контроль; в, г - 7 ч 1 mM Cd; д, е - 24 ч предобработка АЗП; ж, з - 24 ч АЗП + 7 ч Cd. Масштабная линейка – 20 мкм.

На рис. 1а видно, что в корнях 7-суточных контрольных проростков происходила лигнификация клеточных стенок преимущественно в области центрального цилиндра: сосудов

метаксилемы (что свидетельствует об их дифференцированности) и внутренней тангентальной области эндодермы; менее интенсивно лигнин откладывался в оболочках паренхимы центрального цилиндра, а также ризодермы и экзодермы. Данные, представленные на рис. 1б, свидетельствуют о начале отложения суберина изнутри на клеточные стенки экзо- и эндодермы (внешняя область клеток суберинизировалась значительно, внутренняя тангентальная - слабее) и очень незначительно – перицикла. Ксилема, ксилемная паренхима, а также большая часть первичной коры были не суберинизированы.

Под влиянием 7 ч действия кадмия (рис. 1в) наряду с клетками метаксилемы дополнительное отложение лигнина наблюдалось в оболочках протоксилемы, лигнифицированный материал откладывался на суберинизированном U-образном утолщении эндодермы и внешней области ее клеток, меньшей степени лигнификации подвергались сильно суберинизированный перицикл и экзодерма (рис. 1в, г). Наиболее четко изменения в инкрустации лигнином и суберином можно обнаружить, сравнив корни контрольных (рис. 2а) и подвергнутых стрессу (рис. 2б) растений. Обработанные ацетатом кадмия корни пшеницы характеризовались интенсивной автофлуоресценцией утолщенной радиальной клеточной стенки экзо- и эндодермы, даже на этом фоне выявляя в ней пояски Каспари (рис. 2б).

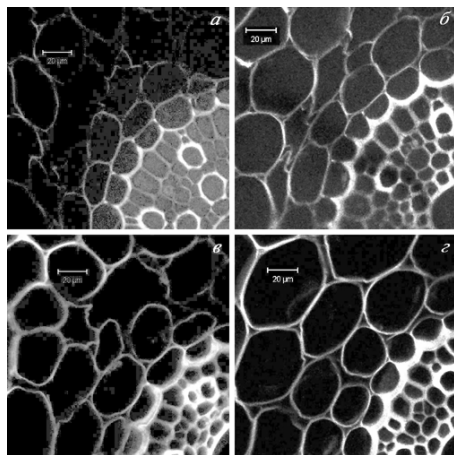


Рис. 2. Локализация лигнина, суберина и выявление поясков Каспари в экзо- и эндодерме на поперечных срезах корней 7-суточных проростков пшеницы, окрашенных берберина гемисульфатом / толуидиновым синим. а – контроль; б - 7 ч 1 мМ Cd; в - 24 ч предобработка АЗП; г - 24 ч АЗП + 7 ч Cd.

Предобработка АЗП оказывала предадаптирующее действие на растения и приводила не только к дополнительному отложению лигнина и суберина на оболочках эндодермы, а также к

усилению отложения суберина и лигнина в области экзодермы (рис. 1д, е). Ранее нами было выявлено, что наряду со снижением кадмий-индуцированного накопления АБК под влиянием АЗП, сама по себе предобработка АЗП вызывала накопление АБК, запускающее образование лигнина и суберина, которое происходило на фоне вызываемого АЗП ускорения роста и развития проростков. Такая активация образования лигнина под влиянием обработки АЗП в оболочках клеток центрального цилиндра и первичной коры способствовала укреплению клеточных стенок корней и ограничению вследствие этого поступления в растения токсических ионов кадмия [2].

Корни предобработанных АЗП растений в условиях кадмиевого стресса в отличие от обработанных только кадмием характеризовались суберинизацией клеточных оболочек всей экзодермы, не исключая пропускных клеток, и перицикла, а также дополнительной инкрустацией суберином ксилемной паренхимы (рис. 1ж, з и 2а). Специфическое окрашивание поперечных срезов корней для выявления суберина суданом III подтверждает полученные результаты (данные не представлены).

Таким образом, предобработка АЗП запускает процесс отложения лигнина и суберина (рис. 1д, е и 2а) посредством вызываемого этим белком накопления АБК [2], что связано с проявлением рост-стимулирующего влияния лектина на клетки корней. Вместе с тем такое воздействие лектина на растения пшеницы в норме вносит также важный вклад в проявление его защитного эффекта при стрессе. Под влиянием лектина при стрессе выявлена инкрустация лигнина и суберина в клеточных стенках корней в критических местах экзо- и эндодермального апопластного барьеров, особенно в области поясков Каспари (рис. 1ж, з и 2а), что отразилось в торможении поступления кадмия в центральный цилиндр и далее в побег и в поддержании интенсивности ростовых процессов этих проростков, по крайней мере, на уровне контроля.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке гранта РФФИ № 14-04-00731.

Список литературы.

1. Серегин И.В., Иванов В.Б. Физиологические аспекты токсического действия кадмия и свинца на высшие растения // Физиология растений. 2001. Т. 48. С. 606-630.
2. Безрукова М. В., Фатхутдинова Р. А., Лубянова А. Р., Мурзабаев А. Р., Федяев В. В., Шакирова Ф. М. Участие лектина в формировании устойчивости пшеницы к токсическому действию кадмия // Физиология

-
- растений. - 2011. - Т. 58. - С. 907-914.
3. Безрукова М.В., Мурзабаев А.Р., Шакирова Ф.М. Коиммунолокализация АЗП и АБК в связи с устойчивостью пшеницы к токсическим ионам // Материалы Международной научной конференции «Физиология растений — теоретическая основа инновационных агро- и фотобиотехнологий». Калининград: Аксиос, 2014. Часть II. С. 58-60.
 4. Junghans U., Langenfeld-Heyser R., Polle A., Teichmann T. Effect of auxin transport inhibitors and ethylene on the wood anatomy of poplar // Plant Biology. 2004. V. 6. P. 22–29.
 5. Xu L., Zhu L., Tu L., Liu L., Yuan D., Jin L., Long L., Zhang X. Lignin metabolism has a central role in the resistance of cotton to the wilt fungus *Verticillium dahliae* as revealed by RNA-Seq-dependent transcriptional analysis and histochemistry // J. Experimental Botany. 2011. V. 62. P. 5607–5621.
-

ФЕНОЛЬНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ ЧЕМЕРИЦЫ ЛОБЕЛЯ (*VERATRUM LOBELIANUM* BERNH.) В ПОВЫШЕНИИ ВСХОЖЕСТИ ТВЕРДЫХ СЕМЯН БОБОВЫХ ТРАВ

Бекузарова С.А., Кцоева М.С.

Горский ГАУ, Владикавказ, Северная Осетия-Алания, bekos37@mail.ru

В ряде работ исследователей по вопросу предпосевной обработки семян по зерновым, кормовым и техническим культурам [1,2,3] отсутствуют экологически безопасные методы предпосевной обработки семенного материала.

В последние годы стали использовать экстракты различных растений как экологически безопасные стимуляторы повышения всхожести семян [4,5,6]. При таких способах требуются дополнительные микроэлементы, стимулирующие азотфиксацию клубеньковых бактерий бобовых трав.

Семена многих бобовых трав, имеют твердую, непроницаемую для воды и воздуха оболочку. Механическое повреждение семян (скарификация) – один из методов увеличения всхожести семян. Такой метод повышает жизнеспособность и высокопродуктивность растений, создающих мощную корневую систему и образование генеративных органов.

При скарификации семена теряют свою герметичность и приобретают способность нормально набухать и всходить. Этот метод обеспечивает непрерывное улучшение травостоя, благодаря систематически появляющимся молодым растениям прорастающих твердых семян, что особенно важно для бобовых трав, подсеваемых на деградированных пастбищах.

Скарифицированные семена увеличивают всхожесть с 60 до 90 % [6].

С целью снижения твердости семян, повышения всхожести и азотфиксации бобовых растений, в опыте использовали семена дикорастущих видов бобовых трав, произрастающих на разных горных высотах (клевер, люцерна, эспарцет, козлятник, астрагал и другие виды).

В качестве стимуляторов применяли борсодержащую минеральную воду «Кармадон», в которой выдерживали семена при экспозициях 8-10 часов.

Минеральная вода «Кармадон» содержит: бор -300 мг/л (в виде борной кислоты), литий 26 мг/л, стронций -7 мг/л, фтор-4,5 мг/л, йод- 0,9 мг/л, бром -9,5 мг/л, железо 29 мг/л- кремниевую кислоту-105мг/л. Исследуемые источники в Кармадоне являются термальными, температура которых достигает 60⁰ С. По санитарным признакам и нормам в некоторых минеральных водах Республики Северная Осетия – Алания борные соединения должны быть не более 5 мг/л (при условии приема внутрь организма человека) Исследуемые воды используются в качестве лечебных ванн.

Обычно в производственных условиях борная кислота применяется как активатор азотфиксирующей способности клубеньковых бактерий бобовых трав.

Чемерица Лобеля (*Veratrum lobelianu* Bernh) из семейства Лилейных, содержит фенольные соединения: алкалоиды, гликозиды, дубильные вещества, смолы, аминокислоты, жирные масла, витамины.

Извлеченный сок (пасока) чемерицы из растущих растений (многолетнее растение, произрастающей в Европейской части планеты, в Сибири и на Кавказе), растворяют в борсодержащей минеральной воде в концентрации 0,1 % от общего объема минеральной воды. В раствор опускают семена бобовых трав с твердой оболочкой (клевер, люцерна, эспарцет и др.) на 8-10 часов. Содержащиеся в воде макро- и микроэлементы являются стимуляторами роста. Содержащиеся в чемерице гликозиды и алкалоиды в комплексе с теплой минеральной водой размягчают твердые семена и одновременно обогащают их питательными веществами, создавая благоприятные условия для прорастания. Особенно это важно при подсеве трав на деградированных пастбищах, где отмечено выпадение ценных кормовых бобовых трав.

При замачивании семян в течение 8-10 часов происходит миграция продуктов их гидролиза из эндосперма к зародышу. Это

следствие повышения в семенах активности ферментов, как тех, которые обуславливают этот распад, так и тех, которые участвуют в процессах образования новых, жизненно необходимых соединений и микроэлементы способствуют улучшению обмена веществ в семенах и тем самым усилению активности зародыша.

Из результатов исследований следует, что всходы, появились на 3 дня раньше контроля, на варианте при замачивании в минеральной воде в смеси с чемерицей при экспозиции 8-10 часов. При таких параметрах способа обеспечивается максимальный процент выживаемости. (75%), а твердосемянность снижается с 15 до 7-8%.

Следовательно, без дополнительных затрат с использованием минеральной воды и произрастающей на участке растений чемерицы Лобеля, можно расширить ассортимент фитостимуляторов роста растений, содержащих фенольные соединения, и восстановить деградированные пастбища.

Список литературы.

1. Бзиков М.А., Бекузарова С.А., Мисик Н.А. и др. Способ предпосевной обработки семян. Патент на изобретение №2317669 от 27.02.2008. МПК АО1С 1/06, С 12 N 1/00.
2. Бекузарова С.А., Гриднев Н.И. Кшникаткина А.Н. Способ предпосевной обработки семян нектаропродуктивных культур. Патент на изобретение №2351113 от 10.04.2009 МПК АО1С 1/00, АО1N59/06, С05D 9/00.
3. Фарниев А.Т., Козырев А.Х, Герасименко М.В. и др. Способ инокуляции семян люцерны. Патент №2167509 от 27.05.2001 г. МПК АО1С 1/00, АО1С1/00
4. Байкалова Л.П. Табаков Н.А. Кожухова Е.В. Патент на изобретение №2523294, опубликован 20.07.2014, МПК А01С1/00
5. Жеруков Б.Х., Ханиева И.М., Ханиев М.Х и др. Способ предпосевной обработки семян люцерны. Патент на изобретение №2479974 от 24.02.2013. МПК АО1С1/00, АО1N65/00.
6. Бекузарова С.А., Гасиев В.И. Цомартова Ф.Т., Луценко Г.В. Патент на изобретение № 2528436, опубликован 20.09.2014 МПК А01N65/00, А01С1/00 Fenolnyc of connection of chemerisa of Lobel (Veratrum Lobelianu Bernh.) increase viability of firm seed bean o torah.
7. Bekuzarova S.A. Ktsoyeva M.S. -Gorsky State Agriculture University, Vladikavkaz

ДИНАМИКА СОДЕРЖАНИЯ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В КАЛЛУСНЫХ КУЛЬТУРАХ КЛЮКВЫ

Березина Е.В., Гаранина Ю.Д., Патунина А.С., Брилкина А.А.

ФГАОУ ВО "Нижегородский государственный университет им. Н.И.

Лобачевского", Нижний Новгород, Россия, 8(831)4623208,

berezina.kat@gmail.com

Культуры клеток растений служат модельными системами для выяснения ряда особенностей вторичного метаболизма. Кроме того, они могут иметь большое практическое значение для получения биологически активных веществ (БАВ). Известно, что синтез БАВ каллусными культурами зависит от минерального, гормонального состава питательной среды, условий освещения и возраста каллуса [1].

Фитогормоны, как и аминокислоты и элиситоры, могут играть роль регуляторов работы ферментов [2]. Данные по влиянию экзогенных гормонов на процессы вторичного синтеза в разных культурах весьма противоречивы [3]. Поэтому целью работы было выявить влияние гормонального состава среды и возраста каллусов на содержание в них фенольных соединений. Объектами исследования явились каллусные культуры клюквы болотной (*Oxycoccus palustris* Pers.) и крупноплодной (*O. macrocarpus* (Ait.) Pers., сорта Ранний черный, Стивенс, Ховес).

Для получения каллусных культур использовали листья или черенки стерильных микрорастений, выросших из семян и пазушных почек интактных растений. При исследовании роли гормонов были испытаны 3 модификации питательной Андерсона: 1) α -нафтилуксусная кислота (НУК) и кинетин (Кин), 2) НУК и 6-бензиламинопурин (БАП), 3) НУК и 2-изопентениладенин (иП) (в концентрациях по 0.5 мг/л). Экспланты инкубировали при освещении в 3000 лк и температуре 25°C. Через 8 недель (т.е. после 0 пассажа) произвели оценку частоты каллусообразования. Содержание фенольных соединений в каллусах определяли спектрофотометрически (UV-1700 (Shimadzu)) по методикам М.Н. Запрометова [2] (сумма растворимых фенольных соединений (СРФС), катехины), G. Gunes, R.H. Liu и С.В. Watkins [3] (флавоноиды) и О.М. Khishova и G.N. Buzuk [4] (процианидины).

Выявлена различная реакция каллусообразования клюквы болотной и крупноплодной на содержание в среде разных цитокининов: для клюквы болотной максимум был отмечен в варианте с НУК/Кин (84%), тогда как для клюквы крупноплодной,

наоборот, минимум; высокая частота каллусообразования у сортовой клюквы показана в варианте с НУК/иП (до 88%).

Суммарное содержание растворимых фенольных соединений после 0 пассажа варьировало в пределах от 3 до 13 мг/г сырой массы в зависимости от вида/сорта и гормонального состава среды. При дальнейшем пассировании (каждые 4 недели) содержание полифенолов, как правило, уменьшалось или имело соответствующую тенденцию.

В течение 4 пассажа анализ содержания исследуемых метаболитов проводили каждую неделю в течение 7 недель; кроме того, определяли динамику роста по сырой и сухой биомассе. Результаты такого исследования показали, что через неделю после пассирования уровень полифенолов становился до 7 раз меньше, чем в конце 3 пассажа. Особенно резко снижалось содержание фенольных соединений сложной структуры – флавоноидов (в т.ч. катехинов) и процианидинов. Затем биосинтетическая способность культур постепенно возрастала, достигая максимума к 5 неделе, после чего снижалась. Что характерно, на 5 неделю (реже на 4 или 6) приходился переход к стационарной фазе роста. В связи с полученными данными по динамике накопления биомассы и фенольных веществ перенос каллусов на свежую питательную среду в дальнейшем осуществляли каждые 5 недель.

Изучение биосинтетической активности каллусов в течение 7 недель также указало на видовые различия: наиболее интенсивное накопление полифенолов у клюквы болотной отмечено на среде с НУК/иП, а у клюквы крупноплодной – на среде с НУК/Кин.

К концу 8 пассажа (по истечении года с момента инициации каллусов) разброс значений в содержании СРФС составлял от 1 до 15 мг/г сырой массы, т.е. практически не отличался от такого после 0 пассажа. Немного снизилось максимальное значение для флавоноидов и катехинов. Однако, характеризуя фенольный метаболизм каждой из имеющихся линий в течение года исследования, можно заключить, что он оставался нестабильным. Отчасти это связано с изменением длительности пассажей, однако немаловажную роль может играть и появление нового клона или изменение удельного веса клона с определенным уровнем синтеза изучаемых веществ [1]. Генетическая же стабильность каллусных культур может быть достигнута через несколько недель или даже лет, и только после этого рекомендуется инициировать из наиболее перспективных линий суспензионные культуры [5], поэтому продолжение работ по исследованию содержания полифенолов в каллусах клюквы остается актуальным и имеет

большое фундаментальное и прикладное значение.

Работа поддержана грантом (соглашение от 27 августа 2013 г. № 02.В.49.21.0003 между МОН РФ и ННГУ им. Н. И. Лобачевского).

Список литературы

1. Острейко С.А., Попов Ю.Г. К изучению фенольного состава каллусной ткани яблони // Физиология растений. 1979. Т. 26, вып. 4. С. 696-702.
2. Урманцева В.В., Гаевская О.А., Карягина Т.Б., Баирамашвили Д.И. Влияние аминокислот как компонентов питательной среды на накопление протобербериновых алкалоидов в культуре клеток василистника малого // Физиология растений. 2005. Т. 52, №3. С. 438-442.
3. Величко Н.А. Научные основы индуцированного синтеза алкалоидов в клеточной культуре *Catharanthus roseus* L. (Don): Автореф. дисс. ... докт.техн.наук. Красноярск, 2004. 44 с.
4. Запрометов М.Н. Фенольные соединения и методы их исследования // Биохимические методы в физиологии растений / Под. ред. О.А. Павлиновой М.: Наука, 1971. С. 185-197.
5. Gunes G., Liu R.H., Watkins C.B. Controlled-atmosphere effects on postharvest quality and antioxidant activity of cranberry fruits // J. Agric. Food Chem. 2002. V. 50, №21. P. 5932-5938.
6. Khishova O.M., Buzuk G.N. Quantitative determination of procyanidins in hawthorn fruits // Pharmaceutical Chemistry Journal. 2006. V. 40, №2. P. 79-81.
7. Bourgaud F., Gavot A., Milesi F., Gontier E. Production of plant secondary metabolites: a historical perspective // Plant Sci. 2001. V. 161, iss. 5. P. 839-851.

УДК 577.13

ВОЗМОЖНЫЙ ВКЛАД ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В АНТИОКСИДАНТНУЮ СИСТЕМУ КЛЮКВЫ И БРУСНИКИ В ПРОЦЕССЕ ВЕГЕТАЦИИ

Брилкина А.А., Березина Е.В., Гаранина Ю.Д., Веселов А.П.

ФГАОУ ВО "Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского", Нижний Новгород, Россия, 8(831)4623208, annbril@mail.ru

Антиоксидантная система растительных клеток в большей степени, чем у животных, представлена низкомолекулярными антиоксидантами [1]. При этом важно отметить, что большинство из них синтезируются только в растениях и грибах, а для животных являются витаминами и биологически активными соединениями. К таким растительным антиоксидантам относятся разнообразные

фенольные соединения, каротиноиды, аскорбиновая кислота. Исследование уровня антиоксидантной активности в растениях в течение вегетационного периода важно как для понимания изменений в метаболизме клеток, так и для практических рекомендаций для сбора растительного сырья. Целью настоящей работы послужило определение антиоксидантной активности, уровня фенольных соединений, каротиноидов и аскорбиновой кислоты в листьях и ягодах клюквы и брусники.

Объектами исследования являлись растения клюквы крупноплодной, болотной и брусники обыкновенной. Сбор листьев проводили после схода снега (при набухании новых почек), в периоды цветения и плодоношения. Антиоксидантную активность растительных экстрактов проводили методом ORAC с использованием планшетного спектрофлуориметра Synergy MX (BioTek, USA) и выражали в мкМ тролокс-эквивалента [2]. Содержание фенольных соединений определяли спектрофотометрически (UV-1700 (Shimadzu, Япония)) по методикам М.Н. Запрометова [3] (сумма растворимых фенольных соединений (СРФС), катехины), G. Gunes, R.H. Liu и C.B. Watkins [4] (флавоноиды) и О.М. Khishova и G.N. Buzuk [5] (процианидины). Уровень каротиноидов оценивали спектрофотометрически в ацетоновой вытяжке [6], аскорбиновой кислоты по [7].

Согласно полученным результатам, максимальной антиоксидантной активностью обладали листья брусники во все периоды вегетации. Сезонная динамика антиоксидантной активности и уровня фенольных соединений в листьях клюквы обоих видов и брусники была сходной: высокие значения в периоды набухания почек и плодоношения и снижение при цветении, с разницей 1,5-2,5 раза. Однако если суммарная антиоксидантная активность в листьях всех трех видов была наибольшей весной, то уровень суммы фенольных соединений и содержание процианидинов достигали максимальных значений в осенний период (100 и 8 мг/г сырой массы соответственно), что говорит о более широких функциях фенолов в листьях, не ограничивающихся только антиоксидантным значением. Общее количество флавоноидов, в том числе и катехинов, для каждого вида в весенний и осенний период было примерно одинаково, а максимальное снижение их количества (в 4 раза) наблюдалось у клюквы болотной в период цветения.

Сезонная динамика уровня аскорбиновой кислоты в листьях растений клюквы болотной и брусники была сходной с таковой для фенольных соединений. Снижение содержания аскорбата в 3 раза происходило в период цветения по сравнению с таковым в периоды

набухания почек и плодоношения. Наиболее богатыми аскорбиновой кислотой оказались листья клюквы болотной, накапливающие до 1,6 мг аскорбата/г сырого веса. В листьях клюквы крупноплодной в течение периода вегетации происходило постепенное снижение количества аскорбиновой кислоты от 1 до 0,6 мг/г сырого веса.

Содержание каротиноидов в течение вегетации в листьях исследованных растений изменялось по-разному: у клюквы крупноплодной наблюдалось снижение концентрации каротиноидов от 0,6 до 0,32 мг/г сырого веса, у клюквы болотной она была практически неизменной (0,45-0,5 мг/г сырого веса), у брусники выявлено повышение их уровня в период цветения с 0,35 до 0,57 мг/г сырого веса. Значительное расхождение в характере изменений для общей антиоксидантной активности и уровнем каротиноидов, возможно объясняется тем, что их антиоксидантное действие распространяется только на хлоропласты и необходимо в периоды наибольшей солнечной активности, а именно в период цветения.

На основании полученных результатов можно предположить, что наибольший вклад в общую антиоксидантную активность листьев клюквы и брусники вносят фенольные соединения, сезонное изменение содержания которых сопоставимо с динамикой антиоксидантной активности.

Работа поддержана грантом (соглашение от 27 августа 2013 г. № 02.В.49.21.0003 между МОН РФ и ННГУ им. Н. И. Лобачевского).

Список литературы.

1. Меньшикова Е.Б., Ланкин В.З., Кандалицева Н.В. Фенольные антиоксиданты в биологии и медицине. Строение, свойства, механизмы действия. Lambert AP, 2012, 488 с.
2. Held P. Performing oxygen radical absorbance capacity assays with SynergyTMHT. Rev. 8/2005. 9 p.
3. Запрометов М.Н. Фенольные соединения и методы их исследования // Биохимические методы в физиологии растений / Под. ред. О.А. Павлиновой М.: Наука, 1971. С. 185-197.
4. Gunes G., Liu R.H., Watkins C.B. Controlled-atmosphere effects on postharvest quality and antioxidant activity of cranberry fruits // J. Agric. Food Chem. 2002. V. 50, №21. P. 5932-5938.
5. Khishova O.M., Buzuk G.N. Quantitative determination of procyanidins in hawthorn fruits // Pharmaceutical Chemistry Journal. 2006. V. 40, №2. P. 79-81.
6. Гавриленко В.Ф., Жигалова Т.В. Большой практикум по фотосинтезу Учеб. пособие для студ. вузов / Под. ред. И. П. Ермакова. М.:

-
- Издательский центр "Академия", 2003. 256 с.
7. Полевой В.В., Щипарев С.М. Практикум по биохимии растений. СПб.: Издательство С.-Петербургского университета, 1996. 200 с.
-

615.322:58.02:582.623.2

СОДЕРЖАНИЕ ПРОАНТОЦИАНИДИНОВ В КОРЕ ИВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ПРОТОЧНОСТИ УВЛАЖНЕНИЯ ПОЧВЫ

Бузук Г.Н., Кузьмичева Н.А.

Витебский государственный медицинский университет, Витебск,
Беларусь, 8-0212-370929, buzukg@mail.ru

Проантоцианидины - одни из самых интересных и важных для медицины представителей растительных полифенольных соединений. Их особенность заключается в том, что они обуславливают антиоксидантное, противовоспалительное, кровоостанавливающее, антимикробное, противоопухолевое, антигипоксическое и антисклеротическое действие лекарственного растительного сырья [1].

Эти соединения часто присутствуют в корнях и корневищах многолетних травянистых растений вместе с гидролизуемыми дубильными веществами, причем преобладают обычно последние. Из лекарственного растительного сырья, содержащего преимущественно проантоцианидины, следует назвать корневища лапчатки и корневища с корнями сабельника болотного. Оба эти вида предпочитают застойно-увлажненные местообитания, и это не случайно. Было установлено, что в этих условиях повышается доступность для растений ионов марганца, который активирует несколько ферментов, катализирующих превращения шикимовой кислоты в процессе биосинтеза проантоцианидинов. Обычно наибольшие количества легко доступного для растений Mn характерны для кислых и затопляемых почв [2]. Недостаток марганца чаще всего наблюдается на карбонатных, сильно известкованных дерново-подзолистых почвах, некоторых торфяниках и других богатых гумусом почвах, близких к нейтральным (рН около 6,0-6,5) [3].

Целью работы явилось изучение влияния проточности увлажнения на накопление проантоцианидинов в коре и листьях ивы прутьевидной и ивы пепельной.

Материалы и методы. В качестве материала для исследования использовались кора и листья ивы прутьевидной

(*Salix viminalis* L.) и ивы пепельной (*Salix cinerea* L.), произрастающих в естественных фитоценозах в Витебском районе. При выборе видов ив учитывали их экологические особенности. В монографии В.И. Парфенова и И.Ф. Мазана представлена шкала потребности ив в аэрации почв (в сторону увеличения): *S. cinerea*, *S. aurita*, *S. pentandra*, *S. rosmarinifolia*, *S. myrsinifolia*, *S. caprea*, *S. fragilis*, *S. triandra*, *S. alba*, *S. dasyclados*, *S. purpurea*, *S. viminalis*, *S. acutifolia* [4]. Виды, отобранные нами для анализа, занимают первое и предпоследнее место в этой шкале.

Были изучены 3 ценопопуляции ивы прутьевидной, две из которых находились в пойме р. Зап. Двина, а одна вне поймы, а также две ценопопуляции ивы пепельной, также различающиеся по степени проточности. В июне 2013 года в каждой из изученных ценопопуляций были взяты образцы коры и листьев с 5 нормально развитых побегов ивы. Сушка воздушно-тенева. Образцы хранились в бумажных пакетах в темном прохладном месте. Перед проведением анализа количественного содержания проантоцианидинов кору и листья отдельно измельчали, формируя средние пробы из каждой ценопопуляции, из которых брали по 2 навески сырья. Ценопопуляции нумеровали в направлении повышения уровня проточности увлажнения.

Количественное содержание проантоцианидинов в образцах ивы определяли спектрофотометрически по методике, описанной для корневищ с корнями сабельника болотного, адаптированной к исследуемому сырью [5].

Результаты собственных исследований. Полученные данные представлены в таблице.

Таблица.

Количественное содержание проантоцианидинов в коре и листьях ивы прутьевидной и ивы пепельной в экологическом ряду

№ ценопопуляции	Содержание проантоцианидинов, %			
	<i>Salix viminalis</i> L.		<i>Salix cinerea</i> L.	
	Кора	Листья	Кора	Листья
1	9,04 ± 0,18	1,21±0,03	10,06 ± 0,19	2,84±0,04
2	7,70 ± 0,11	1,09±0,02		
3	6,85 ± 0,24	1,04±0,02	8,87 ± 0,12	2,12±0,03

*Примечание: номера ценопопуляций увеличиваются с увеличением степени проточности увлажнения почвы

Наибольшее содержание проантоцианидинов обнаружено в коре ивы пепельной в ценопопуляции №1 (внепойменное местообитание с застойным типом увлажнения) – 10%. В коре особей ивы этого же вида из пойменной ценопопуляции содержание проантоцианидинов ниже 9%.

В коре ивы прутьевидной содержание проантоцианидинов изменяется аналогично: максимальное количество у особей из местообитания с застойным типом увлажнения (9%), у особей из пойменных ценопопуляций содержание проантоцианидинов около 7%. Та же тенденция сохраняется и в листьях обоих видов.

Таким образом, чем выше проточность увлажнения почвы, тем меньше проантоцианидинов накапливается в коре ив. Причем, если это показано для видов ив, занимающих крайние положения в экологической шкале потребности в аэрации почв, то вполне вероятно, что это характерно и для остальных видов этого ряда. Но данный вопрос требует дальнейших исследований.

Одно из возможных объяснений полученным результатам то, что в застойно-увлажненных условиях повышается доступность для растений ионов марганца, который необходим для биосинтеза флавоноидов.

Все вышесказанное необходимо учитывать при заготовке лекарственного растительного сырья *Salicis cortex*, выбирая для сбора местообитания с застойным типом увлажнения почв.

Список литературы

1. Ершик О.А., Бузук Г.Н. Антиоксидантная активность сабельника болотного *Comarum palustre* L. // Вестник фармации. - 2013. - № 3(61). - С. 81-85.
2. Кабата-Пендиас, А., Пендиас, Х. Микроэлементы в почвах и растениях: Пер. с англ. – М.:Мир, 1989. – 439 с., ил.
3. Петров Б.А., Селивертов Н.Ф. Минеральное питание растений. Справочник для садоводов и огородников – Екатеринбург, 1998. – 79 с.
4. Государственная фармакопея Республики Беларусь, В 3 т. Т 2, Контроль качества вспомогательных веществ и лекарственного растительного сырья / Министерство здравоохранения Республики Беларуси, УП «Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении»; под общ. ред. А.А. Шерякова. - Молодечно: Типография «Победа», 2009. – С. 350, 415-416.
5. Парфёнов В.И., Мазан И.Ф. Ивы (*Salix* L.) Белоруссии: Таксономия, фитоценология, ресурсы.- Мн.: Наука и техника, 1986.- 167 с.

ПОЛУЧЕНИЕ КАЛЛУСНЫХ КУЛЬТУР ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИ ЗНАЧИМЫХ ВИДОВ РАСТЕНИЙ *IRIS PSEUDOCORUS*, *ORNITHOGALUM UMBELLATUM*, *TAXUS BACCATA*

Булатова А.А., Шапчиц М.П., Корик Е.О., Семак И.В.

Белорусский государственный университет, Минск, РБ,
Bulatovan84@mail.ru

В настоящее время в Беларуси социально и экономически важным направлением в современной фармации является расширение ассортимента безопасных и эффективных лекарственных средств, создаваемых на основе местного сырья. Преимуществами препаратов природного происхождения является их высокая активность, биосовместимость, меньшее количество побочных явлений по сравнению с синтетическими продуктами. Химический синтез природных аналогов сопряжен с трудностями и зачастую очень дорогой [1]. Несомненную фармакологическую значимость представляют растения, произрастающие или интродуцированные на территории Беларуси, такие как ирис болотный (*Iris pseudocorus*), птицемлечник зонтичный (*Ornithogalum umbellatum*) и тис ягодный (*Taxus baccata*), являющиеся уникальными природными источниками соединений, проявляющих ярко выраженную антипролиферативную активность: изофлавоноидов (текторигенин), дитерпеновых алкалоидов (паклитаксел, доцетаксел) и стероидных сапонинов (OSW-1 и его производные) [2, 3, 4]. Однако получение фитосырья этих видов растений сопряжено с рядом трудностей: сезонностью, ограниченным ареалом произрастания, медленным ростом и др. Поэтому целесообразно использовать новый вид фитосырья – биомассу клеточных культур лекарственных растений.

В связи с этим целью работы было определение эффективных условий для стерилизации эксплантов из растений ириса болотного (*Iris pseudocorus*), птицемлечника зонтичного (*Ornithogalum umbellatum*) и тиса ягодного (*Taxus baccata*), а также исследование влияния гормонального состава среды на ростовые параметры каллусных культур, полученных из этих растений.

В качестве стерилизующих агентов были использованы 70 % C_2H_5OH , 0,001 % раствор $KMnO_4$, «Доместос» в разведении водой 1:1, 1:2, 1:3, а также растворы 1 %, 2 %, 3 % «Микроцид-Д». В качестве материала (эксплантов) для введения в культуру клеток *in vitro* использовались семена (ирис болотный), луковицы

(птицемлечник зонтичный) и однолетние побеги зимнего периода вегетации (тис ягодный). Экспериментально подобран оптимальный способ стерилизации для каждого из трех видов растений, при котором растительные ткани и семена получали наименьшие повреждения от стерилизующих агентов при достаточно высоком проценте неинфицированного растительного материала. Наилучшие результаты для получения стерильных и с максимальной всхожестью семян ириса наблюдались при замачивании в 1 % растворе «Микроцид-Д» в течение 24 часов и дальнейшей последовательной обработке семян 70 % этиловым спиртом (1 мин), 0,001 % раствором перманганата калия (15 мин), и раствором «Доместос» 1:2 с последующей пятикратной промывкой стерильной дистиллированной водой. Стерильные семена помещали в колбы с питательной средой Мурасиге и Скуга (МС) и проращивали в темноте при 24,5° С. После прорастания семян их переносили на свет в люминостат и культивировали при 20-22° С, освещенности 3000 лк и 16-часовом фотопериоде [5]. Через два месяца из полученных стерильных растений ириса вырезали участки стеблей, содержащие меристемную зону, и пересаживали на модифицированную питательную среду МС для индукции каллусогенеза.

Наиболее эффективным вариантом стерилизации побегов тиса оказался вариант с предварительной обработкой 3% р-ром «Микроцид-Д» (24 ч) и затем поэтапной обработкой 70 % C_2H_5OH (1 мин), 0,001 $KMnO_4$ (15 мин) и раствором «Доместос» в разведении водой 1:2 (30 мин). Эффективность стерилизации и выживаемость эксплантов составила 100 %. Подвергнутые стерилизации экспланты тиса помещали на питательную среду МС, содержащую 2,4-Д (1 мг/л), кинетин (0,1 мг/л), глицин 2 мг/л, а также сахарозу (30 г/л) и фитогель (3 %). Чашки со стерильными эксплантами помещали в термостат при температуре 24°С.

Максимально эффективный способ стерилизации лукович птицемлечника зонтичного был показан при предварительной обработке 3 % р-ром «Микроцид-Д» (48 ч) и затем поэтапной обработкой 70 % C_2H_5OH (1 мин), 0,001 % $KMnO_4$ (15 мин) и раствором «Доместос» в разведении водой 1:2 (30 мин). После проведенной стерилизации луковичы разрезали, выкладывали на индукционную среду МС с добавлением 2,4-Д (4 мг/л), а также сахарозы (30 г/л) и фитогеля (3 %). Инициацию каллусогенеза проводили в темноте при температуре 24°С.

Начало каллусогенеза наблюдалось для всех трех видов растений в среднем через 31 день. Полученный первичный каллус переносили на ростовую среду.

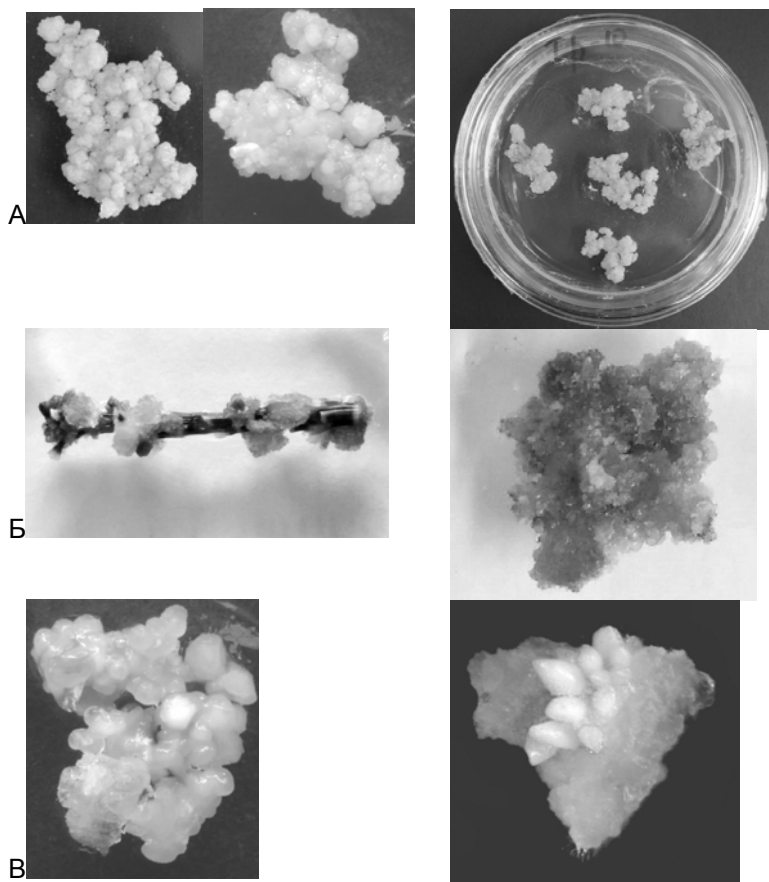


Рис. 1. Фото каллусных культур *Iris pseudocorus* (ириса болотного А), *Taxus baccata* (тис ягодный Б), *Ornithogalum umbellatum* (птицемлечник зонтичный В)

Для каждого вида растения было протестировано 5 вариантов сред, которые содержали минеральную основу и витамины МС, 30 г/л сахарозы и 20 г/л сахарозы (для культур тиса), 3 % фитогеля, 10 мг/л пролина (для культур ириса), 10 мг/л аскорбиновой кислоты (для культур тиса), и отличались по гормональному составу. Оптимальным вариантом среды для ириса, оказался вариант, содержащий 2,4-Д (1 мг/л), кинетин (0,25 мг/л) и БАП (0,125 мг/л). Каллус ириса имел среднеплотную консистенцию и желтую окраску. Средний индекс роста к 10

пассажу (время культивирования 28 суток) составил 1,37. Наилучшим вариантом ростовой среды для каллусной культуры тиса был вариант, содержащий 2,4-Д (2 мг/л) и кинетин (0,1 мг/л). Каллусная культура была рыхлая от светло-коричневого до темно-коричневого цвета. Средний индекс роста к 10 пассажу (время культивирования 21 день) составил 1,2. Для роста каллусов птицемлечника зонтичного была выбрана среда, содержащая НУК (4 мг/л) и 2,4-Д (2 мг/л), однако каллусная ткань была неоднородной и частично морфогенной. Средний индекс роста к 10 пассажу (время культивирования 28 суток) составил 1,5.

Список литературы

1. Tapas, A.R. Flavonoids as nutraceuticals: a review/ A.R. Tapas, D.M. Sakarkar, R.B. Kakde // Trop. J. Pharm. Res. – 2008. – Vol. 7, № 3. – P. 1189–1199.
2. Н.А. Орешко, Н.А. Бовдей, П.А. Киселев, Ле Мин Ха, Фам Куок Лонг, А.В. Барановский, Н.Б. Хрипач, Т.С. Хлебникова, Ф.А. Лахвич "Получение и характеристика антиоксидантной активности экстрактов *Iris dmestica* и их отдельных компонентов"//Труды БГУ 2012, том 7, часть
3. De Hertogh, A. A.; Le Nard, M. The Physiology of Flower Bulbs; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, 1993; p 811.
4. Lavelle F, Combeau C, Commercon A (1995) Taxoids: structural and experimental properties. Bull Cancer 82: 249–264.
5. Murashige T., Skoog F. Physiol. Plantarum, 1962, v. 15, № 13, p. 473–479.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ СУММАРНОГО СОДЕРЖАНИЯ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ И УГЛЕВОДОВ В ЭКСТРАКТАХ ИЗ РАЗЛИЧНЫХ ЧАСТЕЙ РАСТЕНИЙ *IRIS* *PSEUDOCORUS*, *ORNITHOGALUM UMBELLATUM*, *TAXUS* *BACCATA* И ИХ КАЛЛУСНЫХ КУЛЬТУР

Булатова А.А., Шапчиц М.П., Корик Е.О., Семак И.В.

Белорусский государственный университет, Минск, Bulatovan84@mail.ru

Арсенал медицины постоянно пополняется новыми эффективными лекарственными препаратами, изготовленными на основе БАВ, выделенных из фитосырья. Преимуществом препаратов природного происхождения является их высокая активность, биосовместимость, меньшее количество побочных явлений по сравнению с синтетическими продуктами, а также зачастую дороговизна и трудности химического синтеза аналогов.

Фармакологически значимые виды растений *Iris pseudocorus*, *Taxus baccata* и *Ornithogalum umbellatum*, а также их клеточные культуры являются уникальными природными источниками разнообразных по химической природе биологически активных веществ [1,2,3].

Целью настоящего исследования стало проведение сравнительного анализа суммарного содержания сахаров и фенольных соединений (ФС) в экстрактах из цветков, листьев, генеративных побегов, корневищ и каллусных культур растений ириса болотного (*Iris pseudocorus*), луковиц, листьев и каллусных культур птицемлечника зонтичного (*Ornithogalum umbellatum*), листьев, стеблей и каллусов тиса ягодного (*Taxus baccata*).

В качестве объекта исследования были выбраны цветки, листья, стебли, корневища и каллусные культуры растений ириса болотного (*Iris pseudocorus*), луковицы, листья и каллусные культуры птицемлечника зонтичного (*Ornithogalum umbellatum*), листья, стебли и каллусы тиса ягодного (*Taxus baccata*). Экстрагирование ФС проводили 96 % и 70 % этиловым спиртом. Суммарную фракцию растворимых фенольных соединений определяли спектрофотометрически с помощью реактива Фолина-Дениса [5].

Содержание углеводов определяли антроновым методом в пересчете на глюкозу, позволяющим определять углеводы в малых концентрациях (до 0,2 мг в пробе) [4].

Проведенный анализ суммарного содержания растворимых ФС в экстрактах из ириса болотного показал, что содержание данных веществ в экстрактах из листьев, генеративных побегов, цветков было выше при экстракции 70 %-м этиловым спиртом по сравнению с 96 %-м; в экстрактах из корней и каллусной ткани ириса отличия в содержании фенольных соединений отсутствовали при использовании этанола разной концентрации. При экстракции 70 %-м этанолом суммарное содержание ФС в экстрактах из листьев тиса, а также листьев, луковиц и каллусной ткани птицемлечника зонтичного было выше, чем в экстрактах с 96 %-м этанолом. В то же время, достоверные отличия в содержании ФС в экстрактах из стеблей, коры и каллусной ткани тиса в вариантах с 70 %-м и 96 %-м этанолом отсутствовали. Наиболее высокое содержание ФС наблюдалось в экстрактах их тканей тиса ягодного – в среднем до 23 % сухой массы в коре, в экстрактах из тканей ириса болотного количество ФС было несколько ниже – в среднем до 19,7 % сухой массы в корне. Наименьшее содержание ФС было в экстрактах из птицемлечника зонтичного – в среднем до 2,7 % сухой массы в каллусной ткани. Следует отметить, что содержание ФС в экстрактах из каллусных тканей тиса и ириса было ниже по

сравнению с экстрактами из частей нативного растения, в экстрактах из птицемлечника наблюдалась обратная картина.

Исследование общего содержания углеводов, а также растворимых углеводов в тканях и органах исследуемых растений показало, что наибольшее количество общих углеводов наблюдалось в листьях и луковицах птицемлечника зонтичного – в среднем 865 и 680 мг/г сухой массы, соответственно, однако в каллусной культуре птицемлечника количество общих углеводов было в несколько раз меньше, чем в листьях и луковицах.

Каллусная культура тиса отличалась большим содержанием общих углеводов (376 мг/г сухой массы) по сравнению с листьями и стеблем в 1,6 и 2,5 раза, соответственно. Каллусная культура ириса также содержала больше общих углеводов (191 мг/г сухой массы) по сравнению с корнями, цветками, генеративными побегами и листьями растения примерно в 2-7 раз.

Содержание растворимых углеводов в каллусной ткани ириса было ниже, чем общих примерно в 3 раза. Количество растворимых и общих углеводов в листьях, генеративных побегах, корнях и цветках ириса не отличалось. В листьях и луковицах птицемлечника наблюдалось меньшее содержание растворимых углеводов по сравнению с содержанием общих углеводов – в 6,8 и 1,6 раза, соответственно. Достоверных отличий в содержании общих и растворимых углеводов в каллусной ткани птицемлечника не было отмечено.

Список литературы

1. Орешко Н.А., Бовдей Н.А., Киселев П.А., Ха Л. М., Лонг Ф. К., Барановский А.В., Хрипач Н.Б., Хлебникова Т.С., Лахвич Ф.А. Получение и характеристика антиоксидантной активности экстрактов *Iris dmestica* и их отдельных компонентов” // Труды БГУ 2012, том 7, часть 1.
2. Mimaki, Y. Nat. Prod. Commun. 2006, 1, 247.
3. Lavelle F., Combeau C., Commercon A. (1995) Taxoids: structural and experimental properties. Bull Cancer 82: 249–264.
4. Мокроносов А. Т. Малый практикум по физиологии растений.- М.1994 183с.
5. Запрометов, М.Н. Фенольные соединения и методы их исследования // Биохимические методы в физиологии растений: [сб. ст.] / М.Н. Запрометов ; Акад. наук СССР, Ин-т физиологии растений им. К.А. Тимирязева; отв. ред. О.А. Павлинова. – М., 1971. – С. 185-197.

ВЛИЯНИЕ ОСВЕЩЕНИЯ И ОБРАБОТОК ГИББЕРЕЛЛИНОМ НА РОСТ И СОДЕРЖАНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В РАСТЕНИЯХ САБЕЛЬНИКА БОЛОТНОГО

Булатова С.В., Бахтенко Е.Ю.

ФГБОУ ВПО Вологодский государственный университет, Вологда, Ленина, 15, +7(911)508-40-07, e-mail: bakhtenko@yandex.ru

Фенольные соединения являются вторичными метаболитами, которые обуславливают лекарственные свойства многих растений, обладают высокой биологической активностью и часто используются в качестве лечебных препаратов. В этой связи перспективным является поиск лекарственных растений, накапливающих фенольные соединения и имеющих достаточную сырьевую базу для промысловых заготовок. К числу таких видов Вологодской области относится сабельник болотный (*Comarum palustre* L.) – многолетнее травянистое растение или полукустарничек семейства *Rosaceae*. Целью работы являлось изучение влияний эколого-ценотических условий и обработок гиббереллином на накопление фенольных соединений в сабельнике болотном (*Comarum palustre* L.).

Таблица 1.

Содержание фенольных соединений в растениях сабельника

Содержание фенольных соединений	Надземная часть		Подземная часть	
	ЦП 1	ЦП 2	ЦП 1	ЦП 2
Сумма растворимых фенольных соединений, (мг/гр. сухого вещества)	94,02 ± 8,91	70,50 ± 6,64	75,31 ± 7,64	65,75 ± 5,32

Содержание суммы фенольных соединений (СФС) определяли спектрофотометрическим методом [1]. Исследования проводили на растениях сабельника, произрастающих в Великоустюгском районе, на низинном болоте (осоково-вахтово-сабельниковая ассоциация) - ценопопуляция 1 и в сосняке сфагновом (сосняково-сабельниково-бруснично-черничная ассоциация) - ценопопуляция 2. Установлено, что в фазу вегетации у растений низинного болота (высокая освещенность 13000-20000 лк) по сравнению с растениями сосняка сфагнового (низкая освещенность 2000-5000 лк) было выше содержание растворимых фенольных соединений не только в надземных органах, но и в

подземной части (табл.1). Растения ценопопуляции 1 отличались более интенсивным ростом по сравнению с растениями ценопопуляции 2 (рис.1). Прослеживается связь между динамикой накопления суммы фенольных соединений и ростом побегов сабельника двух ценопопуляций в процессе вегетации (табл. 1 и рис. 1). Фенольные соединения и рост побегов сабельника болотного достигли максимального уровня в быстрый период роста (июнь), когда длина побега увеличивается в 3,5 раза и более.

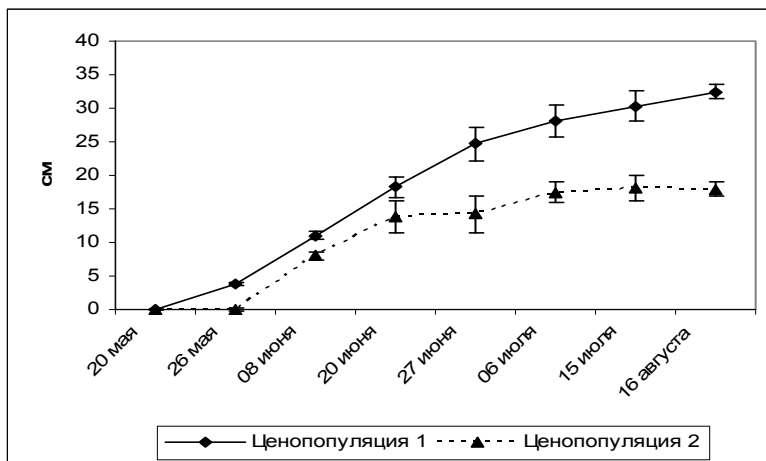


Рис. 1. Высота вегетативных побегов сабельника.

Таблица 2.
Влияние обработки гиббереллином на ростовые показатели сабельника

	Вариант опыта	Сухая масса, г/растение	Длина побега, см
Ценопопуляция 1	Контроль	4,99±0,04	40,0±1,12
	ГК 100 мг/л	5,53±0,11	51,0±0,85
Ценопопуляция 2	Контроль	2,52±0,1	18,87±1,1
	ГК 100 мг/л	3,01±0,06	22,25±1,2

Растения сабельника болотного обрабатывали в фазу вегетации водным раствором гиббереллина в концентрации 100мг/л и анализировали через 24 дня после обработки.

Обработка гиббереллином в концентрации 100 мг/л увеличила ростовые показатели растений двух ценопопуляций (табл.2.). Так, высота растений ЦП 1 увеличилась на 28 %, сухая масса – на 11 % по сравнению с контролем. В ЦП 2 на 18 % и на 20 % соответственно.

Под действием обработки гиббереллином увеличилось содержание растворимых фенольных соединений (табл.3) в листьях растений ЦП 1 на 19 %, в стеблях – на 31 %, в корневищах с корнями - на 27 % по сравнению с контролем. В ЦП 2 увеличение содержания СФС составило в листьях и стеблях 37 %, а в корневищах с корнями 41 %.

Таблица 3.
Влияние обработок гиббереллином на содержание растворимых фенольных соединений в органах сабельника

	Ценопопуляция 1		Ценопопуляция 2	
	Контроль	ГБ 100мг/л	Контроль	ГБ 100мг/л
Листья	78,8±2,03	93,94±2,04	66,9±2,68	91,68±2,43
Стебли	50,54±1,63	66,06±1,46	48,19±0,54	66,07±1,45
Корневища с корнями	91,66±2,14	116,27±2,66	90,45±2,27	127,62±2,57
Цветки	48,2±1,4	53,57±1,03	-	-

Таким образом, полученные данные дают основание судить о связи накопления фенольных соединений с интенсивностью ростовых процессов. Наибольшее накопление фенольных соединений происходит в интенсивно растущих тканях. Стимуляция роста посредством обработки гиббереллином приводит к увеличению содержания фенольных соединений.

Список литературы

1. Запрометов М. Н. Основы биохимии фенольных соединений / Учеб. пособие для студентов биол. специальностей ун-тов. М.: Высш. школа, 1974. 214 с.

УДК 581.1

САЛИЦИЛОВАЯ КИСЛОТА ИЗМЕНЯЕТ ПРОНИЦАЕМОСТЬ ВНУТРЕННЕЙ МЕМБРАНЫ МИТОХОНДРИЙ СЕМЯДОЛЕЙ ЛЮПИНА

Буцанец П.А., Шугаев А.Г.

ФГБУН Институт физиологии растений РАН, Москва, Россия, тел. (499)
231-83-40, p.corbeau@list.ru

Салициловая кислота (СК) – фитогормон фенольной природы, оказывает регуляторное действие на многие физиологические процессы в растениях. Например, СК участвует в

формировании защитных реакций в ответ на атаку патогенов и действие неблагоприятных факторов окружающей среды (УФ-радиация, экстремальные температуры, водный дефицит и т.д.) [1–4]. Постулируется, что митохондрии растений могут участвовать в цепи передачи сигналов СК при формировании устойчивости растений [2, 4, 5]. Имеются разрозненные данные о влиянии СК на дыхание и процессы трансформации энергии в митохондриях растений. В частности, было показано, что, в зависимости от концентрации, СК может, как разобщать процесс окислительного фосфорилирования, так и ингибировать дыхание митохондрий растений, в том числе, митохондрий семядолей люпина [6, 7]. Ранее на митохондриях животных было показано, что СК индуцировала изменение проницаемости внутренней мембраны органелл и открытие специального канала или поры - РТР (Permeability Transition Pore). Индукция РТР сопровождалось диссипацией мембранного потенциала (дельтапси - $\Delta\Psi$), а также набуханием органелл, выходом из них цитохрома с и других белков, запускающих процесс апоптоза в клетках животных [8]. Целью данной работы было изучение влияния СК на проницаемость внутренней мембраны митохондрий люпина, о которой судили по способности органелл к генерации и поддержанию потенциала.

Для выделения митохондрий в работе использовали семядоли 4-дневных этиолированных проростков люпина узколистного (*Lupinus angustifolius* L., сорта «Дикаф 14»), выращенные в камере фитотрона при температуре 24-26°C. Получение свежего препарата митохондрий проводили методом дифференциального центрифугирования [7]. Дыхание митохондрий регистрировали на полярографе с кислородным электродом «Hansatech instruments» (Англия). Генерацию потенциала регистрировали на двухлучевом спектрофотометре «Hitachi-557» (Япония) с использованием сафранина О в качестве потенциал-зависимого зонда [9]. Стандартная реакционная среда содержала 0.3 М сахарозу, 50 мМ MOPS, 0.1% БСА свободный от жирных кислот и 0.5 мг белка митохондрий. Остальные добавки приведены в подписях к рисункам. Измерения проводили в 3-кратной биологической и аналитической повторностях.

Изолированные митохондрии семядолей люпина характеризовались высокой степенью сопряжения процессов окисления и фосфорилирования. В частности, при окислении сукцината в присутствии глутамата численная величина дыхательного контроля по Чансу (ДК) составляла около 3, а отношение АДФ/О было близко к теоретическому для данного

субстрата и варьировало в диапазоне 1.7-1.8.

На рисунке 1 показано, что добавление к митохондриям люпина ФАД-зависимого субстрата дыхания (сукцината) индуцировало увеличение поглощения сафранина О, что свидетельствовало о генерации потенциала ($\Delta\Psi$) на внутренней мембране органелл, который является наиболее чувствительным индикатором процессов сопряжения и разобщения в ЭТЦ. Кроме того, показано частичное и обратимое снижение величины дельтапси в присутствии АДФ, а также его быстрая и полная диссипация под влиянием анионного разобщителя – FCCP. В присутствии АТФ митохондрии были способны к поддержанию $\Delta\Psi$ в течение значительного времени инкубации (более 30 мин). Полученные данные согласуются с результатами наших полярографических исследований и свидетельствуют о том, что, используемые в данной работе, препараты митохондрий были прочно-сопряженными. Кроме того, это также указывает на высокую интактность внутренней мембраны митохондрий и ее низкую проницаемость для протонов.

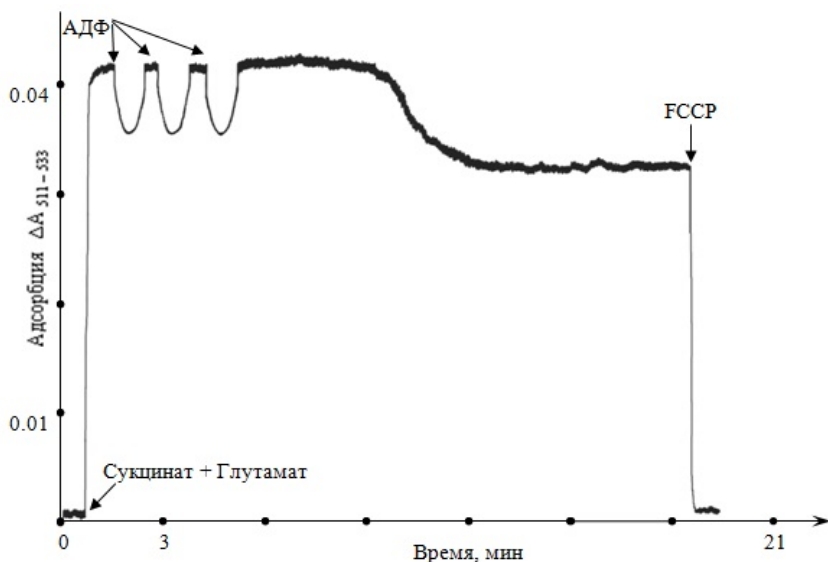


Рис. 1. Генерация мембранного потенциала на внутренней мембране митохондрий семян люпина при окислении 10 мМ сукцината в присутствии 10 мМ глутамата в состоянии 3 (в присутствии 200 мкМ АДФ) и состоянии 4 (после истощения АДФ в процессе синтеза АТФ), FCCP – 1 мкМ.

Присутствие в среде инкубации 0.5 мМ СК после некоторого лаг-периода индуцировало резкое увеличение проницаемости внутренней мембраны митохондрий для протонов, что регистрировалось по быстрой и полной диссипации дельтапси (рис. 2, кривая 2). При увеличении концентрации в среде инкубации митохондрий СК до 1.0–3.0 мМ также наблюдалась диссипация $\Delta\Psi$, при этом длительность лаг-периода существенно сокращалась (рис. 2, кривые 3 и 4 соответственно).

Следует также отметить, что циклоспорин А – известный ингибитор РТР в митохондриях животных, или не оказывал заметного влияния на диссипацию $\Delta\Psi$ под влиянием СК, или замедлял, но не обращал кинетику падения потенциала, и только в присутствии ДТТ. Кроме того, изменение проницаемости внутренней мембраны митохондрий под влиянием СК в низкосолевого сахарозной среде не сопровождалось набуханием органелл (данные не приведены).

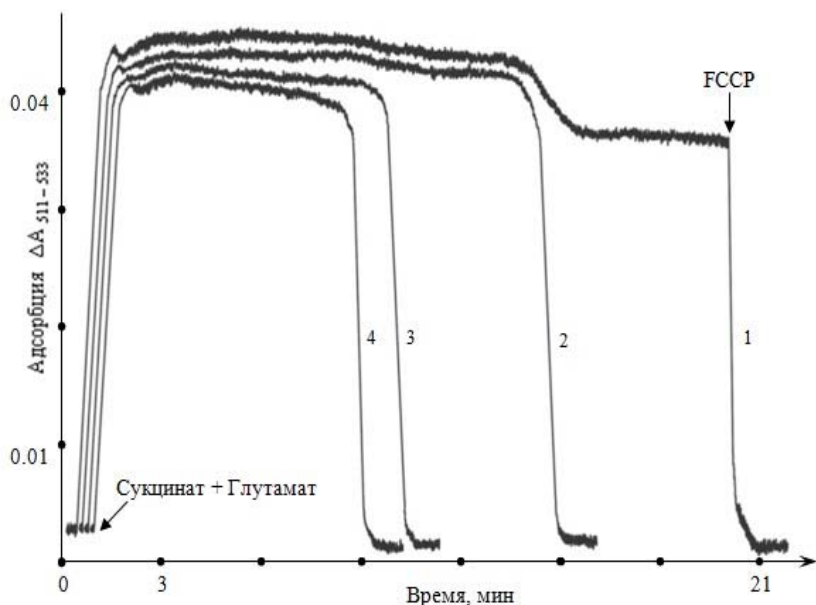


Рис. 2. Влияние СК на генерацию мембранного потенциала в митохондриях семян люпина при окислении 10 мМ сукцината в присутствии 10 мМ глутамата. Стандартная реакционная среда в присутствии 1 мМ АТФ. Дополнительно вносили СК (кривые) - Контроль (1), 0.5 мМ (2), 1.0 мМ (3) и 3.0 мМ (4), а также FCCP – 1 мкМ.

Судя по литературным данным, митохондрии растений способны изменять проницаемость своей внутренней мембраны вследствие индукции РТР [10-12]. При этом, как и в животных организмах, индукторами РТР в митохондриях, выделенных из растений (проростков гороха, клубней картофеля и др.), могут быть свободные жирные кислоты, ионы Ca^{2+} , активные формы кислорода и азота и другие эффекторы. Исходя из анализа литературы, а также на основе полученных данных можно заключить, что СК также может индуцировать изменение (увеличение) проницаемости внутренней мембраны митохондрий семян люпина, по-видимому, вследствие открытия специального канала или поры, проницаемой для протонов и, возможно, для других низкомолекулярных катионов (K^+ , Ca^{2+}). Механизм действия СК на проницаемость внутренней мембраны митохондрий растений, остается неизвестным и требует дополнительных исследований. Однако не исключено, что он может быть связан с избыточным образованием АФК в митохондриях под влиянием СК, как это было показано ранее на митохондриях животных [8]. В предыдущей работе нами было обнаружено, что при повышении концентрации СК в среде инкубации, она существенно ингибировала окислительную и фосфорилирующую активность митохондрий люпина [7]. В соответствии с теорией торможение переноса электронов в ЭТЦ должно повышать вероятность избыточного образования АФК в митохондриях и может служить причиной возникновения окислительного стресса, индукции РТР и запрограммированной гибели клеток.

Работа выполнена при поддержке фонда РФФИ (грант № 13-04-01828).

Список литературы.

1. Malamy J., Klessig D.F. Salicylic acid and plant disease resistance // Plant J. 1992. V. 2. P. 643-654.
2. Lennon A.M., Neuenschwander U.H., Rabis-Carbo M., Giles L., Ryals J.A., Siedow J.N. The effects of salicylic acid and tobacco mosaic virus infection on the alternative oxidase of tobacco // Plant Physiol. 1997. V. 115. P. 783-791.
3. Horvath E., Szala G., Janda T. Induction of abiotic stress tolerance by salicylic acid signaling // J. Plant Growth Regul. 2007. V. 26. P. 290 – 300.
4. Vlot A.C., Dempsey D.A., Klessig D.F. Salicylic acid, a multifaced hormone to combat disease // Ann. Rev. Phytopathol. 2009. V. 47. P. 177-206.
5. Gilliland A., Singh D., Hayward J.M. et al. Genetic modification of alternative respiration has differential effects on antimycin A-induced versus salicylic acid- induced resistance to *Tobacco mosaic virus* // Plant Physiol.

-
2003. V. 132. P. 1518-1528.
6. Norman C., Katharine H.A., Millar H.A., Whelan J.M. Salicylic acid is an uncoupler and inhibitor of mitochondrial electron transport // *Plant Physiol.* 2004. V. 134. P. 492-501.
 7. Шуграев А.Г., Буцанец П.А., Андреев И.М., Шуграева Н.А. Влияние салициловой кислоты на метаболическую активность митохондрий растений // *Физиология растений.* 2014. Т. 61. С. 520–528.
 8. Battaglia V., Salvi M., Toninello A. Oxidative stress is responsible for mitochondrial permeability induction by salicylate in liver mitochondria // *J. Biol. Chem.* 2005. V. 280. P. 33864 – 33872.
 9. Moore A.L., Bonner W.D. Measurement of membrane potentials in plant mitochondria with safranin method // *Plant Physiol.* 1982. V. 70. P. 415-420.
 10. Vianello A., Macri F., Braidot E., Mokhova E.N. Effect of cyclosporin A on energy coupling in pea stem mitochondria // *FEBS Lett.* 1995. V. 371. P. 258–260.
 11. Arpagaus S., Rawyler A., Braendle R. Occurrence and characteristics of the mitochondrial permeability transitions in plants // *J. Biol. Chem.* 2002. V. 277. P. 1780-1787.
 12. Virolainen E., Blokhina O., Fagerstedt K. Ca^{2+} -induced high amplitude swelling and cytochrome c release from wheat (*Triticum aestivum* L.) mitochondria under anoxic stress // *Ann. Bot.* 2002. V. 90. P. 509-516.
-

УДК 581.192.7

ИЗМЕНЕНИЕ ФЕНОЛЬНОГО КОМПЛЕКСА СЕМЯН КУЛЬТУРНЫХ РАСТЕНИЙ В ПРОЦЕССАХ СОЗРЕВАНИЯ, ХРАНЕНИЯ И ПРОРАСТАНИЯ

Волынец А.П.

Институт экспериментальной ботаники им. В.Ф. Купревича НАН Беларуси,
Минск, Беларусь, +375172840543; patphysio@mail.ru

Общеизвестно, что при созревании семян культурных растений происходит накопление в них запасных веществ, которые практически не расходуются при хранении их в нормальных условиях и интенсивно потребляются при прорастании таких семян. Как же изменяется в аналогичных процессах состав и содержание фенольных регуляторов роста?

Созревание семян. Фенольный комплекс колоса пшеницы представлен исключительно флавоноидными соединениями, среди которых 4 агликона и 14 гликозидов. Все они являются собственно флавонами. Среди них идентифицированы люценин-1, люценин-3, лутонарин, виценин-2, витексин, изовитексин, апигенин и трицин. По мере созревания семян состав флавоноидов сокращается с 18

до 7-8 компонентов в фазе полной спелости прежде всего за счет минорных веществ. Максимальное содержание флавоноидных агликонов и гликозидов наблюдается в фазе молочной спелости и резко уменьшается в фазе восковой спелости. В дальнейшем параллельный ход в изменении содержания флавоноидных агликонов и гликозидов нарушается: количество агликонов продолжает уменьшаться, а гликозидов снова возрастает (табл. 1). Такой характер изменения флавоноидных соединений можно объяснить большим расходом их на рост зародышевых структур, который приходится на фазу восковой спелости, а повторное накопление флавоноидных гликозидов как запасных веществ связано уже с прекращением роста (1).

Таблица 1.

Изменение содержания фенольных соединений в колосе пшеницы при созревании семян

Сорт	Фаза спелости семян	Флавоноидные соединения			
		агликоны		гликозиды	
		мкг/г	%	мкг/г	%
Далеч	молочная спелость	1920	100	777,5	100
	восковая спелость	57,1	30	74,8	10
	полная спелость	41,1	21	121,7	16
Белорусская 80	молочная спелость	136,5	100	514,0	100
	восковая спелость	54,2	40	78,4	15
	полная спелость	43,4	32	89,1	17

Хранение семян. Фенольный комплекс выдержанных семян желтого люпина сорта Быстрорастущий, льна-долгунца сорта Оршанский 2 и ячменя сорта Эльза изучали после 4-5-летнего хранения, в процессе которого семена льна-долгунца и ячменя теряли свою всхожесть, а семена люпина снижали ее на 50%. В покоящихся семенах люпина обнаружены только флавоноидные агликоны и гликозиды, в подобных семенах льна-долгунца – свободные фенолкарбоновые кислоты и их производные и в семенах ячменя – обе группы веществ (табл. 2).

Общий уровень фенольных соединений в покоящихся семенах культурных растений невысокий: содержание свободных компонентов достигает 30,2 мкг/г и конъюгированных – 4113 мкг/г

(табл.3).

Количество фенольных соединений в процессе хранения семян изменяется слабо. Содержание свободных веществ возрастает, а уровень конъюгированных, наоборот, снижается. Обычно потерю всхожести семян связывают с накоплением в них фенольных ингибиторов роста. Но как видно из приведенных данных, даже возросшее содержание фенольных соединений остается крайне низким, не достигая ингибирующей величины (2, 3).

Таблица 2.

Состав фенольных соединений покоящихся семян культурных растений

Культура	Фенольные соединения	
	свободные	конъюгированные
Люпин желтый	апигенин, лютеолин, 3'-метоксилитеолин (?)	виценин, изовиценин
Лен-долгунец	п-оксибензойная, п-кумаровая, феруловая и синаповая кислоты	производные фенолкарбоновых кислот (2 компонента)
Ячмень	п-оксибензойная, п-кумаровая, феруловая, ванилиновая кислоты, апигенин и 3'-метоксилитеолин (?)	производные фенолкарбоновых кислот (3), флавоновые гликозиды (3), неидентифицированные фенольные конъюгаты (3)

Таблица 3.

Сравнительное содержание фенольных соединений в свежесобраных и выдержанных семенах культурных растений

Культура	Тип семян	Фенольные соединения			
		свободные		конъюгированные	
		мкг/г	%	мкг/г	%
Люпин желтый	свежесобраные	12,5	100	4113	100
	выдержанные	12,4	99	3733	91
Лен-долгунец	свежесобраные	7,2	100	72	100
	выдержанные	18,7	260	69	96
Ячмень	свежесобраные	13,7	100	707	100
	выдержанные	30,2	220	403	57

Проращение семян. Фенольные соединения таких семян исследовали спустя 5 суток после замачивания. Оно приводило к обогащению состава, увеличению содержания и частично к превращению фенольных соединений. Проращение семян люпина сопровождалось новообразованием флавоноловых и изофлавоновыхгликонов и гликозидов, семян льна-долгунца –

появлением ванилиновой и кофейной кислот, а в семенах ячменя исчезали флавоновые гликозиды и появлялись новые фенолкарбоновые кислоты. Вместе с тем в прорастающих семенах возрастало количество как исходных, так и новообразованных фенольных соединений (табл. 4).

Таблица 4.

Содержание фенольных соединений в покоящихся и прорастающих семенах культурных растений

Культура	Тип семян	Фенольные соединения			
		свободные		конъюгированные	
		мкг/г	%	мкг/г	%
Люпин желтый	покоящиеся	12,4	100	3733	100
	прорастающие, 120ч.	38,7	312	7502	201
Лен-долгунец	покоящиеся	18,7	100	69	100
	прорастающие, 120ч.	26,1	140	1780	2580
Ячмень	покоящиеся	30,2	100	403	100
	прорастающие, 120ч.	93,6	301	1887	468

Максимальное повышение уровня свободных фенольных соединений наблюдалось в прорастающих семенах ячменя (93,6 мкг/г), а самое высокое содержание конъюгированных фенольных соединений, представленных флавоновыми, флавоноловыми и изофлавоновыми гликозидами, отмечалась в семенах люпина (7502 мкг/г). Большая перестройка фенольного комплекса имела место при прорастании семян, менее значительная при созревании их и совсем небольшая при хранении и потере всхожести семян. Созревание и прорастание разных семян сопровождалось повышением содержания флавоноидных гликозидов и производных оксикоричных и оксibenзойных кислот, т.е. запасной формы фенольных регуляторов роста. В то же время количество свободных фенольных соединений (флавоноидных агликонов) уменьшается в процессе созревания семян, а содержание свободных фенольных кислот возрастало при хранении и особенно при прорастании их. Такая перестройка фенольного комплекса представляется вполне логичной, так как в пассивные периоды (созревание и хранение семян) не очень нужны активные фенольные соединения, в то время как при их прорастании потребность в них возрастает многократно, что и происходит в результате биосинтеза и распада фенольных конъюгатов.

Список литературы.

1. Волюнец А.П. Фенольные соединения в жизнедеятельности растений. Минск: Беларуская навука, 2013. 283с.
 2. Волюнец А.П., Пальченко Л.А. Состав и содержание свободных фенольных соединений при прорастании семян разной жизнеспособности // Физиология и биохимия культурных растений. 1980. Т.12, №5. С.511-515.
 3. Волюнец А.П., Пальченко Л.А. Состав и содержание фенольных конъюгатов в процессе прорастания семян разной жизнеспособности. Физиология и биохимия культурных растений. 1982. Т.14, №3. С.225-231.
-

УДК 632.937

ИССЛЕДОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ ЭКСТРАКТА КОРНЯ *RHEUM RHARONTICUM* L. В КОНТРОЛЕ МУЧНИСТОЙ РОСЫ

Гладкая А.А., Тодиращ В.А., Стратулат Т.Г.

Институт генетики, физиологии и защиты растений Академии наук
Молдовы, Кишинев, Республика Молдова., тел.: (+373 22) 77-04-47, e-mail:
asm_igfpp@yahoo.com

Интерес к изучению и использованию лекарственных растений постоянно растет, преимущественно, из за их уникальной возможности накапливать вторичные метаболиты, такие как терпены, алкалоиды, фенольные соединения и др. Практически все фенольные соединения (в нашем случае эмодин) играют важную роль в защитных реакциях организма, участвуют в дыхании, фотосинтезе; отвечают за стимуляцию или ингибирование роста и развития (растительные гормоны), защиту клеток и метаболитов растения от окисления, повреждения бактериями и грибами, могут проявлять антибактериальное или антигрибковое действие.

В последние годы в большинстве хозяйств заболевание культур мучнистой росой стало практически неуправляемым, особенно там, где есть светокультура огурца. Основным возбудителем мучнистой росы огурца в теплицах Молдавии является *Sphaerotheca fuliginea* Poll. На надземных органах при высокой влажности (выше 85%) и низкой температуре (+16-20°C) появляется белый пылевидный налет. Позже налет покрывает все зеленые части растения, которые перегорают и гибнут. Возбудитель мучнистой росы отличается высокой генетической адаптивностью к применяемым химическим фунгицидным

препаратам. Так, препараты на основе стробилуранов (Квадрис, Строби) теряют свою эффективность после 2-3 обработок. Серосодержащие препараты Кумулус и Тиовит, вследствие повышенной фитотоксичности, вызывают очень быстрое старение растений и гибель листьев. Хозяйства ощущают острую потребность в фунгицидах различной природы для борьбы с мучнистой росой.

Целью исследований было определение биологической эффективности спиртовых экстрактов корня *Rheum rhaponticum* L. (сем. Polygonaceae) против мучнистой росы на тыквенных культурах.

Материалы и методы. Химический состав спиртовых экстрактов ревеня черноморского определяли методом спектрального анализа [2, 3]. Основным действующим веществом в исследуемом экстракте является реум-эмонин - производное хризацина (мономерные антраценпроизводные).

Оценка эффективности экстракта ревеня против *Sph. fuliginea* была проведена в теплице на рассаде овощных культур сем. *Polygonaceae* – кабачка, дыни и огурца. В качестве эталона был использован биопрепарат RECOL фунгицид на основе водного экстракта *Reynoutria sachalinensis* L., сем. *Polygonaceae*, зарегистрированный в Молдове.

Результаты и обсуждение. Семена кабачков и дыни проращивали в пластиковых емкостях с почвенной смесью. На стадии 4-х настоящих листьев проводили первую обработку рассады различными концентрациями экстракта ревеня. Обработанные растения оставляли просохнуть в течение 3-4 часов, после чего проводили заражение возбудителем мучнистой росы (однократно). Для этого суспензии конидий *Sph. fuliginea*, титр - $2,0 \times 10^5$ кон./мл, наносили на верхнюю поверхность листьев методом орошения из расчета 2 мл раствора на одно растение. Зараженные растения помещали в рандомизированных блоках теплицы при температуре 25°C - 30°C. Обработки экстрактом ревеня проводились 4-хкратно в течение вегетации, с интервалом между обработками 7-10 дней. Степень поражения (в баллах площадей, покрытых колониями) листа была оценена в соответствии с методикой (Шамрай С. Н, 2006).

Как видно из данных, представленных на рис. 1 и 2, максимальные концентрации растительных экстрактов значительно снижали степень поражения листьев тыквенных культур мучнистой росой. Биологическая эффективность экстракта ревеня в концентрациях 1,5% - 2% на рассаде дыни достигает 93,7%, на рассаде кабачка - 97,5%. Таким образом, экстракт корня ревеня

проявлял высокую фунгицидную активность против мучнистой росы тыквенных.



Рис.1. Биологическая эффективность экстракта корня ревеня в защите рассады *Cucumis melo*, сем. Cucurbitaceae от *Sph. fuliginea*



Рис.2. Биологическая эффективность экстракта корня ревеня в защите рассады *Cucurbita pepo*, сем. Cucurbitaceae от *Sph. fuliginea*.

В апреле 2014 года были проведены также тепличные опыты на огурцах *Cucumis sativus* L., (сорт восприимчивый к мучнистой росе). Было заложено 3 варианта опытов по 25 растений в каждом: 1 вариант – экстракт *Rheum*; 2 вариант - экстракт *Rheum* + 0,5% хелата меди (Cu); 3 вариант - необработанный контроль. Количество обработок – 4, интервал между обработками -7-10 дней. Учет биологической эффективности препаратов проводился по результатам подсчета числа колоний и их размера на 10 листьях, выбранных стохастически, во всех вариантах. Результаты наблюдений представлены на рис. 3.

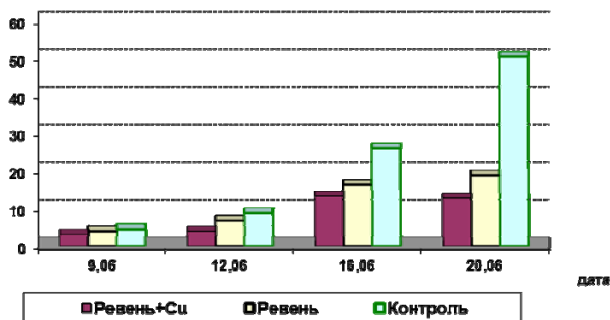


Рис. 3. Биологическая эффективность экстракта *Rheum* в контроле мучнистой росы на огурцах (2014 г.)

Результаты исследований показали, что в условиях теплицы на начальных стадиях развития болезни (низкая зараженность) оба варианта с биопрепаратами показали высокую биологическую эффективность. Визуальные наблюдения показали, что после обработки заболевших листьев, белый налет на их поверхности быстро переходит в бурую некротичную стадию. Распространение болезни по листу прекращается.

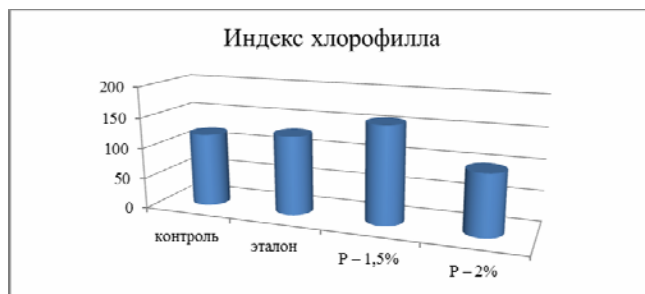


Рис. 4. Индекс хлорофилла в листьях рассады дыни после обработки препаратами из корня ревеня.

В опытах с рассадой растений сем. Cucurbitaceae в теплице было также отмечено увеличение размеров и интенсивности зеленой окраски обработанных листьев по сравнению с контрольными при максимальных концентрациях экстракта ревеня в рабочем растворе. При помощи прибора SM 1000 Chlorophyll Meter измеряли индекс хлорофилла в листьях. Если принять индекс хлорофилла в контроле за 100 ед., то при обработке 1,5% экстрактом он составил более 130 ед., т.е. на 38% выше (Рис. 4).

Выводы:

1. Метод спектрального анализа можно рекомендовать в качестве аналитического метода для определения действующего вещества (эмодина) в спиртовом экстракте корня *R. Rhaponticum*.
2. Биологическая эффективность экстракта корня ревеня в концентрациях 1,5% - 2% (максимально испытанных) на рассаде дыни достигала 93,7%, на рассаде кабачка - 97,5%.
3. В условиях теплицы на начальных стадиях развития болезни биофунгициды на основе экстракта ревеня с и без добавления хелатов меди показали более высокую биологическую эффективность, чем на поздних стадиях заражения. Действие экстракта в изученных концентрациях можно рассматривать как профилактическое.

4. Обработка растений экстрактом ревеня в концентрации 1,5% усиливает их пластичность, увеличивая индекс хлорофилла.

Список литературы

1. А.С.Романова, «Химическое изучение производных антрацена ревеня тангутского (*Rheum palmatum* L. var. *tanguticum* Maxim.) и изыскание растительных источников получения хризаробина». Автореферат дис-и, факультет почвоведения и агрохимии Московской сельскохозяйственной академии имени К. А. Тимирязева. 1965 г. Стр 9.
2. Gaikwad A. Sucheta, Kale A. Asha, Gadkar IV. Tushar, Deshpande R. Nirmala, Salvekar P. Jyoti, «Standardization Of Emodin-An Bioactive Molecule, Using Spectral Methods», International Journal of Drug Development & Research, July-September 2011 | Vol. 3 | Issue 3 |p.259-265 | ISSN 0975-9344, Department of Chemistry, Pune, India.
3. S. Konstantinidou-doltsinis, E.Markellou, A.-M. Kassalaki, M. N. Fanouraki, C. M. Koumaki, A. Schmitt, A.Liopa-tsakalidisand N. E. Malathrakis, «Efficacy of Milsana, a formulated plant extract from *Reynoutria sachalinensis*, against powdery mildew of tomato», Department of Pesticides Control and Phytopharmacy, Greece, 2005; p 8.
4. С.Н.Шамрай., В.И.Глушенко // Основы полевых исследований в фитопатологии и фитоиммунологии: Х.: ХНУ имени В.Н. Каразина, 2006. – С. 64.
5. Н.И.Леонтьян, «Биологическое обоснование системы мер борьбы с мучнистой росой тыквенных культур в теплицах Молдавии», автореферат дис-и. Москва, 1983г., стр 1.

УДК 581.1.

ОСОБЕННОСТИ ОБРАЗОВАНИЯ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ЮВЕНИЛЬНЫХ, ВИРГИНИЛЬНЫХ ПРОРОСТКАХ И КАЛЛУСНЫХ КУЛЬТУРАХ ЛЬНА (*LINUM USITATISSIMUM*)

Гончарук Е.А.¹, Горчакова Ю.А.², Назаренко Л.В.²

¹ФГБУН Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, Россия, тел.(495) 977-94-33, e-mail: goncharuk.ewgenia@yandex.ru

²Институт математики, информатики и естественных наук ГБОУ ВО МГПУ, Москва, Россия, e-mail: nlv.mgpu@mail.ru

Лен относится к культурам, востребованным в настоящее время в различных отраслях промышленности, а также представляющим интерес как растение с выраженными особенностями онтогенетического развития, а его возрастное состояние соотносится с фазой развития культуры [1]. Так, фазы «елочки» и «быстрого роста» характеризуются, соответственно,

образованием новых густо расположенных пар листьев и ускорением роста главного побега и роста в длину вегетативных органов [2]. Этим фазам развития растений льна соответствует ювенильные и виргинильные проростки [3]. Изучение их развития, а также физиолого-биохимических характеристик с использованием традиционных агрономических методов это трудоемкий и длительный процесс. Альтернативой ему служит культивирование тканей в условиях *in vitro* [4]. Использование методов биотехнологии позволяет изучать изменения биохимических особенностей клеток на разных этапах роста проростков, а также в клетках различного уровня организации (калусных или спензионных).

К числу интересных аспектов метаболизма растительных клеток относится биосинтез вторичных метаболитов [5]. Наиболее распространенными их представителями являются фенольные соединения, образующиеся во всех растительных тканях и участвующие в различных физиологических процессах, включая фотосинтез, дыхание, устойчивость к патогенам и другим стрессовым воздействиям [6]. Следует также отметить, что их накопление зависит от многих факторов – физиологических, генетических, экологических и др.

Целью нашего исследования являлось изучение особенностей накопления различных классов фенольных соединений в молодых проростках (ювенильные, виргинильные) и калусных культурах льна.

Объекты и методы исследования. Семена растений льна масличного (*Linum usitatissimum*) сорта Санлин стерилизовали 0,1% раствором сулемы (8 мин), затем промывали стерильной дистиллированной водой (3 раза) и помещали на агаризованную питательную среду Мурасига-Скуга (МС) без регуляторов роста. Через 10 дней от стерильных проростков отделяли сегменты гипокотилей, переносили их на свежую модифицированную питательную среду МС, содержащую сахарозу (20%) и 2,4-дихлорфеноксиуксусную кислоту (1 мг/л) для инициирования каллусогенеза.

Культивирование стерильных проростков и каллусной ткани проводили в факторостатной камере ИФР РАН при температуре 25С, относительной влажности воздуха 70% и 16-час. фотопериоде (интенсивность освещения 3 000 люкс). Длительность пассажа – 30 дней.

Содержание малонового диальдегида (МДА) определяли по цветной реакции с тиобарбитуровой кислотой (ТБК) [7]. Концентрацию МДА рассчитывали в мкмоль на 1 г сырой массы по

молярной экстинкции: $C=D/\varepsilon l$, где C – концентрация МДА, мкмоль; D – оптическая плотность; ε – коэффициент молярной экстинкции ($1,56 \times 10^5 \cdot \text{см}^{-1} \cdot \text{M}^{-1}$); l – толщина слоя раствора в кювете (1 см).

Фенольные соединения извлекали из свежего растительного материала 96%-ным этанолом при 45°C в течение 45 мин. Надосадочную жидкость отделяли центрифугированием (16000 об/мин, 5 мин) и использовали для спектрофотометрического определения фенольных соединений. Содержание суммы растворимых фенольных соединений определяли с реактивом Фолина-Дениса при 725 нм [8], а содержание флавоноидов - с хлористым алюминием при 415 нм [9]. Калибровочные кривые строили по rutinу.

Определение фенилпропаноидов проводили методом прямого спектрофотометрирования экстрактов 330 нм. Калибровочную кривую строили по кофейной кислоте.

Статистическая обработка. Все определения проводили в трех биологических и 2-3 аналитических повторностях. Результаты обрабатывали статистически. На рисунках представлены средние арифметические значения определений и их стандартные отклонения.

Результаты и обсуждение. Проростки льна, выращиваемые в условиях *in vitro*, в возрасте 21 и 60 дней соотносятся с ювенильным и виргинильным состоянием интактных растений, находящихся соответственно в фазе «елочки» и «быстрого роста».

Литературные данные по изучению образования фенольных соединений на ранних этапах онтогенеза льна немногочисленны [10]. Однако изучаемые проростки предположительно могут отличаться по уровню накопления веществ фенольной природы и уровню ПОЛ, характеризующему состояние клеток и их реакцию относительно воздействия активных форм кислорода. Что касается каллусных культур, то биохимические реакции в дедифференцированных клетках, по всей видимости, могут отличаться от таковых в дифференцированных клетках интактных растений. Все это послужило основой для проведения сравнительного изучения особенностей накопления различных классов фенольных соединений в проростках и каллусных культурах льна масличного.

В первую очередь мы исследовали проростки льна, как более сложную и уже сформированную растительную систему. Суммарное содержание фенольных соединений у проростков в виргинильном состоянии превышает таковое у ювенильных проростков почти в 2 раза (рис.1).

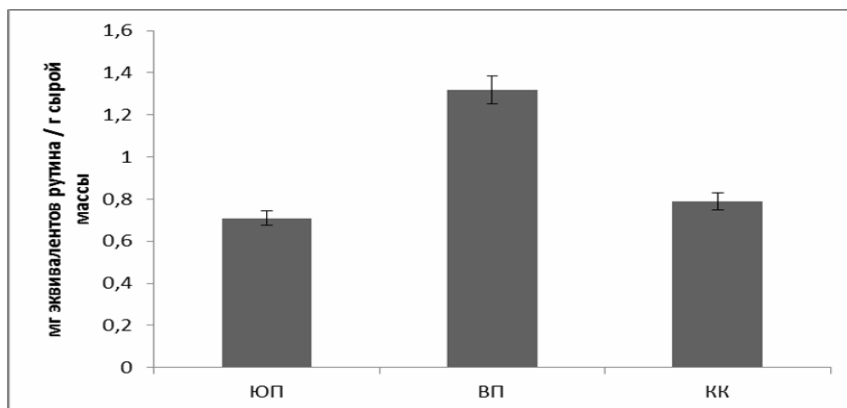


Рис. 1. Содержание суммы растворимых фенольных соединений в ювенильных (ЮП) и виргинильных (ВП) проростках льна масличного, а также в каллусных культурах (КК).

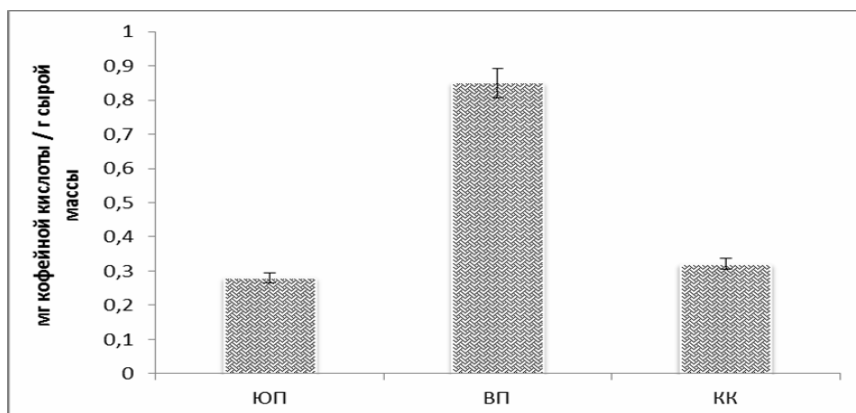


Рис. 2. Содержание фенилпропаноидов в ювенильных (ЮП) и виргинильных (ВП) проростках льна масличного, а также в каллусных культурах (КК).

По содержанию фенилпропаноидов наблюдалась также тенденция, но даже более выраженная (рис. 2). В этом случае различия были 3-кратными. Известно, что у растений льна в полевых условиях в фазу «быстрого роста», соответствующую в нашем эксперименте виргинильному состоянию проростков, также отмечено высокое содержание конъюгированных форм фенолкарбоновых кислот, представляющих класс более простых веществ фенольной природы [10]. Что касается флавоноидов, фенольных соединений с более сложной, чем фенилпропаноиды,

структурой, то здесь наблюдается обратная зависимость: ювенильные проростки обладали более выраженной способностью к их накоплению по сравнению с виргинильными (рис. 3). Относительно фазы «елочка» в условиях полевого опыта, есть данные о том, что для нее характерно высокое содержание флавоновых гликозидов, сохраняющееся до фазы «бутионизации» [10].

В нашем эксперименте в условиях *in vitro* содержание флавоноидов также было выше у ювенильных проростков, представляющих фазу «елочки» по сравнению с виргинильными, представляющими фазу «быстрого роста», однако на более поздних этапах онтогенеза (60-дневные растения) простые формы фенольных соединений вновь преобладали над сложными.

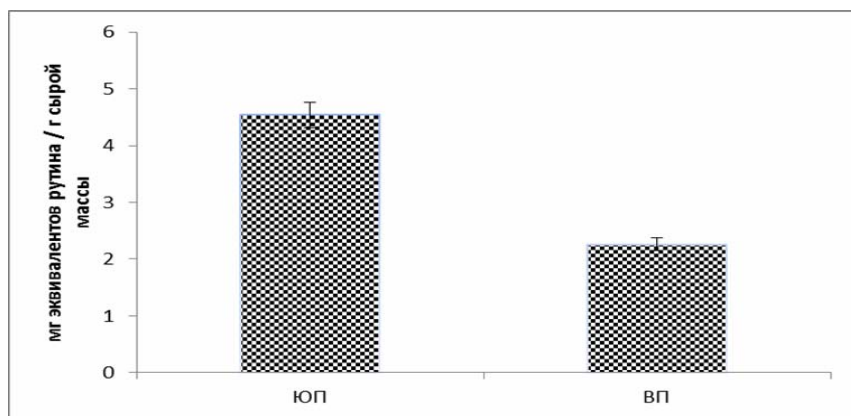


Рис. 3. Содержание флавоноидов в ювенильных (ЮП) и виргинильных (ВП) проростках льна масличного, а также в каллусных культурах (КК).

Таким образом, в условиях *in vitro* фенольный комплекс ювенильных проростков представлен преимущественно флавоноидами, тогда как у виргинильных проростков - доминируют фенилпропаноиды, биогенетически более ранние и «простые» формы соединений фенольной природы.

Интересно было изучить накопление фенольных соединений в каллусной культуре, полученной из гипокотилей льна. Как следует из полученных данных, оно было практически на одном уровне с накоплением таковых в 3-недельных проростках (см. рис.1-3). Однако в каллусной культуре не удалось определить содержание флавоноидов. Вероятно, в клетках с более простым уровнем структурной организации синтезируются преимущественно

простые формы фенольных соединений. Кроме того, способность к их образованию значительно ниже, чем у проростков в виргинильном состоянии.

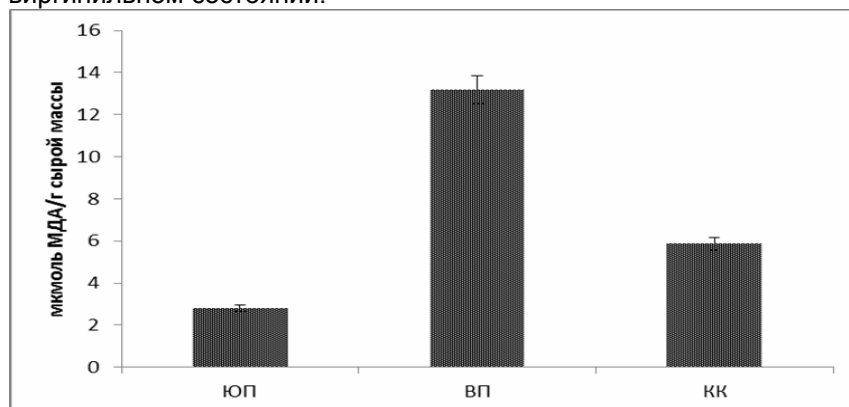


Рис. 4. Содержание МДА в ювенильных (ЮП) и виргинильных (ВП) проростках льна масличного, а также в каллусных культурах (КК).

Чтобы оценить состояние проростков и каллусной культуры льна в условиях *in vitro* следует обратить внимание на уровень ПОЛ, выраженный в содержании МДА, поскольку в процессе метаболизма в клетках растений всегда присутствует определенный уровень активных форм кислорода (АФК) [10]. Как следует из представленных на рис. 4 данных, уровень ПОЛ у проростков в виргинильном состоянии значительно превышает таковой у ювенильных проростков и у каллусной культуры.

Это соотносится и с накоплением соединений фенольной природы, которые, обладая антиоксидантной активностью, инактивируют воздействие АФК, образующихся у проростков в виргинильном состоянии более интенсивно, что связано с неблагоприятными условиями, возникающими в условиях *in vitro* для проростков в этой онтогенетической фазе.

Таким образом, образование фенольных соединений у проростков льна в условиях *in vitro* соотносится с онтогенетическими фазами «елочки» и «быстрого роста». У каллусной культуры комплекс фенольных соединений представлен простыми соединениями фенольной природы, а биосинтетическая способность соответствует таковой ювенильных проростков.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 14-04-01742).

Список литературы.

1. Рогаш А.Р. Льноводство. М.:Колос. 1967. 583 с.
 2. Фадеева Т.М., Семенова Е.Ф. Возрастные изменения растений льна в онтогенезе //Научные ведомости Белгородского государственного университета. 2011. Вып.15. №9. С.51-55.
 3. Чайлахян М.Х., Бутенко Р.Г., Кулаева О.Н. и др. Терминология роста и развития высших растений. М.: Наука. 1982. 93 с.
 4. Бутенко Р.Г. Биология культивируемых клеток и биотехнология растений М.: Наука, 1991.
 5. Носов А.М. Вторичный метаболизм // Физиология растений / под ред. Ермакова И.П. М.: Академия, 2005. С.588-619.
 6. Lattanzio V., Kroon P.A., Quideau S., Treutter D. Plant Phenolics - Secondary Metabolites with Diverse Functions // Recent Advances in Polyphenol Research / Eds. Daayf F., Lattanzio V. Oxford, UK: Wiley-Blackwell, 2008. V. 1. P. 1-35.
 7. Лукаткин А.С., Голованова В.С. Интенсивность перекисного окисления липидов в охлажденных листьях теплолюбивых растений // Физиология растений. 1988. Т. 35. С. 773-780.
 8. Олениченко Н. А., Осипов В. И., Загоскина Н. В. Фенольный комплекс листьев озимой пшеницы и его изменение в процессе низкотемпературной адаптации растений // Физиология растений. 2006. Т. 53. № 4. С. 554-559.
 9. Gage T.B., Wendei S.H. Quantitative determination of certain flavonol 3 glycosides // Anal. Chem. 1950. V. 22. P. 708–711.
 10. Волынец А.П. Фенольные соединения в жизнедеятельности растений. Минск: Белорусская наука. 2013. 279 с.
-

УДК 581.1

КЛЕТОЧНЫЕ КУЛЬТУРЫ ГРЕЧИХИ ТАТАРСКОЙ КАК ПРОДУЦЕНТЫ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

Гумерова Е.А.¹, Акулов А.Н.², Румянцева Н.И.³

ФГБУН Казанский ин-т биохимии и биофизики КазНЦ РАН, Казань, Россия,
тел. +7(432)-31-90-42, e-mail: ¹gumeri@mail.ru, ²akulov_anton@mail.ru,
³nat_rumyantseva@mail.ru

Фенольные соединения (ФС) представляют собой один из наиболее распространенных и многочисленных классов природных соединений вторичного метаболизма, обладающих биологической активностью, отличительная особенность которых состоит в наличии свободного или связанного фенольного гидроксила.

Многие из них повышают работоспособность и сопротивляемость организма к неблагоприятным воздействиям и

имеют большие перспективы использования при лечении и предупреждении болезней человека (Hinneburg et al., 2006; Němcová et al., 2011; Zhang et al., 2012). ФС играют роль сильных антиоксидантов, обеспечивая защиту от окисления и повреждения свободными радикалами. В основе механизма их действия лежит нейтрализация свободных радикалов, подавление синтеза перекисей, ингибирование ферментов, участвующих в образовании активных форм кислорода.

Большинство ФС синтезируется только в растениях и в различных физиологических процессах – фотосинтезе, дыхании, росте, устойчивости растений к инфекционным болезням. Больше всего их содержится в активно функционирующих органах – листьях, цветках, плодах, ростках, а также в покровных тканях, выполняющих защитные функции.

Растения рода *Fagopyrum* Mill. отличаются высоким содержанием фенольных соединений. Интерес к гречихе как источнику биологически активных веществ отмечали ещё в конце XIX века. Высокое содержание рутина в траве гречихи татарской (до 6-8%) послужило стимулом для разработки промышленного способа получения этого соединения в США в конце 40-х – начале 50-х годов прошлого столетия (Couch et al., 1946). Тем не менее, исследования по анализу состава и антиоксидантных и прооксидантных свойств ФС гречихи до сих пор остаются актуальными. Определен основной состав ФС гречихи, его мажорные и минорные компоненты. В составе фенольных кислот из муки плодов гречихи татарской присутствуют *n*-гидроксibenзойная, феруловая, протокатеховая, *n*-кумаровая, галловая, ванилиновая, кофейная и сиринговая кислоты (причём *n*-гидроксibenзойная, феруловая и протокатеховая кислоты составляют 83-86% от общего количества фенольных кислот). В спектре флавоноидов преобладают в первую очередь рутин, а также кверцетин и катехин (Guo et al., 2011). Выявлены также кверцитрин, изокверцетин, кемпферол, витексин, ориентин, фагопирин, авикулярин, гиперозид, резвератрол и антоцианины. Гречиха татарская в целом синтезирует больше ФС, чем гречиха культурная. Содержание рутина в плодах гречихи татарской в 50-60 раз, в листьях – в 20 раз, а в проростках в 5 раз выше, чем в гречихе посевной.

Следует отметить, что большинство работ по изучению содержания ФС проводится в основном на растениях (Hinneburg et al., 2006; Li et al., 2010), проростках, плодах, крупе и муке гречихи (Kalinova, Vrchotova, 2009; Inglett et al., 2010; Guo et al., 2011; Němcová et al., 2011; Li et al., 2012). Метод культуры клеток и тканей

может служить альтернативой традиционному сельскохозяйственному процессу получения ценного сырья. Культивируемые *in vitro* клетки могут быть использованы как объект для изучения регуляции фенольного метаболизма, транспорта ФС и исследования их функций, а также в практических целях для производства ФС, обладающих высокой биологической активностью (Matkowski, 2008). Однако известно очень немного подобных работ с использованием клеточных и тканевых культур гречихи *in vitro*. В конце XX века группой исследователей под руководством Y. Moumou была проведена серия работ по изучению состава ФС в каллусных культурах и культурах «бородатых» корней двух видов гречихи (Moumou et al., 1987; Trotin et al., 1993). Moumou с соавт. (Moumou et al., 1992) сообщали о синтезе катехина, эпикатехина и эпикатехин-3-О-галлата каллусной культурой *F. esculentum* красного цвета. При этом основным синтезируемым веществом был эпикатехин-3-О-галлат в количестве 4,6 мг/г сух веса. Они установили также, что на его синтез влияли сахароза, 2,4-Д и освещение. Аналогичные работы проводятся сейчас в ряде исследовательских центров Китая, Южной Кореи и Японии (Lee et al., 2007; Kim et al., 2009; Uddin et al., 2012; Zhao et al., 2014). Большинство усилий исследователей направлено на использование в качестве объекта культур «бородатых» корней, полученных при трансформации *Agrobacterium rhizogenes* тканей гречихи культурной (Lee et al., 2007) и татарской (Kim et al., 2009; Uddin et al., 2012). Преимущества этого способа заключаются в быстром росте корней, их генетической стабильности и возможности выращивания на безгормональной среде. Kim с соавт. (Kim et al., 2009) сообщали о том, что общее количество ФС в «бородатых» корнях *F. tataricum* было в несколько раз выше, чем в обычных корнях, особенно это касалось рутина ($\times 10$) и эпикатехина ($\times 5$). Следует отметить, что доминирующим соединением был эпикатехин (3,04 мг/г сух веса), а не рутин (1,3 мг/г сух веса).

Известно, что условия культивирования клеток *in vitro*, а также стрессовые воздействия способны вызывать: 1) активизацию синтеза ФС, 2) значительные изменения фенольного метаболизма культуры. Достичь этого можно с помощью различных подходов: варьированием компонентов среды, изменением условий освещения, добавлением в среду культивирования веществ-предшественников, участвующих в биосинтезе искоемых соединений, использованием 2-3-х ступенчатой схемы культивирования или воздействием различных элиситоров (Kim et al., 2011). Использование более дифференцированных и морфогенных культур также способствует расширению спектра

синтезируемых ФС.

Нам не известны работы по анализу ФС в культурах *in vitro* гречихи татарской. Поэтому целью нашей работы было получение клеточных культур гречихи татарской *Fagopyrum tataricum* Gaertn. с высоким содержанием ФС, обладающих высокой антиоксидантной активностью.

Нами были получены морфогенные высокодифференцированные каллусные и суспензионные культуры гречихи татарской, иницированные из незрелых зародышей. Морфогенные каллусы гречихи татарской можно отнести к типичным эмбрионным, нодулярным культурам, которые состоят из проэмбриональных клеточных комплексов (ПЭКК) и мягкого каллуса-няньки, возникающего в процессе циклической реинициации ПЭКК (Румянцева и др., 1998). ПЭКК являются структурами, из которых на безгормональных средах формируются соматические зародыши (эмбриониды). Иницированные из каллусов суспензионные культуры сохраняют их морфогенетические свойства, но отличаются более быстрым нарастанием биомассы (в 20 раз) за меньший период пассажа (2 недели), а также повышенным содержанием ФС (приблизительно в 5 раз) (Сибгатуллина и др., 2012). Интересно, что в полученной нами морфогенной суспензионной культуре гречихи татарской общее содержание ФС и рутина было выше, чем в культурах бородатых корней (Kim et al., 2009) (соответственно 20,1 и 2,0 мг/г сух веса против 4,72 и 1,36 мг/г сух веса) при сопоставимой скорости роста бородатых корней и суспензионной культуры. Отличительной чертой морфогенной суспензионной культуры гречихи татарской по сравнению с неморфогенной культурой является большее накопление ФС (в 6,4 раза). Не исключено, что именно фактор происхождения из молодых, слабо дифференцированных, тканей незрелых зародышей имеет решающее значение при формировании у клеточной культуры высокой способности к синтезу ФС.

Как уже отмечалось, стрессовые воздействия могут значительно изменять количественный и качественный состав ФС клеточных культур гречихи татарской. Нами была показана возможность влияния метилжасмоната (МеЖ) на синтез ФС в суспензионной культуре гречихи татарской. Экзогенно добавленный МеЖ может активировать транскрипцию генов, вовлеченных в реализацию комплекса защитных реакций у растений (Creelman, Mullet, 1995). Наиболее сильное влияние МеЖ оказывает на регуляцию вторичного метаболизма, стимулируя накопление алкалоидов, терпеноидов, фенолов, кумаринов и

других соединений, обладающих антимикробной, антифунгицидной, инсектицидной, антиоксидантной активностью (Yan et al., 2013). Проведенные нами эксперименты показали, что МеЖ в концентрациях 0,01, 0,1, 1 и 10 мкМ не оказывал угнетающего воздействия на рост суспензионной культуры и стимулировал образование ФС, особенно на средах с добавлением 1 и 10 мкМ МеЖ. С увеличением концентрации МеЖ при увеличении содержания ФС наблюдали снижение антиоксидантной активности, что, вероятно, обусловлено развитием в суспензионной культуре окислительного стресса. Интересно, что после пассажа на среде с 10 мкМ МеЖ суспензионная культура почти полностью теряла способность к образованию эмбриоидов на безгормональной среде.

Метод ВЭЖХ выявил, что суспензионная культура гречихи татарской при культивировании в темноте синтезирует рутин, кверцетрин, эпикатехин, феруловую и *п*-кумаровую кислоты, из которых рутин является наиболее представленным соединением. Содержание эпикатехина было выше, чем в контроле, на протяжении всего пассажа; увеличение содержания *п*-кумаровой кислоты и рутина отмечали на 4–8-е сутки, а кверцетрина – на 8–14-е сутки. Активация синтеза этих соединений наблюдалась не к концу пассажа, как в контроле, а на более ранних сроках культивирования. Следует отметить резкое увеличение уровня внутриклеточной феруловой кислоты (при её следовых количествах в контроле), отмеченное только на 4-е сутки культивирования. Установлено, что МеЖ по-разному активировал биосинтез отдельных представителей ФС - усиление накопления эпикатехина, *п*-кумаровой и феруловой кислот было более значительным, чем рутин и кверцетрин. Помимо пиков идентифицированных ФС МеЖ стимулировал появление пиков новых соединений, отсутствующих или слабо выраженных в контроле.

Таким образом, разработанные нами подходы показали, во-первых, перспективность использования суспензионных культур гречихи татарской в качестве источника биологически активных ФС, а, во-вторых, наметили возможные способы изменения синтеза ФС в этих культурах.

Список литературы

1. Румянцева Н.И. и др. // Цитология. - 1998. - Т. 40, №10. - с. 835-842.
2. Сибгатуллина Г.В. и др. // Физиология растений. - 2012. - Т. 59, №5. С. 701-709.
3. Couch J.F. et al. // Science. – 1946. – V. 103. – P. 197-198.
4. Creelman R.A, Mullet J.E. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. - 1995. - V. 92. - P.

-
- 4114-4119.
5. Guo X.D. et al. // *Molecules*. – 2011. – V. 16(12). – P. 9850–9867.
 6. Hinneburg I. et al. // *Pharmazie*. – 2006. – V. 61. – P. 237–240.
 7. Inglett G.E. et al. // *Food Chemistry*. – 2010. – V. 119. – P. 1216–1219.
 8. Kalinova J., Vrchotova N. // *J. Agric. Food Chem.* – 2009. – V. 57 (7). – P. 2719–2725.
 9. Kim Y.K. et al. // *Journal of Crop Science and Biotechnology*. – 2009. – V. 12. – P. 53–58.
 10. Kim H.J. et al. // *J. Agric. Food Chem.* – 2011. – V. 59(10). – P. 5707–13.
 11. Lee S.Y. et al. // *Preparative Biochemistry and Biotechnology*. – 2007. – V. 37. – P. 239–246.
 12. Li D. et al. // *Food Sci. Biotechnol.* – 2010. – V. 19. – P. 711–716.
 13. Li X. et al. // *J. Agric. Food Chem.* – 2012. – V. 60 (22). – P. 5629–5635.
 14. Matkowski A. // *Biotechnol. Adv.* – 2008. – V. 26(6). – P. 548–60.
 15. Moumou Y. et al. // *Ann. Pharm. Fr.* – 1987. – V. 45(3). – P. 255–260.
 16. Moumou Y. et al. // *Phytochemistry*. – 1992. – V. 31(4). – P. 1239–1241.
 17. Němcová L. et al. // *Food Chemistry*. – 2011. – V. 126. – P. 374–378.
 18. Trotin F. et al. // *Phytochemistry*. – 1993. – V. 32. – P. 929–931.
 19. Uddin M.R. et al. // *Weed Research*. – 2012. – V. 52(1). – P. 25–33.
 20. Yan Y. et al. // *Lipid Metabolism* / Ed. Baez R.V. *InTech*. – 2013. – P. 393–442.
 21. Zhang Z.-L. et al. // *Food Res. Int.* – 2012. – V. 49. – P. 389–395.
 22. Zhao J. et al. // *Prep. Biochem. Biotechnol.* – 2014. – V. 44(8). – P. 782–794.
-

УДК 581.132

ВЛИЯНИЕ САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ НА АКТИВНОСТЬ ПРООКСИДАНТОВ У РАСТЕНИЙ КАРТОФЕЛЯ

Давлятназарова З.Б., Шукурова М.Х., Алиев К.

Институт ботаники, физиологии и генетики растений Академии наук,
Таджикистан, Душанбе, (+99237)224-71-88, zulfiyad@gmail.com

Ранее нами было показано, что адаптационные возможности растений к стрессорному воздействию связаны с особенностями генотипов и их способностью к синтезу стрессовых мРНК и белков [1]. В данной работе мы исследовали действие салициловой кислоты на индуцируемый синтез стрессорных белков. Салициловая кислота (СК) - химическое соединение фенольной природы, оказывающее влияние на повышение устойчивости растений к различным стрессорам, таким как засуха, низкая и высокая температуры. СК индуцирует синтез многих стрессовых белков [2,3,4]

Предполагается возможная связь СК с экспрессией ряда генов, участвующих в синтезе стрессовых белков [4]. Однако

выявление связи СК с экспрессией транскриптонов, специфичных к стрессорам, недостаточно изучено. В связи с этим мы изучали действие СК на содержании РНК, белка и антиоксидантных ферментов у растений-регенерантов картофеля.

Растения-регенеранты картофеля (*Solanum tuberosum* L.) сорта Пикассо, выращенные *in vitro* переносили в водную культуру и выдерживали в течение 5-ти дней при температуре 23-25°C и 16 часовом фотопериоде. Затем растения обрабатывали СК различной концентрации (от 0.03 до 0.45 мМ) в течение 24 ч. и переносили в пробирки, содержащие полиэтиленгликоль (ПЭГ - 4000) для имитации засухи или 1% раствор NaCl. Через 24 ч воздействия стресса в листьях растений-регенерантов определяли содержание белков, РНК и активность прооксидантов. В качестве контроля использовали растения, не обработанные СК.

Обработка растений салициловой кислотой оказывала влияние на содержание белков и РНК. Причем концентрация 0.03 мМ СК не оказывала влияние на стимуляцию синтеза РНК, а содержание белков при этом незначительно увеличилось.

Результаты определения содержания белков и РНК в листьях растений-регенерантов картофеля, обработанных салициловой кислотой приведены в таблице.

Небольшое снижение содержания РНК наблюдалось при концентрациях СК, превышающих 0.30 мМ. Наибольшее влияние на увеличение содержания РНК салициловая кислота оказывала в диапазоне концентраций от 0.12 мМ до 0.25 мМ. При этих концентрациях СК содержание РНК составляло 153-190% от контроля.

Характер воздействия СК на общее содержание белка несколько отличался. В отличие от синтеза РНК, СК оказывала влияние на содержание белка даже при обработке растений низкими концентрациями (0.03мМ). При повышении концентрации СК до 0.15 мМ наблюдалось увеличение содержания белка до 165% от контроля. Дальнейшее повышение концентрации СК оказывало отрицательное действие на содержание белка, а при концентрациях превышающих 0.35мМ наблюдалось снижение содержания белка ниже контроля.

Необходимо отметить, что синтез РНК стимулируется даже при высоких концентрациях СК (выше 0.35мМ), а накопление белка подавляется уже при концентрации 0.2мМ и выше. Это можно объяснить тем, что СК в этих концентрациях способна стимулировать накопление антиоксидантных ферментов, независимо от стимуляции синтеза РНК.

Таблица 1.

Содержание белка, РНК и прооксидантов в зависимости от концентрации салициловой кислоты (СК).

Концентрация СК, мМ	Белок, % от контроля	РНК, % от контроля	МДА, мкмоль/г сырой массы	H ₂ O ₂ , мкмоль/г сырого веса
0	100	100	23.5	55.7
0.03	107	100	20.7	56.1
0.06	113	111	15.4	57.2
0.09	135	117	13.2	50.2
0.12	145	153	11.7	48.1
0.15	165	183	10.5	44.4
0.20	160	193	12.0	43.3
0.25	153	190	16.5	30.1
0.30	135	160	18.4	33.5
0.35	93	144	25.1	58.4
0.40	64	140	30.3	66.3
0.45	56	130	40.1	75.5

В то же время СК является ингибитором ферментов, разрушающих перекись водорода[3,5] и избыток СК может привести к увеличению содержания H₂O₂ в растениях. Данные, представленные в табл. показывают, что обработка растений концентрациями СК от 0.03 до 0.15 мМ оказывала небольшое ингибирование образования МДА у растений-регенерантов картофеля.

При повышении концентрации СК от 0.2 до 0.3мМ наблюдалось увеличение содержания МДА, но оно оставалось ниже контроля, а увеличение концентрации СК выше 0.3мМ резко усиливало активацию ПОЛ. Полученные результаты показывают, что низкие концентрации СК могут снижать повреждения, вызванные солевым стрессом, при котором наблюдается увеличение содержания МДА, а высокие концентрации оказывают отрицательное воздействие.

Изучение действия СК на накопление H₂O₂ показало, что концентрация СК ниже в пределах 0.03-0.09 мМ практически не оказывает влияния на образование H₂O₂ у растений, а при увеличении концентрации СК выше 0.35мМ содержание H₂O₂ повышается. По всей видимости, одной из причин такого неоднозначного воздействия обработки растений картофеля СК может являться активация антиоксидантных ферментов.

Таким образом, салициловая кислота (СК) при солевом стрессе в низких концентрациях повышала содержание РНК и

белков, а при более высоких концентрациях, наоборот, заметно снижала содержание белка при повышенном содержании РНК. Низкие концентрации СК вызвали уменьшение содержания малонового диальдегида и перекиси водорода, а повышение ее концентрации приводило к повышению их содержания.

Полученные нами результаты указывают на то, что СК может стимулировать экспрессию стрессовых генов и накопление ферментов антиокислительных систем и является одним из внутриклеточных регуляторов, снижающих токсическое действие стрессоров.

Список литературы

1. *Мирзохонова Г.О., Давлятназарова З.Б., Назарова Н.Н, Алиев К. А.* Действие водного стресса на содержание полирибосом растений - регенерантов картофеля // Доклады АН РТ. 2004. №11-12. С.70-78.
2. *Бурханова Э.А., Федина А.Б., Кулаева О.Н.* Сравнительное изучение влияния салициловой кислоты и 2-5-олигоаденилатов на синтез белка в листьях табака при тепловом шоке // Физиология растений. 1999. Т.46, №1. С.16-22.
3. *Шакирова Ф.М.* СК—индуктор устойчивости растений //Агрохимия. 2000. №11. С.87-95.
4. *Тарчевский И. А., Яковлева В. Г., Егорова А. М.* Индукция салициловой кислотой компонентов олигомерных белковых комплексов//Физиология растений. 2012.Т.59,№4. С.532-542.
5. *Пестова Е. Л.* Влияние салициловой кислоты на состояние перекисного гомеостаза растений гороха при преадаптации к тепловому шоку: Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. Н.Н.: НГУ. 2007. 24 с.

УДК 577.15.086.83: 615. 322

ВЛИЯНИЕ МЕТИЛЖАСМОНАТА И САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ НА АКТИВНОСТЬ L-ФЕНИЛАЛАНИНАМИАК-ЛИАЗЫ И СОДЕРЖАНИЕ ГИДРОКСИКОРИЧНЫХ КИСЛОТ В СУСПЕНЗИОННОЙ КУЛЬТУРЕ ECHINACEA PURPUREA

Дитченко Т.И., Кравчук К.А.

Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь,
ditchenko@bsu.by

Представители рода *Echinacea* содержат комплекс фармакологически активных веществ, среди которых доминирующим классом являются фенилпропаноиды, в частности, свободные гидроксикоричные кислоты (ГК) и их производные.

Данные соединения в сочетании с полисахаридами эхинацеи обеспечивают иммуностимулирующее, противовоспалительное, противовирусное действие, а также проявляют выраженные антиоксидантные свойства [1-2]. Из всех видов эхинацеи *Echinacea purpurea* (L.) Moench является лидером по содержанию ценных веществ и представляет наибольший интерес в качестве лекарственного сырья, которое используется в медицине с целью получения препаратов для коррекции нарушений функций иммунной системы. Методы культивирования клеток и тканей данного лекарственного растения в условиях *in vitro* позволяют альтернативным способом получать биомассу, содержащую комплекс фенолпропаноидов.

Производство вторичных метаболитов культурами растительных клеток и тканей зависит от многих факторов. Исследования, направленные на установление механизмов регуляции синтеза биологически активных веществ в клеточных культурах, являются важными при разработке высокоэффективных способов получения биомассы с более высоким содержанием этих соединений. Значительный интерес представляет изучение регуляции активности ключевых ферментов вторичного метаболизма, в частности L-фенилаланинаммиак-лиазы (ФАЛ), поскольку использование модуляторов их активности дает возможность повысить уровень накопления целевых продуктов за счет перераспределения предшественников с первичных метаболических путей на вторичный синтез.

Одной из стратегий повышения биосинтетического потенциала культур растительных клеток и тканей является обработка элиситорами. Салициловая кислота (СК) и метилжасмонат (МЖ) являются сигнальными молекулами, широко используемыми в качестве элиситоров, стимулирующих синтез вторичных метаболитов во многих растениях, культурах растительных клеток и тканей. В связи с этим целью настоящей работы явилось установление закономерностей воздействия МЖ и СК на активность ФАЛ и уровни накопления ГК в клетках суспензионной культуры эхинацеи пурпурной (*Echinacea purpurea* (L.) Moench).

В работе использовалась длительно пассируемая клеточная суспензия, культивирование которой осуществлялось с помощью термостатируемого шейкера ротационного типа на питательной среде Мурасиге и Скуга с добавлением фитогормонов. Продолжительность цикла выращивания составляла 15 сут. Внесение в среду МЖ и СК осуществлялось в конце фазы

логарифмического роста культуры (10-е сут). Определение активности ФАЛ [3] и содержания ГК [4] производили в стационарную фазу (15-е сут). Указанный режим обработки культуры элиситорами был выбран исходя из концепции двухстадийного культивирования, при котором первая стадия заключается в создании условий для активной наработки биомассы культуры, а вторая – условий для максимального синтеза целевых метаболитов.

При изучении эффектов МЖ в диапазоне концентраций от 10^{-7} до $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л было установлено, что максимальный стимулирующий эффект указанного элиситора на активность ФАЛ проявлялся в концентрации $5 \cdot 10^{-5}$ моль/л и достигал в среднем 1,5 раза. При действии более низких концентраций (10^{-6} и 10^{-5} моль/л) и более высокой концентрации (10^{-4} моль/л) стимуляция была менее выраженной и составляла 1,2-1,3 раза. Наибольший рост уровней накопления ГК (в 1,8 раза относительно контроля) отмечался в результате воздействия 10^{-5} моль/л МЖ. В присутствии $5 \cdot 10^{-5}$ и 10^{-4} моль/л МЖ рост содержания ГК не превышал 1,5 и 1,3 раза, соответственно. В концентрации $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л МЖ вызывал выраженное ингибирование продукции ГК суспензионной культурой *E. purpurea*, что было обусловлено, как снижением прироста биомассы культуры, так и подавлением биосинтеза анализируемых метаболитов фенольной природы под действием ФАЛ.

Анализ концентрационных зависимостей воздействия экзогенной СК на суспензионную культуру *E. purpurea* показал, что повышение активности ФАЛ в клетках исследуемой суспензионной культуры отмечалось в присутствии 10^{-5} - 10^{-4} моль/л СК. Стимулирующий эффект составлял в среднем 20-25 % относительно контроля. Рост уровней накопления ГК наблюдался в результате воздействия 10^{-5} и $5 \cdot 10^{-5}$ моль/л СК и не превышал 30%. В самой высокой из испытанных концентраций ($5 \cdot 10^{-4}$ моль/л) СК индуцировала снижение биосинтетического потенциала культуры *E. purpurea* в отношении ГК, а также резкое снижение активности ФАЛ. Наряду с этим СК проявляла хорошо выраженные свойства фенольного ингибитора роста, что выражалось в уменьшении сухого веса клеток суспензионной культуры. Полученные результаты позволяют заключить, что подавление работы ФАЛ в клеточной суспензии *E. purpurea* в данных условиях обусловлено общим ингибированием метаболических процессов в присутствии СК.

Таким образом, повышение уровней накопления ГК в клеточных культурах *E. purpurea* в результате обработки МЖ и СК

может быть обусловлено возрастанием активности ФАЛ как ключевого фермента, обеспечивающего биосинтез указанных вторичных метаболитов класса фенилпропаноидов. Анализ концентрационных зависимостей воздействия исследуемых соединений позволяет сделать заключение о том, что МЖ выступает в роли более эффективного элиситора по сравнению с СК, индуцируя более существенный рост содержания ГК в клетках суспензионной культуры *E. purpurea*. Для повышения продукционного потенциала исследуемой суспензионной культуры может быть рекомендовано использование МЖ в концентрации 10^{-5} моль/л в конце фазы логарифмического роста.

Список литературы

1. Самородов, В.Н. Фитохимический состав представителей рода Эхинацея (*Echinacea* Moench.) и его фармакологические свойства / В.Н. Самородов [и др.] // Химико-фармацевтический журнал. – 1996. № 4. – С. 32-37.
2. Бизунок, Н.А. Эхинацея: ботаника, история, химия, фармакология / Н.А. Бизунок // Медицинские новости. – 2006. №4. – С. 19-26.
3. Куркин, В.А. Количественное определение суммы гидроксикоричных кислот в надземной части *Echinacea purpurea* / В.А. Куркин [и др.] // Растительные ресурсы. – 1998. – Т. 34, Вып. 2. – С. 81-85.
4. Zucker, M. Sequential Induction of Phenylalanine Ammonia-lyase and a Lyase-inactivating System in Potato Tuber Disks / M. Zucker // Plant Physiol. – 1968. – Vol. 43, № 3. – P. 365-374.

УДК 547.992.3:541.13

ЛИГНИН КАК ЛИНЕЙНЫЙ ОЛИГОМЕР

Евстигнеев Э.И.

Санкт-Петербургский государственный лесотехнический университет,
Санкт-Петербург, Россия, тел. (812) 5527724, e-mail: edward_evst@mail.ru

Лигнин – второй по распространенности на Земле биополимер и поэтому он является постоянным объектом фундаментальных и прикладных исследований. Современное состояние знаний о строении, реакционной способности и растворимости лигнина рассмотрено в монографии [1]. Здесь отметим, что, являясь полифункциональным, полидисперсным, нерегулярным гетерополимером, лигнин представляет собой достаточно сложный объект для изучения его структуры. Особенно это касается топологической структуры.

В соответствии с традиционными взглядами [2], природный

лигнин представляет собой трехмерный сетчатый полимер. Эта точка зрения является традиционной, но не единственной. По мнению Фрейденберга [3], молекулярная масса (ММ) лигнина невелика, но его макромолекула разветвлена и трехмерна. Добавим, что для трехмерных сетчатых полимеров понятие ММ утрачивает физический смысл.

В связи с широким использованием в химии лигнина современных физических методов исследования за последние годы получены результаты, не укладывающиеся в рамки традиционных представлений. Не случайно поэтому в публикациях последних лет наблюдается эволюция взглядов на строение лигнина. Как отмечается в обзоре [4], лигнин характеризуется двумя различными типами макромолекул, а именно линейными и разветвленными. И, наконец, утверждается, что лигнин состоит из агрегатов линейных олигомеров [5, 6]. Существование линейных молекул в низкомолекулярной фракции лигнина эвкалипта доказано экспериментально методом масс-спектрометрии [7]. Способность лигнина, в отличие от полимеров, проявлять диффузионные волны при электрохимическом восстановлении или окислении на различных электродах также позволяет отнести его к олигомерам [8].

Отметим также продолжающуюся дискуссию относительно биосинтеза лигнина. В соответствии с традиционными представлениями [2], причиной многообразия связей между ФПЕ и неупорядоченности строения лигнина являются особенности его биосинтеза. Из предшественников лигнина (кониферилового и других спиртов) под действием ферментов дегидрогеназ и оксидаз образуются резонансно-стабилизированные феноксильные радикалы. Рекомбинация радикалов происходит по закону случая, а частота участия в реакциях рекомбинации различных положений ФПЕ зависит от относительного распределения спиновой электронной плотности и вклада резонансных структур в резонансный гибрид. Таким образом, в отличие от полисахаридов образование макромолекул лигнина происходит без ферментативного контроля. Поэтому природный лигнин является нерегулярным гетерополимером.

В соответствии с альтернативной теорией биосинтеза этого природного полимера, разрабатываемой Льюисом с соавторами, изложенной в обзоре [9], рекомбинация образовавшихся на первой стадии феноксильных радикалов происходит не по закону случая, а контролируется ферментами с образованием небольшого числа первичных структурных фрагментов по механизму матричной репликации. Данная теория пока не получила поддержки со

стороны специалистов, придерживающихся традиционных представлений.

И все же остается открытым вопрос о том, почему структура компонентов древесины закодирована генетически, а их биосинтез протекает под ферментативным контролем – всех компонентов, за исключением лигнина. Почему, как об этом указано в работе [10], не существует двух одинаковых молекул лигнина?

С точки зрения биосинтеза и локализации лигнина в древесных растениях представляет интерес изучение химического состава хвои ели. Полученные результаты позволяют достаточно обоснованно утверждать, что в хвое лигнин отсутствует, особенно если учитывать те функции, которые он выполняет в клеточной стенке древесных волокон [11].

Список литературы.

1. Евстигнеев Э.И. Путь волокна. Значение структуры древесины в технологии волокнистых полуфабрикатов и бумаги. СПб.: Химиздат. 2012. 308 с.
2. Лигнины. Структура, свойства и реакции / Под ред. К.В. Сарканена, К.Х. Людвиг. Пер. с англ. М.: Лесн. пром-сть. 1975. 632 с.
3. Freudenberg K. Lignin: its constitution and formation from p-hydroxycinnamyl alcohols. Science. 1965. Vol. 148. No. 3670. P. 595-600.
4. Gellerstedt G., Henriksson G. Lignins: major sources, structure and properties // Monomers, Polymers and Composites from Renewable Resources / M. N. Belgacem, A. Gandini (eds.). Amsterdam: Elsevier. 2008. P. 201-224.
5. Crestini C., Melone F., Sette M., Saladino R. Milled wood lignin: a linear oligomer. Biomacromolecules. 2011. Vol. 12. No. 11. P. 3928-3935.
6. Crestini C. Lignin structure: a revisitation of current paradigms through NMR analysis. Proceedings of 13th European Workshop on Lignocellulosics and Pulp. June 24-27. Seville, Spain. 2014. P. 59-62.
7. Evtuguin D.V., Amado F.M.L. Application of electrospray ionization mass spectrometry to the elucidation of the primary structure of lignin. Macromol. Biosci. 2003. Vol. 3. P. 339-343.
8. Евстигнеев Э.И. Электрохимические реакции лигнина. Обзор. Химия растительного сырья. 2014. № 3. С. 5-42.
9. Davin L.B., Lewis N.G. Lignin primary structure and dirigent sites // Current Opinion in Biotechnology. 2005. Vol. 16. No 4. P. 407-415.
10. Ralph J., Lundquist K., Brunow G., Lu F., Kim H., Schatz P.F., Marita J.M., Hatfield R.D., Christensen J.H., Boerjan W. Lignins: natural polymer from oxidative coupling of 4-hydroxyphenylpropanoids // Phytochemistry Rev. 2004. Vol. 3. No 1. P. 29-60.
11. Evstigneyev E., Pranovich A., Rochtchine V., Reunanen M., Vinogradova O., Holmbom B. Isolation of «Bjorkman lignin» from needles of spruce, *Picea abies* (L.) Karst. // Proceed. of 8th European Workshop on

УДК 581.1.05

ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ СУТОЧНОЙ И СЕЗОННОЙ ДИНАМИКИ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ЛИСТЬЯХ И СОЦВЕТИЯХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ

Живетьев М.А., Дударева Л.В., Граскова И.А., Войников В.К.

Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, Россия, тел. (3952) 42-67-21, nik.19@mail.ru

Объектом исследования служили листья и соцветия манжетки городковатой *Alchemilla subcrenata* Buser и вероники дубравной *Veronica chamaedrys* L. произрастающей на левом берегу реки Выдриная в 700 м от уреза озера Байкал, стационар Сибирского института физиологии и биохимии растений (СИФИБР) СО РАН «Речка Выдриная», юго-восточное побережье Байкала, разнотравный луг. Пробы отбирались в течение суток в 9⁰⁰, 15⁰⁰ и 21⁰⁰ часа 25 июня, 15 августа и 19 сентября 2013 г. Выбор времени суток для отбора был привязан к наиболее заметным изменениям в суточном ходе температур атмосферного воздуха. Определение содержания фенольных соединений (ФС) осуществляли после тройного экстрагирования кипящим 80% метанолом и очисткой объединенного экстракта хлороформом от липофильных пигментов с последующей экстракцией фенольного комплекса этилацетатом. В 4 мкл экстракта определяли содержание фенольных соединений методом ВЭЖХ на микроколоночном хроматографе «Милихром А-02» (Россия). Условия анализа: колонка 2×75 мм, сорбент ProntoSil 120-5-С 18 AQ # 2362 (обращено фазный), температура 40 °С, скорость потока 100 мкл/мин, градиент 40 мин от 5 до 100% ацетонитрила. Элюенты: 0,2 М LiClO₄ – 0,005 М HClO₄ в H₂O; CH₃CN. Детектирование осуществляли с помощью УФ-детектора на длинах волн 210, 220, 230, 240, 250, 260, 280, 300 нм.

Выявлены небольшие отличия в количественном и качественном составе фенольных соединений даже в разных листьях одного вида, отобранных в одно время (в разных биологических повторях). В то же время, отличия в разное время суток были еще более выражены. Так, в суточной динамике конца июня выявлено увеличение разнообразия фенольных соединений в листьях манжетки в 21 час до 35 пиков против 24-25 в утренние и послеобеденные часы. В соцветиях манжетки динамика

флавоноидов было иной и характеризовалось большей стабильностью состава и представлено 27, 23 и 25 пиками соответственно утром, днем и вечером.

В конце сентября в листьях манжетки количественный состав фенольных соединений минимален в 14-15 часов дня (22 пика), в то время как вечером он максимально разнообразен (27 соединений). Утром число пиков составило 25. Иная суточная динамика флавоноидов в листьях манжетки выявлена в конце августа. В этот период максимум фенольных соединений пришелся на 8-9 утра и 14-15 дня (31-32 пика) соответственно при 25 пиках в 20-21 час вечера.

Для тканей и органов вероники дубравной характерно большее разнообразие фенольных соединений, представленное на хроматограммах 35-45 пиками. Причем, 19 сентября наибольшее разнообразие ФС в листьях вероники приходится на вечер (39-40), 15 августа – на раннее утро (44 соединения), а 25 июня – на 14 часов дня (42 пика). Ожидаемо разнообразие фенольных соединений в соцветиях вероники дубравной было выше, чем в листьях и варьировало в течение суток от 35 (в 14-15 часов) до 45 (в 21⁰⁰).

УДК 581.1; 502.55

ВЛИЯНИЕ МИКРОЭЛЕМЕНТОВ НА НАКОПЛЕНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В МОЛОДЫХ ФЛЕШАХ ЧАЙНОГО РАСТЕНИЯ

**Загоскина Н.В.¹, Лапшин П.В.¹, Чистяков Ф.Е.², Малюкова Л.С.³,
Притула З.В.³, Назаренко Л.В.²**

¹ФГБУН Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, Россия, тел. (495)97794-33, e-mail: p.lapshin@mail.ru

²Институт математики, информатики и естественных наук ГБОУ ВО Московский городской педагогический университет, Москва, Россия, e-mail: nlv.mgpu@mail.ru

³ФГБУН Всероссийский научно-исследовательский институт цветоводства и субтропических культур, Сочи, Россия, e-mail: malukovals@mail.ru

Чай – уникальная субтропическая культура, которая в настоящее время успешно культивируется в субтропиках Краснодарского края. Для закладки этих плантаций был использован семенной материал из Грузии и, частично, из Китая [4, 6]. В дальнейшем при закладках использовали сортовой материал, характеризующийся высокой урожайностью (до 70–90 ц/га) и

повышенной потребностью в элементах питания [10]. И в этом случае «возросла» роль микроэлементов, влияющих на качество чая [7-9].

Чайные растения обладают особенностью к накоплению значительных количеств разнообразных фенольных соединений, то есть относятся к фенол-накапливающим культурам [3, 5]. Именно состав и содержание этих соединений вторичного метаболизма определяют качество получаемого из них чая [3, 5, 11]. Нельзя забывать и о том, что основными компонентами экстрактов чая являются флаваны, в том числе простые и галлированные формы катехинов, которые проявляют Р-витаминную капилляроукрепляющую активность [1, 3, 11, 12]. Наилучшим материалом для получения чая являются молодые побеги (3-листные флешы) растений, для которых характерна высокая способность к биосинтезу полифенолов [8, 13].

Все вышеизложенное послужило основанием для изучения накопления фенольных соединений, включая и флаваны, в 3-листных флешах растений чая, выращенных при различных подкормках мезо- и микроэлементами.

Объект и методы исследования. Исследования проводились в условиях полевого опыта на плантации чая сорта Колхида (1983 г. посадки), расположенной в районе Большого Сочи (пос. Уч-Дере, ЗАО «Дагомысчай»). Опыт был заложен в 2003 и содержал 7 вариантов (кг/га д.в.): 1) контроль (фон) – N240P70K90; 2) сернокислый магний – Mg 60; 3) сернокислый цинк – Zn 4,3; 4) борная кислота – B 6; 5) кристаллическая сера – S 1000; 6) кальцийсодержащий материал – 100 CaO; 7) смесь элементов (Mg60 + Zn4,3 + B6). Размер опытных делянок – 10 м². Повторность 3-х кратная. Ежегодно мезо- и микроудобрения вносили на фоне макроудобрений в весенний период в дозе N240P70K90 кг/га д.в., которая установлена исходя из обеспеченности почв NPK. Объектом исследования являлись 3-листные флешы чайных растений (*Camellia sinensis* L). Растительные образцы отбирали в мае и июле месяцах, высушивали и измельчали. Вегетационный период 2014 г. характеризовался оптимальной для культуры чая среднесуточной температурой летнего периода (среднесуточная температура 22,4 °С в июне-августе) и достаточным количеством суммы осадков за вегетационный период (926,4 мм за май–сентябрь).

Фенольные соединения извлекали из растительного материала экстракцией 96%-ным этанолом. В этанольных экстрактах определяли суммарное содержание фенольных соединений (с реактивом Фолина-Дениса) и содержание флаванов

(с ванилиновым реактивом) [13]. Калибровочную кривую строили по (-)-эпикатехину.

результаты и обсуждение. Содержание суммы растворимых фенольных соединений является важным показателем биосинтетической способности растительных тканей [1, 2, 3, 16]. Как следует из полученных нами данных, в первую волну роста молодых флешей (май) наибольшее накопление полифенолов в 3-листных флешах отмечено в вариантах с подкормкой кальцием и смесью всех микроэлементов. При действии магния и серы – их содержание также было высоким и превышало контрольные значения. Что касается действия бора, то в этом случае количество полифенолов было низким.

В 3-листной флешке второй волны роста (июль) отмечалось накопление полифенолов относительно мая почти во всех случаях (рис. 1). Исключением являлись лишь три варианта. Так, в присутствии магния – их уровень не изменялся, а в присутствии кальция и смеси всех микроэлементов – снижался.

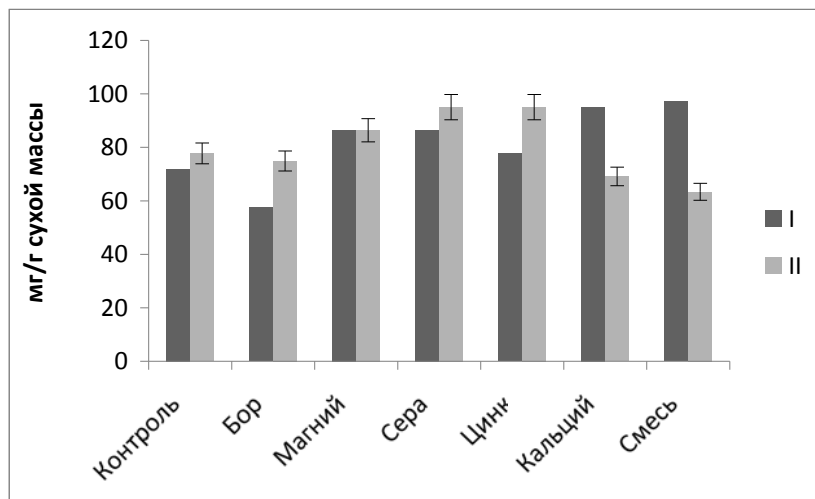


Рис. 1. Изменения в содержании суммы растворимых фенольных соединений в листьях 3-листных флешей растений чая (I – май, II - июль месяцы), выращенных в присутствии различных мезо- и микроэлементов.

Как уже отмечалось выше, основными компонентами фенольного комплекса чайного растения являются флаваны. Их образование является предметом многочисленных исследований [1-3, 5, 7-9, 12-15]. В нашем случае, характер их накопления по вариантам опыта [рис. 2], аналогичен таковому суммарного

накопления полифенолов. Во всех случаях, содержание флаванов возрастало с мая по июль, за исключением варианта с воздействием кальция и смеси всех микроэлементов.

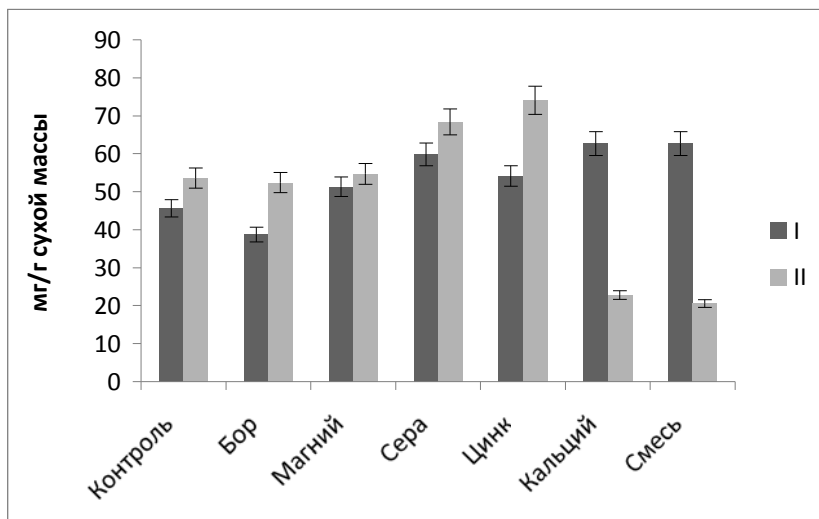


Рис. 2. Изменения в содержании флаванов в 3-листных флешах растений чая (I – май, II - июль месяцы), выращенных в присутствии различных мезо- и микроэлементов.

В большей степени количество этих биологически-активных веществ повышалось с мая по июль в листьях растений при подкормке бором и цинком. О том, что бор повышает накопление фенольных соединений в растительных тканях отмечалось и другими авторами [14, 15].

Все это свидетельствует об изменениях в биосинтетической способности растений чая в отношении образования полифенолов по мере их онтогенетического развития. И кроме того, используя различные микроэлементы можно повысить их накопление в листьях молодых флешей чая, что имеет важное практическое значение при оценке растительного сырья.

Список литературы:

1. Багиров А.Ю. Танин и качество чая // Субтроп. культуры. 1972. № 2. С. 29–31.
2. Бокучава, М.А. О природе и значении дубильных веществ чайного листа // Биохимия чайного производства. 1950. С. 45–60.
3. Воронцов В.Е. Биохимия чая. М.: Пищепромиздат, 1946. 279 с.

-
4. Воронцов В.В., Штейман У.Г. Возделывание субтропических культур. М.: Колос, 1982. 269 с.
 5. Джемухадзе М.К. Дубильные вещества и качество чайного сырья // Биохимия чайного производства. М., 1950. Сб. 6. С. 39–52.
 6. Дараселия М.К. и др. Культура чая в СССР /Отв. ред. Р.Д. Панцхава. Тбилиси: Мецниереба, 1989. 558 с.
 7. Притула З.В., Белоус О.Г. Влияние микроэлементов на химический состав и продуктивность растений чая // Бюл. ВНИИУиА им. Д.Н. Прянишникова / под ред. Н.З. Милащенко. М. : ВИУА, 2001. № 115. С. 12–13.
 8. Притула З.В., Малюкова Л.С., Козлова Н.В. Влияние минеральных удобрений на биохимические показатели качества чайного листа сорта Колхида в условиях субтропиков России // Агрохимия. 2011. № 3.С. 33–40.
 9. Притула З.В., Великий А.В., Малюкова Л.С. Влияние мезо- и микроудобрений на качество чайного сырья в условиях Черноморского побережья России. // Плодоводство и ягодоводство России : сб. науч. работ ВСТИСП. М., 2014. Т.38. Вып. 2. С.52–58.
 10. Туов М.Т., Троянская А.И. Особенности возделывания чая сорта Колхида в условиях Краснодарского края // Выращивание субтропических культур на Черноморском побережье Краснодарского края : науч. тр.1988. Вып. 32. С. 15–20.
 11. Anesini C., Ferraro G. E., Filip R. Total Polyphenol Content and Antioxidant Capacity of Commercially Available Tea (*Camellia sinensis*) in Argentina // J. Agric. Food Chem. 2008. V. 56. P. 9225–9229.
 12. Sharangi A.B. Medicinal and therapeutic potentialities of tea (*Camellia sinensis* L.) // Food Research International. 2009. V. 42. P. 529–535.
 13. Nor Qhairul Izzreen. Phytochemicals and antioxidant properties of different parts of *Camellia sinensis* leaves from Sabah Tea Plantation in Sabah, Malaysia.// International Food Research Journal. 2013. V. 20(1). P. 307–312.
 14. Gohian, T., Barbora, A.C. and Deka, A. Effect of boron on yield and quality of tea // Journal of Plantation Crops. 2000. V. 28(1). P. 67–71.
 15. Pathak S.K., Pradhan, S.K. Effect of Boron and Manganese sulphate in yield and quality of Darjeeling Tea (*Camellia sinensis* L.). Proc. 34th Tocklai conference. Held in 28th to 30th Nov. 2005. P. 267–273.
 16. Yongzhen Pang, I. Sarath B Abeysinghe, Ji He, Xianzhi He, David Huhman, K. Mudith Mewan, Lloyd W. Sumner, Jianfei Yun, Dixon R.A. Yongzhen Pang. Functional characterization of proanthocyanidin pathway enzymes from tea (*Camellia sinensis*) and their application for metabolic engineering // Plant Physiology Preview. 2013. V.3.P.112–132.
-

НАКОПЛЕНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ И ДРУГИХ ВТОРИЧНЫХ МЕТАБОЛИТОВ В РАСТЕНИЯХ БАЗИЛИКА ЭВГЕНОЛЬНОГО В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СПЕКТРАЛЬНОГО КАЧЕСТВА СВЕТА

Иваницких А.С., Тараканов И.Г.

ФГОУ ВО «Российский государственный аграрный университет – МСХА
имени К.А.Тимирязева», Москва, Россия, тел.: +789165062094, e-mail:
alinena@yandex.ru

Синтез и накопление в сельскохозяйственных растениях, веществ вторичного обмена, их количество и состав непосредственно влияют на качество получаемой продукции, ее вкус, аромат и привлекательный внешний вид. Одним из уникальных по содержанию различных типов химических соединений растений является представитель семейства Яснотковые (*Lamiaceae*) - базилик. Его применяли в качестве лекарственного растения еще за несколько тысячелетий до нашей эры. Интересно, что у народов, в кухне которых базилику отведена особая роль, отмечается долголетие. Множество современных исследований подтверждают его удивительные свойства, определяемые биосинтезом ряда уникальных веществ [1, 2].

Мы изучаем возможности контроля и направленного биосинтеза целевых соединений в растениях базилика в зависимости от светового режима выращивания при варьировании спектрального состава света. Данное направление имеет важное практическое значение в контексте оптимизации производственного процесса при выращивании листостебельной продукции зеленных овощей в теплицах в осенне-зимний период, а также в изолированных от естественного света инженерных системах интенсивного культивирования (фабриках растений) [3, 4]. Наиболее перспективными облучателями с этой точки зрения, а также в связи с необходимостью повышения эффективности использования электроэнергии в светокультуре растений являются светоиспускающие диоды (СИД) [5].

Объект исследований – растения базилика эвгенольного *Ocimum basilicum*, выращиваемые в почвенной культуре в вегетационных сосудах в контролируемых условиях Лаборатории искусственного климата РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева с использованием СИД с излучением в красной и синей области, белых светодиодов и натриевых ламп высокого давления (НЛВД) в качестве стандарта. Световые режимы: красный свет, синий и

красный, белый свет. Фотопериод 18 ч, плотность потока фотонов 160-170 мкмоль/м²с.

В опытных вариантах у растений определяли в динамике накопление биомассы, содержание хлорофиллов, каротиноидов и антоцианов. Качественное и количественное определение компонентов эфирных масел проводили методом газовой хроматографии с пламенно-ионизационным и масс-селективным детектированием с идентификацией веществ по библиотекам масс спектров, при использовании метода внутреннего стандарта.

Растения базилика характеризуются разнообразием форм по окраске листьев, аромату, величине листьев и сроках цветения и вегетации. Наиболее востребованными сортами, по данным отдела реализации продукции агрохолдинга «Московский» (более 80% от объема реализуемой продукции) являются краснolistные сорта базилика. Привлекательную для потребителя красную или фиолетовую окраску листьев растений определяет наличие в них значительного количества антоцианов. В работе использовали краснolistные сорта базилика Ред рубин (Johnsons) и Фиолетовый (Гавриш), а также зеленолистные Василиск (Гавриш), Карлик (Johnsons), Лимонный аромат (Johnsons), Аромат лимона (Herb), Коричный (Гавриш), Гвоздичный (Гавриш), Карамельный (Гавриш), Ванильный (Гавриш).

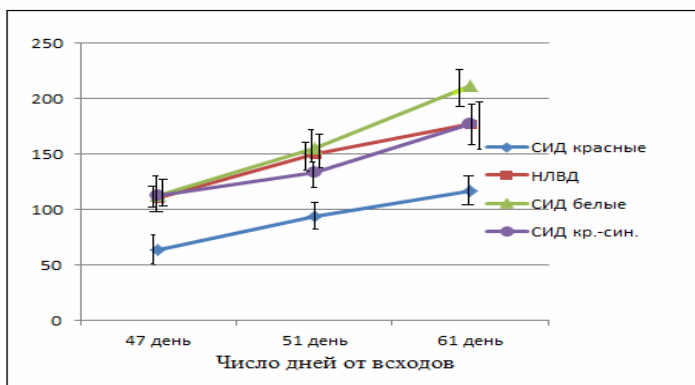


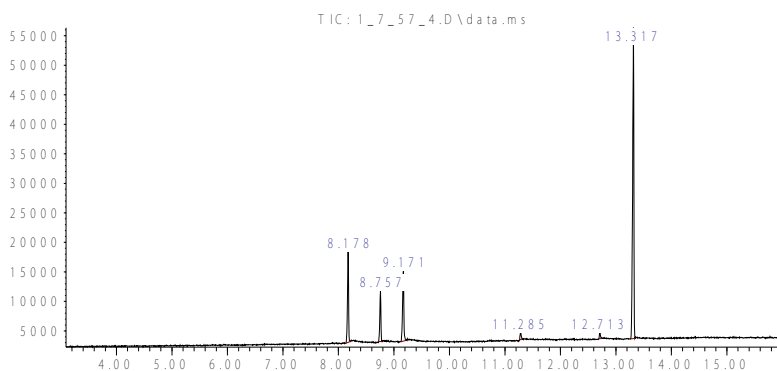
Рис. 1. Динамика содержания эвгенола в растениях базилика сорта Карлик при выращивании с использованием разных облучателей в течении вегетации (г $\times 10^6$ / г сырой биомассы).

В онтогенезе растений сортов Ред рубин и Фиолетовый максимальное накопление хлорофиллов а и b, антоцианов, β -каротина, ксантофиллов наблюдали в варианте выращивания с

СИД с излучением в красной и синей области. Содержание антоцианов во всех вариантах выращивания растений базилика с СИД было значительно выше, чем в варианте выращивания НЛВД.

Несколько более сложная картина наблюдается в отношении накопления растениями базиликом компонентов эфирных масел. Среди форм базилика выделяют группы сортов по аромату, воспринимаемому человеком: евгенольный, лимонный, гвоздичный, камфорный, ванильный базилик. Эти ароматы обусловлены разным содержанием компонентов эфирных масел фенольной и терпеноидной природы, таких как линалол, пинен, евгенол, эстрагол камфора, цинеол и др. [6].

Abundance



Time-->

Рис. 2. Хроматограмма содержания компонентов эфирных масел в растениях базилика сорта Аромат лимона на 57 день выращивания. Время выхода 8.178 соответствует эстраголу, 8.757 карвеолу, 9.171 цитралю.

Количественное накопление компонентов эфирных масел в онтогенезе за период наблюдений (65-70 дней от всходов) зависит не только от спектрального состава света, но и сопряжено с переходом растений базилика к генеративному развитию. На начальных этапах роста и развития растений, в первую половину вегетации, существенных различий в накоплении эфирных масел и их качественного состава не выявлено. Впоследствии у сортов, которые характеризуются достаточно поздним переходом к генеративному развитию (Коричный, Ред рубин, Карлик) наблюдали наибольшее накопление компонентов эфирных масел в варианте выращивания с красно-синими СИД. А у сортов с наиболее коротким вегетационным периодом (Аромат лимона, Лимонный аромат) резкий подъем содержания компонентов эфирных масел

проявился под НЛВД на 45-48 день выращивания, что, очевидно, связано с наиболее ранним переходом растений к генеративному развитию в этом варианте выращивания; вместе с тем, уже через 4-5 дней наблюдалось увеличение содержания компонентов эфирного масла (более чем на 15% по сравнению с НЛВД) в варианте с белыми СИД, также связанное с переходом растений к бутонизации в данном варианте. Также в варианте выращивания базилика под белыми СИД отмечено накопление наибольшей биомассы растений за период наблюдений.

В растениях сорта Карлик основным компонентом эфирного масла является фенольное соединение евгенол, количество которого в онтогенезе увеличивается (рис. 1). Также, хотя и в меньших количествах, накапливаются метилевгенол, линалол, оцимен, бергаментен, цинеол.

Интересно, что у растений базилика сорта Аромат лимона в варианте выращивания под красными СИД происходил синтез эстрагола, в то время как под другими источниками света его накопления не выявлено (рис. 2). В данном варианте в течение вегетации также происходило увеличение суммарного содержания компонентов эфирных масел, а их соотношение практически не изменялось.

В растениях сорта Коричный содержание эстрагола и евгенола увеличивается в течение вегетации, эстрагол является основным компонентом эфирного масла, количество евгенола значительно меньше (рис. 3).

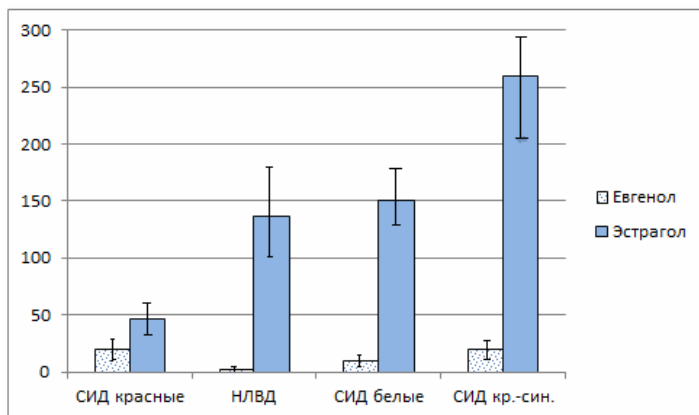


Рис. 3. Содержание эстрагола и евгенола в сорте Коричный на 54 день вегетации (г x 10⁻⁶ / г сырой биомассы).

Полученные данные свидетельствуют о перспективности использования манипуляций световыми режимами для оптимизации выхода ценных вторичных соединений в растительном сырье в условиях интенсивного культивирования растений.

Список литературы:

1. Husnu K. Essential oils science, technology, and applications / Husnu K. [и др.]. - Press Taylor and Francis Group CRC: New York, 2010. - 981 p.
2. Hussain A. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations / A.I. Hussain, F. Anwar, S. Tufail Sherazi, R. Przybylski [Электронный ресурс]. - Режим доступа: <http://www.academia.edu>
3. Kale S. Formulation and in-vitro determination of sun protection factor of *Ocimum basilicum* L. leaf oils sunscreen cream / S. Kale, A. Sonawan, A. Ansari, P. Collegege, [и др.]. / International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Vol 2, Suppl 4: 147-149, 2010.
4. Sabzallin M. R. High performance of vegetables, flowers, and medicinal plants in red-blue LED incubator for indoor plant production / M. R. Sabzallin [и др.] [Электронный ресурс]. - Режим доступа: <http://www.springer.com>, 2014.
5. Tarakanov I. Light-emitting diodes: on the way to combinatorial lighting technologies for basic research and crop production / Tarakanov I., Yakovleva O., Konovalova I., Paliutina G., Anisimov A. / Acta Horticulturae, 956:171-178, 2012.
6. Sakalauskaite J. The effects of different UV-B radiation intensities on morphological and biochemical characteristics in *Ocimum basilicum* L. / J. Sakalauskaite [и др.] [Электронный ресурс]. - Режим доступа: <http://www.wileyonlinelibrary.com>, 2012.

УДК 581.192.6:633.12 (478).

**НЕКОТОРЫЕ ЗАКОНОМЕРНОСТИ НАКОПЛЕНИЯ
ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ЛИСТЬЯХ ГРЕЧИХИ
САХАЛИНСКОЙ**

Иванова Р.А.¹, Цыцей В.Г.²

¹ИГФЗР, АН Республики Молдова, Кишинэу, +323 22 55 52 59,
ralivanova@yahoo.com

²Ботанический Сад (Институт), АН Республики Молдова, Кишинэу, +323 22
55 04 43

Гречиха сахалинская (*Polygonum sachalinense*) семейства Гречишных - это многолетнее растение, которое в климатических условиях Республики Молдова достигает высоты 4,08±0,14м [1].

Установлено, что ценными хемотаксономическими маркёрами растений семейства гречишных являются фенольные соединения [2]. Флавоноидные и фенилпропаноидные вещества, обнаруженные во всех органах гречихи сахалинской, относят к основным компонентам химического профиля [3]. Интерес к этим веществам велик ввиду присущего им широкого спектра биологического действия и антиоксидантной активности [3, 4]. По данным группы исследователей [5], содержание суммы флаваноидов в растении довольно высокое и достигает $5,62 \pm 0,01\%$. Этот факт говорит о несомненной перспективности гречихи сахалинской в качестве источника биологически активных веществ. Известно, что синтез и накопление в растениях вторичных метаболитов в форме фенольных соединений зависит от многих факторов (орган растения, фаза развития, возраст растения, почва, климатические и сезонные условия и др.). В задачу настоящей работы входило изучение динамики накопления фенольных соединений в различных фазах вегетации в листьях гречихи сахалинской, культивируемой в условиях Республики Молдова, в климатических условиях не соответствующих ее естественному ареалу произрастания.



Рис.1. *Polygonum sachalinense* сорт Gigant в различных фазах вегетации: а) в апреле-мае (≈ 20 дней роста надземной части); б) в июне (≈ 60 дней от начала роста, фаза завершения интенсивного роста растения).

Polygonum sachalinense сорт Gigant (рис.1) культивируется на протяжении десятилетия на экспериментальном участке Ботанического сада Республики Молдова. Листья были собраны с растений третьего года роста в различных фазах вегетации, а именно: а) в апреле-мае (≈ 20 дней роста надземной части); б) в

июне (≈60 дней от начала роста, фаза завершения интенсивного роста растения); в) в августе-сентябре (≈150 дней, фаза массового цветения) и г) в октябре (≈180 дней, фаза плодообразования). Из свежесобранного сырья готовили экстракты с использованием 70% этилового спирта при соотношении 1:10 (масса листьев : спирт).

Общее количество фенольных соединений определяли методом Фолина-Чокалтэу [6]. Антиоксидатную активность выявляли *in vitro* потенциометрическим методом с использованием в качестве генератора реакционноспособных пероксил радикалов 2,2-азобис(2-амидинопропан) дигидрохлорида [7]. Эффект связывания свободных радикалов выражали процентах по сравнению с контролем, не содержащим антиоксиданты, а также в пересчете на эквивалент галловой кислоты (мкМ GAE/г сухого остатка экстракта) [8].

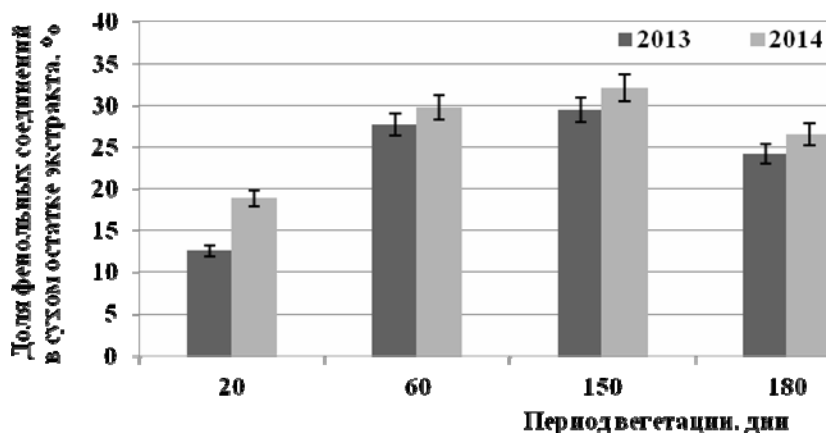


Рис.2. Доля фенольных соединений в сухом остатке экстрактов из листьев гречихи сахалинской в различных периодах вегетации

Установлено, что количество фенольных соединений экстрагируемых из листьев гречихи сахалинской изменяется в зависимости от периода вегетации растения и погодных условий года (рис.2). При этом доля их в сухом остатке экстрактов из листьев, собранных в июне (60 дней), возрастает в 2,0-2,5 раза, по сравнению с экстрактами из листьев, собранных в апреле-мае (20 дней). Наибольшее количество фенольных веществ экстрагировалось из листьев в фазу цветения растения (150 дней), их доля в сухом остатке составляла 29,61-32,13%, (рис.2). В фазе плодообразования (180 дней) доля фенольных компонентов в экстрактах из листьев значительно снижалась. Необходимо

отметить, что доля экстрагируемых фенольных соединений в различные сезоны (2013 и 2014 годы) исследований отличалась существенно лишь в начальный период роста растений (20 дней) и обусловлено это тем, что в 2014 году наблюдались поздние весенние заморозки. В этой связи процессы вегетации растений начались в более поздний период, значительно более благоприятный для их роста и накопления вторичных метаболитов.

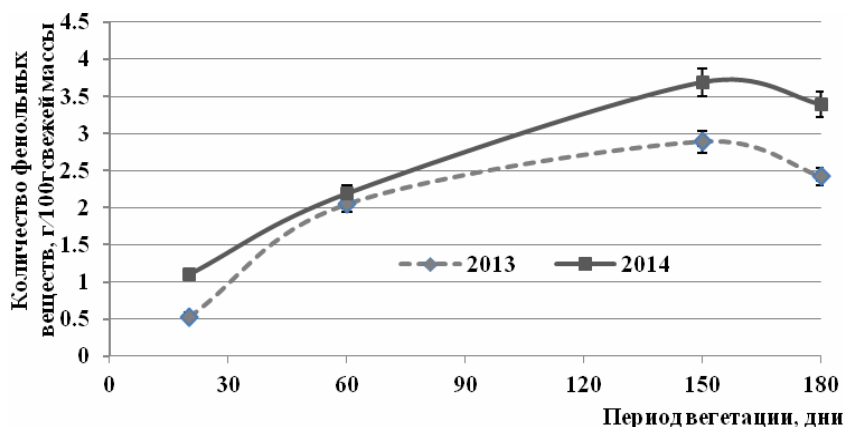


Рис. 3. Динамика накопления фенольных веществ в листьях гречихи сахалинской

Изучение динамики накопления содержания фенольных соединений в свежих листьях гречихи сахалинской (рис.3) показало, что наибольшее их количество обнаруживается в листьях в период цветения гречихи сахалинской (150 дней вегетации). В зависимости от сезона наблюдения содержание фенольных веществ в этой период в 100 г свежей массы листьев изменяется от 2,89 до 3,69 г.

Антиоксидантная активность экстрактов из листьев изменяется существенно в период интенсивного роста растений (апрель-июнь). В фазу завершения интенсивного роста экстракты из листьев проявляли активность связывания свободных пероксид радикалов равную 801,31-851,71 мкМ GAE/г (рис.4), что в 2-4 раза больше, чем в начале этого периода (20 дней). В последующий период вегетации до фазы цветения гречихи сахалинской (150 дней) антиоксидантная активность экстрактов из листьев увеличивается незначительно. Необходимо отметить, что в этот период вегетации с июня до августа содержание фенольных

соединений в листьях продолжает увеличиваться значительно (рис. 3), но это не проявляется в активности экстрактов из них. Видимо в этот период количество веществ фенольной природы в биологически активной форме остается практически константным.

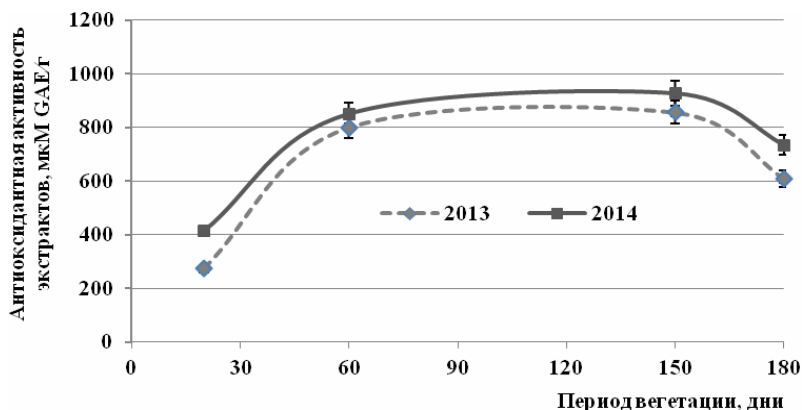


Рис. 4. Изменение антиоксидантной активности экстрактов из листьев гречихи сахалинской в зависимости от периода вегетации

В фазу плодообразования (180 дней) как содержание фенольных соединений в листьях (рис.3), так и антиоксидантная активность экстрактов из листьев (рис. 4) статистически значимо уменьшаются. Аналогичные закономерности накопления вторичных метаболитов фенольной природы в период подготовки растений к зимовке наблюдали и на примере листьев самшита [9].

Из вышесказанного можно заключить, что существуют общие закономерности накопления биологически активных форм фенольных соединений в листьях гречихи сахалинской. В зависимости от погодных условий конкретного сезона их содержание может изменяться, достигая максимума исключительно в фазу цветения. При этом максимальная антиоксидантная активность экстрактов из листьев практически остается неизменной на протяжении длительного периода от фазы завершения интенсивного роста до фазы цветения растения.

Список литературы.

1. Ivanova R., Titei V. Biological characteristics and polyphenolics accumulation in *Polygonum sachalinense* introduced in flora of Republic of Moldova. Muzeul Olteniei Craiova. Oltenia. Studii si comunicari. Stiintele Naturii, 2014, 30(1), p.53-56. ISSN 1454-691.
2. Высочина Г. И. Фенольные соединения в систематике и филологии

-
- семейства гречишных Polygonaceae Juss. Автореф. дисс.докт.биол.наук. Новосибирск, 2002. 35с.
3. Fan P., Terrier L., Hay A.E. et al. Antioxidant and enzyme inhibition activities and chemical profiles of *Polygonum sachalinensis* F.Schmidt ex Maxim (Polygonaceae). *Fitoterapia*, 2010, 81(2), p. 124-131.
 4. Ogwuru N., Adamczeski M. Bioactive natural products derived from polygonum species of plants: their structures and mechanisms of action. *Studies in Natural products chemistry*, 2000, 22, Part C, p. 607–642. DOI: 10.1016/S1572-5995(00)80036-8
 5. Иванов В.В., Кодониди М.И., Денисенко О.Н. Флавоноидный состав надземной части рейноутрии сахалинской (*Rheunoutria sachalinensis* (F.Schmidt) Nakai). Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции. Сб. науч. тр. под ред. М.В. Гаврилина. Пятигорск: Пятигорская ГФА, 2011, вып. 66, с. 102-103. ISBN 978-5-94122-079-3.
 6. Singleton V.L., Orthofer R., Lamuela-Raventos R.M. Analysis of total phenolics and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. In book: *Methods in Enzymology*, Part A., 1999, p.152-178.
 7. Sano M., Yoshida R., Degawa M. et al. Determination of peroxy radical scavenging activity of flavonoides and plant extracts using an automatic potentiometric titrator. *J.Agric.Food.Chem.*, 2003, 51 (10), p.2912-2916.
 8. Ivanova R. The potentiometric assay for measurement of peroxy radical scavenging capacity of plant extracts. *Herba polonica*, 53 (2), 2007, p.136-137.
 9. Ivanova R. Monitoring of phenolics content and antioxidant activity changing in cell sap of *Buxus sempervirens* leaves. In: *Proceedings of conference „Structure and functionality of biological systems – diversity and universality”*, Chisinau, 2011, p.90-93. ISBN 978-9975-56-015-3
-

УДК 581.1

ОБРАЗОВАНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ НА РАННИХ ЭТАПАХ ОНТОГЕНЕЗА ГРЕЧИХИ (*FAGOPYRUM ESCULENTUM* MOENCH)

**Казанцева В.В.¹, Гончарук Е.А.¹, Глотова И.², Живухина Е.А.²,
Загоскина Н.В.¹**

¹ФГБУН Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, Россия, e-mail: k.v.-90@mail.ru

²ФГОУ ВПО Московский педагогический государственный университет, Москва, Россия, e-mail: zhivukhina@yandex.ru

К наиболее распространенным веществам вторичного метаболизма относятся фенольные соединения, встречающиеся во

всех высших растениях. Они выполняют различные функции в высших растениях, связанные с такими важными процессами жизнедеятельности, как фотосинтез, дыхание, рост и развитие растений, а также устойчивость к стрессовым факторам [1]. Уровень накопления полифенолов определяется онтогенетической фазой развития растения, а также биологическими особенностями культур. Наибольшее их количество и более разнообразный состав характерны для надземных органов, что может быть связано с наличием в них хлоропластов, являющихся одним из важнейших мест биосинтеза полифенолов [2].

Гречиха посевная (*Fagopyrum esculentum* L.) является одной из важнейших крупяных и медоносных культур России [3]. Помимо пищевой ценности, она широко применяется в народной медицине и фармакологии. Именно из этой культуры получают такое соединение фенольной природы как рутин, который в комплексе с содержащимися в этом растении микроэлементами, благотворно влияет на сердечно-сосудистую систему, кровообращение, препятствует атеросклерозу, спазмам сосудов, отекам [4].

В настоящее время существует много сортов гречихи, отличающихся не только по морфофизиологическим и пищевым показателям, но и по способности к накоплению фенольных соединений [5]. Однако крайне мало данных о взаимосвязи между их образованием и уровнем плоидности культур. Имеющиеся в литературе данные по этому вопросу также крайне противоречивы [6].

Целью исследования являлось изучение особенностей образования фенольных соединений на ранних этапах онтогенеза проростков диплоидного и тетраплоидного сортов гречихи.

Объекты и методы исследования. Объектом исследования являлись два сорта гречихи (*F. esculentum* L.): диплоидный – Девятка и тетраплоидный – Большевик 4. Проростки выращивали рулонным способом при 24°C и 16-час. фотопериоде в камере фитотрона ИФР РАН.

Фенольные соединения извлекали из листьев проростков 6-, 11- и 19-дневного возраста экстракцией 96%-ным этанолом. В экстрактах спектрофотометрическим методом определяли содержание суммы фенольных соединений, фенилпропаноидов, флавоноидов и антоцианов при 725 нм, 330 нм, 415 нм и 550 соответственно [7-9].

Исследования проводили в трех биологических и двух-трех аналитических повторностях.

Результаты и обсуждение. Для того чтобы установить характерные для исследуемых сортов тенденции к накоплению

фенольных соединений мы определяли их суммарное содержание в надземных органах в процессе онтогенеза проростков. На ранних этапах развития (6 день) количество этих веществ в семядольных листьях сорта Девятка было на 30% ниже, чем у сорта Большевик 4. На последующих этапах развития (11 и 19 дни) суммарное содержание фенольных соединений повышалось на 50% у сорта Девятка и на 23% у сорта Большевик 4.

Что касается накопления фенольных соединений в hypocotyls, то, как и в листьях, у сорта Девятка оно было на 20% ниже, чем у сорта Большевик 4. К 11 дню содержание суммы фенольных соединений увеличилось на 38% у сорта Девятка и на 51% у сорта Большевик 4, а к 19 дню развития проростков содержание суммы фенольных соединений резко снизилось: на 74% у сорта Девятка и на 53% у сорта Большевик 4.

Как известно из литературных источников, фенилпропаноиды широко распространены в растительном мире [2]. Это наиболее простой класс фенольных соединений, являющийся предшественником флавоноидов. Их содержание в семядольных листьях обоих сортов было примерно одинаковым и увеличилось лишь к 19 дню (на 32%). В hypocotyls количество фенилпропаноидов у сорта Девятка было практически постоянным и более низким (на 65%), чем у сорта Большевик 4, для которого отмечены значительные изменения в их накоплении в процессе онтогенеза [рис. 1].

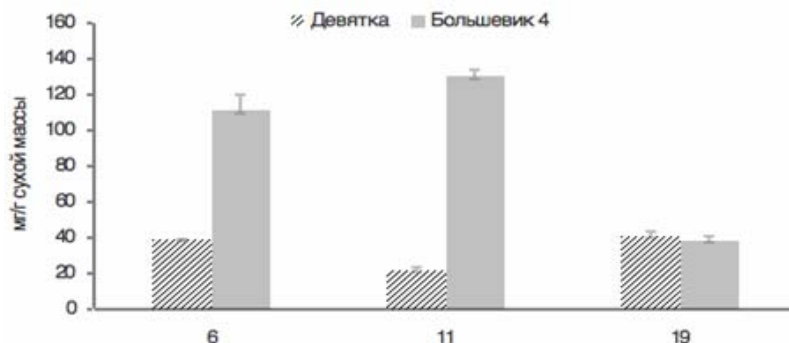


Рис. 1. Изменения в содержании фенилпропаноидов в hypocotyls проростков сортов Девятка и Большевик 4.

Флавоноиды – преобладающий класс в комплексе фенольных соединений гречихи, который представлен такими полифенольными соединениями, как рутин, кверцетин, кемпферол, морин и антоцианы [10]. При этом в листьях и цветках зеленых растений гречихи самое высокое относительно других полевых культур содержание рутина, обуславливающего агрономическую ценность данной культуры.

По данным нашего эксперимента флавоноиды были обнаружены преимущественно в семядольных листьях гречихи. Их накопление на ранних этапах развития было примерно одинаковым для обоих сортов. В период развития проростков (с 6 до 19 дня) содержание флавоноидов у сорта Девятка не изменялось, тогда как у сорта Большевик - к 11 дню увеличилось (на 35%), а потом почти не изменилось (19 день).

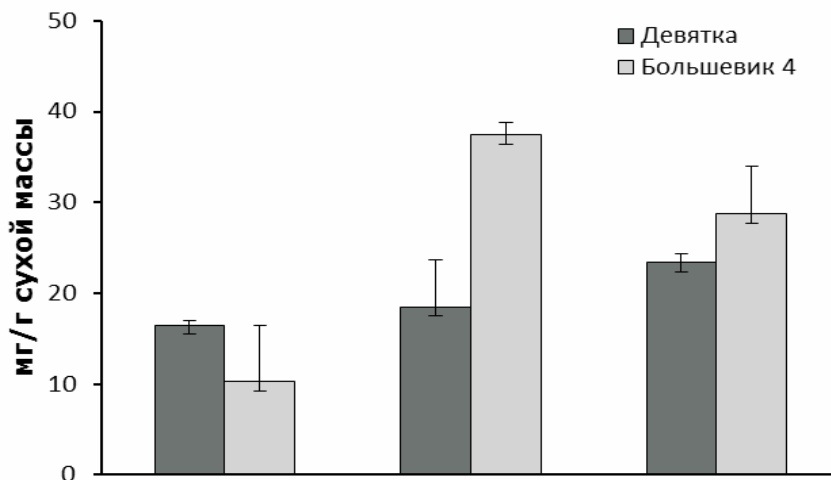


Рис. 2. Изменения в содержании антоцианов в hypocотильях проростков двух сортов гречихи по мере их онтогенетического развития. 6 11 19 возраст растений, дни

Антоцианы, также относятся к классу флавоноидов. Они участвуют в защите растительных тканей от ряда стрессовых воздействий, таких как низкие температуры, загрязнение тяжелыми металлами, засуха [11]. Их образование характерно для начальных этапов развития проростков гречихи, что четко визуализировалось в тканях hypocотилей и в нашем эксперименте. Содержание антоцианов увеличилось от 6 к 19 дню развития проростков сорта Девятка на 26%. Совсем иначе происходило их накопление у сорта

Большевик 4: от 6 к 11 дню оно возрастало (на 73%) и было выше, чем у сорта Девятка на 52%, а к 19 дню - снижалось на 25% (рис. 2).

Все вышеизложенное свидетельствует об отличиях в накоплении фенольных соединений на начальных этапах онтогенеза проростков диплоидного и тетраплоидного сортов гречихи.

Список литературы

1. Lattanzio V., Kroon P.A., Quideau S., Treutter D. Plant Phenolics - Secondary Metabolites with Diverse Functions // *Recent Advances in Polyphenol Research* / Eds. Daayf F., Lattanzio V. Oxford, UK: Wiley-Blackwell, 2008. V. 1. P. 1-35.
 2. Запрометов М.Н. Фенольные соединения: Распространение, метаболизм и функции в растениях. М.: Наука, 1993. 272 с.
 3. Фесенко Н.В. Селекция и семеноводство гречихи. М.: Колос, 1983. 191с.
 4. Куркин В.А. Фармакогнозия Самара: СамГМУ, 2007. 900 с.
 5. Мартыненко Г.Е., Фесенко Н.В., Фесенко А.Н., Шипулин О.А. Селекция сортов гречихи нового поколения // *Зерновое хозяйство России*. 2010. № 5(11). С. 9-16.
 6. Загоскина Н.В., Федосеева В.Г., Фролова Л.В., Запрометов М.Н. Культура ткани чайного растения: дифференциация, уровень ploидности образование фенольных соединений // *Физиология растений*. 1994. Т.41. С. 762-766.
 7. Запрометов М.Н. Фенольные соединения и методы их исследования // *Биохимические методы в физиологии растений*. Москва: Наука. 1971. С.185-197.
 8. Gage T.B., Wendei S.H. Quantitative determination of certain flavonol3glycosides // *Anal. Chem.* 1950. V. 22. P. 708–711.
 9. Куркин В.А., Вельямкина Е.И. Разработка методик качественного и количественного анализа сиропа эхинацеи пурпурной // *Фармация*. 2011. N 7. С.10-12.
 10. Клыков А.Г. Биологическая и селекционная ценность исходного материала гречихи с высоким содержанием рутина // *Сельскохозяйственная биология*. 2010. №3. С. 49-53.
 11. Brouillard R., Chassaing S., Isorez G., Kueny-Stotz M., Figueiredo P. The visible flavonoids or anthocyanins from resesrch to application // *Recent advances in polyphenol research* / Eds C. Cantos-Buelga, M.T. Escribano-Bailon, V. Lattanzio. Iowa, USA: Wiley-Blackwell, 2010. V. 2. P. 1–22.
-

СОДЕРЖАНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В РАСТЕНИЯХ-РЕГЕНЕРАНТАХ КАПУСТЫ БЕЛОКОЧАННОЙ

Калашникова Е.А., Киракосян Р.Н.

ФГБОУ ВО Российский государственный аграрный университет – МСХА
имени К.А.Тимирязева, Москва, Россия, тел. 8 (499) 976-40-72, e-mail:
mia41291@mail.ru

В настоящее время селекционеры практикуют как традиционные, так и биотехнологических методы создания и использования новых или изменённых генетических признаков, нацеленных на отбор новых элитных сортов с улучшенной продуктивностью, адаптивностью к местным условиям, толерантностью к биотическим и абиотическим стрессам и т.д. [1].

Среди биотехнологических методов технология гаплоидии путем индукции эмбриогенеза из гамет уже давно является признанным подходом для улучшения многих видов растений. В последние десятилетия наблюдается заметный прогресс в этой области: была увеличена частота выхода гаплоидов и отработаны протоколы регенерации *in vitro* для большого числа сельскохозяйственных культур. Это было достигнуто благодаря лучшему пониманию механизмов, контролирующих эти процессы, в результате чего были созданы новые сорта культур, растения которых были инициированы в культуре мужских и женских гамет. Вместе с тем, выход гомозиготных линий удвоенных гаплоидов в культуре *in vitro* капусты белокочанной все еще остается низким и находится в сильной зависимости от ряда факторов. Наиболее важными из них являются генотип растений-доноров, условия их выращивания, состав питательной среды, условия предобработки и культивирования [3].

Одним из факторов, лимитирующих процесс морфогенеза, является синтез фенольных соединений (ФС), участвующих в основных процессах роста и развития. Условия культивирования *in vitro* представляют собой, в определенной степени, стресс для растений. Установлено, что при стрессе растения накапливают большое количество фенолов, что приводит к ингибированию ростовых процессов и повышению их устойчивости к неблагоприятным условиям.

Целью данной работы являлось сравнение содержания фенольных соединений в листьях капусты белокочанной в зависимости от уровня плоидности (гаплоиды и диплоиды). Объектами исследования служили листья растений капусты

белокочанной, полученных в результате культивирования репродуктивных органов *in vitro*. Суммарное содержание растворимых фенольных соединений определяли с применением реактива Фолина-Дениса по методике М.Н.Запрометова (1971)[2].

Выявлено, что суммарное содержание фенольных соединений в листьях гаплоидных растений капусты белокочанной в 1,5-2 раза выше по сравнению с диплоидными растениями.

Таким образом, в гаплоидных растениях капусты белокочанной, полученных из репродуктивных органов *in vitro*, синтез фенольных соединений сохраняется на более высоком уровне, что свидетельствует об изменении фенольного метаболизма. Вероятно, эти изменения могут способствовать формированию новых форм растений, обладающих устойчивостью к стрессовым факторам окружающей среды.

Список литературы

1. Germana M.A. Gametic embryogenesis and haploid technology as valuable support to plant breeding // Plant Cell Rep. – 2011. – Vol. 30. – P. 839-857.
2. Запрометов М.Н. Фенольные соединения и методы их исследования // Биохимические методы в физиологии растений / Под ред. Павлиновой О.А. М.: Наука, 1971. С.185-197.
3. Мозгова Г.В., Орлов П. А. Использование пыльцевого эмбриогенеза в селекционном процессе: методические рекомендации. – Минск, 2008. – 30 с.

УДК 57.044; 58.04; 574.64

ВЛИЯНИЕ ГИДРОХИНОНА И РЕЗОРЦИНА НА МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ *ELODEA* *CANADENSIS* MICHX. И *POTAMOGETON PERFOLIATUS* L.

Кислицина М.Н., Борисова Г.Г.

Уральский федеральный университет имени первого Президента России
Б.Н. Ельцина, Екатеринбург, Россия, тел. 8(343)2616685,
mariyakislitsina@yandex.ru

Водные объекты среди природных образований наиболее подвержены загрязнению как конечные коллекторы сточных вод и аэротехногенного загрязнения [1]. В числе компонентов сточных вод различных производств особую опасность из-за широкой распространенности, токсичности и трудности очистки представляют фенольные соединения. К наиболее распространенным фенольным компонентам сточных вод

относятся: монофенол, пирокатехин, гидрохинон, гваякол и *п*-крезол [2]. Механизмы и эффекты токсического действия экзогенных фенолов изучены в основном на водных беспозвоночных, водорослях и ихтиофауне [3; 4]. Воздействие дифенолов сточных вод на высшие водные растения исследовано очень слабо. Между тем гидрофиты являются неотъемлемыми средообразующими компонентами водных экосистем, от которых зависит функционирование гидроценоза в целом.

В связи с этим цель данной работы состояла в выявлении эффектов длительного воздействия экзогенных дифенолов на морфометрические характеристики водных растений.

Объектами исследования были погруженные гидрофиты: *Elodea canadensis* Michx. и *Potamogeton perfoliatus* L.

Для достижения поставленной цели была проведена оценка морфометрических характеристик водных растений при выращивании в среде с дифенолами – гидрохиноном и резорцином. В эксперименте было использовано по 10 побегов *Elodea canadensis* и *Potamogeton perfoliatus*, каждый из которых имел первоначальную длину 15 см. Растения культивировали в модельных системах на водопроводной воде в течение 30 суток. Схема эксперимента представлена ниже:

- 1 – водопроводная вода (контроль);
- 2 – водопроводная вода + гидрохинон 1 мг/л;
- 3 – водопроводная вода + гидрохинон 10 мг/л;
- 4 – водопроводная вода + резорцин 1 мг/л;
- 5 – водопроводная вода + резорцин 10 мг/л.

Были изучены следующие морфометрические характеристики растений: длина и количество корней, длина главного и боковых побегов, количество боковых побегов. Выбор оценочных параметров был обусловлен морфологическими особенностями изучаемых объектов и удобством проведения измерений.

В результате исследований было показано, что гидрохинон негативно воздействовал на процессы корнеобразования. У значительной части исследованных растений *Elodea canadensis* и *Potamogeton perfoliatus* на 30-й день при концентрации гидрохинона 1 мг/л отмечали подавление роста корней, что проявлялось в снижении их количества и длины в 1,5–2 раза. Гидрохинон в концентрации 10 мг/л полностью подавлял процессы корнеобразования у *Potamogeton perfoliatus* и в значительной степени у *Elodea canadensis*. При культивировании растений в среде с резорцином был обнаружен стимулирующий эффект на рост корней *Potamogeton perfoliatus*: корни начали образовываться

на 5 дней раньше, а их количество было в 1,5–3 раза выше по сравнению с контролем. Следует отметить, что при высокой концентрации резорцина (10 мг/л) корней образовывалось больше, чем при низкой концентрации (1 мг/л).

Наиболее сильное отрицательное воздействие на прирост главного побега исследованных видов оказал гидрохинон (10 мг/л). При данной концентрации прирост побега был полностью ингибирован. Уже через 5 дней нахождения *Potamogeton perfoliatus* в среде с гидрохиноном в данной концентрации происходило почернение стеблей, их ослизнение и отмирание, а на 7-й день – полная гибель растений. *Eloдея canadensis* оказалась более устойчивой к воздействию высокой концентрации гидрохинона: повреждение главного побега выражалось в побурении участков стебля без его размягчения и ослизнения. Степень повреждения главного побега *Eloдея canadensis* составляла 32% (30-й день экспозиции). Гидрохинон (1 мг/л) и резорцин (1 и 10 мг/л) не оказывали существенного влияния на прирост главного побега *Eloдея canadensis*, но приводили к ингибированию роста главного побега *Potamogeton perfoliatus*.

Боковые побеги *Eloдея canadensis*, выросшие в среде с гидрохиноном (1 и 10 мг/л) не отличались от контроля по количеству, но их рост в длину был подавлен. У *Potamogeton perfoliatus* через два дня после появления боковых побегов наблюдалось ингибирование их роста и постепенное отмирание в среде, содержащей гидрохинон в концентрации 1 мг/л. При концентрации гидрохинона 10 мг/л боковые побеги не образовывались. Резорцин при концентрации 1 и 10 мг/л оказывал ингибирующее влияние на развитие боковых побегов *Eloдея canadensis*, а при концентрации 10 мг/л – стимулирующее влияние на рост боковых побегов *Potamogeton perfoliatus*. Различные проявления воздействия дифенолов на морфометрические характеристики корней и побегов гидрофитов, вероятно, в значительной степени определяются видовыми особенностями растений и могут варьироваться на фоне различных доз стрессора.

Полученные данные позволяют сделать вывод, что гидрохинон намного токсичнее резорцина для *Eloдея canadensis* и *Potamogeton perfoliatus*. *Eloдея canadensis* обладает большей устойчивостью к высоким концентрациям гидрохинона. Отмечено, что экзогенный резорцин может проявлять стимулирующий эффект на рост корней и побегов. Этот факт наиболее интересен в силу слабой изученности механизмов данного проявления. Возможно, здесь имеет место способность некоторых фенолов изменять эндогенный уровень фитогормонов [5], что сказывается на

определенных проявлениях морфогенеза.

Список литературы

1. Моисеенко Т.И. Водная экотоксикология: теоретические и прикладные аспекты / Т.И. Моисеенко. М.: Наука, 2009. 400 с.
2. Кирсо У.Э. Превращение канцерогенных и токсических веществ в гидросфере / У.Э. Кирсо, Д.И. Стом, Л.И. Белых, Н.И. Ирха. Таллин: Валгус, 1988. 271 с.
3. Hahn S.K. Resorcinol. Concise International Chemical Assessment Document, 71 / S.K Hahn, J Kielhorn, J. Koppenhöfer, A. Wibbertmann, I. Mangelsdorf. Geneva: World Health Organization, 2006. 71 p.
4. Gillner M. Hydroquinone. Environmental health criteria, 157 / M. Gillner, G.A. Moore, H. Cederberg. Geneva: World Health Organization, 1994. 71 p.
5. Кефели В.И. Природные ингибиторы роста и фитогормоны / В.И. Кефели. М.: Наука, 1974. 253 с.

УДК 577.164.32:633.12

ВНУТРИВИДОВАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ СОДЕРЖАНИЯ РУТИНА В РАСТЕНИЯХ ГРЕЧИХИ СЪЕДОБНОЙ (*FAGOPYRUM ESCULENTUM* MOENCH)

Клыков А.Г., Моисеенко Л.М.

ФГБНУ «Приморский научно-исследовательский институт сельского хозяйства», Приморский край, Уссурийск, Россия, тел. (4234) 39-27-19, e-mail: alex.klykov@mail.ru

Выявлены особенности внутривидовой изменчивости содержания рутина в гречихе в зависимости от окраски растений. В результате исследований установлен диагностический признак (антоциановая окраска стеблей, цветков, корневой системы, ядрицы), который целесообразно использовать в практической селекции с целью создания новых сортов *Fagopyrum esculentum* с высоким содержанием рутина.

Гречиха съедобная (*Fagopyrum esculentum* Moench) – важная крупяная и медоносная культура, широко культивируемая во многих странах мира. Представители рода *Fagopyrum* перспективные источники флавоноидов, основным среди которых является 3-О-рутинозид кверцетина (рутин или витамин Р), обладающий антиоксидантными, ангиопротекторными, антибактериальными, гепатопротекторными свойствами [1]. В ряде стран (Россия, Украина, Япония) для производства рутина получены специальные сорта гречихи с повышенным его содержанием. В связи с этим вид *F. esculentum* является

перспективным отечественным источником получения рутина для фармацевтической промышленности. Флавоноиды играют важную роль в устойчивости растений к изменяющимся экологическим условиям, защите от болезней, вирусов и в других жизненно важных функциях растительного организма [2,3].

На территории Дальнего Востока гречиха выращивается в различных экологических условиях, поэтому необходимы сорта адаптированные к абиотическим и биотическим факторам среды. Исследование внутривидовой и внутрисортной изменчивости по содержанию флавоноидов имеет важное научно-теоретическое и практическое значение. В связи с этим улучшение существующих сортов *F. esculentum* и создание новых с высоким содержанием рутина в плодах и растениях, адаптированных к условиям произрастания с целью получения ценных продуктов питания и лекарственного сырья для фармацевтической промышленности является актуальной задачей. При слабой изученности связи между морфологическими и селекционно-хозяйственными признаками нами была поставлена задача определить возможность использования окраски как диагностического признака для отбора морфо и биотипов гречихи с ценными признаками.

Материал и методы. Исследования проводились в ФГБНУ «Приморский научно-исследовательский институт сельского хозяйства». В качестве объекта исследования использовались сорта *F. esculentum* районированные на Дальнем Востоке (Изумруд, При 7), а также селекционный материал, созданный в лаборатории селекции зерновых и крупяных культур ФГБНУ «Приморский НИИСХ». Пробы для определения рутина брали с 30 растений каждого образца. Количество рутина определяли по методике Г.И. Высочинной [3] в Тихоокеанском институте биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН.

Для идентификации рутина использовали спектры ЯМР ^1H , которые регистрировали на спектрометре Bruker AC-250 (250.13 МГц для ^1H) в CDCl_3 (дейтерохлороформ) и ацетоне- d_6 , и сопоставляли с индивидуально чистым рутином («Chemopol», Чехия). Масс-спектры получали на приборе LKB-9000S (Швеция) с прямым вводом при энергии ионизирующих электронов 18 и 70 эВ. Математическая обработка экспериментальных данных проведена методами вариационно-статистического и корреляционного анализов.

Результаты и обсуждение. С целью выявления диагностических признаков для практической селекции при создании новых сортов *F. esculentum* адаптированных к неблагоприятным условиям произрастания нами были проведены

комплексные исследования с изучением важного фенольного вещества - рутина и окраски разных органов растения. В настоящее время практически все сорта *F. esculentum* представляют собой сложные гетерозиготные популяции с широким генофондом признаков. Исследования показали, что внутривидовые и внутрисортные изменения по окраске растений имеют широкий спектр (красные, красно-зеленые, зелено-красные и зеленые) и обуславливаются не только генотипом сорта, но и в значительной степени изменчивостью, проявление которой зависит от различных факторов [4].

По нашему мнению, признак антоциановой окраски стеблей – хороший диагностический признак, который можно использовать для целенаправленного отбора растений гречихи с высоким содержанием рутина в надземной массе. Растения независимо от сорта различались по степени проявления окраски стеблей, а коэффициент вариации содержания рутина у всех изученных групп был высокий. Наибольшее варьирование по содержанию рутина в надземной массе отмечено у сорта При 7, он возрастает в сторону проявления на растениях антоциановой окраски, а максимальное количество этого вещества выявлено у растений с красной окраской стеблей сорта Изумруд – 24 мг/г (рис.).

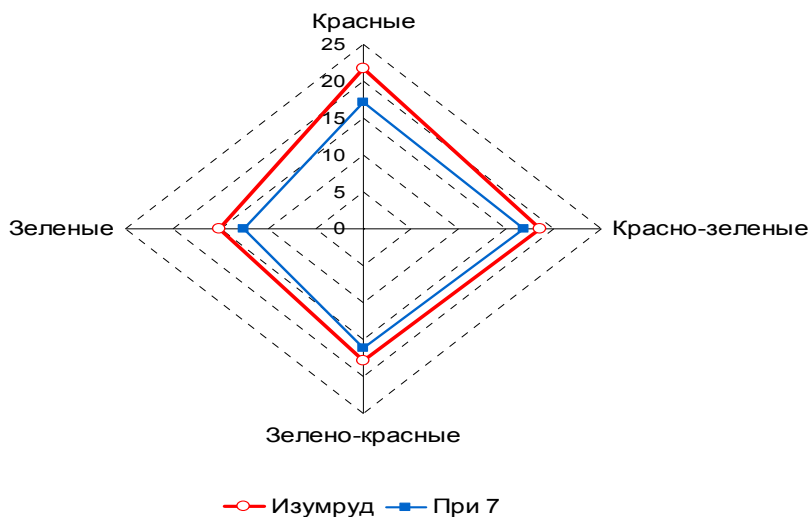


Рис. 1. Содержание рутина (мг/г) в надземной массе *F. esculentum* с различной окраской растений (различия достоверны между растениями с зеленой и красной окраской при $p < 0,05$).

Установлена высокая положительная корреляционная связь ($r=0,87$) между содержанием рутина в надземной массе и окраской растений у сортов При 7 и Изумруд. На основе полученных данных нами разработан способ отбора растений гречихи с высоким содержанием рутина в надземной массе [5]. Отбор растений гречихи проводится по окраске стеблей в фазу плодообразования, с выделением растений с темно-красной (антоциановой) окраской. Полученные результаты согласуются с литературными данными о том, что окраска органов растений связана с химическим составом растений и может использоваться в селекции для отбора ценных форм [3, 6].

Растения *F. esculentum* имеют белые, зеленые, розовые и красные цветки (табл.). Исследованиями установлено, что по окраске цветков можно судить о сортовых особенностях по содержанию рутина. Наибольшее количество этого флавоноида было выявлено в растениях с красными цветками (42,8 мг/г) по сравнению с белыми (34,0 мг/г). Таким образом, красная окраска цветков – хороший диагностический признак, который можно использовать в качестве критерия при отборе растений гречихи с высоким содержанием рутина.

Выделение сортов с мощной корневой системой, которые сохраняют свою физиологическую активность до конца периода вегетации, является важной задачей в селекции на устойчивость к полеганию. К настоящему времени очень слабо изучено содержание рутина в корнях видов *Fagopyrum* и его роль в селекции гречихи на полегаемость. Исследованиями отмечено, что растения *F. esculentum* в фазу плодообразования имеют окраску корневой системы, от светлой до темно-коричневой. Выявлено, что растения *F. esculentum*, устойчивые к полеганию, содержат 6,8 мг/г рутина в корнях (светлая окраска корневой системы), неустойчивые – 3,0 мг/г (темно-коричневая окраска корней).

Фенологические наблюдения и учеты проведенные перед уборкой дают основание утверждать, что устойчивые к полеганию в фазу плодообразования растения, имеют физиологически активную корневую систему (жизнеспособную), что непосредственно влияет на интенсивное накопление рутина, по сравнению с неустойчивыми. На первоначальном этапе селекционной работы визуальный отбор с учетом данных показателей будет способствовать повышению эффективности выделения образцов с высокой устойчивостью к полеганию. Выявленная связь между содержанием рутина, окраской корневой системы и корневой массой послужило основанием для разработки способа отбора растений гречихи на устойчивость к полеганию.

Таблица. 1.

Содержание рутина в зависимости от окраски разных органов растений *F. esculentum*

Окраска разных органов растения	Рутин, мг/г (сухого вещества)		V, %
	lim	$\overline{X} \pm S\overline{x}$	
Цветки*			
Белая	31,2-37,5	34,0±0,1	8,5
Зеленая	33,3-35,6	34,3±0,2	2,7
Розовая	34,1-38,9	35,6±0,2	3,5
Красная	39,5-46,7	42,8±0,2	7,8
Корневая система**			
Светлая	5,1-7,9	6,8±0,2	2,1
Светло-коричневая	4,7-5,6	5,1±0,1	1,2
Темно-коричневая	2,7-3,3	3,0±0,1	0,9
Ядрица***			
Светло-коричневая	0,05-0,09	0,07±0,01	1,9
Светло-зеленая	0,07-0,11	0,09±0,01	2,1
Зеленая (салатная)	0,10-0,15	0,12±0,01	2,2

Примечание. * содержание рутина в надземной части в фазу массового цветения; ** в корнях в фазу плодообразования; *** в ядрице в фазу полной спелости.

Исследования показали, что содержание рутина в ядрице в зависимости от генотипа варьирует от 0,07 мг/г до 0,15 мг/г сухого вещества. В процессе исследований отмечено, что у сортов *F. esculentum* окраска ядрицы – светло-коричневая, светло-зеленая и зеленая. Особый интерес представляет возможная роль рутина в окраске ядрицы (цвет зеленый предполагает повышенное содержание рутина). Установлено, что сорта *F. esculentum* с зеленой окраской ядрицы имели наибольшее количество рутина (0,10-0,15 мг/г). Окраска ядрицы плодов гречихи может служить диагностическим признаком при визуальном отборе высокорутинных форм.

Полученные нами результаты свидетельствуют о взаимосвязи между содержанием рутина и окраской разных органов (стебель, цветки, корневая система, ядрица) *F. esculentum*, что позволяет внести некоторые коррективы в существующие методы отбора ценных форм с высоким содержанием рутина, более адаптированных к абиотическим и биотическим стрессам. Выявлены очень важные диагностические признаки, которые целесообразно использовать в селекции для создания новых сортов имеющих высокое содержание рутина в ядрице с целью

получения функциональных продуктов питания и в надземной массе в качестве перспективного отечественного источника Р-витаминного сырья для фармацевтической промышленности.

Список литературы.

1. Куркин В.А. Фармакогнозия: Учебник для фармац. вузов. – 2-е изд., пере-раб. и доп. – Самара: Офорт, ГОУ ВПО «СамГМУ Росздава», 2007. – 1239 с
2. Запрометов М.Н. Фенольные соединения: распространение, метаболизм и функции в растениях. М. : Наука, 1993. – 272 с.
3. Высочина Г.И. Фенольные соединения в систематике и филогении семейства гречишных. – Новосибирск, 2004. – 240 с.
4. Клыков А.Г. Изучение внутрисортовой изменчивости и возможности её использования в отборе биотипов гречихи с определенными качественными показателями/ Доклады Россельхозакадемии. – 2011. – 2. – С. 12-14.
5. Клыков А.Г., Моисеенко Л.М. Пат. 2255466 RU : МПК⁷ А 01 Н 1/04. Способ отбора растений гречихи с высоким содержанием рутина в надземной массе. заявл. 25.03.2003 ; опубл. 10.07.2005, Бюл. № 19.
6. Kosyan A., Sytar O., Taran N. Anthocyanins as marker for selection buckwheat plants with high rutin content / Advances in buckwheat research : Proc. of the 11th Int. Symp. on buckwheat. – Orel, Russia, 2010. – P. 314-319.

УДК 581.1

ВЛИЯНИЕ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА ГРИБНОЙ ЛАККАЗЫ НА СОДЕРЖАНИЕ ЛИГНИНА В ДРЕВЕСИНЕ ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ ОСИНЫ

Ковалицкая Ю.А.¹, Тугбаева А.С.², Шестибратов К.А.¹

¹ филиал ФГБУН Института биоорганической химии им. академиков М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова РАН, Пущино, Российская Федерация, тел. 8(4967)330966, kovalitskaya@inbox.ru

² ФГАОУ ВПО Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б.Н.Ельцина, Институт естественных наук, Екатеринбург, Российская Федерация.

Лигнификация растений – сложный процесс, в регуляции которого участвует множество генов. Считается, что в процессе полимеризации монолигнолов до образования лигнина участвуют не только ферменты лигазы, редуктазы, дегидрогеназы, но и пероксидазы и лакказы. Долгое время эта роль отводилась H₂O₂-зависимым пероксидазам. Однако исследования последних десятилетий показывают связь между работой лакказ, пероксидаз и

полимеризацией лигнина [1-2]. Однозначного мнения о функциях и важности этих ферментов для лигнификации растений, пока нет. Целью данного исследования было изучить роль лакказ в процессе лигнификации растений на примере осины.

Биодеградация лигнина осуществляется секреторными ферментативными комплексами грибов, в которые входят оксидоредуктазы трех типов, но ведущую роль играют лакказы. Они способны избирательно деградировать лигнин до полной его минерализации [3]. По сравнению с растительными лакказами, грибные лакказы более изучены и известны гены, которые их кодируют и свойства, которые характеризуют их активность. Нами был выбран ген грибной лакказы из гриба *Trametes hirsute*, с высоким окислительно-восстановительным потенциалом и на основе вектора pBI была создана конструкция, содержащая этот ген под контролем 35S промотора и нопаинсинтетазного терминатора *nos*. В качестве селективного гена был использован ген устойчивости к канамицину – *nptII*. Полученный плазмидный вектор pBI-Lac был перенесен в *Agrobacterium tumefaciens* и произведена трансформация междоузлий культуры осины *Populus tremula* L. Регенерацию и селекцию проводили на культуральных средах, содержащих селективный антибиотик канамицин 20мкг/л. Проведенный ПЦР-анализ тотальной ДНК трансформантов подтвердил отсутствие агробактериальной контаминации и встройку целевой конструкции у 33 линий.

А)



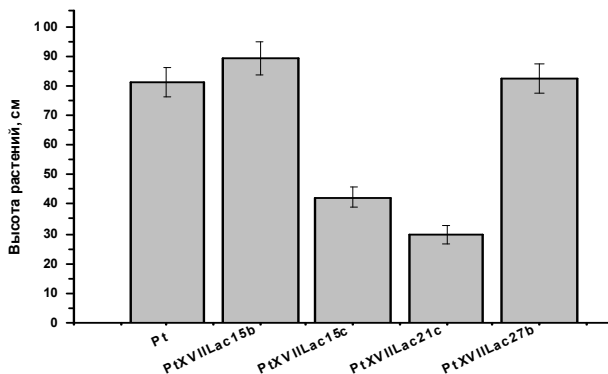
Б)



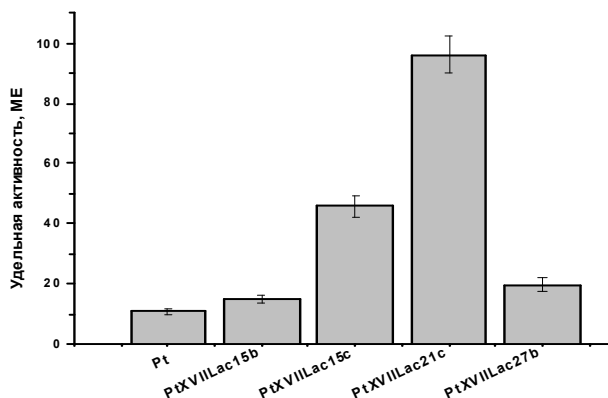
Рис.1. ОТ-ПЦР анализ экспрессии гена грибной лакказы Lac в РНК трансгенных растений осины генотипа Pt. «+» - препараты РНК после обработки обратной транскриптазой; «-» препараты РНК без обработки обратной транскриптазой; K+ - плазида pBILac; Pt- не трансгенный контроль; М – молекулярный маркер. А) анализ экспрессии гена Lac, ожидаемый размер ампликона составляет 690 н.о. Б) анализ экспрессии гена актина, ожидаемый размер около 450 н.о.

Изучение экспрессии целевого гена методом ОТ-ПЦР показало наличие сигнала в тотальной РНК, обработанной обратной транскриптазой, клонов PtXVIIILac4с, PtXVIIILac15с, PtXVIIILac21с, PtXVIIILac27b (рис.1). В кДНК исходного генотипа и клонов PtXVIIILac24, PtXVIIILac45 и PtXVIIILac15b экспрессии целевого гена не выявлено. Таким образом, экспрессия целевого гена обнаружена в 4 клонах из 7 протестированных.

М Н₂О К+ Рt+ Рt- 4с+ 4с- 15b+15b- 15с+15с-21с+21с- 24+ 24- 27b+27b- 45+ 45- М



А)



Б)

Рис.2. А). Сравнение высоты тепличных растений контроля (Pt) и трансгенных клонов осины в возрасте 3 месяцев. Б). Изучение активности рекомбинантной лакказы в листьях трансгенных растений осины, в условиях защищенного грунта. Возраст растений 1,5 месяца.

По результатам биометрических исследований тепличных растений в возрасте 3 месяцев отмечено, что клоны PtXVIIILac15c, PtXVIIILac21c, в которых обнаружена экспрессия целевого гена, ниже контроля, листья темно зеленые, плотные, наблюдалась кустистость (рис.2, а). У растений клонов PtXVIIILac27b (обнаружена экспрессия целевого гена) и PtXVIIILac15b (отсутствует встраивание целевой конструкции) ярко выраженных фенотипических изменений не выявлено. Исходя из результатов, представленных на рис.2 видно, что растения клонов PtXVIIILac15c и PtXVIIILac21c в целом были ниже контрольных на 50-60%.

Таблица 1.
Содержание лигнина, целлюлозы и пентозанов в растениях осины с геном грибной лакказы.

Клон	Содержание целлюлозы, %	Содержание пентозанов, %	Содержание лигнина, %			Повышение общего лигнина относительно контроля, %
			кислот о-нарастворимого	кислот о-растворимого	общего	
Pt	36,4 ± 1,15	15,40 ± 0,50	17,7 ± 0,75	1,9 ± 0,13	19,5	-
PtXVIIILac 15b	36,5 ± 1,35	15,7 ± 0,10	19,7 ± 0,75	1,7 ± 0,04	21,4	9
PtXVIIILac 27b	36,5 ± 1,22	15,1 ± 0,08	30,1 ± 1,1	1,7 ± 0,12	31,8	63
PtXVIIILac 21c	31,8 ± 0,47	13,5 ± 0,41	30 ± 1,05	1,7 ± 0,07	31,7	62
PtXVIIILac 15c	30,09 ± 0,95	12,7 ± 0,17	27,9 ± 0,81	2,4 ± 0,04	30,3	55

Приведены данные 2 экспериментов ± стандартная ошибка

Анализ ферментативной активности лакказы в листьях тепличных растений осины показал увеличение активности фермента у клона PtXVIIILac27b в 2 раза, у клона PtXVIIILac15c – в 4,5 раза, а у клона PtXVIIILac21c почти в 10 раз по сравнению с контрольными показателями (рис.2, б). В листьях клона PtXVIIILac15b отмечено превышение значений в 1,45 раза по сравнению с контролем. По-видимому, акт трансформации мог оказать влияние на изменение активности растительных ферментов, поэтому только значения выше показателей клона PtXVIIILac15b могут свидетельствовать об активности рекомбинантной лакказы. Величины значений общей активности фермента в *in vitro* растениях в целом были ниже показателей

тепличных растений и четкой корреляции из опыта в опыт не наблюдалось.

Химический анализ состава древесины выявил снижение содержания пентозанов (до 8-10%), целлюлозы (до 10%) и увеличение содержания лигнина в трансгенных растениях осины (возраст растений 6 месяцев). Увеличивалось содержание лигнина Классона (на 15-40%), а количество кислоторастворимого лигнина уменьшалось (табл.1). Видно, что максимальное увеличение содержания лигнина наблюдалось в древесине клонов с фенотипическими изменениями PtXVII^{Lac15c}, PtXVII^{Lac21c}, а также у клона PtXVIII^{Lac27b} до 55-60%.

Исследования мутантов *Arabidopsis* по генам *Lac4*, *Lac11*, *Lac17* показали снижение содержания общего лигнина на 13% в случае мутантов по гену *Lac11* [4]. Эти значения достигаются за счет уменьшения содержания G-монолигнолов. Согласно результатам наших исследований, экспрессия грибной лакказы в осине приводит к увеличению содержания общего лигнина, причем именно за счет возросшей доли кислотонерастворимого лигнина, основу которого составляют G-монолигнолы. Кроме того, у полученных нами трансгенных клонов наблюдается увеличение активности рекомбинантного фермента и снижение высоты растений. Выдвинутое предположение о значительной роли лакказ в полимеризации лигнина согласуются с исследованиями функций ферментов лакказ и пероксидаз в *Nicotiana tabacum* и рисе [5-7]. Молекулярные механизмы действия еще нуждаются в детальном исследовании, но уже сейчас понятно, что любые изменения в содержании и свойствах лакказ в растениях приводят к модификациям содержания и состава лигнина, а также к нарушениям фенотипа растения. Таким образом, экспрессия гена грибной лакказы в трансгенных растениях осины вызывает увеличение активности фермента, влияет на высоту растений и состав древесины.

Работа выполнена при поддержке стипендии президента РФ 2013-2015 и гранта РФФИ № 14-08-31667.

Список литературы

1. Karkonen A., Koutaniemi S. Lignin Biosynthesis Studies in Plant Tissue Cultures // Journal of Integrative Plant Biology. 2010. V. 52. № 2. P. 176–185.
2. Ranocha P., Chabannes M., Chamayou S., Danoun S., Jauneau A. Laccase Down-Regulation Causes Alterations in Phenolic Metabolism and Cell Wall Structure in Poplar // Plant Physiology. 2002. V. 129. P. 145-155.

-
3. *Alfred M. Mayera, Richard C. Staples* Laccase: new functions for an old enzyme // *Phytochemistr.* 2002. V. 60. P. 551–565.
 4. *Zhao Q., Nakashima J., Chen F., Yin Y., Fu C., Yun J., Shao H., Wang X., Wang Z., Dixon R. A.* LACCASE Is Necessary and Nonredundant with PEROXIDASE for Lignin Polymerization during Vascular Development in *Arabidopsis* // *The Plant Cell.* 2013. V. 25. P.3976–39
 5. *Davarpanah S. J., Ahn J., Ko S. M., Jung S. H., Park Y., Liu J. R., Jeong W. J.* Stable expression of a fungal laccase protein using transplastomic tobacco // *Plant Biotechnol Rep.* 2012. V. 6. P. 305–312.
 6. *Riva S.* Laccases: blue enzymes for green chemistry // *TRENDS in Biotechnology.* 2006. V. 24. № 5. P. 219-226
 7. *Furukawa T., Sawaguchi C., Watanabe A., Takahashi M., Nigorikawa M., Furukawa K., Imura Y., Kajita S., Oguchi T., Ito Y., Sonoki T.* Application of fungal laccase fused with cellulose-binding domain to develop low-lignin rice plants // *Journal of Bioscience and Bioengineering.* 2013. V. 116. № 5. P. 616-619.
-

УДК 631.4; 542.943

ФЕНОЛЬНАЯ ОСНОВА ГУМИНОВЫХ ВЕЩЕСТВ И ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ НА РАСТЕНИЯ

Комаров А.А.¹, Комаров А.А.²

¹ФГБНУ Агрофизический институт, Санкт-Петербург, Россия, тел.8-911-745-20-25, Zelenydar@mail.ru

²ФГБНУ ЛенНИИСК, Ленинградская обл., Белогорка, Россия, 8-911-777-35-53, e-mail: Kommon87@mail.ru

Как известно в основе ароматической матрицы гуминовых веществ (ГВ) находятся фенольные фрагменты, именно они формируют устойчивую ароматическую структуру гумусового ядра. Сродство отдельных структурных элементов ароматической матрицы с фитогормонами предполагает возможность проявления соответствующей физиологической активности.

Исходя из гипотезы гумификации представленной Л.Н. Александровой процесс формирование ГВ из исходных органических остатков в почве протекает путем окислительно-гидролитической трансформации наиболее устойчивых к разложению лигниновых фрагментов, состоящих, как известно, из трех различных фенолсодержащих соединений, которые обеспечивают формирование из этих трех кодонов все многообразие различных типов лигнина. Из разных типов лигнина формируется различные основы ядра гумуса, это, в свою очередь, обеспечивает формирование разнообразия гумусовых веществ,

обладающих различной физиологической активностью. Процесс гумификации непрерывен пока есть соответствующие условия для его функционирования и протекает он в несколько сопряженных стадий. Условно можно выделить следующие стадии процесса гумификации: первая - первичный гидролиз и утилизация легкогидролизуемых соединений, входящих в состав органических остатков (например листьев при осеннем листопаде, пожнивных остатков, образующихся после уборки основных культур и др.). На этой стадии происходит накопление в почве устойчивых к разложению фенольных структур и их частичная окислительно-гидролитическая трансформация, преимущественно не затрагивающая еще изменений внутри ароматических структур, а определяющее действие лишь периферии (функциональных групп путем их деметоксилирования и карбоксилирования).

На следующей стадии трансформации фенольных соединений в почвенной среде происходит уплотнение ядерных структур гумуса за счет реакций поликонденсации и полимеризации, инициируемых соответствующими ферментами. Из различных сочетаний фенольных структур формируется ядро гумуса. Это еще "юный гумус". Такие структуры весьма напоминают ароматическую основу гиббереллинов. Гиббереллино-подобный эффект действия гуминовых препаратов подтвержден в работе Pizzelhello D. et al (2001). Сродство "юного гумуса" с гиббереллинами не только в структурной идентификации. В экспериментах по поэтапному моделированию формирования гумуса было показано (Комаров, 2004), что выделенные на этой стадии гумусовые вещества (названные лигногуминовыми кислотами) обладают высокой физиологической активностью.

На следующей стадии формирования гумуса ("зрелый гумус") происходит дальнейшая сополимеризация и поликонденсация фенольных фрагментов в ядерную основу гумуса (ароматическое ядро уплотняется) и начинает накапливать азот, сначала на периферии, затем и в ароматической матрице. Идентифицированные ароматические фрагменты этой стадии трансформации фенольных соединений в почве близки к индольным структурам. Действительно, проведенные исследования показывают, что гумусовые вещества, полученные на этой стадии трансформации, обладают ауксиновой физиологической реакцией на растения. Ауксиноподобный эффект ГВ связывают с IAA- пероксидазным механизмом и наличием IAA в составе ГВ (Muscolo A. et al., 1988; Удинцев и др., 2011).

Заключительная стадия формирования гумуса - полимеризация и поликонденсация фенольных фрагментов ядра

гумуса с включением в гетероцикл азота. Накопленный таким образом в матрице гумуса азот устойчив к разложению и является резервом хорошо окультуренной почвы. Образующиеся на этой стадии гумусовые соединения фенольной природы обладают цитокининовой реакцией. Так, оценивая действие гуматов на культуру винограда итальянские ученые отмечают возможность проявления не только ауксиновой реакции, но и цитокининовой реакции (Ferrara G. et al., 2010).

Таким образом фенольная основа гуминовых веществ предопределяет не только устойчивость этого природного соединения в почве, но и специфику его физиологического действия на растения.

Список литературы

1. Удинцев С. Н. , Бурмистрова Т. И., Заболотская А. В., Жиликова Т. П. Механизмы индукции резистентности растений к фитопатогенам гуминовыми веществами Вестник Томского государственного университета. Биология № 4 / 2011.
2. Pizzelhello D. Nicolini G., Nardi S. Hormone-like activity of humic substances in *Fagus sylvatica* forests. //New Phytologist. 2001. vol.151 (3). P.647-657.
3. Комаров А.А. Роль гидролизного лигнина в плодородии почв и питании растений Дисс. докт. ...с.-х. наук, 2004.
4. Muscolo A., Cutrupi S., Nardi S. IAA detection in humic substances // Soil Biology and Biochemistry. 1988. vol.30 (8-9). P.1199-1201.
5. Ferrara G, Brunetti G. Effects of the times of application of a soil humic acid on berry quality of table grape (*Vitis vinifera* L.) cv Italia. Spanish Journal of Agricultural Research 2010 8(3), P. 817-822.

АКТИВНЫЕ ВЕЩЕСТВА БОРЩЕВИКА СОСНОВСКОГО (*HERAKLEUM SOSNOWSKYI* MANDEN) И ВОЗМОЖНОЕ ИХ ПРИМЕНЕНИЕ В СЕЛЬСКОМ ХОЗЯЙСТВЕ

Кондратьев М.Н., Бударин С.Н., Ларикова Ю.С.

РГАУ-МСХА имени К.А.Тимирязева, Кафедра физиологии растений
127550, Москва, ул. Тимирязевская, д. 49; тел. (499) 976-20-54; e-mail:
tel06ck@rambler.ru).

Растения выделяют в процессе жизнедеятельности химические вещества вторичного метаболизма. Эти вещества являются для многих из них механизмом взаимодействия в борьбе за территорию, свет, питательные элементы и защиты от вредителей. Распространение борщевика Сосновского на

территории России, европейских и некоторых азиатских стран связывают с содержанием в нем ингибирующих веществ фенольной группы. Эти вещества производные кумарина – фурукумарины. Фурукумарины входят в состав всех органов борщевика, но наибольшее содержание их обнаружено в плодах. Исследователями из Дальневосточного отделения РАН были идентифицированы фурукумарины ангелицинового (сфондин, ангелицин) и псораленового (бергаптен, ксантотоксин, оксикумарина умбелиферон) рядов [2]. Псорален и другие фуранокумарины выполняют в растениях функцию фитоалексинов — веществ, защищающих растение от патогенных организмов [1]. Исследования действия фурукумаринов на механизмы распространения борщевика оставляет много вопросов, т.к. одни авторы указывают на ингибирующие свойства этих веществ, другие же опровергают эти данные

Представлялось необходимым выяснить, сохраняются ли ингибирующие свойства сока борщевика, если предположить, что часть ингибиторов (в естественных условиях произрастания) может вымываться из надземных органов дождевыми каплями. Для этого семена ромашки аптечной (наиболее чувствительной к водным вытяжкам) выращивались на почве из под борщевика Сосновского и на почве, где не присутствовал борщевик.



Рис. 1. Ромашка аптечная в почве борщевика и в почве без присутствия борщевика.

Результаты исследования показали, что семена ромашки аптечной, помещённые в почву из под борщевика (слои 0-10 и 10-20), прорастали на 4-5 дней раньше, чем семена, помещённые в контрольную почву. Кроме этого, сухая масса надземных органов (листьев, стеблей, соцветий) и корней была больше, чем в контроле. У растений на почве из под борщевика отмечался более ранний переход к генеративному развитию.

Таблица.2.

Биометрические характеристики ромашки аптечной в почве борщевика и при его отсутствии.

Слой почвы	Сырая биомасса, г.			
	стебля с листьями	корня	бутона	общая
1.0-10 см, почва борщевика	0,15	0,5	0,22	0,9
2.10-20 см, почва борщевика	0,09	0,4	0,03	0,55
3.0-10 см, контрольная почва	0,14	0,41	0,025	0,57
4.10-20 см, контрольная почва	0,14	0,34	0,005	0,5
Слой почвы	Сухая биомасса, г			
	стебля с листьями	корня	бутона	общая
1.0-10 см, почва борщевика	0,04	0,07	0,01	0,12
2.10-20 см, почва борщевика	0,03	0,08	0,008	0,11
3.0-10 см, контрольная почва	0,03	0,08	0,004	0,1
4.10-20 см, контрольная почва	0,02	0,06	0,003	0,09

Таблица 3.

Развитие побегов ромашки в почве борщевика. Биометрические показатели выращивания ромашки в почве из под борщевика

Горизонт (слой почвы)	Высота стебля, см	Длина корня, см	Кол-во, п лист. пластинок	Кол-во, п бутонов
1.0-10 см, почва борщевика	15,1	17	13,5	1,3
2.10-20 см, почва борщевика	14,3	19,4	12,8	1
3.0-10 см, контрольная почва	10,7	18,7	13,8	0,8
4.10-20 см, контрольная почва	5,7	19,2	11,3	0,5

Результаты исследования показали, что семена ромашки аптечной, помещённые в почву из под борщевика (слои 0-10 и 10-20), прорастали на 4-5 дней раньше, чем семена, помещённые в контрольную почву. Кроме этого, сухая масса надземных органов (листьев, стеблей, соцветий) и корней была больше, чем в контроле. У растений на почве из под борщевика отмечался более

ранний переход к генеративному развитию.

Эти исследования показали отношение культурных и лекарственных растений в зависимости от присутствия в почве и воздухе аллелохимикалий борщевика. Мы можем предположить, что активные вещества плодов и вегетативных органов борщевика, оказавшиеся в почве, содержатся в малых количествах и такое содержание активных веществ стимулирует рост и развитие растений ромашки аптечной.

Таким образом, борщевик Сосновского, обладая высоким фотосенсибилизирующим эффектом за счёт содержания в нем бергаптена, псоралена, ксантотоксина может использоваться в медицине наряду с растением Амми большой как сырье для приготовления фитопрепаратов в дерматологии.

Также мы показали возможность использования активных веществ борщевика в сельском хозяйстве как регулятора роста некоторых видов растений: ромашки аптечной, пшеницы мягкой, гороха посевного, ячменя обыкновенного, зверобоя продырявленного.

Наше практическое предложение состоит в том, чтобы обратить внимание на проблему распространения борщевика в другом ключе. Его побеги и плоды можно использовать как сырье в защите растений и как гормональные препараты, а также в фармацевтике в лечении витилиго, ожогов и других кожных заболеваний. Сок борщевика может иметь практическое применение как ингибитор, использоваться для приготовления естественных фитогербицидов, применение которых не будет нарушать экологию агроценоза.

Список литературы

1. Многообразие вторичных метаболитов высших растений: учебное пособие / Е.Ю. Бахтенко, П.Б. Курапов. – Вологда, 2008. – 266с.
2. Изучение фурукумаринов плодов амми большой. О.Б. Николаева, К.А. Пупыкина, Т.Д. Даргаева, Т.А. Сокольская, Т.Б. Шемерянкина. Башкирский химический журнал. 2010. Том 17. №2, стр. 149 -155.
3. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований). Издание 5-ое. Москва.: Агропромиздат, 1985. 351 с.
4. Кондратьев М.Н., Ларикова Ю.С. Экофизиология семян. Формирование фитоценозов. Москва.: РГАУ-МСХА имени К.А.Тимирязева, 2011. 278 с.
5. Кондратьев М.Н., Ларикова Ю.С., Бударин С.Н., Клечковская Ю.Б., Паштанова Е.С. Аллелопатический эффект *Heracleum sosnowskyi* MANDEN, сорных и лекарственных растений на культурные виды // Материалы Годичного собрания Общества физиологов растений

России («Физиология растений – теоретическая основа инновационных агро- и фитотехнологий»). Калининград. 2014. Ч. II. С. 234.

6. Ларикова Ю.С., Бахитова А.Р., Кондратьев М.Н. Эффект корневых выделений козлятника восточного (*Galega orientalis* L.) на проростки культурных растений // Тезисы докладов VII съезда физиологов растений России. («Физиология растений – фундаментальная основа экологии и инновационных биотехнологий»). Н.-Новгород. 2011. Ч. 1. С. 413-414.
 7. Юрлова Р.Ю., Черняк Д.М., Кутовая О.О. Фурукумарины *Heracleum sosnowskyi* и *Heracleum moellendorffii* // Тихоокеанский медицинский журнал. 2013. №2 (52). С. 91-93.
 8. Callaway R.M., Ridenour W.M., Laboski T., Weir T., Vivanco J.M. Natural selection for resistance to the allelopathic effects of invasive plants // *Journal of Ecology*. 2005. 93. P. 576-583.
 9. Kong C.H., Liang W.J., Xu X.H., Wang P., Jiang Y. Release and activity of allelochemicals from allelopathic rice seedlings // *Journal of agricultural and food chemistry*. 2004. 52. P. 2861-2865.
 10. Kruse M., Strandberg M., Strandberg B. Ecological effects of allelopathic plants – a review // NERI Technical Report. 2000. №315. 67 P.
 11. Peneva A. Allelopathic effect of seed extracts and powder of coffee (*Coffea arabica* L.) on common cocklebur (*Xanthium strumarium* L.) // *Bulgarian journal of agricultural science*. 2007. 13. P. 205-211.
-

УДК 581.1

ВЛИЯНИЕ САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ НА ФОРМИРОВАНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ К УФ ИЗЛУЧЕНИЮ У ХРИЗАНТЕМ, ЗАРАЖЕННЫХ ГРИБНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ

**Кондратьева В.В., Шелепова О.В., Олехнович Л.С., Шатило
В.И., Воронкова Т.В., Енина О.Л.**

ФГБУН Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина РАН, Москва,
8(499)977-91-54, e-mail: lab-physiol@mail.ru

Салициловая кислота (СК) является одним из компонентов пускового механизма протекторной системы растений, как при биотическом, так и при абиотическом стрессе [1,2]. При воздействии биогенного стресса возрастает уровень эндогенной СК. Она индуцирует системную устойчивость растений к различным патогенам, в том числе и к грибным болезням, активируя экспрессию генов, кодирующих PR – белки. Недостаток или избыток этого регулятора роста повышает чувствительность к абиотическому стрессу. Под влиянием стрессоров, к которым можно отнести и УФ излучение, в клетках растений возрастает

уровень свободных радикалов и активных форм кислорода, что негативно влияет на целостность клеточных мембран, снижая их избирательную проницаемость для отдельных ионов. СК является ключевым звеном сложной многоступенчатой системы метаболических реакций, в результате которых нормализуются структуры и функции мембран клеток, восстанавливается их гомеостаз. Известно об увеличении активных форм кислорода под УФ воздействием [3], однако это излучение можно использовать для подавления инфекций, в том числе и грибковой. Кроме того, в высокогорных районах, где уровень УФ радиации выше, чем на равнине, растения меньше подвержены болезням, которые вызывают патогенные грибы.

Целью нашей работы было выяснить, как сочетание биотического и абиотического стресса повлияет на адаптацию и жизнеспособность хризантем, различных по восприимчивости к грибной инфекции.

Объектами исследования стали два сорта хризантем: сильно поражаемый сорт Хамелеон и относительно устойчивый сорт Чаривна флейта. Зараженные в грунте растения по пять кустов в варианте переносили в теплицу (t 20–22°C, влажность 75%) в начале ноября. Опытный вариант наряду с естественным освещением досвечивали УФ лампами (длина волны 315нм) четыре часа каждый день в течение 20 дней. Контроль находился только при естественном освещении. Пробы для анализа брали в первый, десятый, двадцатый день. О воздействии УФ излучения судили по изменению целостности мембран клеток листьев, определяя выход электролитов и отдельно ионов калия. Содержание СК анализировали по модернизированной методике, используя на заключительном этапе метод ВЭЖХ [4]. Кроме того, проводилась визуальная оценка габитуса и зараженности растений.

Исходная электропроводность элюатов из клеток листьев обоих сортов, отражающая выход электролитов из клеток, и сопряженная с уровнем ферментов антиоксидантной защиты [5,6], была около 28 мкS. После десяти дней досветки УФ выход электролитов и особенно ионов калия из клеток листьев восприимчивого сорта возрос в два раза по сравнению с исходным и был выше контроля. Эта тенденция сохранилась и на двадцатый день опыта. Мембраны клеток листьев относительно устойчивого сорта хризантем в опытном варианте не утратили своих функций в течение двадцати дней досветки УФ и сохранили избирательный выход электролитов. Электропроводность элюатов из высечек листьев этого сорта была ниже исходной и почти в три раза меньше, чем в контроле. Следует отметить, что выход ионов калия

в опытном варианте был тоже ниже, чем в контроле, тогда как у восприимчивого сорта выявлена противоположная тенденция.

Таким образом, под действием УФ у растений хризантем восприимчивого сорта защита мембранных структур клеток от окислительного стресса полностью не реализовалась и в итоге структуры и функции мембран были нарушены, тогда как у устойчивого сорта сохранилась избирательная проницаемость мембран клеток листьев. Уровень СК, ключевого компонента инициации механизма антиоксидантной защиты, в тканях хризантем восприимчивого сорта, зараженного грибными болезнями, был почти в три раза ниже, чем у устойчивого сорта, в тканях которого содержание СК составило 0,2 mM, что достаточно для запуска протекторного механизма у большинства растений при абиотическом стрессе [1]. Возможно, это позволило сохранить у сорта Чаривна флейта структуры и функции мембран в клетках листьев при воздействии УФ. В течение опыта содержание СК в тканях обоих сортов хризантем снижалось как в опыте, так и в контроле.

Однако, у устойчивого сорта Чаривна флейта общий уровень СК был выше, чем у сорта Хамелеон, но по сравнению с исходным значением после десяти дней опыта снижался более интенсивно. В контроле это снижение у обоих сортов было почти одинаковым. Следует отметить, что на вновь формирующихся побегах хризантем обоих сортов при досветке УФ в конце опыта, не обнаружено признаков грибной инфекции, тогда как на листьях контрольных растений отмечены единичные проявления заражения септориозом, особенно у сорта Хамелеон. В опытном варианте у хризантем устойчивого сорта отрастающие молодые побеги отличались хорошо сформированными зелеными листьями, крепким стеблем и плотным габитусом всего куста, тогда как у сорта Хамелеон аналогичные побеги были более слабые с мелкими листьями.

Таким образом, у устойчивого к заражению грибной инфекцией сорта Чаривна флейта после заражения отмечен высокий уровень СК, что вероятно позволило растениям этого сорта при воздействии абиотического стресса (УФ-излучения) иницировать механизмы антиоксидантной защиты и сохранить структуру и функции мембран листьев. Досветка УФ блокировала развитие грибной инфекции и в итоге были сформированы полноценные кусты, включающие старые и новые побеги, на которых начали закладываться бутоны. У растений восприимчивого сорта Хамелеон после заражения уровень СК был в три раза ниже, чем у Чаривна флейта, и воздействие абиотического стресса они

перенесли хуже. Здесь отмечено существенное повреждение мембран листьев и частичное отмирание старых листьев и побегов. Несмотря на блокирование грибной инфекции УФ, новые побеги хуже развивались, были более слабыми, бутоны на них не формировались.

Список литературы:

1. Shu Yuan, Hong-Hui Lin. Role of salicylic acid in plant abiotic stress. // Z. Naturforsch. 2008. Vol. 63. P. 313-320.
2. Шакирова Ф.М. Неспецифическая устойчивость растений к стрессовым факторам и ее регуляции. // Издательство «Гилем». Уфа, 2001. 160 с.
3. Влияние салициловой кислоты на формирование окислительного стресса, индуцированного УФ-Светом в листьях перца. // Физиология растений, 2008. Т. 55. №4. С. 620-623.
4. Кондратьева В.В., Воронкова Т.В., Кириченко Е.Б. Динамика углеводов, салициловой и фенолкарбоновых кислот в зимующих корневищах тетраплоидной и диплоидной форм мяты // Сб. статей регион. конф. «Вторые чтения, посвященные памяти Ефремова С.И.». Орел, 2006. С. 111-114.
5. Surplus S.L., Jordan B.R., Murphy A.M., Carr J.P., Thomas B., Mackerness S.A.H. Ultraviolet-B-induced responses in *Arabidopsis thaliana*: role of salicylic acid and reactive oxygen species in the regulation of transcripts encoding photosynthetic and acidic pathogenesis-related proteins.// Plant Cell Environ. 1998. 21. P. 685-694.
6. Dhindsa R.S., Plumb-Dhindsa P., Thorpe T.A. Leaf Senescence Correlated with Increased Levels of Membrane Permeability, and Lipid Peroxidation and Decreased Levels of Superoxide Dismutase and Catalase. // J. Exp. Bot. 1981. V. 32. P. 93-101.

РОЛЬ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В НЕКРОТИЧЕСКОЙ ЗАЩИТНОЙ РЕАКЦИИ РЖИ К РЖАВЧИННОЙ ИНФЕКЦИИ

Корытько Л.А.¹, Мельникова Е.В.¹, Недведь Е.Л.²

1. Институт экспериментальной ботаники НАН Беларуси, Минск, Беларусь, patphysio@mail.ru
2. Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск

В настоящее время большой интерес вызывает участие фенольных соединений в обеспечении устойчивости растений к экстремальным условиям среды. Известно, что они проявляют защитные функции в растениях, подвергнутых воздействию неблагоприятных факторов (УФ-облучение, водный, химический и др. абиотические стрессы), являются эндогенными регуляторами физиологических процессов негормональной природы [1–2]. Также

имеются литературные данные, показывающие различные аспекты изменения содержания и активности фенольных соединений в процессе развития инфекции [3]. Однако связь между содержанием фенольных веществ и устойчивостью к заболеваниям наблюдается не всегда. Объяснить это можно, вероятно, тем, что помимо общего содержания фенольных веществ, большое значение для устойчивости имеет их качественный состав и количественные изменения, происходящие с ними в инфицированных тканях.

Целью исследований настоящей работы было изучение общего содержания фенольных соединений и некоторых свободных фенолкарбоновых кислот (ФКК) в тканях устойчивой и восприимчивой ржи, а также изменение количества этих веществ при инфицировании растений. Кроме того, было установлено влияние предпосевной обработки семян ржи растворами ФКК на болезнеустойчивость растений.

В экспериментах использовали посевную рожь *Secale cereale* L. сорта Родина, восприимчивую к фитопатогенам. Альтернативным вариантом служил гибридный подвид – многолетняя кормовая рожь Державина *Secale spp. derzhavinii* (Tzvel.) Kobyl., полученная при скрещивании дикой и посевной ржи и обладающая полигенной устойчивостью к болезням. Инфицирование проводили спорами бурой листовой ржавчины *Puccinia dispersa* Eriks. et Henn. Отбор проб производили в инкубационный период (3-и сутки после инфицирования) и на стадии этиолированных пятен (6-е сутки). Общее содержание фенольных соединений в здоровых и инфицированных тканях ржи определяли с помощью фотоколориметрического метода [4]. Качественный состав и количественное содержание свободных фенолкарбоновых кислот исследовали методом двумерной бумажной хроматографии, разработанным А.П. Волинцом и С.М. Маштаковым [5]. Визуальную оценку поражения листьев при инфицировании растений ржи после предпосевной обработки осуществляли по шкале Т.Д. Страхова [6].

Исследование общего количества фенольных соединений показало, что их содержание в тканях устойчивой ржи Державина было приблизительно в 1,5 раза выше по сравнению с таковым у восприимчивого сорта. При инфицировании растений уредоспорами *P. dispersa* каких-либо существенных изменений не происходило (Талб. 1). Таким образом, не наблюдалось связи между устойчивостью растений к ржавчинной инфекции и общим содержанием фенольных веществ.

Возможно, это объясняется тем, что фенольные соединения обладают различной биологической активностью.

Более высокая активность свойственна свободным фенольным соединениям, тогда как фенольные гликозиды и эфиры проявляют сравнительно невысокую активность или вовсе инертны. При поражении растений патогенами нарушается целостность клеточных мембран и органоидов [7]. Структурные нарушения ведут к высвобождению гидролизующих ферментов и контакту их с гликозидами. По этой причине при инфицировании соотношение свободных фенольных соединений и гликозидов может существенно сдвигаться в сторону первых (более активных форм) при относительно постоянном общем количестве фенольных соединений.

Таблица 1.
Общее содержание фенолов в здоровых и инфицированных тканях ржи
(усл. ед. / г сырой массы)

Вариант	Сутки после инфицирования	
	3	6
Державина	60,50±1,22	59,25±1,17
Державина + <i>P. dispersa</i>	59,50±1,24	61,75±1,30
Родина	45,25±0,94	44,75±0,90
Родина + <i>P. dispersa</i>	48,25±1,03	45,25±1,00

Таблица 2.
Содержание свободные фенолкарбоновых кислот в здоровых растениях
ржи, различающихся по устойчивости к ржавчине (мкг/г сухой массы)

Варианты опыта	Сутки после инфицирования							
	3	6	3	6	3	6	3	6
Оксикоричные кислоты								
	п-Кумаровая кислота		Феруловая кислота		Синаповая кислота		Сумма ФКК	
Державина	12,8 ± 0,3	11,3 ± 0,3	1,8 ± 0,04	1,6 ± 0,03	1,9 ± 0,04	1,4 ± 0,03	16,5 ± 0,3	14,2 ±
Родина	11,5 ± 0,2	9,9 ± 0,2	2,7 ± 0,05	2,2 ± 0,04	2,9 ± 0,06	1,6 ± 0,03	17,4 ± 0,4	13,6 ±
Оксибензойные кислоты								
	Сиреневая кислота		Ванилиновая кислота		п- Оксибензойная кислота		Сумма ФКК	
Державина	3,1 ± 0,06	2,6 ± 0,05	2,0 ± 0,04	2,1 ± 0,04	1,7 ± 0,03	1,3 ± 0,03	6,8 ± 0,1	6,0 ±
Родина	3,9 ± 0,08	2,0 ± 0,04	3,5 ± 0,07	2,8 ± 0,06	1,4 ± 0,03	1,3 ± 0,03	8,8 ± 0,2	6,0 ±

Во фракции свободных фенолкарбоновых кислот, экстрагированных этанолом из листьев устойчивой и восприимчивой к ржавчине ржи, обнаружены 3 оксикоричные (*п*-кумаровая, феруловая, синаповая) и 3 оксибензойные (сиреневая, ванилиновая, *п*-оксибензойная) кислоты (Табл. 2). *п*-Кумаровая кислота составляла половину общей суммы свободных ФКК в тканях обоих сортов ржи; уровень остальных кислот был примерно в 4-8 раз ниже по сравнению с *п*-кумаровой. В постинфекционный период происходили значительные изменения в содержании свободных ФКК в тканях устойчивых и восприимчивых растений ржи, но они имели противоположную направленность (Табл. 3).

Таблица 3.
Содержание свободные фенолкарбоновых кислот в инфицированных растениях ржи, различающихся по устойчивости к ржавчине (%)

Варианты опыта	Сутки после инфицирования							
	3	6	3	6	3	6	3	6
Оксикоричные кислоты								
	<i>п</i> -Кумаровая кислота		Феруловая кислота		Синаповая кислота		Сумма ФКК	
Державина	128	140	88	117	67	152	116	138
Родина	85	68	74	52	75	120	82	71
Оксибензойные кислоты								
	Сиреневая кислота		Ванилиновая кислота		<i>п</i> -Оксибензойная кислота		Сумма ФКК	
Державина	192	98	114	95	78	110	140	99
Родина	48	74	83	58	85	62	68	64

В инфицированных листьях восприимчивой ржи содержание всех оксибензойных и оксикоричных кислот снижалось примерно на 20-40% (кроме синаповой кислоты, количество которой вначале уменьшалось на 25%, а затем повышалось на 20%). В инфицированных листьях устойчивой ржи Державина обнаружена совершенно иная закономерность в изменении содержания фенолокислот. Уже на первом этапе взаимодействия с патогенном резко (почти в 2 раза) увеличивалось количество сиреневой кислоты, а концентрация *п*-кумаровой кислоты повышалась на 28%. Дальнейшее развитие некротической защитной реакции сопровождалось не только прогрессирующим накоплением в инфицированной ткани *п*-кумаровой кислоты, но и существенным увеличением количества синаповой (на 52%), содержание феруловой кислоты повышалось на 17%. Общее

содержание оксикоричных кислот постепенно возрастало до 138% от контрольного уровня на стадии этиолированных пятен. Количество оксибензойных кислот, напротив, было наибольшим (140%) в инкубационную стадию развития болезни и снижалось по мере развития некрозов до уровня контроля.

Однако известно, что постинфекционная сверхпродукция фенольных соединений не распределяется равномерно по всей ткани листа, а локализуется в очаге поражения [8]. Следовательно, концентрация свободных фенолкарбоновых кислот в самом некрозе во много раз превышает величину, полученную при экспериментальных исследованиях.

Любопытно было изучить, будет ли влиять экзогенная обработка свободными фенолкарбоновыми кислотами на устойчивость ржи к ржавчинной инфекции. Для исследования этого вопроса, семена восприимчивого сорта обрабатывали перед посевом растворами свободных ФКК (феруловой, п-кумаровой и п-оксибензойной) в трех концентрациях (10^{-4} , 10^{-5} и 10^{-6} М), а затем, на стадии 2-го листа инфицировали спорами бурой листовой ржавчины *P. dispersa*. После проявления болезни проводили визуальную оценку поражения листьев.

Таблица 4.

Интенсивность поражения ржи бурой листовой ржавчиной при обработке различными фенолкарбоновыми кислотами (по шкале Т.Д. Страхова).

Вариант обработки	Степень поражения листа, %		
Контроль (вода) 20	10^{-4} М	10^{-5} М	10^{-6} М
Феруловая кислота	5	15	20
п-Кумаровая кислота	15	20	20
п-Оксибензойная кислота	10	15	20

Экспериментальные данные (Табл. 4) показали, что обработка посевного материала растворами исследуемых ФКК в концентрации 10^{-6} М оказалась неэффективной для повышения устойчивости растений ржи к инфицированию. При увеличении концентрации растворов возрастало их положительное действие на болезнеустойчивость. Так, предпосевная обработка растворами ФКК в концентрации 10^{-4} М подавляла развитие болезни на 5–15%. При этом наибольшими иммуностимулирующими свойствами обладала феруловая кислота.

Таким образом, установлено, что общее содержание фенольных соединений в здоровых листьях ржи Державина на 25–30% превышает таковое в листьях восприимчивого сорта.

Инфицирование растений ржавчиной не влияет на общий уровень фенолов, но вызывает существенную перестройку всего фенольного комплекса, в результате чего содержание свободных ФКК в листьях восприимчивой ржи уменьшается, а в листьях устойчивой – увеличивается. в период образования защитного некроза в 7-8 раз (в расчете на массу некроза), в основном за счет фунги- и фитотоксичных оксикоричных кислот. Обработка семян перед посевом растворами ФКК (10^{-4} М) способствует повышению устойчивости растений ржи к инфицированию листовой ржавчиной на 5–15%.

Список литературы:

1. Запрометов М.Н. Фенольные соединения и их роль в жизни растения. LVI Тимирязевское чтение, М.: Наука, 1996, 45 с.
2. Запрометов М.Н. Специализированные функции фенольных соединений в растениях // Физиология растений. 1993 Т 40, С. 921-931.
3. Волюнец А.П. Фенольные соединения в жизнедеятельности растений. Мн.: «Беларуская навука», 2013. 282 с.
4. Swain T., Hillis W. // J.Sci.Food.Agric. 1959. Vol. 10. P.63–68.
5. Волюнец А.П., Маштаков С.М. Определение фенольных соединений в растительном материале./ В кн. «Методы определения фитогормонов, ингибиторов роста, дефолиантов и гербицидов». М., 1973. С. 33-49.
6. Методы повышения устойчивости сельскохозяйственных культур к болезням. Мн.: Наука и техника, 1982. С. 34-35.
7. Плотникова Ю.М. Структурные основы взаимоотношений растения-хозяина и патогена при ржавчинных болезнях пшеницы: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. М., 1984.
8. Holliday M.I., Keen N.T., Long M. // Physiol. Plant Pathol. 1981. V. 18. N 3. P.279-287.

ВЛИЯНИЕ ФЕРМЕНТАЦИИ НА КОНЦЕНТРАЦИЮ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ ЛИСТЬЕВ БАДАНА, КУЛЬТИВИРУЕМОГО В ФИНЛЯДИИ

**Косман В.М.¹, Пожарицкая О.Н.¹, Шиков А.Н.¹, Галамбози Б.²,
Макаров В.Г.¹**

¹ ЗАО Санкт-Петербургский Институт Фармации, Санкт-Петербург, Россия, +7-812-603-24-32, kosmanvm@mail.ru; ²MTT Agrifood Research Finland, Mikkeli, Finland

Бурые листья бадана (*Bergenia crassifolia* L., Fritsch, fam. Saxifragaceae), перезимовавшие под снегом, используют в традиционной медицине России, Монголии и Китая, как

адаптогенный чай. Изучение адаптогенных свойств бадана в настоящее время наиболее перспективно.

Альтернативой длительной естественной ферментации является введение в процесс заготовки растительного сырья дополнительной стадии ферментативной обработки, которая позволяет оптимизировать процедуру и изменить качество конечного продукта.

Целью данной работы являлась оценка влияния ферментации на содержание фенольных соединений в листьях бадана. Содержание арбутина, гидрохинона, галловой, эллаговой, протокатеховой кислот и бергенина определяли методом ВЭЖХ в неферментированных и ферментированных (при двух температурных режимах) пробах, полученных от *B. cordifolia*, *B. crassifolia* и *B. hybrid* "Pyha", культивируемых в Финляндии. Анализ выполнен в год сбора и через два года хранения в естественных условиях.

Установлено, что ферментация листьев бадана приводит к снижению содержания арбутина и повышению содержания гидрохинона, галловой и эллаговой кислот. В образцах *B. cordifolia* и *B. hybrid* "Pyha" выявлен близкий уровень содержания фенольных соединений, в то время как для *B. crassifolia* получены более низкие значения. Показана стабильность большинства компонентов при хранении.

В целом температура ферментации не оказывает существенного влияния на стабильность фенольных соединений листьев бадана, культивируемого в Финляндии.

УДК 577.13:582.736

СОСТАВ И СОДЕРЖАНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В РАСТЕНИЯХ *ASTRAGALUS SERISEOCANUS* GONTSCH. IN VIVO И IN VITRO

Коцупий О.В., Амброс Е.В., Петрук А.А.

ФГБУН Центральный сибирский ботанический сад СО РАН, Новосибирск,
Россия, 8(383)–3399818, olnevaster@gmail.com

Astragalus sericeocanus Gontsch. – редкий вид, занесен в Красную книгу Республики Бурятия (2002). Его эндемичный ареал имеет два местонахождения на территории России на побережье озера Байкал (Выдрина, 1994). Ограниченность произрастания является предпосылкой для сохранения *A. sericeocanus* в

коллекциях *ex situ* и разработки биотехнологических приемов культивирования растения в условиях *in vitro*. Культивирование *in vitro* – это не только эффективный метод сохранения флоры, но и удобный способ получения биологически активных веществ растительного происхождения. Общее содержание флавоноидов растений этого вида - более 2,0 % (Сиднева, 2006).

Целью данного исследования было сравнительное изучение флавоноидного состава растений *A. sericeocanus* из природных ценопопуляций, интродуцированных растений и растений, полученных *in vitro*.

Образцы листьев растений *A. sericeocanus* природных ценопопуляций получены из двух известных на территории России мест обитания вида в Республике Бурятия - из окрестностей с. Турка (Прибайкальский район), в фазах цветения и плодоношения (2004 и 2011 г.г.) и с острова Ярки (Северобайкальский район), в фазе плодоношения (2014 г.). На участке редких растений ЦСБС СО РАН интродукция вида начата в 1991 г. из семян растений из Северобайкальского района Республики Бурятия (Дагарской губы). Образцы для исследований собраны в фазе плодоношения в 2008 г. Образцы растений *in vitro*, культивируемых в 2014 г., получены из зрелых семян особей из окрестностей с. Турка.

При размножении *A. sericeocanus* в условиях *in vitro* применяли стандартные методики культивирования (Калинин и др., 1980). Семена стерилизовали ступенчато: 70%-ным раствором этилового спирта, затем 1% - ным раствором гипохлорита натрия с последующим трехкратным промыванием в стерильной дистиллированной воде. После стерилизации количество семян, свободных от контаминации, составило 96,7%. Для снятия экзогенного физического покоя была проведена механическая скарификация в комплексе с обработкой 50%-ной серной кислотой (продолжительность обработки 60 мин). Проращивали семена на безгормональной питательной среде по прописи Гамборга и Эвелеге – В₅ (Gamborg, 1968). Всхожесть семян у *A. sericeocanus* после скарификации через 7 дней культивирования составила 78%, в контрольном варианте - 13%. После появления первого настоящего листа наземную часть проростков через 20 дней культивирования отделяли и переносили на среды В₅, дополненные тидиазурином (TDZ) в концентрациях 0,05 - 2,0 мг/л. Экспланты культивировали при температуре 24°C, 16-часовом фотопериоде, освещении люминесцентными лампами Osram L (Germany) с интенсивностью 3 тыс. лк. Оптимальной средой для индукции морфогенеза и микроразмножения *A. sericeocanus* была среда, дополненная 0,1 и 0,2 мг/л TDZ. Микроразмножение

происходило путем активации развития пазушных меристем. Доля эксплантов, проявивших морфогенный ответ составила 100%, а коэффициент размножения через 6 недель культивирования на данных средах - 6,6 побегов на эксплант. Элонгацию микропобегов осуществляли на безгормональной среде В₅ в течение 4 недель. Для анализа вторичных соединений брали листья регенерантов в возрасте 12 недель, достигших высоты 5 -7 см.

Для извлечения суммы флавоноидов проводили исчерпывающую экстракцию 50 % этанолом при нагревании на водяной бане. Для проведения кислотного гидролиза к 0,5 мл водно-этанольного извлечения прибавляли 0,5 мл HCl (2 н) и нагревали на кипящей водяной бане в течение 2-х часов.

Анализ флавоноидов проводили методом ВЭЖХ на жидкостном хроматографе «Agilent 1200» с диодноматричным детектором и системой для сбора и обработки хроматографических данных ChemStation. Разделение проводили на колонке Zorbax SB-C18.

Содержание индивидуальных компонентов (C_x) в процентах в пересчете на абсолютно-сухое сырье вычисляли по формуле: $C_x = C_{ст} \cdot S_1 \cdot V_1 \cdot V_2 \cdot 100 / S_2 \cdot M \cdot (100-B)$

где C_{ст} - концентрация соответствующего стандартного раствора флавоноида, мкг/мл; S₁ - площадь пика флавоноида в анализируемой пробе, е.о.п.; S₂ - площадь пика стандартного флавоноида, е.о.п.; V₁ - объем элюата после вымывания флавоноидов с концентрирующего патрона, мл; V₂ - общий объем экстракта, мл; M - масса навески, мг; B - влажность сырья, %.

Расчет содержания компонентов производили по стандартной площади пика кверцетина.

После кислотного гидролиза в растениях *A sericeocanus* идентифицированы 3 агликона флавонолов - кверцетин, кемпферол и изорамнетин. По составу и количественному соотношению идентифицированных компонентов изученные образцы сходны. Во всех образцах преобладал изорамнетин, кверцетин превалировал над кемпферолом, обнаруженным в малых количествах (не более 0,06 % на массу абс. сух. сырья). Отличия имеются в содержании агликонов. Самое высокое содержание суммы трех агликонов отмечено у образцов из окрестностей с. Турка в фазе плодоношения (сборы 2004 и 2011 годов), более низкие показатели у интродуцированных растений. Минимальное содержание компонентов - у образцов из окрестностей с. Турка в фазе начала цветения, у образцов с острова Ярки в фазе плодоношения и у растений *in vitro* (рисунок).

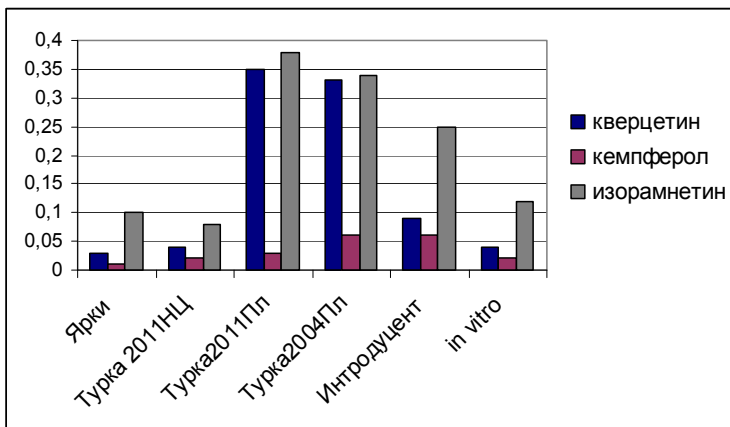


Рис. 1. Содержание агликонов флавоноидов в гидролизатах листьев растений *A. sericeocanus* *in vivo* и *in vitro*. По оси x: содержание агликонов флавоноидов, % от массы абс. сух. сырья.

Хроматограммы этанольных экстрактов образцов *in vivo* и *in vitro* имеют значительные различия в составе компонентов. Идентификация гликозидов флавоноидов и фенолкарбоновых кислот не производилась, учитывалось лишь суммарное содержание фенольных соединений. Максимальные значения суммы компонентов обнаружены у растений *in vitro* (2,07 %) и у растений *in vivo* в фазе плодоношения из окрестностей с. Турка сбора 2004 года (2,03 %) и сбора 2011 года (1,7 %), промежуточные значения – у интродуцированных растений (1,47 %). Невысокое содержание суммы фенольных соединений – у растений с острова Ярки (0,82 %) и у растений в фазе начала цветения из окрестностей с. Турка (0,52 %).

Таким образом, растения, полученные *in vitro*, характеризуются высоким содержанием суммы фенольных соединений при минимальном содержании агликонов в гидролизатах. Возможно, такая разница обусловлена преобладанием фенолкарбоновых кислот, которые обеспечивают физиологические процессы на ранних стадиях онтогенеза растений *in vitro*. В целом, содержание фенольных соединений растений *A. sericeocanus* *in vitro* по сравнению с растениями *in vivo* находится в пределах изменчивости вида, что позволяет сделать вывод о высоком биосинтетическом потенциале пробирочных растений *A. sericeocanus*.

Авторы выражают благодарность к.б.н. Т. В. Елисафенко за предоставленные образцы *A. sericeocanus* из природных

ценопопуляций и образцы с участка редких растений ЦСБС.

Список литературы

1. Красная книга Республики Бурятия: Редкие и исчезающие виды растений грибов. — 2-е изд., перераб. и доп. Новосибирск: Наука, 2002. 340 с.
2. Выдрина С. Н. *Astragalus* L. — Астрагал // Флора Сибири. Новосибирск, 1994. Т. 9. С. 29—32.
3. Сиднева О. В. Хемотаксономическое исследование секции *Cenantrum* Koch рода *Astragalus* L. (*Fabaceae*) Восточной Сибири. Дис. ... канд. биол. наук. Новосибирск. 2006. 130 с.
4. Калинин Д. Ф., Сарнацкая В. В., Полищук В. Е. Методы культуры тканей в физиологии и биохимии растений. Киев: Наук. Думка, 1980. 488 с.
5. Gamborg O. L., Eveleigh D. E. Culture methods and detection of glucanases in suspension cultures of wheat and barley // Can. J. Biochem., 1968. V. 46, № 5. P. 417–421.

РОЛЬ ДИГИДРОКВЕРЦЕТИНА В АДАПТАЦИИ ПРОРОСТКОВ СОИ К ВОЗДЕЙСТВИЮ АЦЕТАТА СВИНЦА

Кузнецова В.А., Остронков В.С., Лашин С.А., Иваченко Л.Е.¹

Закрытое акционерное общество «Аметис», Благовещенск, РФ, 8-961-954-33-85, kuzvika3385@yandex.ru

¹ФГБОУ «Благовещенский государственный педагогический университет», Благовещенск, РФ, 8-914-563-41-00, ivachenko-rog@yandex.ru

Показана корреляция между активностью пероксидаз, изофлавонами сои и биометрическими показателями в условиях окислительного стресса, вызванного ацетатом свинца. Проращивание сои в присутствии ацетата свинца вызывает угнетение проростков сои, что свидетельствует о высоком окислительном стрессе. Внесение дигидрокверцетина в среду повышает активность пероксидаз, изменяет количество изофлавонов, что увеличивает адаптивный потенциал и приводит к улучшению биометрических показателей.

Введение. В Амурской области широко распространена лиственница даурская (Гмелина), древесина которой содержит большой набор биологически активных веществ. Основным продуктом переработки лиственницы является флавоноид дигидрокверцетин (ДГК).

Ведущей сельскохозяйственной культурой на Дальнем Востоке является соя. В настоящее время сельскохозяйственное

производство становится все более зависимым от экологических факторов антропогенного происхождения, которые в значительной степени изменяют свойства почвы, продуктивность растений и качество продукции.

Среди токсических веществ, загрязняющих окружающую среду, особое место занимают тяжелые металлы (ТМ). Эти элементы устойчивы и сохраняют свое токсическое действие в течение длительного времени. Один из самых распространенных ТМ – свинец, который для растений является абсолютным токсикантом. Токсичность свинца проявляется в задержке прорастания семян и роста, увядании и гибели растений [1]. Свинец подавляет активность антиоксидантных ферментов (каталазы, пероксидазы, супероксиддисмутазы), вызывая при этом окислительный стресс и образование активных форм кислорода (АФК). За счет существования в растительной клетке эффективных антиоксидантных систем, которые способны обеспечить их защиту от АФК, растения обладают достаточной устойчивостью к окислительным повреждениям. [6].

По химической природе антиоксиданты представляют собой широкий класс соединений: фенолы и полифенолы (токоферолы, флавоноиды), аскорбиновая кислота, глутатион, антиоксидантные ферменты и другие вещества [2].

Окислительный стресс приводит к активации фенольного обмена растений, при этом в ответ на действие ТМ в тканях накапливаются полифенолы [3]. Соя содержит специфические полифенолы – изофлавоны, которые могут действовать совместно с другими природными антиоксидантами в растительной клетке, возмещая их дефицит в течение действия ряда стрессовых факторов. Данный фактор позволяет рассматривать эндогенный уровень изофлавонов в качестве теста, диагностирующего воздействие различных стрессоров на состояние растений [6]. Если антиоксидантная система не справляется с защитой растительной клетки от действия стресса, возникает необходимость внесения антиоксиданта извне.

В защитных реакциях растений на действие ТМ огромная роль также принадлежит антиоксидантным ферментам, активность которых значительно возрастает в стрессовых условиях. По увеличению их активности можно судить о проявлении защитной реакции клеток к действию ТМ [4]. Важнейшим антиоксидантным ферментом является пероксидаза (К.Ф. 1.11.1.7), которая осуществляет контроль уровня пероксида водорода в клетках растений. Пероксидаза является полифункциональной и подвергается значительной изменчивости под действием

неблагоприятных условий среды, в том числе ТМ [5].

Цель исследований: изучить воздействие ацетата свинца на активность пероксидаз, количество изофлавонов, биометрические показатели проростков сои и выявить роль дигидрокверцетина в защитном механизме.

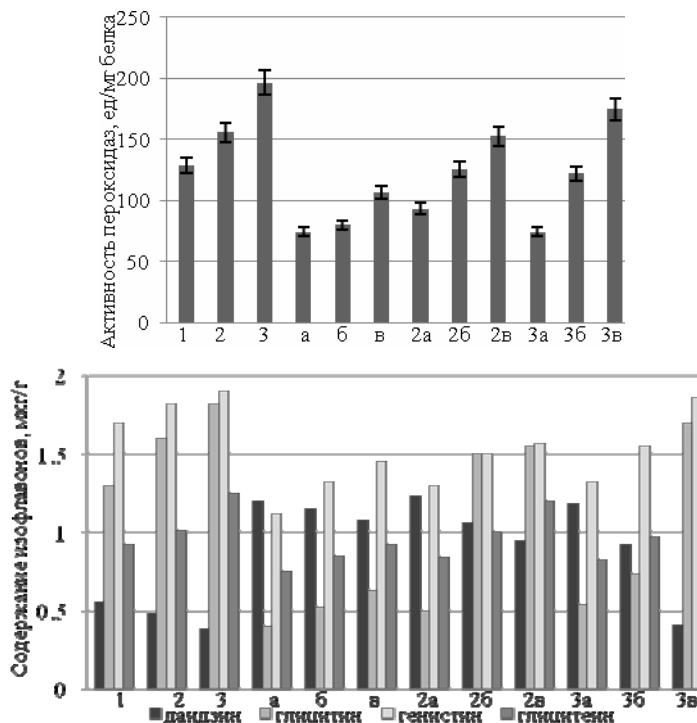


Рис. 1. Активность пероксидаз и содержание изофлавонов в проростках сои, полученных в условиях проращивания ацетата свинца и ДГК. 1 – контроль; концентрации ДГК: 2 – 3×10^{-5} , 3 – 3×10^{-6} , концентрации ТМ: а – $5 \cdot 10^{-4}$ М, б – $5 \cdot 10^{-5}$ М, в – $5 \cdot 10^{-6}$ М).

Материалы и методы. Материалом для исследований явились семена сои сорта Лидия (*Glycine max* (L.) Merrill), полученные из ФГБНУ ВНИИ сои (г. Благовещенск), и дигидрокверцетин торговой марки «Лавитол» (ЗАО «Аметис», г. Благовещенск). Сою проращивали в течение 5 суток при добавлении ацетата свинца в концентрациях: 5×10^{-4} М, 5×10^{-5} М, 5×10^{-6} М и ДГК в концентрациях 3×10^{-5} М и 3×10^{-6} М. Контролем являлись проростки сои, пророщенные в дистиллированной воде.

Удельную активность пероксидаз определяли колориметрическим методом по Бояркину в модификации Мокроносова, содержание белка – по Лоури, изофлавоны – ВЭЖХ.

Результаты и обсуждение. В результате проведенных исследований выявлено, что внесение ДГК невысоких концентраций в раствор для проращивания сои вызывает увеличение активности пероксидаз, а внесение ацетата свинца исследуемых концентраций приводит к снижению удельной активности фермента на 30-50%, причем, чем выше концентрация ТМ, тем ниже активность фермента. ДГК, добавленный к растворам, содержащим ацетат свинца различной концентрации, приводит к изменению активности пероксидаз. Внесение ДГК в концентрации $3 \cdot 10^{-5}$ М увеличивает активность фермента в полтора раза по сравнению активностью фермента проростков сои, выращенных в среде с ТМ. При высокой концентрации соли внесение ДГК в концентрации $3 \cdot 10^{-6}$ М не вызывает повышение активности фермента. Следует отметить, что при невысокой концентрации ацетата свинца внесение ДГК исследуемой концентрации увеличивает активность фермента по сравнению с контролем, что свидетельствует о проявлении антиоксидантного действия ДГК (рис. 1А).

Анализ содержания изофлавонов проростков сои выявил высокие концентрации глицитина и генистина и низкую – даидзина (рис. 1Б). Внесение ДГК снижает уровень даидзина, но повышает уровень остальных изофлавонов. Добавление в среду для проращивания сои солей свинца разных концентраций вызывает увеличение количества даидзина более чем в 2 раза, а содержание других изофлавонов наоборот – уменьшение, что свидетельствует об ответной реакции растения на окислительный стресс. Внесение ДГК в среду, содержащую ацетат свинца в высокой концентрации ($5 \cdot 10^{-4}$ М), не изменяет количество изофлавонов, а при меньших концентрациях соли ($5 \cdot 10^{-5}$ М, в – $5 \cdot 10^{-6}$ М) внесение ДГК увеличивает содержание глицитина и генистина выше контроля, что приводит к увеличению адаптивного потенциала сои к окислительному стрессу.

Биометрический анализ проростков сои показал, что внесение ДГК стимулирует ростовые процессы сои, а внесение ацетата свинца затормаживает ростовую активность проростков, особенно, значительное влияние проявляется при добавлении ТМ в высокой концентрации ($5 \cdot 10^{-4}$ М), уменьшая показатели при этом в 1,5-2 раза. Внесение ДГК в среду, содержащую ТМ в меньших концентрациях, приводит к улучшению биометрических показателей до уровня контроля и выше, что показывает защитную

функцию ДГК. Следует отметить, что ацетат свинца оказал наименьшее влияние на массу корня проростков, что, видимо, связано с накоплением в проростках сои изофлавонов.

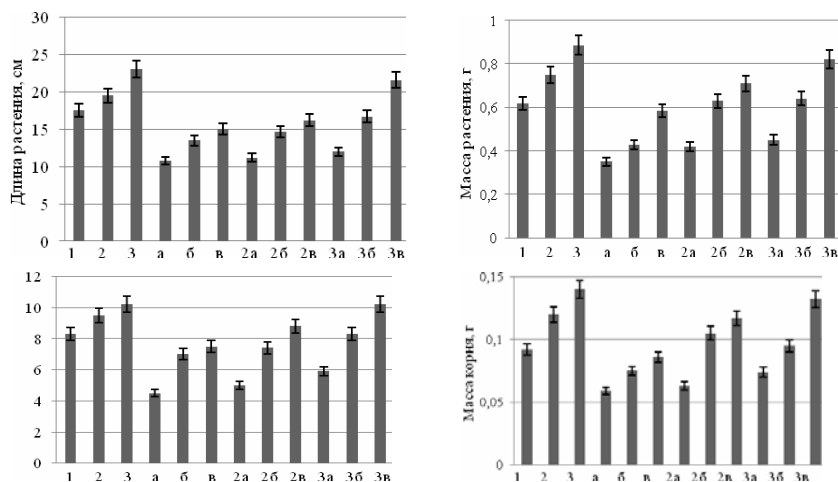


Рис. 2. Биометрические показатели проростков сои, полученных в условиях проращивания с добавлением ацетатом свинца и ДГК. 1 – контроль; концентрации ДГК: 2 – 3×10^{-5} , 3 – 3×10^{-6} , концентрации $Pb(CH_3COOH)_2$: а – $5 \cdot 10^{-4}$ М, б – $5 \cdot 10^{-5}$ М, в – $5 \cdot 10^{-6}$ М).

В результате проведенных исследований выявлено, что проращивание сои в течение 5-ти суток с добавлением ацетата свинца различных концентраций приводит к изменению удельной активности пероксидаз, содержанию изофлавонов и биометрических показателей в зависимости от концентрации соли. Установлено, что внесение ДГК оказывает защитную функцию сои от окислительного стресса при невысоких концентрациях соли.

Исследования выполнены в рамках финансирования НИР №343 Госзадания Министерства образования и науки Российской Федерации.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Дабахов М.В., Дабахова Е.В., Титова В.И. Экотоксикология и проблемы нормирования / Нижегородская гос. с.-х. академия. – Н. Новго- род: Изд-во ВВАГС, 2005. – 165 с.
2. Зенков, Н.К. Фенольные биоантиоксиданты / Н.К. Зенков [и др.] – Новосибирск, 2003. – 328 с.
3. Олениченко Н.А., Влияние экзогенных фенольных соединений на

-
- перекисное окисление липидов у растений пшеницы / Н.А. Олениченко, Е.С. Городкова, Н.В. Загоскина // Сельскохозяйственная биология. – 2008. – № 3. – С. 58-61
4. Полесская, О.Г. Растительная клетка и активные формы кислорода: учебное пособие / О.Г. Полесская, под ред. И.П. Ермакова. – Москва: КДУ, 2007. – 140 с.
 5. Стаценко, А.П. Растительные пероксидазы – маркеры химического загрязнения природных сред / А.П. Стаценко, Л.И. Тужилова, А.А. Вьюговский // Вестник ОГУ. – 2008. – №10. – С. 188-191.
 6. Чупахина Г.Н., Масленников П.В., Скрыпник Л.Н. Природные антиоксиданты (экологический аспект): монография. — Калининград: Изд-во БФУ им. И. Канта, 2011. — 111 с.
-

УДК 582.623.2:57.087.1

ВЗАИМОСВЯЗЬ РАЗМЕРОВ ЛИСТЬЕВ ИВЫ ПРУТЬЕВИДНОЙ И СОДЕРЖАНИЯ В НИХ ФЛАВОНОИДОВ С ПОЛОЖЕНИЕМ ЛИСТА НА ПОБЕГЕ

Кузьмичева Н.А.

Витебский государственный медицинский университет, Витебск, Беларусь,
8-0212-370929, kuzm_n-a@mail.ru

Изменчивость морфологических признаков листа обычно велика и зависит от различных факторов [1]. Этот факт следует учитывать при сборе листьев в качестве лекарственного растительного сырья. В литературе имеются работы, посвященные изучению взаимосвязи размерных характеристик листа и содержания в них биологически активных веществ [2,3]. Однако до сих пор получено мало сведений о закономерностях изменения морфологических и химических признаков листа в зависимости от его положения на побеге [4].

Объектом для исследования нами были выбрана ива прутьевидная (корзиночная) – *Salix viminalis* L., листья которой являются перспективным сырьем, обладающим гастрозащитными свойствами, особенно эффективными против стрессовых язв, встречающихся в настоящее время все чаще в экономически развитых странах [5].

Установлено также, что ивы корзиночной экстракт обладает противовоспалительным, антигипногенным, актопротекторным, корригирующим влиянием на амнезирующее воздействие электрошока, увеличивает объем движений животных в открытом пространстве [5,6].

Цель. Определить зависимость содержания флавоноидов в листьях ивы прутьевидной от морфологических параметров листа и его положения на побеге.

Материалы и методы. Были изучены гербарные образцы побегов ивы прутьевидной, заготовленные в естественных фитоценозах в сентябре 2014 года в окрестностях г. Витебска. Изучали длину листовой пластинки и длину черешка. С помощью миллиметровой линейки определяли для каждого листа максимальное значение длины листовой пластинки и длину черешка. Для определения положения каждого листа на побеге измеряли расстояние от основания побега до черешка, а затем рассчитывали его отношение к общей длине побега в процентах. Это позволило сравнивать между собой побеги с разным количеством листьев [4].

После измерения морфологических параметров каждый лист по отдельности измельчали до частиц размером 1–2 мм и определяли содержание флавоноидов с помощью денситометрического метода с применением офисной техники: сканера и компьютера с программой обработки изображений ImageJ ver. 1.41 h (<http://rsbweb.nih.gov>) [4]. В качестве стандартного образца использовался гиперозид.

Рассчитывали среднее арифметическое трех определений и его ошибку; строили графики зависимости морфологических параметров листа от его положения на побеге, рассчитывали уравнение регрессии (полиномиальная кривая второй степени) и его величину достоверности аппроксимации с использованием стандартного пакета программ Microsoft Office Excel 2010.

Результаты собственных исследований. Длина изученных побегов варьировала от 22 до 47 см, количество листьев на них от 21 до 32. Длина листьев изменяется на каждом побеге в разных диапазонах: от 27–76 мм на первом побеге; 20–68 мм на втором; 30–58 мм на третьем; 18–71 мм на четвертом и 18–89 мм на пятом из исследованных побегов. На всех побегах закономерность изменчивости длины листа следующая: самые короткие листья находятся у основания побега, затем длина листа постепенно увеличивается приблизительно до относительного расстояния от начала побега 60% и так же постепенно убывает, не достигая, однако, минимальной величины. Масса листьев находится в интервале от 10 до 63 мг и изменяется по той же закономерности, как и длина листа.

Для каждого из параметров листа построены графики зависимости их значения от положения на побеге (пример приведен на рис.1.). Рассчитаны уравнения регрессии и величина

достоверности аппроксимации. Наибольшая степень аппроксимации наблюдается для длины листа.

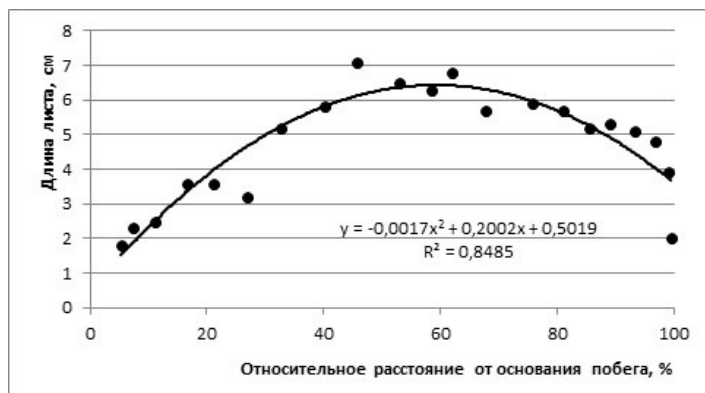


Рис. 1. Зависимость длины листа от его положения на побеге №4

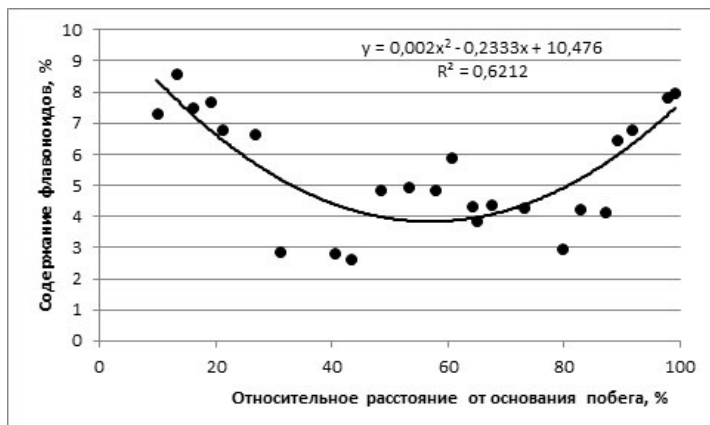


Рис. 2 – Зависимость содержания флавоноидов в листьях от их положения на побеге №2

Аналогичные графики можно построить и для зависимости длины черешка или массы листа от его положения на побеге. Коэффициент при x^2 всегда отрицательный. Это значит, что в середине побега (приблизительно на расстоянии 50-60% длины побега, считая от его основания) развиваются самые крупные листья. Ближе к основанию листа они становятся значительно меньше, в то время как ближе к верхушке уменьшение размеров не так заметно.

Содержание флавоноидов в отдельных листьях ивы прутьевидной варьирует от 1,2% до 11%, т. е. весьма значительно, в то время как средние значения в листьях с одного побега изменяются существенно меньше - от 4,08% до 5,76%. Зависимость содержания флавоноидов от положения листа на побеге зеркально противоположна той, которая была описана для длины и массы листа, то есть самые мелкие листья накапливают максимальное количество флавоноидов. Коэффициент корреляции длины и массы листа с содержанием флавоноидов равен -0,58 и -0,55 соответственно.

Для изучения зависимости содержания флавоноидов в листьях ивы прутьевидной от их положения на побеге были рассчитаны уравнения регрессии и построены графики. Пример для одного из побегов приведен на рис. 2.

Полученные результаты хорошо согласуются с литературными данными. Для листьев ивы трехтычинковой установлены аналогичные закономерности распределения по побегу листьев с максимальным содержанием флавоноидов [4]. Найдено также еще одно подтверждение более общей закономерности о том, что нельзя достичь одновременно и максимальных размеров листа, и наибольшего содержания вторичных соединений [2,3].

Список литературы:

1. Бузук Г.Н., Кузьмичева Н.А. Влияние климатических и эдафических факторов на содержание флавоноидов в листьях *Salix* sp. // Материалы седьмого съезда фармацевтов Беларуси «Фармация XXI века». – Витебск, 2004. – С. 262-264.
 2. Бузук Г.Н., Кузьмичева Н.А., Руденко А.В. Морфометрия лекарственных растений. 2. *Vaccinium myrtillus* L. Взаимосвязь морфологических признаков и химического состава // Вестник фармации.– 2007. –№1. –С. 26 – 37.
 3. Кузьмичева Н.А. Корреляционные связи между морфологическими показателями и содержанием флавоноидов в листьях ивы остролистной и ивы трехтычинковой // 40 лет фармацевтическому факультету. Сборник научных трудов, Витебск, 1999. – С. 115 – 126.
 4. Горовцова, Ю.С., Кузьмичева Н.А. Взаимосвязь морфолого-химических параметров листьев ивы трехтычинковой с их положением на побеге. // Вестник фармации.– 2012. – №1. – С. 25 – 33.
 5. Кузьмин В.Ю. Противовоспалительные эффекты извлечений из листьев ивы корзиночной. Дисс. к.мед.н. Томск.- 2004.- 121 с.
 6. Аксиненко С.Г. Противовоспалительные свойства настоя листьев *Salix viminalis* L. // Растительные ресурсы. -2002. -Т.38, №1.- С. 108-111.
-

УЧАСТИЕ САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ В РЕГУЛЯЦИИ ПРОЦЕССА ДЫХАНИЯ *SOLANUM TUBEROSUM* В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СОСТОЯНИЯ МИКРОФИЛАМЕНТОВ

Ланцев В.Л., Пузина Т.И.

ФГБОУ ВПО "Орловский государственный университет", Орел, Россия,
+7(4862)777818, e-mail: vic_lan@mail.ru

В настоящее время активно исследуется физиолого-биохимическая роль салициловой кислоты — регулятора роста фенольной природы. При этом основное внимание уделяется её участию в формировании защитных реакций у растений в условиях стресса и, прежде всего, действия фитопатогенов [1-3]. Исследования о влиянии салициловой кислоты на энергетические процессы остаются немногочисленными [4, 5]. В основном в них рассматривается роль салициловой кислоты в регуляции работы электронно-транспортной цепи дыхания и, прежде всего, активность альтернативной оксидазы [6]. Однако практически отсутствуют данные о действии салициловой кислоты на интенсивность дыхания и качество дыхательного обмена, от которого во многом зависят ростовые реакции растений.

Как известно, элементы цитоскелета образуют надмолекулярный матрикс, который во многом определяет процессы, происходящие в цитозоле, а также на мембранах в связи с образованием цитоскелет - мембранного комплекса [7]. Поэтому от целостности цитоскелетных структур во многом зависит ход и направленность физиолого - биохимических процессов.

Целью настоящей работы было исследование участия салициловой кислоты в регуляции качественных характеристик процесса дыхания в зависимости от структурного состояния актинового цитоскелета.

Исследования проводили на растениях картофеля сорта Удача, выращенных в почвенной культуре (вегетационные опыты), а также побегах возобновления (в лабораторных условиях) при прорастивании клубней во влажных опилках.

Обработку растений картофеля проводили путем опрыскивания 0,1 мМ раствором салициловой кислоты ("Sigma", США) и 0,01 мМ раствором цитохалазина Б ("Sigma", США) — деполимеризатора микрофиламентов, как отдельно, так и совместно через 15 суток после появления всходов. Контрольные растения обрабатывали водой.

Интенсивность дыхания определяли по количеству

выделяющегося CO_2 в приборах для наблюдения газообмена ("Физприбор", Россия) методом титрования. Для изучения дыхания поддержания (R_m) растения помещали в темноту на 48 часов. Об интенсивности дыхания судили по скорости выделения углекислого газа после пребывания растений в темноте [8]. Соотношение начальных путей дыхания определяли ингибиторным методом [9]. В качестве ингибитора гликолиза использовали 30 мМ раствор NaF, который вводили путем вакуум - инфильтрации в эксикаторе с вакуумным отсосом. Взвешивание органов растений проводили с использованием электронных весов (ВСТ 600/10, Россия). Биологическая и аналитическая повторности опытов пятикратные.

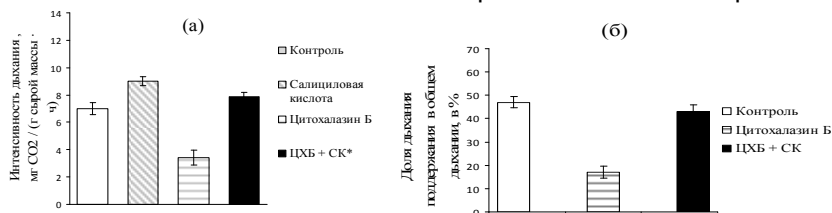


Рис. 1. Действие салициловой кислоты на интенсивность дыхания побегов возобновления растений картофеля. а) интенсивность дыхания; б) дыхание поддержания; * (ЦХБ + СК) — цитохалазин Б + салициловая кислота.

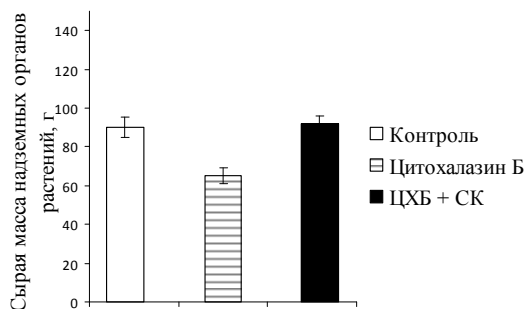


Рис. 2. Влияние цитохалазина Б и салициловой кислоты на массу надземных органов картофеля.

Обогащение растений картофеля салициловой кислотой способствовало усилению интенсивности дыхания почти на 30% по сравнению с контролем (рис. 1а). Деструкция микрофиламентов цитохалазином резко подавляла процесс дыхания (в 2 раза). Следует отметить, что аналогичная закономерность отмечалась на растениях картофеля сорта Жуковский ранний при деструкции микротрубочек [10]. В условиях нарушенных микрофиламентов салициловая кислота полностью снимала негативный эффект цитохалазина.

Разборка актинового цитоскелета приводила к резкому снижению доли дыхания поддержания (рис. 1б), которое, как известно, обеспечивает энергией уже имеющиеся в растительном организме структуры [11]. Салициловая кислота в этих условиях способствовала снижению отрицательного действия цитохалазина. Так, в варианте ЦХБ + СК доля дыхания поддержания достигла уровня контроля.

Положительное действие салициловой кислоты на дыхание поддержания в условиях деструкции актинового цитоскелета сказалось на ростовых показателях. Данные рис. 2 показывают, что сырая масса надземных органов растений картофеля (через 14 дней после обработки) в варианте ЦХБ + СК достигла контрольного варианта.

Наряду с интенсивностью дыхания и его качественными характеристиками изучали соотношение начальных путей дыхательного обмена — гликолитического и пентозофосфатного. Известно, что фтористый натрий в концентрации 30 мМ рассматривается как специфический ингибитор гликолиза, если он подавляет дыхание приблизительно на 50%. Результаты проведенных исследований свидетельствуют, что салициловая кислота в условиях целостных микрофиламентов не влияет на соотношение путей дыхания (рис. 3).

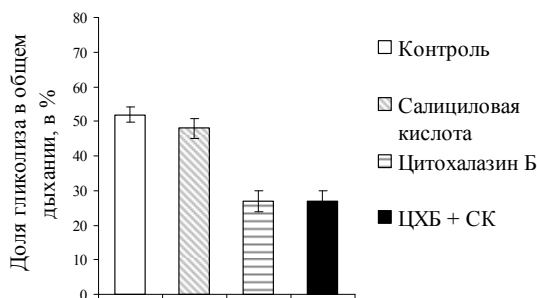


Рис. 3. Влияние цитохалазина Б и салициловой кислоты на соотношение начальных путей дыхательного обмена.

Процент ингибирования дыхания под воздействием фторида натрия в варианте с дезорганизованными микрофиламентами был значительно ниже 50% (составил 27%). Это может указывать на то, что нарушение актинового цитоскелета увеличивает апотомическую составляющую дыхания. В данных условиях салициловая кислота не изменяет действие цитохалазина на пути дыхательного обмена.

Таким образом, в результате проведенных исследований можно сделать вывод о неоднозначном влиянии салициловой

кислоты на процесс дыхания и его качественные характеристики. Так, в условиях целостного актинового цитоскелета салициловая кислота интенсифицирует процесс дыхания и не оказывает действия на соотношение начальных путей дыхательного обмена. При нарушении микрофиламентов применение данного регулятора снимает отрицательный эффект цитохалазина на интенсивность дыхания и дыхание поддержания, что приводит к увеличению сырой массы наземных органов и восстановлению её до уровня контроля. В этих условиях не изменяется соотношение гликолитического и апотомического путей дыхания.

Список литературы

1. Raskin I. Role of salicylic acid in plants // *Annu. Rev. Plant Physiology. Plant Mol. Biol.* 1992. V.43. P.439-463.
 2. Шакирова Ф.М., Сахабутдинова А.Р. Сигнальная регуляция устойчивости растений к патогенам // *Успехи современной биологии.* 2003. Т. 123. №6. С. 563 – 572.
 3. Васюкова Н.И., Озерецковская О.Л. Индуцированная устойчивость растений и салициловая кислота (обзор) // *Прикладная биохимия и микробиология.* 2007. Т. 43. №4. С. 405 – 411.
 4. Norman C., Howell K.A., Millar A.H., Whelan J.M., Day D.A. Salicylic acid is an uncoupler and inhibitor of mitochondrial electron transport // *Plant Physiol.* 2004. V. 134. P. 492 - 501.
 5. Шугаев А.Г., Буцанец П.А., Андреев И.М., Шугаева Н.А. Влияние салициловой кислоты на метаболическую активность митохондрий растений // *Физиология растений.* 2014. Т. 61. №4. С. 555 - 564.
 6. Рахманкулова З.Ф., Федяев В.В., Рахматуллина С.Р., Иванов С.П., Гильванова И.Р., Усманов И.Ю. Влияние предпосевной обработки семян пшеницы салициловой кислотой на ее эндогенное содержание, активность дыхательных путей и антиоксидантный баланс растений // *Физиология растений.* 2010. Т. 57. №6. С. 835-840.
 7. Фултон А. Цитоскелет. Архитектура и хореография клетки. М.: Мир, 1987. 120 с.
 8. Семихатова О.А. Дыхание поддержания и адаптация растений // *Физиология растений.* 1995. Т. 42. №2. С. 312 - 319.
 9. Семихатова О.А. Смена дыхательных систем. Л.: Наука, 1969. 147 с.
 10. Пузина Т.И., Власова Н.С., Макеева И.Ю. Физиолого - биохимические ответы *Solanum tuberosum* на деструкцию тубулинового цитоскелета // *Физиология растений — теоретическая основа инновационных агро- и фитобиотехнологий* / Под ред. Е.С. Роньжиной. Калининград: КГТУ, 2014. Часть 2. С. 382 - 384.
 11. Головкин, Т.К. Дыхание растений. Физиологические аспекты Санкт-Петербург: Наука, 1999. 204 с.
-

СУККУЛЕНТНЫЕ РАСТЕНИЯ: СОДЕРЖАНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ И АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ

Лапшин П.В.¹, Сажина Н.Н.²

¹ФГБУН Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, Россия, тел.+7(495) 977-94-33, e-mail: p.lapshin@mail.ru

²ФГБУН Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва, Россия, e-mail: Natnik48s@yandex.ru

Суккулентные растения это экологическая группа, приспособленная к экстремальным условиям произрастания: интенсивному солнечному облучению на фоне дефицита воды [1]. Для них характерны следующие особенности:

- Накопление воды в зеленых фотосинтезирующих органах;
- Независимость от постоянного доступа к воде;
- Способность сохранять фотоассимилирующую поверхность круглый год;
- САМ-метаболизм, позволяющий поддерживать фотосинтез при закрытых устьицах и тратить примерно в 30 раз меньше воды на фотосинтез, чем С3 растениям.

Эти различия позволяют провести границу между суккулентами и другими многолетними растениями пустынь: склерофитами и эфемероидами, которым либо необходим постоянный доступ к водоносному горизонту, либо они вынуждены иметь длительный период покоя без сохранения фотосинтезирующей поверхности [2]. Суккулентные представители есть более чем в 50 семействах высших растений, среди которых наибольшее количество принадлежит к таким 6 семействам, как: *Sactaceae*, *Aizoaceae*, *Xanthorrhoeaceae*, *Аросунасеае* (*Asclepiadoideae*), *Crassulaceae*, *Euphorbiaceae*.

Среди суккулентов немало лекарственных растений. В частности, это ряд видов родов Алоэ (сем. Ксанторревые), Каланхое и некоторые представители рода Крассула из сем. Толстянковые [3].

Фармакологическая ценность растений в значительной степени связана с накоплением в них различных соединений вторичного метаболизма, в том числе и фенольных соединений [5]. Эти вещества принимают разнообразное участие в жизни растений: защита от биотических и абиотических стрессов, интенсивного солнечного облучения, атак патогенов, механических повреждений и многое другое [5, 6]. Способами защиты от избыточного солнечного излучения у большинства суккулентных растений

являются формирование воскового налета на листьях, развитие опушения, выработка пигментов и соединений фенольной природы, таких как флавоноиды и антоцианы. Они поглощают коротковолновую часть спектра, и итоговая степень повреждающего действия УФ часто зависит и от уровня их накопления в растительных тканях. Нельзя забывать и о том, что полифенолы могут обуславливать и антиоксидантную активность экстрактов [7].

В связи с этим мы провели сравнение между уровнем накопления разных классов полифенолов и антиоксидантной активностью экстрактов, используя для этого ряд представителей суккулентных растений.

Объектами исследований являлись представители родов Крассула, Анакампсерос и Эхеверия, как растения с широким спектром морфологических и биохимических адаптаций к специфическим условиям среды, и разные виды Каланхое и Алоэ – как привлекающие постоянный интерес в качестве источников биологически активных веществ, используемых в фармакологии. Все эти виды были взяты из коллекции суккулентов ИФР РАН.

Так на более 30 представителях рода Эхеверия (сем. Толстянковые, распространение – Центральная Америка), травянистых, вечнозеленых многолетних трав с суккулентными листьями, изучали сравнительное накопление полифенолов во взаимосвязи с морфологическими адаптациями разных видов к интенсивному освещению. Все они значительно отличались по содержанию полифенолов. Максимальное накопление наблюдали у *E. moranii* и *E. gibbiflora* v. *metallica*, а минимальное у *E. pulidonis*. Эти различия были почти двадцатикратными. По результатам нашей работы была отмечена взаимосвязь между морфофизиологическими параметрами разных видов и содержанием в тканях фенольных соединений. Так, большинство видов с высоким содержанием полифенолов имело дополнительную пигментацию, а большинство видов с низким их уровнем – восковой налет. Часть из остальных имели защитное опушение или сложный шероховатый микрорельеф поверхности листа. Все это свидетельствует о формировании различных систем защиты от действия стрессовых факторов у этой группы растений [8].

Другой род растений, состоящий практически из одних листовых суккулентов - Крассула (сем. Толстянковые, распространение – Южная Африка). Ряд их представителей используется в народной медицине как лекарственные растения, обладающие антимикробным действием. Например, *C. dejecta* и *C. ovata* применяются при лечении ангины, воспалений горла, а также

при болезнях с нарушением прочности кровеносных сосудов [3]. Вероятно, это связано с их способностью к синтезу фенольных соединений, которые, как известно, защищают клетки и ткани от многих стрессовых воздействий. В нашей работе на основе большой выборки (более 70 видов) этого рода, мы сравнивали содержание фенольных соединений в листьях.

Показали, что разные виды крассул значительно отличаются по содержанию растворимых фенольных соединений. У 10-15% видов этот показатель очень высокий. Наибольшее содержание отмечено у *C. tetragona* и *C. gillii*. Для всех исследованных видов разница между максимальным и минимальным уровнем накопления фенольных соединений была почти 13-кратной [9].

Еще один объект наших исследований - представители рода *Анакампсерос*, семейство Портулаковые - травянистые растения из южной и юго-западной Африки [10]. На 7 представителях этого небольшого рода, не являющегося традиционным объектом биохимических и физиологических исследований, была проведена работа по изучению накопления фенольных соединений, их локализации по частям листьев. Наиболее высокая способность к образованию этих вторичных соединений отмечена у *A. telephiastrum*, самая низкая - у *A. namaquensis* [11].

Следующий объект исследований это Каланхое – широко используемые в народной и официальной медицине лекарственные растения. В их листьях содержатся многочисленные полифенольные соединения, органические кислоты, полисахариды, витамины и микроэлементы [4]. Согласно литературным данным, именно фенольные соединения обуславливают биологическую, в том числе и антиоксидантную, активность сока этих растений, то есть его способность ингибировать окислительные, свободнорадикальные процессы. Наиболее хорошо изучен биохимический состав и лекарственные свойства *Каланхое перистого* и *Каланхое дегремона*. Установлено, что в их соке содержатся флавоноиды: кверцетин, кемпферол и их гликозиды, рутин, лютеонин; органические кислоты: яблочная, изолимонная и др. Авторами работ было выдвинуто предположение о значительном сходстве качественного состава фенольных и других соединений в этих двух видах [4]. Возможно, это относится и к другим представителям этого рода.

Мы провели сравнительный анализ содержания фенольных соединений и антиоксидантной активности соков на более чем 30 видах Каланхое из нашей коллекции, с целью выявления среди них

наиболее эффективных продуцентов биологически активных соединений [12]. В результате были выявлены два вида – это *Kalanchoe scapigera* и *K. rhombopilosa*, имеющие в несколько раз больший уровень накопления фенольных соединений и высокую антиоксидантную активность по сравнению с основными, широко используемыми в лечебных целях видами - *K. pinnata* и *K. daigremontiana* [13]. Эти виды могут оказаться более перспективными источниками биологически активных соединений по сравнению с используемыми в настоящее время.

К объектам, привлекающим очень пристальное внимание исследователей, относятся разные представители рода Алоэ. Такие виды как *A. древовидное* и *A. vera* давно используются как ценные лекарственные растения, в том числе для производства препаратов с широким спектром медицинского назначения, в качестве ингредиентов в косметических композициях и пищевых добавках.

В листьях алоэ содержится много биологически активных веществ, в том числе и фенольной природы. Препараты из разных видов Алоэ проявляют антирадикальную и противомикробную активность, используются как общее профилактическое и противоопухолевое средство в народной медицине. Показано антиоксидантное, противовоспалительное и противомалярийное действие.

Нами было проведено определение антиоксидантной активности соков 15 видов Алое из коллекции суккулентов ИФР РАН, с целью выявления среди них новых потенциальных источников биологически активных соединений. При измерении суммарной антиоксидантной активности были использованы амперометрический и хемилюминесцентный методы [12, 13].

Обнаружены существенные различия антиокислительных свойств у исследованных генотипов алоэ и выявлены наиболее активные виды при использовании этих методов: *Aloe pillansii* и *A. spinosissima*, которые проявили при амперометрическом методе сопоставимые, а при хемилюминесцентном - существенно большие показатели по сравнению с основными лекарственными видами – *A. vera* и *A. арборесценс*. Эти два вида, а особенно *A. pillansii*, могут представлять интерес как потенциальные источники биологически активных соединений. Вид *Aloe pillansii* (синоним *Aloe dichotoma* подвид *pillansii*) из Южной Африки: пустыни Анголы, Намиб, аридные районы плоскогорья Намакваленд. Представляет собой небольшие, сильно разветвленные деревья 5-10 метров высотой, таким образом, это растения с потенциально большим выходом биомассы.

Для более широкого использования этих видов, необходимо проведение дополнительных исследований на предмет изучения их химического состава и фиторегулирующих свойств. Возможно, они окажутся перспективными и для использования в медицине.

Таким образом, в результате наших исследований можно отметить, что многообразие форм морфологических адаптаций у суккулентных растений взаимосвязано с разнообразием их метаболизма, которое проявляется, в том числе, и на уровне существенных различий в накоплении разных классов полифенолов и их антиоксидантной активности. Для представителей родов Алоэ и Каланхое по результатам предварительных анализов выделены новые перспективные таксоны для дальнейшего изучения их биохимических свойств.

Список литературы

1. Eggl U. Illustrated handbook of succulent plants: Crassulaceae. Berlin: Springer-Verlag, 2003. 458 p.
2. Синёв И.Е. Сравнительная биология суккулентов и склерофитов // Кактусы и другие сухолюбивые растения. 2002. 1(11), С. 32-36.
3. Oliver-Bever B. Medicinal plants in tropical West Africa III. Anti-infection therapy with higher plants // J. Ethnopharmacology. 1983. V. 9. P. 1-83.
4. Волжанова М.И., Байльман Р.А., Суслина С.Н., Быков В.А. Каланхое перистое и дегремона: химический состав, применение в медицине // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2010. N7. С. 14-20.
5. Запрометов М.Н. Основы биохимии фенольных соединений. М.: Высшая школа. 1974. 213 с.
6. Запрометов М.Н. Специализированные функции фенольных соединений в растениях // Физиология растений. 1993. Т. 40. С. 921-931.
7. Сажина Н.Н. Лапшин П.В., Загоскина Н.В., Мисин В.М. Сравнительная оценка антиоксидантных свойств соков различных представителей рода Каланхое // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2013. № 12. С. 10-14.
8. Лапшин П.В., Загоскина Н.В. О способности растений различных видов рода *Echeveria* (Crassulaceae) к образованию полифенолов // Сб. статей Международной научно-методической конференции, посвященной 200-летию со дня рождения Ч.Дарвина «Современные проблемы эволюционной биологии», Брянск: ГУП «Брянское обл. полиграф. объединение». 2009. Т.1. С. 262-269.
9. Лапшин П.В., Загоскина Н.В. Крассулы и содержание в них фенольных соединений. Факторы экспериментальной эволюции организмов. Сборник статей. 2013. Киев: Логос. Т. 13. С. 69-72
10. *Anacampseros, Avonia, Grahamia*. A grower's handbook. By Gordon Rowley. British Cactus and succulent Society. 1995. 80 p

-
11. Лапшин П.В., Глыбина А.А., Назаренко Л.В., Загоскина Н.В. Растения рода *Ancampseros* L. (Portulacaceae) и образование в них фенольных соединений // Фенольные соединения: фундаментальные и прикладные аспекты: материалы докладов VIII Международного симпозиума. Москва, 2-5 октября 2012 г. /отв. ред. Н.В. Загоскина – М.: ИФР РАН; РУДН, 2012. С. 364-367.
 12. Сажина Н.Н. Лапшин П.В., Загоскина Н.В., Мисин В.М. Сравнительная оценка антиоксидантных свойств соков различных представителей рода Каланхое // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2013. № 12. С. 10-14.
 13. Сажина Н.Н., Лапшин П.В., Загоскина Н.В., Короткова Е.И., Мисин В.М. Сравнительный анализ антиоксидантной активности соков Каланхое // Химия растительного сырья 2013, N3, с.113-119
-

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОСТАВА ЛИГНИНОВ В ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЯХ ОСИНЫ С ГЕНОМ ГЛУТАМИНСИНТЕТАЗЫ GS МЕТОДОМ ДВУМЕРНОГО ЯМР

Лебедев В.Г.¹, Фасхиев В.Н.^{1,2}, Белый В.А.³, Шестибратов К.А.¹

¹ФГБУН Филиал Института биоорганической химии имени академиков М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова РАН, Пущино, Россия

²ФГБОУ ВПО «Пушкинский государственный естественно-научный институт», г. Пущино

³ФГБУН Институт химии Коми научного центра Уральского отделения РАН, Сыктывкар

Повышение продуктивности растений является важным направлением генной инженерии лесных древесных пород. Одним из способов при этом является усиление активности глутаминсинтетазы - ключевого фермента азотного метаболизма. Объектом нашего исследования являлись трансгенные растения осины, содержащие ген GS1 сосны, кодирующий цитозольную форму глутаминсинтетазы. Встраивание этого гена привело к ускорению роста трансгенных растений. Так как существует взаимосвязь между метаболизмом азота и синтезом фенолпропаноидных единиц (предшественников лигнина), то ускорение роста могло оказать влияние на содержание и состав лигнинов, определяющих механические, защитные и другие свойства древесины.

Анализ состава древесины двулетних растений осины показал, что содержание общего лигнина у четырех из пяти трансгенных линий снизилось по сравнению с контролем на 5-8% (с 33,6 до 30,7-31,7%), причем именно за счет снижения доли

кислотонерастворимого лигнина. Состав лигнина (содержание G, S и H субъединиц) был определен методом двумерного ЯМР. Для контрольных растений соотношение S/G составляет 2,35-2,40, для тех же четырех трансгенных линий наблюдалось снижение этого значения до 1,95-2,21. В целом у трансгенных растений содержание G субъединиц увеличилось на 3-17% по сравнению с контролем, а S и H содержание субъединиц снизилось на 3-5 и 5-26%, соответственно.

Полученные данные свидетельствуют о некоторых изменениях в содержании и составе лигнинов растений осины с модифицированным метаболизмом азота. Для оценки влияния этих изменений на потребительские свойства древесины и другие характеристики растений необходимы дальнейшие исследования, в том числе и в полевых условиях.

УДК 615.322:582.

АНТОХЛОРЫ РАСТЕНИЙ АСТРОВЫХ

Литвиненко В.И., Попова Н.В., Дихтярев С.И., Маслова Н.Ф.

Государственное предприятие «Государственный научный центр лекарственных средств и медицинской продукции», (ГП «ГНЦЛС»), Харьков, Украина, тел. (057) 720-62-58, litvinenkovas@rambler.ru
Национальный фармацевтический университет, Харьков

Антохлоры - комплекс пигментов цветков высших растений, состоящий из смеси биосинтетически близких классов флавоноидов - халконов, флаванонов, аурионов и флавонов [2, 4].

Гипотетические пути биосинтеза этих классов соединений представлены в наших ранних работах [1-3].

При этом из исходных халконов, например, бутеина или 2,4,3',4'-тетрагидроксихалкона (I) может проходить биосинтез упомянутых классов по двум путям (β и α -направления). По β -направлению при гидратации I по β -углероду образуется β -гидроксидигидрохалкон (II), который при дегидратации и циклизации образует флаванон (бутин или 7, 3',4'-тригидроксифлаванон) (III).

При окислении II образуется β -кетодигидрохалкон (IV). Гидратация IV приводит к кетолу или β , β -дигидроксидигидрохалкону (V). Дегидратация и циклизация V приводит к β -гидроксифлаванону (VI), который при следующей дегидратации образует флаван (VII).

По α -направлению при гидратации I по α -углероду должен образоваться α -гидроксидигидрохалкон (VIII), который при следующей дегидратации и циклизации переходит в дигидроаурон (IX). Окисление VIII по α -гидроксилу дает α -кетодигидрохалкон (X). X при гидратации образует α -кеталь или α , α -дигидроксидигидрохалкон (XI). Последний при дегидратации и циклизации переходит в α -гидроксидигидроаурон (XII). XII при дегидратации образует аурон (XIII).

Таким образом, однотипно биосинтез по β -направлению из халкона бутеина должен привести к флаванону бутину и флавану (7,3',4'-тригидроксифлавану) (VII), а по α -направлению - к дигидроаурону (IX) и ауруну (сульфуретину или 6, 3',4'-тригидроксияуруну) (XIII).

Промежуточные классы дигидрохалконов, флаванонов и дигидроауронон, упомянутые выше (II, IV, V, VI, VIII, IX, X, XI, XII) пока не обнаружены в исследуемых растениях, хотя в других растениях известны [1].

Второй особенностью рассматриваемых антохлоров является то, что в основе их биосинтеза находятся 6-дезоксихалконы [5, 6].

Важно отметить, что под термином «антохлоры» впервые стали рассматривать комплекс биосинтетически близких классов флавоноидов еще на заре исследования этих природных соединений [8 -10].

В первых работах американских авторов [7, 9-11] отмечается, что антохлоры (смеси халконов и аурунов) широко распространены в растениях, но особенно они характерны в подтрибе Coreopsidinae подсемейства Heliantheae семейства астровых [13].

По последним данным к подтрибе Coreopsidinae относят роды Coreopsis L (120 видов), Coreocarpus (10 видов), Bidens L (240 видов), Cosmos L (более 20 видов), Dahlia Cav. (более 40 видов), Thelesperma Less. (более 10 видов), Wedelia Jacq. (130 видов), Vigourea HBK (180 видов), Cosmos L. (26 видов) [12].

Поэтому целесообразно было обратить внимание на химический состав комплекса антохлоров в этих растениях и их применение.

Проведен критический анализ литературных данных о химическом составе флавоноидов и применении растений родов: кореопсис, череды, космеи и других.

Одним из наиболее исследованных и применяемых растений в подтрибе Coreopsidinae являются виды рода череда (Bidens) [6].

Показано, что в этих растениях содержатся из флавоноидов преимущественно комплекс классов, объединяемых под термином «антохлоры».

Антохлоры анализируемых растений представлены биосинтетически близкими халконами, флаванонами, ауронами и флаванонами.

Характерно, что антохлоры в растениях являются резорциновыми производными по А-кольцу, за редкими исключениями, где находят флороглюциновые производные.

Из халконов основными являются бутеин (2,4,3',4'-тетрагидроксиалкон) и оканин (2,3,4,3',4'-пентагидроксиалкон), их метиловые эфиры и гликозиды; из флаванонов - бутин (7,3',4'-тригидроксифлаванон) и флавомаритиметин (7,8,3',4'-тетрагидроксифлаванон), их метиловых эфиров и глюкозидов; из ауранов - сульфуретин (6,3',4'-тригидроксиаурон), маритиметин (6,7,3',4'-тетрагидроксиаурон), их метиловые эфиры и глюкозиды; а из ожидаемых флавонов (изомерных ауранов) найдены: 7,3',4'-тригидроксифлаванон или гералдон и 7,8,3',4'-тетрагидроксифлаванон в виде 7-О-глюкозида.

Антохлорам редкого типа замещения (резорцинового типа в А-кольце) сопутствуют обычные флавоны (флороглюцинового типа в А-кольце) (апигенин, лютеолин), флавонолы (кемпферол, кверцетин, кверцетрин), а также полиины, сапонины и другие группы соединений.

Сложный комплекс биологически активных компонентов исследуемых растений обусловил и многообразие лекарственных свойств, таких как противовоспалительные, антимикробные, противогрибковые, противоопухолевые и другие, известные в традиционной медицине и подтвержденные в эксперименте.

Значительный интерес представляют фармакологические исследования не только извлечений из исследуемых растений, но и отдельных классов антохлоров, например халконов - бутеина, оканина, стиллопсидина, флаванонов - бутина, изооканина (флаваномаритиметина), ауранов - сульфуретина, маритиметина и др.

При этом особенно важно подчеркнуть, что эти данные раскрывают новые возможности для создания лекарственных средств на основе упомянутых соединений.

Список литературы

1. Литвиненко В.И. Природные флавоноиды // Технология и стандартизация лекарств: Сб. науч. ст. Харьков: РИРЕГ 1996.- С. 103-153.
 2. Литвиненко В.И., Попова Т.П., Аммосов А.С., Попова Н.В., Дихтярев С.И. Природные халканоиды, их классификация, распространение и применение// Фенольные соединения: Фундаментальные и прикладные аспекты. М-лы докл. 8-го междунаро. симпоз. - Москва.- 2012.- С. 369-375
 3. Литвиненко В.И., Попова Н.В., Попова Т.П., Аммосов А.С., Дихтярев С.И., Маслова Н.Ф. Халконарингенин и его производные, распространение и применение// М-ли 1-йМеждународ. научно-практ. конф. «Функціональні харчові продукти - дієтичні добавки - як дієвий засіб різнопланової профілактики захворювань»- Харків.- 2013.- С.154-156.
 4. Литвиненко В.И., Попова Т.П., Дихтярев С.И., Попова Н.В., Маслова Н.Ф., Георгиевский В.П. Природные ауриноиды, их классификация, распространение и применение// Фармаком.- 3013.- № 2.- С. 61-68.
 5. Bohm B.A., Stuessy, T.F. Flavonoids of the Sunflowers Family (Asteraceae).-Wien: Springer.- 2001.- 831 p.
 6. Bartolome A.P.,Villasenor I.M., Yang W.C. Bidens pilosa L. (Asteraceae): Botanical Properties, Traditional Uses, Phytochemistry, and Pharmacology// Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine 2013.- Vol.2013.- 51 p.
 7. Crawford D.J., Smith E.B. The Distribution of Anthochlor Floral Pigments in North American Coreopsis (Compositae): Taxonomic and Phyletic Interpretations // Amer. J. Bot.- 1983.- Vol. 70, N 3.- P. 355-362.
 8. Geissman T.A. Anthochlor Pigments. III. The Pigments of Cosmos sulphureus//*J. Am. Chem. Soc.*, 1942.- Vol.64 , N 7.- P. 1704
 9. Geissman T.A., Jurd L. Anthochlor Pigments. IX. The Structure of the Aurone Pigment of Cosmos sulphureus, "Orange Flare" and "Yellow Flare"// *J. Am. Chem. Soc.*, 1954.-Vol.76, N 17.- P. 4475-4476
 10. Geissman T.A. (Ed.) The Chemistry of Flavonoid Compounds Oxford : Pergamon Press, 1962.- 666 p.
 11. Harborne J. B. The Flavonoids: Advances in Reseach since 1986; London. Chapman & Hall, 1994.- P. 450-451
 12. Kimball R.T., , Crawford D.J. Phylogeny of Coreopsidae (Asteraceae) using ITS sequences suggests lability in reproductive characters// Molecular Phylogenetics and Evolution 2004.-Vol. 3 .- P. 127-139
 13. Crawford D. J., Mort M. E.. Phylogeny of Eastern North American Coreopsis (Asteraceae-Coreopsidae) insightns for nuclear and plastid sequences and comments on character // *Amer. J.Botany* 2005.-Vol. 92, N 2.- P. 330-336.
-

НОВЫЕ ФЕНОЛЬНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ РОДА GLYCYRRHIZA L. МИРОВОЙ ФЛОРЫ

Литвиненко В.И., Аммосов А.С., Попова Т.П.

Государственное предприятие «Государственный научный центр лекарственных средств и медицинской продукции» (ГП «ГНЦЛС»), Харьков, Украина, тел. (057) 720-62-586, litvinenkovas@rambler.ru

Род солодка GLYCYRRHIZA L. (сем. Fabaceae - бобовые) в мировой флоре по современным данным представлен около 30 видами (по В.П.Гранкиной) [1]. В нашем сообщении приведены сведения о новых 65 фенольных соединениях, недавно выделенных из некоторых видов рода солодки.

В результате проводимых в мире исследований накоплен и частично опубликован обширный фактический материал по фенольным соединениям, выделенным из видов растений этого рода [1, 2].

Рассмотрение и систематизация фенольных соединений изученных таксонов излагается с позиций общих и частных путей их биосинтеза вообще в растениях, а также в солодках в частности, и на основании разработанной общей схемы биохимической классификации природных флавоноидов [3].

Результаты и их обсуждение. Переходя к изложению представленного материала, следует отметить, что за довольно длительный период современного исследования фенольных соединений солодки (порядка 70-80 лет), выявлено и изучено, а нами представлено в динамике по нашей последней сводке в общей сложности 455 природных индивидуальных соединений-веществ [2]. Рассматривая представленные в этой сводке соединения, они были распределены по 4 подгруппам, 7 рядам и 36 классам. Представляемые в данном сообщении 65 фенольных соединений распредели по 3 подгруппам, 4 рядам и 17 классам используемой классификации [3].

Классификация и структура фенольных соединений

При обработке данных установили, что фенольные соединения представлены следующим образом – по подгруппам: эуфлавоноиды - 25, изофлавоноиды - 29, секофлавоноиды - 4. В более расширенном варианте распределение в подгруппах по рядам и классам следующее: в ряду халканоидов – 2 класса: халконы - 6 агликонов и 5 гликозидов, ауруны – 1 агликон, общее число соединений – 12; в ряду флаваноидов - 3 класса: флаваноны - 4 агликона и 2 гликозида, флавоны – 3 агликона и 2 глюкуронидгликозида и флавонолы – 3 агликона, общее число

соединений – 14; в ряду изофлаваноидов – 4 класса: изофлаваноны-3 агликона, изофлавоны – 15 агликонов и 2-метилизофлавоны – 1 агликон, изофлаваны – 3 агликона, 2-кето-изофлав-4-ены (3-арилкумарины) – 3 агликона, общее число соединений – 25; в ряду птерокарпаноидов – 2 класса: птерокарпаны – 2 агликона и 1 гликозид, куместаны – 1 агликон, общее число соединений – 4. В 2-х классах подгруппы секафлаваноидов: дигидростильбены (бибензилы) – 1 агликон, бензофураны (2-арилбензофураны) – 1 агликон и (2-арил-3-метилбензофураны) – 2 агликона, общее число соединений – 4. Представители других классов: простые фенолы – 2 агликона, фенилкарбоновые кислоты – 2 агликона, кумарины – 2 агликона, хромоны – 1 агликон, общее число соединений – 7. Итого 65 соединений.

Общей тенденцией всех фенольных соединений солодки является доминирующее наличие заместителей у С-7-атома (кольцо А) и С-4'-атома (кольцо В) – в подгруппах: эуфлаваноиды и изофлаваноиды или адекватные им положения в гетероциклических структурах других классов.

Однако, все же важной особенностью фенольных соединений бобовых, что нашло свое проявление и у солодки, является отсутствие гидроксильной группы у С-5 атома (кольцо А), в основном у халконов, флаванонов, изофлавонов, изофлаванов, 2-арилбензофуранов, кумаринов, как правило, выделяемых из подземных органов растений. Обнаружение С-2'-гидрокси производных, отличающихся необычностью своего генетического происхождения.

Также из главных структурных особенностей флаваноидов солодки следует отметить наличие пренильных (аллильных, пирановых) форм заместителей. Так, среди представленных в классах: халконов 5, флаванонов 4, флавонов 3, флавонолов 2, но больше всего среди изофлаваноидов: изофлаванонов 3, изофлавонов 10, изофлаванов 2, 3-арилкумаринов 2, прерокарпанов и куместанов по 1, бензофуранов 3, среди других классов 6 и всего 42 соединения.

Некоторые особенности отдельных соединений. Халкон: 5'- α , α -диметилаллил)-3,4,4-тригидрокси-2-метоксихалкон или 5-(1,1-диметилаллил)-3,4,4-тригидрокси-2-метоксихалкон (по ссылке) по мнению авторов исследования – ретросоединение, близкое к эхинатину и первое такое среди природных халконов [4]. Два халконовых гликозида 6-О-ацетилгликозида нео- и изоликвиритина [5]. Два бисдесмозидных триозида изоликвиритигенина ацилированных в биоэфедрине по 5'-О-апиозе

феруловой и п-кумаровой кислотами [6]. Перечисленные соединения выделены из корней с.уральской. Флаванон изоликолеафол охарактеризован как (2S) - 6 - [(E) -3-гидроксиметил-2-бутенил] -3', 4', 5,7-тетрагидроксифлаванон и выделен из травы с.вздутой [7]. Интересны два гликозида: глихионид А и В -7-(β-D-глюкуронида) флавонола из корней с.голой [8]. Из последних сообщений интересны два новых 2-арил- 3-метилбензофурана (неоглицибензофуран и 4-О-метилглицибензофуран), выделенных из корней с.уральской, эффективных против ванкомицин-устойчивых энтерококков [9]. Интересны необычные производные пренилированного резорцина - 4 из листьев и верхушек веточек с.иглоплодной, идентичных по структуре соединениям, выделяемых из конопли [10].

В ГП ГНЦЛС накоплен определенный опыт по изучению солодки, что позволило разработать комплексные технологии получения и предложить медицинской промышленности несколько оригинальных флавоноидных препаратов (таблетки ликвиритона, гранулы флакарбина, капсулы лавалона, выделение ликвиритина, ликвиритигенина, ликуразида) и других препаратов-субстанций [11].

Опубликован обзорный материал по использованию солодки в мировой практике на базе анализа охранных (патентных) документов на глубину последних 100 лет, и насчитывающий свыше 4180 источников информации, где на долю фенольных соединений приходится около 275 источников [12].

Разнообразно медицинское применение солодки и препаратов из нее, в котором солодка вышла на первое место среди цветковых растений [13] и нашла применение в 15-и фармакотерапевтических группах для профилактики и лечения различных заболеваний [14, 15].

Список литературы

1. Толстиков Г.А., Балтина Л.А., Гранкина В.П. и др. Солодка: биоразнообразие, химия, применение в медицине // Новосибирск: Академическое изд-во «Гео». -2007.- 311 с.
2. Литвиненко В.И. Солодка: систематика, химия, технология, стандартизация, фармакология, клиника / В.И.Литвиненко, В.П.Георгиевский, А.С.Аммосов, Т.П.Попова, Н.С.Фурса. - Ярославль: Аверс Плюс, 2014.- 466 с. (научное издание)
3. Литвиненко В.И. Природные флавоноиды / Технология и стандартизация лекарств / под ред. В.П.Георгиевского и Ф.А.Конева.- Сб.тр. ГНЦЛС.- Харьков.-1996.- С.103-153.
4. Chen J., Li Y-J. et al.Antioxidant and anti-inflammatory activities of six flavonoids separated from licorice// Food Chemistry.-2013.- Vol.141, N 2.- P.1063-1071.

-
5. Lee J.E., Lee J.Y., Kim J., et al. Two minor chalcone acetylglucosides from the roots extract of *Glycyrrhiza uralensis* // Arch. Pharmacol. Res.-2014.- Vol.37- P. 1-5.
 6. Hatano T., Takagi M., Ito H., Yoshida T. Acylated flavonoid glycosides and accompanying phenolics from licorice // Phytochemistry.-1998.-Vol. 47, N 2.- P.287-293.
 7. Zhou B, Wan C-X. Phenolic constituents from the aerial parts of *Glycyrrhiza inflata* and their antibacterial activities // J Asian Nat Prod Res.- 2014.- N 1.- P. 1-6.
 8. Li J.R., Wang Y.Q., Deng Z.Z. Two new compounds from *Glycyrrhiza glabra* // J.Asian Nat Prod.Res.-2005.-N 7.-P.677-680.
 9. Eerdunbayaer A., Orabi M.A., Aoyama H. et al. Structures of new phenolics isolated from licorice, and the effectiveness of licorice phenolics on Vancomycin-resistant Enterococci // Molecules.-2014.-Vol.19, N 9.- P. 13027-13041.
 10. Ghisalberti E.L., Jefferies P.R., McAdam D. Isoprenylated resorcinol derivatives from *Glycyrrhiza acanthocarpa* // Phytochem.-1981.-Vol.20, N 8.-P.1959-1961.
 11. Аммосов А. С. Химическое исследование и комплексная переработка солодки: Автореф. дис.... канд. фармац. наук. Харьков, 1988. 24 с.
 12. Аммосов А.С., Литвиненко В.И., Попова Т.П. Солодка: применение в мировой практике (обзор по материалам охранных документов за период с 1901 по 2014 годы) // Фармаком.- 2014.[электронный ресурс] режим доступа [http:// farmacomua.narod.ru/ licorice_patent/ article.html](http://farmacomua.narod.ru/licorice_patent/article.html) фитохимия (обновленный сайт).
 13. Быков В.А., Запесочная Г.Г., Куркин В.А. и др. Солодка: проблемы рационального использования сырья // Современное состояние и перспективы науч. исслед. в области фармации: Тез. докл. научн.-практич.конф.посвящ.25-летию фармфака Самарского госмед. ун-та.- Самара.-1996.-С.113-114
 14. Оболенцева Г.В., Литвиненко В.И., Аммосов А.С., Попова Т.П., Сампиев А.М. Фармакологические и терапевтические свойства препаратов солодки (обзор) // Хим.- фармац. журнал.-1999.-Т.33, № 8.- С. 24-31.
 15. Литвиненко В.И., Аммосов А.С., Попова Т.П. Фармако-биологические и терапевтические свойства препаратов солодки (обзор) // Фармаком.- 2004.-№ 4.- С. 53-61.
-

УДК: 581.1:633.358:577.13

ВЛИЯНИЕ N-ФЕНИЛ-2-НАФТИЛАМИНА НА РОСТ И АКТИВНОСТЬ КОМПОНЕНТОВ АДЕНИЛАТЦИКЛАЗНОЙ СИГНАЛЬНОЙ СИСТЕМЫ *PSEUDOMONAS SINGAE* PV. *PISI* И *RHIZOBIUM LEGUMINOSARUM* BV. *VICEAE*

Макарова Л.Е., Ломоватская Л.А., Кузакова О.В., Кузнецова В.Е.
ФГБУН Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН,
Иркутск, Россия, makarova@sifibr.irk.ru

Среди метаболитов, выделяемых корнями и семенами растения во внешнюю среду, содержится целый спектр разнообразных по химической структуре соединений, воздействующих на микроорганизмы [1,2]. Участие соединений корневых экссудатов в растительно-микробных взаимодействиях достаточно широко изучается и наиболее успешно оно исследовано для бобово-ризобияльного симбиоза. В частности, доказано, что первыми и значимыми агентами контроля нодуляции при взаимодействии бобового растения с *Rhizobium* на уровне ризосферы являются фенольные соединения его семенных и корневых экссудатов. Трансформации в составе секретируемых растением фенольных веществ, которые могут быть вызваны многими факторами (абиотическими, биотическими, процессом онтогенеза растения и т.д.), вероятно, определяют их эффективность в регуляции важных для симбиоза процессов, включая активизацию и размножение ризобий.

Установлено, что бобовое растение при посредстве фенольных соединений его экссудатов может вступать в тройственные симбиотические отношения с представителями двух типов эндомикросимбионтов – *Rhizobium* и арбускулярно-микоризальными грибами, представителями типа *Glomeromycota* [1]. Присутствие в ризосфере бобового растения арбускулярно-микоризальных грибов может усиливать экссудацию фенольных индукторов, положительно влияющих на экспрессию ризобияльных *nod*-генов. Аналогично этому и присутствие ризобий способствуют усилению колонизации корней арбускулярно-микоризальными грибами, при этом даже у небобовых растений. Однако, в настоящее время не изучена роль фенольных компонентов корневых экссудатов во взаимодействии бобового растения с фитопатогенными бактериями.

Среди многообразия фенольных соединений, представленных в экссудатах бобового растения [1], присутствуют

не только стимулирующие, но и подавляющие рост и развитие микрофлоры, а также некоторых высших растений. Веществами негативного действия у бобовых растений являются фитоалексины изофлавоноидного происхождения. Наряду с ними в составе экссудатов присутствуют соединения, которые могут быть интересны как вещества аналогичного действия на живые организмы. Это сложнотерпеновые соединения орто-фталевой кислоты и N-фенил-2-нафтиламин. Они обнаружены в корневых экссудатах гороха (*Pisum sativum* L.), сои (*Glycine max* L. MERR.) и бобов (*Vicia faba* L. var. *major* Hartz) [3]. Из перечисленных веществ достаточно хорошо известен N-фенил-2-нафтиламин - как негативное аллелопатическое вещество, относящееся к алкалоидам необычной структуры [4]. Подавляющее действие этих веществ на рост бактерий показано на примере *Rh.leguminosarum* [3]. Относительное содержание N-фенил-2-нафтиламина в составе фенольных соединений корневых экссудатов достаточно велико, по сравнению с другими фенольными компонентами, и возрастает в условиях неблагоприятных для роста растения [3,6]. Все это дает основание говорить о его регуляторной роли в инфицировании бактериями растения-хозяина.

Метаболизм бактерий регулируется многими вторичными мессенджерами различной природы. К их числу относится и цАМФ, вторичный мессенджер аденилатциклазной сигнальной системы, который в числе других агентов регулирует численность, а также чувство кворума микроорганизмов. Необходимый уровень цАМФ в клетке поддерживается двумя ферментами: аденилатциклазой, синтезирующей цАМФ и представленная как трансмембранными формами фермента (тМАЦ), так и растворимыми (рАЦ), а также фосфодиэстеразой (ФДЭ), переводящая цАМФ в нециклическую форму. Поскольку, как было замечено выше, фенольные соединения корневых экссудатов играют немаловажную роль в метаболизме ризосферных микроорганизмов, представляло интерес исследовать влияние N-фенил-2-нафтиламина из корневых экссудатов гороха на изменение динамики роста и активности компонентов аденилатциклазной сигнальной системы специфичных для этого вида растения микроорганизмов: *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* и симбионта *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae*.

Методика. N-фенил-2-нафтиламин выделяли из корневых экссудатов растений гороха по ранее разработанной нами схеме [3,5]. В экспериментах использовали следующие виды бактерий: *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* – штамм 1060 и *Pseudomonas syringae* pv. *pisi*, штамм 1845. Исследования проводили с

культурами бактерий на стационарной фазе роста, которые выращивали в колбах на среде, содержащей (г/л): диализата дрожжевого экстракта -10, глюкозы - 15, CaCO_3 - 5, pH 7.0. Титр бактерий определяли по стандарту мутности на планшетном спектрофотометре «Immunoschem-2100» при длине волны 655 нм. В начале эксперимента в каждую колбу с бактериальной суспензией, выровненной по титру (1×10^8), добавляли N-фенил-2-нафтиламин в конечной концентрации 9 мкМ. На 4-5 день роста суспензию бактерий центрифугировали 20 мин при 16 тыс. g, в супернатанте определяли уровень цАМФ и концентрации рАЦ и рФДЭ.

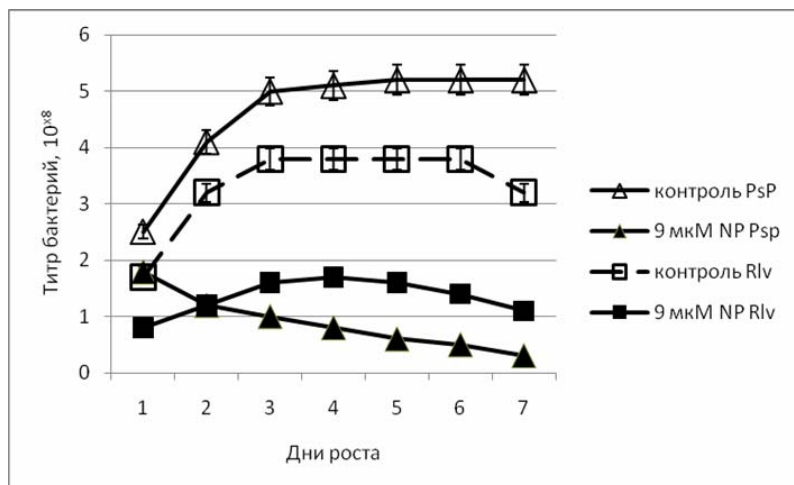


Рис. 1. Влияние N-фенил-2-нафтиламина на динамику роста *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* (PsP) и *Rhizobium leguminosarum* bv. *viceae* (Rlv). Обозначения. Контроль – среда без N-фенил-2-нафтиламина; 9 мкМ – концентрация N-фенил-2-нафтиламина (NP) в среде.

Осадок бактерий ресуспендировали в среде состава: 50 мМ трис-HCl pH 7.2, 0.5 мМ фенилметилсульфонилфторид, 0.05 мМ парахлормеркурибензоат, 1мМ дитиотреитол, и, затем, разрушали бактерии на ультразвуковом соникаторе «Branson Ultrasonic corp». В 2 мл бактериального гомогената определяли активности пектиназы и целлюлазы [7]. Остальной гомогенат центрифугировали при 105000g. В супернатанте определяли уровень цАМФ, активность рАЦ и рФДЭ, а также целлюлазы и пектиназы. В осадке, представляющем собой мембранную фракцию, активность тмАЦ. Активность АЦ определяли по уровню цАМФ при ингибировании фосфодиэстеразы теофиллином (0,1мМ) [8]. Активность фосфодиэстеразы определяли по убыванию

концентрации цАМФ в среде без теофиллина (ингибитор фосфодиэстеразы). Уровень цАМФ определяли ИФА [9].

В результате проведенных исследований было показано, что N-фенил-2-нафтиламин снижал рост *Ps. syringae* pv. *pisi* и *Rh. leguminosarum* (Рис. 1). При этом концентрация цАМФ, вторичного мессенджера аденилатциклазной сигнальной системы, существенно снижалась как в самих бактериях, так и в среде их роста. Это сопровождалось повышением активности растворимой формы аденилатциклазы (рАЦ), и растворимой формы фосфодиэстеразы, особенно в среде роста обоих микроорганизмов (Рис. 2).

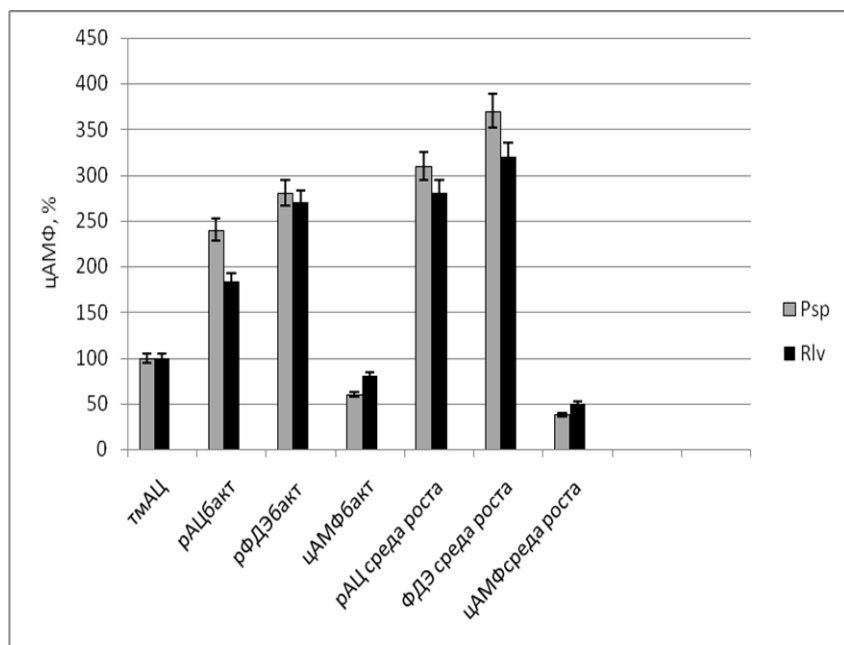


Рис. 2. Влияние N-фенил-2-нафтиламина на активность компонентов аденилатциклазной сигнальной системы *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* (PsP) и *Rhizobium leguminosarum* bv. *viceae* (Rlv).

Обозначения. По оси ординат: активность аденилатциклазы (АЦ), выраженная в %% к контролю (контроль – среда без N-фенил-2-нафтиламина). По оси абсцисс: тмАЦ-, трансмембранная АЦ; рАЦбакт, рАЦ среда роста - растворимая АЦ бактерий и в среде роста; рФДЭбакт- растворимая фосфодиэстераза бактерий; ФДЭ среда роста - фосфодиэстераза в среде роста; цАМФбакт, цАМФ среда роста – циклическая АМФ бактерий и в среде роста.

В системе *in vitro* (выделенные ферменты) N-фенил-2-нафтиламин в наибольшей степени, также дозозависимо повышал активность рАЦ и ФДЭ из среды роста бактерий (рФДЭ) (максимум более чем, в 350 раз), а также рАЦ в бактериях (в 9 раз), тогда как активность трансмембранной аденилатциклазы (тМАЦ) повышалась весьма незначительно (данные не приведены). Это косвенно указывает на то, что N-фенил-2-нафтиламин воздействует на каталитический центр АЦ, а в структуре рАЦ и тМАЦ имеются существенные отличия.

Известно, что цАМФ на транскрипционном уровне регулирует активность некоторых факторов вирулентности бактерий [10]. Нами недавно показано, что контроль факторов вирулентности, таких как пектиназы и целлюлазы, в основном, принадлежит тМАЦ, но не рАЦ. Поэтому не удивительно, что активность пектиназы и целлюлазы из *Ps.syringae pv. pisi* и *Rh. leguminosarum bv. viceae*, а также среды культивирования под воздействием N-фенил-2-нафтиламина практически не менялись. Не наблюдалось никакого эффекта и при его воздействии на выделенные формы пектиназы и целлюлазы (данные не приведены).

Таким образом, из вышеизложенного можно сделать вывод о том, что N-фенил-2-нафтиламин из корневых экссудатов гороха оказывает регуляторное влияние как на фитопатогенную, так и на симбиотрофную ризосферную микрофлору, ограничивая их размножение, но не активность факторов вирулентности.

Список литературы.

1. Макарова Л.Е. Физиологическое значение фенольных соединений при формировании бобово-ризобияльного симбиоза на этапе преинфекции (Обзор) // Вестник ХНАУ. 2012. Вып. 2(26). С. 25-40.
2. Кузмичева Ю.В., Шапошников А.И., Азарова Т.С., Петрова С.Н., Наумкина Т.С., Борисов А.Ю., Белимов А.А., Кравченко Л.В., Парахин Н.В., Тихонович И.А. Состав корневых экзометаболитов высокосимбиотического сорта гороха Триумф и его родительских форм // Физиол. растений. 2014. Т. 61, № 1. С. 121-128
3. Макарова Л.Е., Смирнов В.И., Клыба Л.В., Петрова И.Г., Дударева Л.В. Роль аллелопатических соединений в регуляции формирования бобово-ризобияльного симбиоза // Прикл.биохим.микробиол. 2012. Т. 48. № 4. С.394-402.
4. Yu R., Li B.G., Ye Q, Zhang G.L. A novel alkaloid from *Mitrephora maingayi* // Nat Prod Res. 2005. V.19(4). P. 359-62.
5. Макарова Л.Е. Физиологическое значение фенольных соединений при формировании бобово-ризобияльного симбиоза в неблагоприятных условиях // Дисс. ...д-ра биол. наук. Иркутск: СИФИБР СО РАН, 2010.

328 с.

6. Макарова Л.Е., Дударева Л.В. Регуляция бобово-ризобийного симбиоза при различных температурах и участии N-фенил-2-нафтиламина //Агрохимия. 2013. № 9.С.59-64.
 7. Вешняков В.А., Хабаров Ю.Г., Н.Д. Камакина Н.Д. Сравнение методов определения редуцирующих веществ: метод Бертрана, эбулиостатический и фотометрический методы // Химия раст.сырья. 2008. № 4. С. 47-50.
 8. Ломоватская Л.А., Романенко А.С., Рыкун О.В. Трансмембранная аденилатциклаза контролирует факторы вирулентности фитопатогена *Pseudomonas syringae* и мутуалиста *Rhizobium leguminosarum* // Микробиология .Т.4. 2015. (В печати)
 9. Lomovatskaya L.A., Romanenko A.S., Filinova N.V., Dudareva L.V. Determination of cAMP in plant cells by a modified enzyme immunoassay method // Plant Cell Reports. 2011. V.30. iss.1. P. 125-132.
 10. Green, J., Stapleton, M.R., Smith, L. J., Artymiuk, P.J., Kahramanoglou, C.,Hunt, D.M., Buxton, R.S. Cyclic-AMP and bacterial cyclic-AMP receptor proteins revisited: adaptation for different ecological niches // *Microbiol.* 2014. V. 18. P. 1–7.
-

УДК 581.1:547.56:577.175.1:581.143

ВЛИЯНИЕ КОФЕЙНОЙ КИСЛОТЫ НА СОДЕРЖАНИЕ ФИТОГОРМОНОВ И РОСТОВЫЕ РЕАКЦИИ *SOLANUM TUBEROSUM* В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СОСТОЯНИЯ ТУБУЛИНОВОГО ЦИТОСКЕЛЕТА

Макеева И.Ю., Пузина Т.И.

ФГБОУ ВПО «Орловский государственный университет», Орел, Россия,
+7(4862)777818, e-mail: makmus57@yandex.ru

Фенилпропаноиды являются вторичными метаболитами фенольной природы и широко распространены в растениях. Однако, по сравнению с другими фенольными соединениями, их физиолого-биохимическая роль исследована в меньшей степени. Имеющиеся в литературе сведения касаются действия препарата «Циркон» «НЭСТ М» (Россия), действующим веществом которого является смесь гидроксикоричных кислот. Основное внимание исследователи уделяют влиянию Циркона на ростовые реакции, продуктивность и устойчивость растений [1-3]. В единичных работах отмечается действие препарата Циркон на содержание фитогормонов [4]. Вместе с тем, надо отметить, что исследования на основе препарата гидроксикоричных кислот не дают представления о специфике действия на физиологические

процессы отдельных представителей данной группы фенолов. Не изучено участие гидрохикоричных кислот в регуляции ростовой активности растений в зависимости от целостности элементов цитоскелета. Поэтому представлялось необходимым изучить действие кофейной кислоты – представителя гидрохикоричных кислот на содержание фитогормонов и ростовые реакции *Solanum tuberosum* в зависимости от целостности микротрубочек.

Исследования проводили с растениями картофеля сорта Жуковский ранний селекции ВНИИКС (Коренево, Россия), выращенными в лабораторных условиях и в почвенной культуре. В условиях лаборатории клубни после выхода из состояния глубокого покоя проращивали в ящиках с увлажненными опилками в темноте, а после появления побегов возобновления – в условиях комнатного освещения. В почвенной культуре растения выращивали на серой лесной среднесуглинистой почве в условиях типового вегетационного домика на агробиостанции. Варианты опыта включали опрыскивание растений 0.1 мМ раствором кофейной кислоты (Sigma, США) и 1 мМ раствором деполимеризатора микротрубочек колхицином («Fluka», Швейцария) как отдельно, так и совместно через 15 суток после появления всходов. Контрольные растения обрабатывали водой. Для анализов отбирали листья срединной формации через 7 и 14 суток после обработки. Экстракцию фитогормонов проводили комплексным методом, описанным ранее [5], а их активность определяли методом биологической пробы. В качестве биотеста для определения активности ауксинов использовали колеоптили озимой пшеницы сорта Московская 39, гиббереллинов – проростки гороха сорта Шустрик. Ростовую активность высоты побегов возобновления и яркости рассчитывали по формуле:

$$R_{акт} = \frac{a_2 - a_1}{t \cdot a_1}, \text{ где } a_1 - \text{величина ростового показателя при первом}$$

измерении, a_2 - при втором измерении, t - время в сутках. Длину клубня измеряли с помощью штангенциркуля, массу клубней учитывали путем взвешивания на весах РН-3Ц13УМ (Россия). На рисунках и в таблицах представлены средние арифметические и их стандартные ошибки из 5 биологических и 5 аналитических повторностей. Достоверность различий между вариантами оценивали с помощью t -критерия Стьюдента.

Определение содержания фитогормонов в листьях картофеля в фазу бутонизации выявило неоднозначное влияние кофейной кислоты на содержание ауксинов и гиббереллинов (рис.1). В условиях целостности микротрубочек кофейная кислота

не оказала воздействия на содержание гиббереллинов (изменение было в пределах статистической ошибки), но существенно увеличило количество индолилуксусной кислоты (на 40% против контроля).

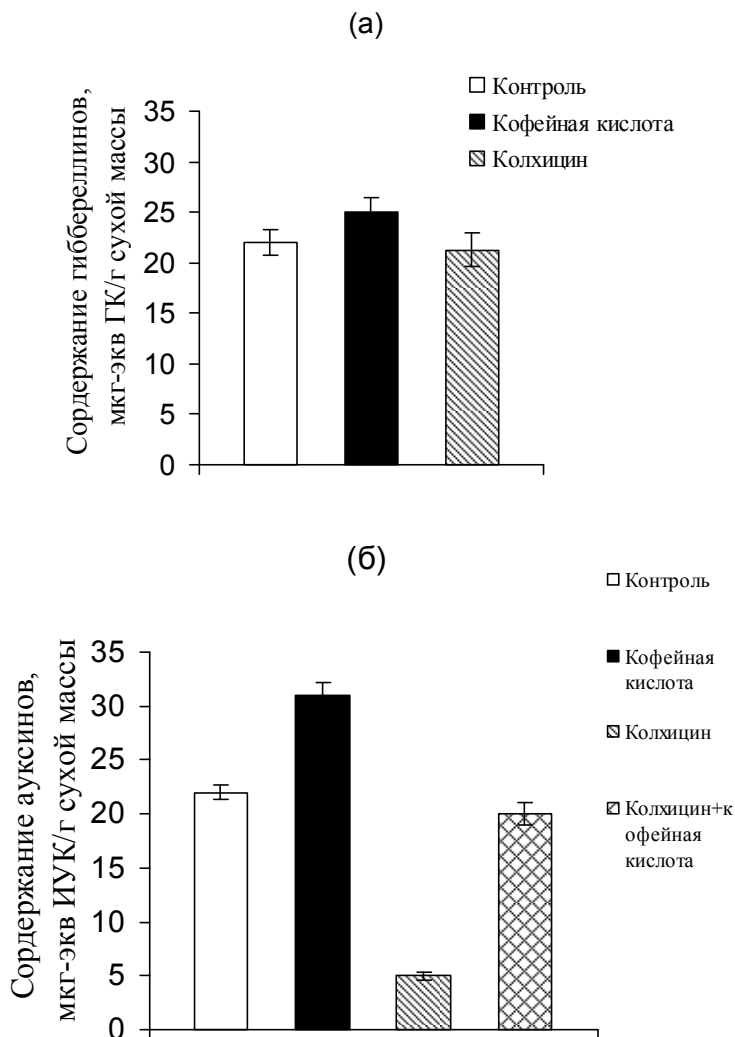


Рис. 1. Влияние кофейной кислоты и колхицина на содержание фитогормонов. а) содержание гиббереллинов, б) содержание ауксинов.

Такой эффект, по-видимому, связан с тем, что кофейная кислота ингибирует активность ИУК-оксидазы, фермента, окисляющего ауксины [6]. Деструктурирующий агент тубулинового цитоскелета колхицин не повлиял на содержание гиббереллинов, но резко снизил уровень ауксинов в листьях (в 4 раза против контроля). В этих условиях добавление кофейной кислоты существенно сгладило негативное действие колхицина на ауксиновый обмен. Так, в варианте колхицин+кофейная кислота количество ауксинов почти достигло уровня контроля.

Специфическое действие кофейной кислоты на гормональный обмен проявилось в ростовых реакциях побегов возобновления и формирующихся клубней (табл.1). А именно, на фоне неизменного количества гиббереллинов не изменилась ростовая активность высоты побегов возобновления и закладки узлов – одного из этапов морфогенеза побега. Как известно, данные показатели регулируются фитогормонами гиббереллинами. Аналогичный эффект выявлен и в действии кофейной кислоты на длину клубня (метаморфизированного подземного побега) как в условиях не нарушенного, так и деструктурированного тубулинового цитоскелета (рис.2).

Таблица 1.

Действие кофейной кислоты на ростовую активность побегов
возобновления

Вариант	Ростовая активность, %	
	высоты	ярусности
Контроль	10.23±0.21	1.99±0.15
Кофейная кислота	10.45±0.40	2.32±0.21
Колхицин	9.69±0.33	2.33±0.20
Колхицин + кофейная кислота	10.40±0.39	2.50±0.22

В отличие от линейных показателей, кофейная кислота оказала действие на массу клубней. Из данных табл.2 следует, что продуктивность растений в варианте с кофейной кислотой более чем на 30% превышала контроль. Возможно, увеличение массы клубней связано с повышением уровня ауксинов. В опытах *in vitro* и *in vivo* показано, что ауксины регулируют рост клубня [7,8].

Действительно, средняя масса клубня в кусте картофеля, обогащенного кофейной кислотой, превышала контроль. Колхицин снизил массу клубней в кусте на 23%. Это происходило на фоне снижения количества ауксинов. Разборка микротрубочек не оказала действия на эффект кофейной кислоты (вариант колхицин + кофейная кислота).

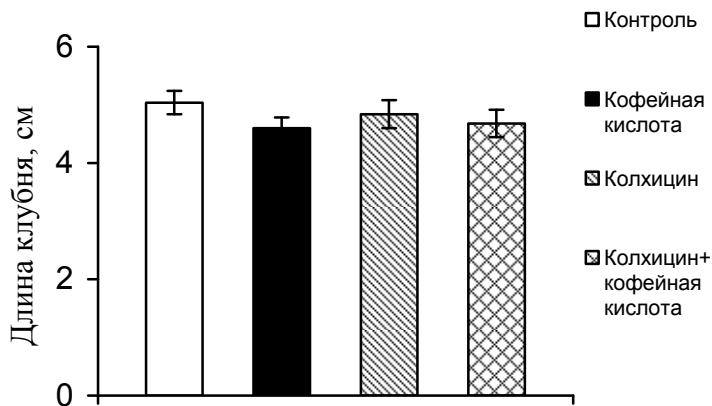


Рис. 2. Влияние кофейной кислоты на размер клубня.

Таблица 2.
Действие кофейной кислоты на массу клубней в зависимости от состояния микротрубочек

Вариант	Масса клубней, г/куст	Масса клубня, г
Контроль	381.22±2.99	42.80±1.21
Кофейная кислота	524.52±3.30	50.41±1.13
Колхицин	290.29±2.81	37.69±1.51
Колхицин+кофейная кислота	512.54±3.52	49.73±1.38

Результаты проведенного исследования позволяют заключить, что кофейная кислота и разборка тубулинового цитоскелета не изменяют количества гиббереллинов в листьях, однако, неоднозначно действуют на содержание ауксинов: кофейная кислота увеличивает уровень данного фитогормона, а

деструкция микротрубочек – снижает. Кофейная кислота сглаживает негативный эффект колхицина на уровень ауксинов. На этом гормональном фоне обогащение растений картофеля кофейной кислотой не изменяет высоты наземных побегов и длину клубня, а также закладку узлов как в условиях нативного тубулинового цитоскелета, так и деполимеризованного, однако увеличивает массу клубней вне зависимости от целостности микротрубочек.

Список литературы

1. Мишина О.С. Влияние карвитола и циркона на морфофизиологические показатели и продуктивность различных генотипов растений гречихи: Автореф. дис. ... канд. с-х. наук. М.: МСХА, 2011. 22 с.
 2. Упадышева Г.Ю., Упадышев М.Т. Повышение устойчивости и продуктивности груши и вишни под влиянием новых биорегуляторов // Научные труды ГНУ СКЗНИИСиВ. 2013. Т.2. С.79-82.
 3. Чмелева С.И., Кучер Е.Н., Дашкевич Ю.О., Ситник М.И. Влияние препарата Циркон на рост и развитие растений кукурузы на начальных этапах онтогенеза в условиях почвенной засухи // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И.Вернадского. Серия «Биология, химия». 2014. Т.27 (66). №1. С.223-231.
 4. Серегина И.И. Влияние циркона на продуктивность пшеницы // Агрохимический вестник. 2007. № 3. С. 18-19.
 5. Пузина Т.И. Влияние сернокислого цинка и борной кислоты на гормональный статус растения картофеля в связи с клубнеобразованием // Физиология растений. 2004. Т. 51. №2. С. 234-240.
 6. Баранов В.И. Биологическая активность окисленных фенольных соединений и их роль в разрушении индолил-3-уксусной кислоты // Физиология растений. 1979. Т.26. № 4. С.688-695.
 7. Пузина Т.И., Кириллова И.Г., Якушкина Н.И. Динамика индолилуксусной кислоты в органах картофеля на разных этапах онтогенеза и ее роль в регуляции роста клубня // Известия Академии Наук. Серия биологическая. 2000. №2. С.170-177.
 8. Аксенова Н.П., Константинова Т.Н., Голяновская С.А., Сергеева Л.И., Романов Г.А. Гормональная регуляция клубнеобразования у картофеля // Физиология растений. 2012. Т.59. №4. С.491-508.
-

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ И БРАССИНОСТЕРОИДОВ В ОСУЩЕСТВЛЕНИИ ЗАЩИТНЫХ ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ ЗЛАКОВ

Манжелесова Н.Е., Волынец А.П.

Институт экспериментальной ботаники им. В.Ф. Купревича НАН Беларуси,
Минск, Беларусь, +375172840543; patphysio@mail.ru

Среди многих метаболитов растений система эндогенных регуляторов роста заслуживает особого внимания. На молекулярном уровне они активируют не только гены, осуществляющие контроль за ростом и развитием, но и гены устойчивости и сигнальные системы защиты. В качестве перспективных физиологически активных веществ регуляторно-защитного действия все больше для изучения привлекаются эндогенные фитогормоны, фенольные, стероидные и терпеноидные соединения. Большое количество исследований свидетельствует о том, что фенольные соединения (ФС) растений являются потенциально токсичными веществами для фитопатогенных грибов и при определенных условиях могут выполнять защитную роль (1). Вместе с тем ФС способны влиять и на рост растений либо самостоятельно, либо воздействуя на ростовые вещества – фитогормоны (1). В физиологическом плане с ФС много общего имеют стероидные гормоны растений – брассиностероиды (БС). Они также способны регулировать процессы роста, изменяя ход обмена веществ, взаимодействовать с другими фитогормонами, оказывать влияние на формирование защитных реакций растений (2).

Показано, что повышение устойчивости ячменя к сетчатому гельминтоспориозу при действии брассиностероидов сопровождалось накоплением фенольных соединений (3). Очевидно, в патогенезе имеет место биосинтетическая связь между БС и ФС. Естественно предположить и наличие функциональной связи между ними. Выявить такую связь можно, используя в качестве методического приема принцип взаимодействия. В растениях эндогенные регуляторы роста выступают не изолированно, а как единая функциональная система, между компонентами которой существует постоянное взаимодействие, являющееся их характерным свойством. Повышение эндогенного уровня росторегулирующих

защитных веществ и возможности усиления физиологического взаимодействия за счет экзогенной обработки растений должно способствовать повышению болезнеустойчивости растений. Таким образом, применение смесей соединений для установления природы их взаимодействия, расшифровки механизма действия и возможности практического применения представляется вполне обоснованным.

Как известно, фитогормоны и негормональные регуляторы роста относятся к физиологически активным веществам. Основным свойством их является способность регулировать физиолого-биохимические процессы растений. Поскольку рост, устойчивость и продуктивность растений являются интегральными биологическими процессами, то выяснение отдельных физиологических и биохимических реакций под влиянием природных регуляторов роста может внести существенный вклад и в расшифровку природы взаимодействия этих веществ. Кроме того, изменение физиолого-биохимических реакций растений характеризует не только особенности действия фиторегуляторов, но также и проявление их защитного эффекта, что имеет особое значение в защите растений от болезней.

Проведенные нами ранее исследования показывают, что учет развития грибных болезней на культурных злаках по морфологическим признакам не дает дифференцированного и достаточно выраженного значения этого показателя (4). Возможно полное отсутствие внешних признаков поражения, тогда как биохимические признаки инфицирования обнаруживаются всегда, что свидетельствует об их надежности. Поэтому необходимость изучения защитного действия эндогенных регуляторов роста по биохимическим показателям очевидна, а определение физиолого-биохимических процессов растений может стать главным в выборе оптимальной схемы в защите злаков от грибных болезней. В наших экспериментах в полевых опытах исследовались такие показатели, как содержание пигментов, перекисное окисление липидов мембран, выход электролитов, активность пероксидазы в листьях ярового ячменя и пшеницы при обработке 24-эпибрассинолидом (ЭБ), фенолкарбоновыми кислотами и их смесями. Уменьшение количества пигментов, следствием чего является резкое снижение продуктивности пластических веществ, является универсальной реакцией растений на стресс.

Показано, что в полевом опыте при обработке растений ячменя путем опрыскивания в фазу стеблевания смеси фиторегуляторов оказывали довольно существенное влияние на содержание хлорофилла, повышали накопление зеленых

пигментов, однако отдельные вещества действовали на этот показатель активнее, особенно ЭБ, применение которого стимулировало накопление пигментов на 50%. Ванилиновая (ВК) и феруловая (ФК) кислоты увеличивали содержание хлорофилла примерно в равной степени – на 35%. Влияние смесей на содержание хлорофилла было в основном на уровне составляющих компонентов, т.е. имело место независимое действие последних в смеси. В агроценозе пшеницы обработка растений ЭБ и салициловой кислотой (СК) повышала содержание фотосинтетических пигментов и каротиноидов в первую половину вегетации и несколько снижала в период созревания (табл. 1). Смесь же активировала накопление пигментов, т.е. наблюдался явный синергический эффект.

Таблица 1.

Содержание фотосинтетических пигментов и каротиноидов в листьях яровой пшеницы под влиянием природных регуляторов роста, %

Вариант	01.07.08 трубкавание		09.07.08 начало цветения		25.07.08 созревание	
	хла+в	кар.	хла+в	кар.	хла+в	кар.
Контроль	100	100	100	100	100	100
ЭБ, 5мг/га	95	95	106	103	92	91
СК, 20 мг/га	108	121	108	111	89	99
ЭБ, 5 мг/га + СК, 20 мг/га	109	114	129	176	97	105

Следует отметить, что замена 3-метокси-4-оксибензойной (ванилиновой) кислоты в смеси на О-оксибензойную (салициловая) кислоту в посевах пшеницы дала положительный результат. СК в настоящее время относят к группе фитогормонов-регуляторов, способных вызывать индукцию определенных генов защиты растений от возбудителей болезней (5). В растениях существует несколько путей передачи сигнала, регулируемых гормонами защиты, и накоплено немало сведений о вовлечении эндогенных и экзогенных таких соединений в регуляцию неспецифической устойчивости разных культур. Особый интерес вызывает определение взаимного влияния сигнальных молекул. Это позволяет усилить действие индукторов иммунитета.

Если накопление пигментов является показателем, свидетельствующем о направленности изменения обмена веществ растения, то такие показатели, как содержание продуктов перекисного окисления липидов и выход из листьев воднорастворимых веществ, прямо связаны с развитием грибной

инфекции (6). Уровень перекисного окисления липидов является показателем структурных перестроек, происходящих в мембранах растений под воздействием возбудителей болезней. Накопление продуктов перекисного окисления (ТБК-продукты) в тканях растения свидетельствует о развивающемся патологическом процессе. Ингибирование образования ТБК-продуктов, наоборот, говорит о реализации адаптационно-защитного потенциала растения. Изменение проницаемости мембран - показатель, оптимально отражающий специфику взаимоотношений между растением-хозяином и поражающим его патогеном. Характер нарушения целостности мембран определяется интенсивностью выхода из тканей водно-растворимых веществ и электролитов. Исходя из вышеизложенного, данные показатели предлагается рассматривать как критерий оценки болезнеустойчивости растений, так как они просты в применении и быстро реагируют на внешние изменения.

Обработка пшеницы фиторегуляторами и особенно их смесью в три раза снижала выход водно-растворимых веществ из листьев в фазах цветения и созревания, т.е. тогда, когда грибные болезни приносят наибольший вред. Фиторегуляторы и их смесь также существенно уменьшали образование продуктов перекисного окисления липидов (табл. 2), что свидетельствует о мембраноактивной функции этих веществ.

Таблица 2.

Содержание ТБК-продуктов в листьях яровой пшеницы под влиянием природных регуляторов роста, %

Вариант / Фаза роста	начало цветения	конец цветения	созревание	начало восковой спелости
Контроль	100	100	100	100
ЭБ, 5 мг/га	74	85	80	67
СК, 20 мг/га	67	73	89	74
ЭБ, 5 мг/га + СК, 20 мг/га	48	64	63	66

Следовательно, природные регуляторы роста и их смеси способны оказывать положительное влияние на физиолого-биохимические процессы злаков. При этом компоненты смеси ЭБ + СК выступали синергистами во всех проведенных физиолого-биохимических процессах на растениях пшеницы. Оптимизация обмена веществ растений под влиянием смеси наблюдалась в течение всей вегетации растений: на первом этапе, т.е. при отсутствии поражения растений в результате стимуляции

физиолого-биохимических процессов и на втором этапе при сильном развитии болезней благодаря минимизации отрицательного действия фитопатогенов. На культуре ячменя показано явление физиологического синергизма компонентов смеси ЭБ - ванилиновая кислота и ЭБ – феруловая кислота) в процессах формирования защитных реакций растений. Так при обработке растений природными регуляторами роста в фазе стеблевания (экспозиция) активность пероксидазы возрастала на 20-50% под влиянием отдельных веществ и в 2 раза под воздействием смесей (табл.3).

Таблица 3.

Изменение активности пероксидазы в листьях ячменя под влиянием природных регуляторов роста, %

Экспозиция, сутки / Вариант	1	4	8	12	18
Контроль (вода)	100	100	100	100	100
ЭБ, 5 мг/га	86	180	153	166	127
ВК, 20 мг/га	111	98	120	177	200
ФК, 20 мг/га	157	129	158	142	106
ЭБ, 5 мг/га + ВК, 20 мг/га	151	218	160	368	220
ЭБ, 5 мг/га + ФК, 20 мг/га	96	230	238	230	199

Литература

1. Волюнец А.П. Фенольные соединения в жизнедеятельности растений – Минск, 2013 – 283 с.
2. Хрипач В.А., Лахвич Ф.А., Жабинский В.Н. Брассиностероиды. – Минск, 1993. – 287с.
3. Манжелесова Н.Е. Содержание фенольных соединений при индуцированной устойчивости ячменя к сетчатой пятнистости / Фенольные соединения: фундаментальные и прикладные аспекты. Москва. Научный мир. 2010. С. 197 – 204
4. Шуканов В.П., Манжелесова Н.Е., Полякова Н.В., Корытько Л.А., Мельникова Е.В., Хрипач В.А. Применение брассиностероидов в качестве регуляторов болезнеустойчивости и продуктивности яровой пшеницы. // Матер. Междунар. научно-практической конф. «Проблемы и пути повышения эффективности растениеводства в Беларуси», Жодино, 29 июня 2007г., С.236-239
5. Тютчев С.Л. Научные основы индуцированной болезнеустойчивости растений. СПб. ВИЗР, 2002. 328с.
6. Недведь Е.Л. Состояние антиоксидантных систем при патогенезе злаковых культур Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Минск, 2010. – 21 с.

КАРБОКСИМЕТИЛИРОВАННЫЕ ФРАГМЕНТЫ ЛИГНИНА, КАК РЕГУЛЯТОРЫ РОСТА РАСТЕНИЙ

Маркин В.И., Феллер С.В.

Алтайский государственный университет, пр. Ленина 61, Барнаул, 656049,
Россия тел.: (3852) 298-136, e-mail: markin@chemwood.asu.ru

Многие ученые, в последние годы, проявляют значительный интерес к исследованию по разработке регуляторов роста растений на основе природного органического сырья. Ранее был получен ряд экспериментальных данных, которые свидетельствуют о возможной росторегулирующей активности карбоксиметилированного растительного сырья [1–3]. Было показано, что карбоксиметилированное растительное сырье, обладает ярко выраженной ростостимулирующей активностью в широком интервале концентраций, что позволяет говорить о перспективности его использования в сельском хозяйстве. Однако остается не решенным вопрос о действующем компоненте карбоксиметилированного растительного сырья, который оказывает максимальное ростостимулирующее действие.

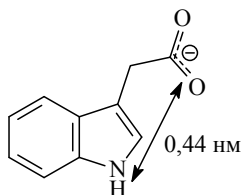
По нашему мнению, в условиях применения растворов карбоксиметилированного растительного сырья, происходит деструкция карбоксиметилированного лигнина, приводящая к образованию низкомолекулярных фрагментов, которые и оказывают росторегулирующее действие. При карбоксиметилировании лигнина в составе растительного сырья образуются фрагменты, сходных по своему строению с низкомолекулярными регуляторами роста ауксинового типа, для которых характерно наличие ароматического кольца (или группы колец) и боковой цепи с кислотной группой [4].

Согласно гипотезе К.В. Тиманна [5, 6] расстояние между активными центрами (между сильноотрицательным зарядом в боковой цепи и слабopоложительным в кольце) в молекуле регулятора роста должно составлять $\approx 5,5$ Å. Также им высказано предположение о двухточечном взаимодействии молекул ауксина с рецептором (карбоксильная группа в боковой цепи и свободное *орто*-положение в кольце).

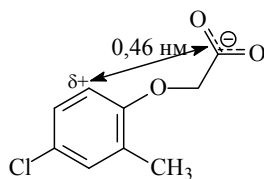
С использованием программы HyperChem 8 нами проведен расчет и построены модели соединений, ауксиновая активность которых объяснялась согласно гипотезе Тиманна. Также для сравнения были рассчитаны некоторые модельные структуры, которые могут быть получены при карбоксиметилировании фенилпропановых единиц (ФПЕ) различного типа G-, S- и H-типа,

встречающиеся в растительном сырье. Карбоксильная группа во всех моделях рассматривалась в виде карбоксилат-иона. Пространственная структура молекул оптимизирована посредством минимизации энергии с использованием метода молекулярной механики (ММ+). Затем было измерено расстояние между возможными активными центрами.

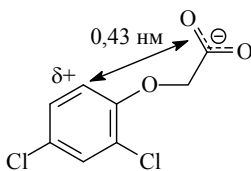
В моделях известных ауксинов и регуляторов ауксинового типа расстояние между гипотетическими активными центрами изменяется в пределах 0,43–0,46 нм. Наибольшую биологическую активность проявляют индолилуксусная кислота и 2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота, расстояние между центрами взаимодействия с рецептором ауксинов в этих соединениях при расчете выбранным методом составило 0,44 и 0,43 нм соответственно (рис.).



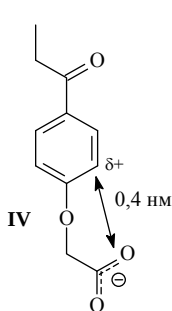
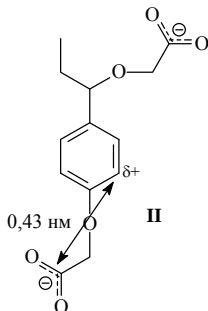
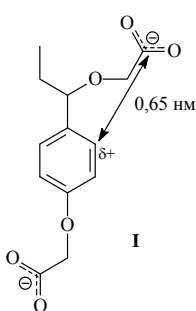
индолил-3-уксусная кислота

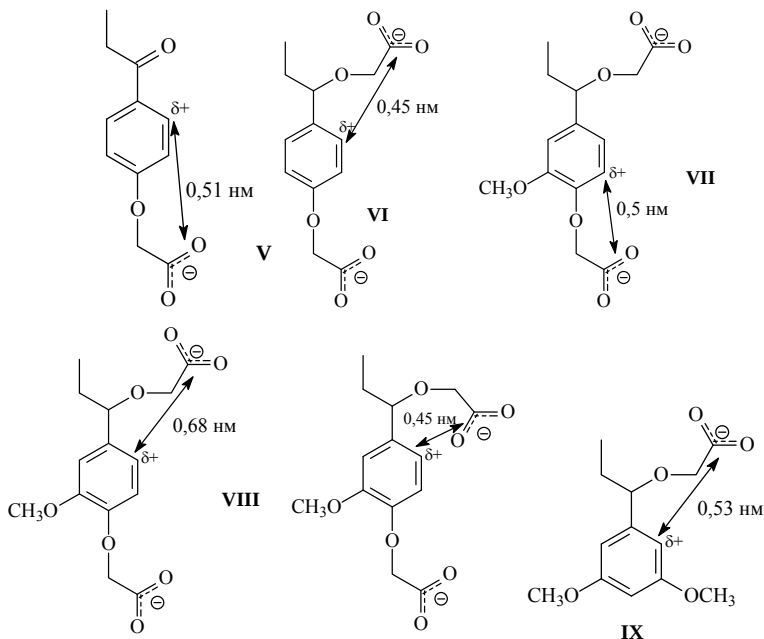


2-метил-4-хлорфеноксиуксусная кислота



2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота





Расстояние между гипотетическими активными центрами в модельных соединениях

В моделях, построенных на основе карбоксиметилированных ФПЕ лигнина, расстояние между отрицательным зарядом в боковой цепи и свободным положением в кольце изменяется в достаточно широких пределах – от 0,43 до 0,65 нм. Наибольший интерес вызывают структуры с замещенными $\text{OH}_{\text{фен.}}$ и OH -группами в α - и β -положениях фенилпропановой цепи.

Продукты карбоксиметилирования по γ -гидроксильной группе пропановой цепочки на рисунке не представлены, т.к. образуются структуры в которых отрицательный заряд в боковой цепи сильно удален, более того возникают стерические ограничения.

Таким образом, со стороны *p*-гидроксифенилпропановых единиц возможно проявление ауксиновой активности при протекании реакции карбоксиметилирования одновременно по фенольной и гидроксильной группе в α - или β -положениях. В качестве активных центров в боковой цепи в первом случае будет выступать карбоксильная группа, присоединенная по фенольному гидроксилу, во втором – по $\text{C}_\beta\text{-OH}$.

От продуктов карбоксиметилирования гваяцильных единиц

лигнина по β - и фенольной гидросильным группам (структуры VII, VIII) ауксиновую активность можно ожидать лишь в том случае, когда в качестве отрицательного заряда в боковой цепи выступает кислород в карбоксиметильной группе при алкилировании по $\text{ОН}_{\text{фен.}}$. Карбоксиметильная группа при C_β сильно удалена от свободного орто-положения, более того возникают стерические помехи со стороны метоксильной группы.

В отличие от *p*-гидроксифенилпропановых единиц от продукта карбоксиметилирования по гидроксильной группе при C_α гваяцильных единиц можно ожидать ауксиновую активность.

Карбоксиметилированные сиригильные единицы маловероятны в качестве возможных росторегулирующих компонентов лигнина, потому что доступ к свободному орто-положению ароматического кольца всегда осложнен метоксильными группами.

Таким образом, на основании проведенных расчетов, можно ожидать проявление ауксиновой активности со стороны карбоксиметилированных фрагментов лигнина H- и G-типов.

Таблица.

Состав карбоксиметилированного растительного сырья и влияние его растворов (0,25%) на длину главного корня и число боковых отростков огурцов сорта «Кустовой» относительно контроля (H_2O)

Исходное растительное сырье	Свойства продуктов карбоксиметилирования, %	
	Карбоксиметилированная целлюлоза	Карбоксиметилированный лигнин
Полова овса	28,7 $\pm$ 0,4	12,4 $\pm$ 0,3
Сосна	32,4 $\pm$ 0,5	16,5 $\pm$ 0,2
Лузга подсолнечника	21,5 $\pm$ 0,7	17,1 $\pm$ 0,4
	Процент относительно контроля	
	Длина главного корня	Число боковых отростков
Полова овса	32	28
Сосна	43	38
Лузга подсолнечника	54	46

Нами были проверены данные теоретические рассуждения экспериментально. Синтезированы несколько образцов карбоксиметилированных продуктов на основе различных видов растительного сырья. Приготовлены водные растворы (0,25%) данных продуктов. Для изучения росторегулирующей активности полновесные семена огурцов сорта «Кустовой» термостатировали в

сосуде с дистиллированной водой при 60 °С, затем обрабатывали растворами карбоксиметилированных производных и проращивали в чашках Петри. Следует отметить, что всхожесть семян, обработанных карбоксиметилированными производными составила 100%, а обработанных водой (контроль) – 90%. В конце установленного времени проращивания (7 суток) проводили измерение длины главного корня и подсчет боковых отростков, длина которых превышала 5 мм. Результаты исследования представлены в таблице.

Как показывают полученные данные, все карбоксиметилированные производные обладают ростостимулирующей активностью, однако карбоксиметилированная лузга подсолнечника дает наибольшее увеличение длины главного корня и числа боковых отростков. Данный факт свидетельствует о правильности сделанного предположения о влиянии карбоксиметилированного лигнина на рост и развитие растений, т.к. в карбоксиметилированной лузге подсолнечника содержание карбоксиметилированного лигнина максимально.

Список литературы

1. Феллер С.В., Маркин В.И., Базарнова Н.Г. Влияние карбоксиметилированного растительного сырья на рост и развитие растений // Новые достижения в химии и химической технологии растительного сырья : матер. IV всерос. конф. Барнаул, 2009. Кн. 1. С. 268.
 2. Маркин В.И. Карбоксиметилирование растительного сырья. Теория и практика. Барнаул: Изд-во Алт. ун-та, 2010. 167 с.
 3. Калюта Е.В., Мальцев М.И., Маркин В.И., Катраков И.Б., Базарнова Н.Г. Исследование влияния карбоксиметилированного растительного сырья на активность прорастания яровой мягкой пшеницы // Химия растительного сырья. 2013. №3. С. 249–253.
 4. Ishikawa H., Evans M. Comparative growth and gravitropism studies in auxin response mutants of *Arabidopsis thaliana* // Biological sciences in space. 1993. N2. Pp. 133–144.
 5. Thimann K.V. Plant growth substances: past present and future // Annual Review of Plant Physiology. 1963. V. 14. N1. Pp. 1–18.
 6. Napier R.M. Models of auxin binding // Journal of Plant Growth Regulation. 2001. V. 20. N3. Pp. 244–254.
-

ВЛИЯНИЕ САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ НА АНТИОКСИДАНТНЫЙ СТАТУС РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ В УСЛОВИЯХ ЗАСОЛЕНИЯ

Масленникова¹ Д.Р., Ласточкина О.В.², Шакирова Ф.М.¹

¹ ФГБУН Институт биохимии и генетики УНЦ РАН, Уфа, Россия, тел.: (347) 235-60-88, shakirova@anrb.ru;

² ФГБНУ Башкирский НИИСХ, Уфа, Россия, тел.: (347) 223-07-08, E-mail: bniish@rambler.ru

Салициловая кислота (СК), природный регулятор роста фенольной природы, является признанным индуктором устойчивости растений к стрессовым факторам разной природы. В данной работе нами проведен анализ влияния предобработки проростков пшеницы *Triticum aestivum* L. сорта Башкирская 26 в концентрации 50 μ M на содержание эндогенной СК, рост и антиоксидантный статус растений, подвергнутых воздействию натрия-хлоридного засоления. Ранее нами было выявлено, что предобработка СК оказывает защитный эффект на ростовые процессы проростков, подвергнутых воздействию 2%-ного NaCl. При этом сама обработка СК вызывает активацию фенилаланин – аммиак – лиазы (ФАЛ), ключевого фермента биосинтеза фенольных соединений, включая СК, и ускорение отложения лигнина в клеточных стенках базальной части корней пшеницы относительно контроля, что наблюдается на фоне проявления ее рост-стимулирующего действия на растения. Предобработанные СК проростки в условиях засоления характеризовались дополнительным отложением лигнина в оболочках клеток корней, что, вероятно, вносит важный вклад в торможение проникновения токсических ионов в растительные ткани.

Полученные данные указывают на вовлечение СК в регуляцию защитных реакций пшеницы в ходе обработки. К характерным ответным реакциям растений на неблагоприятные воздействия относится развитие в них окислительного стресса. Важную роль в поддержании окислительно-восстановительного баланса растительной клетки отводят низкомолекулярным антиоксидантам аскорбату и глутатиону. Нами выявлено, что сама обработка СК не вызвала существенных сдвигов в балансе восстановленной и окисленной форм глутатиона в корнях и показатель отношения GSH/GSSG поддерживался на уровне контроля, однако привела к заметному на 30-40% накоплению аскорбата.

Для выяснения роли этих антиоксидантов в формировании СК-индуцированной устойчивости растений к стрессу был проведен сравнительный анализ содержания аскорбата и соотношения GSH/GSSG в корнях необработанных и предобработанных СК проростков пшеницы в условиях засоления. Так, засоление привело почти к двукратному падению уровня аскорбата и показателя GSH/GSSG, что свидетельствует о развитии сильно выраженного окислительного стресса растениях. Вместе с тем, предобработанные СК и подвергнутые воздействию 2%-ного NaCl растения характеризовались, напротив, повышенным на 25-30% относительно контроля содержанием аскорбата и показателя отношения GSH/GSSG в корнях. В связи с полученными данными интересно было сопоставить необработанные и предобработанные СК растения, подвергнутые засолению, по содержанию тотальной СК в тканях. Методом ВЭЖХ были получены предварительные результаты, которые показали, что в контрольном варианте уровень СК составил 12.8 мкг/г сырой массы, засоление вызвало накопление СК до 24.4 мкг/г, тогда как в предобработанных СК растениях этот показатель составил 18.5 мкг/г.

Полученные результаты свидетельствуют о существенном снижении повреждающего действия натрий хлоридного засоления на СК-предобработанные растения, что отражается в предотвращении резких стресс-индуцированных сдвигов в содержании аскорбата и глутатиона, в поддержании их роста при стрессе на уровне контроля и в ускорении восстановления показателей роста в пост-стрессовый период, о чем судили по сырой и сухой массе проростков и митотическому индексу корней, и иллюстрируют эффективность применения СК с целью повышения стресс - устойчивости пшеницы.

СОДЕРЖАНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ЛИСТЬЯХ *FRAGARIA ORIENTALIS* LOSINSK.

Мечикова Г.Я., Степанова Т.А., Матющенко Н.В.

ГБОУ ВПО ДВГМУ Минздрава России, Хабаровск, Россия +7(4212) 32-64-26,
E-mail: galina.m.ya@mail.ru

Fragaria orientalis Losinsk. (Земляника восточная, род *Fragaria* L., семейства розоцветные - *Rosaceae* Juss.) является широко распространенным восточноазиатским видом [1]. *F. orientalis*

Losinsk. встречается на Российском Дальнем Востоке (Приморье, Приамурье), в Восточной Сибири, Республике Саха (Якутия). Растение не имеет официального статуса, тем не менее, является одним из популярных растений народной медицины Сибири и Дальнего Востока. Настой из листьев *F. orientalis* Losinsk. применяют в качестве противочинготного и мочегонного средства, используют при сахарном диабете. В тибетской медицине листья нашли применение как отхаркивающее средство [2, 3].

Установлено, что сырье официального вида рода *Fragaria* L. – *F. vesca* L. (земляника лесная) продуцирует значительное количество веществ, относящихся к классу фенолов [4]. Исходя из филогенетического родства видов, естественно предположить, что высокий биологический потенциал дальневосточного викарианта также обусловлен вторичными метаболитами полифенольной природы. Поэтому представляется актуальным изучить вопросы накопления фенолов в листьях *F. orientalis* Losinsk.

Цель представленной работы заключалась в определении закономерностей накопления и изменчивости содержания суммы фенольных соединений в листьях *F. orientalis* Losinsk. по ареалу вида для обеспечения рационального использования сырья в медицинской практике.

Материалом для исследования служили листья *F. orientalis* Losinsk. природных популяций Забайкалья, Амурской области, Республики Саха (Якутия), Хабаровского и Приморского краев. Мониторинг накопления фенолов проводили в период 2003-2014 гг. Для исследования были взяты образцы, собранные в период цветения, что исключало влияние фазы вегетации на внутривидовую изменчивость содержания фенольного комплекса в листьях *F. orientalis* Losinsk. Кроме того, учитывая влияние способов сушки на содержание в растительном сырье биологически активных соединений, все образцы были высушены одним и тем же способом – с помощью естественной воздушно-теневой сушки [5].

Количество фенольных соединений оценивали спектрофотометрически по разработанной оригинальной методике, основанной на реакции Фолина-Дениса [6]. Использование на протяжении всего периода исследования унифицированной методики анализа исключало внесение искусственной погрешности в изменчивость фенольного комплекса изучаемого растения, обусловленной пробоподготовкой. Для измерения оптической плотности использовали спектрофотометр UV-1700 Shimadzu (Япония). Определение количества фенольных соединений в каждом образце проводили в трех аналитических повторностях.

Содержание выражали в процентах от массы абсолютно сухого сырья. Статистический анализ экспериментальных данных выполняли с применением программы Microsoft Excel 2010. Влияние географического фактора оценивали методом однофакторного дисперсионного анализа по критерию Фишера, сравнение средних показателей с использованием критерия Стьюдента.

Результаты исследования представлены в таблице. Как видно из представленных данных, количество фенолов в листьях *F. orientalis* Losinsk. в пределах ареала колеблется от 9,64 до 22,2% , при среднем значении 14,0. Вариабельность обсуждаемой группы веществ по ареалу вида составляет 17% и может быть охарактеризована как средняя.

Таблица.
Содержание фенольных соединений в образцах *Fragaria orientalis* Losinsk.

Результаты статистической обработки данных по районам заготовки	Район заготовки				
	Хабаровский край	Приморский край	Амурская область	Забайкальский край	Республика Саха (Якутия)
n	23	24	21	15	15
$\bar{x}$, %	15,5	15,4	13,5	12,3	11,6
S^2	1,7699	5,6409	3,6029	1,0838	2,3901
$S_{\bar{x}}$	0,2774	0,4848	0,4142	0,2688	0,3992
C_v , %	9	15	14	9	13
P, %	95	95	95	95	95
$t_{p,f}$	2,064	2,064	2,093	2,15	2,15
Δx	0,57	1,00	0,87	0,58	0,86

Результаты статистической обработки данных по ареалу вида (n=98)
 $\bar{x}$, %=14,0 S^2 =5,4053 $S_{\bar{x}}$ =0,2349 C_v , %=17 P, %=95 $t_{p,f}$ =1,984 Δx =0,47

Для выявления влияния географического фактора на накопление фенольных веществ в листья *F. orientalis* Losinsk. все полученные данные были сгруппированы по географической широте и статистически обработаны. Ареал вида был условно разделен на три географические зоны: «южная», «центральная» и «северная». «Южная зона» была обозначена на широте 42°-50°, куда вошли образцы, собранные на территории Хабаровского и Приморского краев. «Центральная зона» выделена на географической широте 50°-58° – образцы Амурской области и Забайкальского края. «Северная зона» ареала условно определена на географической широте 58°-65° – образцы, собранные на территории Республики Саха (Якутия).

Среднее содержание фенольных соединений в листьях *F. orientalis* Losinsk. в «южной», «средней» и «северной» зонах составило 15,5%, 13,0% и 11,6%, соответственно. Статистическая обработка результатов методом однофакторного дисперсионного анализа показала значимость влияния географической широты на накопление фенольного комплекса в листьях *F. orientalis* Losinsk. ($F_{\text{эсп.}} > F_{\text{крит.}}$). Сравнение средних значений по Стьюденту подтвердило значимость различий в содержании фенольных веществ в трех выделенных географических зонах ($t_{\text{эсп.}} > t(P, f)_{\text{крит.}}$): количество фенолов значимо возрастает в направлении с севера на юг (рис.).

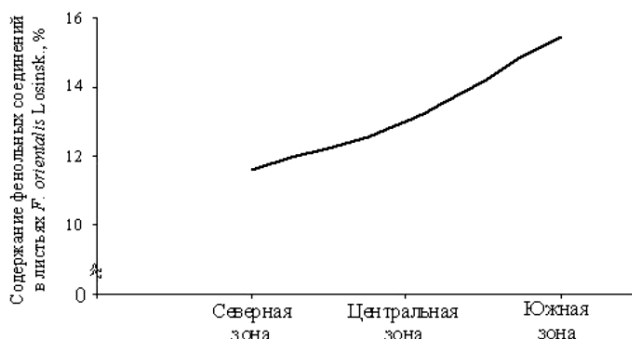


Рис. Изменение содержания фенольных соединений в листьях *F. orientalis* Losinsk. в зависимости от широтного градиента.

Таким образом, изучено накопление фенольных соединений в листьях *F. orientalis* Losinsk. по ареалу вида. Установлено, что фенольные соединения в листьях дальневосточного вида земляники содержатся в терапевтически значимых количествах, а вариабельность содержания фенолов находится на среднем уровне. Выявлено влияние географического фактора на накопление исследуемой группы веществ. Установлено, что содержание фенольных соединений значительно больше в листьях *F. orientalis* Losinsk., произрастающей в южной географической зоне, соответственно меньше в центральной и северной.

Список литературы

1. Черепанов С.К. Сосудистые растения России и сопредельных государств (в пределах бывшего СССР). Русское издание. СПб., 1995. 992 с.
2. Шретер А.И. Лекарственная флора Советского Дальнего Востока. «Медицина», М., 1975. 327 с.

-
3. Хайдав Ц., Алтанчимэг Б., Варламова Т.С. Лекарственные растения в монгольской медицине. Улан-Батор, 1985. 390 с.
 4. Дроздова И.Л. исследование растительных источников полисахаридов и фенольных соединений и перспективы их практического использования в фармации. Автореф. дис. ...доктора фарм. наук. Пятигорск, 2006, 47 с.
 5. Мечикова Г.Я., Степанова Т.А., Матющенко Н.В. Влияние способов сушки листьев земляники восточной (*Fragaria orientalis* Losinsk.) на содержание биологически активных веществ. //Химия растительного сырья. 2013. № 2. – С. 183-187.
 6. Мечикова Г.Я., Загузова Е.В., Степанова Т.А. Количественное определение суммы фенольных соединений в листьях земляники //Химико-фармацевтический журнал. 2007. № 2, Т. 41. – С. 38-41.
-

УДК 581.1

ОКСИБЕНЗОЙНЫЕ КИСЛОТЫ – ФАКТОРЫ ЗАЩИТЫ КЛЕТОК ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ ОТ УФ-Б РАДИАЦИИ

Нечаева Т.Л.¹, Голубева Е.В.², Назаренко Л.В.², Загоскина Н.В.¹

¹ФГБУН Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, Россия, тел. (495) 977-94-33, e-mail: NechaevaTatyana.07@yandex.ru

²Институт математики, информатики и естественных наук ГБОУ ВО Московский городской педагогический университет, Москва, Россия, e-mail: nlv.mgpu@mail.ru

Ультрафиолетовое излучение (УФ) является мощным стрессовым фактором для растений, особенно его коротковолновая часть (УФ-Б, 290-320 нм) [1]. Последнее является мощным стрессовым фактором для всех живых организмов, что в значительной степени обусловлено его влиянием на генетический аппарат клеток [2]. В случае растительных тканей УФ-Б радиация инициирует изменения в их морфологии, росте и продуктивности [3].

Одним из механизмов, участвующих в защите клеток от повреждающего действия УФ-излучения, является накопление в них фенольных соединений [4]. Последние обладают способностью как экранировать клетки от УФ-излучения, поглощая его оптически, так и взаимодействовать с перекисями и свободными радикалами, образующимися при действии УФ-Б радиации на компоненты клетки [5]. В этом случае, полифенолы представляют собой уникальный класс соединений, которые демонстрируют как физическую, так и метаболическую защиту клетки от повреждающего действия УФ-Б излучения.

К числу соединений фенольного метаболизма, которые все более широко используются для защиты растений от стрессовых воздействий, относится салициловая кислот (СК) [6]. Ее рассматривают как полифункциональную сигнально-регуляторную молекулу и успешно используют как в сельском хозяйстве, так и в медицине. Ближайшим аналогом салициловой кислоты является *p*-оксибензойная кислота (ОК), функциональная роль которой исследована крайне мало, хотя она обнаружена во многих растениях. Оба эти соединения относятся к простым фенольным соединениям, а именно оксибензойным кислотам, образование которых происходит на начальных этапах биогенеза полифенолов [7].

Для изучения действия различных факторов на клетки растений могут быть использованы культуры *in vitro*, имеющие более простой (по сравнению с интактными растениями) уровень внутритканевой и внутриклеточной организации, а также растущие в строго контролируемых условиях [8]. К числу «интересных» объектов относится каллусная культура чайного растения, для которого характерен специализированный обмен, направленный на образование различных фенольных соединений, таких как фенилпропаноиды, флавоноиды, проантоцианидины и лигнин [9].

В связи с этим целью нашей работы являлось изучение кратковременного влияния УФ-Б радиации на накопление фенольных соединений в каллусных культурах чайного растения, предварительно подвергнутых действию салициловой и *p*-оксибензойной кислот.

Объект и методы исследования. Каллусную культуру стебля чайного растения (*Camellia sinensis* L.) выращивали на питательной среде Хеллера, содержащей 2,4-Д (5 мг/л) и глюкозу (25 г/л). При постановке опыта – 27-дневный каллус выдерживали в течение 2 час. в воде (контроль) или водных растворах оксибензойных кислот (10^{-5} М). После этого их помещали на основную питательную среду в обычные чашки или чашки «Аnumбра», пропускающие УФ-Б излучение [10]. В качестве источника УФ-Б радиации использовали лампу ДРЛФ-400 с удаленной внешней колбой, являющуюся эквивалентом бактерицидной ртутной лампы высокого давления типа ПРК-2(ДРТ) [11]. Интенсивность облучения составляла 0,74 ват/м² по УФ-Б. Время облучения – 2 часа.

Фенольные соединения извлекали из растительного материала экстракцией 96%-ным этанолом. В этанольных экстрактах определяли суммарное содержание фенольных соединений (с реактивом Фолина-Дениса) и содержание флаванов (с ванилиновым реактивом) [12]. Калибровочную кривую строили по

(-)-эпикатехину.

Уровень ПОЛ оценивали по накоплению малонового диальдегида (МДА), определяемого по цветной реакции с тиобарбитуровой кислотой при 532 нм [13].

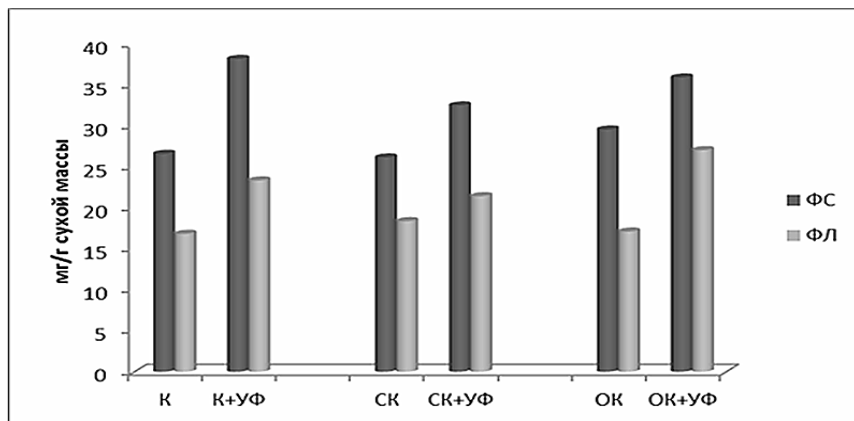


Рис. 1. Изменения в содержании суммы фенольных соединений (ФС) и флаванов (ФЛ) в каллусных культурах чайного растения, выдержанных в воде (К) или водных растворах салициловой и *п*-оксибензойной кислот (СК и ОК, соответственно; 10^{-5} М) и подвергнутых действию УФ-Б радиации (УФ).

Результаты и обсуждение. Каллусные культуры чайного растения представляли собой плотные каллусы и по морфо-физиологическим характеристикам были близки во всех вариантах. Несмотря на сходство их физиологических параметров, были некоторые отличия в содержании фенольных соединений (рис. 1). В каллусах, подвергнутых действию УФ-Б радиации, их накопление было выше во всех исследованных вариантах. Это проявлялось не только в отношении суммы фенольных соединений, но и флаванов – веществ, характерных для чайного растения и обладающих Р-витаминной капилляро-укрепляющей активностью. Следует также отметить, что изменения в накоплении полифенолов в большей степени были выражены у контрольного варианта, и в значительно меньшей степени – у культур, предварительно обработанных СК и ОК.

Поскольку фенольные соединения выполняют функцию антиоксидантов, то возможно при их воздействии происходят изменения в уровне ПОЛ – как важном показателе состояния антиоксидантной системы растительных клеток [13]. Как следует из

полученных данных, у варианта с СК отмечалось значительное его снижение, по сравнению с контролем и с вариантом с ОК (рис. 2).

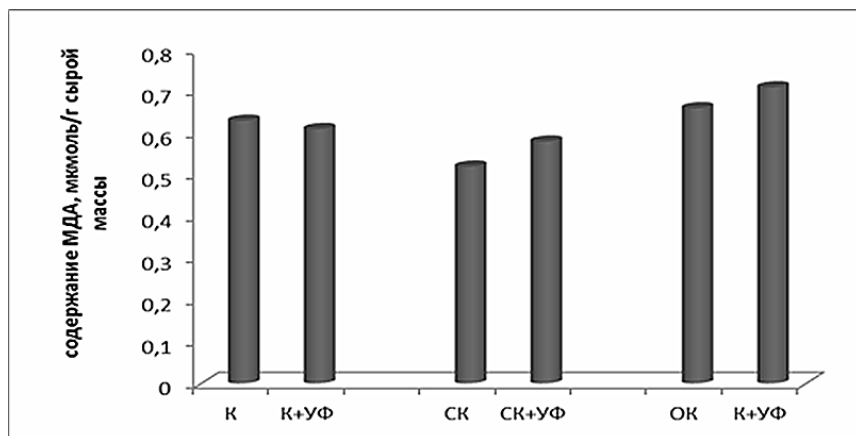


Рис. 2. Изменения уровня ПОЛ в каллусных культурах чайного растения, выдержанных в воде (К) или водных растворах салициловой и *п*-оксибензойной кислот (СК и ОК, соответственно; 10^{-5} М) и подвергнутых действию УФ-Б радиации (УФ).

Воздействие УФ-Б на каллусные культуры сопровождалось незначительным повышением уровня ПОЛ в вариантах с оксибензойными кислотами. Что касается контроля, то в этом случае никаких изменений не наблюдалось.

Таким образом, оксибензойные кислоты вызывают изменения в антиоксидантной системе растений, что в большей степени проявляется при воздействии СК. Это согласуется и с литературными данными о стресс-защитной активности этого соединения фенольной природы [6].

Список литературы:

1. Фрайкин Г.Я. Некоторые проблемы современной ультрафиолетовой биологии // Физиология растений. 1987. Т. 34. С. 712-719.
2. Beggs C., Shneider-Ziebert U., Wellman. UV-B radiation and adaptive mechanisms in plant // Photoch. Photobiol. 1986. V. 3. P. 243-255.
3. Bornman J.F. UV-radiation as an environmental stress in plants // J. Photochem. Photobiol. 1991. V. 8(3). P. 337-341.
4. Запрометов М.Н. Фенольные соединения и их роль в жизни растения: 56-е Тимирязевское чтение. М.: Наука. 1996. 50 с.
5. Merzlyak M. N., Chivkunova O. B., Solovchenko A. E., Naqvi K. R. Light absorption by anthocyanins in juvenile, stressed, and senescing leaves // J. Experimental Botany. 2008. V. 59. P. 3903–3911.

-
6. Шакирова Ф.М. Неспецифическая устойчивость растений к стрессовым факторам и ее регуляция. Уфа: Гилем. 2001. 160 с.
 7. Запрометов М.Н. Фенольные соединения. М.: Наука. 1993. 250 с.
 8. Бутенко Р.Г. Биология клеток высших растений *in vitro* и биотехнология на их основе. – М.: ФБК-ПРЕСС. 1999. 160 с.
 9. Загоскина Н.В., Гончарук Е.А., Алявина А.К. Изменения в образовании фенольных соединений при действии кадмия на каллусные культуры, инициированные из различных органов чайного растения // Физиология растений. 2007. Т. 54. С. 267-274.
 10. Лапшин П.В., Бутенко Р.Г. Клеточная селекция пшеницы на устойчивость к действию УФ-Б радиации // Изв. ТСХА. 2001. №3. С. 20-26.
 11. Загоскина Н.В., Дубравина Г.А., Алявина А.К., Гончарук Е.А. Влияние ультрафиолетовой (УФ-Б) радиации на образование и локализацию фенольных соединений в каллусных культурах чайного растения // Физиология растений. 2003. Т. 50. С. 302-308.
 12. Запрометов М.Н. Фенольные соединения и методы их исследования // Биохимические методы в физиологии растений / Под ред. Павлиновой О.А. М.: Наука. 1971. С. 185-197.
 13. Полесская О.Г. Растительная клетка и активные формы кислорода. Издательство: М.: КДУ. 2007. 140 с.
-

УДК 581.1

СОДЕРЖАНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В IN VITRO КУЛЬТУРАХ *CAMELLIA SINENSIS* L. ИЗ РАЗЛИЧНЫХ МЕСТ ПРОИЗРАСТАНИЯ

Нечаева Т.Л.¹, Лапшин П.В.¹, Гвасалия М.В.², Маляровская В.И.², Загоскина Н.В.¹

¹ФГБУН Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, Россия, тел. (495)97794-33, e-mail: NechaevaTatyana.07@yandex.ru

²ГНУ Всероссийский научно-исследовательский институт цветоводства и субтропических культур РАСХН, Сочи, Россия, e-mail: gvasaliya_aa@mail.ru

Растения чая, известные как камелия китайская (*Camellia sinensis* L.), обладают уникальной способностью к накоплению различных фенольных соединений, включая вещества с Р-витаминной капилляроукрепляющей активностью – катехины [1]. Наиболее высокое содержание полифенолов отмечается у молодых побегов (флешей), из которых и получают столь широко используемый во всем мире напиток – чай. Исследованию особенностей образования фенольных соединений, их состава, поиска подходов к повышению продуктивности это важнейшей культуры промышленного назначения посвящено большое число

работ [2 - 4]. Часть из них выполнена на культурах *in vitro*, как хорошей модельной системе, позволяющей изучать фенольный метаболизм и его регуляцию в строго контролируемых условиях [5, 6]. Интерес к клеточным культурам чая вызван еще и тем, что эти растения имеют ограниченный ареал распространения. В тоже время, культивируемые *in vitro* клетки и ткани состоят из клеток различного уровня пloidности, «баланс» которых изменяется в процессе культивирования [7, 8]. Кроме того, длительность пассирования, состав питательных сред, условия выращивания (освещенность, влажность, температура и др. факторы) также могут приводить к изменениям в накоплении фенольных соединений [9, 10]. Все это послужило основой для проведения сравнительного исследования по изучению содержания фенольных соединений в каллусных культурах чайного растения, в том числе и характерных для них флаванов – веществ, обладающих Р-витаминной капилляроукрепляющей активностью.

Объектом исследования являлись каллусные культуры *Camellia sinensis* L. инициированные из растений различных мест произрастания. ЧС-2 был получен из молодых флешей чая грузинской разновидности в 1982 г., а ЧС-М – от *in vitro* микропобегов чая Местной популяции (ГНУ ВНИИЦиСК, г. Сочи) в 2014 г. Для культивирования использовали модифицированную среду Хеллера, содержащую 2,4-Д (5 мг/л), или питательную среду Мурасиге-Скуга (МС), содержащую аденин (0,9 мг/л) и БАП (3 мг/л) [11, 12]. Культуры ЧС-М выращивали при +24°С в факторостатной камере при 16-час. фотопериоде (интенсивность освещения 5000 люкс), гетеротрофные каллусы штамма ЧС-2 культивировали в этих же условиях в течение 2-х пассажей. Длительность пассажа составляла 45 дней. Материал для исследований брали в конце цикла культивирования, отбирая молодые клетки с поверхности каллусов.

Фенольные соединения извлекали из растительного материала экстракцией 96%-ным этанолом. В экстрактах определяли суммарное содержание фенольных соединений (с реактивом Фолина-Дениса) и содержание флаванов (с ванилиновым реактивом) [13]. Калибровочную кривую строили по (-)-эпикатехину.

Анализы проводили в двух биологических и двух аналитических повторностях. Все результаты обработаны статистически, на графиках представлены средние арифметические значения определений.

Результаты и обсуждение. Каллус штамма ЧС-2, выращиваемый на среде Хеллера, был плотным и имел желто-

зеленую окраску (рис. 1 А). Каллус ЧС-М, отделенный от основания *in vitro* микропобегов чая (рис. 1 Б), при последующем выращивании на разных питательных средах имел зеленый цвет, был компактным и плотным (рис. 1 В). В большей степени это проявлялось на среде МС, тогда как на среде Хеллера его плотность была меньше, цвет - светло-зеленый. Это свидетельствует о том, что состав питательной среды влияет на морфо-физиологические характеристики каллусных культур растений, о чем сообщалось в литературе [5 - 7].

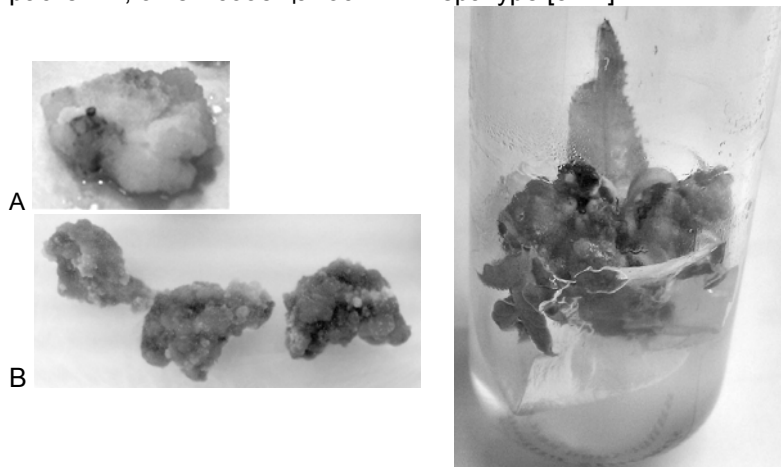


Рис. 1. Внешний вид каллусов *Camellia sinensis* L.: А - ЧС-2 (инициация из флешей чая грузинской разновидности, длительное пассирование в условиях *in vitro*), Б - каллус, формирующийся у основания микропобегов чая (местная популяция, г. Сочи), В – ЧС-М (каллус микропобегов, пассирование на среде МС в течение 1 года).

Следует также подчеркнуть, что у штамма ЧС-2 образование хлорофилла ранее было достаточно высоким, однако, в процессе длительного пассирования значительно уменьшилось [14]. Об изменениях в накоплении фотосинтетических пигментов в культурах *in vitro*, зависимости этого процесса от их происхождения и условий выращивания сообщалось ранее [7, 9].

Каков же уровень накопления фенольных соединений у каллусных культур чая из разных мест произрастания, отличающихся длительностью пассирования в условиях *in vitro*, а также используемых для этого питательных сред? В ходе нашего исследования выявлено, что во всех изучаемых вариантах он был различным (рис. 2). Самое высокое содержание суммы фенольных соединений и флаванов отмечено для каллуса ЧС-М,

выращиваемом на среде Хеллера. В двух остальных культурах их уровень был ниже, особенно у ЧС-М на среде МС.

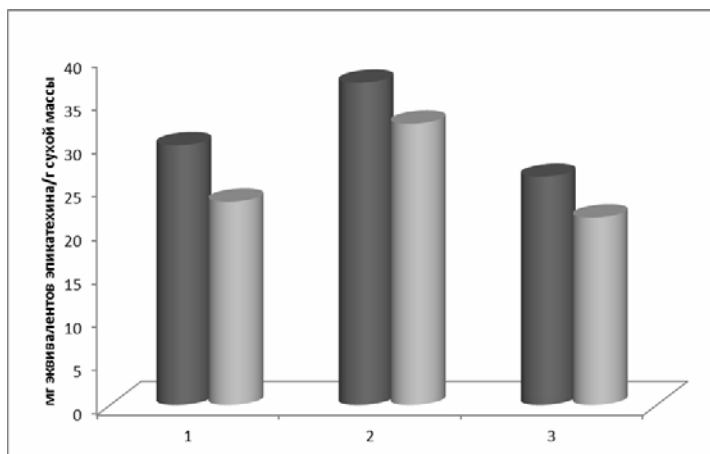


Рис. 2. Содержание суммы фенольных соединений и флаванов (темный и светлый столбики, соответственно) в каллусных культурах *Camellia sinensis* L.

Варианты: 1 – ЧС-2, среда Хеллера; 2, 3 – ЧС-М, среда Хеллера и МС, соответственно.

Исходя из полученных данных можно заключить, что накопление фенольных соединений в каллусных культурах чайного растения в большей степени зависит от состава питательной среды, используемой для ее выращивания, что хорошо прослеживается на линиях ЧС-М. Так, на среде Хеллера, которая была ранее оптимизирована именно для каллусов чая [14], содержание этих вторичных метаболитов, включая и фармакологически ценные флаванолы, было высоким. Следует также отметить, что каллусы ЧС-2, несмотря на длительное пассирование в условиях *in vitro* (более 30 лет), сохраняют высокую способность к накоплению полифенолов, которая достаточно близка к таковой штамма ЧС-М на среде МС. Все это свидетельствует о высоком продукционном потенциале каллусных культур чайного растения различных мест произрастания и возможности их практического использования для получения фармакологически ценных флаванолов.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант 14-04-01742).

Список литературы

1. Запрометов М. Н. Биохимия катехинов. 1964. М. Наука. 250 с.
 2. Барабой В.А. Катехины чайного растения: структура, активность, применение // Биотехнология. 2008. Т.1. №3. С.25-36.
 3. Upadhyaya H., Panda S.K., Dutta B.K. Variation of physiological and antioxidative responses in tea cultivars subjected to elevated water stress followed by rehydration recovery // Acta Physiol. Plant. 2008. V. 30. P. 457–468.
 4. Upadhyaya H., Panda S. K., Dutta B.K. CaCl₂ improves post-drought recovery potential in *Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze // Plant Cell Rep. 2011. V. 30. P. 495–503.
 5. Hao C., Wang Y., Yang S. Effects of macroelements on the growth of tea callus and the accumulation of catechins. J. Tea Sci (China). 1994. V.14. P. 31–36.
 6. Загоскина Н.В., Запрометов М.Н., Дубравина Г.А. Особенности формирования хлоропластов и накопление фенольных соединений в фотомиксотрофных каллусных культурах чайного растения // Физиология растений. 2000. т. 47. № 4. с. 537-543.
 7. Бутенко Р.Г. Биология клеток высших растений *in vitro* и биотехнологии на их основе. М.: ФБК-ПРЕСС. 152 с.
 8. Кунах В. А. Изменчивость растительного генома в процессе дифференцировки и каллусообразования *in vitro* // Физиология растений. 1999. Т. 46. С. 919-929
 9. Zaprometov M. The formation of phenolic compounds in plant cell and tissue cultures and the possibility of its regulation // Adv. Cell Cult. 1989. V. 7. P. 201-260.
 10. Szopa A., Ekiert H., Muszyn'ska B. Accumulation of hydroxybenzoic acids and other biologically active phenolic acids in shoot and callus cultures of *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott (black chokeberry) // Plant Cell Tiss. Organ Cult. 2013. V. 113. P. 323–329.
 11. Загоскина Н.В., Запрометов М.Н. Фенольные соединения каллусных культур чайного растения и возможности регуляции их образования // Культура клеток растений и биотехнология. М.: Наука. 1986. С. 49-51.
 12. Гвасалия М.В. Некоторые вопросы клонального микроразмножения чая (*Camellia sinensis* L.) // Субтропическое и декоративное садоводство. 2012. Т. 46. № 1. С. 133-137.
 13. Запрометов М.Н. Фенольные соединения и методы их исследования // Биохимические методы в физиологии растений / Под ред. Павлиновой О.А. М.: Наука. 1971. С. 185-197.
 14. Корецкая Т.Ф., Запрометов М.Н. Культура ткани чайного растения (*Camellia sinensis* L.) как модель для изучения условий образования фенольных соединений // Физиол. растений. 1975. Т.22. С.282 -285.
-

ОКИСЛЕНИЕ КВЕРЦЕТИНА ПЕРОКСИДАЗОЙ КАРЕЛЬСКОЙ БЕРЕЗЫ

Никерова К.М., Галибина Н.А.

ФГБУН Институт леса Карельского научного центра РАН (ИЛ КарНЦ),
Петрозаводск, +7 (8142) 76-95-00; 76-81-60, galibina@krc.karelia.ru,
knikerova@yandex.ru

В настоящей работе приведены результаты изучения пероксидазного окисления кверцетина (рис.1), в ксилеме 2-х форм 40-летних деревьев березы повислой, различающихся по текстуре древесины, - обычной березы повислой и карельской березы. Фенольные соединения в растительном организме выполняют многочисленные функции, одна из которых - участие в качестве субстрата в реакциях пероксидазного окисления.

Кверцетин относится к группе флавонолов из класса флавоноидов, их отличает наличие С3 гидроксильной группы.

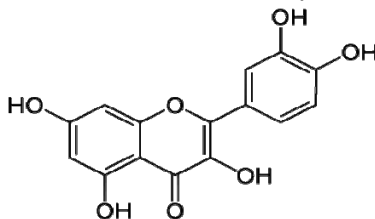


Рис.1. Кверцетин

Все флавоноиды в той или иной степени подвержены процессу окисления. Для количественной характеристики этого процесса традиционно используют метод циклической вольтамперометрии (Jovanovic et al., 1994). С его помощью можно установить величину окислительно-восстановительного потенциала соединения (ОВП). Чем меньше данная величина по своему значению, тем выше склонность к окислению.

Вольтамперограммы флавоноидов чаще всего представляют собой сложные кривые, содержащие несколько пиков различного типа (рис. 2) (Яковлева и др., 2007). Количество наблюдаемых пиков соответствует числу электроактивных центров в структуре соединения, являющихся донорами или акцепторами электронов.

У флавоноидов электроактивные центры формируются в первую очередь за счет гидроксильных групп. Чем больше свободных гидроксильных групп в структуре флавоноида, тем выше

его склонность к окислению. Помимо этого, на его ОВ свойства существенное влияние оказывает присутствие карбонильной группы и ненасыщенных связей.

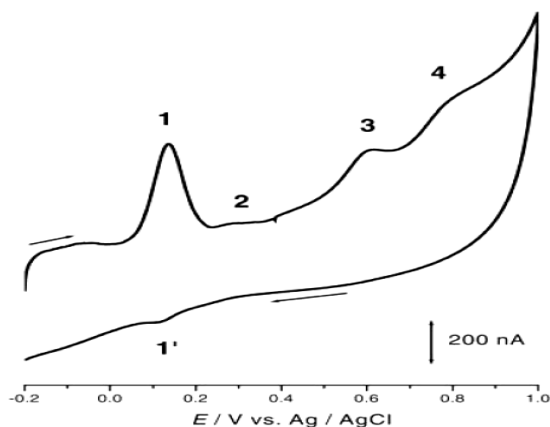


Рис. 2. Электроактивные центры кверцетина (Яковлева и др., 2007).

Важным параметром, влияющим на отрыв электронов, является степень ионизации гидроксильных группировок флавоноида (Slabbert et al., 1977). Поскольку при высоких значениях pH флавоноиды находятся преимущественно в ионизированной форме, становится понятной их неустойчивость и подверженность окислению в щелочных средах. Следует отметить, что на реакционную способность флавоноидов влияют и многие другие факторы, изменяющие показатели констант диссоциации данных веществ.

Одними из наиболее склонных к окислению флавоноидов считаются представители подкласса флавонолов, к которым как раз и относится кверцетин. При pH 7.7 у кверцетина регистрируются четыре пика окисления: при +0.15, +0.30, +0.60 и +0.80 В (рис. 2). В данном случае окислительный процесс протекает по каскадному механизму с вовлечением различных электроактивных структур. Флавоноиды образуются и разрушаются в растительных организмах при участии ферментов.

Многие флавоноиды, среди них кверцетин, - способны окисляться растительными пероксидазами (ПО) с достаточно высокими скоростями (Schreiber, 1974; Takahama, 2000). Не исключено, что для данного типа ферментов фенольные соединения являются одними из природных субстратов. Это ещё раз говорит в пользу нашего выбора субстрата и подтверждает его доступность для реакций пероксидазного окисления в

растительном организме.

Судя по литературным данным нет точного описания, какие продукты образуются в результате пероксидазного окисления кверцетина, однако предложена схема окисления кверцетина в присутствии тирозиназы (Kubo et al., 2004). Так как оба этих фермента относятся к классу оксидоредуктаз, можно предположить, что продукты окисления будут такими же.

Окисление флавоноидов протекает как у растительных, так и у животных организмов. Для растений этот процесс является неотъемлемым этапом нормального роста и развития. У растений окисление флавоноидов протекает не только в нормальных условиях, но и в условиях стрессового состояния.

Основываясь на литературные данные, мы считаем актуальным и логичным использование кверцетина как субстрата пероксидазного окисления. Благодаря проведению данного этапа исследования мы получили возможность сформулировать выводы о закономерностях изменения активности пероксидазы при окислении кверцетина во времени и в градиенте pH.

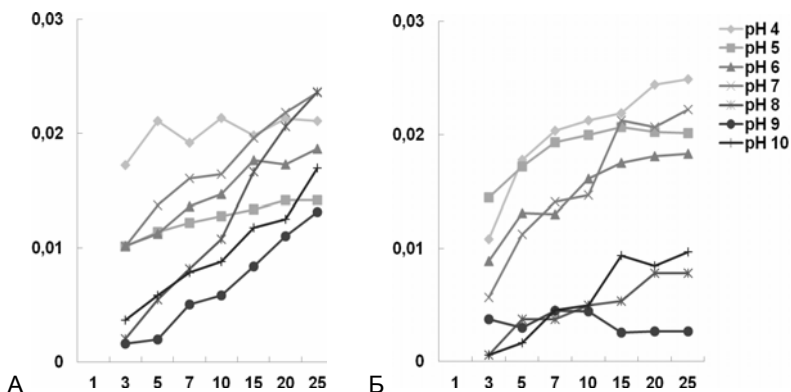


Рис.3. Активность пероксидазы в ксилеме растений *B. pendula* var. *carelica* (A) и *B. pendula* var. *pendula* (B) в реакции окисления кверцетина. По оси абсцисс – время протекания реакции в минутах, по оси ординат – активность фермента, выраженная как μmol израсходованного кверцетина на г сырой ткани за минуту.

Исследование проводили на 2-х формах взрослых 40-летних деревьев *Betula pendula*: обычной березы повислой (*Betula pendula* Roth var. *pendula*) и карельской березы (*B. pendula* var. *carelica*). Все опытные деревья произрастали в одинаковых почвенно-климатических условиях на Агробиологической станции

Карельского научного центра РАН в 2 км от Петрозаводска (61° 45' с.ш., 34° 20' в.д.). Отбор тканей осуществляли в пределах нижней трети ствола, поскольку у «узорчатых» растений аномальность строения тканей здесь выражена наиболее ярко. Отбор образцов проводили в период вынужденного покоя (середина февраля), в период, когда пероксидазная активность в тканях наибольшая (Галибина и др., 2013). На анализ с окоренной поверхности древесины соскабливали ткани ксилемы, в которых наиболее часто встречается кверцетин.

Как видно по графикам, в случае *B. pendula* var. *carelica* различия между значениями активности в кислых и щелочных средах более сглажены, реакция проходит более постоянно (рис. 3 А, В).

Необходимо заметить, что, изменения активности в градиенте pH имеют сходную тенденцию в обеих (*B. pendula* var. *pendula* и *B. pendula* var. *carelica*) формах (рис. 4). Наиболее нестабильно реакция протекает при крайних значениях pH. Такие условия не встречаются в клеточных органеллах, поэтому понятно такое поведение кверцетина как субстрата пероксидазного окисления в процессах, происходящих в растительном организме.

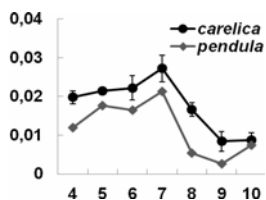


Рис. 4.. Активность пероксидазы в ксилеме растений *B. pendula* var. *pendula* и *B. pendula* var. *carelica* в реакции окисления кверцетина. По оси абсцисс — pH, по оси ординат — активность фермента, выраженная как мкмоль израсходованного кверцетина на г сырой ткани за минуту.

Окисление протекает довольно быстро, к 20 минутам расходуется почти весь субстрат, а, следовательно, реакция прекращается. Таким образом, использование кверцетина в качестве субстрата пероксидазного окисления дает растениям способность быстро реагировать на изменение условий окружающей среды за счет увеличения пероксидазной активности благодаря интенсивному протеканию реакции.

Наиболее стабильно ферментативное окисление проходит в щелочной среде, а варьирует в кислой. Напомним, что именно при pH=7.7 (физико-химические исследования электронных спектров) процесс окисления кверцетина протекает по каскадному механизму и дает наилучший отклик (Oliveira-Brett et al., 2003). В целом, количественные характеристики активности выше в кислой среде по сравнению со щелочной средой, что говорит о большей

активности апопластных и вакуолярных форм фермента по сравнению с цитоплазматическими.

Список литературы

1. Галибина Н.А., Целищева Ю.Л., Андреев В.П., Софронова И.Н., Никерова К.М. Активность пероксидазы в органах и тканях деревьев березы повислой // Ученые записки ПетргУ. Серия: Естественные и технические науки. 2013. № 4. С. 7-13.
2. Характеристика растительных фенольных соединений методом циклической вольтамперометрии / К. Э. Яковлева (и др.) // Прикл. биохим. микробиол. 2007. Т. 43, № 2. С. 730-739.
3. Jovanovic S. V. Flavonoids as antioxidants // J. Am. Chem. Soc. 1994. Vol. 116, № 11. P. 4846-4851.
4. Kubo K., Nihei K., Shimizu K. Oxidation products of quercetin catalyzed by mushroom tyrosinase // Bio. Med. Chem. 2004. Vol. 12. P. 5343 - 5347.
5. Oliveira-Brett, A. M. Electrochemical oxidation of quercetin / A. M. Oliveira-Brett, M. E. Ghica // Electroanalysis. 2003. Vol. 15, № 22. P. 1745-1750.
6. Schreiber W. Degradation of 3-hydroxyflavone by horse radish peroxidase // Biochem. Biophys. Res. Commun. 1975. Vol. 63. № 2. P. 509-514.
7. Schreiber, W. Action of horse radish peroxidase upon some flavones / W. Schreiber // FEBS Lett. 1974. Vol. 41, № 1. P. 50-52.
8. Slabbert, N. P. Ionisation of some flavanols and dihydroflavonols / N. P. Slabbert // Tetrahedron. 1977. Vol. 33, № 7. P. 821-824.
9. Takahama, U. Flavonoids and some other phenolics as substrates of peroxidase: physiological significance of the redox reactions / U. Takahama, T. Oniki // J. Plant Res. 2000. Vol. 113, № 3. P. 301-309.

УДК 581.1

УГЛЕВОДНЫЕ КОМПОНЕНТЫ ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ, НАКОПЛЕНИЕ ПОЛИФЕНОЛОВ И АКТИВНОСТЬ L- ФЕНИЛАЛАНИНАММИАК-ЛИАЗЫ В КАЛЛУСНЫХ КУЛЬТУРАХ ЧАЙНОГО РАСТЕНИЯ

Николаева Т.Н., Лапшин П.В., Нечаева Т.Л., Загоскина Н.В.

ФГБУН Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва,
Россия, тел. (495)97794-33, e-mail: niktat2011@mail.ru

Фенольные соединения, образующиеся практически во всех клетках высших растений, в настоящее время являются объектом пристального внимания исследователей. В значительной степени это обусловлено широким спектром их биологического действия и антиоксидантной активностью [1,2]. Полифенолы успешно используются в фармакологии при лечении заболевания сердечно-

сосудистой системы, пищеварительного тракта и онкологических заболеваний.

Одним из альтернативных источников получения вторичных метаболитов являются культуры клеток и тканей высших растений, сохраняющие в условиях *in vitro* способность к их биосинтезу [3]. Кроме того, такой способ выращивания позволяет строго контролировать условия роста, состав питательных сред, четко «дозировать» экзогенные воздействия [4,5]. Все это дает возможность регулировать накопление биологически активных веществ, в том числе и полифенолов, в культивируемых *in vitro* клетках и тканях растений.

Несмотря на достигнутые к настоящему времени успехи в изучении влияния различных факторов на образование фенольных соединений, в том числе и в культурах растительных клеток, механизмы регуляции их биосинтеза до сих пор вызывают много вопросов. Это касается и «ключевого» фермента фенольного метаболизма - L-фенилаланинаммиак-лиазы (ФАЛ; К.Ф. 4.3.1.5), осуществляющего дезаминирование L-фенилаланина с образованием *транс*-коричной кислоты - предшественника подавляющего большинства соединений фенольной природы [6]. Однако, данные о взаимосвязи между активностью ФАЛ и накоплением этих вторичных метаболитов в растительных тканях далеко не однозначны. Так, в ряде случаев обнаружена прямая зависимость между этими параметрами, тогда как в других – ее не отмечалось [7-9].

Целью данного исследования являлось сравнение действия различных углеводов (глюкоза, сахароза) на образование фенольных соединений и активность ФАЛ в каллусной культуре чайного растения.

Объект и методы исследования. Объектом исследования являлась каллусная культура стебля чайного растения (*Camellia sinensis* L., грузинская разновидность, штамм ЧС-2), выращиваемая на модифицированной питательной среде Хеллера с 2,4-Д (5 мг/л) [10]. Содержание углеводов (глюкоза, сахароза) в среде составляло 1,5% или 2,5% (контроль – 2,5% глюкозы). Культуры выращивали при +24°C в условиях 16-часового фотопериода (интенсивность освещения 5000 люкс; 1-й пассаж). Продолжительность цикла культивирования составляла 7 недель.

Фенольные соединения экстрагировали горячим 96%-ным этанолом из зафиксированного жидким азотом растительного материала. Этанольные экстракты использовали для спектрофотометрического определения содержания суммы фенольных соединений (реактив Фолина-Дениса, поглощение при

725 нм) и содержания флаванов (ванилиновый реактив, поглощение при 500 нм) [11]. Калибровочные кривые в обоих случаях строили по (-)-эпикатехину.

Для определения активности ФАЛ свежезамороженную каллусную ткань гомогенизировали в 0,1 М Na-боратном буфере (pH 8,8), содержащем ЭДТА (0,5 мМ) и дитиотреитол (3 мМ) и Поликлар АТ (50% от сырой массы растительной ткани). Гомогенат фильтровали и центрифугировали в течение 20 мин. при 13000 об/мин. Осадок отделяли, а надосадочную фракцию использовали в качестве «грубого» ферментного препарата для определения удельной активности фермента. Все операции проводили на холоду (при +4°C).

Активность ФАЛ определяли спектрофотометрически по образованию продукта реакции транс-коричной кислоты из L-фенилаланина по поглощению при 290 нм в смеси, содержащей 0,1 М Na-боратный буфер (pH 8,8), 0,01 М L-фенилаланина и «грубый» ферментный препарат (60 мкг белка/мл) в общем объеме 2 мл [8, 12]. Содержание белка определяли по методу Бредфорд [13].

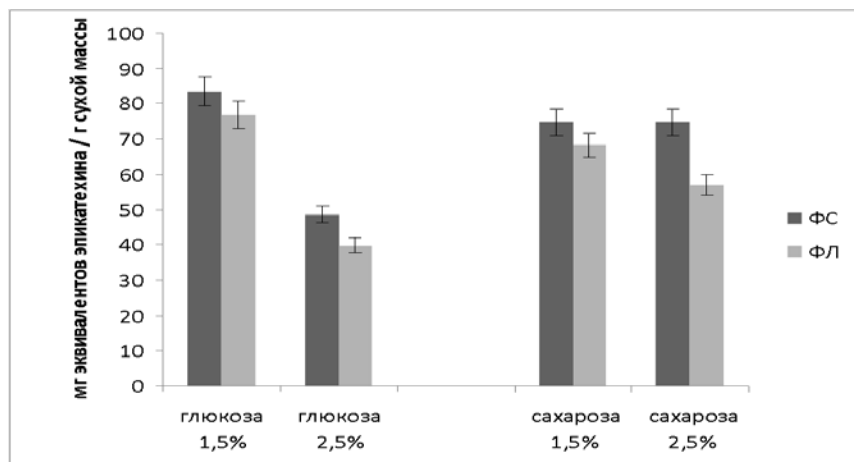


Рис. 1. Содержание суммы растворимых фенольных соединений (ФС) и флаванов (ФЛ) в каллусных культурах чайного растения, растущих на средах с различными углеводами.

Анализы проводили в двух биологических и двух аналитических повторностях. Все результаты обработаны статистически, на графиках представлены средние арифметические значения определений и их стандартные отклонения.

Результаты и обсуждение. Накопление фенольных соединений в клеточных культурах растений в определенной степени можно регулировать составом и количеством углеводов в питательной среде [5]. Ранее проведенные исследования показали, что на начальных этапах выращивания каллусных культур чая оптимальной для их роста и образования полифенолов являлась глюкоза в концентрации 2,5% [10].

В нашем случае, когда длительность культивирования данного штамма превышала 30 лет, этот эффект был противоположен (рис. 1). На среде с 2,5% глюкозы содержание как суммы фенольных соединений, так и основных компонентов фенольного комплекса чайного растения – флаванов – было наименьшим. Однако при более низкой ее концентрации в среде (1,5% глюкозы) уровень этих веществ был самым высоким.

Достаточно часто в качестве углеводного компонента питательных сред используют сахарозу [3]. В каллусах чая, растущих на среде с сахарозой (2,5% или 1,5%) содержание фенольных соединений было высоким и практически равным. Исключением являлось лишь накопление флаванов, которое было ниже в каллусах на среде с 2,5% сахарозы. В целом же можно даже отметить тенденцию к более высокому содержанию фенольных соединений в культурах, растущих на средах с более низкой концентрацией углеводов.

Следует также подчеркнуть, что флаваны, являющиеся основными компонентами фенольного комплекса побегов чайного растения, обладают Р-витаминной капилляроукрепляющей активностью и представляют большой практический интерес [14, 15]. В каллусных культурах чая они составляли от 77% до 92% от суммарного содержания фенольных соединений. Более высокий их уровень отмечен у культур, пассируемых на средах с низкой концентрацией углеводов (1,5%). Все это свидетельствует о том, что понижение количества углеводов в питательной среде способствует большему накоплению полифенолов в каллусных культурах чайного растения. Нельзя исключать и то факт, что этот эффект может быть следствием стрессовой реакции клеток на недостаток питания, следствием чего и является повышение уровня этих вторичных метаболитов, как это отмечалось во многих исследованиях [16].

Каков же уровень активности ФАЛ в исследованных культурах? Судя по нашим данным в определенной степени прослеживается тенденция, аналогичная таковой по накоплению фенольных соединений (рис. 2). Самая высокая активность ФАЛ отмечена для культуры на среде с 1,5% глюкозы и достаточно

близкая к ней – на среде с 2,5% сахарозы. Самая же низкая активность была у варианта на среде с 2,5% глюкозы.

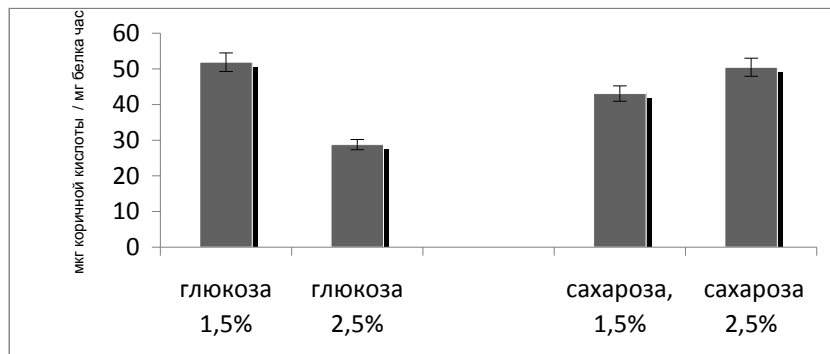


Рис. 2. Активность ФАЛ в каллусных культурах чайного растения, растущих на средах с различными углеводами.

Все это свидетельствует о прямой взаимосвязи между активностью ФАЛ в каллусах чайного растения, выращиваемых на средах с различными углеводами, и накоплением в них фенольных соединений, в том числе и флаванов, веществ, обладающих Р-витаминной капилляроукрепляющей активностью.

В заключении следует отметить, что изменяя состав углеводных компонентов питательной среды и их концентрацию можно повысить накопление фенольных соединений в *in vitro* культивируемых клетках высших растений.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант 14-04-01742).

Список литературы

1. Agati G., Tattini M. Multiple functional roles of flavonoids in photoprotection // *New Phytologist*. 2010. V.186. P. 786-793.
2. Меньщикова Е.Б., Ланкин В.З., Кандалинцева Н.В. Фенольные антиоксиданты в биологии и медицине. Строение, свойства, механизмы действия. Изд. Lambert AP. 2012. 488 с.
3. Бутенко Р.Г. Биология клеток высших растений *in vitro* и биотехнологии на их основе / М.: ФБК-ПРЕСС, 1999. 152 с.
4. Nosov A. M Application of Cell Technologies for Production of Plant Derived Bioactive Substances of Plant Origin // *Applied Biochemistry and Microbiology*. 2012. V. 48. P. 609–624.
5. Zaprometov M. The formation of phenolic compounds in plant cell and tissue cultures and the possibility of its regulation // *Adv. Cell Cult.* 1989. V. 7. P. 201-260.

-
6. Запрометов М.Н. Фенольные соединения: Распространение, метаболизм и функции в растениях. М.: Наука, 1993. 272 с.
 7. Сергейчик А.А. Фенилаланин-аммиак-лиаза и фенилпропаноидный метаболизм // Физиология и биохимия культурных растений. 1987. Т. 19. № 3. С.211-220.
 8. Олениченко Н. А., Загоскина Н. В. Ответная реакция озимой пшеницы на действие низких температур: образование фенольных соединений и активность L- фенилаланин-аммиак-лиазы // Прикладная биохимия и микробиология. 2005. Т. 41. №6. С.681-685.
 9. Klejdus B., Kováčik J., Babula P. PAL inhibitor evokes different responses in two *Hypericum* species // Plant Physiology and Biochemistry. 2013. V. 63. P.82-88.
 10. Корецкая Т.Ф., Запрометов М.Н. Культура ткани чайного растения (*Camellia sinensis*) как модель для изучения условий образования фенольных соединений // Физиол. растений. 1975. Т.22. С.282 -285.
 11. Запрометов М.Н. Фенольные соединения и методы их исследования // Биохимические методы в физиологии растений. Москва: Наука. 1971. С.185-197.
 12. Zucker M. Induction of Phenylalanine Deaminase by Light and its Relation to Chlorogenic Acid Synthesis in Potate Tuber Tissue // Plant Physiol. V.40. N5. 1965. P.779-784.
 13. Bradford M. M. A Rapid and Sensitive Method for the Quantification of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein Dye Binding // Anal. Biochem. 1976. V.72. P.248-254.
 14. Запрометов М. Н. Биохимия катехинов. 1964. М. Наука. 250 с.
 15. Барабой В.А. Катехины чайного растения: структура, активность, применение // Биотехнология. 2008. Т.1. №3. С.25-36.
 16. Bidel L.P.R., Coumans M., Baissac Y. Boological activity of phenolics in plant cells // Recent advances in polyphenol research / Eds Cantos-Buelga C., Escribano-Bailon M.T., Lattanzio V. Iowa, USA: Wiley-Blackwell. 2010. V. 2. P. 163–205.
-

МЕТАБОЛОМИКА ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ

Осипов В.И.^{1,2}, Поляков Н.А.¹

¹ФГБНУ Всероссийский институт лекарственных и ароматических, Москва, 117216, Грина 7, Россия; ossipov@utu.fi

²Факультет химии, Университет Турку, Ватселанкату 2, Турку 20014, Финляндия

Метаболомику использовали для детального фитохимического анализа экстрактов, фракций экстрактов и препаратов 17 видов лекарственных растений, которые широко используются в традиционной медицине. Применяемая технология основана на комбинации двух хроматографических платформ:

ВЭЖХ-МС (Agilent 1200 система с масс-спектрометрическим детектором BRUKER micrOTOF-Q) и ГХ-МС (Perkin Elmer Autosystem XL ГХ с масс-спектрометрическим квадрупольным детектором TurboMass Gold). Основными задачами исследования были идентификация фармакологически активных метаболитов лекарственных растений и формирование базы масс-спектрометрических данных.

Установлено, что фармакологическая активность некоторых видов растений обусловлена присутствием большого количества разнообразных фенольных соединений. Показано, что их состав в исследуемых растениях сильно отличается. Некоторые виды характеризуются относительно высоким содержанием эллаготаннинов (*Hippophae rhamnoides*), проантоцианидинов (*Potentilla alba*, *Comarum polustre*), производных кофейной кислоты (*Lycopus europeus*, *Tanacetum vulgare*, *Urtica dioica*, *Arnica foliosa*, *Rhaponticum carthamoides*), флавонолигнанов (*Silybum marianum*), флавоноид-гликозидов (*Rubus idaeus*, *Aesculus hippocastanum*, *Serratula coronata*), лигнанов (*Arctium lappa*) или производных флороглюцина (*Eucaliptus viminalis*). Кроме того, другие классы биологически активных вторичных соединений, такие как сесквитерпен-лактоны и тритерпеноиды были обнаружены в некоторых исследованных растениях.

РЕГУЛЯЦИЯ СИНТЕЗА НЕКОТОРЫХ ГРУПП ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ЛИСТЬЯХ ДЕРЕВЬЕВ ДУБА ЧЕРЕШЧАТОГО В УСЛОВИЯХ ПОВРЕЖДЕНИЯ ПАТОГЕННОЙ ИНФЕКЦИЕЙ И НАСЕКОМЫМИ

Полякова Л.В., Литвиненко В.И.

УкрНИИ лесного хозяйства и агролесомелиорации, 61024 Харьков, ул Пушкинская 86 e-mail: polyakova_lv@mail.ru. ГП Государственный научный центр лекарственных средств и мед.препаратов, Харьков, 61085, ул. Астрономическая 33.

В листьях дуба черешчатого синтезируются группы фенольных соединений, включающие гидролизуемые танины (ГТ), эллаготаннины и большое разнообразие классов флавоноидов – флавонолы (ФЛ), катехины (КТ), проантоцианидины (ПА). Все эти группы веществ активно изучаются в связи с их влиянием на устойчивость деревьев к разнообразным вредителям и патогенам [2]. Изучение устойчивости деревьев, как правило, проводится на

популяционном уровне и включает деревья в разной степени поврежденные насекомыми и патогенами. Помимо упомянутых групп веществ, анализы, проводимые нами на популяционном уровне, дополнялись изучением содержания белка (Б), определяемого по методу [3]. С учетом индивидуального анализа 4-6 листьев с каждого дерева, количество образцов в каждой популяции было значительным (от 60 до 100-140, что позволило изучить корреляционные связи между разными группами веществ (табл.1)

Данные табл.1 показывают, что между содержанием в листьях Б и ГТ во всех случаях определения наблюдается устойчивая негативная корреляция признаков средней силы связи. Между содержанием Б и ФЛ корреляции могут быть разнонаправленными, чаще незначительными и недостоверными.

Таблица 1.

Парные коэффициенты корреляции признаков в насаждениях дуба черешчатого

насаждение	Б - ГТ	Б - ФЛ
ПС-600, 2012 г. 42 особи	- 0.430*	0.304*
1-летняя культура, 2010 г., 24 семян	- 0.197	0.117
2-х летняя культура, 30 растений, 2012 г.	- 0.158	- 0.046
16-летняя культура, 35 деревьев, 2014 г.	- 0.172	0.021
54-летняя культура, 30 деревьев, 2011 г.	- 0.295*	0.143
ПС-600, 2014 г. 2 мес., 56 особей	- 0.530*	-
300 лет, СНПП, 16 деревьев, 2012 г.	- 0.389*	0.282
300 лет, СНПП, 15 деревьев, 2013 г.	- 0.352*	0.060

* $P < 0.05$ ПС-600 – полусибовое потомство 600-летнего дерева

Считается, что через шикиматный путь биосинтеза фенилаланина (ФА) контролируется около 20% синтезируемого в растении белка. При этом, согласно схеме биосинтеза количество синтезируемого ФА может зависеть как от пула шикимовой кислоты (ШК), используемой на синтез аминокислоты, так и активности фермента ФАЛ, обеспечивающего далее синтез фенилпропаноидов. Согласно литературным данным [3], галловая кислота (ГК), используемая в растении на синтез гидролизуемых таннинов, образуется из дегидрошикимовой кислоты. Образующаяся далее ШК (и далее хоризмовая) является непосредственным предшественником ФА. Вероятно, этот участок шикиматного пути находится под строгим генетическим контролем с четкой регуляцией использования фонда дегидрошикимовой кислоты в разных направлениях, то есть должна проследиваться негативная

связь между синтезом ГК (и далее ГТ) и Б, в составе которого находятся синтезируемые шикиматным путем аминокислоты. Именно такая связь наблюдается во всех анализируемых природных популяциях дуба.

Согласно негативной корреляции все генотипы могут быть подразделены на особи, в которых более высокий уровень Б в листьях сопровождается пониженным (по сравнению с популяционным средним значением) уровнем ГТ и особи с противоположной направленностью синтеза этих групп веществ. Однако, в реальных популяциях кроме особей с негативной корреляционной структурой признаков (Б-ГТ) всегда присутствуют особи с нарушенной корреляционной структурой, то есть повышенное содержание Б сопровождается повышенным уровнем ГТ и наоборот. В этом случае происходит нарушение регуляторной функции данного участка шикиматного пути. Оказалось, что в популяции деревьев, прошедших длительный стабилизирующий отбор, встречаются деревья трех типов регуляции синтеза Б - ГТ. Около 30% деревьев обладает регуляцией: низкий Б - высокий ГТ (1-й генотип), еще 30% - высокий Б - низкий ГТ (2-й генотип) и еще 30% - уровни Б и ГТ идут параллельно - либо выше среднего, либо ниже (3-й генотип).

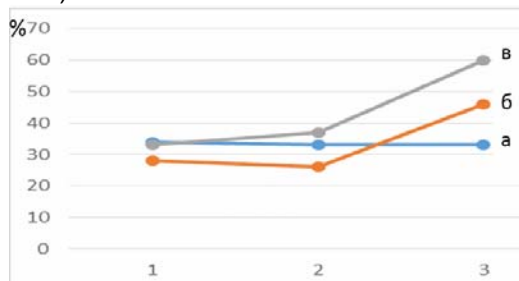


Рис. 1 Численность (%) биохимических генотипов (1, 2, 3) в насаждениях дуба черешчатого разного возраста: (а - деревья 200-300-летнего возраста; б – культура 16-летнего возраста; в – полусибовое потомство 70-летнего дерева).

Данное распределение, определяемое негативным коэффициентом корреляции средней силы, способствует поддержанию генетического разнообразия в популяциях дуба, их устойчивости в среде обитания. Если бы регуляторная система работала безотказно, сохранялись бы только первые два генотипа, при этом негативная корреляция поднялась бы до показателей $r = -0.793$ (16-летняя культура), -0.852 (200-300-летние деревья). Однако в этом случае популяция оказалась бы генетически более

однообразной и поэтому более уязвимой для насекомых и патогенов, приспособленных к определенному генотипу. Присутствие 3-го генотипа снижает эту нагрузку.

Данные анализа степени повреждения листьев деревьев разных генотипов листогрызущими насекомыми и патогенами показали, что разные виды насекомых эволюционно приспособились к разным генотипам. Например, листогрызущие виды - ранне-весенний комплекс пядениц (доминирующий по повреждению листьев) предпочитает деревья, синтезирующие в листьях повышенный уровень ГТ и пониженный Б (1-й генотип). Группа насекомых, скелетирующих ткани листа (доминирующий вид - дубовый блошак), предпочитают листья с высоким содержанием Б и низким ГТ (2-й генотип). Следовательно, эти виды насекомых снизили конкуренцию между собой за площадь питания. Деревья 3-го генотипа, могут заселяться с разной долей активности обоими видами насекомых, вследствие чего они оказались наиболее уязвимыми в популяции, что подтвердили многолетние анализы разных насаждений дуба. Численность деревьев 3-го генотипа заметно выше в молодых насаждениях дуба (40-60% численности в насаждениях 1-16 летнего возраста). Однако, по мере старения насаждения наблюдается их более активная элиминация из состава популяций до уровня около 30% (рис.1).

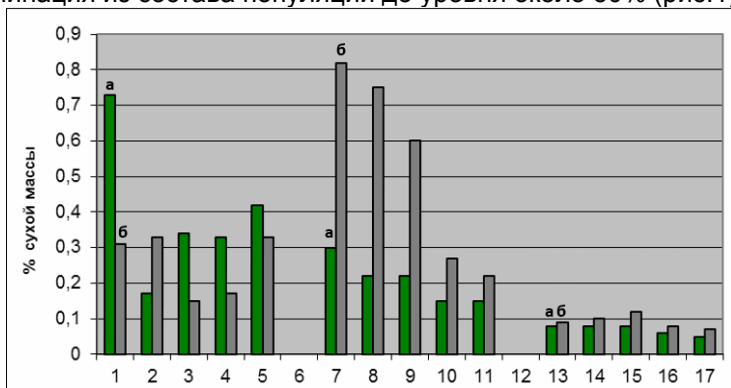


Рис. 2. Распределение ФС в листовой пластине дуба черешчатого, инфицированного мучнистой росой. 1-5 – содержание флавонолов, 7-11 – содержание конденсированных танинов (флавоанов), 13-17 – содержание связанной формы проантоцианидинов. а - краевая зона листовой пластины; б - центральная зона листа, покрытая мицелием гриба.

Группы флавоноидных структур - ФЛ и КТ - оказались не так четко связанными с Б, как ГТ (табл.1). Однако, эти группы веществ более активно проявляют защитные свойства при

непосредственном поражении листьев насекомыми или патогенами. Примером ответной реакции на вторжение патогена может быть изучение мозаичности листовой пластины, пораженной патогеном мучнистой росы. Даже в условиях интенсивного инфицирования ткань листа не полностью покрыта мицелием гриба и всегда остаются краевые зоны, сохраняющие здоровую зеленую поверхность. Анализ участков листа, пораженных инфекцией и свободных от нее, показал, что в зоне поражения происходит очень интенсивный дополнительный синтез КТ, разнонаправленный в сторону уменьшения или увеличения синтез ФЛ и в зоне поражения несколько растет уровень синтеза связанных ПА.

Рис.2, на котором представлены результаты анализа 5 листьев дерева, показывают, что, действительно под влиянием патогена синтез ФЛ может быть направленным как в сторону его увеличения, так и уменьшения, в то время, как синтез КТ значительно возрастает во всех образцах. Дополнительный синтез связанной формы ПА оказался незначительным.

Таблица 2.

Содержание белка и фенольных соединений в листьях 200-300-летних деревьев дуба черешчатого разной степени повреждения листогрызущими насекомыми и фитопатогенами (группы веществ - % к сухому весу листьев; повреждения – площадь потери листовой поверхности в %)

Группы деревьев	A.querc.	E.defol.	M.alph.	
Домин. M.alph.	1.0±0.02	6.0±1.47	40.0±7.8	
Домин. E.def.	8.0±1.73	1.3±0.3	-	
Домин. Al.quer.	11.37±0.40	12.12±2.38	0.62±0.60	
	Б	ГТ	КТ	ФЛ
Домин. M.alph.	10.76±0.35	2.62±0.18*	1.36±0.25*	0.41±0.17
Домин. E.def.	10.92±0.65	2.53±0.17*	0.68±0.17*	0.22±0.05
Домин. Al.quer.	11.37±0.4	1.61±0.08*	0.66±0.13*	0.50±0.05

Обозначения: A querc. – *Altica quercetorum* (дубовый блошак) E.defol. – *Erannis defoliaria* (пяденица обдирало обычная – ранневесенний комплекс); M.alph. – *Microsphaera alphithoides* (мучнистая роса) Б – белок; ГТ – гидролизуемые танины; КТ – конденсированные танины; ФЛ – флавонолы (гликозиды).

Наблюдаемая тенденция для КТ подтверждается и при популяционном анализе В табл.2 приведены данные по уровню содержания различных групп веществ в популяции 200-300-летнего

возраста. Содержание ФЛ варьирует в разных группах деревьев. На этом фоне содержание КТ в листьях деревьев с интенсивным инфицированием мучнистой росой было в два раза выше по сравнению с листьями других групп деревьев. Содержание ФЛ не является таким же однозначным, как КТ, что, вероятно, может указывать на более разнообразную функцию этих компонентов в условиях поражения ткани листа инфекцией. (табл.2)

Эти данные показывают, что регуляторные механизмы синтеза ГТ и Б и с другой стороны синтеза разных групп фенилпропаноидов неравноценны. Жесткая регуляция уровней синтеза Б и ГТ в листьях определяет достаточно близкие значения всех показателей к среднему для популяции (рис.3 А). При этом даже в случае довольно интенсивного поражения мучнистой росой и листогрызущими насекомыми значительного разброса данных не наблюдается (рис.3 Б).

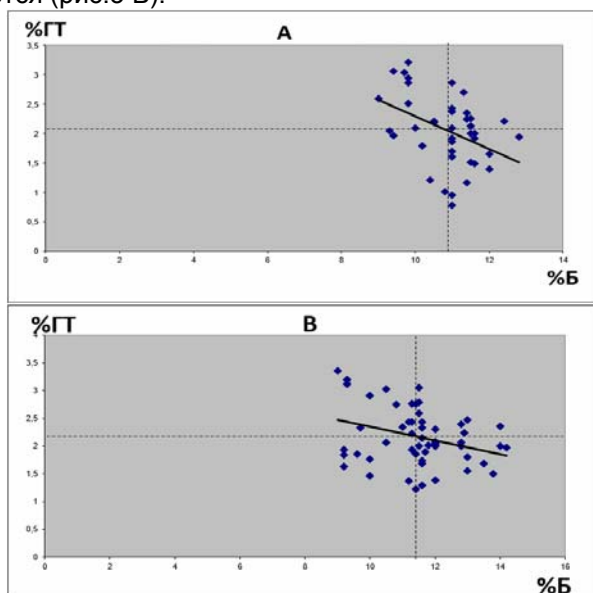


Рис.3. А – 16-летняя культура, здоровые деревья ($r = -0.389$); В – 16-летняя культура, деревья, восприимчивые к мучнистой росе ($r = -0.172$); штриховая линия - средние значения признаков.

Иначе ведут себя ФЛ и КТ в условиях действия на листья мучнистой росы и насекомых. Размещение образцов в функциональном поле этих групп веществ показало, что только листья здоровых деревьев проявляют логически обоснованную шикиматным путем негативную корреляцию признаков и

достаточно близкое расположение всех образцов к линии взаимосвязи этих групп веществ. Под действием патогенной инфекции и листогрызущих насекомых, разброс данных вокруг кривой взаимодействия значительно возрастает, что указывает на нарушение регуляторной связи между этими группами (рис.4)

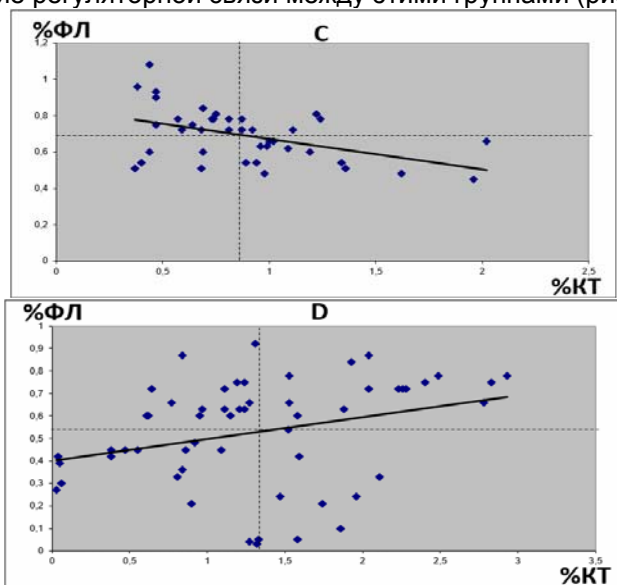


Рис.4. Распределение деревьев 16-летней культуры дуба черешчатого в функциональном поле флавонолов и конденсированных танинов. С – группа здоровых деревьев ($r = -0.407^*$); D – группа деревьев, листья которых инфицированы мучнистой росой ($r = 0.298$)

Таким образом, популяционный анализ деревьев дуба черешчатого в условиях давления отбора и действия филлофагов позволяет отметить существование достаточно жесткой регуляции синтеза в листьях ГТ и Б, что проявляется устойчивой негативной корреляцией признаков. Флавоноидная группа веществ (ФЛ и КТ), расположенная по шикиматному пути ниже точки синтеза ФА (down stream) и контролируемая множеством генов, является более мобильной. Особое значение имеют КТ, синтез которых в зоне инфицирования листа патогеном мучнистой росы возрастает в 2-4 раза.

Список литературы

1. Бузун Г.А., Джемухадзе К.М., Милешко Л.Ф. Определение белка в растениях с помощью амидо-черного // Физиол.раст.- 1982.-. Т.29.-

-
- C.350-358.
2. Schroeder H., Girardo A., Schnitzler J-P., Fladung M. Tree-insect interaction - defence response against herbivorous insects // BMC Proceedings, 2011.- 5(Suppl.7).-P.101.
 3. Tomas Vogt. Phenylpropanoid biosynthesis // Molecular Plant, 2010.- V.3.- N1.- P.2-20.
-

УДК 581.192.7

РОЛЬ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ПАТОГЕНЕЗЕ ЯЧМЕНЯ СЕТЧАТОЙ ПЯТНИСТОСТЬЮ

Полякова Н.В., Волюнец А.П.

ГНУ «Институт экспериментальной ботаники им. В.Ф. Купревича НАН
Беларуси», Минск, Беларусь, +375 17 284 05 43; nvpoliakova@mail.ru

Взаимодействие разнородных таксонов (ячменя и гемибиотрофа *Drehslera teres* Sacc.) можно рассматривать как объединение в единое целое (фитопатосистему) отличных по функциональному предназначению специализированных «частей», каждая из которых до интеграции ведет самостоятельный образ жизни, в результате чего внутри образовавшегося патологического комплекса возникает новая регуляторная система, состоящая из растительных и грибных рострегулирующих веществ. Экзогенные (грибные) регуляторы разного спектра действия меняют предсуществующий в тканях хозяина эндогенный баланс ростовых веществ и этим самым участвуют в координации его метаболизма. Уровень действия фиторегуляторов в норме характеризуется комплексным проявлением, связанным с созданием в клетке определенной активности процессов транскрипции и трансляции. Естественно, что при изменении фитогормонального баланса под влиянием поражения, меняется соотношение в нем отдельных его компонентов. В ходе онтогенеза *D.teres*, протекающего в тканях ячменя, постоянно меняется концентрация ростовых регуляторов, поскольку гриб на разных фазах развития привносит в растительную ткань, как среду обитания, дифференциальные в количественном и качественном отношении физиологически активные вещества.

Вероятно, изменение концентрации одного из регуляторных компонентов создает условия для образования специфического гормон-рецепторного комплекса, который после проникновения в ядро инфицированной клетки ячменя вызовет активацию генома в таком направлении, что начнется синтез белков, которые будут не

столько поддерживать структурно-функциональную целостность органелл, сколько обеспечивать пищевые и репродуктивные потребности грибного патогена. В противном случае будут усилены адаптационные возможности тканей ячменя, на основе которых начнет формироваться устойчивость. Биохимическую основу последней составит синтезирование ферментов, которые будут контролировать образование фенольных соединений и других низкомолекулярных соединений, как факторов защиты.

Гриб *Drehslera teres* выращивали на питательной среде Чапека при освещении 6000 лк и температуре 20°C в течение 40 суток. Содержание свободных и конъюгированных фенольных соединений сопоставляли с нарастанием сырой и сухой биомассы гриба *Drehslera teres* в течение 40 суток. Увеличение сырой и сухой биомассы гелиментоспориозного гриба в течение первых 5 суток было незначительно (Рис.1).

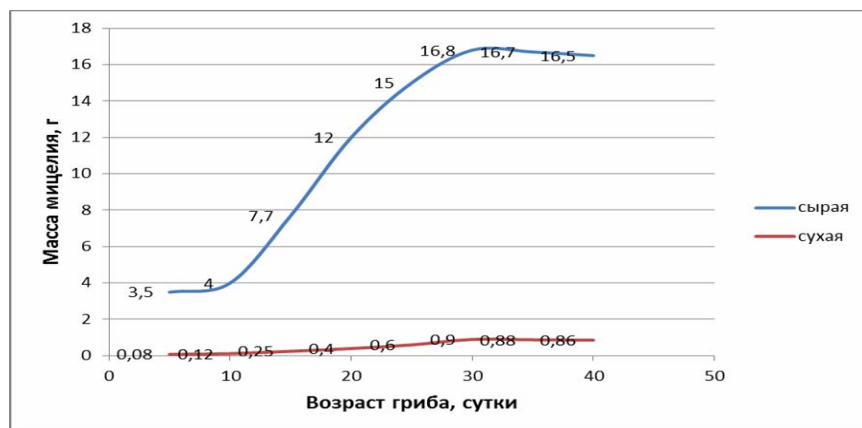


Рис. 1. Кривые роста гриба *D.teres* в культуре

Интенсивный рост мицелия начинался после 10-дневного периода и продолжался в течение 15 суток. За этот период сырая масса мицелия увеличивалась в 14 раз, а сухая всего в 4 раза. Дальше накопление биомассы гриба выходило на плато, после чего началось ингибирование роста, а затем и спорообразование.

В составе эндогенных регуляторов роста мицелия и культуральной жидкости гриба *D. teres* обнаружены те же группы веществ, которые характерны и для высших растений, даже с преобладанием свободных форм над конъюгированными. Однако группу фенольных соединений представляли в основном конъюгированные компоненты. Важно и то, что в культуральной

жидкости выявлено больше регуляторов роста, чем в мицелии. Эту особенность в жизнедеятельности гриба, по-видимому, можно связать с эволюционно выработанным способом паразитизма, направленным на обеспечение своего существования в тканях растения-хозяина.

Для динамики изменения содержания конъюгированных фенольных соединений в культуральной жидкости гриба *D. teres* характерно появление трех максимумов накопления в возрасте 17, 23 и 36 суток. Последний максимум накопления конъюгатов фенольных соединений - в период выраженного ингибирования роста мицелия и начала спорообразования. У свободных фенольных соединений имеется только два максимума содержания (23 и 36 сут.). Обращает на себя внимание очень высокое содержание высокоактивных свободных фенольных соединений, которое мало уступало количеству фенольных конъюгатов (Рис.2).

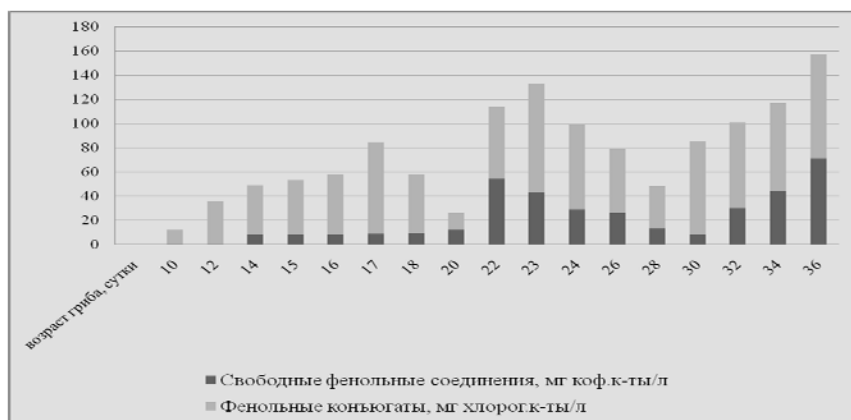


Рис. 2. Динамика содержания фенольных соединений в культуральной жидкости *D.teres*.

Фенольные соединения, выделяемые грибом в ткани ячменя, оказывают на них ингибирующее действие, особенно на последних фазах его онтогенеза. Более того, это действие приобретает аддитивный характер, поскольку фенольные соединения секретируются вместе с абсцизовой кислотой. Происходящее после поступления фенольных соединений в клетки ячменя их накопление в местах проникновения гриба ускоряет некротизацию данных участков, что, вероятно, достигается присущей фенольным соединениям способностью подавлять фосфорилирующую активность хлоропластов и митохондрий, что

влечет последующее их разрушение [1].

В клетках мезофилла ячменя, контактирующих с развивающимися между ними гифами гриба *D.terres* отмечается нарушение мембран хлоропластов, хотя митохондрии внешне остаются интактными. Д.б.н. Карпуком В.В. [2] показано, что инфекционный процесс затрагивает и митохондрии, у которых возрастает электронная плотность матрикса, кристы расширяются в объеме и происходит сначала лизис мембран, а затем и органелл. Более того, патогенез вызывает более глубокие нарушения структурной целостности хлоропластов. Повреждаются не только наружные мембраны, но и внутреннее содержимое хлоропластов. Оно вакуолизируется, в матриксе накапливаются осмеофильные глобулы, параллельно деградируют гранулы и ламеллы. Завершается разрушение хлоропластов и митохондрий коллапсом клеток и некрозом тканей листьев ячменя.

Выделяемые *D.terres* фенольные соединения контролируют процесс репродукции. Увеличение их концентрации ускоряет, в отличие от цитокининов, наступление спороношения и последующий переход его к состоянию покоя. В данном случае отмечается прямая зависимость между концентрацией фенольных соединений в среде и сроком инициации интенсивного конидиеобразования. Внесение в среду дополнительного количества фенольных соединений вызывает быстрый переход гриба к формированию спор с высокой инфекционной активностью. Поражение ими проростков ячменя индуцировало развитие болезни, характеризующейся всеми признаками сильного поражения. Причем развивается оно на 2—3 суток раньше, чем при воздействии на проростки ячменя спор, не подвергшихся обработке фенольными соединениями. Токсичность для растений ячменя фенольных соединений гриба *D.terres* обусловлена неидентичностью физико-химического состава с таковыми у растения-хозяина. Фенольный комплекс тканей ячменя представляют порядка 40 компонентов, большинство из которых приходится на долю флавоноидных гликозидов [1]. Сравнение фенольных комплексов обоих партнеров патосистемы указывает на наличие довольно существенных различий, что дает возможность рассматривать фенольные соединения гриба как чужеродные по отношению к хозяину. Чужеродность любых соединений всегда сопровождается токсическим эффектом [3].

Растения ячменя реагируют на поступление грибных фенольных соединений сохранением собственных. Однако в ходе патогенеза меняется соотношение между конъюгированными и свободными формами. Патологический процесс, или

восприимчивость, развивается при превалировании свободных форм над конъюгированными. Причина изменения соотношения форм может быть связана с модификацией работы растительного генома вследствие воздействия на него гормонрецепторных комплексов, которая направляет синтез в сторону образования белков, усиливающих активность таких метаболических путей, в которых продуцируются свободные фенольные соединения. Не исключено, что и привнесенные в растительные ткани фенольные конъюгаты гриба гидролизуются активированными ферментами. В этом случае такие соединения служат дополнительным источником пополнения общего пула свободных соединений в формирующейся фитопатосистеме, что может быть еще одним фактором проявления патогенности в этой патосистеме.

Список литературы

1. Волынец А.П. Фенольные соединения в жизнедеятельности растений – Минск, 2013 – 283 с.
 2. Карпук В.В. Структурная организация патогенеза злаков, вызываемого грибной инфекцией: Дисс. ... докт. биол. наук.: 03.00.12, 03.00.24.– Минск, 2000.– 410 С.
 3. Максимов И.В., Ганиев Р.М., Хайруллин Р.М., Шакирова Ф.М. Гормональный баланс в проростках пшеницы, инфицированных *Tilletia caries* // Микология и фитопатология. 2003. Т.37. Вып.4. С.64-71.
-

УДК 633.11

ИММУНОМОДУЛИРУЮЩАЯ АКТИВНОСТЬ ВАНИЛИНА, САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ И ХИТОЗАНА В РАЗЛИЧНЫХ КОМБИНАЦИЯХ ДЛЯ СИСТЕМЫ ПШЕНИЦА- ВОЗБУДИТЕЛЬ ТЕМНО-БУРОЙ ПЯТНИСТОСТИ *COCHLIOBOLUS SATIVUS*

Попова Э.В.¹, Домнина Н.С.², Коваленко Н.М.¹, Тютюрев С.Л.¹

¹ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений Санкт-Петербург, Пушкин, Россия. elzavporova@mail.ru

²ФГБОУ ВПО «Санкт-Петербургский Государственный Университет»,
Институт химии, Россия

Исследования молекулярных механизмов фитоиммунитета привели к пониманию того, что защитные реакции, возникающие в ответ на внедрение патогена, регулируются через сложную сеть сигнальных путей и их можно активизировать с помощью определенных веществ – индукторов болезнеустойчивости [1-3].

Среди многообразия ответных защитных реакций на внедрение фитопатогенов особая роль отводится усилению образования активных форм кислорода (АФК) и, как следствие, активации процессов перекисного окисления липидов - одной из ранних реакций растительных клеток на воздействие стрессов различной природы [4].

Салициловая кислота (СК) является сигнальной молекулой, участвующей в механизме болезнеустойчивости растений, связанном, в частности, с индукцией генерации АФК в растительных тканях и стимуляцией синтеза ряда компонентов растения, связанных с патогенезом. Ряд исследователей ставят под сомнение действие салициловой кислоты в качестве активатора системной устойчивости в системах растение - патоген, где патогеном является некротроф. Роль посредника при этом отводится жасмоновой кислоте и этилену [2]. Другие авторы придерживаются мнения, что увеличение эндогенного содержания салициловой кислоты не должно превышать некий физиологический порог, ибо это может приводить к нарушению физиологических функций и фитотоксичности [5]. Таким образом, роль салициловой кислоты в процессах формирования устойчивости, до сих пор является предметом дискуссии и дальнейших исследований.

Механизм действия антиоксидантных систем высших растений, их роль в формировании иммунного ответа к облигатным и факультативным грибам еще недостаточно изучены. Как правило, изменение количества АФК должно сопровождаться активацией антиоксидантной системы. В условиях окислительного стресса именно она будет определять «судьбу» клеток, предохраняя их от гибели. В ответ на действие факторов различной природы происходит смещение прооксидантного – антиоксидантного равновесия, которое считается одним из важнейших звеньев в развитии стрессового ответа.

Применение для защиты растений от болезней антиоксидантов и стимуляторов генерации активных форм кислорода основано на представлении о механизме действия фитопатогенов, с одной стороны, как продуцентов активных форм кислорода в растениях и генерации растениями активных кислородных радикалов для защиты от патогенов — с другой. Соотношение скоростей образования АФК и их обезвреживания определяет организм, который будет поврежден в большей степени: либо это патоген, либо растение. Считается, что применение антиоксидантов в качестве индукторов устойчивости растений к патогенам может быть оправдано по отношению к

некротрофам. В работе [6] предполагается, что эффективная стратегия защиты растений против некротрофных патогенов должна быть направлена на инактивацию активных форм кислорода и стимулирование клеточной антиоксидантной системы.

В настоящее время признано, что хитозан и его производные представляют собой перспективные экологически безопасные средства защиты растений от болезней [7,8]. Ведется активный поиск новых индукторов устойчивости среди хитозанов, модифицированных различными БАВ, в том числе производными СК [9].

В настоящей работе представлены результаты изучения действия СК, антиоксиданта ванилина, а также хитозана и его композиций с этими БАВ на заражение растений пшеницы грибом *Cochliobolus sativus*.

Химической модификацией низкомолекулярного хитозана (Хит) с молекулярной массой 6500кДа получены производные хитозана, содержащие ковалентно связанные фрагменты СК (Хит - СК), антиоксиданта ванилина (Хит - Вв). Проведена оценка влияния полученных полимерных продуктов и для сравнения механических смесей хитозана с СК (Хит+СК) или с ванилином (Хит+Вв) на пораженность растений пшеницы грибом *Cochliobolus sativus*. Drechs.

Объектом исследований была модельная система: пшеница сорта Саратовская 29 и грибок *Cochliobolus sativus*. Drechs. Оценку индуцирующей активности композиций проводили методом отделенных листьев [10]. Варианты опытов включали опрыскивание 7 дневных проростков исследуемыми веществами до инокуляции патогеном. Интенсивность развития гриба оценивали по 5-ти бальной шкале через 72 часа после инокуляции.

Одной из вредоносных болезней пшеницы является темно-бурая листовая пятнистость, вызываемая грибом *Cochliobolus sativus* (ItoetKurib.) Drechs. Ex Dastur (конидиальная стадия *Bipolaris sorokiniana* (Sacc. InSorok.) Shoem). Данный грибок является некротрофным паразитом, имеющий в процессе своего развития биотрофную и сапротрофную фазы [11].

Предварительная обработка проростков пшеницы исследуемыми соединениями повлияла на визуальные симптомы болезни (Диаграммы 1 и 2). Установлено, что на листьях растений в контроле при инфицировании грибом развивались ползущие бурые пятна более 3-х мм (тип реакции 5 баллов). На предобработанных СК листьях растений после инокуляции грибом симптомы болезни проявились с интенсивностью близкой к контрольному варианту при некотором снижении числа листьев с

типом реакции в 5 баллов. В растениях, обработанных хитозаном, тип реакции на заражение грибом изменился в сторону устойчивого фенотипа. На листьях развились симптомы в 1-2 балла (15,7 %) и значительно снизилось (на 84,3%) число листьев с типом реакции 5 баллов.

Обработка растений механической смесью (Хит+СК) привела к повышению устойчивости к грибу *Cochliobolus sativus*, что выразилось в изменении типа реакции. До 34,4 % увеличилось количество листьев с типом реакции 1-2 балла и снизилось число листьев с бурыми пятнами более 3-х мм (5 баллов).

Предобработка пшеницы производными хитозана (Хит-СК) также ведет к повышению устойчивости растений пшеницы к патогену. По эффективности индукции устойчивости этот вариант опыта приближается к варианту с хитозаном (Хит), но уступает по эффективности варианту с использованием механической смеси (Хит+Вв).

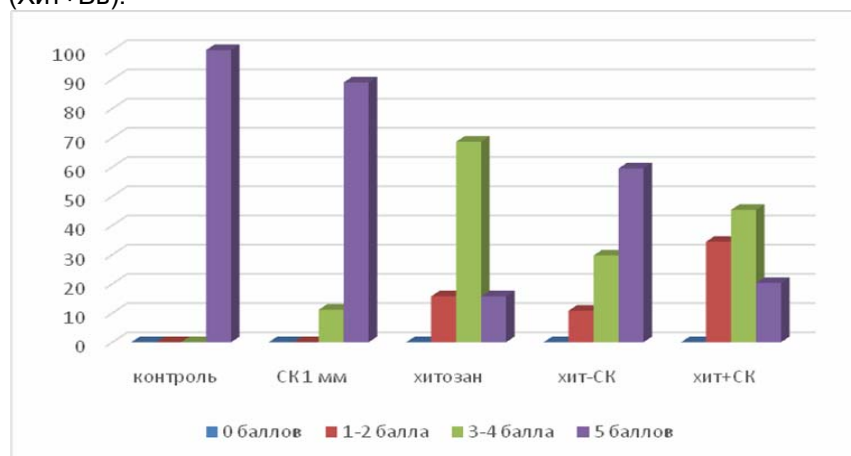


Диаграмма 1. Количество (%) пораженных растений в различных вариантах опытов при инокуляции грибом *Cochliobolus sativus*

В контрольном опыте с обработкой растений ванилином, хитозаном и его производного с ванилином признаки развития *Cochliobolus sativus* в виде бурых пятен составили 92,2%. На листьях растений, обработанных ванилином, симптомы болезни были выражены слабее, чем в контроле. Снизилось количество листьев сильно пораженных (5 баллов) на 14,3% по отношению к контролю. Эффективным индуктором, изменившим тип реакции растений пшеницы в ответ на заражение грибом в сторону устойчивости, оказался хитозан. В этом варианте опыта 70,6%

листьев имели тип реакции 0-1-2 баллов, характерные для устойчивых фенотипов, а сильно пораженных оказалось всего 5,3%.

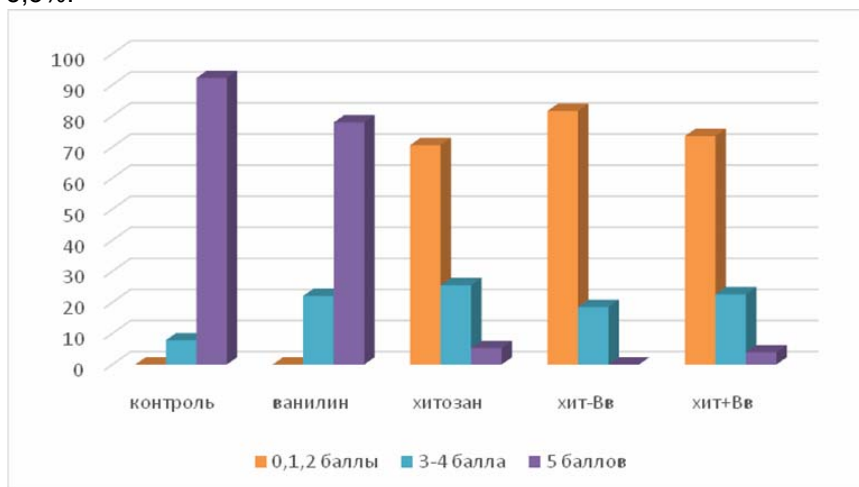


Диаграмма 2. Количество (%) пораженных растений в различных вариантах опытов при инокуляции грибом *Cochliobolus sativus*.

В вариантах опыта при совместном использовании для обработки пшеницы хитозана и ванилина в виде механической смеси, а также производного хитозана с присоединенным ванилином при заражении грибом на 73,4 %-81,6 % листьев не отмечалось развития симптомов болезни (0 баллов) или наблюдались лишь точечные пятна (1-2 балла). Это указывает на индуцирование устойчивости пшеницы к темно-бурой пятнистости. Причем по эффективности индукции устойчивости вариант опыта с обработкой пшеницы производным хитозана с ванилином превышал результат варианта с использованием механической смеси (Хит+Вв).

Таким образом, исследование влияния ванилина, СК, хитозана, а также их композиций на развитие гриба *Cochliobolus sativus* при заражении пшеницы показало, что тип реакции меняется в сторону устойчивого фенотипа, что указывает на индуцирование устойчивости пшеницы к темно-бурой пятнистости. Исследование активности пероксидазы - фермента про-антиоксидантной системы, принимающих участие в генерации и утилизации H_2O_2 выявило тот факт, что повышение устойчивости растений пшеницы к темно-бурой пятнистости под влиянием обработки хитозаном и его композициями с СК или ванилином

коррелирует с увеличением активности пероксидазы на 3-е сутки заражения по сравнению с контролем. Это согласуется с литературными данными для некротрофов [12].

Список литературы

1. Тарчевский И.А. Сигнальные системы клеток растений. Москва, Наука, 2002, 296 с.
 2. Дмитриев А.П. Сигнальные молекулы растений для активации защитных реакций в ответ на биотический стресс. // Физиология растений. 2003. т.50. №3, с.465-474.
 3. Kunkel B.N., Brooks D.M. Crosstalk between signaling pathways in pathogen defenses. // Curr. Opin. Plant Biol..2002, v.4. p.325-331.
 4. Mittler R Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance.// Trends Plant Sci 2002. v.7. 405-410
 5. Максимов И.В., Сорокань А.В., Черепанова Е.А. Влияние салициловой и жасмоновой кислот на компоненты про/антиоксидантной системы// Физиология растений. 2011, т.58, №2 с.243-251.
 6. Шуканов В.П., Манжелесова Н.Е., Недведь Е.Л. Влияние элибрасинолида на свободнорадикальные процессы в листьях проростков ячменя при поражении возбудителем сетчатого гельминтоспориоза. // VIII Международная конференция «Биоантиоксидант», 4-6 октября 2010, тезисы с. 274-275.
 7. Тютерев С.Л. Научные основы индуцированной болезнеустойчивости растений. СПб: ВИЗР, 2002, 328 с.
 8. Badawy M.E.J., Rabea E.I. A biopolymer chitosan and its derivatives as promising antimicrobial agents against plant pathogenes and their applications in crop protection // Carbohydr. Chemistry, v. 2011, 29 p.
 9. Васюкова Н.И., Озерецковская О.Л., Чаленко Г.И., Герасимова Н.Г. и др. Иммунизирующая активность производных хитозана с салициловой кислотой и ее фрагментами. // Прикладная биохимия и микробиология, 2010, том 46, №3, с. 379-384.
 10. Михайлова Л.А., Квитко К.В. Лабораторные методы культивирования возбудителя бурой ржавчины *Puccinia recondite* Robex Desmf. sp. *tritici*. Микология и фитопатология. 1970. Т.4, вып.3. с. 269-273.
 11. Ibeagha A.E., Huckelhoven R., Schafer P., Singh D.P., Kogel K.-H. Model wheat genotypes as tools to uncover effective defense mechanisms against the hemibiotrophic fungus *Bipolaris sorokiniana*.// Phytopathology. -2005.- Vol.95, N 5.-P.528-532.
 12. Яруллина Л.Г., Трошина Н.Б., Черепанова Е.Г., Заикина Е.А., Максимов И.В. Салициловая и жасмоновая кислоты в регуляции про-антиоксидантного статуса листьев пшеницы при инфицировании *Septoria nodorum* Berk. // Прикладная биохимия и микробиология, 2011, т.47, №5, с.602-608.
-

ВЛИЯНИЕ АБИОТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА НАКОПЛЕНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ПЛОДОВЫХ ОВОЩАХ

Присс О.П., Калитка В.В.

Таврический государственный агротехнологический университет,
Мелитополь, Украина, тел. +38 050 3229450, olesyapris@gmail.com

Высокая заинтересованность природными фенольными соединениями наблюдается в связи с их высоким содержанием в растительной продукции, потребление которой может снизить риск развития рака, сердечнососудистых и нейродегенеративных заболеваний [1]. Проявление антиоксидантных свойств растительных полифенолов также является важным аргументом для увеличения доли плодов и овощей в питании человека [2]. Концентрация фенольных веществ в овощах зависит от различных биотических и абиотических факторов [3]. На современном уровне развития растениеводства возможно успешное регулирование многих биотических факторов. Управлять абиотическими факторами в условиях открытого грунта практически невозможно. Следовательно, возникает потребность в изучении влияния абиотических факторов на процесс формирования фенольных соединений в тканях овощей, что позволит прогнозировать их биологическую ценность.

Исследования проводили в 2005-2012 годах. Изучали перец «Геркулес F1», томаты «Новичок», огурцы «Маша F1», кабачки «Кавили F1». Плоды выращивали в условиях открытого грунта на капельном орошении, технология общепринятая для зоны Сухой Степи Украины. Сумму фенольных веществ (ФВ) (в мг/100 г сырого веса) определяли по ДСТУ 4373:2005, используя реактив Фолина-Дениса. Цель работы заключалась в установлении влияния гидротермических условий вегетации на фонд фенольных веществ в овощах.

По ежегодным метеоданным рассчитаны суммы активных температур (САТ) выше 10°C периода вегетации, суммы температур периода формирования плодов (10 дней до сбора для тыквенных, 30 для перца и 40 для томатов), гидротермический коэффициент (ГТК), определено количество дней периода вегетации, не соответствующие биологическому минимуму и максимуму исследуемых культур. Для огурцов биологический минимум составляет 15 °С, максимум 32 °С. Для кабачков биологический минимум 16 °С, максимум 35 °С. Для перца и томатов биологический минимум составляет 13°C, максимум 30 °С.

В период исследований, погодные условия характеризовались значительной нестабильностью (табл. 1).

Таблица 1.
Гидротермические условия вегетации плодов

Показатели	Культура	Год							
		2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012
САТ периода вегетации, °С	Перец	2501,1	2322,5	2176,1	2056,9	1870,5	2169,2	2419,4	2319,2
	Томат	2887,3	2794,2	3143,7	2893,9	2909,3	3293,6	2927,1	2838,8
	Огурец	1113,9	1051,4	1065,4	1018,3	979,1	899,7	759,6	1308,6
	Кабачок	1910,4	1365,5	1439,3	1355,8	1261,1	1370,2	1188,4	1253,3
САТ периода формирования плодов, °С	Перец	663,3	654,6	802,2	772,3	624,9	700,8	662,4	636,4
	Томат	871,2	880,5	893,4	896,5	821,1	803,6	819,4	827,1
	Огурец	191,9	195,2	175,8	142,4	203,4	180,7	163,0	223,9
	Кабачок	254,4	184,5	163,8	217,0	208,2	201,4	145,4	185,2
Количество осадков, мм	Перец	210,8	203,0	47,0	68,6	77,3	141,2	136,3	37,4
	Томат	214,8	275,6	69,4	171,9	126	250,9	238,0	144,4
	Огурец	6,2	57,1	29,1	92,5	35,3	14,8	69,6	34,7
	Кабачок	21,7	59,1	52,3	10,3	50,4	16,3	56,1	16,9
ГТК	Перец	0,84	0,87	0,22	0,33	0,41	0,65	0,56	0,16
	Томат	0,74	0,99	0,22	0,59	0,43	0,76	0,81	0,51
	Огурец	0,06	0,54	0,28	0,91	0,36	0,15	0,92	0,27
	Кабачок	0,11	0,43	0,36	0,08	0,40	0,12	0,47	0,13
Количество дней температурой ниже минимальной для культуры	Перец	14	15	2	13	11	10	12	9
	Томат	25	39	19	37	36	27	32	15
	Огурец	21	30	11	18	26	15	18	4
	Кабачок	30	38	22	15	36	20	22	24
Количество дней температурой выше максимальной для культуры	Перец	40	43	62	38	40	55	49	58
	Томат	43	43	79	51	50	61	51	69
	Огурец	7	10	22	19	6	15	8	33
	Кабачок	3	1	15	17	2	18	9	20

Как видно из табл. 1, самые сложные условия формирования у кабачков (ГТК не превышает 0,47). Учитывая различия в длительности периода вегетации и формирования плодов, существенны также различия между обеспеченностью теплом и влагой между исследуемыми культурами.

Среди изученных плодов, наибольшая сумма фенольных веществ характерна для перца, минимальная для кабачка (рис. 1).

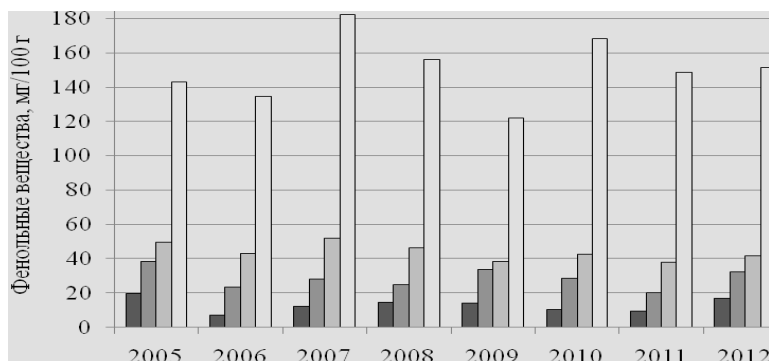


Рис. 1. Содержание фенольных веществ в овощах (слева направо): кабачки, $HCP_{05}=0,86$; огурцы, $HCP_{05}=2,35$; томат, $HCP_{05}=1,92$; перец, $HCP_{05}= 6,36$.

Среднее содержание фенольных соединений в перце составляет 150,7 мг/100 г. Вариативность по годам средняя, коэффициент вариации $V=12,50$. Наибольшее количество фенолов накапливается в плодах в годы с наибольшей суммой температур в период формирования и созревания плодов (2007, 2010). Это подтверждается и сильной прямой корреляцией между указанными показателями: $r=0,80$. Изучая влияние неблагоприятных температур на пасленовые овощи, испанские исследователи установили, что тепловой стресс вызывает накопление фенольных соединений в растении путем активации их биосинтеза и ингибирования окисления [4]. Таким образом, реализуется фенольный механизм защиты растения от теплового стресса. Достоверное влияние на формирование пула полифенолов имеют количество дней с температурами выше и ниже биологического оптимума. И если содержание ФВ прямо коррелирует с количеством дней выше биологического максимума ($r=0,73$), то с количеством дней, ниже биологического минимума корреляция обратная ($r=-0,71$). Очевидно, что частые отклонения от температурного оптимума для перца истощают фенольный механизм защиты от теплового стресса.

В томатах также наблюдается средняя вариативность пула ФВ ($V=11,44$) по годам. Среднее содержание ФВ 45,20 мг/100 г. Определяющее влияние на формирование фенольных соединений в плодах томата имеет САТ периода формирования и созревания

плодов ($r=0,77$). Корреляция с другими гидротермическими факторами недостоверна. Осадки достоверно не влияют на концентрацию полифенольных соединений в обоих пасленовых плодах. Нивелирования влияния осадков в определенной степени объясняется применением капельного орошения для компенсации недостатка влаги в течение всего периода вегетации.

При существенно меньшем содержании ФВ в тыквенных овощах (12,9...28,7 мг/100г), их концентрация значительно варьирует по годам ($V=20,6$ для огурцов и $24,7$ для кабачков). Такую значительную вариативность содержания полифенолов можно объяснить более низким, по сравнению с пасленовыми овощами, содержанием других биологически активных соединений (аскорбиновая кислота, каротиноиды). Эти соединения также принимают участие в нейтрализации активных форм кислорода (АФК), генерируемых при воздействии неблагоприятных условий, но их вариативность ниже [5, 6]. По-видимому, для тыквенных овощей, фенольные соединения, играют ведущую роль в защите тканей от влияния негативных абиотических факторов.

Наибольшее количество фенолов накапливается в плодах тыквенных овощей в годы с минимальным количеством осадков при больших значениях суммы активных температур. Между САТ, САТ за 10 дней до сбора плодов и количеством ФВ установлена прямая достоверная зависимость для огурцов ($r=0,62$; $0,57$). Для плодов кабачка САТ всего периода вегетации имеет незначительное влияние на формирование суммы полифенолов. Сильное влияние на формирование фенольных веществ кабачков проявляет САТ за 10 дней до сбора: $r=0,70$. Между количеством осадков и фондом ФВ установлено сильную обратную связь: $r=-0,72$ для огурца; $r=-0,62$ для кабачка, что, возможно, объясняется более коротким периодом вегетации, чем у пасленовых культур.

Выводы. Определяющее влияние на накопление фенольных соединений в плодах перца и томата имеет сумма активных температур периода формирования и созревания плодов ($r=0,77...0,80$). Для плодов огурца и кабачка кроме суммы активных температур периода формирования плодов ($r=0,57...0,70$), значительное влияние имеют осадки ($r=-0,62...-0,72$).

Список литературы.

1. Dietary polyphenols and the prevention of diseases / A. Scalbert, C. Manach, C. Morand [et al.] // Critical reviews in food science and nutrition. – 2005. Vol. 45. – P. 287– 306.
2. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products / Y. S. Velioglu , G. Mazza , L. Gao, B. D. Oomah // J. Agric.

Food Chem. – 1998. – Vol. 46, № 10. – P. 4113–4117.

3. The effect of environmental conditions on nutritional quality of cherry tomato fruits: evaluation of two experimental Mediterranean greenhouses / M. A. Rosales, L. M. Cervilla, E. Sánchez-Rodríguez [et al.] // J. Sci. Food Agric. – 2011. – Vol. 91(1). – P. 152-162.
4. Resistance to cold and heat stress: accumulation of phenolic compounds in tomato and watermelon plants / R. M. Rivero, J. M. Ruiz, P. C. García [et al.] // Plant Sci. – 2001. – Vol. 160, №2. – P. 315– 321.
5. Gill S. S. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants / Sarvajeet Singh Gill, Narendra Tuteja // Plant Physiol. Biochem. – 2010. – Vol. 48, №12. – P. 909– 930.
6. Присс О.П. Формування антиокислювального комплексу гарбузових плодів під впливом абіотичних факторів / О.П. Присс, В.В. Калитка // Науковий вісник НУБіП України. – 2013. – Вип. 183, ч. 1. – С. 58–64.

УДК 663.253.34 : 664.8.03 : 635.753

ДИНАМИКА ФЕНОЛЬНИХ ВЕЩЕСТВ ЗЕЛЕНИ ПЕТРУШКИ ПРИ ХРАНЕНИИ С ПРИМЕНЕНИЕМ АНТИОКСИДАНТОВ

Присс О.П., Кулик А.С.

Таврический государственный агротехнологический университет,
Мелитополь, Украина, тел.+380978860043, e-mail: alina_potapenko@ukr.net

Зеленные культуры богаты витамином С, каротиноидами и фенольными соединениями [1]. Особенно высокое содержание полифенолов в петрушке. В частности, в ней обнаружены флавоны – апигенин (апиин), флавонолы – кемпферол [2], флавоноиды и фенилпропаноиды – кумарины [3]. Однако, в послеуборочный период происходит постепенный распад полифенольных соединений. Эффективность же хранения зеленных овощей в значительной степени зависит от стабильности их фенольного комплекса [4, 5]. Наличие полифенолов обуславливает устойчивость овощей к физиологическим и микробиологическим факторам при хранении. Замедлением естественного процесса распада полифенолов под действием ферментов, можно продлить срок хранения растительного сырья. Для уменьшения потери фенолов при хранении используют холодильное хранение в сочетании с другими мерами [4, 5].

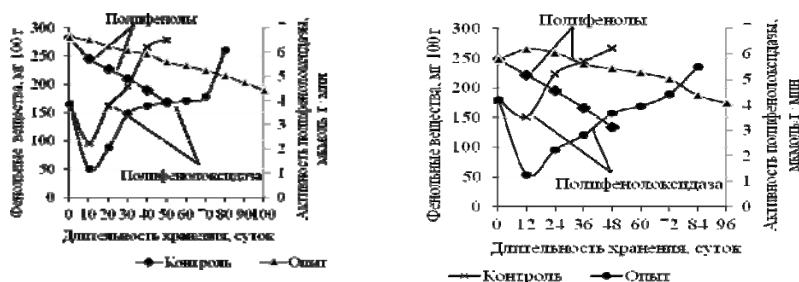
Целью исследований было изучение динамики фенольных соединений зелени петрушки при хранении в питательной среде с антиоксидантами.

Исследования проводились в 2012-2013 гг. На хранение закладывали зелень петрушки осеннего сбора сортов Оскар и Новас, которая соответствует требованиям стандарта.

Зелень петрушки расфасовывали в пучки по 150 г и укладывали стеблями в полиэтиленовые пакеты размером 80 × 30 мм, предварительно наполненными растворами гидрогеля. Для предотвращения потерь питательных веществ петрушки, в раствор гидрогеля вводили композицию из антиоксидантов ионола и хлорофиллипта [6]. Температура хранения $1 \pm 0,5$ °С, относительная влажность воздуха 95 ± 3 %. В качестве контроля принимали зелень петрушки без применения питательной среды, которая хранилась в идентичных условиях.

Определение содержания полифенолов проводили с помощью реактива Фолина-Дениса, активность полифенолоксидазы - методом Х.Н. Починка.

Динамика изменения содержания фенольных веществ для петрушки контрольных вариантов обоих сортов имела одинаковый характер – сумма фенольных соединений стремительно снижалась на протяжении всего периода хранения (рис. 1).



а

б

Рис. 1. Динамика содержания фенольных веществ ($HCP_{05} = 5,78$) и активности полифенолоксидазы ($HCP_{05} = 0,32$) при хранении зелени петрушки (среднее за 2012-2013 гг.): а – Оскар, б – Новас.

На конец хранения контрольных вариантов (48-50 суток), сумма полифенолов составила 54 % (Новас) и 59,3 % (Оскар) от исходного количества. Такой быстрый распад фенольных веществ происходит в результате деятельности полифенолоксидазы. Этот фермент катализирует окисление фенольных соединений в петрушке во время хранения. В начале хранения активность полифенолоксидазы резко снижается во всех образцах, что можно объяснить реакцией на снижение температуры – охлаждение.

Далее активность полифенолоксидазы начинает расти.

Однако активность полифенолоксидазы в опытных вариантах ниже, чем в контрольных образцах в 1,7...2,2 раза. Такое торможение деятельности фермента, который окисляет фенольные субстраты приводит к замедлению разрушения полифенольных соединений. Так, на 48-50 сутки в петрушке, которая хранилась с использованием питательной среды на основе гидрогеля и антиоксидантов, содержание фенольных соединений на 39,7 % (Новас) и 25,1 % выше (Оскар) по сравнению с контролем (см. рис.1).

Между содержанием фенольных веществ и активностью полифенолоксидазы при хранении петрушки обнаружена обратная корреляционная связь с коэффициентом $-0,78...-0,94$, в зависимости от сорта. Наличие связи такой силы между этими показателями подтверждает ключевую роль этого фермента в окислении фенолов.

Таким образом, в результате исследований выявлены закономерности в динамике полифенолов зелени петрушки при хранении. Использование питательной среды с добавлением антиоксидантов позволяет стабилизировать содержание полифенолов и отодвинуть их распад на более поздний срок. Так, на 48-50 сутки содержание фенольных соединений в петрушке, которая сохранялась с использованием питательной среды на основе гидрогеля и антиоксидантов, в зависимости от сорта, на 25,1...39,7 % выше, чем в контроле. Между содержанием фенольных веществ и активностью полифенолоксидазы при хранении петрушки установлена обратная корреляционная зависимость $r = -0,78...-0,94$.

Список литературы.

1. Головкин Т. К., Тихомиров А. А., Ушакова С. А. [и др.] Продуктивность и биологическая ценность зеленных культур применительно к условиям биорегенеративных систем жизнеобеспечения // Известия Коми научного центра УРО РАН. 2011. Вып. № 5. С. 31–36.
2. Писковацкий В. Ю. Перспективы использования петрушки в технологии лекарственных препаратов / В. Ю. Писковацкий, Е. И. Бисага, Л. И. Вишневская // Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин : матеріали І міжнародної науково-практичної internet-конференції (м. Харків, 20-21 березня 2014 р.). – Х. : Вид- во НФаУ, 2014. – С.138.
3. Балеев Д. Н., Бухаров А. Ф. Сравнение аллелопатической активности экстрактов из различных органов петрушки корневой // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. 2011. № 5 (79). С. 54–56.

-
4. Serrano, M, Martinez-Romero, D, Guillén, F, Castillo, S. and Valero, D. (2006), "Maintenance of broccoli quality and functional properties during cold storage as affected by modified atmosphere packaging", *Postharvest Biology and Technology*, vol. 39, no 1, pp. 61–68.
 5. Jamie, P., and Saltveit, M.E. (2002), "Postharvest changes in broccoli and lettuce during storage in Argon, Helium, and Nitrogen atmospheres containing 2 % Oxygen", *Postharvest Biology and Technology*, vol. 26, no. 1, pp. 113–116.
 6. Спосіб підготовки зеленних овочів до зберігання / Калитка В. В., Прісс О. П., Кулик А.С., Жукова В. Ф. // Пат. 85031 України, МПК А 23 В 7/14.– № u201305153; заявл. 22.04.2013; опубл. 11.11.2013, Бюл.№ 21.
-

УДК 581.1

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ ОБРАЗОВАНИЯ ФЛАВОНОИДНЫХ ПИГМЕНТОВ У ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ

Ратькин А.В.

ФГБУН Институт общей генетики им Н.И.Вавилова РАН, Москва, +7499-1354327, ratkin@vigg.ru

Среди фенольных соединений особое место занимают флавоноидные пигменты- антоцианы и флавонолы, которые определяют окраску цветков и вегетативных органов у растений. Они играют важную роль в процессах роста и развития растений, выполняя структурные, защитные, сигнальные и резервные функции [1]. В основе их химической структуры лежат два ароматических ядра (кольца А и В), соединенных C_3 фрагментом $C_6 - C_3 - C_6$ (Рис.1).

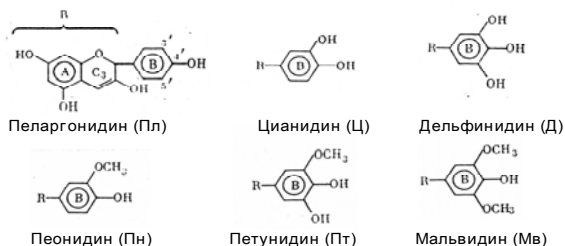
Молекулярно-генетические исследования геномов разных видов растений указывают на то, что в биосинтез флавоноидов могут быть включены 139 генов [2,3], обнаружены ферменты, катализирующие этапы образования этих соединений [4], изучается организация этих ферментов в полиферментные комплексы [5]. Однако, имеющиеся к настоящему времени экспериментальные данные не позволяют однозначно решить вопросы о том, на каких этапах и в какой последовательности осуществляется гидроксилирование кольца В флавоноидов [6]. Для выяснения этих вопросов исследовали генетические, онтогенетические и биохимические аспекты образования флавоноидных пигментов. Основной модельный объект- горошек душистый (*Lathyrus odoratus* L.), семейство – Бобовые.

1. Мутационная изменчивость по составу флавоноидных пигментов.

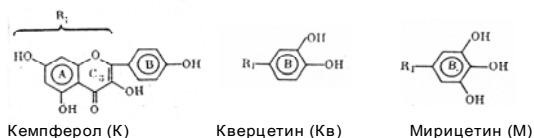
Была изучена спонтанная и индуцированная изменчивость по составу антоцианидинов и флавонолов у 8 видов чин, 178 сортов горошка душистого и других цветочных культур (мак, настурция, гладиолусы, герань, вербена, дельфиниум, календула, лилии, лаватера, незабудка, пионы, примулы, ромашка, розы).

Формулы флавоноидных пигментов.

АНТОЦИАНИДИНЫ (агликоны антоцианов)



ФЛАВОНОЛЫ (агликоны флавонолгликозидов)



Состав пигментов изучали методами хроматографии на бумаге, тонкослойной хроматографии и спектрофотометрии. Выделены 4 группы мутантов: 1-полностью блокирован синтез антоцианидинов, но образуются флавонолы; 2-полностью блокирован синтез флавонолов, но синтезируются антоцианидины; 3-синтезируются и антоцианидины и флавонолы, но в разных количествах (обычно много флавонолов мало антоцианидинов или наоборот); 4-блокирован биосинтез отдельных представителей антоцианидинов и флавонолов по сравнению с составом этих пигментов у исходной формы. Например, у дикой формы горошка душистого в цветках с пурпурной окраской обнаружен антоцианидин дельфинидин с тремя OH группами в кольце В молекулы. а у мутантов синтезируются антоцианидины: цианидин с двумя OH группами в кольце В (красные цветки) и пеларгонидин с одной OH группой в кольце В (оранжевые цветки).

Сравнительный анализ полученных и теоретически ожидаемых мутантов проводили, исходя из трех альтернативных путей биосинтеза пигментов :1) параллельный (независимый), 2)

последовательный (1ОН- > 2 ОН - > 3 ОН группы в кольце В молекулы пигмента), 3) последовательный в направлении уменьшения ОН групп (3ОН - > 2 ОН - > 1 ОН группа в кольце В). Показано, что биосинтез флавоноидных пигментов в цветках горошка душистого осуществляется последовательно в направлении увеличения числа ОН-групп в кольце В (1ОН - > 2ОН - > 3ОН), тогда как у мака наоборот: в направлении уменьшения числа ОН-групп в кольце В (2ОН - > 1ОН).

Таким образом, мутационный анализ позволяет устанавливать направление биосинтеза флавоноидов.

2. Генетический контроль биосинтеза флавоноидных пигментов в цветках горошка душистого.

Для установления числа, последовательности включения и характера взаимодействия генов, контролирующих биосинтез антоцианидинов и флавонолов, из сортовых популяций горошка душистого были выделены 5 групп исходных линий, различающихся по окраске цветков и составу пигментов: 1) в лепестках с белой или кремовой окраской синтезируется лишь один флавонол кемпферол (1 ОН группа в кольце В); 2) в лепестках с белой или кремовой окраской присутствуют два флавонола кемпферол + кверцетин (2 ОН в кольце В); 3) в цветках с оранжевой, алой окраской обнаружены антоцианидин пеларгонидин – Пл (1ОН) и флавонол кемпферол-К (1 ОН);. 4) в цветках с розовой , красной окраской накапливаются антоцианидины: цианидин - Ц (2 ОН) + пеонидин -Пн (1 ОН + 1 OCH_3) и флавонолы: кемпферол К (1ОН) + кверцетин – Кв (2ОН); 5) в цветках с сиреневой , темно-фиолетовой окраской присутствуют антоцианидины: дельфинидин - Д (3 ОН) + петунидин - Пт (2 ОН+1 OCH_3) + мальвидин – Мв (1 ОН + 2 OCH_3) и флавонолы кемпферол К(1 ОН) +кверцетин Кв (2ОН) + мирицетин – М (3 ОН).

В результате гибридизации было получено и изучено более 70 комбинаций скрещиваний. Анализ состава антоцианидинов и флавонолов у гибридов первого поколения показал, что доминируют формы, синтезирующие в цветках более гидроксированные пигменты над менее гидроксированными (по антоцианидинам - ДПтМв > ЦПн > Пл, по флавонолам -ККвМ > ККв > К). Антоцианидины и флавонолы наследуются в виде блоков ДПтМв, ЦПн и ККвМ, ККв соответственно. В случае супрессии синтеза антоцианидинов образование флавонолов не затрагивается, что указывает на независимый генетический контроль двух классов пигментов. Рассматривая полученные данные с точки зрения генетических моделей (независимый путь, последовательный 1ОН > 2ОН > 3ОН и последовательный 3ОН >

2ОН > 1ОН) можно заключить, что у горошка душистого биосинтез обоих классов пигментов происходит в направлении 1ОН > 2ОН > 3ОН. Такой вывод подтверждается при изучении сверхдоминантного эффекта и комплементации у гибридов первого поколения, а также эффекта дозы полимерных генов, кодирующих биосинтез флавонолов.

Изучение наследования пигментов у гибридов второго поколения показало, что образование антоцианидинов контролируется не менее, чем семью генами: гены С и R комплементарны для образования антоцианидина пеларгонидина, ген W супрессор синтеза антоцианидинов, гены Sm и Sm₁ кодируют биосинтез цианидина, а гены Е и Е1 –дельфинидина [7]. Анализ полученных данных позволяет предположить, что один из механизмов доминантного эпистаза (12 Д : 3 Ц : 1 Пл) связан со сложной организацией эпистатичного гена Е (контролирует дельфинидин), который сцеплен с доминантным гипостатичным геном Sm (контролирует цианидин). Такая организация генов приводит к образованию бифункционального фермента флавоноид 3', 5' гидроксилазы, который быстро и полностью превращает промежуточные флавоноиды пеларгонидина и цианидина в конечный продукт биосинтетической цепи - дельфинидин, что может обеспечивать константность отобранного в эволюции признака окраски цветков в природных популяциях. Образование флавонолов детерминировано четырьмя генами — ген К контролирует синтез кемпферола, два полимерных гена Q₁ и Q₂ синтез кверцетина, а ген М биосинтез мирицетина. Анализ механизмов взаимодействия идентифицированных генов (доминирование, промежуточное наследование, сверхдоминирование, комплементация, полимерия, эпистаз, супрессия) показал, что по соотношению фенотипических классов у гибридов второго поколения можно судить о стадиях и последовательности включения генов, контролирующих биосинтез пигментов.

Таким образом, показана возможность использования генетического анализа для выяснения последовательности образования флавоноидных пигментов. Для подтверждения этого вывода нами были изучены некоторые физиолого-биохимические аспекты образования флавоноидных пигментов в растениях.

3. Исследование биосинтеза антоцианидинов и флавонолов.

Один из подходов для изучения биосинтеза флавоноидов заключается в изучении их состава на разных стадиях органогенеза цветка. Нами был изучен качественный и количественный состав

пигментов у семи видов высших растений (горошек душистый, мак, гладиолусы, розы, пионы, настурция, лавatera) на шести стадиях формирования окраски цветков. Результаты генетических исследований указывают на последовательный путь образования антоцианидинов и флавонолов в цветках горошка душистого – $1\text{ОН} > 2\text{ОН} > 3\text{ОН}$. Исходя из этого, можно было ожидать, что при формировании окраски цветков вначале будут синтезироваться менее гидроксированные пигменты с одной ОН группой в кольце В, если же биосинтез пигментов осуществляется от более к менее гидроксированным соединениям $2\text{ОН} > 1\text{ОН}$ (как у растений мака), то в онтогенезе цветка первыми будут обнаруживаться пигменты с большим числом ОН групп в кольце В.

У всех изученных нами видов на первых стадиях формирования окраски обнаружены только флавонолы, при этом у 4 видов вначале синтезируется кемпферол (1ОН), а затем кверцетин (2ОН), у горошка душистого более гидроксированный мирицетин (3ОН) появляется значительно позже, чем кемпферол и кверцетин. Для разных видов мака наоборот, характерно появление на ранних стадиях более гидроксированного флавонола кверцетина, а затем обнаруживается кемпферол (1ОН). Антоцианидины начинают синтезироваться после флавонолов лишь на третьей стадии развития окраски, вначале менее гидроксированные или менее метилированные а затем более сложные по химической структуре.

Нами (совместно с Институтом физиологии растений РАН) с использованием меченых предшественников кольца А и В (ацетат натрия и фенилаланин) был изучен биосинтез пигментов (антоцианидинов и флавонолов) на разных стадиях развития цветка у мутантных форм горошка душистого и мака [8]. Исходя из разной направленности образования флавоноидов у горошка душистого ($1\text{ОН} > 2\text{ОН} > 3\text{ОН}$) и мака ($2\text{ОН} > 1\text{ОН}$) ожидалось, что радиоактивная метка будет накапливаться соответственно в более или менее гидроксированных соединениях. Действительно, обнаружено преимущественное включение метки в конечные антоцианидины и флавонолы: у горошка душистого с большим числом ОН групп в кольце В, а у мака с меньшим числом ОН групп. С нашей точки зрения эти данные указывают на последовательный путь образования пигментов на стадии уже сформировавшихся антоцианидинов и флавонолов (напр. кемпферол- $1\text{ОН} >$ кверцетин- $2\text{ОН} >$ мирицетин- 3ОН) и отражают этапы становления изучаемого признака в индивидуальном развитии.

Таким образом, разработана генетическая модель образования флавоноидных пигментов у высших растений.

Список литературы

1. Запрометов М.Н. Фенольные соединения и их роль в жизни растений// 56-е Тимирязевское чтение.- М.: Наука. 1996. 45 с.
2. Davies K.M., Schwinн K.E. Molecular biology and biotechnology of flavonoid biosynthesis // Flavonoids: chemistry, biochemistry and applications / Eds Andersen Ø.M., Markham K.R. Boca Raton – L.- N.Y.: Taylor & Francis, 2006. P. 143-218.
3. Keiko Yonekura-Sakakibara, Takayuki Tohge, Fumio Matsuda et al. Comprehensive Flavonol Profiling and Transcriptome Coexpression Analysis Leading to Decoding Gene-Metabolite Correlation in Arabidopsis //The Plant Cell, 2008. V.20. P.2160-2176.
4. N.Sasaki, T. Nakayama. Achievements and Perspectives in Biochemistry Concerning anthocyanin Modification for Blue Flower Coloration//Plant and Cell Physiology. 2015. 56(1). P.28-40.
5. MarinaA. Naoumkina, Qiao Zhao, Lina Gallego-Giraldoet al. Genome-wide analysis of phenylpropanoid defence pathways // Molecular plant pathology. 2010. v.11(6).P.829-846.
6. Toshiya Muranaka, Kazuki Saito. Phytochemical Genomics on the Way// Plant Cell Physiol. 2013. 54(5):645-646.
7. Ратькин А.В., Тарасов В.А. Генетический контроль биосинтеза антоцианов в цветках горошка душистого (*Lathyrus odoratus* L.) // Генетика. 2010. Т. 46. № 4. С. 488 – 496.
8. Ратькин А.В., Запрометов М.Н., Андреев В.С., Евдокимова Л.И. Изучение биосинтеза антоцианидинов и флавонолов в цветках душистого горошка (*Lathyrus odoratus* L.) // Журнал общей биологии. 1980. Т. XLI. № 5. С. 685-699.

УДК 633.854.78:581.1:632.9

ВЛИЯНИЕ ЗАРАЖЕНИЯ ЗАРАЗИХОЙ НА РОСТОВЫЕ ПРОЦЕССЫ И СОДЕРЖАНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ У ЛИНИЙ И ГИБРИДОВ ПОДСОЛНЕЧНИКА

Сахно Т.В.

Институт растениеводства им. В. Я. Юрьева НААНУ, Харьков, Украина,
+38-050-915-2001, kaskavella18@mail.ru

Введение. Подсолнечник – одна из важнейших сельскохозяйственных культур, серьезную угрозу урожайности которой представляет зарази́ха (*Orobanche cumana* Wallr). Поэтому актуальной задачей для селекционера остается поиск новых источников устойчивости, а также новых методов оценки селекционного материала подсолнечника к зарази́хе. Одну из главных ролей в устойчивости к патогенам играют фенольные

соединения. Различные исследования указывают на значительное повышение уровня фенольных соединений при инфекции. Например, у подсолнечника, то по данным Saftic-Pancovic D. при инокуляции *Plasmopara halstedii* количество фенольных соединений возрастает (Saftic-Pakovic D., 2006). При этом, у устойчивых гибридов уровень фенольных соединений существенно ниже, чем у восприимчивых. В основном роль фенольных соединений заключается в подавлении роста паразитических клеток, отключение его ферментов. Так, в литературе описаны прямые доказательства ингибирования роста патогенных для томатов грибов за счет изменений в составе фенольных соединений (Wittstock Ute, 2002). Однако в литературе недостаточно информации о ростовой реакции и содержания фенольных соединений при инфекции подсолнечника заразой и влияния их на устойчивость к патогену. Поэтому целью нашей работы стало выяснение влияния заразы на ростовые процессы и содержание фенольных соединений у линий и гибридов подсолнечника.

Объекты и методы исследований. В качестве модельных объектов использованы стерильные материнские и фертильные отцовские линии подсолнечника и их гибриды селекции Института растениеводства им. В. Я. Юрьева НААНУ, занесенные в Государственный реестр сортов растений Украины (список приведен в таблицах).

Растения выращивали в условиях искусственного микроклимата при 22-25 / 18-20 С° (день / ночь) и фотопериоде 16 часов. Контролем служили растения, выращенные на естественном фоне, исследуемые - на искусственном инфекционном, который создавали путем инокуляции растений семенами заразы из расчета 1г на 5 кг почвы (Панченко А.Я., 1974). Морфометрический анализ и подсчет клубеньков на инокулированных растениях подсолнечника проводили через 30 дней после всходов. Для этих анализов использовали по 10 растений каждого варианта в трехкратном повторении. Морфометрические показатели определяли по общепринятой методике (Авксентьева и другие., 2013).

Для определения содержания фенолов листья и корни всех образцов фиксировали в сушильном шкафу при 120 С° в течение 30 мин, завернутыми во влажную салфетку. Фенольные соединения экстрагировали из навески сухого материала (1 г) раствором этилового спирта (98% -ный) и воды (соотношение 1: 1) в течение 30 мин. и определяли содержание фенольных соединений спектрофотометрическим методом (Priecina L. 2013), на ULAB спектрофотометре 101 при длине волны 760 нм.

Содержание фенолов определяли по калибровочной кривой, построенной по стандартным растворам хлорогеновой кислоты. Биохимические анализы выполнены в двух-трехкратной повторности. Результаты исследований обработаны статистически по стандартным методикам с использованием ПК и программы Excel. Существенность разницы между вариантами оценивали по критерию Стьюдента (t) (доспехов, 1976).

Результаты и обсуждение. Анализ результатов изучения морфофизиологических показателей показал, что исследуемые линии и гибриды подсолнечника существенно различались между собой по высоте растений, количеству листьев на растении и площади листьев как в контроле, так и при инокуляции заразихой. При этом большинство морфометрических показателей растений подсолнечника при инокуляции заразихой были ниже, чем у контрольных образцов. Однако по сравнению с линией-стандартом восприимчивости (Сх 908 А) показатели высоты растений всех линий были выше как у контрольных, так и у большинства инокулированных образцов. Растения линии-стандарта устойчивости (PR64A71) были на 50-58% выше растений линии-стандарта восприимчивости Сх 908 А. Высота растений гибридов подсолнечника при инокуляции заразихой почти не изменяется или незначительно уменьшается по сравнению с контрольными растениями. При этом показатели гибридов существенно превышают показатели линии-стандарта восприимчивости к заразихе. Количество листьев на растении и их площадь почти у всех инокулированных растений существенно ниже, чем у контрольных. Это указывает на ингибирование паразитом роста и развития растения-хозяина.

Исследованные линии и гибриды различаются также по количеству образованных клубеньков в результате инокуляции растений заразихой. Наибольшее количество клубеньков образовалось на растениях линии-стандарта восприимчивости Сх 908 А, (6,5 шт. / растение), чего и следовало ожидать. Значительно меньше, но все же значительное количество клубеньков обнаружено на растениях фертильных отцовских линий (1,0-3,2 шт. / растение). По 0,9-2,2 клубеньков образовалось на растениях стерильных материнских линий и, конечно, ни одного клубенька не обнаружено на растениях линии-стандарта устойчивости PR64A71. Уровень пораженности гибридов подсолнечника заразихой был незначительно выше, чем у родительских линий, однако не превышал показатели линии - стандарта восприимчивости и был на 30-60% ниже их (2,4-4,9 шт. / раст.). Полученные данные свидетельствуют о том, что

исследуемые линии существенно различаются между собой по уровню пораженности заразой, что вероятно, связано с генотипическими различиями между ними по этим свойствам.

Таблица 1.
Общее содержание фенолов в листьях и корнях линий подсолнечника при инокуляции заразой в сравнении с линиями стандартами

Линия	Вариант опыта	Содержание фенолов, мг/100г массы сух. вещ.	
		В листьях	В корнях
X 114 В	контроль	567,0*	147,0*
	инокулированная	1148,8*	403,2*
X 526 В	контроль	882,0*	229,1*
	инокулированная	1300,2*	252,0*
X 711 В	контроль	478,8*	214,2*
	инокулированная	819,0*	579,6*
X 720 В	контроль	163,8*	31,5*
	инокулированная	945,0*	850,5*
X 762 В	контроль	667,8	162,8*
	инокулированная	730,8*	277,2*
Сх 1002 А	контроль	730,8*	162,0*
	инокулированная	787,5*	163,8
Сх 1006 А	контроль	655,2	113,4*
	инокулированная	844,2*	239,4*
Сх 1010 А	контроль	1071,0*	420,0*
	инокулированная	1073,9*	340,2*
Сх 1012 А	контроль	982,8*	280,0*
	инокулированная	1211,5*	157,5
Сх 503 А	контроль	655,2	88,2*
	инокулированная	781,2*	333,5*
Сх 2111А	контроль	840,0*	75,0*
	инокулированная	570,0*	177,7
Сх 4021 А	контроль	1096,2*	264,6*
	инокулированная	1348,2*	718,2*
PR64A71 стандарт устойчивости	контроль	945,0*	189,0*
	инокулированная	1234,8*	667,8*
Сх 908 А стандарт восприимчивости	контроль	680,4	403,2
	инокулированная	655,2	138,6

Примечание. Здесь и в таблице 2 * - разница с показателями линии-стандарта восприимчивости существенна при $\leq 0,05$.

Исследование уровня фенольных соединений в листьях и корнях разных генотипов подсолнечника показали, что у контрольных растений эти показатели в целом были ниже, чем у растений линий-стандартов. При инокуляции заразой у всех фертильных отцовских линий уровень фенолов значительно повышался (табл. 1).

Таблица 2.

Общее содержание фенолов в листьях и корнях гибридов подсолнечника при инокуляции заразой по сравнению с линиями стандартами

Гибрид	Вариант опыта	Содержание фенолов, мг/100г массы сухого вещества	
		В листьях	В корнях
Кий	контроль	768,6*	252,0*
	инокулированная	830,5*	1386,0*
Сайт	контроль	592,2*	88,2*
	инокулированная	1239,0*	151,2
Погляд	инокулированная	655,2	37,2*
	инокулированная	844,2*	403,2*
Оскил	контроль	712,2*	151,2*
	инокулированная	821,7*	1260,0*
Борей	контроль	579,6*	189,0*
	инокулированная	1021,0*	825,0*
Свиточ	контроль	693,0	163,8*
	инокулированная	705,6*	264,5*
PR64A71 стандарт устойчивости	контроль	945,0*	189,0*
	инокулированная	1234,8*	667,8*
Сх 908 А стандарт восприимчивости	контроль	680,4	403,2
	инокулированная	655,2	138,6

У стерильных материнских линий количество фенольных соединений при инокуляции незначительно превышало показатели контрольных растений, а в некоторых случаях даже было ниже (Сх 2111 А). При этом показатели линии-стандарта устойчивости при инокуляции повышались на 31% и в 2-3 раза превышали показатели линии Сх 908 А. Показатели содержания фенольных соединений в листьях контрольных растений всех гибридов были ниже показателей линии-стандарта устойчивости, а в некоторых случаях (гибриды Сайт, Борей) - и показателей линии Сх 908 А на 13-15%. Содержание фенолов в корнях контрольных растений всех гибридов был меньше по сравнению со стандартом восприимчивости и только у гибридов Кий и Борей был выше или

на уровне стандарта устойчивости (табл. 2). Показатель содержания фенольных соединений в листьях и корнях инокулированных растений всех гибридов, а также у линии-стандарта устойчивости к заразихе в несколько раз превышал показатели контрольных, тогда как у линии Сх 908 А уровень фенолов при инокуляции незначительно снижался в листьях (на 4%) и почти в 3 раза в корнях.

Вышеизложенные данные дают возможность сделать вывод, что заразиха существенно влияет на ростовые процессы подсолнечника, подавляя их.

При инокуляции заразихой исследуемых линий и гибридов подсолнечника, в том числе линии-стандарта устойчивости, общее содержание фенольных соединений в листьях в целом почти не меняется по сравнению с контрольными растениями или незначительно увеличивается, в то время как в корнях содержание фенолов при инокуляции повышается в несколько раз. При этом, у линии-стандарта восприимчивости уровень фенольных соединений снижался как в корнях, так и в листьях. Это указывает на важную роль фенолов в формировании устойчивости подсолнечника к заразихе.

Список литературы:

1. Satic-Pakovic D., Veljovic-Jovanovic S. et al. - Phenolic compounds and peroxidases in sunflower near-isogenic lines after downymildew infection // *Helia*, 29, issue 45, 2006, p.p. 33-42.
 2. Wittstock Ute, Gershenzon Jonathan – Constitutive plant toxins and their role in defense against herbivores and pathogens // *Current Opinion in Plant Biology*, Vol. 5, Issue 4, 2002, p.p. 300–307.
 3. Панченко А.Я., Антонова Т.С. - Особенности защитной реакции устойчивых форм подсолнечника на внедрение заразихи // *Сельскохозяйственная биология*, том 9, №4, 1974. - С.554-557.
 4. Авксентьева О.О. Фізіологія та біохімія рослин – малий практикум : навчально-методичний посібник / О.О. Авксентьева, В.В. Жмурко. А.С. Щоголев, Ю.Ю. Юхно. – Х. : ХНУ імені В. Н. Каразіна, 2013. – 152 с.
 5. Pricina Liga, Karlina Daina – Total polyphenol, flavonoid content and antiradical activity of dried parsley (*Petroselinum crispum*), celery (*Apium graveolens*) and dill (*Anethum graveolens* L.) // *Journal of international scientific publications: Agriculture and Food*, Vol. 1, part 1, 2013, p.p. 279-286.
 6. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований) / Б.А. Доспехов. – М.: Колос, 1979. – 416 с.
-

ПРОГНОЗИРОВАНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ФЕНОЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ В ПЛОДАХ ЯБЛОНИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ПОГОДНЫХ ФАКТОРОВ

Сердюк М.Е.

Таврический государственный агротехнологический университет,
Мелитополь, Украина, +38(067)1633371, igorserduk@mail.ru

В современных условиях на первый план выходит задача обеспечения населения не только стандартными и вкусными плодами, но и полезными, с высоким содержанием ценных компонентов, которые обуславливают их пищевую и физиологическую ценность [1].

Среди плодовой продукции яблоки пользуются наибольшим спросом у населения и потребляются в свежем виде практически круглый год. Их питательные достоинства обусловлены сравнительно высоким содержанием биологически-активных веществ. В работе Karl Herrmann [2] было отмечено, что в яблоках найдено большое количество фенольных соединений, и они обладают более сильным антиокислительным действием по сравнению с другими плодами и овощами, такими как апельсины, грейпфруты, морковь, шпинат, лук и зеленый перец.

Однако, общеизвестно, что при хранении и консервировании плодов значительная часть биологически активных веществ, в том числе и фенольных, разрушается [3]. Поэтому проблема прогнозирования содержания фенольных соединений в плодах яблони в зависимости от погодных факторов является актуальной для перерабатывающей промышленности.

Целью наших исследований было научное обоснование влияния погодных факторов на процесс накопления фенольных веществ в яблоках и создание математической модели прогнозирования их содержания.

Исследования проводились в 2003-2012 годах в Мелитопольском районе Запорожской области. С целью изучения влияния погодных факторов на содержание фенолов в плодах яблони использованы ежедневные метеорологические данные за период с 2003 по 2012 гг. собранные на Мелитопольской метеостанции. Для исследования были выбраны плоды яблони четырех сортов, внесенных в Государственный реестр сортов растений пригодных для распространения в Украине: Айдаред, Голден Делишес, Ренет Симиренко, Флорина. Плоды собирали с деревьев, типичных для сорта и одного возраста. Агрофон на

опытном участке удовлетворял требованиям агротехники. Содержание фенольных веществ определяли по стандартным методикам [4]. Статистическую обработку результатов выполняли с помощью компьютерной программы Microsoft Office Excel 2003 и пакета «Statistica 6».

Таблица 1.

Динамика фенольных веществ при созревании плодов яблони (среднее 2011 – 2012 гг.)

Сорт	Содержание фенольных веществ по этапам исследований, мг/100г			
	60 суток до уборки	30 суток до уборки	10 суток до уборки	уборка плодов
Айдаред	272,36±27,65	247,49±22,13	238,94±20,09	236,12±21,55
Голден Делишес	222,54±2,67	244,72±24,36	205,07±48,72	200,07±47,56
Ренет Симиренко	257,77±32,77	244,01±3,16	233,18±12,34	220,06±13,80
Флорина	282,22±6,48	251,38±2,32	228,43±17,43	224,97±17,98
НСР ₀₅	1,17			

Таблица 2.

Содержание фенольных веществ в плодах яблони съемной степени зрелости (2003-2012 гг.)

Сорт	Среднее значение, мг/100г	min max	Коэффициент вариации, V, %
Айдаред	225,42±38,02	166,50 270,79	16,9
Голден Делишес	207,03±38,99	156,66 264,50	18,8
Ренет Симиренко	173,44±49,01	111,30 238,60	28,3
Флорина	163,75±63,44	63,09 241,28	38,74
Среднее по сортам	192,41±52,96	63,09 270,79	27,5
НП ₀₅	2,04		

В процессе роста и созревания плодов фенольные соединения претерпевают существенные изменения. Максимальное количество фенолов содержат незрелые и не полностью сформированные плоды (табл. 1). Для плодов яблони сорта Голден Делишес это наблюдается на 30 сутки, а для плодов других исследованных сортов на 60 сутки до уборки. При

достижении яблоками съемочной степени зрелости количество фенольных веществ в них снижается.

Результаты десятилетних исследований позволяют утверждать, что среднее содержание фенольных веществ в яблоках съемочной степени зрелости, которые выращены в условиях Южной степной зоны Украины находится на уровне 192,41 мг/100 г (табл. 2). Среди исследованных сортов, самый высокий уровень фенолов зафиксирован в яблоках сорта Айдаред, а минимальный - сорта Флорина.

Таблица 3.
Результаты корреляционного анализа влияния погодных факторов на содержание фенолов в плодах яблони (2003 - 2012 гг.)

Обозн.	Погодный фактор	Коэффициент корреляции
X ₁	Сумма эффективных температур (СЭТ) выше 10°C	0,89±0,16
X ₂	Гидротермический коэффициент (ГТК) за вегетационный период	- 0,77±0,23
X ₃	Среднегодовая относительная влажность воздуха (ОВВ)	- 0,81±0,21
X ₄	Количество осадков за вегетационный период	- 0,72±0,24
X ₅	Средняя температура последнего месяца формирования плодов	0,75±0,24
X ₆	Сумма активных температур последнего месяца формирования плодов	0,77±0,23
X ₇	Абсолютная максимальная температура последнего месяца формирования плодов	0,75±0,24
X ₈	Абсолютная минимальная относительная влажность воздуха последнего месяца формирования плодов	-0,67±0,27

Существенное влияние на величину анализируемого показателя имели погодные условия вегетационного периода, о чем свидетельствуют коэффициенты вариации. Наибольшее влияние абиотических факторов на содержание фенольных веществ было зафиксировано для плодов сорта Флорина. Коэффициент вариации (V) почти 39%. Наиболее устойчивым к воздействию погодных условий года, оказался сорт Айдаред, коэффициент вариации у которого сравнительно низкий (16,9%). Следует отметить, что при коэффициентах вариации 12 ... 18% изменчивость вариационного ряда принято считать средней, в то время, как для отраслей хранения и переработки плодовой продукции особенно ценными считаются сорта с низкой

изменчивостью анализируемого показателя по годам ($V \approx 12\%$).

Дисперсионной анализом подтверждено, что на накопление фенольных веществ в яблоках практически одинаковое влияние имеют погодные факторы (фактор А) и взаимодействие факторов А и В (сорт). Доля влияния погодных факторов (А) составляет 37,3%, фактора сорта (В) - 22,7%, а взаимодействия факторов А и В - 39,9%.

Для выявления погодных факторов, которые оказывают наибольшее влияние на содержание фенольных соединений в плодах яблони был проведен корреляционный анализ. Погодные факторы, с которыми установлена сильная корреляционная связь, приведены в таблице 3.

Установленные коэффициенты корреляции свидетельствуют о том, что рост температурных показателей сопровождается повышением содержания фенольных соединений в плодах яблони съёмочной степени зрелости, а при увеличении показателей увлажнённости (суммы осадков, ГТК, ОВВ), содержание фенолов уменьшается. Таким образом, температурный стресс вызывает компенсаторное повышение содержания фенолов в плодах вследствие формирования адаптивного ответа культуры.

На основании результатов множественного корреляционного и регрессионного анализов получено следующее уравнение зависимости уровня фенольных соединений в плодах яблони от погодных факторов (с вероятностью 95%):

$$Y = 1161,252 + 0,213X_1 + 474,973X_2 - 18,450X_3 - 1,057X_4 - 16,162X_5 + \\ + 0,662X_6 - 6,317X_7 + 1,034 X_8$$

где Y - содержание фенольных веществ в плодах яблони, мг / 100г;
 $X_1, X_2 \dots X_8$ - погодные факторы, приведенные в табл. 3.

При этом, коэффициент множественной корреляции (R) равен 0,99, коэффициент детерминации (R^2) - 0,99, скорректированный коэффициент детерминации - 0,91, критерий F(8,1) - 12,277, уровень значимости - 0,217, при стандартной ошибке оценки - 10,146.

Оценка вышеприведенного уравнения показала, что в целом оно является статистически значимым, но отдельные коэффициенты уравнения являются незначительными (табл. 3). При проведении обоснованного отбора факторов для включения в уравнение, нами были выявлены и исключены из уравнения те факторы, которые в незначительной степени влияют на результат, а также коллинеарные. Итоговое уравнение приняло вид:

$$Y = 0,099X_1 + 0,241X_6 - 136,236$$

где Y - содержание фенольных веществ в плодах яблони, мг / 100г;
 X_1 , X_6 - погодные факторы, приведенные в табл. 3.

При этом, коэффициент множественной корреляции (R) равен 0,95, коэффициент детерминации (R^2) - 0,90, скорректированный коэффициент детерминации - 0,87, критерий $F(2,7)$ - 32,329 уровень значимости - 0,00029, при стандартной ошибке оценки - 11,938.

Частный коэффициент эластичности фактора X_1 (среднегодовая СЭТ выше 10 °С) равна 0,93, а X_6 (САТ последнего месяца формирования плодов) - 0,77, что свидетельствует о наиболее весомом влиянии среднегодовой суммы эффективных температур выше 10 °С на процесс накопления фенольных веществ в плодах яблони в условиях Южной степной зоны Украины.

Таким образом, в результате проведенных исследований установлено, что основными погодными факторами, которые оказывают наиболее существенное влияние на процесс накопления фенольных соединений в плодах яблони в условиях Южной степной зоны Украины являются сумма активных температур последнего месяца формирования плодов и среднегодовая сумма эффективных температур выше 10°С, с доминирующим влиянием последнего фактора.

Список литературы

1. Причко, Т. Г. Характеристика стресс-факторов и их влияние на товарное качество плодов [Электронный ресурс] / Т. Г. Причко // Плодоводство и виноградарство Юга России. Тематический сетевой электронный научный журнал СКЗНИИС и В. – 2011. – №12(6). – 12 С. – Режим доступа: [www/URL: http://journal.kubansad.ru/pdf/11/06/06.pdf](http://journal.kubansad.ru/pdf/11/06/06.pdf).
 2. Herrmann, K. Gesundheitliche Bedeutung von antioxidativen Flavonoiden und Hydroxyzimtsäuren im Obst und in Fruchtsäften [Text] / K. Herrmann // Flüssiges Obst. – 1999. – № 10. – P. 566-570.
 3. Bononi, M. Stabilization of cranberry anthocyanins in nutraceutical capsules [Text] / M. Bononi, F. Tateo // Int J Food Sci Nutr. – 2007. – Vol. 58, № 2. – P. 142–149. doi:10.1080/09637480601154061.
 4. Починок Х. Н. Методы биохимического анализа растений [Текст] / Х.Н. Починок. – К.: Наукова думка, 1976. – 334 с.
-

ДИНАМИКА АКТИВНОСТИ ФЕНИЛАЛАНИНАММИАК- ЛИАЗЫ В РАСТЕНИЯХ ГРЕЧИХИ ОБЫКНОВЕННОЙ (*FAGOPYRUM ESCULENTUM* MOENCH.) В УСЛОВИЯХ ХРОНИЧЕСКОГО АЛЮМОКИСЛОГО СТРЕССА

Смирнов А.Е., Косян А.М., Косык О.И., Таран Н.Ю.

Образовательно-научный центр «Институт биологии» Киевского
национального университета имени Шевченко, Киев, Украина, тел. (044)
521-35-81, e-mail: plantaphys@gmail.com

Для растений, произрастающих на кислых почвах с высоким содержанием неорганических элементов преобладающим фактором, который влияет на рост и развитие является минеральная кислотность [1]. Минеральная кислотность почвы может быть обусловлена выщелачиванием основных почвенных катионов – Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^+ , Na^+ , что приводит к снижению буферной емкости и уровня pH почвы. Снижение уровня pH, в свою очередь, приводит к переходу ионов алюминия (Al), который занимает первое место среди элементов группы металлов (8%) от массы земной коры, в почвенный раствор. Также показано, что на кислых почвах главная причина снижения урожайности растений связана с содержанием Al, а не величиной pH поскольку ионы Al^{3+} в пять раз токсичнее ионов H^+ [2].

Поэтому большинство исследователей считают избыток подвижного Al – доминирующим среди лимитирующих факторов нормального роста и развития растений на кислых почвах. Феномен действия повышенной концентрации ионов Al в системе почва-растение связывают с понятием фитотоксичности данного металла, из-за которой потери урожая сельскохозяйственных культур на кислых почвах могут составлять более 50% [3]. Мишенями фитотоксического воздействия ионов Al являются основные структуры и гомеостатические процессы растительной клетки: клеточная стенка, состав и физико-химические свойства плазматической мембраны, поглощение ионов Ca^{2+} , поддержание кальциевого баланса, сигнальные системы, динамические изменения цитоскелета, митоз и структура ДНК [4].

В ходе эволюционного развития растения выработали ряд физиологических и биохимических механизмов, которые стали основой адаптации к условиям алюмокислого стресса и алюморезистентности [5]. Некоторые растения не только не проявляют признаков интоксикации Al, а аккумулируют металл в вегетативной массе. Вид гречиха обыкновенная (*Fagopyrum*

esculentum Moench.) обладает высокой степенью алюминорезистентности и способна накапливать до 15 г Al на кг сырой вегетативной массы [6].

В основе алюминорезистентности гречихи лежат механизмы внешней и внутренней детоксикации алюминия. Внешние механизмы – выделение хелатирующих, комплексообразующих соединений в околокорневой почвенный раствор и накопление Al в клеточной стенке. Внутренние – депонирование нетоксичных алюмокомплексов в вакуоли [7].

Фенольные соединения могут выступать как в качестве комплексообразователей и участвовать в механизмах детоксикации Al, так и в окислительно-восстановительных циклах для поддержания внутриклеточного редокс-баланса [8]. Помимо этого, существуют данные про индуцированное ионами Al увеличение активности ключевого фермента биосинтеза фенольных соединений – фенилаланинаммиак-лиазы (PAL, EC 4.3.1.24) [9]. Поэтому динамика активности PAL в условиях алюмокислого стресса стала объектом данного исследования.

Материалы и методы исследования. Материалом для исследования стали растения гречихи обыкновенной (*Fagopyrum esculentum* Moench.). Растения выращивали в факторостатных условиях: температура 25°C, фотопериод – 16 часов, плотность квантов светового потока – около 200 мкмоль · м⁻² · с⁻¹. Подкормку растений осуществляли 50% раствором Кнопа (pH 6,5). Алюмокислый стресс моделировали, добавляя к 50% раствору Кнопа алюминий (Al₂(SO₄)₃ · 18H₂O) в концентрации 50 мкМ на 7 сутки роста растений, при этом снижали pH раствора до 4,5. Раствор обновляли каждый день для поддержания кислотности среды [11].

Активность фенилаланинаммиак-лиазы {PAL} определяли в корнях и листьях гречихи обыкновенной по методу Цукера [10] на 1, 2, 4, 6, 8, 10 сутки роста растений в условиях алюмокислого стресса. Протеин определяли по методу Бредфорд [11]. Статистическую обработку полученных данных проводили путем дисперсионного однофакторного анализа с использованием *t*-критерия Стьюдента при $p \leq 0,05$ с помощью программы «Microsoft Excel 2010».

Результаты и их обсуждение. В ходе эксперимента установлено, что активность PAL в корнях была выше контрольного уровня с 1 по 6 сутки экспозиции в присутствии алюминия в питательной среде, активность PAL в листьях исследуемых растений статистически значимо превышала контрольный уровень

с 6 по 10 сутки экспозиции (Рис. 1).

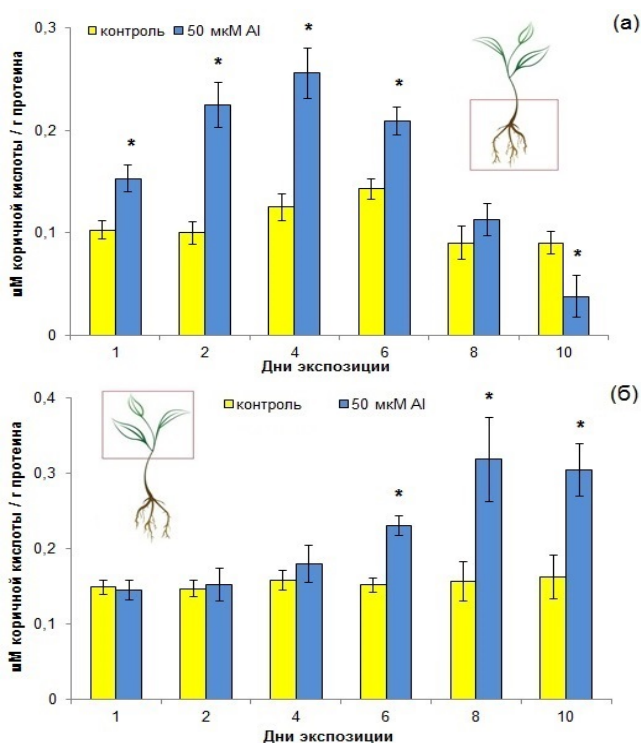


Рис. 1. Активность фенилаланинаммиак-лиазы в корнях (а) и листьях (б) растений гречихи обыкновенной (*Fagopyrum esculentum* Moench.) в условиях алюмокислого стресса:

* – статистически значимая разница при $p \leq 0,05$

В первые дни экспозиции растений в условиях алюмокислого стресса наблюдалась тенденция повышения активности PAL в корнях. Пик активности PAL в тканях корня был зафиксирован на 4 сутки экспозиции – активность исследуемого энзима была в 2 раза выше контрольного уровня. В дальнейшем было отмечено снижение активности – на 10 день экспозиции активность PAL снижалась на 58% относительно контроля.

В тканях листьев растений, развивавшихся в присутствии алюминия, на протяжении всей экспозиции наблюдалась обратная тенденция. Активность PAL оставалась на уровне контроля на начальных этапах действия стрессора (первые 4 суток). На 6 сутки экспозиции активность PAL возрастала на 52% относительно

контроля, на 8 и 10 сутки были зафиксированы максимальные уровни активности энзима – активность повышалась в 2-2,5 раза.

Корневая система растений первой контактирует с ионами алюминия в околокорневом почвенном растворе. Фитотоксическое действие ионов алюминия проявляется в первые минуты экспозиции – ингибируется рост корня растяжением, рост корня делением прекращается в течение первых суток действия металла [12]. Одним из механизмов, обеспечивающих алюмореистентность, является вторичное изменение клеточных стенок клеток корня. Ряд авторов фиксировали усиленную лигнификацию клеточных стенок уже после первых часов экспозиции [13]. Исследования на растениях *Oryza sativa* подтверждают сильную корреляционную связь между ингибированием роста корневой системы, активностью PAL и повышением содержания феруловой кислоты – предшественника лигнина [14].

Зафиксированное нами постепенное снижение активности PAL в тканях корня может быть связано с запуском механизма ретроградного ингибирования энзима продуктами реакции [15]. Последующее постепенное повышение активности PAL в листьях может быть связано с процессом поступления металла в надземную часть исследуемых растений. Листья являются органами-депо, в которых аккумулируется алюминий в вакуолярном пространстве [7]. Временная зависимость активности PAL связана со временем контакта растительной клетки с ионами металла. Повышение активности энзима, отвечающего за синтез низкомолекулярных антиоксидантов в подземной и надземной частях растений может быть специфической адаптивной реакцией в условиях алюмокислого стресса.

Список литературы

1. Zheng S.J. Crop production on acidic soils: overcoming aluminium toxicity and phosphorus deficiency // *Annals of Botany*. – 2010. – 106(1). – P. 183–184.
2. Зонн С.В., Травлев А.П. Алюминий. Роль в почвообразовании и влияние на растения. ДГУ, 1992 – 224 с.
3. Hede A.R., Skovmand B., Lopez-Cesati J. Acid soils and aluminum toxicity, Application of physiology in wheat breeding Mexico. D.F.: CIMMYT, 2001. – 172–182 p.
4. Vardar F., Umul M. Aluminum toxicity and resistance in higher plants // *Advances in Molecular Biology*. – 2007. – 1. – P. 1–12.
5. Ma J., Zheng S., Matsumoto H., Hiradate S. Detoxifying aluminum with buckwheat. // *Nature*. – 1997. – 390. – P. 569–570.
6. Zheng S.J., Ma J.F., Matsumoto H. High aluminium resistance in

-
- buckwheat. Al-induced specific secretion of oxalic acid from root tips. // Plant Physiology. – 1998. – 117(3). – P. 745–751.
7. Ma J., Hiradate S. Form of aluminium for uptake and translocation in buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench.). // Planta. – 2000. – 211. – P. 355-360.
 8. Ferdinando M., Brunetti C., Fini A., Tattini M. Flavonoids as antioxidants in plants under abiotic stresses. In: Ahmad P, Prasad MNV (eds) Abiotic Stress Responses in Plants: metabolism, productivity and sustainability. Springer Science+Business Media, LLC, New York, 2012. – 159-179 p.
 9. Wakabayashi K, Soga K, Hoson T. Phenylalanine ammonia-lyase and cell wall peroxidase are cooperatively involved in the extensive formation of ferulate network in cell walls of developing rice shoots // J. Plant Physiol. – 2012. – 169. – P. 262-267.
 10. Zucker M. Induction of Phenylalanine Deaminase by Light and its Relation to Chlorogenic Acid Synthesis in Potato Tuber Tissue // Plant Physiology. – 1965. – 40(5). P. 779–784.
 11. Bradford M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding // Anal Biochem. – 1976. – 72. – P. 248-254/
 12. Кошкин Е.И. Физиология устойчивости сельскохозяйственных культур. – М.: «Дрофа», 2010. – 610 с.
 13. Sasaki M., Yamamoto Y., Matsumoto H. Lignin deposition induced by aluminum in wheat (*Triticum aestivum*) roots // Plant Physiol. – 1996. – 96. – P.193–198.
 14. Scheller H., Ulskov P. Hemicelluloses // Annu. Rev. Plant Biol. – 2010. – 61. – P. 263-289.
 15. Yin R., Messner B., Faus-Kessler T., Hoffmann T., Schwab W., Hajirezaei M.R., von Saint Paul V., Heller W., Schäffner A.R. Feedback inhibition of the general phenylpropanoid and flavonol biosynthetic pathways upon a compromised flavonol-3-O-glycosylation // J Exp Bot. – 2012. – 63 (7) P. 2465-78.
-

УДК 581.1

ВЛИЯНИЕ САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ НА УСТОЙЧИВОСТЬ ПРОРОСТКОВ ОГУРЦА К НИЗКИМ ТЕМПЕРАТУРАМ

Таланова В.В., Репкина Н.С., Фенько А.А.

ФГБУН Институт биологии Карельского научного центра РАН,
Петрозаводск, Россия, +7(8142)762712, e-mail: angelina911@ya.ru

Салициловая кислота (СК) относится к фенольным соединениям, участвующим в механизмах адаптации растений к действию различных стресс-факторов [1, 2]. Хорошо известна защитная роль СК при действии на растения биотических факторов, однако ее участие в процессах повышения устойчивости

к действию абиотических факторов менее изучено. В связи с этим целью нашей работы явилось исследование влияния СК на устойчивость растений огурца к действию низких температур.

Опыты проводили на проростках огурца (*Cucumis sativus* L.) гибрида Зозуля, которые выращивали в климатической камере при постоянных условиях: температуре воздуха 22°C, его относительной влажности 60–70%, освещенности около 10 клк, фотопериоде 14 ч. По достижении недельного возраста проростки помещали на 24 ч на раствор СК в концентрации 50 или 100 мкМ, после чего подвергали действию низкой субповреждающей (12°C) или повреждающей (4°C) температуры в течение 72 и 24 ч, соответственно. В качестве контроля служили необработанные СК растения. О реакции проростков огурца на действие низких температур судили по изменению проницаемости мембран клеток листа [3]. Уровень перекисного окисления липидов (ПОЛ) в листьях определяли по содержанию малонового диальдегида (МДА) [4]. Содержание свободного пролина в листьях анализировали по методу Бейтса [5].

Таблица.

Влияние СК на выход электролитов (% от полного выхода) из клеток семядольных листьев проростков огурца при температуре 4°C

Температура, °C	Концентрация СК, мкМ		
	0	50	100
22	18,00±1,48	12,75±0,11	14,00±0,32
4	55,67±2,85	14,67±0,71	16,17±0,09

В предварительном опыте было изучено влияние СК в диапазоне концентраций от 25 до 500 мкМ на проницаемость мембран клеток листьев огурца, о которой судили по выходу электролитов. Установлено, что обработка проростков огурца СК в течение 1 сут не вызывала увеличения выхода электролитов, а следовательно, ее действие не было токсичным. В условиях действия температуры 12°C (3 сут) СК в концентрациях 25 и 50 мкМ не изменяла выхода электролитов по сравнению с контролем, в концентрации 100 мкМ вызывала его снижение, а при повышении концентрации до 400–500 мкМ – его усиление. Следовательно, действие экзогенной СК на проростки огурца зависит от ее концентрации: низкие концентрации могут снижать повреждение, вызванное действием холода, тогда как высокие концентрации, наоборот, могут привести к еще более сильным повреждениям. Учитывая это, в дальнейших экспериментах были использованы концентрации СК 50 и 100 мкМ.

Установлено, что температура 4°C через 1 сут вызывает у

контрольных проростков огурца значительное повышение выхода электролитов, т.е. оказывают на них довольно сильное повреждающее действие (табл.). В присутствии СК негативное действие охлаждения было существенно меньшим: предобработка проростков СК как в концентрации 50 мкМ, так и 100 мкМ приводила к заметному снижению выхода электролитов по сравнению с контролем (табл.), что свидетельствуют о защитном действии СК в указанных концентрациях на проростки огурца при низких температурах.

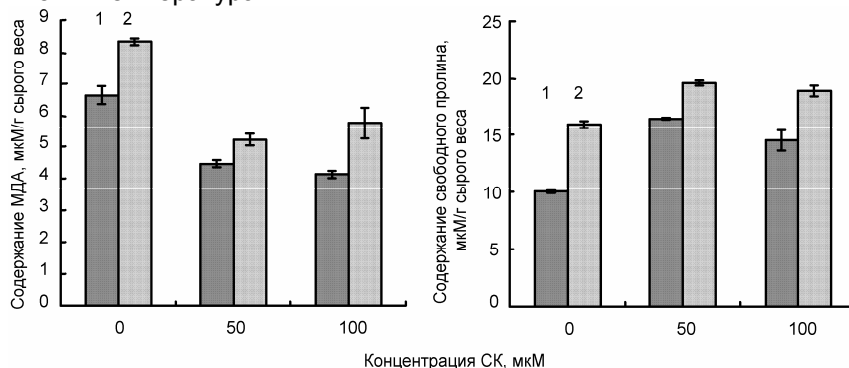


Рис.1.. Влияние СК на содержание МДА и свободного пролина в листьях проростков огурца при действии температуры 22°C (1) и 4°C (2)

Наряду с этим, воздействие низкой повреждающей температуры (4°C) через 1 сут вызывало накопление в листьях проростков огурца МДА – конечного продукта ПОЛ (рис.). Очевидно, в этом случае происходило усиление генерации активных форм кислорода (АФК), вызывающих активацию ПОЛ. Предобработка проростков СК (50 и 100 мкМ) приводила к снижению уровня МДА по сравнению с контролем как при температуре 22°C, так и при 4°C (рис.). Сходные данные получены и при действии на проростки температуры 12°C. Судя по результатам исследования, предобработка проростков огурца СК способствовала уменьшению уровня генерации АФК и ПОЛ, что, в конечном счете, проявилось в снижении повреждения мембран и негативного действия повреждающей температуры.

Важно также отметить, что предобработка проростков огурца СК в концентрациях 50 и 100 мкМ способствовала накоплению в семядольных листьях как при нормальной температуре (22°C), так и в условиях холодового повреждения (4°C) свободного пролина – низкомолекулярного соединения,

обладающего антиоксидантным действием (рис.).

Таким образом, совокупность полученных данных позволяет заключить, что предобработка СК оказывает на проростки огурца при низких субповреждающих и повреждающих температурах протекторное действие, которое обусловлено ее способностью препятствовать развитию ПОЛ и нарушению проницаемости мембран клеток.

Список литературы.

1. Молодченкова О.О. Предполагаемые функции салициловой кислоты в растениях // Физиология и биохимия культурных растений. 2001. Т 3. № 6. С. 463–473.
2. Pal M., Szalai G., Kovacs V., Gondor O. K., Janda T. Salicylic acid-mediated abiotic stress tolerance // Springer. 2013. P.119–140.
3. Гришенкова Н. Н., Лукаткин А. С. Определение устойчивости растительных тканей к абиотическим стрессам с использованием кондуктометрического метода // Поволжский экологический журнал. 2005. № 1. С. 3–11.
4. Маевская С.Н., Николаева М.К. Реакция антиоксидантной и осмопротекторной систем проростков пшеницы на засуху и регидратацию // Физиология растений. 2013. Т. 60. № 3. С. 351–359.
5. Bates L.S., Waldren R.P., Teare I.D. Rapid determination of free proline for water-stress studies // Plant and Soil. 1973. V. 39. N 1. P. 205–207.

ВЛИЯНИЕ ТИРОЗИНА НА НАКОПЛЕНИЕ ПОЛИФЕНОЛОВ В ЛИСТЬЯХ ЩАВЕЛЯ КУРЧАВОГО (*RUMEX CRISPUS* L.)

Таценко Н.А., Миронова А.И., Федуреав П.В., Чупахина Г.Н.

Балтийский Федеральный университет им. И. Канта, Калининград, Россия,
911-861-1187, tatsenko.n@mail.ru

В последнее время становятся актуальными исследования, посвященные поиску растений с высоким содержанием физиологически активных веществ, в том числе биофлавоноидов [1]. Согласно литературным данным [2], растения рода *Rumex* L (Щавель) семейства Polygonaceae Juss. (Гречишные) отличаются более высоким содержанием фенольных соединений по сравнению с дикорастущими растениями луговых фитоценозов средней полосы России [3]. Изучение накопления флавоноидов имеет как теоретическое так и практическое значение: с теоретической точки зрения это важно для выяснения биохимической роли флавоноидов в жизни растений [4]; с практической – поиск путей увеличения продуктивности растений, и в частности накопления

биологически активных веществ, в том числе и биофлавоноидов [1].

Синтез фенольных соединений, происходит в клетках листьев растений, а именно в пластидах. Тирозин транспортируется через мембраны без особых затруднений благодаря наличию ароматического фрагмента в структуре аминокислоты [5]. Обычно полифенолы синтезируются по шикиматному пути, одними из промежуточных веществ данного цикла являются аминокислоты ароматической природы (фенилаланин и тирозин) [3]. Исходя из выше сказанного, целью данной работы явилось изучение роли тирозина в качестве субстрата при биосинтезе фенольных соединений в листьях щавеля курчавого (лат. *Rumex crispus*).

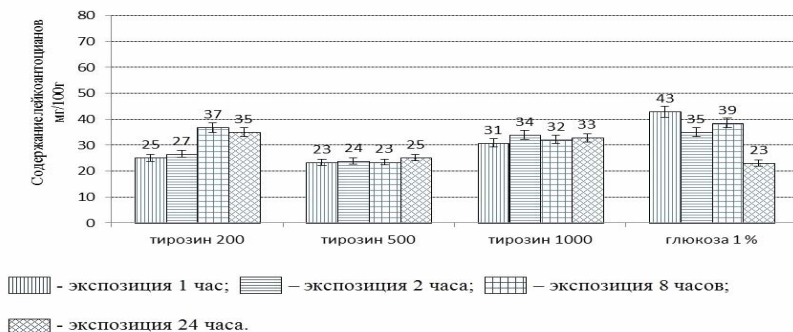


Рис.1. Содержание лейкоантоцианов в листьях щавеля курчавого, выдержанных на 200, 500, 1000 мкМ растворах тирозина 1, 2, 8 и 24 часа.

Объекты и методы. Растения были выращены в лабораторных условиях, в климатической камере Binder KBWF 720 с использованием световой кассеты с подключенными тремя лампами FLUORA – для стимулирования роста, заменяющих люминесцентные лампы дневного света (10. 500 люкс). Растения выращивались со стандартным фотопериодом: 16 часов световой экспозиции и 8 часов без света, температурный режим варьировал в зависимости от условий освещенности 25 С и 22 С соответственно.

В растениях определялось количественное содержание лейкоантоцианов, катехинов [6] и суммарное содержание полифенолов [7, 8]. Анализировались листья, которые были помещены в раствор с разными концентрациями тирозина (200, 500, 1000 мкМ), с 1,2,8 и 24 часовой экспозициями. В качестве контроля использовался растров 1% глюкозы, опыты проводились

в 3 биологических повторностях.

Результаты. В работе было показано влияние различных концентраций тирозина на накопление полифенолов. На рисунках представлены средние арифметические значения и среднеквадратические отклонения.

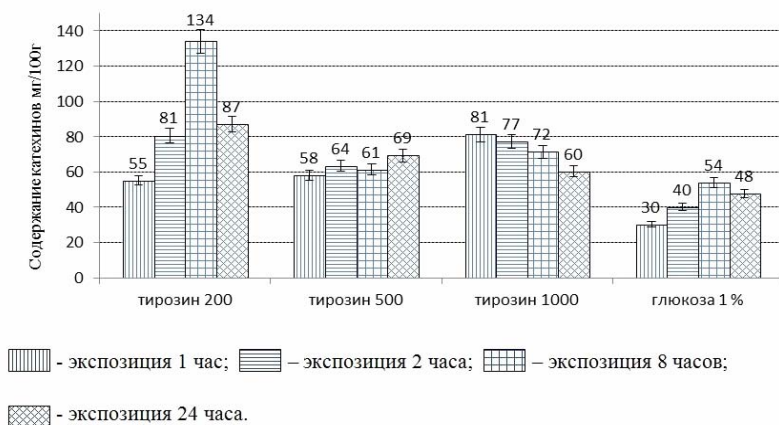


Рис.2. Содержание катехинов в листьях щавеля курчавого, выдержанных на 200, 500, 1000 мкМ растворах тирозина 1, 2, 8 и 24 часа.

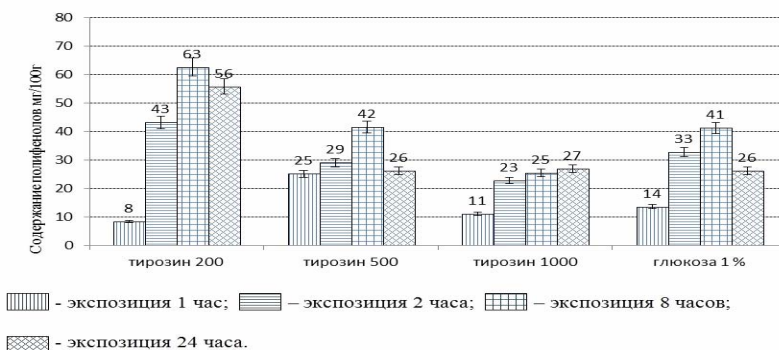


Рис.3. Содержание полифенолов в листьях щавеля курчавого, выдержанных на 200, 500, 1000 мкМ растворах тирозина 1, 2, 8 и 24 часа.

Показано, увеличение продуктов синтеза при действии экзогенного тирозина, вплоть до 8 часовой экспозиции. Однако после 24 часовой экспозиции наблюдается снижение уровня исследуемых веществ. Раствор тирозина с концентрацией 200 мкМ оказывал значительное стимулирующее воздействие на

накоплении флаван-3,олов и суммы фенольных соединений.

Закключение. Исследование распределения фенольных соединений в различных частях растений свидетельствует о том, что накопление фенольных соединений в них является сложным динамическим процессом, зависящим от многих факторов [4]. Фенольные соединения образуются в листьях и уже после этого передвигаются в другие органы и ткани растения [3]. Исследования показали, что одним из основных факторов образования фенольных соединений в растениях, является наличие достаточного количества субстратов. В нашем случае это глюкоза и тирозин. В ходе эксперимента установили, что 1% глюкоза при 1-8 часовой экспозиции влияет на накопление лейкоантоцианов лучше тирозина. Это может быть связано с тем, что лейкоантоцианы накапливаются под действием света и при достаточном количестве сахаров [9]. Анализ на суммарное содержание полифенолов и катехинов показал, что оптимальной концентрацией тирозина, стимулирующей их накопление стала 200мкМ. Это в свою очередь может быть связано с тем, что биосинтез полифенолов по шикиматному пути идет через образование пара-гидроксibenзоата, который в свою очередь может образовываться из тирозина [3].

Список литературы

1. П.В. Федуреаев, Г.Н. Чупахина, Л.Н. Скрыпник. Динамика накопления катехинов щавелем курчавым (*Rumex crispus* L.) – суперпродуцентом фенольных соединений проантоцианового ряда // Химия растительного сырья. 2011. №4. С. 205-208.
2. Гринштейн Дж., Вениц М.. Химия аминокислот и пептидов. Издательство «МИР». 1965 год. 7-9 с.
3. Запрометов М.Н. Основы биохимии фенольных соединений. Москва «Высшая школа». 1974. 98-113 с., 135-143 с.
4. Сажина Н.Н., Мисин В.М. Измерение суммарного содержания фенольных соединений в различных частях лекарственных растений // Химия растительного сырья. 2011. №3. С. 149-152.
5. Буховец А. Е., Массоперенос тирозина и фенилаланина в электромембранных системах, Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата химических наук Воронеж – 2011
6. Методические рекомендации по анализу плодов на биохимический состав. Ялта, 1982. 28с.
7. Price, M.L.; Butler, L.G. J. Agric. FoodChem., 1977, 25, 1268.
8. Folgarait, P.J.; Davidson, D.W. Oikos, 1994, 71, 305.
9. Лейкоантоцианы – растительные «хамелеоны» [электронный источник] URL: <http://plantlife.ru/books/item/f00/s00/z0000021/st004.shtml>

ИЗМЕНЕНИЕ ФЕНОЛЬНОГО МЕТАБОЛИЗМА У МИКРОРАСТЕНИЙ МАЛИНЫ ПРИ ОЗДОРОВЛЕНИИ ОТ ВИРУСОВ ПУТЕМ МАГНИТНО-ИМПУЛЬСНОЙ ОБРАБОТКИ

Упадышев М.Т., Мотылева С.М., Мертвищева М.Е., Донецких В.И.

ФГБНУ «Всероссийский селекционно-технологический институт садоводства и питомниководства», Москва, Россия, тел. 8 (495) 329-32-33, e-mail: upad8@mail.ru

Оздоровление от вирусов традиционно осуществляют путем термотерапии, хемотерапии и культуры меристем *in vitro*. Суховоздушная термотерапия эффективна против термостабильных вирусов, но малоэффективна в борьбе с термостабильными вирусами растений. Многие противовирусные препараты, применяемые при хемотерапии, представляют опасность для здоровья человека или проявляют фитотоксичность. Поэтому нами в качестве альтернативного способа оздоровления растений от вирусов была предложена магнитотерапия, высокая эффективность которой была продемонстрирована на малино-ежевичном гибриде, малине, яблоне, груше и вишне [1-3].

Магнитное поле способно оказывать разнообразные физиологические эффекты на клетки, ткани и органы растений: повышает активность ферментов, изменяет проницаемость мембран, активирует электронный комплекс молекул [4, 5]. Однако экспериментальных данных, касающихся влияния магнитного поля на фенольный обмен у садовых растений, недостаточно, хотя такого рода исследования могли бы привести к уточнению биохимических механизмов действия магнитной обработки.

С целью изучения действия магнитно-импульсной обработки (МИО) на изменение биохимического состава микрорастений образцы малины сорта Геракл, зараженные вирусом TBRV, обрабатывали прибором для магнитной обработки нового поколения СМН-5 с индукцией от 7 до 26,4 мТл, частотой импульсов до 51 Гц и длительностью от 8 до 48 мин. Контроль – без МИО. Из воздушно-сухих образцов готовили извлечения карбинолом при нагревании 80°C в течение 30 минут и анализировали на жидкостном хроматографе Knauer GmbH (Германия) с программным обеспечением Eurochrom HPLC Software (Version 3/05 P4). Использовали элюент состава ацетонитрил : 0,03% ТФУ (трифторуксусная кислота) в соотношении 30 : 70. Детектирование соединений в образцах

осуществляли при 2-х длинах волн: 254 и 310 нм. Об оптической плотности образцов судили по высоте хроматографических пиков (в единицах mAU).

В контрольном и опытном вариантах было выявлено несколько максимумов поглощения. Один из максимумов соответствовал хлорогеновой кислоте (ХК). В контроле оптическая плотность (экстинкция) образцов по хлорогеновой кислоте составляла 56,2 mAU (при 254 нм) и 52,4 mAU (при 310 нм). При этом первый максимум на графике соответствует метанолу (время удерживания $t_R = 1,17$ мин), второй – хлорогеновой кислоте (время удерживания $t_R = 1,82$ мин). В отличие от контроля в большинстве вариантов с МИО второй максимум характеризовался более высокими значениями экстинкции (рис. 1).

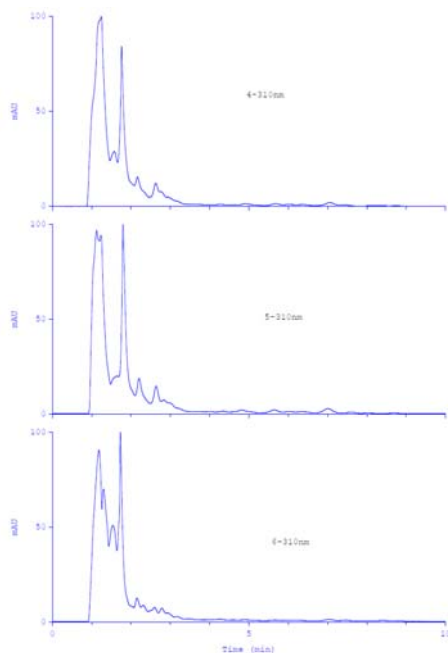


Рис. 1 Хроматограмма экстрактов микрорастений малины сорта Геракл, полученная методом ВЭЖХ (310 нм): 4, 5 – образцы после МИО длительностью 8 мин; 6 – образец после МИО длительностью 16 мин.

Магнитно-импульсная обработка с длительностью 8, 16, 40 и 48 мин приводила к значительному повышению экстинкции образцов, а, следовательно, и количества хлорогеновой кислоты в тканях эксплантов малины: соответственно на 21 % (при 254 нм) и 75 % (при 310 нм) больше по сравнению с контролем (рис. 2).

Сравнительный анализ хроматограмм образцов № 6 и 12

после обработки магнитным полем длительностью 16 и 32 мин соответственно при длине волны 254 нм показал, что на хроматограмме образца с большей длительностью МИО имеется 13 пиков, а с меньшей – всего 8 (рис. 3). При увеличении длительности до 48 мин число пиков достигало 20. У образца № 12 появился 4-ый четко выраженный пик (у образца № 6 он отсутствует) с временем удерживания $t_R = 2,83$ мин. Следовательно, в результате МИО происходили не только количественные, но и качественные изменения биохимического состава у микрорастений малины.

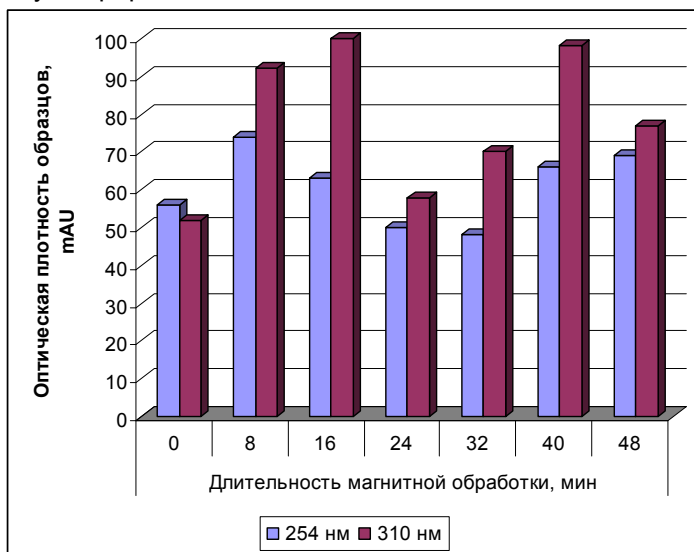


Рис. 2. Оптическая плотность образцов микрорастений малины сорта Геракл в зависимости от длительности магнитно-импульсной обработки и длины детектирующей волны (по результатам ВЭЖХ на хлорогеновую кислоту).

В среднем по всем вариантам с МИО и двум длинам детектирующих волн отмечено повышение содержания хлорогеновой кислоты на 32,7 % по сравнению с контрольным вариантом. Следовательно, магнитно-импульсная обработка приводила к изменению фенольного метаболизма у микрорастений малины, что в свою очередь могло способствовать ингибированию вирусной инфекции путем прямого воздействия на процессы репликации вирусов или опосредованно через развитие неспецифической устойчивости. Содержание хлорогеновой кислоты в тканях эксплантов малины зависело от экспозиции МИО,

причем данная зависимость имела криволинейный характер.

Полученные результаты могут служить объяснением, почему одни режимы МИО приводят к ингибированию и элиминации вирусов, а другие – нет. С другой стороны, это свидетельствует о сложном характере метаболических изменений у растений под действием магнитной обработки и подтверждает необходимость экспериментального подбора оптимальных режимов МИО исходя из биологических особенностей растений и вида вируса.

Известно, что хлорогеновая кислота обладает высокой биологической активностью, связанной с её антиоксидантными свойствами: способностью к восстановлению высоко окисленных свободных радикалов и подавлению образования активных форм кислорода [6, 7]. При этом инактивация вирусов может происходить вследствие окислительно-восстановительных реакций между ингибитором и вирусом. Например, в экспериментах G.J. Mink (1967) степень инактивации вируса мозаики яблони была прямо пропорциональна образованию о-хинона из хлорогеновой кислоты [8]. W.C. Pierpoint et al. (1977) сообщали о частичной потере исходной инфекционности X-вируса картофеля при инкубировании с хлорогеновой кислотой и полифенолоксидазой [9].

Имеются сведения, подтверждающие роль хлорогеновой кислоты в развитии антивирусного иммунитета у картофеля [10] и сахарной свеклы [11].

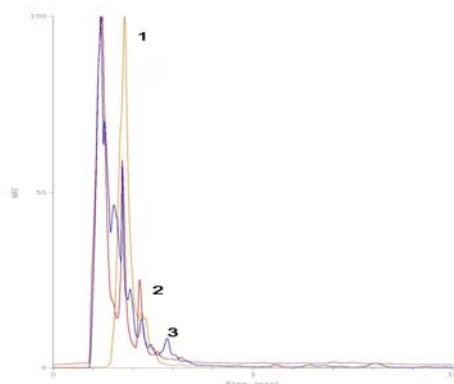


Рис. 3. Хроматограмма экстрактов микрорастений малины сорта Геракл, полученная методом ВЭЖХ (254 нм): 1 – хлорогеновая кислота (оранжевая линия); 2 – образец № 6 после МИО длительностью 16 мин (красная линия); 3 – образец № 12 после МИО длительностью 32 мин (синяя линия).

Однако в зависимости от этапа заражения вирусом и степени активации растением защитных механизмов содержание хлорогеновой кислоты может как повышаться, так и понижаться [12]. Это свидетельствует об изменениях в фенольном обмене в процессе заражения вирусом и многоступенчатом характере

развития растением защитных реакций.

Таким образом, магнитно-импульсная обработка приводила к изменению фенольного метаболизма у микрорастений малины, увеличивая содержание хлорогеновой кислоты в тканях на 33 % по сравнению с контролем. Наряду с количественными в результате МИО происходили и качественные изменения биохимического состава у микрорастений малины, что нуждается в дальнейшем изучении.

Список литературы

1. Упадышев М.Т., Донецких В.И. Новый способ оздоровления ягодных и плодовых культур от вирусов методом магнитотерапии // Доклады Российской академии сельскохозяйственных наук. 2008. № 4. С. 12-15.
2. Упадышев М.Т., Донецких В.И., Упадышева Г.Ю., Бъядовский И.А. Особенности оздоровления от вирусов клоновых подвоев семечковых и косточковых культур // Плодоводство и ягодоводство России.- М., 2013. Т. XXXVI, ч. 2. С. 270-275.
3. Упадышев М.Т., Метлицкая К.В., Упадышева Г.Ю., Донецких В.И., Тихонова К.О., Петрова А.Д. Оздоровление садовых культур от вирусов с использованием экологически безопасных методов // Плодоводство и ягодоводство России.- М., 2014. Т. 40, ч. 1. С. 329-333.
4. Stange D.C., Rowland R.E., B.J. Rapley, Podd J.V. ELF magnetic fields increase amino acid uptake into *Vicia faba* L. roots and alter ion movement across the plasma membrane // Bioelectromagnetics. 2002. Vol. 23, № 5. P. 347-354.
5. Донецких В.И., Бычков В.В., Упадышев М.Т., Тихонова К.О., Селиванов В.Г. Устройство магнитно-импульсного воздействия на посадочный материал садовых растений с управлением от персонального компьютера // Техника и оборудование для села. 2014. № 8 (206). С. 8-13.
6. Clifford M.N. Chlorogenic acids and other cinnamates – nature, occurrence and dietary burden // J.Sci.Food Agric. 1999. Vol.79. P. 362-372.
7. Джан Т.В., Клименко С.В., Григорьева О.В. Фенольные соединения листьев азимины трехлопастной (*Azimina Triloba* (L.) Dunal) // Матер. докл.VIII межд. симп. по фенольным соединениям. М., 2012. С. 533-537.
8. Mink G.J. Kinetics of quinine inactivation of Tulare apple mosaic virus // Virology.–1967. V.33. P. 609.
9. Pierpoint W.C., Ireland R.J., Carpenter J.M. Modification of proteins during the oxidation of leaf phenols: reaction of potato virus X with chlorogenoquinone // Phytochemistry. 1977. V.16, № 1. P. 29-34.
10. Шуцкая О.В., Иоселевич Е.И., Жукова М.И. Фенольные соединения и устойчивость картофеля к вирусной инфекции // Защита растений. 1980. № 5. С. 119.
11. Метлицкий Л.В., Озерецковская О.Л. Как растения защищаются от болезней. М., 1985.– С. 120.

-
12. Fritig B., Legrand M., Hirth L. Changes in the metabolism of phenolic compounds during the hypersensitive reaction of tobacco to TMV // Virology. 1972. V.47, № 3. P. 845-848.
-

УДК 581.192

ВЛИЯНИЕ РАЗВИТОСТИ ПИГМЕНТНОГО АППАРАТА РАСТЕНИЙ НА НАКОПЛЕНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ РАСТЕНИЯМИ РЖИ ПОСЕВНОЙ (SECALE CEREALE L.)

Федураев П.В., Трембач Я.А., Чупахина Г.Н.

ФГАОУ ВПО Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта 236040, ул. Университетская 2, Калининград, Россия, тел.: (84012)533707; e-mail: pfeduraev@kantiana.ru

Ключевые слова: катехины, лейкоантоцианы, сумма фенольных соединений, стрептомицин, свет, этиолированные проростки, рожь посевная

Введение. Развитие пигментного аппарата растений – основа метаболической стабильности растительной клетки, которая во многом достигается функционированием вторичных путей обмена. Фенольные соединения один из основных компонентов вторичного метаболизма фотоавтотрофов. В то же время характер освящения является одним из важнейших регулирующих факторов в образовании и накоплении фенольных соединений в тканях растений [1,2,3,4]. Создание строго контролируемых условий роста растений позволит исследовать специфику накопления фенольных веществ, в зависимости от состояния пигментного аппарата в тканях растений ржи посевной.

Объекты и методы. Выполнена серия опытов по изучению влияния развитости пигментного аппарата растений на накопление фенольных соединений. В данных опытах в качестве объектов исследования использовался первый настоящий лист ювенильных растений ржи посевной сорта «Пуховчанка», выращенной в лабораторных условиях в климатической камере Binder KBWF 720 с использованием световой кассеты с подключенными тремя лампами FLUORA® –для стимулирования роста, заменяющих люминесцентные лампы дневного света (10,500 люкс). Растения были разделены на три группы.

Первая группа: Растения выращивались со стандартным фотопериодом: 16 часов световой экспозиции и 8 часов затемнения, температурный режим варьировал в зависимости от условий освещенности 25 С и 22 С соответственно.

Вторая группа. Для ингибирования процесса фотосинтеза растения выращивались в условиях отсутствия освещения. Этиолированные проростки не содержат хлорофилла, но содержат в небольшом количестве протохлорофиллид, они использовались для изучения закономерностей в синтезе фенольных соединений при условии ингибирования фотосинтетических процессов.

Третья группа. Наряду с этиолированными проростками ржи посевной использовались альбиносные растения, полученные из семян, предварительно выдержанных в растворе стрептомицина (2,5 мг/мл) в течении 48 часов [5]. По своему действию стрептомицин является ингибитором трансляции, связываясь с 30S субъединицей рибосом, вызывает ошибки в прочтении информации, закодированной в мРНК [6]. Антибиотик стрептомицин ингибирует белковый синтез на рибосомах прокариотического типа. Рибосомы органелл растений во многом сходны с рибосомами прокариот. Стоит считать, что при использовании ингибиторов белкового синтеза их влияние распространяется как на синтез белков в пластидах, так и на синтез белков в митохондриях [7].

Таким образом, происходит ингибирование синтеза зеленых пигментов. У выросших проростков первый лист на две трети альбиносный. Для анализа, у данных растений использовали беспигментную нижнюю часть (2/3 листа), а у зеленых – соответствующий ей участок листа.

Проростки выращивались в вегетационных сосудах, влажность почвы поддерживали на постоянном уровне – 60% от полной влагоемкости [8]. Анализы проводились на 7-ые и 14-ые сутки.

В растения измерялось суммарное содержание лейкоантоцианов (флаван-3,4диолов), катехинов (флаван-Золов), а так же сумма фенольных соединений.

Флаван-3,4диолы определялись бутанол-HCl методом. Данный метод определения основан на расщеплении внутрифлаваноидной связи в проантоцианезине с использованием горячих кислот, приводящий к автоокислению флаван-3,4диолов и дальнейшее их образование в антоцианы (окрашенные соединения). Сформировавшийся окрашенный раствор имеет максимальную оптическую плотность при 520 нм, которая и использовалась для изменения лейкоантоцианов [9].

Метод определения флаван-Здиолов основан на реакции электрофильного замещения ванилинового реактива с конденсированными дубильными веществами в кислой среде, с образованием короткоживущих соединений красного цвета, которые представляют собой продукты конденсации флавоноидов

с ванилином, с максимумом поглощения при 520 нм. Ванилиновую реакцию на катехины проводили в кислой среде, так как кислота играет каталитическую роль [10].

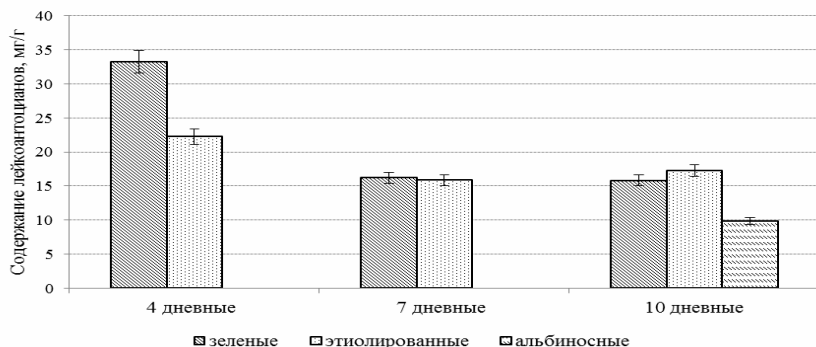


Рис 1. Динамика накопления лейкоантоцианов в растения ржи посевной в зависимости от развитости пигментного аппарата

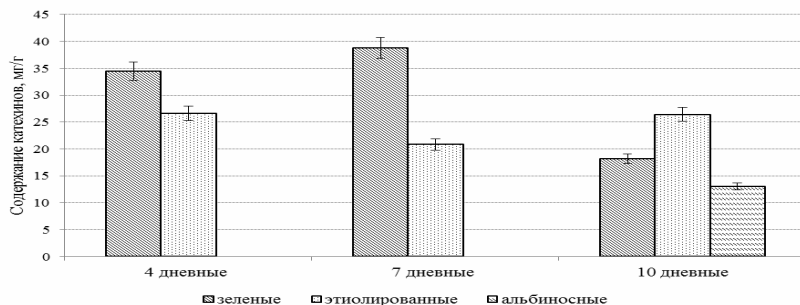


Рис 2. Динамика накопления катехинов в растения ржи посевной в зависимости от развитости пигментного аппарата

Количественное определение суммы полифенольных соединений проводили с помощью гексацианоферрата калия. В кислой среде фенольные соединения восстанавливают $K_3[Fe(CN)_6]$ (Fe^{3+}) до $K_4[Fe(CN)_6]$ (Fe^{2+}), который в присутствии ионов трехвалентного железа образует окрашенное соединение (берлинская лазурь) с максимумом поглощения при 720 нм. Фенольные соединения извлекали слегка подкисленным 96% этанолом [11].

Результаты. В работе показана динамика накопления фенольных соединений различных классов на ранних этапах онтогенеза (до 10-го дня) в зависимости от развитости пигментного аппарата растений. На рисунках представлены средние

арифметические значения и среднеквадратические отклонения.

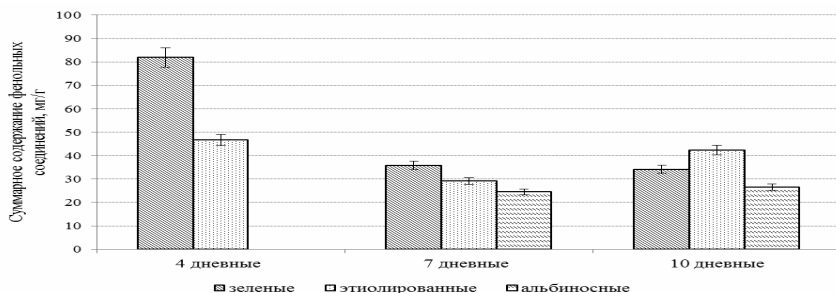


Рис 3. Динамика накопления фенольных соединений в растения ржи посевной в зависимости от освещения.

Заключение. Показано существенное снижение активности накопления фенольных соединений на начальных этапах онтогенеза с максимумом на 4 день после посадки для всех вариантов опыта. Кроме того абсолютный минимум содержания фенольных соединений был зафиксирован у альбиносных проростков ржи посевной на 10-ый день после посадки и составил 24,6 мг/г. Максимум содержания среди исследуемых групп соединений был отмечен у растений выращенных со стандартным фотопериодом, при нормальном развитии фотосинтетического аппарата, и составил 81,9 мг/г. Так же стоит отметить, что суммарное содержание фенольных веществ снижалось в ряду от 4-го до 10-го дня.

Список литературы

1. Ghasemzadeh Ali, Ghasemzadeh Neda Effects of shading on synthesis and accumulation of polyphenolic compounds in ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) varieties Journal of Medicinal Plants Research Vol. 5(11), 2011, pp. 2435-2442
2. Graham TL Flavonoid and flavonol glycoside metabolism in Arabidopsis. Plant Physiol. Biochem., 1998 36: 135-144.
3. Xie BD, Wang HT Effects of light spectrum and photoperiod on contents of flavonoid and terpene in leaves of Ginkgo biloba L. J. Nanji. Fores. Uni., 2006 30: 51-54.
4. Федораев П.В., Чупахина Г.Н., Скрыпник Л.Н.. Динамика накопления катехинов щавелем курчавым (*Rumex crispus* L.) – суперпродуцентом фенольных соединений проантоцианового ряда // Химия растительного сырья. 2011. №4. С. 205-208.
5. Физиологические и биохимические методы анализа растений: Практикум / . Калинингр. ун-т; Авт-сост. Г.Н. Чупахина. — Калининград, 2000. — 59 с.
6. Биохимия Под ред. Е.С. Северина., Москва : ГЭОТАР-МЕД, 2003. - 779

-
- с.
7. Аверина Н.Г. Биосинтез тетрапирролов в растениях / Н.Г.Аверина, Е.Б.Яронская; НАН Беларуси, Ин-т биофизики и клеточной инженерии. - Минск: Белорусская наука, 2012. - 413 с.
 8. Галицкая П.Ю., Селивановская С.Ю., Гумерова Р.Х. Физико-химические методы оценки качества почв: Учебно-методическое пособие / – Казань: Казанский университет, 2011. – 37с.
 9. Porter LJ, Hrstich LN, Chan BG. 1986. The conversion of procyanidins and prodelphinidins to cyanidin and delphinidin. *Phytochemistry* 25: 223-230.
 10. Cork, S.J., A.K. Krockenberger. 1991. Methods and pitfalls of extracting condensed tannins and other phenolics from plants: Insights from investigations on Eucalyptus leaves. *J. Chem. Ecol.* 17: 123-134.
 11. Price, M.L., Butler, L.G. 1977. Rapid visual estimation and spectrophotometric determination of tannin content of sorghum grain. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 25: 1268-1273.
-

УДК 575.1:577.15:633.111

РЕГУЛЯТОРНАЯ СЕТЬ БИОСИНТЕЗА ФЛАВОНОИДОВ ПШЕНИЦЫ

Хлесткина Е.К., Шоева О.Ю., Гордеева Е.И.

ФГБУН Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия,
+7(383)3634952, e-mail: khlest@bionet.nsc.ru

У злаков, в том числе у пшеницы, флавоноиды играют важную роль в развитии растений, защите их от патогенов и неблагоприятных климатических факторов [1], а также ответственны за пигментацию: например, у пшеницы могут быть окрашены coleoptiles, стебли, листья, пыльники, цветковые и колосковые чешуи, ости, перикарп, aleuron и семенная оболочка [2].

Около 30 ферментов, участвующих в синтезе и модификации флавоноидных соединений, кодируются так называемыми структурными генами, которые, в свою очередь, активируются с помощью транскрипционных факторов, кодируемых регуляторными генами. Структурные гены, отсекарованы у большинства модельных видов и у некоторых интенсивно изучаемых культурных видов растений, в том числе, у мягкой пшеницы *Triticum aestivum* L. [3], несмотря на некоторые сложности, связанные с выделением и идентификацией единичных копий одного и того же гена (у аллогексаплоидного вида *T. aestivum* L. большинство генов как правило представлены в виде, как минимум трех гомеологичных копий). Следует отметить, что структурные

гены биосинтеза флавоноидов отличаются высоким уровнем гомологии у разных видов и, как правило, не относятся к мультигенным семействам (отчасти с этим связаны определенные успехи в выделении кодирующих их генов из геномов различных видов растений).

Регуляторные гены биосинтеза флавоноидов, наоборот, относятся к мультигенным семействам и кодируют транскрипционные факторы трех типов: MYB, MYC и WD40 [4]. Наличие множественных ортологичных и гомеологичных копий одного и того же регуляторного гена в геноме пшеницы делает их выделение непростой задачей. У пшеницы, как и у большинства немодельных объектов с большим геномом, выделение регуляторных генов осуществляется методами прямой генетики: от признака к гену. Основные признаки, от которых можно отталкиваться при выделении регуляторных генов биосинтеза флавоноидов – признаки окраски. В 1980-е – 2000-е годы в геноме пшеницы было картировано более 20 локусов, контролирующих окраску различных органов пшеницы [2]. Позднее была показана их роль в качестве регуляторных генов биосинтеза флавоноидных пигментов антоцианов, проантоцианидинов и флорафенов [5-9].

При этом для доказательства регуляторной роли использовались генетические модели – отличающиеся по окраске почти изогенные, рекомбинантные и интрогрессивные линии пшеницы, из различных органов которых выделялась РНК, и проводилось сравнение экспрессии структурных генов биосинтеза флавоноидов. В отличие от модельных видов растений, у которых функциональную роль того или иного гена можно проверить путем генетической трансформации, у пшеницы в виду сложности получения трансформантов, наиболее адекватными генетическими моделями для проверки функциональной активности и выяснения функциональной роли генов являются именно генетически маркированные (изогенные и интрогрессивные) линии [10].

Выполнение работ по картированию и установлению функциональной роли позволило вплотную подойти к выделению нуклеотидных последовательностей регуляторных генов биосинтеза флавоноидов пшеницы. К данному моменту из генома пшеницы выделены гены, относящиеся к двум семействам регуляторных факторов транскрипции растений - MYB и MYC [11, 12]. Три гомеологичных MYB-кодирующих гена, выделенных Himi et al. [11], соответствуют трем генам *R* (*R-A1*, *R-B1*, *R-D1*), контролирующим красную окраску зерна (*R* - *red grain color*), ранее локализованным в хромосомах 3A, 3B и 3D пшеницы. Выделенные MYB-кодирующие гены *R* активируют в семенной оболочке

пшеницы синтез проантоцианидинов, благодаря чему зерно пшеницы приобретает красновато-коричневый оттенок, а растения с данным признаком характеризуются повышенной устойчивостью к прорастанию зерна на корню [11].

Выделенный MYC-кодирующий ген [12] соответствует гену *Pp3* (*purple pericarp*), ранее локализованному в хромосоме 2A пшеницы. Он активирует в перикарпе зерновки синтез антоцианов, благодаря чему зерно пшеницы приобретает фиолетовый оттенок. Следует отметить, что для активации синтеза антоцианов в перикарпе в дополнение к MYC-кодирующему фактору необходим *C1/P1*-подобный MYB-фактор, кодируемый генами *Pp-A1*, *-B1*, *-D1*, локализованными в хромосомах 7A, 7B и 7D пшеницы (нуклеотидные последовательности данных генов еще не выделены, но на основе блот-гибридизации и картирования установлена гомология с MYB-кодирующими генами *C1* и *P1* кукурузы [13]).

С помощью набора изогенных линий пшеницы, несущих различные комбинации доминантных и рецессивных аллелей генов *Pp*, показано, что сочетание разных аллелей *Pp* по-разному влияет на активацию структурных генов биосинтеза антоцианов [14]. Также выявлено, что между MYB- (*Pp-1*) и MYC- (*Pp3*) кодирующими генами существует регуляторное взаимодействие: *Pp-1* в доминантной форме частично подавляет транскрипцию *Pp3* [12].

Список литературы.

1. Khlestkina E.K. The adaptive role of flavonoids: emphasis on cereals // *Cereal Res. Commun.* 2013. V. 41. P. 185-198.
2. Хлесткина Е.К. Гены, детерминирующие окраску различных органов пшеницы // *Вавиловский журнал генетики и селекции.* 2012. Т. 16. С. 202-216.
3. Хлесткина Е.К., Шоева О.Ю., Гордеева Е.И. Гены биосинтеза флавоноидов пшеницы // *Вавиловский журнал генетики и селекции.* 2014. Т. 18. No4/1. С. 784-796.
4. Quattrocchio F., Baudry A., Lepiniec L., Grotewold E. The regulation of flavonoid biosynthesis // Grotewold P.E. (Ed.) *The science of flavonoids.* N.Y.: Springer, 2008. P. 97-122.
5. Himi E., Nisar A., Noda K. Colour genes (R and Rc) for grain and coleoptile upregulate flavonoid biosynthesis genes in wheat // *Genome.* 2005. V. 48. P. 747-754.
6. Khlestkina E.K., Röder M.S., Salina E.A. Relationship between homoeologous regulatory and structural genes in allopolyploid genome - a case study in bread wheat // *BMC Plant Biol.* 2008. V. 8. P. 88.
7. Khlestkina E.K. Regulatory-target gene relationships in allopolyploid and hybrid genomes. In: Urbano KV (Ed) "Advances in Genetics Research. Volume 3", NOVA Science Publishers, Inc, USA, 2010. pp. 311-328.

-
8. Khlestkina E.K., Gordeeva E.I., Arbuzova V.S. Molecular and functional characterization of wheat near-isogenic line 'i:S29Ra' having intensive anthocyanin pigmentation of the coleoptile, culm, leaves and auricles // Plant Breed. 2014. V. 133. P. 454–458.
 9. Tereshchenko O.Y., Arbuzova V.S., Khlestkina E.K. Allelic state of the genes conferring purple pigmentation in different wheat organs predetermines transcriptional activity of the anthocyanin biosynthesis structural genes // J Cereal Sci. 2013. V. 57. 10-13.
 10. Khlestkina E.K. Current applications of wheat and wheat-alien precise genetic stocks // Mol. Breed. 2014. V. 34. P. 273-281.
 11. Himi E., Maekawa M., Miura H., and Noda K. Development of PCR markers for Tamyb10 related to R-1, red grain color gene in wheat // Theor Appl Genetics. 2011. V. 122. P. 1561-1576.
 12. Shoeva O.Y., Gordeeva E.I., Khlestkina E.K. (2014) The Regulation of Anthocyanin Synthesis in the Wheat Pericarp. Molecules. V. 19. P. 20266-20279.
 13. Li W.L., Faris J.D., Chittoor J.M., Leach J.E., Hulbert S.H., Liu D.J., Chen P.D., Gill B.S. Genomic mapping of defense response genes in wheat // Theor. Appl. Genet. 1999. V. 98. P. 226-233.
 14. Gordeeva E.I., Shoeva O.Y., Khlestkina E.K. (2015) Marker-assisted development of bread wheat near-isogenic lines carrying various combinations of Pp (purple pericarp) alleles. Euphytica 10.1007/s10681-014-1317-8
-

УДК 581.557:582.949.27

**СОДЕРЖАНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ И
МИКОСИМБИОТРОФИЯ В ПОДЗЕМНЫХ ОРГАНАХ
EPIACTIS HELLEBORINE (ORCHIDACEAE)**

Холмогоров С.В., Маракаев О.А.

Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова, Ярославль,
Россия, тел. (4852) 47-82-98, e-mail: serg_kholm@mail.ru

Epipactis helleborine (L.) Crantz (дремлик широколистный) – многолетнее травянистое растение семейства Orchidaceae, произрастающее в умеренном климате северного полушария [1]. Его подземные органы представлены укороченным плагиотропным корневищем с ежегодно формирующимися метамерами разной длины, каждый из которых имеет от двух до шести корней [1, 2]. В течение вегетации у взрослых особей растут корни, образованные в предшествующие сезоны, а также формируются молодые корни. Такое строение подземных органов *E. helleborine* позволяет рассматривать их как удобную модель для изучения микосимбиотрофии – облигатного условия онтогенеза орхидных [3].

Значение этого процесса для автотрофных особей до настоящего времени остается во многом не выясненным [4].

Важнейшая регуляторная роль в микосимбиотрофии принадлежит фенольным соединениям, в том числе диgidроксибензотриеновым фитоалексинам – хирцинолу, лороглоссолу и орхинолу, которые могут контролировать проникновение гиф в клетки и дальнейшее взаимодействие в системе «растение – микосимбионт» [4, 5]. В тоже время сведения о фенольном статусе подземных органов орхидных умеренного климата северного полушария единичны [6, 7].

Целью исследования было выявление изменений в содержании суммы фенольных соединений и флавоноидов в подземных органах *E. helleborine* в процессе развития микосимбиотрофии.

В качестве объектов исследования использовали подземные органы генеративных особей *E. helleborine* – корневище и корни первого года (образующиеся в текущем сезоне), второго года (образованные в прошлом сезоне) и третьего года (образованные в позапрошлом сезоне). Растения произрастали в злаково-разнотравном березняке на дерново-подзолистой почве с содержанием гумуса в корнеобитаемом слое 3,9%, pH – 5,3. Подземные органы собирали в течение вегетации (2014 г.) в фазы листообразования (3-я декада мая), цветения (3-я декада июля) и плодоношения (1-я декада августа). Фенольные соединения извлекали из свежего материала горячим 80%-ным этанолом. В экстрактах спектрофотометрическим методом определяли содержание суммы растворимых фенольных соединений (с реактивом Фолина-Дениса; 725 нм) и содержание флавоноидов (с хлористым алюминием; 415 нм) [8]. Калибровочные кривые в обоих случаях строили по rutinу.

Параметры микосимбиотрофии оценивали по методике И.А. Селиванова при изучении поперечных срезов подземных органов под световым микроскопом [9]. Для каждого варианта изготавливали и оценивали не менее 100 поперечных срезов. Активность микосимбионта определяли по скорости роста колонии, формирующейся после его выделения из корней на питательную среду Клементса [10]. Статистическую обработку результатов проводили по стандартным методикам [11] с использованием пакета анализа данных программы Excel'2010.

Результаты. В фазу листообразования *E. helleborine* содержание суммы фенольных соединений в исследованных корнях достоверно не различалось (табл.). Что касается накопления флавоноидов, то в корнях третьего года оно было в 2

раза выше, чем в корнях второго года. Корни первого года имели минимальные показатели микосимбиотрофии, что указывает на начало заселения грибом эндофитом подземных органов в самый ранний период их формирования. В этих корнях микосимбионт был представлен преимущественно одиночными гифами (33,7%), рыхлыми клубками гиф – пелотонами (26,5%) и обладал наибольшей скоростью роста после изолирования на питательную среду по сравнению с эндофитом из корней второго и третьего годов. Корни третьего года отличались высокой частотой встречаемости микоризной инфекции (см. табл.) и преобладанием зернистой массы в клетках (32,2%). Это свидетельствует об активном лизисе микосимбионта, который осуществляется с участием гидролитических ферментов – кислых фосфатаз, 1,-3 β глюконаз и хитиназ [4]. В корневище *E. helleborine* микосимбионт нами не обнаружен, а содержание суммы фенольных соединений и флавоноидов достоверно ниже, чем в исследованных корнях, и составляло $0,95 \pm 0,048$ и $0,11 \pm 0,014$ мкг/г сырой массы соответственно.

Фаза цветения *E. helleborine* характеризуется более низким содержанием суммы фенольных соединений и флавоноидов в корнях первого года по сравнению с корнями второго и третьего годов (см. табл.). При этом доля флавоноидов в них различалась незначительно и составляла 26-33%. Значения показателей микосимбиотрофии в разных корнях также были близки. Однако скорость роста микосимбионта, выделенного из корней первого года, превышала таковую для эндофита корней второго года на 20%, а третьего года – на 26%. Гиф микосимбионта в корнях первого года обнаружено больше (23,3%), чем в корнях третьего года (16,5%). В клетках последних продолжала преобладать зернистая масса (35,7%), свидетельствующая о лизисе и возможном поступлении в растительные клетки питательных веществ от грибного партнера [4]. В корневище *E. helleborine* содержание суммы фенольных соединений было ниже на 21-49%, а содержание флавоноидов – на 54-77% по сравнению с исследованными корнями, которые в отличие от подземного побега подвергаются заселению микосимбионтом.

В фазу плодоношения *E. helleborine* картина по содержанию суммы фенольных соединений и флавоноидов в корнях в целом соответствует таковой для фазы цветения (см. табл.). Однако их накопление было ниже (на 5-17%) при одновременном уменьшении доли флавоноидов (18-28%). Интенсивность и частота встречаемости микоризной инфекции в корнях первого года остаются наименьшими при увеличении в них количества плотных

пелотонов (26%) и зернистой массы (31%). В этот период выявлена минимальная скорость роста выделенного на питательную среду микосимбионта по сравнению с данными, полученными для других фаз вегетации, что может свидетельствовать о пониженной способности микоризного гриба к распространению в подземных органах.

Таблица.

Содержание фенольных соединений и показатели микосимбиотрофии в корнях *E. helleborine*

Показатели, Корни ¹	первого года	второго года	третьего года
листообразование			
Содержание суммы фенольных соединений, мкг/г сырой массы	—	1,48 ± 0,043	1,54 ± 0,039
Содержание флавоноидов, мкг/г сырой массы	—	0,18 ± 0,018	0,39 ± 0,017
Интенсивность микоризной инфекции, %	18,2	22,3	29,3
Частота встречаемости микоризной инфекции, %	31,0 ± 0,03	34,7 ± 0,03	45,0 ± 0,03
цветение			
Содержание суммы фенольных соединений, мкг/г сырой массы	1,53 ± 0,020	2,14 ± 0,026	2,35 ± 0,026
Содержание флавоноидов, мкг/г сырой массы	0,39 ± 0,017	0,69 ± 0,019	0,78 ± 0,022
Интенсивность микоризной инфекции, %	37,7	39,6	40,3
Частота встречаемости микоризной инфекции, %	65,7 ± 0,03	66,3 ± 0,03	67,0 ± 0,08
плодоношение			
Содержание суммы фенольных соединений, мкг/г сырой массы	1,45 ± 0,042	1,82 ± 0,025	1,94 ± 0,026
Содержание флавоноидов, мкг/г сырой массы	0,26 ± 0,020	0,32 ± 0,025	0,55 ± 0,026
Интенсивность микоризной инфекции, %	25,9	30,8	34,0
Частота встречаемости микоризной инфекции, %	47,0 ± 0,03	54,0 ± 0,03	58,0 ± 0,03

¹Примечание. Корни первого года образуются в текущем сезоне; корни второго года образовались в прошлом сезоне; корни третьего года образовались в позапрошлом сезоне.

При этом ростовая активность микосимбионта, выделенного из корней первого года, выше, чем из корней второго и третьего годов, на 32 и 38% соответственно. В корневище *E. helleborine*, свободном от микосимбионта, содержание суммы фенольных соединений ($1,26 \pm 0,039$ мкг/г сырой массы) и флавоноидов ($0,13 \pm 0,013$ мкг/г сырой массы) продолжает оставаться минимальным по сравнению с исследованными корнями.

Таким образом, корневище *E. helleborine* не содержит микосимбионта и отличается более низким содержанием суммы фенольных соединений и флавоноидов по сравнению с корнями. В подземном побеге отмечена тенденция к накоплению фенольных соединений в течение сезонного развития. Аналогичная картина ранее была выявлена нами в тубероиде – запасающем органе некоторых видов орхидных [6]. В корнях *E. helleborine* микосимбиотрофные отношения формируются в начальный период их образования и продолжают на протяжении их роста и развития. В корнях третьего года показатели интенсивности и частоты встречаемости микоризной инфекции превышают таковые в корнях второго и первого годов.

При этом микосимбионт из старовозрастных корней на питательной среде растет менее активно, а в клетках их коровой паренхимы чаще отмечается зернистая масса, оставшаяся после лизиса эндوفита. Суммарное содержание фенольных соединений, так же как и флавоноидов, независимо от фазы сезонного развития увеличивается в ряду: корни первого года – корни второго года – корни третьего года. Максимальный их уровень, сопровождаемый одновременно высокой долей флавоноидов, отмечен в исследованных корнях в фазу цветения.

Полученные данные свидетельствуют о том, что повышенное накопление фенольных соединений в корнях *E. helleborine* происходит на фоне увеличения в них количества микосимбионта как в сезонной (от фазы листообразования к фазе плодоношения), так и в годовой (от корней первого года к корням третьего года) динамике.

Список литературы

1. Варлыгина Т.И., Вахрамеева М.Г., Татаренко И.В. Орхидные России (биология, экология и охрана). М.: Товарищество научных изданий КМК, 2014. 437 с.
2. Смирнова Е.С. Морфология побеговых систем орхидных. М.: Наука, 1990. 208 с.
3. Rasmussen H.N. Terrestrial orchids: from seed to mycotrophic plant. Cambridge University Press, 1995. 433 p.

-
4. Смит С.Э., Рид Д.Д. Микоризный симбиоз / Пер. Е.Ю. Ворониной. М.: Товарищество научных изданий КМК, 2012. 776 с.
 5. Запрометов М.Н. Фенольные соединения. – М., Наука, 1993. 272 с.
 6. Маракаев О.А., Целебровский М.В., Николаева Т.Н., Загоскина Н.В. Некоторые аспекты роста подземных органов пальчатокоренника пятнистого и накопления в них фенольных соединений на генеративном этапе онтогенеза // Известия Российской академии наук. Серия биологическая, 2013. № 3. С. 315-324.
 7. Маракаев О.А., Холмогоров С.В., Богомолов Ю.В., Загоскина Н.В. Накопление фенольных соединений в тубероиде орхидных умеренного климата и корреляция этого процесса со степенью микотрофности // Факторы устойчивости растений в экстремальных природных условиях и техногенной среде. Иркутск: СИФИБР СО РАН, 2013. С. 152-156.
 8. Запрометов М.Н. Фенольные соединения и методы их исследования // Биохимические методы в физиологии растений. М.: Наука, 1971. С. 185-197.
 9. Селиванов И.А. Микосимбиотрофизм как форма консортивных связей в растительном покрове Советского Союза. М.: Наука, 1981. 231 с.
 10. Билай В.И. Методы экспериментальной микологии. Киев.: Наукова думка, 1982., 550 с.
 11. Зайцев Г.Н. Математическая статистика в экспериментальной ботанике. М.: Наука, 1984. 424 с.
-

УДК 577.13:582.711.71

РОЛЬ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ПРОЦЕССАХ АДАПТАЦИИ *PENTAPHYLLOIDES FRUTICOSA* К УСЛОВИЯМ ПРОИЗРАСТАНИЯ

Храмова Е.П.

Центральный сибирский ботанический сад Сибирского отделения РАН,
Новосибирск, khramova@ngs.ru

Биохимическая адаптация является одним из главных условий выживания растений в биоценозах. Важную роль в качестве протекторных и сигнальных соединений играют вторичные метаболиты, наличие и накопление которых, по-видимому, отражает адаптационную стратегию, выработанную естественным отбором в ходе эволюции [1]. Воздействие на растения различных экологических факторов (UV-B–излучение, гидротермический стресс, ветер, обедненность почв азотом и др.) приводит к ответной реакции со стороны многих морфологических и физиолого-биохимических показателей, в том числе к изменению синтеза вторичных метаболитов. Наиболее заметны эти изменения

в растениях по высотному и широтному градиенту [2-4].

В Горном Алтае хорошо выражена высотная поясность и выделены, в широком понимании, четыре растительных пояса - степной, лесной, лесостепной и высокогорный, для каждого из которых характерен особый комплекс природных условий [5, 6]. Широко представленный на Алтае *Pentaphylloides fruticosa* (L.) O.Schwarz (сем. Rosaceae) встречается во всех поясах [7]. Оставаясь мезофитом, растения этого вида в высотно-поясном ряду приобретают некоторые ксероморфные черты – утолщение стенки эпидермиса, развитие столбчатой ткани, увеличение числа трихом, повышение удельной поверхностной плотности листа и др., что объясняется более суровыми экологическими условиями в высокогорьях, аридизацией, повышением инсоляции [8].

Цель исследования заключалась в установлении изменений в составе и содержании фенольных соединений *Pentaphylloides fruticosa* в высотно-поясном градиенте и выявлении связи их накопления с некоторыми экологическими факторами.

Исследования проводились на территории трех геоботанических провинций Горного Алтая: Северного, Центрального и Юго-Восточного Алтая. Юго-Восточный Алтай относится к недостаточно влажному сектору гор юга Сибири, остальные – к умеренно влажному сектору. Обследовано семь районов, из которых два (Чемальский и Солонешенский) находятся в Северном Алтае, три (Онгудайский, Усть-Коксинский и Усть-Канский) в Центральном Алтае, Улаганский и Кош-Агачский – в Юго-Восточном Алтае. Растения отбирали в фазу массового цветения, обследовано 49 ценопопуляций.

Анализ фенольных соединений *P. fruticosa* выполнен методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Выделены и идентифицированы шесть флавонолгликозидов – гиперозид, изокверцитрин, рутин, авикулярин, кверцитрин и астрагалин, два агликона – кверцетин и кемпферол, а также эллаговая кислота и ее гликозид.

Показано, что качественный состав фенольного комплекса *P. fruticosa* остается постоянным вне зависимости от органа растения и местообитания.

Суммарное содержание ФС в надземных органах *P. fruticosa* возрастало в ряду: лесостепной – лесной – степной – высокогорный пояс (Рис. 1). Наибольшее суммарное содержание ФС отмечено в листьях, наименьшее – в стеблях вне зависимости от места произрастания.

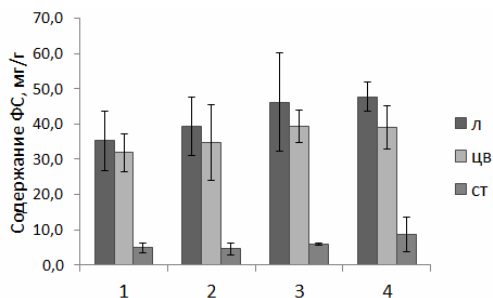


Рис. 1. Содержание фенольных соединений в листьях (л), цветках (ц), стеблях (ст) *P. fruticosa* в высотном поясном градиенте. 1 – лесной, 2 – лесостепной, 3 – степной, 4 – высокогорный пояс.

Установлено количественное преобладание гликозидов кверцетина по сравнению с гликозидами кемпферола во всех образцах. Гликозиды кверцетина в большей мере накапливались в листьях по сравнению с цветками и стеблями, а гликозиды кемпферола – в цветках. В ряду высотной поясности содержание гликозидов кверцетина в листьях *P. fruticosa* возрастало до максимума в растениях степного пояса (24.5 мг/г), в высокогорном поясе их количество незначительно снижалось до 23.4 мг/г (Рис. 2). При этом в листьях высокогорных растений отмечен факт повышения уровня свободных агликонов на фоне снижения их гликозидов.

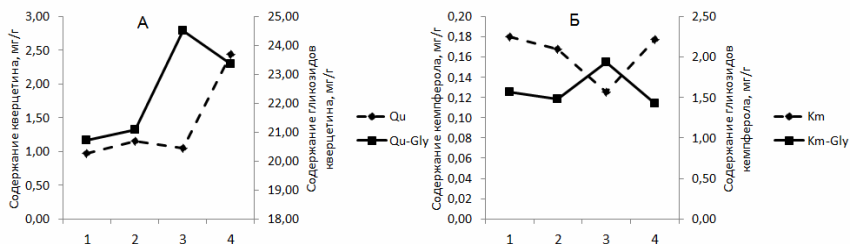


Рис. 2. Содержание свободных и гликозилированных агликонов в листьях *P. fruticosa* в зависимости от высотного пояса. А – кверцетин (Qu) и его гликозиды (Qu-gly). Б – кемпферол (Km) и его гликозиды (Km-gly). 1 – лесной, 2 – лесостепной, 3 – степной, 4 – высокогорный пояс.

В накоплении отдельных фенольных компонентов в листьях в зависимости от поясности выявлены различные тенденции (табл.).

Содержание компонента 1, гиперозида и эллаговой кислоты в листьях *P. fruticosa* возрастало в ряду высотной поясности, авикулярина и кверцитрина, напротив, уменьшалось, компонентов 2, 3, изокверцитрина, гликозида эллаговой кислоты достигало максимума в растениях степного пояса, снижаясь в высокогорном.

Компонент 10 в наибольшем количестве выявлен в листьях растений из лесного пояса и минимальном – из высокогорного, концентрация астрагалина возрастала от лесного к высокогорному поясу.

Таблица

Содержание фенольных соединений в листьях *P. fruticosa* в зависимости от высотного пояса (мг/г от абсолютно сухой массы $\pm$ стандартное отклонение)

Компоненты	Высотные пояса растительности			
	лесостепной	лесной	степной	высоко-горный
1	0.81 $\pm$ 0.59 ²	0.93 $\pm$ 0.57	1.49 $\pm$ 0.81	1.56 $\pm$ 0.55
2	1.96 $\pm$ 1.49 ²	2.52 $\pm$ 2.14	3.54 $\pm$ 1.15	3.46 $\pm$ 1.83
3	1.66 $\pm$ 0.89 ²	1.86 $\pm$ 1.16	3.07 $\pm$ 1.93	2.03 $\pm$ 1.95
Гиперозид	2.66 $\pm$ 2.03 ^{2,3,4,5}	3.06 $\pm$ 1.83	5.29 $\pm$ 1.23	6.62 $\pm$ 1.20
Изокверцитрин+рутин	3.85 $\pm$ 1.89	5.13 $\pm$ 3.00	5.24 $\pm$ 4.07	4.80 $\pm$ 0.63
Эллаговая кислота	1.73 $\pm$ 2.96	1.76 $\pm$ 2.03	2.43 $\pm$ 1.40	4.30 $\pm$ 4.96
Гликозид эллаговой к-ты	9.45 $\pm$ 5.76 ^{1,2}	13.08 $\pm$ 3.63	15.72 $\pm$ 2.31	15.06 $\pm$ 5.29
Авикулярин	8.51 $\pm$ 3.32 ¹	6.28 $\pm$ 3.38	5.36 $\pm$ 4.88	4.96 $\pm$ 3.18
10	1.84 $\pm$ 1.02	2.02 $\pm$ 1.83	1.47 $\pm$ 1.04	1.11 $\pm$ 0.89
Кверцитрин	1.10 $\pm$ 1.20	0.93 $\pm$ 1.66	0.83 $\pm$ 0.42	0.56 $\pm$ 0.43
Астрагалин	0.45 $\pm$ 0.17	0.39 $\pm$ 0.18	0.57 $\pm$ 0.31	0.60 $\pm$ 0.18
Кверцетин	0.97 $\pm$ 1.05 ^{3,5,6}	1.15 $\pm$ 0.90	1.05 $\pm$ 0.16	2.45 $\pm$ 1.41
Кемпферол	0.18 $\pm$ 0.11	0.17 $\pm$ 0.12	0.13 $\pm$ 0.10	0.18 $\pm$ 0.08
Суммарное содержание ФС	35.2 $\pm$ 8.5 ^{2,3}	39.3 $\pm$ 8.3	46.2 $\pm$ 13.9	47.7 $\pm$ 4.2

Методом корреляционного анализа выявлена довольно тесная связь ($R \geq 0.28$) между содержанием ФС в листьях *P. fruticosa*, некоторыми климатическими показателями (осадки за период IV-X, сумма температур $>10^{\circ}\text{C}$, среднемесячная инсоляция на горизонтальной поверхности) и абсолютной высотой над ур. м. Показано, что с повышением абсолютной высоты местообитания, увеличением инсоляции, снижением температуры и количества осадков в листьях возрастало накопление компонентов 1, 3, гиперозида, суммы изокверцитрина и рутина, кверцетина и гликозида эллаговой кислоты, а авикулярина, напротив, снижалось. Повышение синтеза большинства индивидуальных ФС, в основном, флавонолов хорошо согласуется с литературными данными о протекторной роли именно флавонолов как фотозащитных соединений фенольной природы [9-10].

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о приспособительных изменениях фенольного состава растений в процессе филогенеза. В осуществлении приспособительных функций фенольных соединений отмечена неравноценная роль отдельных компонентов. В некоторых (крайних) условиях существования выявлены факты несовпадения динамики накопления гликозидов и их агликонов.

Список литературы.

1. Wink M. Evolution of secondary metabolites from an ecological and molecular phylogenic perspective // *Phytochemistry*, 2003.V.64. Pp. 3-19.
 2. Turunen M., Latola K. UV-B radiation and acclimation in timberline plants // *Environmental Pollution*, 2005, V. 137. I. 3. Pp. 390-403.
 3. Stark S., Julkunen-Tiitto R., Holappa E., Mikkola K., Nikula A. Concentrations of Foliar Quercetin in Natural Populations of White Birch (*Betula pubescens*) Increase with Latitude // *J Chem.Ecol.*, 2008.V.34. Pp.1382–1391.
 4. Минаева В.Г. Флавоноиды в онтогенезе растений и их практическое использование. — Новосибирск, 1978. 253с.
 5. Куминова А.В. Растительный покров Алтая. — Новосибирск: СО АН СССР, 1960. — 450с.
 6. Седельников В. П. Высокогорная растительность Алтае-Саянской горной области. Новосибирск, 1988. 188 с.
 7. Соколов С. Я., Связева О. А., Кубли В. А. Род *Dasiphora* Raf. – Курильский чай // *Ареалы деревьев и кустарников СССР*. Л., 1980. Т.2. С.85-86.
 8. Триль В.М., Стальная М.И., Иващенко Т.А. Курильский чай в природе и культуре (перспективы его использования). Майкоп, 2008. 264 с.
 9. Соловченко А. Е., Мерзляк М. Н. Экранирование видимого и УФ излучения как механизм фотозащиты у растений // *Физиология растений*. 2008. Т.55. №6. С. 803-822.
 10. Загоскина Н.В., Алявина А.К., Гладышко Т.О. и др. Образование фенольных соединений и фотосинтетический электронный транспорт в каллусных культурах чайного растения подвергнутого действию УФ-В радиации//VI Международный симпозиум «Новые и нетрадиционные растения и перспективы их использования», 2005. Москва – Пущино. Т. 3. С. 293-297.
-

УДК 581.1.

ОБ ОБРАЗОВАНИИ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В КУЛЬТИВИРУЕМЫХ *IN VITRO* РАСТЕНИЯХ КАРТОФЕЛЯ, ТРАНСФОРМИРОВАННЫХ ГЕНОМ Δ 12-АЦИЛ-ЛИПИДНОЙ ДЕСАТУРАЗЫ

Цыпурская Е.В., Загоскина Н.В.

ФГБУН Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва,
Россия, тел. (499)9779433, e-mail: biopenol@gmail.com

К числу важнейших приоритетных научных направлений относится получение («создание») растений, обладающих повышенной продуктивностью и устойчивостью к стрессовым воздействиям [1]. И в этом плане большой интерес вызывает картофель – один из главных компонентов пищевого рациона человека. Генно-инженерными методами уже получены его трансгенные формы, используемые как в фундаментальных, так и прикладных целях [2, 3].

Для трансформации растений успешно используются гены десатураз, отвечающих за образование двойных углеводородных связей в липидах мембран [4]. Следует отметить, что десатуразам свойственна специфичность действия. Так, Δ 9-ацил-липидная десатураза формирует первую двойную связь в молекулах жирных кислот, тогда как Δ 12-ацил-липидная десатураза (*desA*) – вторую.

Введение десатураз вызывает изменения в составе жирных кислот, накоплении липидов, устойчивости к окислительному стрессу и гипотермии [5, 6]. Кроме того, у трансформированных растений отмечен более низкий по сравнению с контролем уровень перекисного окисления липидов (ПОЛ), что свидетельствует об изменениях в «работе» антиоксидантных систем. И в этом случае большой интерес вызывают фенольные соединения – низкомолекулярные компоненты антиоксидантной системы растений [7]. Целью нашего исследования являлось изучение накопления этих веществ в контрольных и трансформированных геном *desA* растениях картофеля.

Материалы и методы. Объектом исследования являлись культивируемые в условиях *in vitro* растения картофеля (*Solanum tuberosum* L.) раннеспелого сорта Скороплодный, а так же полученные из них три трансгенные линии, экспрессирующие ген Δ 12-ацил-липидной десатуразы (*desA*) цианобактерии *Synechocystis* sp. PCC 6803 (DAL-1 – DAL-3). В векторе, использованном для трансформации растений,

последовательность гена *desA* трансляционно слита с последовательностью репортерного гена *licBM3*, кодирующего термостабильную лихеназу, под контролем сильного конститутивного промотора 35S РНК CaMV. Контролем служили нетрансформированные растения того же сорта, а также растения геном *licBM3* (*LicB*). Все трансформированные растения были получены в результате совместной работы сотрудников Отдела биологии клетки и биотехнологии и группы геномики растений ИФР РАН[8].

Растения размножали микрочеренкованием, используя агаризованную питательную среду Мурасиге-Скуга, содержащую 2% сахарозы [9]. Их выращивали в пробирках в камере фитотрона ИФР РАН при +24°C и 16 ч освещении (люминесцентные лампы белого света ЛБ-80, освещенность 100 моль квантов/м-с) в течении 5 недель. При проведении исследований использовали растения 45 дневного возраста

Для извлечения фенольных соединений использовали высечки из листьев растений, которые подвергали экстракции 96%-ным этанолом (45°C, 45 мин). Гомогенат центрифугировали при 13000 об/мин в течение 10 мин. Осадок отделяли и в полученном этанольном экстракте спектрофотометрическим методом определяли содержание суммы растворимых фенольных соединений с реактивом Фолина – Дениса (поглощение при 725 нм) и содержание флавоноидов - с 0,5%-ным водным раствором хлористого алюминия (поглощение при 415 нм) [10]. Калибровочные кривые в обоих случаях строили по рутину.

В экспериментах использовали трехкратные биологические и аналитические повторности измерений. В таблицах и на рисунках представлены средние арифметические значения определений и их стандартные отклонения.

Результаты и обсуждение. Фенольные соединения относятся к одним из наиболее распространенных в клетках высших растений представителей вторичного метаболизма [11,12]. Достаточно часто уровень их накопления связывают с функционированием хлоропластов [11]. Именно эти клеточные органеллы ответственны за биосинтез флавонолов – наиболее распространенных в надземных частях высших растений представителей флавоноидов[13, 14]. В связи с этим мы проанализировали не только суммарное содержание фенольных соединений, но и содержание флавоноидов в листьях контрольных и трансгенных растений картофеля.

Введение гена *desA* в растения картофеля приводило к повышению накопления фенольных соединений (рис. 1). Так,

суммарное их содержание в трансформантах превышало значения в контроле на 20-30%. В большей степени уровень полифенолов возрастал в линиях DAL-1 и DAL-3. Следовательно, в этом случае в листьях линии DAL-2 накопление этих вторичных метаболитов, хотя и превышало таковое контроля, но незначительно (примерно на 10%).

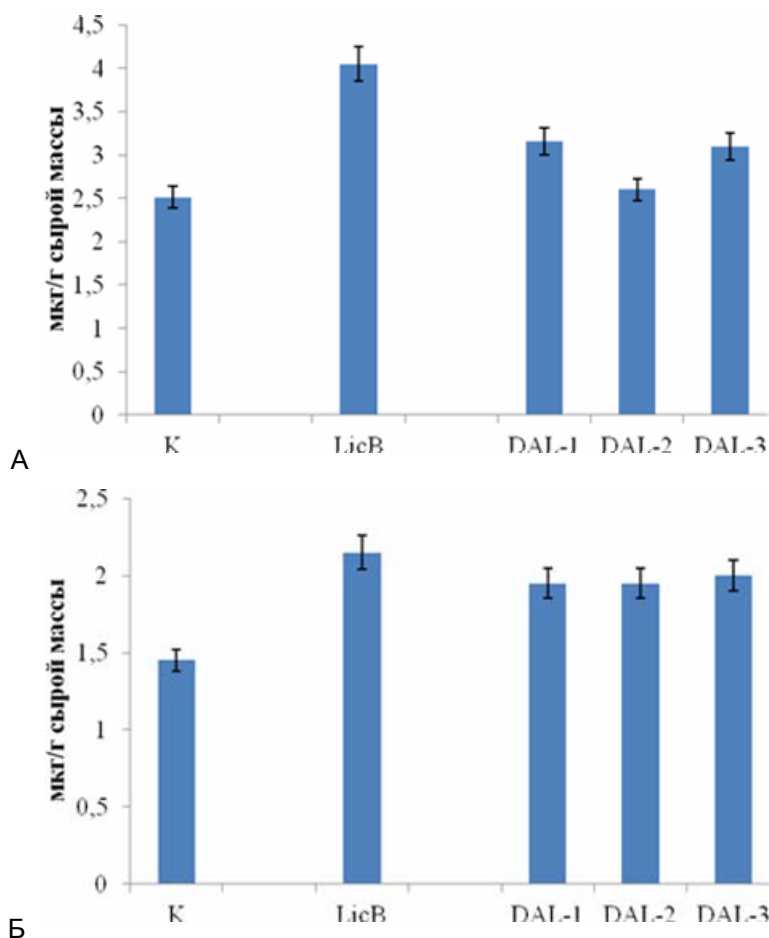


Рис. 1 Содержание суммы фенольных соединений (А) и флавоноидов (Б) в листьях контрольных (К) и трансформированных геном *desA* растений картофеля (LicB – трансформация репортерным геном *licBM3*; DAL-1 – DAL-3 –линии, трансформированные геном *desA*).

Что же касается содержания флавоноидов, основных компонентов зеленых тканей растений, то в листьях всех трансгенных линий оно было одинаковым и превышало уровень контроля почти на 30%. Важен и тот факт, что повышалась и их доля в суммарном содержании полифенолов. Так, если в листьях контрольных растений она составляла 58%, то в трансформантах – достигала 63%. Это свидетельствует об активации флавоноидного пути биосинтеза полифенолов.

У линии LicB количество как суммы фенольных соединений, так и в случае флавоноидов, было самым высоким по отношению ко всем остальным линиям и превышало контрольные значения. И эта реакция растений на введение гена LicB на уровне фенольного метаболизма представляет большой интерес.

Все вышеизложенное свидетельствует о том, что встройка гена *desA* в геном растений картофеля вызвала изменения в фенольном метаболизме, что проявлялось в повышении как суммарного накопления фенольных соединений, так и накопления флавоноидов – одних из основных компонентов фенольного комплекса листьев картофеля.

Выражаем благодарность кбн Н.О. Юрьевой за любезное предоставление растений из коллекции ИФР РАН и проф. И.В. Голденковой-Павловой за ценные советы и помощь в работе.

Список литературы

1. Лутова Л.А. Генетическая инженерия растений: свершения и надежды // Сорос. образоват. журн. 2000. Т. 6. № 10. С. 10–17.
2. Маали А.Р., Голденкова-Павлова И.В., Юрьева Н.А., Пчёлкин В.П., Цыдендамбаев В.Д., Верещагин А.Г., Дерябин А.Н., Трунова Т.И., Лось Д.А., Носов А.М. Жирнокислотный состав липидов растений картофеля, трансформированных $\Delta 12$ -десатуразы *Synechocystis* sp. PCC6803 // Физиология растений. 2007. Т. 54. С. 678–685.
3. Wendt T., Doohan F., Mullins E. Production of *Phytophthora infestans* - Resistant Potato (*Solanum tuberosum*) util ising *Ensiferadhaerens* OV14 // Transgenic Res. 2012. V. 21. P. 567–578.
4. Лось Д.А. Десатуразы жирных кислот. М.: Научный мир, 2014. 373с.
5. Демин И.Н., Дерябин А.Н., Синькевич М.С., Трунова Т.И. Введение гена *desA* $\Delta 12$ -ацил-липидной десатуразы цианобактерии повышает устойчивость растений картофеля к окислительному стрессу, вызванному гипотермией // Физиология растений. 2008. Т. 55. С. 710–720.
6. Вячеславова А.О., Бердичевец И.Н., Тюрин А.А., Шимшилашвили Х.Р., Мустафаев О., Голденкова-Павлова И.В. Экспрессия гетерологичных генов в растительных системах: новые возможности // Генетика. 2012. Т. 48. № 11. С. 1067–1079.

-
7. Прадедова Е.В., Ишеева О.Д., Саляев Р.К. Классификация системы антиоксидантной защиты как основа рациональной организации экспериментального исследования окислительного стресса у растений // Физиология растений. 2011. Т. 58. С. 177-185.
 8. Герасименко И.М., Сахно Л.А., Головач И.С., Кищенко Е.М., Синдаровская Я.Р., Шимшилашвили Х.Р., Шелудько Ю.В., Голденкова-Павлова И.В. Получение растений, несущих гены ацил-липидных десатураз растений *Synechocystis* sp. PCC 6803// Инф. Вестн. ВОГиС. 2010. Т. 14. С. 127–133.
 9. Рассадина. Г.В., Юрьева Н.О., Ефремова Н.Н. Методические указания по получению трансформированных растений картофеля./ ВНИИКС РАСХН. 1995. 25 стр.
 10. Олениченко Н.А., Загоскина Н.В. Ответная реакция озимой пшеницы на действие низких температур: образование фенольных соединений и активность L-фенилаланинаммиак-лиазы // Прикладная биохимия и микробиология. 2005. Т. 41. С. 600-603.
 11. Запрометов М.Н. Фенольные соединения: Распространение, метаболизм и функции в растениях. М.: Наука, 1993. 272 с.
 12. Bidel L.P.R., Coumans M., Baissac Y. et al. Biological activity of phenolics in plant cells // Recent advances in polyphenol research / Eds Cantos Buelga C., Escribano Bailon M.T., Lattanzio V. Iowa, USA: Wiley-Blackwell, 2010. V. 2. P. 163–205.
 13. Запрометов М.Н., Загоскина Н.В. (1987) Еще об одном доказательстве участия хлоропластов в биосинтезе фенольных соединений // Физиология растений. 1987. Т.34. С. 165-172.
 14. Запрометов М.Н., Николаева Т.Н. Способность изолированных хлоропластов из листьев фасоли осуществлять биосинтез фенольных соединений // Физиология растений. 2003. Т. 50. С. 699-702.
-

УДК 577.127:547.973

ПОЛИВАРИАНТНЫЙ ХАРАКТЕР НАКОПЛЕНИЯ ФЛАВОНОИДОВ РАСТЕНИЯМИ ЮЖНОГО ЗАУРАЛЬЯ

Щербаков А.В., Усманов И.Ю., Фазезова Г.Ф.

ФГБОУ ВПО Башкирский государственный университет, Россия, Уфа,
+7(347)229-9671, humanist314@rambler.ru

Ключевые слова: флавоноиды, пластичность, Южное Зауралье, многомерные экологические ниши.

Актуальность. Южное Зауралье характеризуется большим набором ландшафтных, почвенных и биологических параметров, который позволяет определить этот регион как эндемичный [1]. Экосистемы Южного Зауралья в полной мере обладают ландшафтным и трофическим разнообразием [2]. Кроме того,

территория Южного Зауралья характеризуется многочисленными геохимическими аномалиями [3]. В почвах и подпочвенных породах отмечены резкие колебания Cu, Zn, Co, Cd, Fe, S, Na, Ni, Pb, B, Mg, As Mn и др. [4].

В этих условиях адаптации растений обеспечиваются через независимый запуск первичных адаптивных реакций (ПАР). При большом числе первичных адаптивных реакций число их комбинаций может быть очень велико [5, 6, 7]. Большое число ПАР и возможность их независимой реализации делает возможным формирование альтернативных сценариев повышения надежности и адаптивности растения.

Флавоноиды играют важную роль в защите растений от различных стрессов, вызванных неблагоприятными условиями окружающей среды [8, 9, 10, 11]. Несмотря на всеобщее признание адаптивной роли флавоноидов, общепринятая схема регуляции их накопления условиями среды не разработана.

Цель работы. Изучить межвидовую, межпопуляционную и внутривидовую дифференциацию накопления флавоноидов растениями в эколого-ценотических условиях Южного Зауралья.

Объекты и методы. Объектами полевых исследований служили следующие виды растений, собранные на территории Бамакского, Хайбуллинского, Белорецкого, Кугарчинского и Зилаирского районов РБ: *Juniperus sabina* L.- можжевельник казацкий; *Achillea nobilis* L. -тысячелистник благородный; *Achillea millefolium* L. - тысячелистник обыкновенный; *Glycyrrhiza korshinskyi* Grig. - солодка Коржинского;

Методы исследования. Хроматографический анализ флавоноидов методом ВЭЖХ проводили на системе Waters Breeze со спектрофотометрическим детектором на длине волны 254 и 275 нм. Калибровку проводили с применением соответствующих стандартов соединений (производитель - «Sigma-aldrich»). Полярографическое определение Cu, Zn, Cd, Mn, Ni, Co, Mo, As и других тяжелых металлов в образцах почвы и растений определялось методом обратной полярографии на приборе «Полярограф Экотест-2». Уровень содержания Na, Fe, S, B, Al в верхнем горизонте (0-20 см) почвы определяли в водной вытяжке пробы (100 мг) на атомно-абсорбционном спектрометре (Hitachi 207, Japan).

Результаты и обсуждение. Было показано, что химический состав местобитаний растений может кардинально различаться при любых расстояниях между ними – как на расстояниях в несколько десятков километров, так и на расстояниях в несколько метров. Показано варьирование содержания химических элементов

в пределах геохимических провинций Южного Зауралья относительно среднестатистических показателей их содержания в литосфере - Кларков.

Таблица 6
Встречаемость отдельных соединений у исследованных видов

Juniperus sabina																																				
№ об	Время выхода, мин																																			
	2	2,5	2,6	2,7	3,1	3,3	3,8	3,9	4	4,2	4,4	4,6	5,2	6,4	7	7,3	7,4	8,1	8,3	8,9	9,1	9,4	9,8	10,2	10,8	11,2	11,4	11,7	12,5	12,8	13,4	13,6	15	33		
A		+	+	+	+	+	+	+	+		+		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	29
B	U	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	23	
C		+	+	+	+	+	+	+			+	U																						+	24	
D			+		+			+		+	+																							+	20	

Achillea nobilis																																			
№ об	Время выхода, мин																																		
	1,1	1,6	2,8	3,5	3,9	4,1	4,4	4,6	4,8	5,4	6,7	7,4	8,2	8,5	9,6	10	11,3	13	13,2	13,8	17,5	18,2												Σ	
P																																			22
A	+	U	+	+	+	+		+	+			+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+													15
B			+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+													13
C			+	+	+	+	+	+		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+													12
D	+		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	U	U	U	U													16

Glycyrrhiza korshinskyi																																		
№ об	Время выхода, мин																																	
	1,7	3,4	3,7	3,9	4,2	4,6	4,9	5,13	5,5	6,2	6,9	7,3	8,5	8,9	10,1	10,2	10,7	11,2	11,3	11,6	12,7	13,3	13,6	15,4	15,8	16,7	17,4	17,8	18,14	19,1		Σ		
P																																		30
A	+	+	+	+	+	U	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	U	U	+	+	+	+	+	+	+	+	U						15
B	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	U						15
C	+	+	+	+	+	U		U	+	+	+	+	+	+	+	+	U	U		+	+	+	U	U	U	U	U							16
D	U	+	+	+	+	+	+	+	+	+	U		+		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+							13

Примечание: A-D - индивидуальные растения из разных популяций
U - метаболиты, встречающиеся только у одного растения. Цветом выделены метаболиты, встречающиеся у всех растений.

В этих условиях у растений было обнаружено от 10 до 35 отдельных флавоноидов, в зависимости от вида, среди которых были идентифицированы кверцетин, дигидрокверцетин, рутин, нарингин, нарингенин, физетин, морин, гесперетин и байкалеин. У всех исследованных видов были зарегистрированы значительные внутри – и межпопуляционные различия в накоплении флавоноидов. При этом у всех исследованных видов не были обнаружены хроматограммы, полностью совпадающие по числу пиков соответствующих соединений, таким образом, химический состав каждого растения в отдельном местообитании может быть уникален.

Межвидовые различия накопления флавоноидов у исследованных видов (табл. 1):

J. sabina. Из 33 зарегистрированных флавоноидов только 2 соединения (6%) обнаружены у единичных растений, в то же время количество обнаруженных у всех растений флавоноидов составило 10 (30 %);

G. korshinskyi. Из 30 зарегистрированных флавоноидов половина соединений обнаружена у единичных растений, в то же время количество обнаруженных у всех растений флавоноидов составило 7 (23%);

A. nobilis. Данный вид по вышеперечисленным показателям занимает промежуточное положение: всего зарегистрировано 22 флавоноида, из которых у единичных растений обнаружено 4 (18,2%). При этом количество обнаруженных у всех растений флавоноидов составило 5 (22%).

Полученные данные были интерпретированы, как характерное для растений проявление принципа независимости формирования отдельных адаптивных и нейтральных реакций на меняющиеся условия среды и функционирования в растениях децентрализованных схем управления морфофизиологическими параметрами.

Список:литературы

1. Golovin A., Krinochkin L., Pevzner V. Geochemical specialization of bedrock and soil as indicator of regional geochemical endemicity. A. Golovin, L. Krinochkin, V. Pevzner // Geologija.- 2004.- Vol. 48.- P. 22-28.
2. Шагиева Ю. А., Суюндуков Я. Т., Кулагин А. Ю. Загрязнение черноземов степного Зауралья тяжелыми металлами в условиях горнорудного производства /Ю.А. Шагиева, Я.Т. Суюндуков, А.Ю. Кулагин // Материалы Международной конференции" Татищевские чтения: актуальные проблемы науки и практики": Профессиональная этика журналиста. – Тольятти: Волжский университет им. В.Н. Татищева, 2004. – С. 154.

-
3. Опекунов А. Ю., Опекунова М. Г. Геохимия техногенеза в районе разработки Сибайского медно-колчеданного месторождения/А. Ю. Опекунов, М. Г. Опекунова // Записки горного института.- 2013.- т. 203.- С.196 – 204.
 4. Эндемичные экологические ниши Южного (Башкирского) Зауралья: многомерность и флуктуирующие режимы. /Усманов И.Ю и др.// Вестник БГАУ.- Уфа: Изд-во БашГУ.- 2014.- №1.- С. 16-21.
 5. Кулагин Ю. З. Преадаптации и экологический прогноз / Ю.З. Кулагин. //Журн. общ. биол. – 1974. – Т. 35. – №. 2. – С. 223-227.
 6. Миркин, Б. М., Усманов И.Ю., Наумова Л.Г. Типы стратегий растений: место в системах видовых классификаций и тенденции развития/ Б. М. Миркин, И. Ю. Усманов, Л. Г. Наумова. //Ж. общей биол.-1999.- LX.- С. 581-595.
 7. Миркин, Б. М., Наумова Л.Г., Современное состояние основных концепций науки о растительности/ Б. М.Миркин, Л.Г. Наумова.- Уфа: АН РБ, Гилем, 2012.- 488 с.
 8. Высочина Г. И. Фенольные соединения в систематика и филогении семейства гречишных / Г. И. Высочина.- Новосибирск: Наука, 2004. – 240 с.
 9. Запрометов М. Н. Фенольные соединения и их роль в жизни растения. LVI Тимирязевское чтение/ М. Н. Запрометов.- М.: Наука, 1996 – 45 с.
 10. Органическая химия./ Тюкавкина Н.А. и др. .- Спец. курс в 2 кн. Кн.2. М.:Дрофа, 2008. -592 с.: илл.
 11. Радиопротекторная активность металлокомплексов фенольных соединений в присутствии альгитана натрия / М. И. Валуева и др. // Материалы докладов VIII международного симпозиума «Фенольные соединения: фундаментальные и прикладные аспекты», Москва, 2-5 октября 2012 г.- М.: изд-во ИФР РАН, РУДН, 2012.- С.35.
-

ХИМИЧЕСКИЙ МУТАГЕНЕЗ И ИЗМЕНЕНИЯ В БИОСИНТЕЗЕ ФЛАВОНОИДОВ В ЦВЕТКАХ ПЕТУНИИ

**Широкова А.В.¹, Зайцев Г.², Костяновский Р.Г.³, Крутиус О.Н.³,
Кадоркина Г.К.³**

¹Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия, e-mail: glandularia@yahoo.com)

²Институт Винограда и Вина “Магарач”, Ялта, Россия

³Институт химической физики им. Н.Н. Семенова РАН, Москва, Россия, e-mail: kost@chph.ras.ru

Химический мутагенез – широко известный метод селекции и изучения особенностей развития растений. Его использование позволяет получать формы с новыми сочетаниями различных признаков и формы, вообще не встречавшиеся в природе [1]. Удобным объектом для химического мутагенеза являются

декоративные растения, поскольку у них описано большое число различных признаков и достаточно подробно изучены особенности биосинтеза вторичных метаболитов, в том числе флавоноидов [2].

Петуния гибридная представляет собой широко известный и повсеместно выращиваемый в цветниках и различных типах контейнеров декоративный однолетник. Ее также успешно используют в качестве модельного объекта для изучения закономерностей развития цветка и его окраски [3,4]. У петунии, как и у большинства цветковых растений, «комбинация» антоцианов и фенольных соединений из класса флавоноидов обуславливает окраску цветков, плодов, стеблей, а также защищает растения от стрессовых воздействий, чаще всего температурных.

Целью работы было изучение действия мутагенов на биосинтез флавоноидов в цветках петунии и выявление специфичности их действия.

Материалы и методы. *Обработка семян петунии растворами мутагенов и выращивание растений.* Семена петунии (*Petunia ×hybrida* Voss.) сортов 'Snow Ball' (чисто-белые цветки) и 'Heavenly Rose' (розовые цветки) выдерживали 16 час в воде (контроль) или водных растворах мутагенов: этилметансульфоната (ЭМС; 0,3; 0,2; 0,04; 0,03; 0,02%), диметилсульфата (ДМС; 0,08; 0,04; 0,02%) и диэтилсульфата (ДЭС; 0,05; 0,025). Обработанные семена (по 300 шт. в каждом варианте) промыли в теплой проточной воде в течение 40 мин, подсушивали до сыпучего состояния и высевали в перлит в оранжерее. Все сеянцы в фазе 2-х семядольных листьев пикировали в ящики, а затем высаживали рассаду на участок Кропотовской биостанции ИБР РАН в Каширском районе в середине мая. В первом поколении было посажено около 1300 растений. Семена M_2 и последующих поколений получали с помощью искусственного опыления полностью развитых окрашенных бутонов, которые после опыления помещали в изоляторы из лутрасила. На каждом из 10-20 растений линии опыляли от двух до пяти цветков в зависимости от семенной продуктивности растений.

Изучение состава антоцианидинов и флавонолов. Венчики петунии, в том числе мутантных растений поколения M_4 , фиксировали 3%-ным раствором HCl в этаноле. Надосадочную жидкость отделяли и использовали для определения содержания и состава антоцианидинов и флавонолов. Для получения агликонов, экстракты подвергали кислотному гидролизу 6N HCl при 100°C от 30 мин до 4 час.

Для проведения ВЭЖХ использовали хроматограф фирмы Agilent Technologies (модель 1100), укомплектованный проточным

вакуумным дегазатором G1379A, 4-х канальным насосом градиента низкого давления G13111A, автоматическим инжектором G1313A, термостатом колонок G13116A, диодноматричным детектором G1316A, флуоресцентным детектором G1315B. Хроматографическая колонка размером 2,1 × 150 мм, заполненная октадецилсилильным сорбентом, зернением 3,5 мкм, «ZORBAX» SB-C18. Элюенты: А – 0,6% водный раствор трифторуксусной кислоты, В – метанол, С- 0,6 % раствор трифторуксусной кислоты в 70 % водном метаноле. Скорость подачи подвижной фазы - 0,25 мл/мин.

Результаты и обсуждение. *Изменения окраски цветков.* Как показали наблюдения, в вариантах с сортом 'Snow Ball' мутагены вызвали изменение окраски цветка уже у растений, выращенных из обработанных семян (M_1). Во всех вариантах обработки было отмечено наличие от 2 до 8 (6-12%) от числа выживших растений с розоватыми или бледно-сиреневыми бутонами. Причем, у таких растений цветки были, как правило, белыми. При обработке семян сорта 'Heavenly Rose' растения с измененной окраской цветка были получены в M_2 . В основном, это были белые «штрихи» и пятна различной формы на розовом фоне, более светлого или темного тона, по сравнению с окраской дикого типа.

В последующих поколениях, полученных после обработки мутагенами семян сорта 'Snow Ball', были выявлены специфические особенности их влияния на изменение окраски цветка. В потомстве M_2 от воздействия ЭМС в высоких концентрациях были обнаружены формы, главным образом, с окраской цветков дикого типа – белой, но с густой сеткой зеленоватых или желтых жилок у края трубки, а в концентрации 0,02% - с венчиками сиреневых и розовых оттенков различной интенсивности, двуцветная форма с розовым центром и фиолетово-синими долями отгиба венчика, с сиреневыми штрихами и пятнами на сиренево-розовом фоне. В вариантах с ДЭС также наблюдалось увеличение разнообразия окрасок: за счет форм со сиреневыми и сиренево-розовыми цветками с зеленоватыми жилками. Причем, при понижении температуры воздуха, на бледно-сиреневых венчиках появлялись фиолетовые пятна. Такие же формы были обнаружены и в вариантах с 0,03% ЭМС.

В мутантных линиях, полученных в результате обработки семян сорта 'Heavenly Rose', отчетливые контрастные изменения окраски были отмечены только в M_3 . Во всех вариантах у большинства растений сохранилась розовая окраска дикого типа, но появились формы с фиолетово-синими увеличивающимися от

цветка к цветку пятнами на светло-розовом фоне. Эти изменения также отмечены при понижении температуры воздуха. В поколении М₃-М₄ были выделены линии, и исследован состав флавоноидных пигментов в цветках нескольких из них.

Таблица.

Состав антоцианидинов (АН) и флавонолов (ФЛ) в цветках мутантных линий поколения М₄ петунии (мг/100г сырого веса).

Мутаген	сорт SB	ЭМС 0,02		
№ линии	дикий тип	33-9-7-12	33-9-7-30	33-13-1-3
Окраска цветка / Агликон	Белый	Светло-фиолетовая	Сиреневая	Светло-розовая
Дф	0,075	36,115	2,975	0,0
Ци	0,0	0,255	0,520	0,730
Пт	0,0	8,210	1,715	0,360
Пн	0,0	0,0	0,160	2,550
Мв	0,0	0,265	0,0	0,0
Пл	0,0	0,0	0,0	0,0
Всего АН	0,075	44,845	5,370	3,640
Кв	237,49	209,720	397,810	7,280
Кф	25,995	94,890	77,240	13,820
Всего ФЛ	263,485	304,610	475,050	21,100

Мутаген	ДЭС 0,025	ДЭС 0,025	сорт HR	ДЭС 0,025	ДЭС 0,05
№ линии	54-18-28-22	54-67-10-19	дикий тип	53-38-38-4	56-3-15-2
окраска цветка / Агликон	Голубовато-сиреневая	Густо-фиолетов.-синяя	Розовая	сиренев., темно-сирен. штрихи	бледно-розов. с синими пятнами
Дф	1,780	39,190	0,000	0,740	1,020
Ци	0,0	0,730	2,520	0,510	0,300
Пт	2,670	16,490	0,160	2,300	0,530
Пн	0,0	0,0	13,110	0,960	0,670
Мв	0,370	1,250	0,000	1,460	3,950
Пл	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Всего АН	4,820	57,660	15,790	5,970	6,470
Кв	231,310	284,490	54,500	352,620	11,930
Кф	35,400	41,230	12,220	77,580	23,560
Всего ФЛ	266,710	325,720	66,720	430,200	35,490

Флавоноиды цветков петунии. Как показал биохимический анализ, в цветках растений сорта 'Snow Ball' дикого типа содержатся незначительные количества дельфинидина, кверцетин и кемпферол (табл.). У мутантов с окрашенными цветками, фенотипически сходные оттенки могут обуславливать различные композиции антоцианов, в зависимости от использованного мутагена. При этом количества антоцианидинов варьируют в цветках в широком диапазоне. Так, в вариантах с ЭМС были обнаружены дельфинидин, петунидин, цианидин и пеонидин, в то время как в вариантах с использованием ДЭС – первые три и мальвидин вместо пеоницина. В вариантах с ЭМС – основной тон обуславливает дельфинидин, его количество в целом, а в вариантах с ДЭС выросло также количество петунидина и мальвидина – метилированных производных дельфинидина.

В цветках растений сорта 'Heavenly Rose' присутствовали пеонидин, цианидин и незначительное количество петунидина. В мутантных формах отмечены значительные изменения в их составе: количество пеоницина снижалось в 10 и более раз, а окраску обуславливали дельфинидин, петунидин и мальвидин.

Отметим также, что в цветках большинства изученных линий количество флавонолов выше, чем антоцианов. Среди флавонолов в большинстве образцов, как и в контроле, преобладал кверцетин. Однако в некоторых образцах, независимо от мутагена, в 2 раза выше было содержание кемпферола (образец №56-3-15).

Таким образом, химический мутагенез вызывает значительные изменения в биосинтезе флавоноидов в цветках петунии. При этом наблюдается специфичность действия мутагенов на уровне накопления определенных антоцианов и преобладании тех или иных окрасок. Следовательно, для решения селекционных задач можно использовать определенные мутагены, получая с высокой частотой растения с «заданной» окраской цветка.

Список литературы

1. Рапопорт И. А. Химические мутагены в селекционных и генетических опытах. сб. Эффективность химических мутагенов в селекции. М., Наука, с. 3-35. 1976
2. Holton T., Cornish E. Genetics and biochemistry of anthocyanin biosynthesis, Plant Cell, V. 7, p.1071-1083, 1995
3. Saito H., K. Kuchitsu, Y. Ozeki, M. Nakayama. Spatiotemporal metabolic regulation of anthocyanin and related compounds during the development of marginal petal petals in *Petunia hybrida* (Solanaceae). J. Plant Res. 2007, V. 120, p.563-568

-
4. Ando T, Takahashi M., Nakajima N., Yoya Y., Watanabe H., Kokubun Y., Tatsusawa F. (2004) Delphinidin accumulation is associated with abnormal flower development in petunia. *Phytochemistry* 65:2219-2227
-

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ КОМПЛЕКСЫ *L*-ТИРОЗИНА С ТРИТЕРПЕНОВЫМИ ГЛИКОЗИДАМИ

Яковишин Л.А.¹, Гришковец В.И.², Корж Е.Н.¹

¹ФГБОУ ВО «Севастопольский государственный университет»,
Севастополь, Россия, +7(8692)435-106, e-mail: chemsevntu@rambler.ru

²ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И.
Вернадского», Симферополь, Россия

В последнее время все больше внимания уделяется получению молекулярных комплексов различных биологически активных веществ, в том числе и фенольной природы, с растительными сапонинами и созданию на их основе лекарственных препаратов [1]. Были получены комплексы гликозидов с рядом канонических протеиногенных аминокислот [2, 3]. Особенности молекулярного комплексообразования фенольной аминокислоты *L*-тирозина (Tyr) с сапонинами в водных растворах не изучены.

Нами получены молекулярные комплексы состава 1:1, включающие Tyr и тритерпеновые гликозиды: моноаммонийную соль глицирризиновой кислоты (3-О-β-*D*-глюкуронопиранозил-(1→2)-О-β-*D*-глюкуронопиранозида глицирретиновой кислоты) (глицирам, GC), α-хедерин (3-О-α-*L*-рамнопиранозил-(1→2)-О-α-*L*-арабинопиранозид хедерагенина, Hed) и хедерасапонин С (3-О-α-*L*-рамнопиранозил-(1→2)-О-α-*L*-арабинопиранозил-28-О-α-*L*-рамнопиранозил-(1→4)-О-β-*D*-глюкопиранозил-(1→6)-О-β-*D*-глюкопиранозид хедерагенина, HedC). Глицирризиновая кислота является преобладающим тритерпеновым гликозидом корней солодки, а Hed и HedC – главные гликозиды плющей. Комплексообразование исследовано методом УФ-спектроскопии в водных растворах при pH 7,2.

Известно, что токсическое действие тритерпеновых гликозидов приводит к подавлению развития растений. Такой активностью обычно обладают монодесмозидные гликозиды [4]. Исследовали влияние гликозидов, Tyr и их комплексов на всхожесть и развитие ростка овса посевного *Avena sativa* L.

Установили, что 100%-ную всхожесть имеют только те семена, на которые действовал раствор Tyr. Всхожесть семян,

которые были предварительно выдержаны в смесях гликозидов Hed и HedC с Туг, составила, соответственно, 44% и 80%. Это в 2,09 и 1,15 раза меньше, чем у тех, которые вымачивались в воде. Кроме того, смесь гликозида Hed с Туг подавляла всхожесть семян в большей степени, чем раствор индивидуального гликозида Hed. Семена, обработанные комплексом гликозида HedC с Туг и раствором индивидуального гликозида HedC, имеют близкую всхожесть. Следовательно, смесь гликозида Hed с Туг подавляет всхожесть семян наиболее значительно.

Список литературы

1. Толстикова Т.Г., Толстиков А.Г., Толстиков Г.А. На пути к низкодозным лекарствам // Вестник РАН. – 2007. – Т. 77, №10. – С. 867–874.
 2. Yakovishin L.A., Grishkovets V.I., Schroeder G., Borisenko N.I. In: *Functionalized molecules – synthesis, properties and application*; Ed. Rybachenko V.I. Donetsk: Schidnyj wydawnyczyj dim, 2010. – Chap. 4. – P. 85–103.
 3. Pilipenko V.V., Sukhodub L.F., Aksyonov S.A., Kalinkevich A.N., Kintia P.K. ²⁵²Cf Plasma desorption mass spectrometric study of interactions of steroid glycosides with amino acids // *Rapid Commun. Mass Spectrom.* – 2000. – Vol. 14. – P. 819–823.
 4. Podolak I., Galanty A., Sobolewska D. Saponins as cytotoxic agents: a review // *Phytochem. Rev.* – 2010. – Vol. 9. – P. 425–474.
-

САЛИЦИЛОВАЯ И ЖАСМОНОВАЯ КИСЛОТЫ В РЕГУЛЯЦИИ НАКОПЛЕНИЕ ЛИГНИНА В РАСТЕНИЯХ ПШЕНИЦЫ ПРИ ИНФИЦИРОВАНИИ КОРНЕВОЙ ГНИЛЬЮ

**Яруллина Л.Г.¹, Касимова Р.И.¹, Ахатова А.Р.¹, Яруллина Л.М.²,
Исаев Р.Ф.³, Максимов И.В.¹**

¹ФГБУН Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН,
Уфа, РФ, тел.: +7(347)2356088; e-mail: yarullina@bk.ru

²ФГБОУ ВПО Башкирский государственный университет, Уфа, РФ
+7(347)273-6778; e-mail: Lilechek89_89@mail.ru

³ФГБОУ ВПО Башкирский государственный аграрный университет, Уфа,
РФ, +7(347)2289177; e-mail: bgau@ufanet.ru

Развитие устойчивости растений против возбудителей грибных болезней осуществляется в результате включения многих неспецифических защитных реакций, таких как генерация АФК, синтез защитных белков [1, 2]. Одна из форм АФК, перекись водорода, опосредует лигнификацию клеточной стенки, является сигнальной молекулой в запуске каскада защитных реакций

растений, а в высокой концентрации может подавлять рост патогенов [3].

Показано, что предобработка семян пшеницы стрессовым фитогормоном салициловой кислотой (СК) значительно снижает развитие на растениях корневых гнилей [4, 5]. Учитывая широкую распространенность и высокую пластичность гриба *B. sorokiniana* весьма важное теоретическое и практическое значение имеют исследования защитной роли СК и ЖК к такому своеобразному патогену, в том числе, в результате интенсификации процессов синтеза лигнина.

Исследования проводили на растениях пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Башкирская 24. Суспензию конидий *B. sorokiniana* наносили на отрезки 7 – суточных листьев, помещенные во влажную камеру. Степень поражения определяли по площади пораженных участков листьев через 4 сут после инокуляции [6]. Часть семян перед посевом обрабатывали (3 ч) растворами СК и ЖК в концентрации 10^{-5} М и 10^{-7} М соответственно [7]. Для измерения концентрации H_2O_2 растительную ткань гомогенизировали в 0.025 М фосфатном буфере, pH 6.2 (ФБ), в соотношении 1:3, центрифугировали 20 мин при 10000 g. В супернатанте определяли содержание H_2O_2 с использованием красителя ксиленолового оранжевого [8]. Отложение лигнина оценивали по автофлуоресценции фиксированных в 96 % этаноле листьях. Использовали возбуждающий светофильтр с эмиссией 380 нм и пропускающий фильтр с длиной волны 460 нм [9]. Материал предварительно обрабатывали 50 мМ NaOH (15 мин) для удаления феруловых кислот. В каждом варианте изучали по 5-15 зон инфицирования.

Анализ развития возбудителя корневой гнили *B. sorokiniana* на листьях пшеницы показал, что в контроле площадь пораженных участков листьев составляла $23,8 \pm 1,7$ мм². У растений, предобработанных СК и ЖК - $19,1 \pm 1,4$ мм² и $16,3 \pm 1,2$ мм² соответственно. Предобработка растений СК повышала уровень H_2O_2 в листьях в среднем на 25% относительно контроля, предобработка ЖК - в среднем на 30%, причем, в варианте опыта с использованием СК максимальные значения этого показателя наблюдались через 24 ч от начала наблюдений, в варианте с использованием ЖК – через 48 ч.

Развитие *B. sorokiniana* сопровождалось появлением интенсивной зеленой флуоресценции, указывающей на накопление лигнина, в устьичных клетках и в прилежащих к ним эпидермальных и мезофилльных клетках в зоне роста гриба. В варианте опыта с предобработкой растений СК и ЖК количество

флуоресцирующих клеток возрастал на 20-35% соответственно.

Таким образом, инфицирование листьев пшеницы грибом *B. sorokiniana* вызывает накопление H_2O_2 и отложение в клеточной стенке лигнина. СК и ЖК регулируют эти процессы, поэтому предобработка растений исследуемыми соединениями повышает устойчивость пшеницы к патогену, в том числе в результате ускорения процессов лигнификации.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке гранта Министерства образования и науки РФ № 14.604.21.0016 по приоритетному направлению "Науки о жизни" (RFMEFI60414X0016).

Список литературы

1. Suzuki N, Miller G, Morales J, Shulaev V, Torres M. A, Mittler R. Respiratory burst oxidases: the engines of ROS signaling // *Curr Opin Plant Biol.* 2011. V. 14. P. 1–9.
2. Креславский В.Д., Лось Д.А., Аллахвердиев С.И., Кузнецов Вл В. Сигнальная роль активных форм кислорода при стрессе у растений // *Физиология растений.* 2012. Т.59. № 2. С.163-178.
3. Makandar R., Nalam V., Chaturvedi R., Jeannotte R., Sparks A.A., Shah J. Involvement of salicylate and jasmonate signaling pathways in arabidopsis interaction with *Fusarium graminearum* // *Mol. Plant-Microbe Interaction.* 2010. V. 23. № 7. P. 861–870.
4. Исаев Р.Ф. Специфичность взаимодействия геномов пшеницы и эгиплопа с возбудителем твердой головки. Автореф дисс. канд. биол. наук. Москва. 1988. 182 с.
5. Shabana Y.V., Abdel-Fattah G.M., A.E. Ismail, Y.M. Rashad. Control of brown spot pathogen of rice (*Bipolaris oryzae*) using some phenolic antioxidants // *Brazilian J Microbiol.* 2008. V. 39. P. 438-444.
6. Дементьева М.И. Фитопатология. М.: Агропромиздат, 1985. 397 с.
7. Шакирова Ф.М. Неспецифическая устойчивость растений к стрессовым факторам и ее регуляция. Уфа: Гилем, 2001. 160 с.
8. Bindschedler L.V., Minibayeva F., Gardner S.L., Gerrish C., Davies D.R., Bolwell G.P. Early signalling events in the apoplastic oxidative burst in suspension cultured French bean cells involve cAMP and Ca^{2+} // *New Phytologist.* 2001. V. 151. P. 185-194.
9. Плотникова Л.Я., Штубей Л.Я. Влияние салициловой и янтарной кислот на цитофизиологические реакции пшеницы, инфицированной бурой ржавчиной // *Цитология.* 2009. Т. 51. №1. С. 41–50

РАЗДЕЛ 3.

**ФЕНОЛЬНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ
И ИХ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ В МЕДИЦИНЕ И
ПРОМЫШЛЕННОСТИ**

ВИНОГРАДНЫЕ ВЫЖИМКИ – СЫРЬЕ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ КОНДИТЕРСКИХ ПОЛУФАБРИКАТОВ

Абибуллаева Г.А., Брановицкая Т.Ю.

Таврическая академия Крымского федерального университета имени В.И.
Вернадского, Симферополь, Крым, Россия, тел. +7978-862-95-40, e-mail:
gulsumka199388@gmail.com

Виноград является ценным сырьем для получения целого ряда пищевых продуктов, благодаря высокому содержанию биологически активных компонентов. В рамках современной теории здорового питания актуальна разработка продуктов питания повышенной пищевой ценности. Перспективным и доступным сырьем, богатым биологически значимыми веществами является виноград и продукты его переработки [1].

В винограде и продуктах его переработки особый интерес представляют до 50 наименований фенольных, биологически активных веществ с радиопротекторными, бактерицидными, антиоксидантными, антисклеротическими, нейростимулирующими, тонизирующими и другими функциональными свойствами. Фенольные соединения предотвращают или уменьшают риск развития дегенеративных процессов у человека, таких как сердечно-сосудистые заболевания диабет, ожирение, рак. Известно, что полифенолы винограда, обладающие антиоксидантными свойствами, эффективно связывают свободные радикалы [2].

В вопросе рационального использования виноградного сырья наиболее остро стоит проблема переработки вторичного сырья виноделия - виноградной выжимки, что обусловлено биохимическими, экономическими и экологическими аспектами [3, 4].

Большой интерес для кондитерской промышленности представляют полуфабрикаты из кожицы винограда, содержащие в своем составе натуральные красящие вещества, вместо синтетических красителей.

Целью настоящей работы явилось научное обоснование технологии производства кондитерских полуфабрикатов из отходов винодельческой промышленности путем регулирования в них состава компонентов полифенольного комплекса.

Для достижения поставленной цели были детально рассмотрены и изучены качественный и количественный состав фенольных соединений винограда.

Материалы и методы.

Объектом исследований служили выжимки винограда сортов - Мерло, Тайфи розовый, Молдова и Алиготе.

Исследования проводились с использованием стандартных методов анализа. Массовую концентрацию фенольных веществ определяли колориметрическим методом с использованием реактива Фолина – Чокальтеу при длине волны 670 нм.

Определение массовой концентрации красящих веществ (антоцианов) заключается в стабилизации окраски суслу подкисленным до pH 1-2 этиловым спиртом при длине волны 530 нм [5].

Все данные математически достоверны и статистически обработаны.

Результаты и обсуждение.

Для кондитерской промышленности наибольший интерес представляет кожа винограда как источник биологически активных веществ: витаминов, макро и микроэлементов, фенольных соединений, растительной клетчатки, органических кислот. Кроме того, одними из важных компонентов виноградного сырья, наиболее интересными для кондитерской промышленности, являются фенольные вещества.

Данные полученные при изучении массовой концентрации фенольных веществ выжимок винограда, представлены на рис. 1.

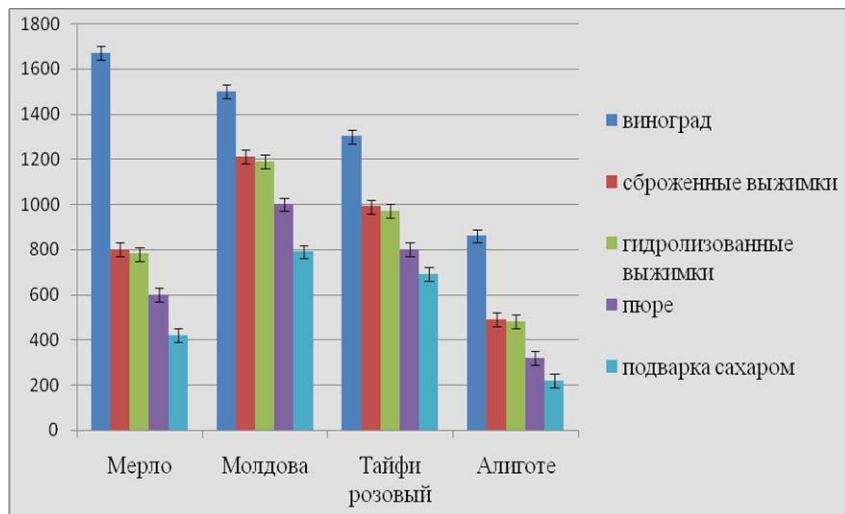


Рис. 1. Динамика изменения содержания фенольных веществ винограда, на разных стадиях производства полуфабрикатов, мг/дм³.

Из полученных данных видно, что максимальное содержание фенольных веществ наблюдается у сорта Молдова, а наименьшее – у Алиготе, это связано с содержанием антоцианов. Показано, что в вино из твердых частей винограда, переходит только часть фенольных веществ. Большая же их часть остается во вторичных продуктах виноделия. Например, в винограде сорта Молдова фенольных веществ содержится 1500 мг/дм^3 , а в гидролизованной мезге остается 1190 мг/дм^3 , что на 21% меньше.

Исследованиями установлено, что у всех исследуемых сортов винограда в результате технологических процессов происходит снижение содержания фенольных веществ в конечном продукте по сравнению к свежему винограду. Но это не влияет на качество конечного продукта винограда и он не теряет своих биологических свойств.

При изучении содержания красящих веществ были полученные данные, представленные на рис. 2.

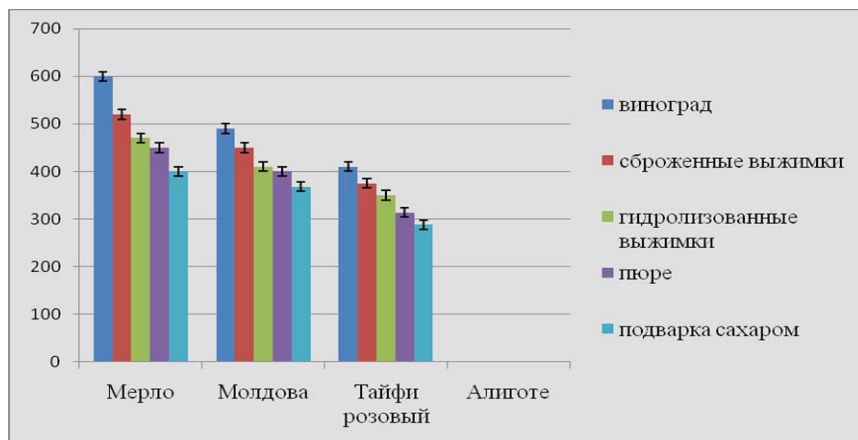


Рис. 2. Динамика изменения содержания антоцианов винограда, на разных стадиях производства полуфабрикатов, мг/дм^3 .

Анализируя данные по содержанию антоцианов видно, что у сортов винограда происходит уменьшение содержания антоцианов в конечном продукте на 33% и составляет 400 мг/дм^3 для сорта Мерло, 368 мг/дм^3 для сорта Молдова и 288 мг/дм^3 для сорта Тайфи розовый. Алиготе является белым сортом винограда и не содержит антоцианов.

Таким образом, полученные данные подтверждают, что исследуемые образцы виноградных выжимок характеризуются

высоким содержанием фенольных соединений, что позволяет использовать продукты переработки винограда для обогащения кондитерских изделий биологически активными веществами.

Закключение.

На основании исследований установлено, что выжимки исследуемых сортов винограда содержат в своем составе большое количество фенольных веществ, что дает возможность широко использовать их в кондитерской промышленности для получения пастилы и повидла. Полученные кондитерские продукты содержат натуральные красители, антиоксиданты, имеют оригинальные органолептические свойства, что в совокупности способствует экономии природных ресурсов и уменьшению загрязнения окружающей среды.

Список литературы

1. Наумова Л.Г. Биохимическая и диетическая характеристика столового винограда. / Л.Г. Наумова // Виноделие и виноградарство. – 2004. – № 1. – С. 36–38.
2. Барабай В.А. Биологическое действие растительных фенольных соединений: учебное пособие. / В.А. Барабай. – К.: Наукова думка, 1976. – 260 с.
3. Троицкий Б.Н. Фруктовые начинки для хлебобулочных и кондитерских изделий. / Б.Н. Троицкий, В.В. Письменный, А.И. Черкашин, Ю.Ю. Нецвет // Хлебопечение России. – 2004. – № 1. – С. 25–26.
4. Косюра В.Т. Основы виноделия. / В.Т. Косюра, Л.В. Донченко, В.Д. Надыкта. – М.: ДеЛипринт, 2004. – 440 с.
5. Гержикова В.Г. Методы технохимического контроля в виноделии / В.Г. Гержикова. – Симферополь: Таврида, 2001. – 624 с.

УДК 615.322

ВОЗМОЖНОСТЬ КОРРЕКЦИИ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА ПОЛИФЕНОЛЬНЫМИ КОМПЛЕКСАМИ КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУР ДАЛЬНЕВОСТОЧНЫХ РАСТЕНИЙ

Азарова О.В., Брюханов В.М., Зверев Я.Ф.

ГБОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет»,
Барнаул, Россия, (+7) 3852-24-12-35, kunaza00@mail.ru

В рамках решения проблемы расширения ассортимента фитопрепаратов в нефрологической практике динамично развивается биотехнологический способ получения фитопрепаратов на основе редких и исчезающих видов растений с ограниченным ареалом распространения. Кафедрой фармакологии в

сотрудничестве с научно-исследовательскими центрами Дальневосточного отделения РАН осуществляется комплексное изучение вторичных метаболитов полифенольной природы, полученных биотехнологическим способом. В исследованиях базовых направлений ренопротекции при поражениях почек иммуно-воспалительного, токсико-метаболического генеза: изучение диуретической, противовоспалительной, антиоксидантной и противомикробной активности, отобраны перспективные при заболеваниях почек клеточные культуры, содержащие полифенолы различных групп.

Процессы свободно-радикального окисления (СРО), сопровождающиеся снижением активности системы антиоксидантной защиты (АОЗ) и последующим развитием каскада нарушений, рассматриваются как общее ключевое звено патологических процессов в почке, вне зависимости от характера повреждающих факторов: ишемические, токсические, инфекционные, иммунные, воспалительные и др. Полифенольные соединения являются эффективными антиоксидантами, формирующими вторую линию антиоксидантной защиты согласно существующей классификации антиоксидантов [1]. В связи с этим, один из этапов исследований посвящен изучению воздействия полифенолов клеточных культур растений на процессы свободно-радикального окисления при воспроизведении различных моделей оксидативного стресса, результаты которых представлены в настоящей работе.

Объектами исследований служили комплексы полифенолов, извлеченные из культуры клеток незабудочника шелковистого *Eritrichium sericeum* Lehm. (культура Er-1), воробейника краснокорневого *Lithospermum erythrorhizon* Siebold & Zuss. (штамм BK-39 F) BCKK-BP № 36 (Boraginaceae); марены сердцелистной *Rubia cordifolia* L. RC-1 (Rubiaceae) BCKK-BP № 60; маакии амурской *Maackia amurensis* Rupr. et Maxim. (Fabaceae) (клеточный штамм A-18). Технология культивирования клеточной массы из вегетативных и репродуктивных органов дикорастущих растений дальневосточного региона разработана в Биолого-почвенном институте Дальневосточного отделения РАН. Экстрактивный комплекс на основе штамма маакии A-18 содержит 20 изофлавоноидов: изофлавоны и птерокарпаны, а также их моно-, диглюкозиды и малонилгликозиды [2]. Препараты незабудочника и воробейника представляют собой сухие экстракты клеточной культуры, содержащие олигомеры кофейной кислоты: розмариновую кислоту, рабдозиин и эритрихин, с суммарным содержанием не менее 70,5% [3]. Из культуры клеток марены

получен суммарный очищенный препарат семи антрахинонов с доминированием муньистина и пурпурина [4]. В дальнейшем суммарные препараты на основе полифенолов клеточных культур будут именоваться полифенольные комплексы клеточной культуры (ПФКК). Выделение, очистка и анализ полифенолов клеточных культур проведены в Тихоокеанском институте биоорганической химии Дальневосточного отделения РАН.

Фармакологическое исследование проводили на беспородных белых крысах обоего пола массой 180-210 г. Антиоксидантные свойства фитопрепаратов оценивали по их влиянию на интенсивность функционирования про- /антиоксидантной систем в условиях окислительного стресса, индуцированного формалиновым отеком задних конечностей и окклюзией почечной артерии животных. В течение 14 дней крысам вводили внутрижелудочно ПФКК в дозе 100 мг/кг (250 мг/кг для ПФКК воробейника). По окончании курса моделировали активацию СРО острой односторонней ишемией правой почки и субплантарным введением 0,2 мл 3% раствора формалина. После 4 часов ишемии и через трое суток после введения флогистика оценивали общую прооксидантную активность (ОПА) – суммарный показатель концентрации всех прооксидантов и свободно-радикальных метаболитов, а также концентрацию малонового диальдегида и других тиобарбитуратчувствительных продуктов (ТБРП), образующихся в ходе реакций перекисного окисления липидов (ПОЛ). Характеристикой антиоксидантного статуса служил суммарный показатель общей антиоксидантной активности (ОАА), отражающий активность неферментных антиоксидантов и внутриклеточных антиоксидантных ферментов: каталазы, супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы. Полученные результаты подвергали статистической обработке, используя параметрический (критерий Стьюдента) и непараметрический (критерий Вилкоксона-Манна-Уитни) методы.

При курсовом профилактическом введении ПФКК маакии отмечено подавление активности прооксидантной системы (показатель ОПА) в 1,4-1,9 раза ($p < 0,001$) по сравнению с группой животных с оксидативным стрессом. Действие сопровождалось снижением накопления вторичных продуктов пероксидации на 43 % ($p < 0,001$), что может свидетельствовать о радикалперехватывающей активности полифенолов маакии. Наличие антирадикального механизма согласуется с данными об антиоксидантной активности изофлавонов, в частности, генистеина, даидзеина, формонетина и их гликозидов, в отношении первичных АФК и вторичных липидных радикалов,

посредством чего обеспечивается ингибирование липидной перекисидации [5]. Данные полифенолы, а также их 4'-О- и 7-О-глюкозиды составляют 49,7 % от общего содержания изофлавонов клеточной культуры маакии [2]. Отсутствие стимулированной активности ферментативного звена АОЗ может свидетельствовать о предотвращении развития окислительного стресса за счет мощного антирадикального эффекта полифенолов маакии в условиях эксперимента.

Многочисленные сведения об антиоксидантной активности извлечений растительного сырья марены сердцелистной, в особенности корней марены делают обоснованным прогноз о влиянии доминирующей группы БАВ марены, выделенной из клеточной культуры растения, на про - / антиоксидантный статус. Вызванное антрахинонами клеточной культуры марены падение концентрации токсичных перекисных продуктов на 19 % ($p < 0,001$) по сравнению с оксидативным стрессом не приводило к деградации показателя ОПА, что минимизирует вклад прямого антирадикального механизма в реализацию антиоксидантного действия (табл. 1). Отсутствие выраженной активации ферментативного звена АОЗ под действием фитокомплексов марены на фоне истощения суммарного показателя ОАА предполагает более эффективное протекторное действие низкомолекулярных антиоксидантов, стимулированное данной группы полифенолов, по сравнению с ферментативной защитой.

Олигомеры кофейной кислоты, доминирующие в составе ПФКК растений семейства Бурачниковые, рассматриваются в качестве мощных антиоксидантных агентов, наиболее изученным из которых является розмариновая кислота [6]. В эксперименте изучено влияние олигомеров кофейной кислоты, содержащихся в клеточных культурах растений, на окислительно-восстановительный баланс организма животных в условиях окислительного стресса, вызванного ишемическим повреждением почки. ПФКК воробейника в дозе 250 мг/кг и ПФКК незабудочника в дозе 100 мг/кг продемонстрировали примерно равное по степени выраженности прооксидантное действие, приводящее к активации образования вторичных продуктов ПОЛ на 44-46 % ($p < 0,05$) по сравнению с группой животных в условиях патологии.

Многочисленные подтверждения нашел факт, что в некоторых условиях растительные фенолы наряду с антиоксидантной обладают прооксидантной активностью, проявление которой зависит не только от структуры фенолов, но и от их концентрации, а также от характера распределения в гетерофазных системах [7]. Так, флавоноловые антиоксиданты, в

структуре которых присутствует катехольное кольцо, становятся аутоокисдабельными в присутствии переходных металлов и могут генерировать не только семихиноны и другие прооксидантные интермедиаты, но и АФК [8]. Для доминирующего фенола – розмариновой кислоты, обнаружено прооксидантное действие с металл-зависимой генерацией АФК [9]. Выявленная способность полифенолов клеточных культур к стимулированному накоплению ТБРП, не подтвержденная адекватным достоверным ростом показателя ОПА по сравнению с таковой для ишемизированной почки, может свидетельствовать о накоплении прооксидантных интермедиатов, образующихся при аутоокислении полифенольных субстратов.

Таблица 1.
Изменение показателей про - / антиоксидантного статуса под действием полифенольных комплексов в условиях окислительного стресса, в %

Показатель	Полифенольные комплексы клеточной культуры			
	маакии	марены	воробейника	незабудочника
	воспалительный стресс		острая ишемия почки	
Содержание ТБРП, мкмоль/л	<u>57.14</u>	<u>80.95*</u>	<u>145.83*</u>	<u>144.44*</u>
ОПА, %	<u>72.55</u>	<u>102.16*</u>	<u>99.46*</u>	<u>108.08*</u>
Активность каталазы, %	<u>63.84</u>	<u>81.70*</u>	<u>172.25*</u>	<u>182.20*</u>
Активность глутатионпероксидазы, Ед/мг Нб	<u>86.01</u>	<u>80.25*</u>	<u>185.77*</u>	<u>188.26*</u>
Активность супероксиддисмутазы, %	<u>68.55</u>	<u>95.76*</u>	<u>170.86</u>	<u>136.42</u>
ОАА, %	<u>62.19*</u>	<u>47.38*</u>	<u>150.60*</u>	<u>151.57*</u>

Примечания

- 1 За 100% принято значение показателя с моделью окислительного стресса
- 2 Звездочками * обозначены статистически значимые различия по сравнению с интактной группой при $p < 0,05$
- 3 Подчеркнуты статистически значимые различия по сравнению с контрольной группой с окислительным стрессом при $p < 0,05$

Существенные изменения в балансе про - / антиоксидантной системы почек животных под воздействием полифенолов воробейника и незабудочника характеризовались достоверным ростом активности антиоксидантных энзимов, наиболее выраженным со стороны глутатионового звена антиоксидантной защиты на 86-88 % ($p < 0,001$) по сравнению с аналогичным показателем в условиях нефропатологии.

Повышенный ферментативный фон, по-видимому, связан со стимулированной полифенольными прооксидантами активацией первой линии антиоксидантной защиты, осуществляющей детоксикацию АФК каталазой, глутатионпероксидазой и супероксиддисмутазой. Накопление в условиях эксперимента данных ферментов, выработка которых регулируется по типу субстратной индукции, можно рассматривать как ответную реакцию системы АОЗ на прооксидантное действие интермедиатов полифенолов.

Дефицит ферментов, развивающийся при ишемии почки, компенсируется под влиянием фитокомплексов воробейника за счет повышения ферментативной активности на 71 ... 86 % ($p < 0,001$). При коррекции окислительного стресса фитокомплексами незабудочника со стороны ферментативной линии защиты установлена аналогичная ответная реакция, наиболее выраженная в отношении каталазы и глутатионпероксидазы, обеспечивающая увеличение пула антиоксидантных ферментов на 82-88 % ($p < 0,01$) по сравнению с показателями активности данных ферментов в условиях нефропатологии. Выявленная способность фитопрепаратов к стимуляции первой линии антиоксидантной защиты подтверждается закономерным ростом интегративного показателя ОАА. Кроме того, аналогичный профиль изменения показателей про - / антиоксидантного статуса, в частности, содержания ТБРП, активности глутатионпероксидазы и общего показателя ОАА в ишемизированной почке под действием фитокомплексов незабудочника и воробейника определяется родственным составом полифенолов клеточных культур данных растений, среди которых преобладают розмариновая кислота и тетрамер кофейной кислоты – рабдозиин.

Использование клеточных культур, содержащих различные полифенолы, способствует коррекции окислительного стресса. Механизмы и степень их корригирующего действия зависят от природы полифенольного антиоксиданта, генеза окислительного стресса и степени возникающего дисбаланса между процессами пероксидации липидов и антиоксидантной защиты при окислительном стрессе.

Список литературы

1. Gupta, V. K. Plants as natural antioxidants / V.K. Gupta, S.K. Sharma // Indian Journal of Natural Products and Resources. – 2006. – Vol. 5, № 4. – P. 326-334.

-
2. Isoflavonoid composition of a callus culture of the relict tree *Maackia amurensis* / S.A. Fedoreyev, V.P. Bulgakov, O.V. Grischenko et al. // J. Agricult. Food Chem. – 2008. – Vol. 56, № 16. – P. 7023-7031.
 3. Caffeic acid metabolites from *Eritrichium sericeum* cell cultures / S.A. Fedoreyev, M.V. Veselova, O.E. Krivoschekova et al. // Planta Med. – 2005. – Vol. 71, № 5. – P. 446-451.
 4. Anthraquinone production by callus cultures of *Rubia cordifolia* / N.P. Mischenko, S.A. Fedoreyev, V.P. Glazunov et al. // Fitoterapia. – 1999. – Vol. 70. – P. 552-557.
 5. Cassidy, A. Molecular mechanisms by which dietary isoflavones potentially prevent atherosclerosis / A. Cassidy, S.-P. Teresa, G. Rimbach // Expert reviews in molecular medicine. – 2003. – Vol. 5, № 30. – P. 1-15.
 6. Буданцев, А.Л. Розмариновая кислота: источники и биологическая активность / А.Л. Буданцев, Е.Е. Лесиовская // Растительные ресурсы. – 2012. – Т. 48, № 3. – С. 453-468.
 7. Electrochemical behavior and antioxidant and prooxidant activity of natural phenolics / A. Simić, D. Manojlović, D. Šegan et al. // Molecules. – 2007. – Vol. 12, № 10. – P. 2327-2340.
 8. Червяковский, Е.М. Роль флавоноидов в биологических реакциях с переносом электронов / Е.М. Червяковский, В.П. Курченко, В.А. Костюк // Труды Белорусского государственного университета. – 2009. – Т. 4, ч. 1. – С. 9-26.
 9. Prooxidant activity of rosmarinic acid: transition metal - dependent generation of reactive oxygen species / K. Muracami, M. Haneda, S. Qiao et al. // Toxicol. in vitro. – 2007. – Vol. 21, № 4. – P. 613-617.
-

УДК 615.322: 547.972+543.544

ИССЛЕДОВАНИЕ СОЦВЕТИЙ ПЕРСПЕКТИВНОЙ ПОПУЛЯЦИИ КАЛЕНДУЛЫ ЛЕКАРСТВЕННОЙ

**Афанасьева П.В.¹, Куркина А.В.¹, Куштель Д.А.², Мельникова
Г.В.², Никифорова О.И.²**

¹ГБОУ ВПО СамГМУ Минздрава России, Самара, Россия, (846)2603359,
appolinarija03@mail.ru

²Средне-Волжский филиал ГНУ ВИЛАР Россельхозакадемии

Календула лекарственная (*Calendula officinalis* L.) – широко культивируемое как лекарственное и декоративное растение в России и странах СНГ. Широкий спектр фармакологического действия соцветий календулы (противовоспалительное, регенерирующее, антимикробное) обусловлен содержанием различных классов биологически активных соединений (БАС), в том числе фенольных соединений, а именно флавоноидов (гликозиды кемпферола, кверцетина и изорамнетина) [1].

На наш взгляд, оптимальный подход к стандартизации соцветий календулы должен включать в себя анализ сырья на содержание доминирующих групп биологически активных веществ. В этой связи были разработаны методики качественного и количественного анализа соцветий ноготков на содержание флавоноидов с использованием метода ТСХ и спектрофотометрии [2, 3, 4].

По результатам фитохимических исследований доминирующим и диагностическим веществом соцветий календулы является флавоноид нарциссин [4]. Данное диагностическое вещество было впервые выделено из данного растения методом колоночной хроматографии и идентифицировано с использованием ^1H -ЯМР-, УФ-спектроскопии и различных химических превращений [3, 4]. Сравнение полученного нами доминирующего флавоноида с ГСО рутинном методом ТСХ (R_f около 0,4) в системе растворителей хлороформ-этанол-вода (26:16:3) по хроматографической подвижности показало, что выделенное соединение имеет другое значение R_f - около 0,45. Обнаружено, что нарциссин и рутин имеют близкие спектральные характеристики [4], что объясняет ошибочный поход к анализу сырья календулы, применяемый в зарубежных фармакопеях и направленный на обнаружение рутина [5, 6].

Цель работы - определение содержания суммы флавоноидов в соцветиях перспективной популяции календулы лекарственной.

Материалы и методы. Объектом исследования служили соцветия перспективной популяции календулы лекарственной, культивируемой на базе Средне-Волжского филиала ГНУ ВИЛАР в 2014 году, а также промышленные образцы сырья. Качественный и количественный анализы по определению суммы флавоноидов проводили с использованием разработанной ранее методики [7]. В качестве экстрагента использовали спирт этиловый 70%; соотношение «сырье-экстрагент» составило 1:30; время экстракции – 60 минут на водяной бане при температуре 85-90°C в течение 60 мин. Электронные спектры измеряли на регистрирующем спектрофотометре «Specord 40» (Analytik Jena).

Результаты и обсуждение. В основу количественного определения суммы флавоноидов в соцветиях календулы лекарственной положен метод дифференциальной спектрофотометрии. УФ-спектр водно-спиртового извлечения из соцветий календулы лекарственной перспективной популяции имеет характерный максимум при $\lambda_{\text{max}}=262\pm 2$ нм (флавоноиды) и «плечо» в области 330-350 нм (флавоноиды+гидроксикоричные

кислоты) (рис. 1). Кроме того, для раствора извлечения в присутствии $AlCl_3$ наблюдается батохромный сдвиг в области $408 \text{ nm} \pm 2 \text{ nm}$, характерный для рутина. В данной области спектра флавоноиды (нарциссин) имеют прямопропорциональную зависимость оптической плотности от концентрации. Данное обстоятельство позволяет использовать спектрофотометрию для количественного определения флавоноидов в пересчете на рутин.

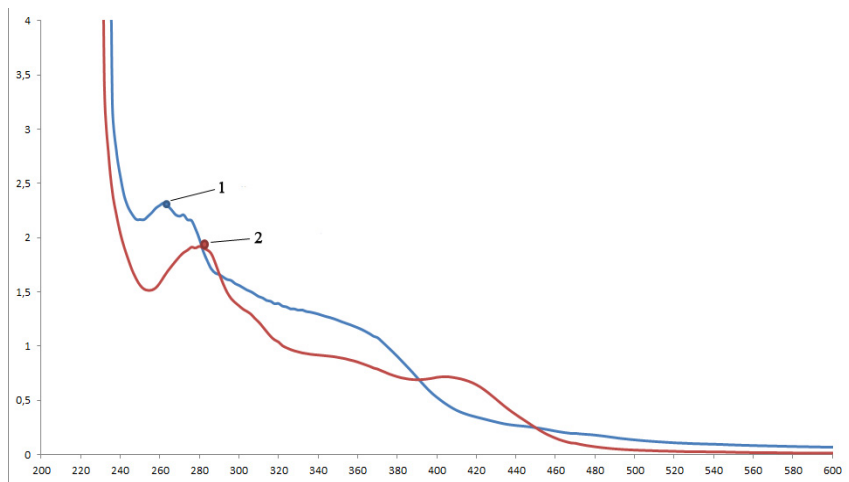


Рис. 1. Электронные спектры извлечения из соцветий перспективной популяции календулы лекарственной. 1 - исходный раствор извлечения; 2 - раствор извлечения в присутствии $AlCl_3$

Определено, что содержание суммы флавоноидов в соцветиях календулы лекарственной перспективной популяции составляет 4,31%; содержание суммы флавоноидов в соцветиях календулы промышленного образца составляет 2,80%. Соответственно, образцы календулы перспективной популяции, культивируемой на базе Средне-Волжского филиала ГНУ ВИЛАР имеют содержание флавоноидов в 1,5 раза больше с образцами календулы промышленного производства.

Таким образом, по результатам проведенного исследования образцы цветков календулы лекарственной перспективной популяции имеют достаточно высокое содержание флавоноидов и перспективны с точки зрения создания и производства новых лекарственных средств.

Список литературы.

1. Куркин В.А. Фармакогнозия. Учебник для студентов фармацевтических вузов (факультетов). 2-е изд., перераб. и доп. – Самара: ООО «Офорт», ГОУ ВПО «СамГМУ», 2007. – 1239 с.
 2. Куркин В.А., Шарова О.В., Афанасьева П.В., Вельмисева Л.Е., Федоров А.В. Перспективы создания высокопродуктивной сырьевой базы календулы лекарственной // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2012. – Т. 14. - № 1 (9). – С. 2249-2252.
 3. Шарова О.В. Фитохимическое исследование по стандартизации и созданию лекарственных средств на основе календулы лекарственной: Автореф. дис. канд. фармац. наук. – Самара, 2007. – 24 с.
 4. Шарова О.В., Куркин В.А. Флавоноиды цветков календулы лекарственной // Химия растительного сырья. - 2007. - № 1. - С. 65-68.
 5. British Pharmacopoeia, 6.0, Vol. III. Herbal drugs and herbal drug preparations. - 2009. – P. 6813-6816.
 6. European Pharmacopoeia, 6.0, 2008, «Herbal drugs».
 7. Куркин В.А., Шарова О.В. Разработка методик стандартизации цветков ноготков // Фармация. – 2007. - № 8. – С. 11-13.
-

ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ И АДАПТОГЕННОЙ АКТИВНОСТИ РАСТИТЕЛЬНЫХ ЭКСТРАКТОВ, СОДЕРЖАЩИХ ЭКДИСТЕРОИДЫ И ПОЛИФЕНОЛЫ

Безматерных К.В.¹, Володин В.В.², Володина С.О.², Смирнова Г.В.¹, Октябрьский О.Н.¹

¹ФГБУН Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, Пермь, тел. +7(342)212-20-86, e-mail: hydrargyrum@iegm.ru

²ФГБУН Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар, volodin@ib.komisc.ru

Воздействие различных неблагоприятных факторов, в том числе повышенной радиации, УФ-облучения, инфекционных болезней, постоянных стрессов, курения, алкоголизма и некачественного питания, приводит к снижению защитных сил организма, включая падение активности его антиоксидантных систем. В результате в организме возрастает концентрация свободных радикалов, избыток которых может приводить к серьёзным патологическим процессам. Показано, что диета, богатая растительными полифенолами, способствует снижению риска возникновения заболеваний, связанных с окислительным

стрессом [1]. Другой группой соединений, обладающих антиоксидантным, противолучевым, гематопротекторным, стресс-протекторным, нейротропным, и противодиабетическим действием являются экидистероиды [2].

Экидистероиды представляют собой самое распространенное и многочисленное семейство стероидных соединений в биосфере; они участвуют в жизнедеятельности практически всех классов организмов, выполняя множественные функции. Экидистероиды обнаружены в папоротниках, голосеменных и высших цветковых растениях, членистоногих, некоторых одноклеточных простейших, древних группах кишечнорастворимых, а также в моллюсках, червях и нематодах. В организм человека и других млекопитающих они поступают вместе с растительной пищей. В современной и традиционной медицине при профилактике и терапии многих болезней большое внимание уделяется использованию экстрактов лекарственных растений, содержащих в своем составе полифенолы и фитоэкидистероиды. В частности, на основе экстрактов растений, богатых экидистероидами, созданы препараты, обладающие адаптогенными свойствами. К ним относится экидистероидсодержащая субстанция Серпистен, разработанная коллективом лаборатории биохимии и биотехнологии Института биологии Коми НЦ УрО РАН. Серпистен получен из надземных частей серпухи венценосной (*Serratula coronata*) и представляет собой смесь 20-гидроксиэкидизона (20E) и инокостерона (In), являющегося структурным изомером 20E.

Известно, что микрофлора кишечника играет важную роль в метаболизме полифенолов, которые, в свою очередь, оказывают большое влияние на ее видовой состав и жизнедеятельность. Было отмечено, что некоторые полифенолы в определенных концентрациях могут ингибировать рост отдельных бактериальных групп, одновременно стимулируя рост других [3]. Влияние фитоэкидистероидов на микробиоту человека изучено в значительно меньшей степени: известно лишь, что они не оказывают отрицательного воздействия на ассоциации микроорганизмов, обитающих в кишечнике [4].

Целью настоящей работы являлось комплексное исследование антиоксидантного и адаптогенного действия экстрактов растений, содержащих экидистероиды и полифенолы, на бактерии *Escherichia coli*.

В данной работе была исследована антиоксидантная активность (АОА) экстрактов растений, перспективных источников биологически активных веществ (серпухи венценосной и пажитника сеного), биодобавки Серпистен и 20E. АОА исследовали с

использованием комплекса химических (определение общих полифенолов, связывание стабильных радикалов DPPH, хелатирующая активность, продукция H_2O_2) и микробиологических методов. Изучение АОА с помощью микропланшетной микробной тест-системы включало анализ устойчивости бактерий *E. coli* к пероксидному стрессу и мониторинг экспрессии генов *katG*, *katE*, *sodA* и *gpoS*, кодирующих каталазы HPI и HP II, Mn-супероксиддисмутазу и регулятор общего стрессового ответа, соответственно. Адаптогенный эффект проверяли при действии антибиотиков разных классов, определяя скорость наступления лизиса, способность к образованию колоний и минимальную ингибирующую концентрацию антибиотика (МИК).

Механизм антиоксидантного действия полифенолов основан на их способности связывать свободные радикалы и хелатировать ионы металлов, влияя на клеточные сигнальные пути и модулировать экспрессию антиоксидантных генов и активность ферментов [1,5,6]. Сигнальная и модулирующая роль полифенолов во многом связана с их прооксидантными свойствами: способностью к аутоокислению в аэробных условиях с образованием активных форм кислорода. Полученные нами результаты показали, что наиболее выраженную способность к ингибированию свободных радикалов DPPH и хелатированию ионов железа демонстрировали экстракты серпухи и пажитника. Аутоокисление компонентов экстрактов сопровождалось образованием пероксида водорода в концентрациях, достаточных для активации транскрипционного фактора OxyR и повышения экспрессии OxyR-контролируемого гена *katG*. Мониторинг экспрессии генов *katG* и *sodA* в штаммах, несущих слияния промоторов изучаемых генов со структурным геном β -галактозидазы, показал, что субстраты, содержавшие больше полифенолов и продуцировавшие больше H_2O_2 (серпуха и пажитник), способствовали более высокой индукции *katG* и *sodA*.

Показано, что присутствие экстрактов серпухи и пажитника в среде культивирования повышало МИК для антибиотиков стрептомицина, канамицина и цефотаксима, но не оказывало значительного влияния на МИК для ципрофлоксацина. Серпистен и 20Е не изменяли МИК для всех антибиотиков. В тесте на способность к образованию колоний все исследуемые субстанции проявляли протекторный эффект при действии ципрофлоксацина: 20Е повышал количество колониеобразующих единиц (КОЕ) в 5,6 раза, а экстракты серпухи, пажитника и Серпистен увеличивали КОЕ в 1,5 – 2 раза. 20-гидроксизекдизон также защищал бактерии от аминогликозидов стрептомицина и канамицина (10 и 40 мкг/мл для

обоих антибиотиков). При действии цефотаксима наибольший защитный эффект достигался в присутствии Серпистена (повышение КОЕ в 5 раз при концентрации антибиотика 10 мкг/мл). Защитное действие экстрактов серпухи и пажитника от этого антибиотика было выражено в меньшей степени.

Наши данные свидетельствуют о том, что радикалсвязывающая активность, хелатирующая способность и ингибирующее действие на рост бактерий, а также прооксидантные и антиоксидантные свойства у испытанных экстрактов были в значительной мере обусловлены присутствием полифенолов. Адаптогенное действие серпистена и 20Е на *E. coli* может быть связано с гормоно- или витаминоподобными свойствами. Требуется дальнейшее изучение конкретных молекулярных механизмов этого процесса.

Исследования поддержаны грантами РФФИ № 13-04-00706, 13-04-96039 и № 14-04-96031.

Список литературы.

1. Nijveldt, R.J. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications / Nijveldt, R.J., van Nood, E. van Hoorn, D.E.C. Boelens, P.G. van Norren, K. van Leeuwen, P.A.M. // *Am. J. Clin. Nutr.* 74:418-425; 2001.
 2. Lafont R. Practical uses for ecdysteroids in mammals including humans: an update / R. Lafont, L. Dinan // *Journal of Insect Science*, 2003. Vol. 3 (1). 30 P.
 3. Kemperman RA. Novel approaches for analysing gut microbes and dietary polyphenols: challenges and opportunities / R A Kemperman, S Bolca., L C Roger, E E Vaughan // *Microbiology*, 2010. Vol. 156. P. 3224-3231.
 4. Тимофеев Н. П. Достижения и проблемы в области изучения, использования и прогнозирования биологической активности экдистероидов / Н. П. Тимофеев // *Бутлеровские сообщения*, 2006. С. 1-30.
 5. Dell'Agli M. In vitro inhibition of human cGMP-specific phosphodiesterase-5 by polyphenols from red grapes / M Dell'Agli, G V Galli, U Vrhovsek, F Mattivi, E Bosisio // *J Agric Food Chem*, 2005. Vol. 53 (6), P. 1960–1965.
 6. Smirnova G. V. Influence of Polyphenols on *Escherichia coli* Resistance to Oxidative Stress / G. V. Smirnova, Z. Y. Samoylova, N. G. Muzyka, O. N. Oktyabrsky // *Free Radic. Biol. Med.* 2009. V. 46. P. 759-768.
-

ИДЕНТИФИКАЦИЯ КОМПОНЕНТОВ И АНАЛИЗ МАРКЕРНЫХ ПОЛИФЕНОЛОВ МУЛЬТИИСТОЧНИКОВЫХ ФИТОПРЕПАРАТОВ ПРОСТАНОРМ И ФИТО НОВО-СЕД

**Белобородов В.Л.¹, Воскобойникова И.В.², Савватеев А.М.¹,
Захарова Н.Г.¹, Колхир В.К.²**

¹ГБОУ ВПО Первый Московский государственный медицинский
университет им. И.М. Сеченова; Москва; Россия, тел: 8 (916)3522075,
organicchem@mma.ru

²ЗАО «ФПК ФармВИЛАР», Москва, Россия, тел: 8(916)6415238,
kolkhir@prostanorm.ru

В последние годы активно развивается новое перспективное направление — создание комплексных фитопрепаратов, включающих в себя несколько видов лекарственного растительного сырья (ЛРС). Комбинированное действие комплекса биологически активных веществ, содержащихся в мультиисточниковых препаратах, может обеспечить их фармакологические и терапевтические преимущества [1]. В рамках этой концепции в ЗАО «ФПК ФармВИЛАР» разработаны комплексные препараты Простанорм и Фито Ново-Сед.

Простанорм представляет собой водно-спиртовой экстракт (50% этанол), получаемый из смеси четырех видов ЛРС— травы зверобоя продырявленного *Hypericum perforatum* L.; травы золотарника канадского *Solidago canadensis* L., корня солодки *Glycyrrhiza glabra* L., корневищ с корнями эхинацеи пурпурной *Echinacea purpurea* (L.) Moench в равных соотношениях. В состав фитопрепарата включены растительные источники, обладающие простатотропной активностью, улучшающие микроциркуляторные процессы в предстательной железе, нормализующие мочеотделение, оказывающие противовоспалительное, капилляропротекторное, анальгетическое и антимикробное действие [2].

Фито Ново-Сед водно-спиртовой экстракт смеси из травы пустырника *Leonurus cardiaca* L.; травы Melissa лекарственной *Melissa officinalis* L.; плодов боярышника *Fructus Crataegi*, плодов шиповника *Fructus Rosae*, травы эхинацеи пурпурной *Herba Echinacea purpureae* (L.) Moench в массовых соотношениях 2:2:1:2:1. Препарат обладает седативными и анксиолитическими свойствами, оказывает кардиотоническое действие, повышает устойчивость сердечно-сосудистой системы к повышенной нагрузке [2].

Очевидно, что экстракт смеси ЛРС, составляющий основу каждого препарата, содержит сложный матрикс биологически активных веществ различной химической природы, что обеспечивает специфичность их фармакологической активности, но при этом обуславливает сложность разработки оптимальных путей их исследования и анализа.

Для определения состава фитопрепаратов использовали методологический подход, включающий следующие этапы:

- выявление, на основе анализа литературы, вероятных потенциальных компонентов экстракта смеси четырех (Простанорм) или пяти (Фито Ново-Сед) видов сырья и использование их как «свидетелей»;

- разработка и оптимизация способов разделения компонентов экстрактов методом ВЭЖХ;

- идентификация комплекса биологически активных соединений экстрактов смеси ЛРС;

- выявление маркерных соединений, характеризующих каждый вид сырья;

- оптимизация способа пробоподготовки и хроматографического анализа для целей количественного определения маркеров, в том числе в лекарственных формах.

Поиск лучшего хроматографического варианта показал, что для анализа всей совокупности компонентов препаратов необходим сложный состав подвижной фазы и нелинейный градиентный режим элюирования. С помощью фосфатного буфера (рН 3.0) поддерживается кислотность среды, которая подавляет диссоциацию фенольных и карбоксильных групп соединений смеси. Основным элюирующим компонентом на октадецилсилановых сорбентах является ацетонитрил, для увеличения селективности хроматографической системы при анализе соединений препарата Простанорм использовали метанол и диметилформамид, при анализе препарата Фито Ново-Сед – тетрагидрофуран и диметилформамид.

Спектрофотометрический анализ «свидетелей» и экстрактов показал, что оптимальное детектирование компонентов препарата Простанорм можно осуществлять на аналитических длинах волн — 255 и 320 нм, препарата Фито Ново-Сед 285 и 325 нм.

На хроматограммах образцов экстрактов препарата Простанорм, зарегистрированных одновременно на длинах волн 255 и 320 нм, наблюдается 92 пика, интенсивность которых превышает 0,3% по абсолютной калибровке. Большинство пиков характеризуется низкой интенсивностью. На хроматограммах

образцов препарата «Фито Ново-Сед» присутствуют 66 пиков, количество интенсивных пиков не превышает 20.

Идентификацию основных компонентов фитопрепарата проводили с участием стандартных образцов - "свидетелей" по двум критериям — *относительным временам удерживания* t_{Rx}/t_{Rstd} , (внутренний стандарт – ванилин (Простанорм), салициловая кислота (Фито Ново-Сед) и на основании *спектрального отношения* (*отношение оптических плотностей* A_{255}/A_{320} или A_{285}/A_{325} соответственно).

Идентифицировано 23 основных (мажорных) компонентов препарата Простанорм и 17 компонентов препарата Фито Ново-Сед. Оба фитопрепарата содержат большой набор полифенолов, таких как флавоноиды (агликоны и гликозиды), фенолкарбоновые кислоты, гидроксикоричные кислоты и их эфиры.

Для отнесения идентифицированных компонентов к конкретному виду растительного источника смеси нами [3] проанализированы хроматографические данные экстрактов каждого индивидуального вида ЛРСВ составе препарата Простанорм присутствуют такие компоненты экстракта *травы зверобоя* какрутин, ликвиритин, гиперидин, гиперфорин, кверцетин, гиперозид, хлорогеновая кислота. Из *корня солодки* в экстракте препарата обнаруживаются глицирризиновая кислота, ликвиритин, ликуразид, формонетин.

Экстракт *корней и корневищ эхинацеи* характеризуется каftarовой, хлорогеновой, цикориевой, коричной, кофейной, 3,4-дигидроксibenзойной, *транс*-o-гидроксикоричной, *транс*-феруловой, аскорбиновой кислотами, рутином, кверцетином. В сопоставлении с хроматограммами экстракта *травы золотарника* идентифицированы: рутин, кемпферол, кверцетин, изорамнетин, нарингенин, нарингенин-5-глюкозид, гликозиды кемпферола, изорамнетина, кверцетина.

В составе препарата Фито Ново-Сед и экстрактах каждого ЛРС его составляющих идентифицированы аскорбиновая, галловая, протокатеховая, каftarовая, хлорогеновая, ванилиновая, кофейная, цикориевая, розмариновая, коричная кислоты, рутин, нарингенин-5-глюкозид, гиперозид, лютеолин, кверцетин, апигенин, кемпферол.

Анализ экстрактов каждого отдельного вида ЛРС, входящего в состав препаратов, позволил выделить маркеры, характеризующие данный вид сырья в экстракте смеси. Для целей стандартизации мультиисточниковых препаратов необходимым и достаточным является количественный анализ маркерных соединений. Для решения этой задачи в применении к препарату Простанорм использовали комбинированный подход, включающий способ

пробоподготовки методом твердофазной экстракции (ТФЭ) и анализ методом ВЭЖХ.

Процесс пробоподготовки направлен на выделение маркеров и освобождение экстракта от мешающих количественному определению сопутствующих компонентов смеси. На примере модельной смеси маркеров (кафтаровая, хлорогеновая, кофейная, цикориевая, 2-гидроксикоричная, глицирризиновая кислоты, гиперозид, кверцетин, кемпферол, рутин) отработаны условия проведения ТФЭ и оценена ее эффективность. Удовлетворительные результаты получены при использовании сорбентов Discovery DSC-18 LT SPE. Проба сорбировалась на патроне емкостью 500 мг. Для фракционирования достаточно использовать два элюента — 0,2% раствор H_3PO_4 , pH 2,8 и 96% этанол.

Более полярные маркерные соединения (кафтаровая, хлорогеновая, кофейная, цикориевая и 2-гидроксикоричная кислоты, рутин и гиперозид) элюируются с патрона 0,2% раствором H_3PO_4 (фракция 1), менее полярные маркеры (кверцетин, кемпферол и глицирризиновая кислота) затем элюируются этанолом (фракция 2).

Для оптимизации анализа маркеров методом ВЭЖХ разработан способ, основанный на проведении двух разгонок с применением одной и той же подвижной фазы, но различающихся условиями изменения градиента потока. Для анализа первой фракции с патрона изменение градиента характеризуется в начальный момент времени медленным нарастанием наиболее сильного элюента — ацетонитрила, (что создает оптимальные условия анализа полярных соединений), а затем резким повышением доли ацетонитрила, для удаления с колонки сопутствующих примесей (градиент 1).

Для анализа второй фракции, содержащей менее полярные компоненты, применяли условия, характеризующиеся резким нарастанием доли ацетонитрила в начальный момент времени, а затем, при проведении анализа, пологим изменением (градиент 2). Фракционирование позволяет значительно «разрядить» хроматограмму по количеству пиков и оптимизировать условия количественного анализа.

Количественный анализ маркерных компонентов препарата Фито Ново-Сед удалось реализовать используя методический подход, включающий две последовательные разгонки методом ВЭЖХ на октадецилсилановом сорбенте в различных градиентных условиях с применением подвижной фазы, включающей ацетонитрил, тетрагидрофуран, фосфатный буфер и

диметилформамид. Первая разгонка (градиент 1) характеризуется медленным повышением доли сильного элюента - ацетонитрила. Эти условия оптимизированы для анализа аскорбиновой, хлорогеновой, кофейной кислоты, рутина. Вторая разгонка (градиент 2) характеризуется быстрым достижением более жестких условий элюирования. Эти условия оптимальны для анализа гиперозида, кверцетина, цикориевой, розмариновой и 2-гидроксикоричной кислот.

Представленный методический подход к анализу мультиисточниковых препаратов позволяет осуществить количественную оценку содержания маркеров как в сухих и жидких экстрактах препарата, так и в образцах различных производителей. Доминирующими маркерными компонентами препарата Простанорм, а, следовательно, и основными действующими соединениями являются (на примере образца серии 130513) в мг/мл экстракта: глицирризиновая ($15,70 \pm 0,64$), цикориевая ($3,04 \pm 0,07$) кислоты, рутин ($2,10 \pm 0,16$), гиперозид ($1,81 \pm 0,06$), хлорогеновая кислота ($1,18 \pm 0,04$), кверцетин ($1,02 \pm 0,02$), кафтаровая кислота ($0,89 \pm 0,05$), 2-гидроксикоричная ($0,49 \pm 0,03$), кофейная ($0,18 \pm 0,01$) кислоты, кемпферол ($0,06 \pm 0,01$).

Доминирующими компонентами препарата Фито Ново-Сед являются (на примере образца серия 040413 в мг/мл экстракта) аскорбиновая ($7,76 \pm 0,03$), розмариновая ($1,10 \pm 0,2$), хлорогеновая ($0,92 \pm 0,09$) кислоты, рутин ($0,84 \pm 0,07$), цикориевая кислота ($0,51 \pm 0,05$), гиперозид ($0,31 \pm 0,03$), кверцетин ($0,39 \pm 0,03$), кофейная ($0,25 \pm 0,03$), 2-гидроксикоричная ($0,14 \pm 0,38$) кислоты.

Список литературы:

1. Efferth T., Koch E., Complex interaction between phytochemicals. The multi-target therapeutic concept of phytotherapy//Curr Drug Targets, 2011, 12(1), P. 122-132.
 2. С.А. Вичканова, В.К. Колхир, Т.А. Сокольская и др. Лекарственные средства из растений (опыт ВИЛАР) — М.: АДРИС, 2009. //Простанорм, средство лечения хронического простатита — С. 220-239; //ФИТО НОВО-СЕД (PhytoNovo-Sedum) Седативное средство. — С.295-304.
 3. Белобородов В.Л., Захарова Н.Г., Савватеев А.М., Колхир В.К., Воскобойникова И.В. Разделение и идентификация компонентов комплексного фитопрепаратапростанорм методом ВЭЖХ//Химико-фармацевтический журнал, 2011, том 45, №9, С. 33-36.
-

ФЕНОЛКАРБОНОВЫЕ КИСЛОТЫ РАСТЕНИЙ РОДА ТИМЬЯН ФЛОРЫ СРЕДНЕЙ ПОЛОСЫ ЕВРОПЕЙСКОЙ ЧАСТИ РОССИИ

Бубенчикова В.Н.¹, Старчак Ю.А.²

¹ ГБОУ ВПО «Курский государственный медицинский университет», Курск,
Россия, 8-905-042-20-32, E-mail: fg.ksmu@mail.ru

² Орловский государственный университет Медицинского института, Орел,
Россия, yuliya-starchak@yandex.ru

Среди классов природных биологически активных веществ, значительное место занимают фенольные соединения. Фенольные соединения обладают широким спектром фармакологической активностью и малой токсичностью. Они оказывают противовоспалительное, противомикробное, антиоксидантное, спазмолитическое, Р-витаминное, противоаллергическое, сосудорасширяющее и другие виды действия [1].

К растениям, содержащим фенольные соединения, относятся растения рода тимьян. В них найдены флавоноидные соединения (апигенин, лютеолин, скутеллярин, кемпферол, кверцетин и их гликозиды), фенилпропаноиды, (тимол, карвакрол), оксикоричные кислоты (кофейная, розмариновая кофеилхинные кислоты) [2]. Однако, состав фенольных соединений в растениях рода тимьян флоры Средней полосы Европейской части России изучен неравномерно и неполно. Актуальными являются и вопросы стандартизации сырья. До настоящего времени сырье тимьяна ползучего оценивается только по содержанию экстрактивных веществ, извлекаемым спиртом этиловым 30%, что на наш взгляд не может в полной мере охарактеризовать качество сырья [3].

Согласно литературным данным антиоксидантная и противовоспалительная активности растений рода тимьян обусловлена фенольными соединениями, в том числе и фенолкарбонowymi кислотами [4,5].

В связи с этим целью нашей работы явилось качественное и количественное определение фенолкарбонowych кислот в траве растений рода тимьян, флоры Средней полосы Европейской части России.

Материалы и методы исследования.

В качестве объектов исследования была использована трава растений рода тимьян, заготовленная в фазу цветения в период 2011-2014 годов.

Для качественного определения фенолкарбонowych кислот

готовили спирто-водные извлечения экстракцией спиртом этиловым 70% при соотношении сырье-экстракт: 1:10 нагреванием на кипящей водяной бане в течение 30 минут.

Качественный состав гидроксикоричных кислот анализировали с применением хроматографии на бумаге и в тонких слоях сорбента. Для этого использовали хроматографическую бумагу Filtrak №1, №5, а также хроматографические пластинки «Silufol» и «Sorbfil». Анализ проводили в системе растворителей: хлороформ-метанол-вода-24:14:3; бутанол-кислота уксусная-вода-4:1:2; кислота уксусная 2%; кислота уксусная 5%. После хроматографирования хроматограммы анализировали в УФ-свете до и после обработки специфическими реактивами (пары аммиака; раствор натрия гидроксида) [6].

Разделение и идентификацию фенолкарбоновых кислот проводили на хроматографе Agilent Technologies 6890 с масс-спектрометрическим детектором 5973[7].

Количественное определение фенолкарбоновых кислот мы проводили 2 методиками: 1) спектрофотометрическое определение суммы фенолкарбоновых кислот по собственному поглощению в УФ-области спектра [8]; 2) определение методом дифференциальной спектрофотометрии, рекомендуемый Европейской фармакопеей для сырья некоторых представителей семейства яснотковые (лист розмарина, трава мелиссы и др.) [9].

Таблица 1.

Хромато-масс-спектрометрическое определение фенолкарбоновых кислот в траве растений рода тимьян

Наименование кислоты	Содержание фенолкарбоновых кислот				
	Тимьян Палласа	Тимьян меловой	Тимьян блошиный	Тимьян Маршалла	Тимьян двуликий
Ванилиновая	23,70	61,92	538,11	173,20	88,38
Бензойная	11,40	36,53	73,72	59,50	29,05
Фенилуксусная	10,10	7,60	23,81	21,50	3,36
Салициловая	35,20	60,13	252,23	194,63	96,10
Феруловая	85,10	150,59	274,69	303,10	240,90
п-оксибензойная	-	11,83	43,01	43,20	16,61
Сиреневая	15,80	35,78	315,82	134,63	90,55
Гентизиновая	-	19,74	92,47	97,17	28,00
р-кумаровая	-	-	260,09	40,15	-
4-гидрокси-3-метоксибензойная	-	-	-	32,35	18,67

Результаты и обсуждение

В исследованных растениях методом бумажной и тонкослойной хроматографии установлено наличие кофейной, розмариновой и феруловой кислот.

Проведенные нами исследования фенольных соединений методом ВЭЖХ подтвердили наличие кофейной и розмариновой кислот [10].

Проведенное хромато-масс спектрофотометрическое определение фенолкарбоновых кислот позволило установить наличие 10 фенолкарбоновых кислот, из которых преобладали ванилиновая, салициловая, феруловая. Во всех исследованных видах определено 6 кислот.

Разработку методик количественного определения суммы фенолкарбоновых кислот вели на образцах сырья тимьяна Маршалла.

При разработке методики количественного определения суммы фенолкарбоновых кислот на первом этапе нами изучен спектр поглощения спирто-водного извлечения из травы тимьяна Маршалла [9]. Согласно полученным данным максимум поглощения исследуемого извлечения находится при длине волны 325-330 нм и совпадает с максимумом поглощения розмариновой кислоты, что позволяет сделать вывод о том, что характер кривой поглощения спирто-водного извлечения из травы тимьяна Маршалла определяется в основном гидрооксикоричными кислотами.

При разработке методики количественного определения суммы фенолкарбоновых кислот изучены прежде всего условия экстракции: измельченность сырья – 2 мм, время экстракции – 75 минут, экстрагент – спирт этиловый 50%, соотношения сырье-растворитель 1:100.

Для определения количественного содержания суммы фенолкарбоновых кислот в траве тимьяна Маршалла нами предложено использовать в качестве стандартного образца розмариновую кислоту. Расчет содержания суммы фенолкарбоновых кислот в сырье вели с применением удельного показателя поглощения розмариновой кислоты в спирте этиловом 50% при длине волны 328 нм, который равен 500, а для варианта дифференциальной спектрофотометрии использовали длину волны 505 нм и удельный показатель розмариновой кислоты с реактивом Фолина, который равен 400 [12].

Описанные выше исследования позволили разработать методики количественного определения суммы фенолкарбоновых кислот в траве тимьяна Маршалла, методами прямой и

дифференциальной спектрофотометрии.

Разработанными методиками проведено определение суммы фенолкарбоновых кислот в траве различных видов тимьянов из различных мест произрастания (табл. 2).

Таблица 2.

Содержание суммы фенолкарбоновых кислот в сырье растений рода тимьян

Наименование растений	Место и год заготовки сырья	Содержание суммы фенолкарбоновых кислот, %	
		Метод прямой спектрофотометрии	Метод дифференциальной спектрофотометрии
Тимьян Палласа	Воронежская обл., 2012	7,11±0,27	2,76±0,07
	Белгородская обл., 2012	6,80±0,18	3,40±0,10
Тимьян меловой	Белгородская обл., 2011	6,23±0,13	4,01±0,12
	Воронежская обл., 2011	4,22±0,13	3,09±0,09
Тимьян ползучий	ЗАО Фирма «Здоровье»	4,86±0,19	2,26±0,09
Тимьян блошиный	Брянская обл., 2012	10,83±0,34	6,34±0,13
	Курская обл., 2012	8,23±0,23	7,84±0,26
Тимьян Маршалла	Орловская обл., 2011	5,26±0,19	3,27±0,11
	Орловская обл., 2012	5,03±0,12	3,52±0,13
	Белгородская обл., 2011	4,51±0,17	3,81±0,06
	Курская обл., 2013	5,08±0,16	3,92±0,10
Тимьян двуликий	Курская обл., 2013	3,27±0,002	1,04±0,04
	Курская обл., 2014	2,62±0,09	1,80±0,06

При этом установлено, что максимальное количество суммы фенолкарбоновых кислот определяется методом прямой спектрофотометрии и составляет от 2,62% до 10,83%; методом дифференциальной спектрофотометрии определено от 1,04% до 7,84% суммы фенолкарбоновых кислот. Принципиальным

недостатком первого метода является невысокая избирательность и точность, так как в этой области спектра могут поглощать и другие фенольные соединения, содержащиеся в растениях рода тимьян, в частности флавоноиды, что приводит к получению завышенных результатов.

Полученные результаты позволяют сделать вывод о рациональности количественного определения суммы фенолкарбоновых кислот методом дифференциальной спектрофотометрии, предложенным европейской фармакопеей.

Таким образом, проведено изучение качественного и количественного состава фенолкарбоновых кислот растений рода тимьян флоры средней полосы Европейской части России.

Список литературы.

1. Карпова Е.Л., Хромова Е.П., Фершалова Т.Д. Флавоноиды и аскорбиновая кислота у некоторых представителей рода *Begonia* L.// Химия растительного сырья. – 2009. - № 2. – С. 105-110.
2. Алексеева Л.И., Тетерюк Л.В. Фенольные соединения *Thymus Talijevii* Klok. Et Schost// Химия растительного сырья. – 2008 - №4 – с. 65-68.
3. Государственная фармакопея СССР: Вып. 2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье. / МЗ СССР, -11-е изд., доп. - М.: Медицина, 1990. - 400 с.
4. Kulisic T., Dragovic-Uzelac V., Milos M. Antioxidant activity of chemical components from sage (*Salvia officinalis* L.) and thyme (*Thymus vulgaris* L.) measured by the stability index method // J.Agric Food Chem. 2002. - V. 50. - № 7. – P. - 1845-1851.
5. Алексеева Л.И., Груздев И.В. Полиморфизм эфирных масел тимьянов Европейского Северо-Востока России и Урала // Физиология растений, 2012. - Т. 59, № 6. - С. 771-780.
6. Фомичева Е.А. Изучение компонентного состава флавоноидов и фенолкарбоновых кислот в гомеопатических настойках чистотела большого хроматографическими методами. Е.А. Фомичева, З.П. Костеникова // Фармация. – 2001. - № 3. – с. 17-19.
7. Самойлова В.А. Карбоновые кислоты листьев аронии черноплодной / Самойлова В.А., Ковалев В.Н. // Сборник научных трудов научно-методической конференции «II Гаммермановские чтения» 03-06.02.2014. – СПб.: Изд-во СПбХФА, 2014. – С. 101-103.
8. Медведев Ю.В. Определение гидроксикоричных кислот в лекарственном растительном сырье и объектах растительного происхождения / Ю.В. Медведев, О.И. Передеряев, А.П. Арзамасцев, К.И. Эллер, В.И. Прокофьева // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2010. - № 3 – с. 25-31.
9. European Pharmacopoeia. – 6th ed. – Strasbourg: Council of Europe, 2007. – P. 4668-46.
10. V.N. Bubenchikova, N.V. Popova, Yu.A. Starchak. Caffeic and rosmarinic acid in Thyme species //Вісник фармації. - № 4 (80). – 2014. – С. 13-16.

-
11. Пономарев В.Д. Экстрагирование лекарственного сырья/ В.Д. Пономарев. – М.: Медицина. – 1976. – 204 с.
 12. Куркин В.А. Качественный и количественный анализ сырья и настойки мелиссы / В.А. Куркин, Г.Г. Запесочная, Е.В. Авдеева и др. // Раст. ресурсы. – 1999. – т. 35, Вып. 3 – с. 116-120.
-

ВЛИЯНИЕ ТЕРМИЧЕСКОЙ ОБРАБОТКИ НА ПОЛИФЕНОЛЫ СВЕЖИХ ЯГОД И ПРОДУКТЫ ИХ ПЕРЕРАБОТКИ

Воронина М.С., Макарова Н.В.

Самарский Государственный Технический университет, 443124, Самара,
ул. Шестая просека 153-111, 8-927-687-95-36

Антиоксиданты (антиокислители) – это вещества, включающиеся в процесс автоокисления и образующие стабильные промежуточные соединения, за счет чего блокируется цепная окислительная реакция.

В последнее время возрос интерес к природным антиоксидантам и их применению в пищевой промышленности. Многочисленные исследования установили разноплановое влияние антиоксидантов на улучшение состояния здоровья людей, что является положительным фактором их использования при разработке рецептур специализированных функциональных продуктов [1].

Для того, чтобы плодово-ягодные продукты сохраняли природный цвет, вкус и аромат необходимо создать прогрессивную технологию производства. Прежде всего необходимо изучить химические и биохимические изменения наиболее важных компонентов плодов, влияющих на стабильность вкусовых достоинств продуктов. В последние годы большое развитие получила химия полифенольных соединений, к которым относятся антоцианы и флавоноиды, входящие в состав большинство плодов и ягод. Полифенольные вещества являются продуктами нормального обмена веществ в жизни растений.

Катехины, флавонолы и антоцианы способны предупреждать или уменьшать отрицательные последствия лучевых поражений.

Полифенольные вещества формируют вкус плодов. Известно, что основной вкус фруктов обусловлен определенным сочетанием сладких, горьких, кислых и вяжущих веществ. При этом носителями сладкого вкуса являются углеводы, кислого – органические кислоты, вяжущего – полифенольные вещества, в

основном флавонолы и их производные, горького – флавононы.

Полифенольные вещества большинства съедобных плодов и ягод по их углеводному скелету условно разделяют на три группы:

1. $C_6-C_3-C_6$ - флавоноиды (катехины, флавонолы, антоцианы и др.);

2. C_6-C_3 - производные коричной кислоты (кофейной, феруловой, синаповой и др.)

3. C_6-C_1 - фенолкарбоновые кислоты и их производные (протокатеховая, галловая)

Полифенольный состав плодов и ягод зависит не только от абсолютного содержания отдельных групп этих соединений, но и от их количественного соотношения.

Термическая обработка лежит в основе консервирования большого количества плодов и ягод. Она необходимо для предотвращения микробиологической порчи, ферментативных процессов и в ряде промежуточных процессов технологической обработки пищевых продуктов [2].

Целью данного исследования является изучение общего содержания полифенолов, флавоноидов, антоцианов, для свежих ягод и продуктов переработки примеревии, черной смородины, черноплодной рябины и черники.

Объектами нашего исследования являются ягоды, пюре, выжимки и концентрированный сок из этих ягод.

Пюре из ягод получено по стандартно технологии: мойка сырья → бланширование паром в течение 15 мин → протирка ягод → гомогенизация пюре → стерилизация пюре при 100°C в течение 2 мин. Концентрированный сок получен согласно следующей технологии: мойка → отжим сока → концентрирование сока при пониженном давлении 6,6±1,3 кПа. Выжимки получены как отход производства сока концентрированного [3].

Для анализа химического состава были использованы следующие методы: измерение общего содержания фенольных веществ с помощью реактива Фолина-Чекелау, общего содержания флавоноидов и антоцианов.

Основной методикой для определения фенольных веществ во фруктовых соках и напитках является спектрофотометрический метод с реактивом Фолина-Чекелау. Общее содержание фенольных веществ рассчитаны как мг галловой кислоты на 100 г исходного сырья по калибровочной кривой [4]. Общее содержание флавоноидов определялось колориметрическим методом при взаимодействии экстрактов ягод с азотистокислым натрием, трёххлористым алюминием. Общее содержание флавоноидов рассчитано в единицах мг катехина на 100 г исходного сырья по

калибровочной кривой [5]. Определение общего содержания антоцианов осуществлен методом дифференциала pH фактора, основанном на добавлении к экстракту буферов pH = 1,0 и pH = 4,5 и измерении поглощения при 515 и 700 нм. Суммарное содержание антоцианов выражено как эквивалент мг цианидин-3-гликозида/100 мг исходного сырья [6].

Результаты исследования химического состава ягод и продуктов их переработки представлены в таблице 1.

Фенольные вещества в пересчете на галловую кислоту в 100 г исходного сырья преобладают в пюре ягод (вишня – 590мг галловой кислоты/100 г исходного сырья, черная смородина – 1670мг галловой кислоты/100 г исходного сырья, черноплодная рябина – 811мг галловой кислоты/100 г исходного сырья, черника – 691мг галловой кислоты/100 г исходного сырья). Наименьшее количество обнаружено в выжимках вишни (379мг галловой кислоты/100 г исходного сырья) и черной смородины (269мг галловой кислоты/100 г исходного сырья), однако в чернике (317мг галловой кислоты/100 г исходного сырья) и черноплодной рябины (192мг галловой кислоты/100 г исходного сырья) в концентрированном соке.

Таблица 1

Результаты исследования

Объекты исследования		Показатели	Общее содержание фенольных веществ, мг галловой кислоты/100 г исходного сырья	Общее содержание флавоноидов, мг катехина/100 г сырья	Общее содержание антоцианов, мг цианидин-3-гликозида/100 г исходного сырья
Вишня	Ягоды		341	105	636,20
	Пюре		590	134	803,90
	Концентрированный сок		494	286	118,70
	Выжимки		379	147	623,40
Черная смородина	Ягоды		509	133	1014,50
	Пюре		1670	206	1400,60
	Концентрированный сок		562	304	1183,30

	Выжимки	269	162	636,80
Черноплодная рябина	Ягоды	662	403	410,66
	Пюре	811	514	200,06
	Концентрированный сок	192	344	187,19
	Выжимки	581	386	365,74
Черника	Ягоды	283	201	1363,01
	Пюре	691	231	879,14
	Концентрированный сок	317	198	66,87
	Выжимки	590	113	846,47

Большое количество флавоноидов по результатам исследования обнаружено в концентрированном соке вишни (286мг катехина/100 г сырья) и черной смородины (304мг катехина/100 г сырья), но черноплодной рябины (514мг катехина/100 г сырья) и черники (231мг катехина/100 г сырья) – в пюре. Количество антоцианов в свежих ягодах черноплодной рябины (410,66мг цианидин-3-гликозида/100 г исходного сырья) и черники (1363,01мг цианидин-3-гликозида/100 г исходного сырья) намного больше, чем в остальных объектах, а в вишни (803,90мг цианидин-3-гликозида/100 г исходного сырья) и черной смородины (1400,60мг цианидин-3-гликозида/100 г исходного сырья) – в пюре.

Таким образом, можно выделить пюре ягод как имеющее наибольшие значения изученных показателей всех изученных ягод, прошедшее кратко временную тепловую обработку.

Список литературы

1. Донченко Г.В., Кричковская Л.В., Чернышов С.И., Никитченко Ю.В., Жуков В.И. Природные антиоксиданты (биотехнологические, биологические и медицинские аспекты): монография. Харьков: ОАО «Модель Вселенной», 2011. – 376 с.
2. Скорикова Ю.Г. Полифенолы плодов и ягод и формирование цвета продуктов. М.: Издательство «Пищевая промышленность», 1973. – 233 с.
3. Поморцева Т.И. Технология хранения и переработки плодоовощной продукции. – М.: Академия, 2003. – 136 с.

-
4. Aljadi A. M., Kamaruddin M. Y. Evaluation of the phenolic contents and antioxidant capacities of two Malaysian floral honeys. // Food Chemistry. – 2004. – Vol. 85. – № 4. – P. 513-518.
 5. Wu L.C., Hsu H.W., Chen Y.C., Chiu C.C., Lin Y.I., Annie Ho J.A. Antioxidant and antiproliferative activities of red pitaya. // Food Chemistry. – 2009. – Vol. 95. – № 5. – P. 319-327.
 6. Kirakosyan A., Seymour E.M., Urcuyolanes D.E., Kaufman P.B., Bolling S.F. Chemical profile and antioxidant capacities of tart cherry products. // Food Chemistry. – 2009. – Vol. 115. – №5. – P. 20-25.
-

РАСТЕНИЯ РОДА *BISTORTA* SCOP. КАК ИСТОЧНИК ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

Воронкова М.С., Кукушкина Т.А., Высочина Г.И.

ФГБУН Центральный сибирский ботанический сад СО РАН, 630090,
Новосибирск, Россия, +7(913)708-1714, e-mail: bmc_87@mail.ru

Фенольные соединения растений – разнообразная по своему строению группа вторичных веществ. Они играют важную роль в растительном метаболизме: участвуют в окислительно-восстановительных процессах, выступают в качестве пигментов и защитных агентов в ответ на стресс, регулируют прорастание семян и пр. [1]. Растительные фенолы обладают противовоспалительными, антибактериальными, антиоксидантными и адаптогенными свойствами [2]. Флавонолы обладают рядом полезных свойств для организма человека. Известна их Р-витаминная, антиоксидантная, противовирусная, противовоспалительная, противоопухолевая, нейропротекторная и гепатопротекторная активность [3]. Катехины укрепляют стенки кровеносных капилляров, способствуют усвоению аскорбиновой кислоты, участвуют в антиканцерогенной защите и обладают гепатопротекторным действием. (+)-Катехин применяется в медицине при лечении вирусного гепатита и заболеваний кровеносной системы [4]. Танины обладают вяжущими, кровоостанавливающими, противовоспалительными и бактерицидными свойствами [4].

Род *Bistorta* Scop. (змеевик) представлен многолетними луговыми и лугово-болотными растениями с толстым змеевидно изогнутым корневищем [5]. Растения этого рода используются как декоративные, пищевые, кормовые и медоносные растения [6]. Научной медициной признан единственный вид рода – *B. officinalis* Delarbre (= *Bistorta major* S.F. Gray, *Polygonum bistorta* L.), змеевик

лекарственный, змеевик большой, горец змеиный, раковые шейки. Сведения о биологически активных веществах, содержащихся в видах этого рода, ограничены, несмотря на то, что они представляют интерес в качестве источника лекарственных средств.

Целью работы являлось исследование содержания фенольных соединений – флавонолов, катехинов и танинов в листьях, соцветиях и корневищах растений рода *Bistorta*.

Материалом послужили образцы 6 видов рода *Bistorta* (таб. 1).

Количественное определение флавонолов и катехинов проводили спектрофотометрически на приборе СФ-26 [7, 8], танинов - титриметрически по методике Государственной фармакопеи [9].

Таблица 1.
Характеристика образцов сырья растений рода *Bistorta*

Вид	Место и время сбора
<i>B. attenuata</i>	г. Новосибирск, территория центрального Сибирского ботанического сада (ЦСБС) СО РАН, 05.07.1013 г
<i>B. attenuata</i>	Иркутская обл., Ольхонский район, побережье Малого моря Байкала, п. Курма, влажный луг. 26.06.1012 г.
<i>B. attenuata</i>	Иркутская обл., Ольхонский район, побережье Малого моря Байкала, п.Сарма, влажный луг. 25.06.1012 г.
<i>B. alopecuroides</i>	Окрестности г. Благовещенска, 10-11 км Ново-Троицкого шоссе 19.07.2013 г.
<i>B. manshurensis</i>	Амурская обл., Бурейский район, правый берег реки Уссури, 15 км на север от п. Прогресс, 92 м н.у.м., 17., каменистые выходы породы, сопочник, березово-еловый лес, 15.06.2010 г.
<i>B. elliptica</i>	Приморский край, Чугуевский район, верховья реки Уссури, у вершины горы Снежная (1654 м н.у. моря), среди каменистых россыпей (на гольцах) около истоков реки Уссури, 14.07.2011 г.
<i>B. elliptica</i>	Магаданская обл., Хасынский район, верховья реки Малтан, в 3 км выше р. Хета, пойменный лиственничник. 13.07.2012 г.
<i>B. pacifica</i>	Приморский край, Хасанский район, окрестности села Кравцовка, на склоне сопки по правому берегу реки Грязная около устья ключа Солдатский, 7.07.2011 г.
<i>B. vivipara</i>	Иркутская обл., Ольхонский район, побережье Малого моря Байкала, п. Курма, влажный луг. 26.06.1012 г.

В соцветиях *B. attenuata* из поселков Курма и Сарма Иркутской области отмечено наибольшее содержание флавонолов -

9,49% и 9,08% (табл. 2). В соцветиях интродуцированных растений этого вида, высаженных корневищами из популяции п. Курма на экспериментальный участок ЦСБС, флавонолов значительно меньше (2,85 % - в листьях, 4,54% в соцветиях). В соцветиях других видов содержится не менее 3,37 % флавонолов. В листьях флавонолов меньше, чем в цветках, и только содержание флавонолов в листьях *B. vivipara* - 7,33 % - превышает их содержание в соцветиях (3,62 %). В листьях исследованных видов содержится не менее 1,90 % флавонолов. В корневищах растений, собранных во время цветения, флавонолов не обнаружено.

Таблица 2.

Содержание флавонолов, катехинов и танинов в листьях, соцветиях и корневищах некоторых видов рода *Bistorta* (%)

Образец	Флавонолы			Катехины			Танины		
	л	с	к	л	с	к	л	с	к
<i>B. attenuata</i> г. Новосибирск	2,85	4,54	-	0,30	0,65	-	14,58	12,11	-
<i>B. attenuata</i> Иркутская обл., п. Курма	4,78	9,49	нет	0,26	0,65	0,44	22,78	20,10	1,34
<i>B. attenuata</i> Иркутская обл., п. Сарма	6,74	9,08	нет	0,44	0,57	0,53	21,89	20,61	1,69
<i>B. alopecuroides</i>	3,09	-	нет	0,21	-	2,10	16,73	-	5,43
<i>B. manshurensis</i>	2,98	4,32	нет	0,19	0,70	2,50	13,96	11,25	9,23
<i>B. elliptica</i> Приморский край	3,26	3,94	-	0,47	1,89	-	15,79	11,45	-
<i>B. elliptica</i> Магаданская обл.	3,92	-	-	0,31	-	-	16,32	-	-
<i>B. vivipara</i>	7,33	3,62	нет	0,45	1,57	0,91	18,72	21,67	3,40
<i>B. pacifica</i>	1,90	3,37	-	0,20	0,91	-	10,35	7,82	-

Примечание: «л» - листья, «с» - соцветия, «к» - корневище, «-» - исследование не проводилось, «нет» - компонент отсутствует.

Максимальное количество катехинов обнаружено в корневищах *B. manshurensis* и *B. alopecuroides* - 2,50 % и 2,10 %, соответственно. Наибольшее количество катехинов в соцветиях отмечено в растениях *B. elliptica* из Приморского края - 1,89 % и *B. vivipara* - 1,57 %. В листьях катехинов значительно меньше, их содержание колеблется в пределах 0.19 %-2.47 %. Количество катехинов у *B. attenuata* из природной популяции Иркутской области (п. Курма) и в интродуцированных растениях практически не отличается. Вследствие высокого содержания катехинов отмеченные растения представляют интерес для медицины.

В листьях и соцветиях изученных растений отмечается высокое содержание танинов.. В корневищах танинов мало, максимум - в корневищах *B. manshurensis* (9,23 %). Это связано с фазой развития растений: они были собраны во время цветения, а накопление веществ в корневищах происходит осенью. Наибольшим содержанием танинов в листьях отличаются растения из природных популяций Иркутской области - *B. attenuata* из п. Курма – 22,78 % и из п. Сарма – 21,89 % и *B. vivipara* из п. Курма - 18,72 %. Соцветия *B. vivipara* накапливают максимальное количество танинов - 21,67 %, высоким содержанием танинов в соцветиях отличаются также растения *B. attenuata* из п. Курма 20,10 % и п. Сарма 20,61 %. Интродуцированные растения *B. attenuata* отличаются меньшим содержанием танинов - 14,58 % в листьях и 12,11 % в соцветиях - в отличие от образцов из природной популяции.

Таким образом, изученные виды растений отличаются высоким содержанием флавонолов, катехинов и танинов. Листья накапливают до 7,33 % флавонолов и до 22,78 % танинов, соцветия – до 9,49 % флавонолов и 21,67 % танинов. В листьях содержится больше танинов, а в соцветиях флавонолов и катехинов. Высокое содержание катехинов и танинов обнаружено в корневищах двух видов: *B. alopecuroides* - 2,10 % и 5,43 %, *B. manshurensis* – 2,50 % и 9,23 %, соответственно. Интродуцированные растения *B. attenuata* накапливают меньше флавонолов и танинов по сравнению с растениями из природных популяций, а содержание катехинов остается на одном уровне. Листья и соцветия всех изученных растений рода *Bistorta*, собранных во время цветения, могут служить источником флавонолов и танинов, а корневища *B. alopecuroides*, *B. manshurensis* - источником катехинов.

Список литературы.

1. Запрометов М. Н. Фенольные соединения: распространение, метаболизм и функции в растениях. М., 1993. 272 с.
 2. Пименов М. Г., Борисова Л. Ф. Хемосистематика. Итоги науки и техники. // Ботаника. 1987. Т. 6, Вып. 1. С. 7-95.
 3. Ahmad I., Aqil F., Owais M. Modern Phitomedicine. Turning Medicinal Plants into Drugs Weinheim, 2006. 384 p.
 4. Семенов А. А., Карцев В. Г. Основы химии природных соединений. Т. 1. М., 2009. 624 с.
 5. Freeman C. C., Hinds H. R. Bistorta (Linnaeus) Scopoli // Flora of North America: north of Mexico. New York; Oxford: Oxford University Press, 2005. Vol. 5, pt. 2. P. 594-597.
 6. Красноборов И. М., Ломоносова М. Н., Шауло Д. Н., Вибе Е. И. Определитель растений Новосибирской области /под ред. И. М. Красноборова. Новосибирск: Наука, 2000. 491 с.
 7. Беликов В. В., Шрайбер М. С. Методы анализа флавоноидных соединений. // Фармация. 1970. №1. С.66-72
 8. Кукушкина Т. А., Зыков А. А., Обухова Л. А. Манжетка обыкновенная (*Alchemilla vulgaris* L.) как источник лекарственных средств // Актуальные проблемы создания новых лекарственных препаратов природного происхождения: Материалы УП Международного Съезда. СПб, 2003. С.64-69.
 9. Государственная фармакопея СССР. 11-е изд. Вып. 1. М., 1987. С. 286-287.
-

АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ СУБСТАНЦИИ СУТТИГЕН

Гуляев А.Е.¹, Рахмадиева С.Б.², Кушнаревиц Д.А.²

¹ ЧУ «Центр нук о жизни» Назарбаев Университет, Астана,
rakhmadiyeva_sb@enu.kz

² Евразийский национальный университет им. Л.Н. Гумилева, Астана,
Казахстан.

Из мелкоизмельченной травы *Euphorbia soongarica* Boiss, произрастающей на территории Казахстана и имеющего производственные запасы, создан новый оригинальный фитопрепарат Суттиген. Биологически активными веществами данного препарата являются: гидролизуемые дубильные вещества, фенолокислоты, флавоноиды, свободные углеводы, аминокислоты, микроэлементы, минорные липофильные компоненты. Целью данного исследования является изучение антиоксидантного действия субстанции Суттиген, что представляет собой большой научный интерес с целью поиска новых биологически активных

веществ и создание на их основе высокоэффективных препаратов растительного происхождения для применения в медицине и сельском хозяйстве.

Материал и методы. В качестве объектов исследования использовали: 1) стандартный антиоксидант кверцетин, представленный в виде препарата Корвитин (растворимая форма для внутривенного введения – комплекс кверцетина с повидоном) (50 мкг/мл); стандартный антиоксидант аскорбиновая кислота представлен в виде водного раствора 5% (10 мкг/мл). 2) Исследуемая субстанция Суттиген (10 мкг/мл).

Исследование антиоксидантной активности проводилось тремя методами с использованием набора реактивов Antioxidant Assay Kit (Sigma).

Окисление ABTS. Исследования проводились в соответствии с инструкцией к набору реактивов Antioxidant Assay Kit (Sigma). Метод основан на регистрации катион-радикала 2,2'-азинобис(3-этилбензотиазолин-6-сульфоновой кислоты) (ABTS^{•+}) образующегося в реакции ABTS с феррил миоглобином. Феррил миоглобин образуется при взаимодействии миоглобина с перекисью водорода. Антиоксиданты препятствуют продукции катион-радикала, и антиоксидантная активность оценивается в сравнении с активностью водорастворимого аналога витамина Е - "Тролокса". Использование "Тролокса" позволяет оценить эффективность антирадикального действия через так называемый "тролоксый эквивалент антиоксидантной эффективности" (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity, TEAC). Значения TEAC, указывают: какое количество тролокса в мМ (мг/мл) "тушит" ABTS^{•+} с той же эффективностью, как и 1 мМ (1 мг/мл) анализируемого соединения.

Исследование перекисного гемолиза эритроцитов. Эритроциты выделяли из крови здоровых доноров центрифугированием в течение 10 минут при 2 800 об./мин. Затем эритроциты отмывали от плазмы троекратно в физиологическом растворе. Полученную эритроцитарную массу разбавляли ФР до получения 5 %-й взвеси по объему. В настоящем исследовании применяли две модели гемолиза, отличающиеся концентрацией гипохлорита натрия (ГХН) и способом регистрации показателя. В настоящее время перекисный гемолиз эритроцитов (ПГЭ) может рассматриваться как чувствительный лабораторный тест, отражающий структурные и химические изменения мембран, а также степень клеточных дисфункций. «Медленный» гемолиз. Для проведения данного вида ПГЭ эритроциты, предварительно инкубированные с исследуемыми субстанциями в течение 24 часов, троекратно отмывали забуференным физиологическим

раствором. Затем к осадку добавляли 0,075 мМ ГХН (рН 7,8). Полученную взвесь инкубировали в течение 2 часов при 37 °С при постоянном перемешивании. В контрольной группе, без исследуемых соединений, ПГЭ составлял более 25 %. Степень гемолиза оценивали по содержанию гемоглобина в растворе после осаждения эритроцитов. Концентрацию гемоглобина определяли при помощи набора «Гемоглобин-Ново» («Вектор-Бэст», Россия).

Определение каталазной активности в периплазматической фракции проводили методом прямой спектрофтоометрии с регистрацией оптической плотности при 240 нм с коэффициентом молярной экстинкции $\epsilon_{240}=43,6 \text{ М}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$ [1].

Определение супероксиддисмутазной активности. Метод основан на определении степени торможения реакции окисления кверцетина. За единицу активности СОД принимается такое количество фермента в 1 мл реакционной смеси, которое вызывает ингибирование реакции окисления кверцетина на 50%. Анализ одной пробы осуществляется в двух кюветах, в которых к 1 мл реакционной смеси состоящей из 50 мМ ФБ, содержащего 0,25 мМ Трилон Б и 3,5 мкл ТЕМЕД добавляется вода в объёме, обеспечивающем доведение конечного объёма до 3 мл. Реакция запускается внесением соответственно 100 и 200 мкл 1 мМ раствора кверцетина в ДМСО. При 406 нм регистрируется оптическая плотность сразу после перемешивания раствора и спустя 20 минут после начала реакции. Окисление 33,3 и 66,6 нмоль/мл кверцетина за 20 минут регистрируется в контрольных пробах не содержащих белка. Полученные разности оптической плотности принимаются за 100%. Используя величины степени торможения реакции окисления кверцетина в пробах с белком рассчитывается количество белка необходимое для 50% торможения окисления 50 нмоль/мл кверцетина. Расчет проводится с учетом гиперболической зависимости степени торможения от концентрации белка в пробе и экспоненциальной зависимости между ингибирующей концентрацией белка и уровнем окисления кверцетина в контрольных пробах.

Определение малонового диальдегида (МДА) проводили в реакции с тиобарбитуровой кислотой [2]. Для анализа брали 10 мл взвеси $OD_{440}=10$, центрифугировали при 1500g 10 мин, супернатант сливали. К полученному осадку добавляли 3,7 мл 1% раствора ортофосфорной кислоты, 1 мл 0,6% раствора тиобарбитуровой кислоты в 50% уксусной кислоте. Затем пробы выдерживались в водяной бане при 100°C 45мин. После охлаждения проб до комнатной температуры в пробы добавляли 3 мл бутанола, затем помещали во встряхиватель на 15 мин для

проведения экстракции. Бутаноловую фракцию, полученную при центрифугировании при 1500g в течение 10 мин измеряли при $\lambda=535\text{nm}$ и $\lambda=580\text{ nm}$ против чистого бутанола. При расчете использовали коэффициент молярной экстинкции, равный $1,56 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$.

Определение белка проводили по методу Лоури [3]. Калибровка проводилась на стандартном БСА (бычий сывороточный альбумин).

В качестве основного объекта исследования использовался бесплазмидный музейный штамм *E.coli* TG1. Окислительный стресс провоцировался увеличением температуры инкубации бактериального штамма до температуры 40°C в течение суток. В среду инкубации одновременно с повышением температуры вносили исследуемые субстраты.

Результаты и обсуждение. В таблице 1 представлены результаты непрямых тестов на антиоксидантную активность, сделанные в 5 повторностях, в качестве стандартного антиоксиданта бала взята аскорбиновая кислота.

Как видно из представленных данных, относительно высокой активностью в тесте окисления ABTS обладает исследуемая субстанция Суттиген.

Таблица 1.
Антиоксидантная активность в тесте окисления ABTS (TEAC)

Показатель, вещество	Растворитель	TEAC	
		(мМ)	(мг/мл)
Аскорбиновая к-та	вода	1,39±0,27	1,97±0,38
Кверцетин	вода	4,24±0,18	3,51±0,73
Суттиген	вода	3,08±0,05	2,35±0,43

Таблица 3.
Степень спонтанного гемолиза в образцах, инкубированных с исследуемыми веществами, $M \pm m$, $n=6$

Проба	Процент гемолиза
Контроль	26,75± 8,10
Кверцетин	14,0±2,60*
Аскорбиновая кислота	11,5±1,37*
Суттиген	12,0 ±4,34*
Примечание: * - $p < 0,05$	

При исследовании перекисного гемолиза эритроцитов обнаружено, что после 24 часовой выдержки эритроцитов при 25°C

спонтанный гемолиз в контрольной пробе наблюдали приблизительно у 6,8% эритроцитов. В случае экспонирования эритроцитов с исследуемым веществом Суттиген спонтанный гемолиз составил от 12 до 15%. Таким образом, различия по сравнению со значением в контроле составили более 10 % (табл.3).

Таблица 4.
Показатели активности ферментов системы АОЗ и МДА при окислительном стрессе *E.coli*

Время, мин	Каталаза (мкМ*мл/сек)	СОД (ED/мл)	МДА (мкМ/л)	Суммарный белок (мг/мл)	AS У.е.
Контроль	4,36±0,411	0,390±0,03	3,032±1,2	0,109±0,02	1
0 мин	23,54±1,23*	0,197±0,01*	3,16±0,19	0,058±0,01*	10,6
20 мин	52,03±1,23*	0,41±0,06#	6,57±0,79*	0,110±0,022#	11,3
40 мин	10,17±0,41*	0,32±0,28	5,93±0,04*	0,046±0,009*	2,8
60 мин	9,88±0,82*	0,13±0,01*	7,82±0,23*	0,048±0,010*	6,8
80 мин	10,46±0,001*	0,124±0,01*	5,59±0,60*	0,035±0,007*	7,6
100 мин	7,55±1,64*	0,075±0,05*	5,67±0,56*	0,031±0,006*	8,9
120 мин	6,68±2,87*	0,08±0,01*	7,87±0,15*	0,033±0,006*	6,9
Достоверность различий сравнивалась с контролем: * p<0,05; # p<0,1					

Таблица 5.
Показатели окислительного метаболизма штаммов *E.coli* на фоне использования исследуемых субстанций

Род, вид	Каталаза (мкМ*мл/сек)	СОД (ED/мл)	МДА (мкМ/л)	Суммарный белок (мг/мл)
<i>E.coli</i> , контроль	4,36 ±0,411	0,390 ±0,03	3,032 ±1,2	0,109 ±0,02
<i>E.coli</i> + кверцетин	8,28 ±0,92*	1,36 ±0,07*	1,06 ±0,73	0,095 ±0,03
<i>E.coli</i> + аскорбиновая кислота	8,20 ±0,62*	0,840 ±0,01*	2,13 ±0,31*	0,084 ±0,01*
<i>E.coli</i> + Суттиген	10,30 ±0,41*	1,55 ±0,03*	1,43 ±0,24*	0,127 ±0,05*
Достоверность различий сравнивалась с контролем: * p<0,05				

При исследовании вероятного влияния исследуемых субстанций в системе бактериального окислительного стресса, предварительно было установлено, что окислительный метаболизм модельного штамма в состоянии покоя характеризовался

сравнительно активностью ферментов системы АОЗ и умеренным образованием ТБК-зависимых продуктов (табл.4).

Картина нормального окислительного стресса в клетках *E.coli* характеризуется этапностью с активацией в своей начальной фазе ферментов раннего реагирования – каталазы и СОД, достигая своего максимума к 20-й минуте. С 20-й минуты отмечается тенденция к нарастанию ТБК-зависимых продуктов, количество которых фазово-меняясь, остаётся достоверно выше контроля на протяжении всего периода наблюдения. В целом картина ОС не несёт линейной зависимости, однако общий вектор протекания реакции направлен в сторону затухания, которое, по всей вероятности имеет достаточно продолжительный характер. Данные исследования приведены в таблице 5.

Как видно, все исследованные субстанции обладают антиоксидантной активностью в бактериальной среде, подавляя выброс продуктов перекисного окисления липидов – МДА и повышая активность ферментов антиоксидантной системы – каталазы и супероксиддисмутазы. Стандартные антиоксиданты кверцетин и аскорбиновая кислота проявляют свой эффект и на модели бактериального стресса. Суттиген, при внесении в среду инкубации бактерий в условиях окислительного стресса, как видно из представленных в таблице данных, вызывает реакцию, сходную с зафиксированной в присутствии кверцетина: регистрируется достоверное повышение антиоксидантных ферментов и снижение продуктов ПОЛ.

Таким образом, субстанция суттиген является природным антиоксидантом и имеет довольно выраженный потенциал антиоксидантной активности как на моделях *in vitro* (тест ABTS и тест гемолиза эритроцитов), так и на модели окислительного стресса бактерий при тепловом шоке.

Список литературы.

1. Неферментативное взаимодействие продуктов реакции и субстратов в катализе пероксидазой. Хушпультян Д.М., Фечина В.А., Казаков С.В. и др. // Биохимия, 2003, Т 68, вып. 9, с. 1231-1237.
 2. Медицинские лабораторные технологии и диагностика: справочник. Медицинские лабораторные технологии / Под редакцией проф. А.И. Карпищенко. – Санкт-Петербург: Интермедика, 1999.- 656 с.
 3. Справочник биохимика. Досон Р., Элиот Д., Элиот У., Джонс К. – М.: Мир, 1991. – 544с.
-

ФЕНОЛЬНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ И КАЧЕСТВО ФРУКТОВЫХ СОКОВ

**Дейнека В.И., Дейнека Л.А., Блинова И.П., Кульченко Я.Ю.,
Ковалева Н.В.**

НИУ БелГУ, Белгород, Россия, (+7)4722-301150, deineka@bsu.edu.ru

Фенольные соединения относятся к одним из наиболее распространенных представителей вторичного метаболизма. Их уровень накопления во многом определяет качество плодов, поскольку именно фенольные соединения обладают антиоксидантным действием, определяющим профилактическую функцию плодов растений, что подчеркивается, например, известной американской поговоркой: «An apple a day keeps the doctor a way». В этом отношении значимость соков растений, которые рассматриваются как важнейшие основы для приготовления функциональных напитков [1], трудно переоценить – потребление соков в некоторых странах Западной Европы достигает 28 литров в год на 1 человека [2]. Среди фруктовых соков особенно высокой антиоксидантной активностью характеризуется гранатовый сок [2], но для России основной растительный источник для получения сока – яблоки: при годовом объеме производства соков более 3 млрд литров на яблочный сок приходится 13 % (<http://moneymakerfactory.ru/upload/files/soki.pdf>). Антиоксидантные свойства яблочного сока определяются рядом фенольных соединений, в том числе катехинами, рутином, флоридзином, хлорогеновой кислотой и др. [3]. При этом уровень накопления отдельных фенольных компонентов зависит от многих параметров, включающих сорт яблок. По этой причине содержание фенольных соединений в яблочных соках не только различных производителей, но и различных лет производства могут существенно различаться, что сказывается на профилактической ценности продукта.

Настоящая работа посвящена контролю содержания фенольных кислот в соках популярных на российском рынке марок.

Соки приобретали в супермаркетах г. Белгород и анализировали в день вскрытия упаковки. Фенольные кислоты определяли методом обращенно-фазовой ВЭЖХ в градиентном режиме после разбавления в подвижной фазе А в три раза и последующего фильтрования через насадочный фильтр (с порами диаметром 0.45 мкм). Колонка: 150×4.6 мм Symmetry C18, 3.5 мкм. Подвижная фаза: компонент А – 2 об.% HCOOH и 5 об.% CH₃CN;

компонент Б – 2 об.% HCOOH и 40 об.% CH_3CN ; программа градиента: от 1 до 20 мин от 0 до 100 % Б; до 25 мин 100% Б; до 26 мин. 0% Б и регенерация в течение 7 мин. Запись хроматограммы при 325 нм. Соки анализировали также по методу Фолина-Чокальтеу по стандартной методике [4].

Для всех исследованных яблочных соков были получены однотипные хроматограммы, основной пик на которых принадлежал хлорогеновой (5-кофеоилхинной, 5CQA) кислоте. 4-кофеоилхинная и 3-кофеоилхинная кислоты на хроматограмме отсутствовали. Второй по площади пик относился к 5-пара-кумароилхинной (5CoupQA) кислоте.

Концентрация хлорогеновой кислоты заметно различалась среди исследованных образцов: наивысшей она оказалась в случае яблочного сока «Сады Придонья» (прямого отжима без сахара) - 150 ± 10 мг/л, существенно меньше концентрация этого антиоксиданта оказалась в соках марок «4 Сезона» и «Я» - 86 ± 6 и 74 ± 5 , соответственно. У остальных образцов соков концентрация хлорогеновой кислоты находилась на уровне $30 \div 50$ мг/л.

Содержание 5-пара-кумароилхинной кислоты во всех образцах оказалось весьма значительно, составляя примерно 1/3 от содержания 5CQA. Но 5CoupQA обычно игнорируют при описании состава фенольных компонентов яблочных соков. Вероятно, это связано с тем, что при наличии только одной гидроксильной группы в ароматическом кольце антиоксидантная функция соединения существенно ослабляется и это соединение не столь активно как антиоксидант.

В целом следует отметить, что показатели антиоксидантной активности (или подобного термина под другим названием) очень трудно использовать для реальной оценки свойств исследуемых образцов. Так, нами было показано, что следует различать кинетическую, емкостную и пропорциональную или относительную антиоксидантную активность [5]. При этом принципиально важен метод, использованный для соответствующих измерений. Основное затруднение в понимании и в интерпретации параметров антиоксидантной активности состоит в том, что вещества, вступая в реакцию с окислителем, могут образовывать продукты, также обладающие антиоксидантной активностью. Из обычных доступных веществ аскорбиновая кислота теряет только два электрона, превращаясь в неактивную дегидроаскорбиновую кислоту. По этой причине это вещество очень удобно использовать в качестве вещества сравнения – результат может быть легко пересчитан на число моль электронов. Кстати, известный метод, основанный на использовании реакции восстановления фосфорномолибденовой

(и фосфорновольфрамовой) кислоты в реактиве Фолина-Чокальтеу на самом деле показывает восстановительную активность (т.е. наиболее активную составляющую антиоксидантной активности) исследуемых объектов. И по указанной выше причине лучше приводить найденные результаты к эквиваленту аскорбиновой кислоты. В настоящей работе нами было установлено, что восстановительная активность яблочного сока «Сады Придонья» составила 1.05 ± 0.10 г/л в эквиваленте аскорбиновой кислоты. Купажирование яблочного сока соком граната и черноплодной рябины улучшало этот показатель до 1.33 ± 0.12 г/л, тогда как добавки виноградного или вишневого соков - снижали показатель в $2 \div 3$ раза. При этом на хлорогеновую кислоту в яблочных соках приходилось около $20 \div 30$ % суммарной восстановительной активности, т.е. остальные фенольные соединения, которые не столь заметны на хроматограммах, записанных при 325 нм, имеют важное значение как антиоксиданты.

Строго говоря, среди водорастворимых антиоксидантов кроме фенольных кислот (5CQA в случае яблочного сока, 3CQA – в случае вишневого или черешневого соков и т.д.) важны аскорбиновая кислота, концентрация которой в яблоках невысока и антоцианы, которые обеспечивают высокую антиоксидантную активность окрашенных соков. Но во всех исследованных нами образцах гранатовых соков антоцианы были практически полностью разрушенными до нашего анализа, хотя в вишневых соках их концентрация была значительной. В этом отношении для производства соков весьма перспективны новые сорта яблок с окрашенной антоцианами мякотью, сок которых по окраске подобен гранатовому соку. Действительно, образцы соков из таких яблок обладали вдвое большей антиоксидантной активностью по нашим данным по сравнению с традиционными соками яблок с мякотью, не содержавшей антоцианы.

Список литературы

1. Corbo M.R., Bevilacqua A., Petruzzi L., Casanova F.P., Sinigaglia M. *Compreh. Rev. Food Sci. Food Saf.* 13 (2014) 1192.
 2. Borges G., Mullen W., Crozier A. *Food Funct.* 1 (2010) 73.
 3. Francini A., Sebastiani L. *Antioxidants* 2 (2013) 181.
 4. Blainski A., Lopes G.C., Palazzo de Mello J.C. *Molecules* 18 (2013) 6852.
 5. Анисимович И.П., Дейнека В.И., Дейнека Л.А., Фролов П.А., Мясникова П.А. *Научные ведомости БелГУС. Естеств. н.* 9(80) (2010) 104
-

ИЗУЧЕНИЕ ИЗМЕНЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ ПРИ ХРАНЕНИИ В ТЕЧЕНИЕ 1 ГОДА НА ПРИМЕРЕ СУШЕНЫХ ЯГОД

Дмитриева А.Н.¹, Макарова Н.В.²

ФГБОУ ВПО «СамГТУ», Самара, Россия, ¹+79376522203,
dmitrieva.sascha2013@yandex.ru

²+7(846)332-20-69, makarovnv1969@yandex.ru

Одной из первостепенных задач сегодняшнего дня является разработка функциональных продуктов питания с длительным сроком хранения. При этом немаловажную роль играет сырье для их производства.

Изучая вопрос об изменении общего содержания фенольных соединений в фруктах и ягодах в процессе хранения мы столкнулись с тем, что в основном такие исследования проводятся заграничными учеными и в основном на свежих фруктах, либо на скоропортящихся продуктах. Еще ученые изучают влияние неблагоприятных условий хранения на содержание фенольных соединений и антиоксидантную активность, таких как различная температура [1,2] и атмосфера хранения [3].

В данной работе изложены результаты исследования химического состава, а именно общего содержания фенольных соединений, флавоноидов и антоцианов в сырье на протяжении 12 месяцев хранения на примере сушеной черной смородины. Было предложено 2 режима хранения для определения зависимости химического состава от условий хранения. Высушенные образцы черной смородины хранились в герметично закрытых банках 12 месяцев при различных условиях: при температуре 4 °C (± 2 °C), без освещения - ЯБ; при комнатной температуре с воздействием естественного освещения - СБ. Исследования проводились с интервалом в 3 месяца.

Результаты исследования химического состава сушеных ягод приведены в таблицах 1 – 3.

Общее содержание фенольных веществ (см. таблицу 1) в исходных образцах определялись в соответствии со спектрофотометрическим методом при участии реактива Folin-Ciocalteu при длине волны 725 нм. Суммарное содержание фенолов выражено как эквивалент мг галловой кислоты/100 г исходного сырья. Общее содержание фенолов в образце сушеной смородины составляет 1051 мг галловой кислоты/ 100 г.

Таблица 1.

Изменение общего содержания фенольных веществ в сушеной смородине в зависимости от срока и условий хранения

Наименование образца	Исходный образец, мг галловой кислоты/ 100 г	3 месяца, мг галловой кислоты/ 100 г	6 месяцев, мг галловой кислоты/ 100 г	9 месяцев, мг галловой кислоты/ 100 г	12 месяцев, мг галловой кислоты/ 100 г
ЯБ	1051	1051	1050	934	851
СБ	1051	835	736	603	406

Таблица 2.

Изменение общего содержания флавоноидов в сушеной смородине в зависимости от срока и условий хранения

Наименование образца	Исходный образец, мг галловой кислоты/ 100 г	3 месяца, мг галловой кислоты/ 100 г	6 месяцев, мг галловой кислоты/ 100 г	9 месяцев, мг галловой кислоты/ 100 г	12 месяцев, мг галловой кислоты/ 100 г
ЯБ	788	748	398	333	295
СБ	788	410	281	256	131

Таблица 3.

Изменение общего содержания антоцианов в сушеной смородине в зависимости от срока и условий хранения

Наименование образца	Исходный образец, мг цианидин-3-гликозида/ 100 г	3 месяца, мг цианидин-3-гликозида/ 100 г	6 месяцев, мг цианидин-3-гликозида/ 100 г	9 месяцев, мг цианидин-3-гликозида/ 100 г	12 месяцев, мг цианидин-3-гликозида/ 100 г
ЯБ	2342,3	1807,6	1040,34	930,9	813,4
СБ	2342,3	812,9	491,8	62,2	28,7

На протяжении всего исследования изменения содержания фенольных веществ в образце ЯБ начинают происходить на 9 месяце исследования (934 мг галловой кислоты/ 100 г) и снижаются на следующем этапе до 851 мг галловой кислоты/ 100 г. А в течение первых шести месяцев изменений не наблюдалось. В образце СБ изменения начали происходить спустя три месяца

хранения (835 мг галловой кислоты/ 100 г). На протяжении всего эксперимента содержание фенольных веществ только уменьшалось и на последнем этапе (двенадцатый месяц) составило 406 мг галловой кислоты/ 100 г, что в 2,5 раза меньше. Чем в исходном образце сушеной черной смородины и в 2 раза меньше, чем в образце ЯБ на аналогичном этапе.

Общее содержание флавоноидов определено колориметрическим методом, основанным на формировании флавоноид-алюминиевого комплекса. Содержание флавоноидов в исходном образце составило 788 мг галловой кислоты/ 100 г (см. таблицу 2). На третьем месяце хранения наблюдаются изменения в двух образцах, однако лидирующие позиции сохраняет образец ЯБ, который сохраняет первенство на протяжении всего эксперимента. На последнем этапе эксперимента содержание флавоноидов у образца ЯБ составляет 295 мг галловой кислоты/ 100 г, что практически в 2,5 раза меньше, чем в исходном образце. В образце СБ уже на третьем месяце содержание флавоноидов сокращается практически в 2 раза. К концу срока хранения данный параметр уменьшается в 6 раз и составляет 131 мг галловой кислоты/ 100 г, что более чем в 2 раза уступает другому образцу.

В качестве метода количественного определения суммы антоцианов в пересчете на цианидин-3-гликозид использовалась спектрофотометрическая методика. Общее содержание антоцианов в исходном образце (см. таблицу 3) равно 2342,3 мг цианидин-3-гликозида/100 г. Антоцианы оказались менее устойчивы в процессе хранения, чем другие вещества. Уже после 3 месяцев хранения у двух образцов произошли серьезные изменения по содержанию антоцианов: ЯБ – 1807,6 мг галловой кислоты/ 100 г; СБ – 812,9 мг галловой кислоты/ 100 г. На протяжении 12 месяцев происходит падение уровня содержания антоцианов в обоих образцах, однако в СБ этот процесс происходит более интенсивно. На третьем месяце хранения их содержание уменьшилось практически в 3 раза по сравнению с исходным образцом, на шестом – более чем в 4,5 раза, на девятом – более, чем в 37 раз, на двенадцатом месяце – практически в 82 раза. На последнем этапе количество антоцианов в образце ЯБ составляло 813,4 мг галловой кислоты/ 100 г, что практически в 3 раза меньше результата исходного образца, а в образце СБ – 28,7 мг галловой кислоты/ 100 г.

Обобщая результаты исследования, можно сказать, что температура хранения оказывает влияние на общее количество фенольных соединений в сырье: чем выше температура хранения, тем эти показатели ниже.

На основании наших исследований был выявлен оптимальный режим и условия хранения для сухого растительного сырья. Хранение сырья при температуре 4 °C (± 2 °C), без освещения было определено как оптимальное.

Список литературы

1. Leo L., Leone A., Longo C., Lombardi A., Raimo F., Zhaeo G. Antioxidant compounds and antioxidant activity in «early potatoes» // J. Agr. and Food Chem. 2008. Vol. 56. N. 11. P. 4154 – 4163.
2. Toor R.K., Savage G.P. Changes in major antioxidant components of tomatoes during post-harvest storage. // Food Chem. - 2006. - Vol. 99. - N. 4. - P. 724 – 727.
3. D'Abrosca B., Pacifico S., Cefarelli G., Mastellone C., Fiorentino A. «Limoncella» apple, an Italian apple cultivar: phenolic and flavonoid contents and antioxidant activity. // Food Chem. – 2007. – Vol. 104. – N. 4. – P. 1333 – 1337.

ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИРАДИКАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ КОМПОЗИЦИЙ КВЕРЦЕТИН - ГЛУТАТИОН И МОРИН - ГЛУТАТИОН

Дубровская А.М., Ильясов И.Р., Белобородов В.Л.

ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России, Москва,
Россия, +7 499 1653747, anna.mma@list.ru

В настоящее время актуальной является проблема создания средств антиоксидантной фармакотерапии в виду вовлеченности процессов свободнорадикального окисления в развитие различных патологий, таких как сердечно-сосудистые, онкологические заболевания, атеросклероз, гипертонии и др. Среди экзогенных природных антиоксидантов (АО) ведущее место занимают флавоноиды, которые обладают широким спектром биологического действия и антирадикальной активностью (АРА). Для эффективного поиска перспективных АО необходимо выявлять возможность проявления природными соединениями эффектов синергизма или антагонизма с эндогенными АО. Ранее [1], нами обоснована применимость способа, основанного на генерировании радикал-катионов $ABTS^{\bullet+}$ в присутствии АО (кинетический способ) для оценки АРА индивидуальных соединений и многокомпонентных смесей. В настоящей работе кинетический способ применили для выявления характера взаимодействия двух различающихся по структуре и АРА

флавонолов в их бинарных композициях с важнейшим эндогенным АО глутатионом.

Цель работы – Охарактеризовать совместную АРА композиций кверцетина с глутатионом и морина с глутатионом и выявить возможное взаимное влияние компонентов.

Материалы и методы: Кверцетин, 2,2'-азино-бис (3-этилбензтиазолин-6-сульфоновой кислоты) диаммониевая соль (ABTS), калия пероксидисульфат (Acros); морин, глутатион, фосфатная буферная солевая система (PBS) (Sigma-Aldrich); вода очищенная (ФС 42-2619-97), тролокс (Acros).

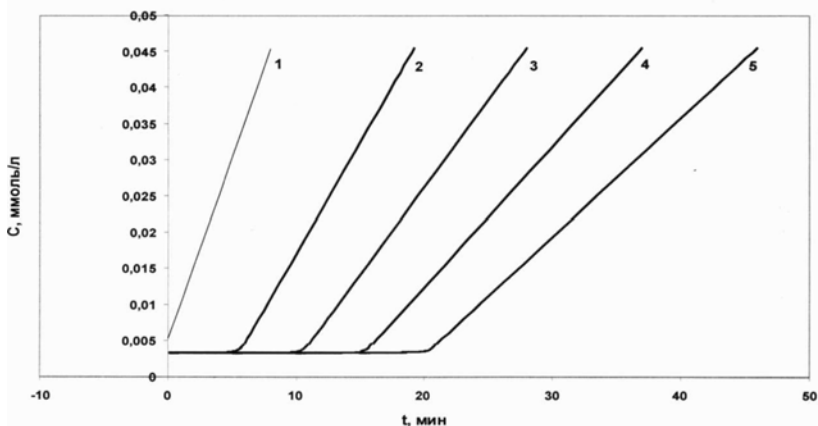


Рис.1 Кинетические кривые развития ABTS^{•+} в отсутствие, (кривая 1) и при добавлении 10, 15, 20 и 25 мкл (кривые 2, 3, 4 и 5 соответственно) 6,6 ммоль/л раствора Мор. Ось абсцисс – время после введения K₂S₂O₈ (t, мин), ось ординат – концентрация ABTS^{•+} (C, ммоль/л).

Методика проведения эксперимента: Инкубационную смесь в растворе PBS готовили, добавляя к 3,3 мл раствора ABTS с концентрацией 1,5 ммоль/л в PBS pH 7,4 рабочий раствор антиоксиданта в объеме 5–25 мкл. К полученному раствору добавляли 0,7 мл раствора пероксидисульфата калия в том же буфере с концентрацией 2,5 ммоль/л, взбалтывали в течение 15 сек и записывали кинетику образования ABTS^{•+} в максимуме 730 нм. Концентрации реагентов подбирали так, чтобы оптическая плотность инкубационной смеси без добавления раствора антиоксиданта к 15-й мин составляла 1,24±0,05 (b 1 см). Измерения проводили при температуре 23 °С. Концентрации антиоксидантов

от 5 до 200 мкмоль/л.

Результаты и обсуждение. Кинетический метод оценки АРА основан на измерении индукционного периода (ИП, лаг-тайм)

при генерировании радикал-катиона $ABTS^{\bullet+}$ в присутствии антиоксидантов. Раствор $ABTS$ смешивается с раствором исследуемого объекта, реакция окисления $ABTS$ инициируется введением раствора пероксидисульфата калия. В результате взаимодействия $ABTS$ с пероксидисульфатом калия образуется

$ABTS^{\bullet+}$, имеющий характерные полосы поглощения в области 600–900 нм. АО выступают в качестве «ловушки радикалов» и радикал-

катионы $ABTS^{\bullet+}$ фиксируются спектрально в инкубационной среде после израсходования АО. В качестве измеряемых величин

оценивали ИП появления $ABTS^{\bullet+}$ и кинетические характеристики. В

отсутствие антиоксидантов образование $ABTS^{\bullet+}$ начинается сразу же после добавления в инкубационную среду пероксидисульфата калия. Введение исследуемых растворов АО, вызывало появление ИП, продолжительность ИП пропорционально возрастала с увеличением концентрации АО (рис. 1).

Таблица 1.

Характеристика АРА композиций Quer-GSH

Quer конц., мкмоль/л	Quer ИП, мин	GSH конц., мкмоль/л	GSH ИП, мин	Quer + GSH расч. ИП, мин	Quer + GSH набл. ИП, мин	Соотношение	% синергизма (среднее из 3х независимых измерений)
10,0	13,4	40,0	5,4	18,8	24,2	1:4	29,0
5,0	7,2	40,0	5,4	12,6	17,2	1:8	36,5
5,0	7,2	60,0	8,8	16,0	23,0	1:12	44,0
5,0	7,2	80,0	11,2	18,4	26,7	1:16	45,0
5,0	7,2	100,0	14,2	21,4	29,8	1:20	39,3

Исследованы бинарные композиции кверцетин-глутатион и морин-глутатион в мольных соотношениях 1:4, 1:8, 1:12, 1:16, 1:20. Перед измерением ИП исследуемой композиции АО измеряли ИП растворов индивидуальных АО, составляющих композицию, в тех же концентрациях, что и в исследуемой композиционной смеси.

Если экспериментально измеренный ИП исследуемой композиции превышал аддитивную сумму ИП АО, составляющих композицию, отмечали синергизм, если же он оказывался меньше аддитивного значения ИПАО, составляющих композицию, – антагонизм.

Композиции кверцетин-глутатион проявляют существенный синергизм во всех исследуемых соотношениях, максимальный эффект был зафиксирован при молярном соотношении 1:16. Рост синергизма наблюдался от соотношения 1:4 к 1:16, от 1:16 до 1:20 наблюдался спад синергизма (Табл.1).

Для композиций морин-глутатион для всего исследуемого интервала соотношений концентраций наблюдается только аддитивная сумма вкладов компонентов (Табл. 2).

Таким образом, среди двух флаванолов с близкой структурой в композициях с глутатионом только для кверцетина наблюдается повышение АРА, что обусловлено возможностью глутатиона восстанавливать окисленные продукты (флавоксильные радикалы) кверцетина, как соединения с более высокой АРА, что и resultsруется наблюдаемым эффектом синергизма. Используемый в работе кинетический способ оценки АРА, основанный на генерировании $ABTS^{\bullet+}$ в присутствии АО может использоваться при разработке многокомпонентных препаратов антиоксидантного действия.

Таблица2.

Характеристика АРА композиций Мор-GSH

Мор конц., мкмоль/л	Мор ИП, мин	GSH конц., мкмоль/л	GSH ИП, мин	Мор + GSH расчетный ИП, мин	Мор + GSH набл. ИП,мин	Соотн.	% синер- гизма (среднее из 3х незави- симых изме- рений)
10,0	6,4	40,0	6,1	12,5	12,7	1:4	0
10,0	6,4	80,0	9,9	16,3	16,2	1:8	0
10,0	6,4	120,0	14,9	21,3	21,2	1:12	0
10,0	6,4	160,0	19,9	26,3	26,2	1:16	0
10,0	6,4	200,0	26,0	32,4	32,3	1:20	0

Список литературы.

1. И.Р. Ильясов, В.Л. Белобородов, Н.А. Тюкавкина, Индукционный период образования ABTS^{•+} как характеристика антирадикальной активности ряда природных антиоксидантов, *Фармация*, 2008, №8, С.14–17.
 2. И.Р. Ильясов, В.Л. Белобородов, Н.А. Тюкавкина, Е.В. Веровская, Применение радикал-катионов ABTS^{•+} в оценке антиоксидантной активности флавоноидов, *Фармация*, 2008, №6, С.15–18.
-

ИССЛЕДОВАНИЯ ПО ИЗУЧЕНИЮ ИЗМЕНЕНИЙ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА ПЛОДОВ РАСТОРОПШИ ПЯТНИСТОЙ, ПОДВЕРГШИХСЯ ВЛИЯНИЮ ФАКТОРОВ КОСМИЧЕСКОГО ПОЛЕТА

Егорова А.В., Куркин В.А.

ГБОУ ВПО СамГМУ Минздрава России, Россия, Самара, +7(846)2603359;
zulini@yandex.ru

В рамках программы развития космической медицины и биологии проводятся исследования высших лекарственных растений, подвергшихся влиянию факторов космического полета. Биологические эксперименты в космических полетах вносят существенный вклад в решение практических задач современной фармакогнозии, а именно изучение возможности выживания и развития высших лекарственных растений в ходе длительных космических полетов, динамики накопления и активности их действующих веществ. С целью получения новых данных по влиянию условий микрогравитации и других факторов космического полета на химический состав, физиологическое состояние, параметры всхожести и дальнейшее развитие лекарственных растений (на примере двух видов – расторопши пятнистой и мелиссы лекарственной) был осуществлен эксперимент «Флора-М» на космическом аппарате (КА) «ФОТОН-4». Объекты были размещены внутри спускаемого аппарата в научной аппаратуре (НА) «Флора-М», в НА «Гипомагнестат» (обеспечивающей исключение влияния магнитного поля Земли), а также в условиях открытого космического пространства. В настоящее время изучается влияние совокупности факторов космического полета на химический состав плодов расторопши пятнистой (*Silybum marianum* (L.) Gaertn). Оцениваются качественные и количественные показатели флаволигнанов, как ведущей группы БАС расторопши пятнистой.

Цель исследования: оценка качественных и количественных параметров флаволигнанов в плодах расторопши пятнистой, подвергшихся влиянию факторов космического полета.

Объекты исследования: водно-спиртовые извлечения из плодов расторопши пятнистой, размещенных в научной аппаратуре внутри спускаемого аппарата; плодов расторопши пятнистой, размещенных в научной аппаратуре, исключающей воздействие магнитного поля Земли, плодов расторопши пятнистой контрольных образцов, которые оставались на Земле.

Методы исследования: тонкослойная хроматография, спектрофотометрический анализ.

Проведен предварительный ТСХ-скрининг водно-спиртовых извлечений из исследуемых образцов, который показал наличие пятен, характерных для флаволигнанов расторопши пятнистой.

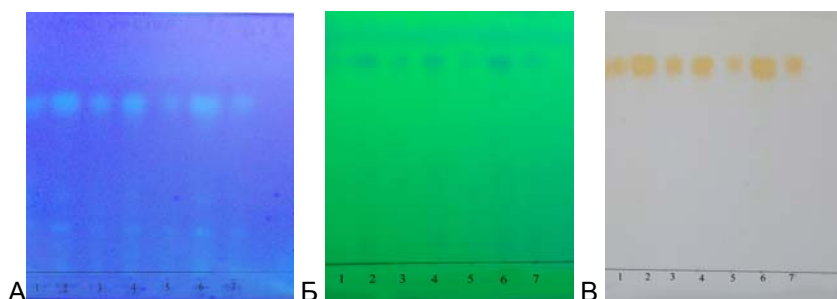


Рис. 1 – ТСХ-скрининг водноспиртовых извлечений из плодов расторопши пятнистой (*Silybum marianum* (L.) Gaertn). А – УФ свет с длиной волны 366 нм; Б – УФ свет с длиной волны 264 нм; В – видимая область света.

Кроме того, изучены спектральные характеристики водно-спиртового извлечения из плодов расторопши пятнистой, подвергшихся влиянию факторов космического полета.

Сравнительное изучение электронных спектров испытуемых образцов показало близкие значения максимумов поглощения, что подтверждает сохранность биологически активных веществ в плодах расторопши пятнистой, подвергшихся воздействию факторов космического полета. Кроме того, величина коротковолнового максимума наибольшая в образце водно-спиртового извлечения из плодов расторопши пятнистой, пребывавших в научной аппаратуре, исключающей влияние магнитного поля земли.

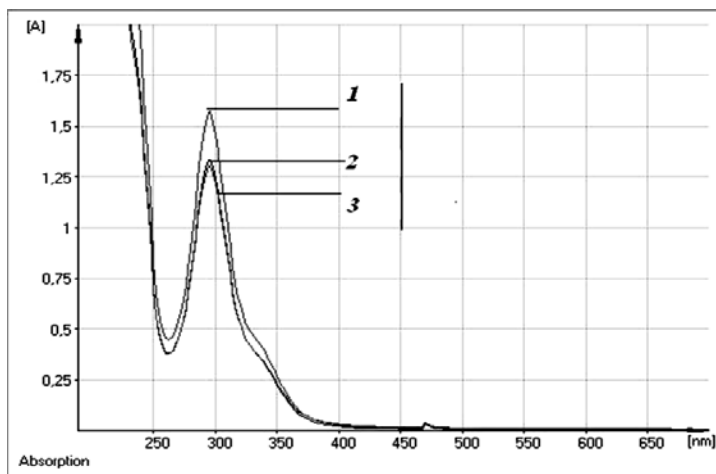


Рис. 2 – Электронные спектры растворов водно-спиртовых извлечений из плодов расторопши пятнистой.

1 - водно-спиртовое извлечение из плодов расторопши пятнистой, размещенных в научной аппаратуре, исключающей воздействие магнитного поля Земли

2 - водно-спиртовые извлечения из плодов расторопши пятнистой, размещенных в научной аппаратуре внутри спускаемого аппарата

3- водно-спиртовые извлечения из плодов расторопши пятнистой контрольных образцов

По результатам проведенных исследований можно сделать промежуточные выводы об отсутствии негативного влияния факторов космического полета на основные биологически активные вещества плодов расторопши пятнистой. Дальнейшие детальные исследования позволят изучить причины изменения электронного спектра водно-спиртового извлечения из плодов расторопши пятнистой, размещенных в научной аппаратуре, исключающей воздействие магнитного поля Земли.

Список литературы

1. Абрашкин В.И., Авдеева Е.В., Куркин В.А., Рыжов В.М., Горелов Ю.Н., Курганская Л.В., Ильин В.К., Кавеленова Л.М., Розно С.А., Рузаева И.В., Рузаева К.С. О предварительных результатах космического эксперимента с семенами высших растений на КА "БИОН-М" № 1. Вестник Самарского государственного университета. 2013.- № 9- 1 (110). - С. 140-150.
2. Волова Л.Т., Горелов Ю.Н., Кулагина Л.Н., Курганская Л.В., Щербак А.В. О разработке научной аппаратуры «СИГМА» для проведения медико-биологических космических экспериментов // Системный

-
- анализ, управление и навигация: Тезисы докладов (XVIII междунар. научная конф.; Евпатория, Крым, Украина, 30 июня - 07 июля 2013г.). – М.: Изд-во МАИ, 2013. – С. 24-25.
3. Куркин В.А. Фармакогнозия: Учебник для студентов фармацевтических вузов (факультетов). – 2-е изд., перераб. и доп. – Самара: ООО «Офорт», СамГМУ, 2007. – 1239 с.
 4. Определитель растений on-line. <http://www.plantarium.ru/>
-

ФЕНОЛЬНЫЕ РАСТИТЕЛЬНЫЕ И СИНТЕТИЧЕСКИЕ АНТИОКСИДАНТЫ В ПРОФИЛАКТИКЕ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ

Ерохин В.Н., Семенов В.А., Кременцова А.В., Бурлакова Е.Б.
Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва, Россия,
495-939-7178, valery@sky.chph.ras.ru

В настоящее время разнообразные экологические проблемы приобретают особенно большое значение. Одним из основных последствий влияния вредных экологических факторов является увеличение риска онкологических заболеваний. Поэтому остро встает проблема профилактики этих заболеваний, поиска препаратов, которые могли бы затормозить или полностью предотвратить развитие злокачественных новообразований. В качестве таких препаратов нами были выбраны антиоксиданты (растительные и синтетические). Направление этих исследований хорошо согласуется с развиваемым в настоящее время направлением по профилактике раковых заболеваний с помощью эффективных малотоксичных веществ, к которым можно отнести и антиоксиданты (1). Известно, что многие препараты в малых и сверхмалых дозах обладают активностью, сравнимой с активностью в терапевтических дозах (2), но при этом, естественно, обладают существенно меньшей токсичностью.

В качестве возможного профилактического препарата нами был выбран синтетический антиоксидант из класса экранированных фенолов - (4-гидрокси-3,5-дитретбутилфенил) пропионовая кислота (фенозан) (3). С другой стороны известно, что и многие продукты растительного происхождения, травы, пряности и их экстракты обладают широкой антиоксидантной активностью (4,5). Эти соединения применяются в низких дозах, они мало токсичны и рекомендуются к применению для снижения риска заболеваний, вызываемых повышенным окислением компонентов клеток. Среди натуральных антиоксидантов растительного происхождения важное

место принадлежит эфирным маслам, которые являются смесью летучих веществ, выделяемых из пряно-ароматических растений. В нашей работе использовалось эфирное масло чабера садового (*Satureja hortensis*) (6,7). Оно содержало по 0.5 - 1.7% монотерпеновых углеводородов (α -туйен, α -пинен, камфен, β -пинен, β -мирцен, сабинен, α -фелландрен, α -терпинен), 2.1% р-цимена, 14.8% γ -терпинена, 2.8% борнилацетата, 18,1% тимола, 37,8% карвакрола, и 4.0% β -кариофиллена. Высокое содержание тимола, карвакрола и γ -терпинена отвечало за антиоксидантную активность масла (8). Ранее было установлено, что добавление в корм крысам масла тимьяна (1200 мг на 1 кг массы) повышало общий антиоксидантный статус животных (9). Следует отметить, что дозировки масла чабера в нашей работе были на 2 порядка меньше, чем в работе (9).

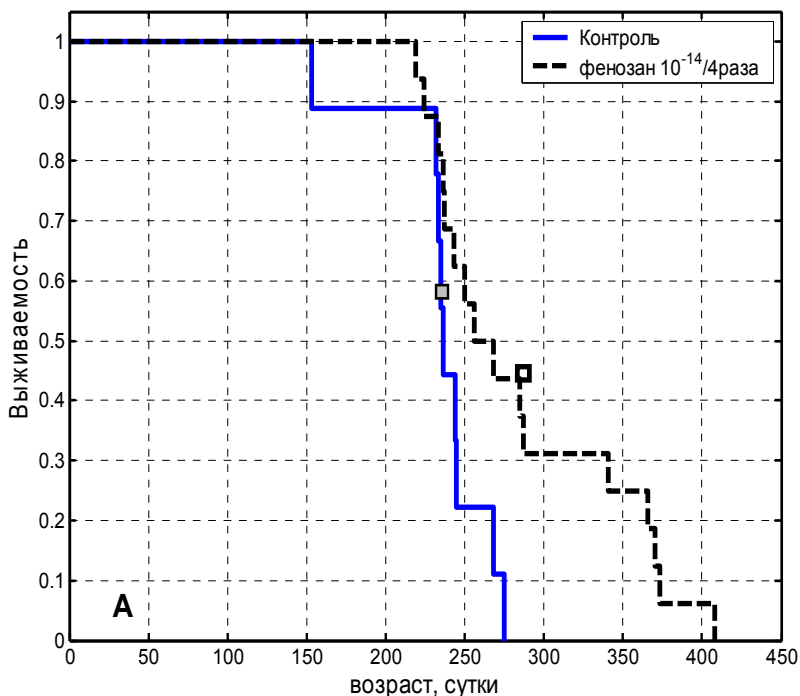


Рис. 1. Кривые выживаемости лейкозных мышей линии AKR в контроле (с низкой максимальной ПЖ) и при действии фенозана в дозе 10^{-14} моль/кг. Квадратики отмечены выборочные значения средней ПЖ .

В качестве экспериментальной модели для изучения противоопухолевых свойств изучаемых препаратов был выбран лейкоз у мышей инбредной линии AKR. Эта модель интересна тем, что у данных животных в возрасте 6-11 месяцев генетически запрограммировано, в высоком проценте случаев (65-95%) возникает лейкоз. Такие лейкозы называются спонтанными и могут моделировать естественное возникновение и развитие злокачественных новообразований. Следует отметить, что эти лейкозы мышей по происхождению и клиническим проявлениям, по сходству морфологических особенностей наиболее близки к лейкозам человека (10). Ранее нами было проведено подробное кинетическое исследование развития этого лейкоза, в котором были получены кинетические кривые изменения гематологических показателей, в том числе изменение количества недифференцированных (лейкозных) клеток и спектры ЯМР (этот метод позволяют различить клетки, находящиеся на разных стадиях дифференцировки) лимфоцитов тимуса и лимфоузлов, злокачественная трансформация которых и приводит к развитию лейкоза (11).

Фенозан вводили в виде водного или физиологического раствора в дозе 10^{-14} моль/кг четыре раза подряд с интервалом в одни сутки. Эфирное масло чабера вводили с питьевой водой в дозе $5 \cdot 10^{-7}$ моль/кг в сутки или с едой в количестве 50 мг 0,5% чабера в порошке глюкозы на 10 граммов корма в течение всего эксперимента до естественной гибели животных.

Эффективность развития лейкозного процесса в контроле и под воздействием препаратов оценивалась по кривым выживаемости (смертности), продолжительности жизни (ПЖ) животных и проценту возникновения лейкозов. Кривые выживаемости аппроксимировались функцией Гомпертца.

Фенозан при данном режиме введения увеличил среднюю ПЖ более чем на 40 суток и снизил возникновение лейкоза на 6% (в контроле 93%, в опыте 86,9%). В серии опытов, где наблюдалась аномально низкая продолжительность жизни в контроле, отмечалось особо значительное противолейкозное действие фенозана в этой дозе: максимальная продолжительность жизни увеличилась почти в 1.5 раза (рис. 1).

Природные антиоксиданты, содержащиеся в эфирных маслах растений, также оказали противолейкозное действие в отношении лейкоза мышей AKR.

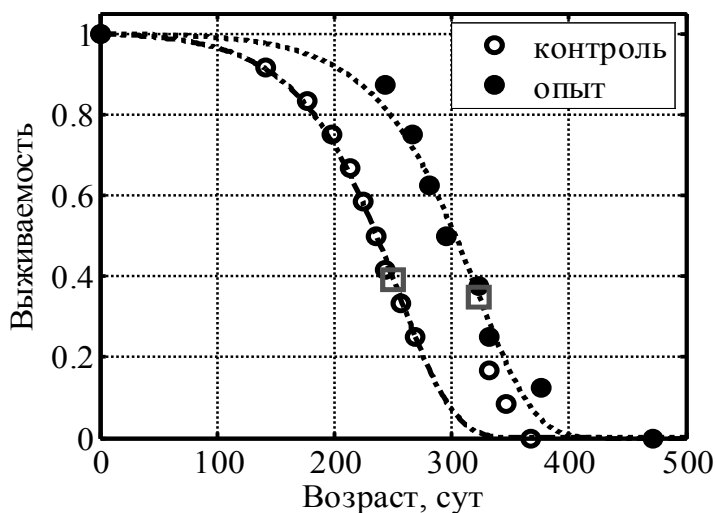


Рис.2. Кривые выживаемости мышей линии AKR в контроле и при добавлении в корм масла чабера. Квадратиками отмечены выборочные значения средней ПЖ.

На рис. 2 приведены соответствующие кривые выживаемости животных в контроле и при введении эфирного масла чабера с кормом.

Видно, что чабер оказал заметное противолейкозное действие: средняя продолжительность жизни увеличилась (в среднем на 20%). В случае применения препарата с едой (рис.2) значительно увеличилась как средняя ПЖ (на 74 сут), так и максимальная продолжительность жизни (на 104 сут). Противолейкозное действие препарата чабера также нашло отражение и в снижении процента возникновения лейкоза: с 100% до 63%. В обоих случаях отмечена разница в сроках начала гибели животных: в контрольной группе она начиналась после 120 дня жизни, а в опытных – после 200-250-го дня. Из рис. 2 видно также, что постоянное употребление эфирного масла чабера существенно увеличивало латентный период. Таким образом, употребление эфирного масла чабера оказывало профилактическое действие, отодвигая сроки возникновения лейкоза и массовой гибели животных.

Полученные результаты позволяют считать перспективным

использование антиоксидантов (в том числе фенольной природы) в лечебных и профилактических целях для защиты живых организмов от развития злокачественных новообразований.

Список литературы

1. Won-Yoon Chung, Yeon-Joo Jung, Young-Joon Surh et al. Antioxidative and antitumor promoting effects of [6]-paradol and its homologs. *Mutation Research*. 2001. Vol. 496. P. 199-206.
 2. Бурлакова Е.Б. Эффект сверхмалых доз // Вестн РАН. 1994. Т. 64. № 5. С.425-431.
 3. Ерохин В.Н., Кременцова А.В., Семенов В.А., Бурлакова Е.Б. Влияние антиоксиданта - β -(4-гидрокси-3,5-дитретбутилфенил)пропионовой кислоты (фенозана) на развитие злокачественных новообразований. *Известия РАН, сер. биол.* 2007. №5. С.583-590.
 4. Lampe J. W. Spicing up a Vegetarian Diet: Chemopreventive Effects of Phytochemicals. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2003, vol. 78, pp. 579S-583S.
 5. Dragland S., Senoo H., Wake K. et al. Several Culinary and Medicinal Herbs Are Important Sources of Dietary Antioxidants. *J. Nutr.*, 2003, vol. 133, pp. 1286-1290.
 6. В.Н. Ерохин, В.А. Семёнов, А.В. Кременцова, Е.Б. Бурлакова. Влияние антиоксидантов растительного происхождения на развитие лейкоза у мышей линии AKR. Тезисы XX Международного симпозиума «Современная химическая физика». Туапсе, 2008. С. 55.
 7. Бурлакова Е.Б., Ерохин В.Н., Мишарина Т.А., Фаткуллина Л.Д., Кременцова А.В., Семёнов В.А., Теренина М.Б., Воробьева А.К., Голощапов А.Н. Влияние летучих антиоксидантов растительного происхождения на развитие спонтанного лейкоза у мышей. *Известия РАН, сер. биол.* 2010. №6. С.711-718.
 8. Мишарина Т. А., М.Б.Теренина, Н.И.Крикунова Антиоксидантные свойства эфирных масел. // *Приклад. биохим. и микробиол.* 2009. Т. 45. № 6. С. 642-647.
 9. Youdim K. A. and Deans S. G. Effect of Thyme Oil and Thymol Dietary Supplementation on the Antioxidant Status and Fatty Acid Composition of the Ageing Rat Brain. *British J. Nutr.* 2000, vol. 83, pp. 87-93.
 10. Бергольц В.М., Румянцев Н.В. Сравнительная патология и этиология лейкоза человека и животных. М.: Медицина, 1966. 291 с.
 11. Ерохин В.Н., Бурлакова Е.Б. Спонтанный лейкоз – модель для изучения эффектов малых и сверхмалых доз физических и физико-химических воздействий на опухолевый процесс. *Радиационная биология. Радиоэкология*, 2003. Т.43. №2. С.237-241.
-

АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ БИНАРНЫХ КОМПОЗИЦИЙ НА БАЗЕ ДИКВЕРТИНА

Ильясов И.Р., Дубровская А.М., Белобородов В.Л., Тюкавкина Н.А.

ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России, Москва, Россия, +7 499 1653747, igor@ilyasov.net

Диквертин (ДКВ) – это флавоноидный комплекс, выделяемый из комлевой части древесины лиственницы сибирской (*Larix sibirica* Ledeb.) или даурской (*Larix gmelinii* Rupr.) Преобладающим компонентом ДКВ является дигидрокверцетин (ДГК), содержание которого составляет не менее 90%, также допускается содержание дигидрокемпферола, нарингенина и кверцетина. ДКВ обладает антиоксидантным, дезинтоксикационным, гепатопротекторным, радиопротекторным и противоотечным действиями, гипополидемической и диуретической активностью [1].

Цель настоящей работы – исследование особенностей проявления антиоксидантной активности композиций диквертина с аскорбиновой кислотой, глутатионом и α -токоферолом при различном мольном соотношении компонентов.

Материалы и методы. *Объекты исследования:* ДКВ (ООО «Флавир», Иркутск). Используемый в работе образец диквертина охарактеризован методом ВЭЖХ: дигидрокверцетин $90.23 \pm 0.32\%$; дигидрокемпферол $0.67 \pm 0.05\%$; нарингенин $0.28 \pm 0.03\%$; кверцетин $2.21 \pm 0.11\%$. Аскорбиновая кислота (АК, Sigma), α -токоферол (Ток, Fluka), глутатион (Sigma). ABTS [2,2'-азино-бис (3-этилбензтиазолин-6-сульфоновой кислоты) диаммониевая соль] (Tokio Chemical Industry), фосфатный солевой буфер (PBS, pH 7,4, Sigma). пероксидисульфат калия (Sigma).

Измерение антиоксидантной активности. Деколоризационный способ. Для сопоставления АОА исследуемых объектов применен подход, основанный на способности антиоксидантов ингибировать генерируемые в модельных условиях радикал-катионы $ABTS^{+}$. Добавляемые в инкубационную среду анализируемые растворы веществ подавляют поглощение $ABTS^{+}$ в соответствии с их АОА.

Для генерирования радикал-катиона $ABTS^{+}$ к раствору ABTS в PBS с концентрацией 7 ммоль/л добавляли равный объем раствора пероксидисульфата калия в том же буфере с концентрацией 2,5 ммоль/л и оставляли на 12 часов в темном месте. Радикал-катион $ABTS^{+}$ имеет три полосы поглощения в

длинноволновой части спектра с максимумами при 647, 730 и 812 нм. Конечную концентрацию ABTS^{•+} в рабочей смеси готовили таким образом, чтобы поглощение в максимуме при 730 нм составляло $0,7 \pm 0,05$ единиц оптической плотности (b 1 см).

Рабочие растворы объектов исследования готовили, создавая такие концентрации в PBS, добавление которых в объеме 5-25 мкл к 3,9 мл раствора ABTS^{•+} вызывало подавление поглощения ABTS^{•+} в интервале от 20 до 60%. Инкубировали 4 мин при 30 °С.

Если $ЭС > 1$, то подразумевали синергизм, если $ЭС = 1$, аддитивный эффект, при $ЭС < 1$ – антагонизм.

Кинетический способ. Инкубационную смесь в растворе PBS готовили, добавляя к 3,3 мл раствора ABTS с концентрацией 1,5 ммоль/л в PBS рабочий раствор антиоксиданта в объеме 5–25 мкл. К полученному раствору добавляли 0,7 мл раствора пероксидисульфата калия в том же буфере с концентрацией 2,5 ммоль/л, взбалтывали в течение 15 сек и записывали кинетику образования ABTS^{•+} в максимуме 730 нм. Концентрации реагентов подбирали так, чтобы оптическая плотность инкубационной смеси без добавления раствора антиоксиданта к 15-й мин составляла $1,24 \pm 0,05$ (b 1 см). Все измерения проводили при 23 °С.

Эффект смеси. Для деколоризационного способа эффект смеси ($ЭС$) рассчитывали по формуле: $ЭС = I_{\text{набл}} / I_{\text{теор}}$, где $I_{\text{набл}}$ – наблюдаемое ингибирование ABTS^{•+}, %, а $I_{\text{теор}}$ – теоретически рассчитанное ингибирование ABTS^{•+}, %. $ТИ$ рассчитывали из уравнений линейной регрессии каждого из компонентов композиции для соответствующих композиции концентраций.

Для кинетического способа $ЭС$ рассчитывали по формуле: $ЭС = ИП_{\text{набл}} / ИП_{\text{теор}}$, где $ИП_{\text{набл}}$ – наблюдаемый индукционный период композиции, мин, а $ИП_{\text{теор}}$ – теоретически рассчитанная сумма индукционных периодов компонентов композиции, мин. Если $ЭС > 1$, то подразумевали синергизм, если $ЭС = 1$, аддитивный эффект, при $ЭС < 1$ – антагонизм.

Результаты и их обсуждение. В работе использовали две модификации метода, основанные на подавлении антиоксидантами радикал-катиона ABTS^{•+}: деколоризационный и кинетический способы, которые были описаны нами ранее [2, 3]. Различия касаются создания реакционной среды и способа регистрации взаимодействия антиоксиданта с ABTS^{•+}. В основе деколоризационного способа лежит измерение уменьшения интенсивности полос поглощения предварительно генерированного радикал-катиона ABTS^{•+} при добавлении антиоксиданта. Кинетический способ основан на появлении индукционного периода

(ИП), т. е. задержки во времени образования АВТС⁺⁺ в присутствии антиоксиданта в зависимости от его АОА. Данные подходы использованы с целью получения более полной информации о характере проявления антиоксидантных свойств потенциальных антиоксидантов, к тому же второй позволяет установить кинетические закономерности радикалулавливающей способности.

Композиции ДКВ+АК и ДКВ+Ток (деколоризационный способ)

ДКВ+АК. Для всех композиций ДКВ с АК обнаружен эффект антагонизма, причем величина его возрастает с увеличением доли АК (табл. 1). Максимальный антагонизм ($\text{ЭС}=0,84\pm0,01$) наблюдается при значительном преобладании Asc в композиции (10:1).

ДКВ+Ток. Для всех композиций ДКВ+Ток выявлен небольшой по величине антагонизм (табл. 1). В отличие от композиций ДКВ+АК, величина наблюдаемого эффекта не зависела от соотношения компонентов.

Таблица 1.
Эффект смеси композиций ДКВ+АК и ДКВ+Ток при разных мольных соотношениях

композиция	ЭС $\pm$ ст. откл.	композиция	ЭС $\pm$ ст. откл.
<i>ДКВ*+АК</i>		<i>ДКВ*+Ток</i>	
10:1	$0,96 \pm 0,03^a$	5:1	$0,90 \pm 0,04^a$
5:1	$0,93 \pm 0,02^a$	2:1	$0,90 \pm 0,07^a$
3:1	$0,90 \pm 0,03^a$	1:1	$0,91 \pm 0,03^a$
1:1	$0,92 \pm 0,01^a$	1:2,5	$0,94 \pm 0,05^a$
1:3	$0,87 \pm 0,02^a$	1:5	$0,91 \pm 0,03^a$
1:5	$0,89 \pm 0,03^a$	* в пересчете на дигидрохверцетин	
1:10	$0,87 \pm 0,01^a$	^a статистически значимый, $p=0,01$	

Композиции ДКВ+глутатион и ДКВ+Ток (кинетический способ)

ДКВ+глутатион. Экспериментальный ИП композиции ДКВ+глутатион значительно превышал расчетную аддитивную сумму индивидуальных ИП компонентов в тех же концентрациях., что свидетельствует о синергетическом характере АОА композиции (табл. 2).

Таблица 2.

Эффект смеси композиции ДКВ+глутатион при разных мольных соотношениях

композиция	ЭС ± ст. откл.	
ДКВ*+глутатион		
1:1	1,16±0,22	^a
1:2,5	1,70±0,11	^a
1:5	2,08±0,15	^a
1:10	2,51±0,22	^a
* в пересчете на дигидрохверцетин		
^a статистически значимый, p=0,01		

Величина наблюдаемого синергизма растет с увеличением доли глутатиона в композиции. Для композиции 1:10 эта величина в 2,5 раза превышает аддитивную сумму вкладов компонентов (синергизм 151%). Можно предположить, что это является следствием взаимодействия окисленных форм ДГК с глутатионом, и в результате их полным или частичным восстановлением. Согласно ранее полученным данным ТЕАС глутатиона равен 0,50±0,02, а дигидрохверцетина, основного компонента ДКВ, 1,67±0,24 [3]. Глутатион, восстанавливая окисленные формы ДГК, в конечном итоге подавляет большее количество молекул АВТС⁺⁺ – это может являться основой синергизма их АОА.

Таблица 3.

Антиоксидантная активность композиции ДКВ+Ток

Композиция	ИП1*, мин	ИП2*, мин	ИП1+2*, мин	Аддитивная сумма ИП* (расчетная), мин
ДКВ+Ток				
1:1	3,8±0,6	7,0±0,5	10,8±1,1	9,6±0,3
1:5	24,8±2,4	7,0±0,9	31,8±3,3	30,2±2,0
1:10	47,1±3,6	6,3±0,3	53,4±3,9	54,1±2,6
*Данные представлены с указанием стандартного отклонения; ИП1+2 рассчитывали по формуле ИП1+2=ИП1+ИП2,				

ДКВ+Ток. На кинетической кривой, характерной для развития поглощения раствора АВТС⁺⁺ в присутствии композиции ДКВ+Ток, можно увидеть два ИП: сперва наблюдается полное

подавление $ABTS^{++}$ – это ИП1, затем происходит кратковременный резкий рост поглощения раствора, который сменяется периодом плато – ИП2, который, в свою очередь, завершаясь плавно переходит в восходящую часть кинетической кривой.

Сравнение данных полученных для композиции и ее компонентов (табл. 3), показало, что длительность ИП₂ остается неизменной и практически не отличается от ИП ДКВ индивидуально в такой же концентрации, а длительность ИП₁ возрастает с увеличением доли α -токоферола в композиции и равна продолжительности ИП α -токоферола в тех же концентрациях. Характерный вид кинетических кривых и сравнение результатов, полученных для композиции и ее компонентов, дает основание полагать, что в композиционном составе они реагируют последовательно, сперва α -токоферол, затем ДКВ. Итоговый ИП₁₊₂ композиции практически не отличался от расчетной аддитивной суммы компонентов, что говорит об отсутствии синергизма или антагонизма АОА компонентов композиции.

Влияние метода на АОА. Одну из первостепенных ролей в исследовании эффекта композиции играет модельная система, используемая для оценки АОА. В деколоризационном способе радикал-катион $ABTS^{++}$ в течение всего периода инкубирования находится в значительном избытке, стимулируя антиоксидант проявлять максимально возможную АОА. Как следствие, равновесие реакции $ABTS^{++} + AO \rightarrow ABTS + AO\cdot$ будет максимально сдвинуто вправо. Другим логическим следствием избытка $ABTS^{++}$ будет то, что антиоксидант со значительно большей вероятностью прореагирует с $ABTS^{++}$, то есть проявит собственную АОА, нежели будет взаимодействовать с окисленной формой другого антиоксиданта с последующей его регенерацией и, таким образом, появлением ЭС. Кинетический способ представляет собой принципиально другую модель, в которой концентрация вводимых в инкубационную среду антиоксидантов находится в течение ИП в избытке по отношению к генерируемому с определенной скоростью радикал-катиону $ABTS^{++}$. В этих условиях антиоксиданты и окисленные интермедиаты могут вступать во взаимодействия, восстанавливая друг друга и давать более наглядную картину особенностей проявления АОА компонентов композиции.

Литература

1. М. Б. Плотников, Н. А. Тюкавкина, Т. М. Плотникова, Лекарственные препараты на основе диквертина. Томск: Издательство Томского университета, 2005, р. 228.

-
2. И. Р. Ильясов, В. Л. Белобородов, Н. А. Тюкавкина, Е. В. Веровская, Применение радикал-катионов ABTS•+ в оценке антиоксидантной активности флавоноидов, Фармация, vol. 6, pp. 15–18, 2008.
 3. И. Р. Ильясов, В. Л. Белобородов, and Н. А. Тюкавкина, Индукционный период образования ABTS•+ как характеристика антирадикальной активности ряда природных антиоксидантов, Фармация, vol. 8, pp. 14–17, 2008.
-

УДК 634

АНАЛИЗ СОДЕРЖАНИЯ БИОФЛАВОНОИДОВ И КАРОТИНОИДОВ В ЭКСТРАКТАХ ИЗ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ ФЛОРЫ БАШКОРТОСТАНА

**Ишмухаметова С.Р.¹, Валитова Л.А.¹, Ласточкина О.В.²,
Пусенкова Л.И.²**

ФГБОУ ВПО Башкирский ГАУ, Уфа, Россия, thppr13@mail.ru

ФГБНУ Башкирский НИИСХ, Уфа, Россия, bniish@rambler.ru

Биофлавоноиды - обширная группа фенольных соединений растительного происхождения, обладающие капилляроукрепляющей (Р-витаминной) активностью [1]. Успешное использование Р-витаминных препаратов при лечении и профилактике целого ряда заболеваний привлекло особый интерес исследователей, в частности, актуальным является выявление и отбор наиболее ценных по содержанию биофлавоноидов и каротиноидов растительного сырья для производства функциональной пищи [1, 2].

В связи с этим цель нашей работы состояла в оценке содержания биологически активных флавоноидов и β-каротина в экстрактах некоторых видов растительного сырья, произрастающих в республике Башкортостан (РБ).

Объектом исследований служили свежие плоды рябины обыкновенной (*Sorbus aucuparia* L.), облепихи крушиновидной (*Hippophae rhamnoides* L.) и калины обыкновенной (*Viburnum opulus* L.), собранные в период полного созревания на территории РБ. Для количественного определения содержания суммы флавоноидов использовали спектрофотометрический метод, основанный на реакции комплексообразования с алюминия хлоридом [3], содержание β-каротина определяли с помощью спектрофотометрии в видимой области [4].

Установлено, что среди исследуемых образцов наиболее богатыми по суммарному содержанию биофлавоноидов (в

пересчете на рутин), способствующих накоплению аскорбиновой кислоты в различных органах и тканях организма человека и укрепляющих стенки кровеносных капилляров, являются плоды *Sorbus aucuparia* L. Кроме того выявлено, что плоды исследуемых культур характеризуются высоким содержанием аскорбиновой кислоты и каротиноидов (в пересчете на β -каротин). Вместе с тем, следует отметить, что наиболее высокое содержание β -каротина обнаружено в плодах *Hippophae rhamnoides* L. и *Sorbus aucuparia* L.

Таким образом, полученные данные по сравнительному анализу содержания биофлавоноидов и каротиноидов в исследуемых видах нетрадиционного сырья позволяют рекомендовать плоды *Sorbus aucuparia* L., *Hippophae rhamnoides* L., произрастающие на территории РБ, для использования в качестве сырья при производстве продуктов питания функционального назначения, обладающих Р-витаминной активностью.

Список литературы.

1. Григорьев В.П., Комисаренко Н.Ф., Дмтрук С.Е. Биологически активные вещества лекарственных растений. Новосибирск: Наука. 1990. 333 с.
2. Bagdonaite E., Martonfi P., Repcak M. Variation in concentrations of major bioactive compounds in *Hypericum perforatum* L. from Lithuania // Industrial Crops and Products. 2011. V.35. P.302-308.
3. Писарев Д.И., Новиков О.О., Сорокопудов В.Н., Халикова М.А., Жиликова Е.Т., Огнева О.В. Химическое изучение биологически активных полифенолов некоторых сортов рябины обыкновенной - *Sorbus aucuparia* // Научные ведомости. Серия: Медицина. Фармация. 2010. №22(93). Вып.12/2. С.123-128.
4. Крупянская В.Н. Получение и исследование соединения облепихового масла с β -циклодекстрином // Вестник ВГУ. Серия: Химия. Биология. Фармация. 2004. №2. С.222-224.

МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ И ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПРИМЕНЕНИЯ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

Кайбулаева Р.С., Брановицкая Т.Ю., Чмелева С.И.

Таврическая Академия Крымского Федерального университета им.
Вернадского, Симферополь тел. +7(978)8949078,
rusana_kaybulaeva@mail.ru

При переработке винограда на соки и вина образуется вторичное сырье (отходы) в виде выжимок, а в 2010 году это составило около 66-99 тыс. тонн.

Как видно, массовая доля вторичного сырья так называемые «отходы» значительна и, следовательно, необходим поиск рациональных путей их переработки, т.е. изготовления из них ценных продуктов, богатых физиологически активными веществами. При этом следует учитывать, что содержание многих биологически активных веществ в «отходах» велико и нередко превосходит по многим показателям содержание их в исходном сырье. Тем не менее, огромное количество высоко ценных отходов переработки винограда и другой плодово-ягодной продукции до настоящего времени теряется и не находит должного применения. В перерабатывающей промышленности вопросы организации экологичных замкнутых циклов безотходной переработки винограда, с получением ценных отходов переработки винограда и получением ценной конкурентно-способной продукции является весьма актуальными [1].

Виноград является ценным сырьем для получения целого ряда пищевых продуктов, благодаря высокому содержанию биологически активных компонентов [2]. Биологическая ценность винограда обуславливается присутствием в нем минеральных солей, микроэлементов, аминокислот и других соединений. Особая роль в этом плане принадлежит фенольным соединениям, которые, обладая Р-витаминной активностью, антимикробным свойствам участвуют в создании вкусовой основы и цветовой гаммы продуктов из винограда. Уникальные качества винограда делают его перспективным сырьем при производстве кондитерских изделий [3].

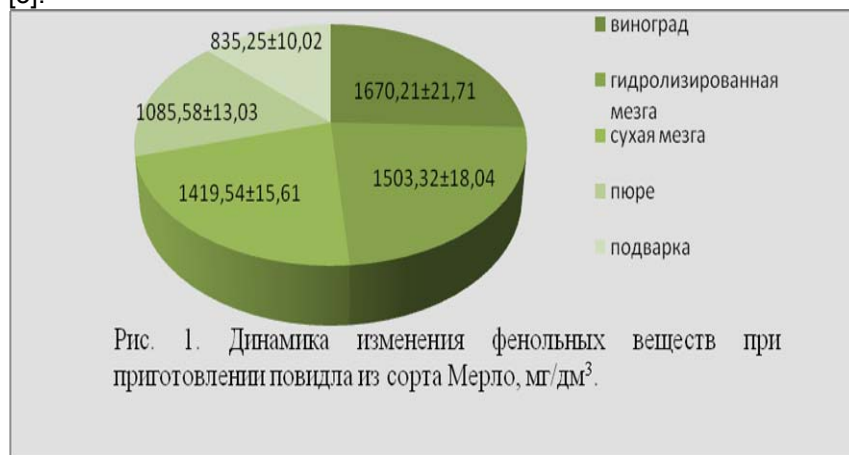


Рис. 1. Динамика изменения фенольных веществ при приготовлении повидла из сорта Мерло, мг/дм³.

Цель нашего исследования является определение массовой концентрации фенольных веществ в винограде и

продуктах его переработки на всех стадиях производства.

Для определения массовой концентрации фенольных веществ используют колориметрический метод с использованием реактива Фолина-Чокалтеу. Содержание антоцинов определялось колориметрическим методом с подкисленным до pH 1-2 этиловым спиртом. Исследования проводились на сортах винограда: Мерло, Каберне, Мускат Италия. Полученные экспериментальные данные статистически обработаны и математически достоверны.

В результате проведённых исследований было показано, что виноград является хорошим объектом для получения продуктов вторичной переработки, обладающих высокими питательными и техническими показателями.



Из данных рис.1-3 видно, что у технических сортов: Мерло, Каберне и столового сорта: Мускат Италия в результате технологических процессов наблюдается уменьшение содержания

фенольных веществ в конечном продукте на 50% и составляет 835,25 мг/дм³ для сорта Мерло, 925,32 мг/дм³ для сорта Каберне, 445,72 мг/дм³ для Мускат Италия, по отношению к свежему винограду.

Таблица 1.
Содержание антоцианов на разных стадиях производства, мг/дм³

Сорта винограда	Стадии производства				
	Виноград	Гидролизованная мезга	Сухая мезга	Пюре	Подварка
Мерло	898,19 ±9,88	808,37 ± 8,08	763,46 ±9,16	583,82 ±7,59	449,12 ±5,39
Каберне	1211,32 ±24,23	1090,19 ±19,62	1029,62 ±15,44	787,36 ±13,38	605,66 ±7,27
Мускат Италия	20,21 ±0,46	18,32 ±0,38	17,64 ±0,35	13,42 ±0,29	1±0,03

На основании этого можно сделать вывод, что получаемый вторичный продукт обладает высокой биологической ценностью.

Анализируя данные табл.1 видно, что у технических и столового сорта винограда наблюдается уменьшение содержание антоцианов в конечном продукте на 73% для сорта Мерло, на 50% для сорта Каберне. При этом у сорта Мускат Италия на момент окончания технологического процесса антоцианы практически отсутствуют и составляют 1 мг/дм³ по сравнению со свежим виноградным сырьем, что не оказывает негативного влияния на качество и органолептические свойства получаемого продукта.

Можно сделать вывод, что виноград является ценной культурой для получения продуктов вторичного происхождения.

Список литературы:

1. Валушко Г.Г. Фенольные вещества винограда и их роль в виноделии – Сборник трудов Института винограда и вина «Магарач», 2003
2. Нилов В.И., Скурихин И.М. Химия виноделия. М.: Пищевая промышленность, 1967. – 442 с.
3. Косюра В.Т., Донченко Л.В., Надыкта В.Д. Основы виноделия. – М.: ДеЛи принт, 2004. – 440 с.

ПЕРСПЕКТИВЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ФЛАВОНОИДОВ У ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА *BEGONIA* L.

Карпова Е.А., Фершалова Т.Д., Цыбуля Н.В.

ФГБУН Центральный сибирский ботанический сад, Новосибирск,
Россия, +7-383-339-98-11, karyevg@mail.ru

Растения рода *Begonia* L. широко используются для озеленения в открытом и закрытом грунте. Исследование их биологических особенностей позволило успешно интродуцировать в условиях юга Западной Сибири более 100 таксонов различного географического происхождения. Высокая декоративность бегоний определяет их важнейшую роль в фитодизайне, направленном на создание растительных композиций не только с эстетическими, но и с профилактическими оздоровительными целями. Интерес к роду *Begonia* обусловлен также традициями его использования как пищевого и лекарственного растения в местах естественного произрастания в Китае, Америке, Новой Гвинее [1].

Состав флавоноидов рода *Begonia* изучен фрагментарно. В листьях и цветках 15 представителей рода *Begonia* обнаружены лютеолин, 7-О-глюкозид лютеолина (цинарозид), кверцетин, рутин, кверцитрин, изокверцитрин, 3-О-ксилозид кверцетина, астрагалин, изокемпферид (3-метилвый эфир кемпферола) и его 7-О-глюкозид, 3-метилвый эфир кверцетина и его 7-О-глюкозид, 3, 7, 3'-триметилвый эфир кверцетина и 3,7,8,3'-тетраметилвый эфир госсипетина, витексин, изовитексин, ориентин. В составе антоцианов обнаружены гликозиды цианидина, пеларгонидина, пеонидина [2, 3]. В составе соединений, находящихся на поверхности листьев и определяющих антимикробную активность интактных растений *Begonia*, обнаружены метилированные производные кверцетина [4].

Флавоноиды интродуцентов рода *Begonia* изучены нами в трех аспектах – как источники антимикробной активности и показатели физиологического состояния растений.

Сведения о биологической активности представителей рода *Begonia* пока немногочисленны. Нами доказана высокая биологическая активность летучих выделений некоторых представителей рода бегония (*Begonia*) против широкого спектра грамположительных, грамотрицательных бактерий и грибов рода *Candida* в лабораторных условиях и непосредственно в условиях детских учреждений [5].

Объектом исследования состава флавоноидов и

антимикробной активности являлись растения 5 видов и культиваров *Begonia* американского происхождения, интродуцированных в условиях закрытого грунта (ЦСБС СО РАН, Новосибирск): из секции *Begonia* – *B. fischeri* Schrank var. *palustris* (Bentham) Irmsch. и из секции *Gireoudia* – *B. bowerae* Ziesenh. var. *major* R. Ziesenh., *B. carolineifolia* Reg., *B. heracleifolia* Schlecht. et Cham. var. *nigricans* Hook., *B. 'Erythrophylla'* (*B. hydrocotylifolia* Otto ex Hook. x *B. manicata* Brongn. ex Cels). Состав флавоноидов анализировали с помощью ВЭЖХ-системы, состоящей из жидкостного хроматографа «Agilent 1200» с диодноматричным детектором и системы для сбора и обработки хроматографических данных ChemStation.

Проведено исследование антимикробной активности интактных растений в отношении *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli* и *Candida albicans*, а также водно-спиртовой и хлороформной фракций экстрактов листьев в отношении *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pyogenes*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis* и *Candida albicans*.

Интактные растения и фракции экстрактов всех исследованных видов проявили высокую антимикробную активность в отношении грамположительных тест-объектов, и выраженную – в отношении грамотрицательных тест-объектов (в том числе *Pseudomonas aeruginosa*) и *Candida albicans*. В качестве источника получения антимикробных препаратов предложены хлороформная фракция *B. bowerae* и водные или водно-спиртовые экстракты *B. heracleifolia* var. *nigricans* и *B. 'Erythrophylla'* с наиболее широким спектром антимикробного действия [5].

Исследованные виды секции *Gireoudia* отличаются по составу компонентов листьев (табл. 1). Однако по составу флавоноидов они имеют высокое сходство с представителем секции *Begonia* *B. fischeri* Schrank var. *palustris*. В водно-спиртовых экстрактах всех исследованных видов обнаружены гликозиды кверцетина, кемпферола и С-гликозилфлавоны витексин и изовитексин. В гидролизатах *B. fischeri*, *B. carolineifolia* и *B. 'Erythrophylla'* в незначительных количествах найдены флавоны апигенин и лютеолин. В экстрактах всех видов, кроме вида с минимальной антимикробной активностью *B. carolineifolia*, преобладают гликозиды кверцетина изокверцитрин и гиперозид. Полученные данные позволяют сделать предположение о связи антимикробных свойств листьев представителей рода *Begonia* с наличием О-гликозидов кверцетина.

Во фракции поверхностных соединений листьев *B.*

‘Erythrophylla’ обнаружен компонент, имеющий спектральные свойства агликаона флавонола (агликон S). Этот же компонент в незначительном количестве найден и в гидролизате водно-спиртового экстракта (рис. 1).

Таблица 1

Антимикробная активность и состав флавоноидов листьев
интродуцентов рода *Begonia*

Вид (культivar)	Секция	Антимикробная активность, число положительных тестов			
		И	X	BC	Всего
<i>B. fischeri</i> Schrank var. <i>palustris</i>	Begonia	3	5	3	11
<i>B. heracleifolia</i> var. <i>nigricans</i>	Gireoudia	2	7	7	16
<i>B. carolineifolia</i>	Gireoudia	1	1	6	8
<i>B. bowerae</i> var. <i>major</i>	Gireoudia	3	8	6	17
<i>B. ‘Erythrophylla’</i>	Gireoudia	3	7	7	17

Вид (культivar)	Флавоноиды Содержа- ние*, %	Компоненты гидролизатов	
		С-гликозиды	Агликоны**
<i>B. fischeri</i> Schrank var. <i>palustris</i>	0,74	Витексин, изовитексин	Кверцетин, лютеолин, кемпферол
<i>B. heracleifolia</i> var. <i>nigricans</i>	0,43	витексин, изовитексин	кверцетин, кемпферол
<i>B. carolineifolia</i>	1,43	витексин, изовитексин	кверцетин, кемпферол, апигенин
<i>B. bowerae</i> var. <i>major</i>	0,45	витексин, изовитексин	кверцетин, кемпферол
<i>B. ‘Erythrophylla’</i>	0,83	витексин изовитексин	кверцетин, лютеолин, кемпферол, агликон 5

Вид (культivar)	Компоненты экстрактов	
	Общее количество	Идентифицированные компоненты**
<i>B. fischeri</i> Schrank var. <i>palustris</i>	9	Изокверцитрин, гиперозид, витексин, изовитексин, кверцетин, лютеолин

<i>B. heracleifolia</i> var. <i>nigricans</i>	6	изокверцитрин, авикулярин, витексин,
<i>B. carolineifolia</i>	18	изовитексин, витексин, ориентин, изокверцитрин, кверцитрин, кверцетин, апигенин
<i>B. bowerae</i> var. <i>major</i>	6	изокверцитрин, кверцитрин
<i>B.</i> '<i>Erythrophylla</i>'	16	гиперозид, астрагалин, кверцитрин, кверцетин, лютеолин

Условные обозначения: И – интактные растения, Х – хлороформные экстракты, ВС- водно-спиртовые экстракты, * - содержание, % от абсолютно сухой массы, ** - компоненты перечислены в порядке убывания концентрации.

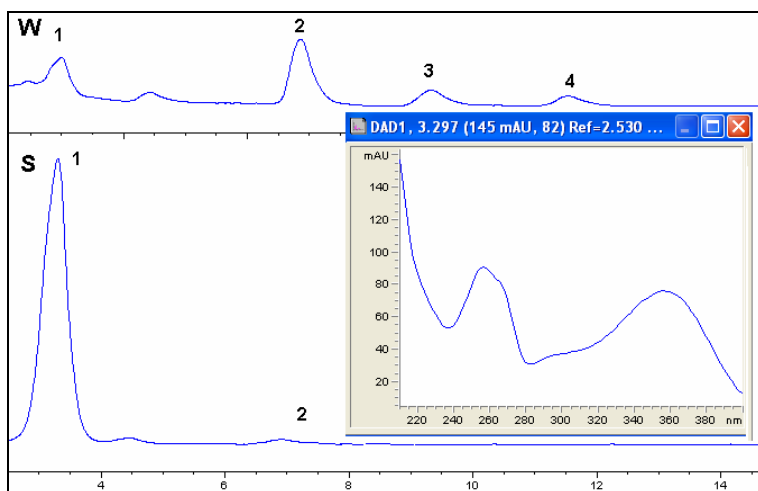


Рис. 1. Фрагменты хроматограмм водно-спиртового экстракта листьев *Begonia* 'erythrophylla' (W) и смыва с поверхности листьев ацетоном (S). Условные обозначения: 1 – агликон S (t_r 3,3), 2 – кверцетин (t_r 6,8), 3 – лютеолин (t_r 8,4), 4 – кемпферол (t_r 11,1).

Для исследования флавоноидов листьев как показателей физиологического состояния растений нами изучена динамика состава флавоноидов, в том числе антоцианов, в листьях растений *Begonia grandis* Dryand. subsp. *grandis*, интродуцированных в условиях открытого и закрытого грунта, по фазам развития и в зависимости от содержания хлорофиллов а, b и каротиноидов [6].

Содержание антоцианов в период вегетации находилось в пределах 2,5 – 23,0 мг/г. В условиях открытого и защищенного грунта

оно возрастало при действии неблагоприятных факторов и падало в оптимальных условиях и при переходе к состоянию покоя. В составе антоцианов листьев *B. grandis* subsp. *grandis* выявлены производные цианидина (3-гликозиды), главным из которых является 3-глюкозилрутинозид цианидина. Спектральные свойства экстрактов антоцианов свидетельствуют о наличии ацилированных форм антоцианов в листьях в некоторые фазы развития. Основными флавоноидными компонентами листьев *B. grandis* subsp. *grandis* являются С-гликозиды флавоноидов (ориентин). Выявлено значительно более высокое содержание флавоноидов в листьях растений, культивируемых в условиях открытого грунта, по сравнению с оранжерейными растениями. Таким образом, перспективы исследования флавоноидов рода *Begonia* состоят в расширении возможностей прогнозирования антимикробных свойств и управления процессами культивирования ценных интродуцентов.

Список литературы

1. Фершалова Т.Д., Байкова Е.В. Итоги интродукции представителей рода *Begonia* (*Begoniaceae*) в Центральном сибирском ботаническом саду // Растительный мир Азиатской России. 2008. 2. Р. 89–94.
2. Iwashina T., Saito Y., Peng C.-I., Yokota M., Kokobugata G. Foliar flavonoids from two *Begonia* species in Japan // Bull. Natl. Mus. Nat. Sci., Ser B. 2008. 34 (4). Р. 175-181.
3. Вересковский В.В., Кузнецова З.П., Довнар Т.В. Флаво-С-гликозиды *Begonia erythrophylla* // Химия природных соединений. 1987. № 5. С. 909-910.
4. Ensemeyer M., Langhammer L. Two lipophilic flavonoids from *Begonia glabra* // Planta med. 1982. 46 (4). Р. 254-255.
5. Карпова Е.А., Цыбуля Н.В., Храмова Е.П., Якимова Ю. Л., Фершалова Т.Д. Антимикробная активность и содержание флавоноидов у некоторых представителей рода *Begonia* L., используемых в фитодизайне // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2011. № 1. С. 8-16.
6. Kancheva R., Borisova D., Georgiev G. Chlorophyll assessment and stress detection from vegetation optical properties // Ecological Engineering and Environment Protection. 2014. № 1. Р. 34–43.

ВЛИЯНИЕ ФЛАВОНОИДОВ НА ПРОЦЕСС ФИБРИЛЛООБРАЗОВАНИЯ КОЛЛАГЕНА

Ким Ю.А.¹, Тараховский Ю.С.², Гайдин С.Г.³, Ягольник Е.А.³,
Музафаров Е.Н.³

¹ Институт биофизики клетки РАН, Пущино, Россия, yuk01@rambler.ru

² Институт теоретической и экспериментальной биофизики, Пущино,
Россия, 4967-733796, tarahov@rambler.ru

³ Тульский государственный университет, Тула, Россия, ser-
gajdin@yandex.ru, yea_88@mail.ru, enmuzafarov@mail.ru

Исследования взаимодействия растительных полифенолов с белками имеет большое значение для объяснения биологической активности этих веществ. В частности, известно, что полифенолы способствуют стабилизации фибрилл коллагена, что находит применение в биомедицине. Растительные полифенолы образуют поперечные сшивки между полипептидными цепями коллагена, что, защищает коллаген от действия бактериальных коллагеназ [5;6] и способствует повышению защитных свойств дентина [2;7], защищает от действия коллагеназы катепсина К, что предотвращает развитие артрита [11], защищает коллаген от действия металлопротеаз межклеточного матрикса и оказывает противовоспалительное действие [4], повышает термостабильность коллагена [14]. Полифенолы могут использоваться также для стабилизации искусственных коллагеновых гелей, применяемых, например, при лечении ран и в создании имплантов [1;8;9].

Известно, что в уксусной кислоте (0,01 – 0,5 М, pH < 3,0) молекулы коллагена не образуют фибрилл, а растворы этого белка прозрачны. Однако, при нейтрализации кислоты (pH 7,0 – 7,4) растворы мутнеют, что сопровождается образованием фибрилл коллагена [15]. Эти изменения приводят также к повышению термостабильности коллагена, что можно регистрировать с помощью дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК) как появление высокотемпературного максимума плавления белка при 55 °С, который появляется а смену низкотемпературному максимуму мономерных форм белка, наблюдаемому при 40°С [13]. Таким образом, предполагается, что совместное использование этих методов позволяет оценивать как временные, так и термодинамические характеристики процесса образования фибрилл коллагена в растворах.

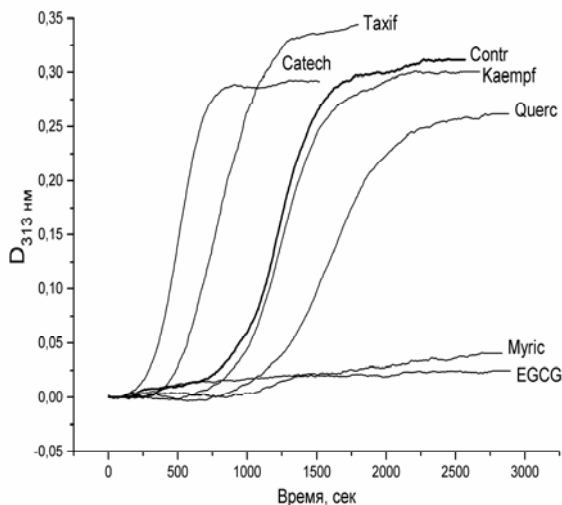


Рис. 1. Кинетика изменения экстинкции растворов коллагена в присутствии различных флавоноидов. Условные обозначения: Contr – препарат коллагена без добавления флавоноидов.

В представленной работе мы провели исследование влияния различных флавоноидов на формирование фибрилл коллагена. Как видно из рисунка (Рис.1), раствор коллагена в слабощелочной среде постепенно мутнеет. Кривая роста экстинкции имеет S-образную форму. Влияние флавоноидов на этот процесс сильно различалось. Так, кемпферол не оказывал заметного влияния на процесс. В присутствии таксифолина и, особенно, катехина существенно сокращалось время, предшествующее началу изменений (лаг-период), тогда как в присутствии кверцетина лаг-период возрастал. Мирицетин и эпигаллокатехин галлат препятствовали изменениям экстинкции, что может свидетельствовать о подавлении процессов фибриллообразования.

Препараты коллагена содержат катехин (Catech), таксифолин (Taxif), кемпферол (Kaempf), кверцетин (Querc), мирицетин (Myric) и эпигаллокатехин галлат (EGCG). Коллаген получен из хвостов крыс и хранился в 0,2М уксусной кислоте. Непосредственно перед измерением коллаген добавляли в фосфатный буфер (конечная концентрация белка 0,3 мг/мл, NaCl - 145 мМ, Na₂HPO₄ - 35 мМ; pH = 7,4) добавляли флавоноид (1×10⁻⁴ М) и помещали в кювету спектрофотометра для измерения экстинкции (λ=313 нм). Температура раствора 35°С. Подробности эксперимента описаны ранее [10].

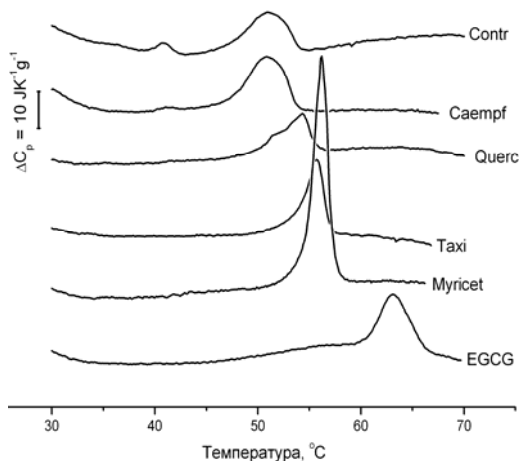


Рис.2. ДСК термограммы коллагена с флавоноидами. Обозначения и приготовление препаратов даны на предыдущем рисунке. Перед измерением препараты инкубировали при 21°C в течение ночи. Измерения проводили с помощью микрокалориметра ДАСМ-4, как описано ранее [10].

Дифференциальная сканирующая калориметрия (ДСК) свидетельствует о повышении температуры плавления белка в присутствии большинства флавоноидов (Рис.2). При этом действие кемпферола было минимальным, а в присутствии других флавоноидов температура плавления белка возрастала в ряду: кверцетин < таксифолин < мирицетин < эпигаллокатехин галлат. Примечателен также существенный рост величины ΔC_p в присутствии мирицетина.

Сравнение измерений экстинкции и данных ДСК свидетельствуют о том, что мирицетин и эпигаллокатехин галлат, в наибольшей степени повышающие термостабильность коллагена, препятствуют образованию фибрилл коллагена, о чем свидетельствует отсутствие роста экстинкции растворов белка. Об этом свидетельствуют также данные электронной и световой поляризационной микроскопии (не представлено). Таксифолин, оказывающий умеренное влияние на термостабильность коллагена, напротив, ускорял процесс формирования фибрилл. Указанное действие таксифолина на процесс фибриллообразования описано нами ранее [10].

Известно, что растительные полифенолы способны стабилизировать коллагены. Наибольшее действие на белок оказывают галлоильные группы танинов. Хотя механизмы этих взаимодействий плохо изучены, предполагается, что в их формировании участвуют водородные связи и гидрофобные взаимодействия [3;12]. Полученные нами данные свидетельствуют о том, что полифенолы могут как способствовать, так и

препятствовать процессам формирования фибрилл коллагена. Возможно, что чрезмерная стабилизация полипептидных цепей эпигаллокатехин галлатом и мирицетином лишает молекулы коллагена подвижности, необходимой для конформационных изменений, сопровождающих процессы формирования фибрилл.

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ 13-04-97526 и 14-04-31308

Список литературы

1. Francesko, A., Soares, d. C., Reis, R. L., Pashkuleva, I., Tzanov, T., 2013, *Acta Biomater.*, v. 9, p. 5216-5225.
 2. Islam, S. M., Hiraishi, N., Nassar, M., Sono, R., Otsuki, M., Takatsura, T., Yiu, C., Tagami, J., 2012, *Dent.Mater.J.*, v. 31, p. 362-367.
 3. Jackson, J. K., Zhao, J., Wong, W., Burt, H. M., 2010, *J.Mater.Sci.Mater.Med.*, v. 21, p. 1435-1443.
 4. Jean-Gilles, D., Li, L., Ma, H., Yuan, T., Chichester, C. O., III, Seeram, N. P., 2012, *J.Agric.Food Chem.*, v. 60, p. 5755-5762.
 5. Kato, M. T., Leite, A. L., Hannas, A. R., Calabria, M. P., Magalhaes, A. C., Pereira, J. C., Buzalaf, M. A., 2012, *J.Dent.Res.*, v. 91, p. 1119-1123.
 6. Krishnamoorthy, G., Sehgal, P. K., Mandal, A. B., Sadulla, S., 2012, *J.Enzyme Inhib.Med.Chem.*, v. 27, p. 451-457.
 7. Liu, R. R., Fang, M., Zhang, L., Tang, C. F., Dou, Q., Chen, J. H., 2014, *Int.J.Oral Sci.*, v. 6, p. 168-174.
 8. Natarajan, V., Krithica, N., Madhan, B., Sehgal, P. K., 2013, *J.Biomed.Mater.Res.B Appl.Biomater.*, v. 101, p. 560-567.
 9. Natarajan, V., Saravanakumar, P., Madhan, B., 2012, *Int.J.Biol.Macromol.*, v. 50, p. 1091-1094.
 10. Тараховский, Ю. С., Селезнева, И. И., Васильева, Н. А., Егорочкин, М. А., Ким, Ю. А., 2007, *Бюлл.Эксперим.Биолог.Мед.*, т. 144, с. 640-643.
 11. Sun, P., Liu, Y., Deng, X., Yu, C., Dai, N., Yuan, X., Chen, L., Yu, S., Si, W., Wang, X., Wu, D., Liu, S., Pang, H., 2013, *Phytomedicine.*, v. 20, p. 975-979.
 12. Tang, H. R., Covington, A. D., Hancock, R. A., 2003, *Biopolymers*, v. 70, p. 403-413.
 13. Tiktopulo, E. I., Kajava, A. V., 1998, *Biochemistry*, v. 37, p. 8147-8152.
 14. Velmurugan, P., Singam, E. R., Jonnalagadda, R. R., Subramanian, V., 2014, *Biopolymers*, v. 101, p. 471-483.
 15. Williams, B. R., Gelman, R. A., Poppke, D. C., Piez, K. A., 1978, *J.Biol.Chem.*, v. 253, p. 6578-6585.
-

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФЛАВОНОИДОВ В ЦВЕТКАХ С ЛИСТЬЯМИ БОЯРЫШНИКА

Кириянова В.А.¹, Бабаева Е.Ю.², Каленикова Е.И.¹

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова,
Факультет фундаментальной медицины, Москва, Россия, тел.+7910-403-
0042 valentina-kirjanva@rambler.ru

Российский университет Дружбы Народов, Москва, Россия, тел. +7905-753-
0081 babaevaelena@mail.ru

Аннотация. Представлены результаты изучения перспективного вида лекарственного растительного сырья (ЛРС) *Crataegus sanguinea* - цветков с листьями. Разработана методика твердофазной экстракции флавоноидов (рутина, гиперозида и кверцетина) из спиртовых извлечений ЛРС, подобраны условия ВЭЖХ-анализа. Установленное содержание флавоноидов в образце цветков с листьями боярышника сопоставимо с содержанием в фармакопейном сырье «цветки боярышника», что позволяет рассматривать цветки с листьями боярышника как перспективный вид ЛРС. Полученные данные могут быть применены для разработки нормативной документации на «*Flores cum folia Crataegi*».

Введение. Лекарственное растительное сырье (ЛРС), получаемое от растений рода *Crataegus*, используется в производстве препаратов сердечного действия [1]. В России разрешенными к медицинскому применению являются «плоды боярышника» и «цветки боярышника» с регламентированным содержанием листьев не более 6%. Вместе с тем, изучив фасованную дозированную продукцию под названием «Цветки боярышника» отечественного производства, мы установили, что данный продукт по внешним признакам представляет собой смесь частей цветков и листьев боярышника. Такое сырье не удовлетворяет требованиям ГФ XI. Вместе с тем, цветки с листьями боярышника, как отдельное сырье, утверждены многими зарубежными нормативными документами (НД). Статьи «*Crataegi foliacum flore*» включены в Европейскую Фармакопею, а также в Американскую Фармакопею лекарственных трав [2, 3]. Использование цветков с листьями вместо цветков позволит увеличить выход фитомассы и оптимизировать заготовку сырья, что может быть актуально и в России, поскольку позволит расширить сырьевую базу для боярышника.

Основной группой веществ, отвечающих за

фармакологическую активность препаратов боярышника, принято считать флавоноиды (рутин, гиперозид, кверцетин).

Целью данной работы является сравнительное изучение цветков с листьями боярышника и ЛРС «цветки боярышника» на содержание флавоноидов (рутина, гиперозида, кверцетина) методом высокоэффективной жидкостной хроматографии со спектрофотометрическим детектированием (ВЭЖХ-УФ) после предварительной твердофазной экстракции (ТФЭ).

Материалы и методы. Объектами исследования служили пробы цветков *Crataegus sanguinea* Pall, собранные в период массового цветения в 2014г., а также промышленные образцы цветков с листьями боярышника. Экстракцию из растительного материала проводили 96% этанолом по методике фармакопейной статьи «Цветки боярышника». Для повышения эффективности экстракции использовали ультразвуковую баню.

Выделение флавоноидов из спиртового извлечения из ЛРС проводили по разработанной методике ТФЭ на обращенно-фазовом патроне Sep-PakC₁₈ (Waters). Для посадки на патрон 3 мл исходного экстракта смешивали с водой (1:4). Эффективность сорбции на патроне составила для рутина 96,4±6,4%, для гиперозида - 96,4±7,1%, для кверцетина - 99,4±1,1% (P=0,95). После посадки патрон промывали 10 мл воды. Элюировали смесью метанол-0,5% раствор H₃PO₄ (95:5).

Таблица 1.

Отношение площадей пиков флавоноидов (рутина, гиперозида и кверцетина) к общей площади пиков на хроматограмме, % (ср. зн. ± дов.инт., P=0,95)

Сырье аналит	цветки		цветки с листьями (промышленный образец)	
	до ТФЭ	после ТФЭ	до ТФЭ	после ТФЭ
рутин	5,61±2,42	8,24±2,12	3,5±0,31	6,5±1,4
гиперозид	31,94±6,78	45,56±3,64	17,06±0,99	26,24±2,37
кверцетин	1,37±0,32	2,71±0,85	2,31±0,44	4,21±0,62

Для приготовления рабочих растворов использовали стандарты: рутин «Фитопанацея» (Россия), гиперозид «Phytoplan» (Германия), кверцетин «Aldrich» (США). Полноту сорбции на патроне и последующего элюирования флавоноидов определяли методом ОФ-ВЭЖХ с УФ-детектированием. Колонка C₁₈ Phenomenex 4,6 мм x 150 мм, размер частиц 5 мкм. Анализ

проводили при комнатной температуре. Подвижная фаза: А–0,5% раствор H_3PO_4 , В – ацетонитрил. Элюирование проводили в режиме: 0-9 мин – 20% В, далее с 9 минуты линейный градиент 6% В/мин. Скорость подачи элюента – 1 мл/мин. Время анализа 26 минут. Времена удерживания для рутина, гиперозида и кверцетина составили 5,2; 6,7 и 14,8 мин, соответственно. Детектирование рутина и гиперозида осуществлялось при $\lambda=256$ нм (0-9 мин), кверцетина – при $\lambda=371$ нм (9-26 мин). Объем пробы – 16 мкл. Запись и обработка хроматограмм велась с помощью программы «Мультихром» для Windows.

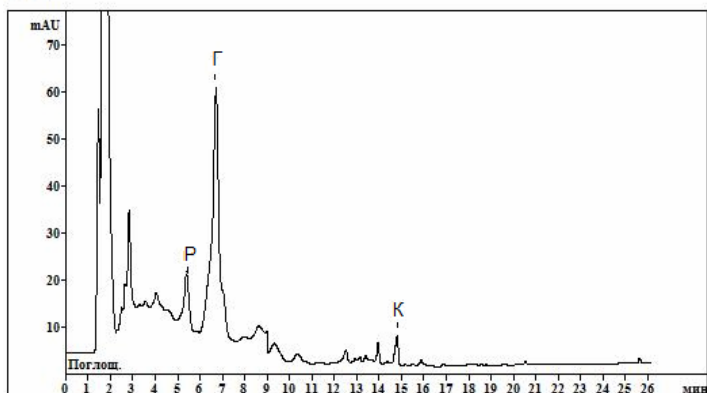


Рис. 1. Хроматограммы образцов. Цветки без очистки

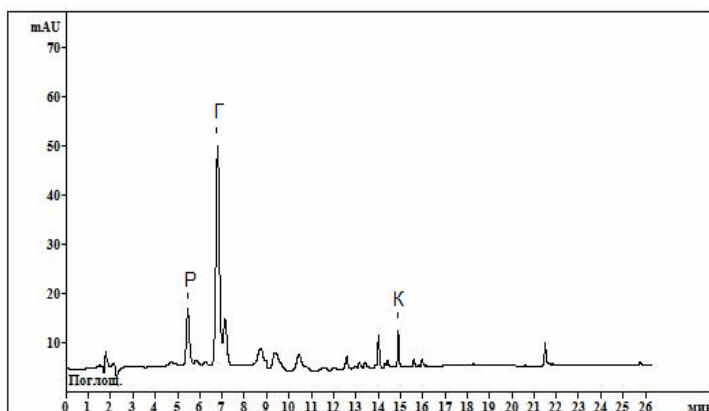


Рис. 2. Хроматограммы образцов. Цветки (после очистки)

Результаты и обсуждение. Проведен подбор оптимальных условий ВЭЖХ-хроматографирования. С использованием растворов стандартных образцов проводили элюирование в смешанном (изократическом и градиентном) режиме, что позволило уменьшить время анализа и добиться симметрии пиков аналитов (Рис.1). Для предварительной очистки извлечений из сырья были подобраны условия одновременной сорбции рутина, гиперозида и кверцетина на патроне и последующего их элюирования. Сравнение значений площадей хроматограмм до и после очистки образцов показало, что с помощью ТФЭ была удалена часть сопутствующих веществ матрицы: для образцов цветков с листьями боярышника площадь хроматограммы уменьшилась в $1,8 \pm 0,12$ раза, а для образцов цветков – незначительно. Эффективность очистки методом ТФЭ подтверждена увеличением соотношения площади пика каждого флавоноида к суммарной площади пиков на хроматограмме (Табл. 1).

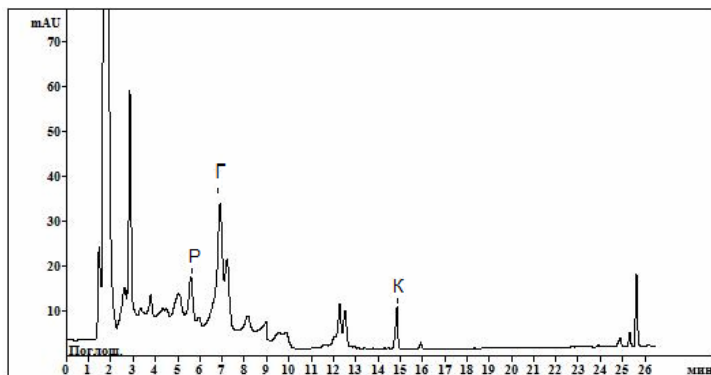


Рис. 3. Хроматограммы образцов. Цветки с листьями (до очистки)

Исследуемые флавоноиды идентифицировали путем сопоставления времен удерживания пиков стандартов и времен удерживания на хроматограммах экстрактов. Рутин, гиперозид и кверцетин были обнаружены в обоих видах сырья. Доминирующим флавоноидом и в одном, и в другом случае является гиперозид. Площади пиков рутина и гиперозида в проанализированных образцах цветков с листьями боярышника в 3 раза меньше, чем в образцах цветков боярышника, тогда как площади пиков кверцетина в двух видах ЛРС одинаковы.

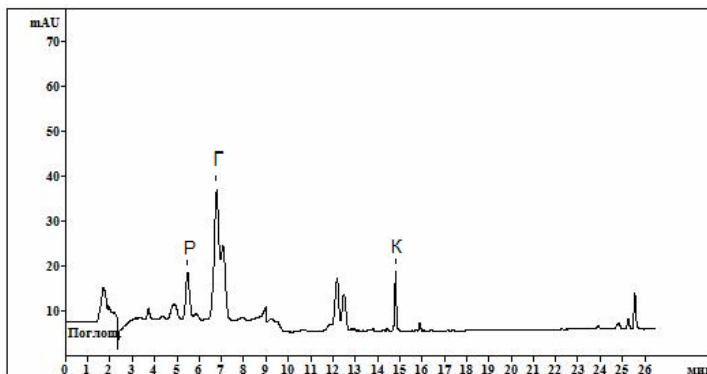


Рис. 4. Хроматограммы образцов. Цветки с листьями (после очистки)

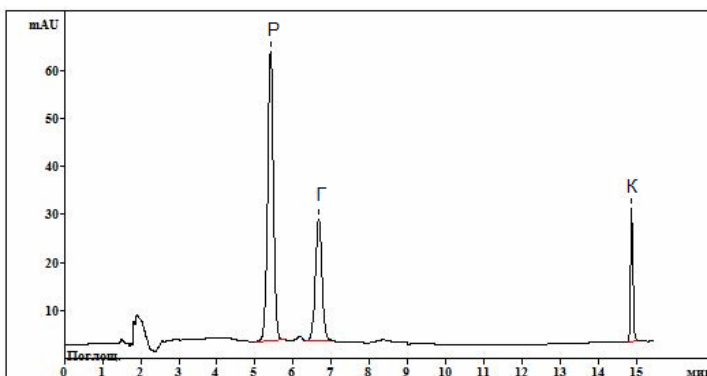


Рис. 5. Хроматограммы образцов. Стандартные разведения: П- рутин (25мкг/мл), Г- гиперозид (10мкг/мл), К-кверцетин (4мкг/мл)

Выводы. В цветках с листьями боярышника и в фармакопейном сырье «цветках боярышника» были обнаружены флавоноиды рутин, гиперозид и кверцетин. В проанализированных образцах цветков с листьями боярышника содержание рутина и гиперозида уступает содержанию данных флавоноидов в образцах фармакопейного сырья, а содержание кверцетина в исследованных образцах сырья соразмерно. Сопоставимое содержание указанных флавоноидов в обоих видах сырья позволяет рассматривать цветки с листьями боярышника как перспективный вид лекарственного растительного сырья. Твердофазная экстракция является эффективным методом очистки извлечений из ЛРС для последующего анализа их флавоноидного состава методом ВЭЖХ с детектированием в ультрафиолетовой области спектра.

Список литературы

1. Государственная Фармакопея СССР, XI (ГФ XI), выпуск 2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье// «Медицина», 1990, С.243, 303-304.
 2. British Pharmacopoea. /European Commission, 2009. vol.4
 3. Roy Upton [et al.]. American Herbal Pharmacopoeia: botanical pharmacognosy-microscopic characterization of botanical medicines // «CRC Press», 2011, P.328-332
-

ИССЛЕДОВАНИЕ ФЕНОЛЬНОГО СОСТАВА СУХОГО ЭКСТРАКТА ИЗ ЛИСТЬЕВ ЧЕРНИКИ ОБЫКНОВЕННОЙ

Колычев И.А., Красникова Т.А., Кошевой О.Н.

Национальный фармацевтический университет, Харьков, Украина, +38-066-268-8727, e-mail: koli4ev@mail.ru

В медицине и фармации широко применяют плоды черники - *Fructus Myrtilli*. Отвары из плодов черники применяют, как вяжущее средство при колитах, энтероколитах и диарее. Вяжущее действие обусловлено танины конденсированной группы. В плодах их содержится не менее 1% в пересчете на пирогаллол согласно *PhEur*. На фармацевтическом рынке Украины представлены такие препараты, как Стрикс, Оптикс, Визио Баланс, Черника Форте и т.д., содержащие биологически активные вещества плодов черники. Эти препараты применяется для улучшения зрения. В народной и научной медицине побеги и листья черники применяются, как гипогликемическое средство в виде отваров и входят в состав сахароснижающих сборов Арфазетин и Мирфазин, но на рынке Украины нет ни одной галенового или новогаленового средства на основе этого сырья [1, 2].

Учитывая широкое распространение сахарного диабета в Украине и мире, целесообразно изучить химический состав сухого экстракта из листьев черники обыкновенной для установления возможности создания нового сахароснижающего лекарственного средства из этого сырья [3].

Поэтому целью наших исследований было изучить состав фенольных соединений сухого экстракт из листьев черники обыкновенной для установления возможности создания нового лекарственного средства.

Поскольку ранее было доказано, что оптимальным экстрагентом для экстракции БАВ из данного сырья является спирт

этиловый 50-70%, то учитывая экономическую целесообразность нами был использован 50% этанол для получения сухого экстракта [4].

Для установления качественного состава использовали общепринятые методы исследований - качественные реакции, бумажную (БХ), тонкослойную хроматографию (ТСХ) [4, 5]. Предварительное исследование химического состава экстракта из листьев черники обыкновенной показало наличие гидроксикоричных кислот, флавоноидов и дубильных веществ.

Таблица.

Идентификацию фенольных соединений в сухом экстракте из листьев черники обыкновенной методом ВЭЖХ

№	Название	Время удержания, м	Количественное содержание, мг/100 г
1	Арбутин	2.65	7.2
2	Хлорогеновая к-та	13.08	1191.9
3	Кофейная к-та	14.15	71.4
4	(-)-эпикатехин	14.58	298.7
5	<i>п</i> -Кумаровая к-та	17.23	25.8
6	Производная <i>п</i> -кумаровой к-ты 1	19.28	48.7
7	Рутин	19.81	620.7
8	Производная <i>п</i> -кумаровой к-ты 2	20.43	44.3
9	Кемпферол-3-О-гликозид	21.41	130.3
10	Производная <i>п</i> -кумаровой к-ты 3	23.06	87.4
11	Производная <i>п</i> -кумаровой к-ты 4	23.26	81.4
12	Неидентифицированное вещество	23.48	50.9
13	Кверцетин	23.52	221.9
14	Производная <i>п</i> -кумаровой к-ты 5	24.79	33.7

Определение качественного состава и количественного содержания фенольных соединений в экстракте проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с помощью хроматографа Agilent Technologies (модель 1100). Результаты исследования приведены в таблице.

В сухом экстракте из листьев черники обыкновенной идентифицировано 8 гидроксикоричных кислот, 3 флавоноида и

арбутин. Домінуючими компонентами являються хлорогенова кислота і рутин.

Дослідження сахароснижальної активності сухого екстракту з листків чорники звичайної проводили на 18-місячних самцях крыс лінії Wista на кафедрі біологічної хімії Національного фармацевтичного університету під керівництвом професора Загайко А.Л.. Інсулінорезистентність моделювали содержанием тварин на дієті, збагаченої фруктозою (60,3% фруктози, 18,3% білка, 5,2% жирів). Встановлено, що введення сухого екстракту з листків чорники звичайної проявляє нормалізуюче дієння на метаболічні порушення при високофруктозній дієті. Встановлені ефекти обумовлені гіпоглікемічними, гіполіпідемічними і антиоксидантними властивостями компонентів.

Таким чином, було вивчено фенольний склад і гіпоглікемічна активність сухого екстракту листків чорники звичайної, що створює передумови створення нового лікарського засобу на основі фенольних сполук даної сировини.

Список літератури:

1. Лікарські рослини: Енциклопедичний довідник / За редакцією А. М. Гродзінського. – К.: Українська Радянська Енциклопедія, 1990.-543 с.
2. Маршанова Л. М. Дослідження складу і розробка біотехнології одержання біологічно активних концентратів чорники звичайної - *Vaccinium myrtillus* L. : Автореф. канд. біол. наук : 03.00.23. - Ставрополь : 2006. - 27 с.
3. Количев І. О. Перспектива використання листя чорниці звичайної для створення соціально доступних лікарських засобів для лікування цукрового діабету / І. О. Количев, Т. О. Краснікова, О. М. Кошовий // Соціальна фармація: стан, проблеми та перспективи: міжнародної науково-практичної конференції, м. Харків, 17-20 березня 2014 р. – Х.: Вид-во НФаУ, 2014. – С. 323-324.
4. Количев І. О. Вибір оптимального екстрагенту для створення нового лікарського засобу з листя чорниці звичайної / І. О. Количев, Т. О. Краснікова, О. М. Кошовий // Збірник наукових праць співробітників НМАПО імені П. Л. Шупика. – 2014. – № 4. – С. 287 – 291.
5. Дослідження фенольних сполук листя евкаліпту / О. М. Кошовий, А. М. Комісаренко, А. М. Ковальова [та ін.] // Фармаком. – 2005. – № 2/3.– С. 151 – 161.

ФЕНОЛЬНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ РАСТЕНИЙ РОДА *SALVIA* L.

Кондратова Ю.А., Бубенчикова В.Н.

ГБОУ ВПО «Курский государственный медицинский университет», Курск,
Россия, тел. 8-920-714-33-10, E-mail: salvia_julia@mail.ru

Род шалфей (*Salvia* L.) богат своим видовым составом. Он насчитывает около 700 видов [1]. Представители данного рода встречаются как в дикорастущем, так и культивируемом виде. Некоторые культивируемые виды рода *Salvia* L., такие как шалфей лекарственный и шалфей мускатный используются в медицинской практике. Препараты на их основе оказывают противовоспалительное, антибактериальное, ранозаживляющее действие. По всей Европейской части России широко выращивается как декоративное, культивируемое растение - шалфей блестящий, хорошо вводится в культуру шалфей железистый (клейкий), шалфей горминовый которые применяются лишь в народной медицине. Разнообразный спектр фармакологической активности видов рода *Salvia* L. обусловлен наличием различных классов биологически активных веществ. Наряду с эфирными маслами одним из действующих классов биологически активных веществ являются фенольные соединения, химический состав которых изучен недостаточно [4, 5].

Целью нашей работы явилось изучение фенольных соединений культивируемых и дикорастущих видов рода *Salvia* L.

Материалы и методы исследования.

Объектом исследования служила сухая воздушно-измельченная трава дикорастущих видов: шалфея лугового, шалфея поникающего, шалфея мутноватого и культивируемых видов шалфея блестящего, шалфея железистого (клейкого), шалфея горминового заготовленная в период массового цветения растения.

Выделение фенольных соединений осуществляли экстракцией 70 % спиртом этиловым, растворитель отгоняли, очищали от липофильных примесей четыреххлористым углеродом. Учитывая разнообразие полярности сложной смеси флавоноидов, кумаринов и фенолкарбоновых кислот, очищенные водные экстракты фракционировали методом селективной экстракции диэтиловым эфиром, этилацетатом. Разделение смеси флавоноидов, фенолкарбоновых кислот, кумаринов проводили методом препаративной хроматографии на колонках в сочетании с препаративной хроматографией на бумаге [2].

Структуру выделенных веществ устанавливали с использованием классических химических и физико-химических методов анализа на основании физико-химических свойств исходных соединений и продуктов их превращения, УФ- и ИК-спектров, величин R_f в различных системах растворителей, а также температур плавления проб смешения с достоверными образцами [2].

Для количественного определения флавоноидов использовали спектрофотометрический метод, основанный на реакции взаимодействия флавоноидов с алюминия хлоридом в среде 70 % спирта этилового и модифицированный нами. Около 1,0 г (точная навеска) измельченного и просеянного сквозь сито с отверстиями диаметром 3 мм, сухого сырья помещают в колбу со шлифом вместимостью 250 мл, прибавляют 100 мл 70% спирта этилового и взвешивают. Колбу присоединяют к обратному водяному холодильнику, нагревают на кипящей водяной бане в течение 45 минут периодически встряхивая для смывания частиц сырья со стенок. Колбу с содержимым охлаждают, взвешивают и при необходимости доводят до первоначальной массы 70 % спиртом этиловым. Извлечение фильтруют через бумажный фильтр, отбрасывая первые 10 мл фильтрата. 2 мл фильтрата помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 5 мл 5 % раствора алюминия хлорида в 70 % спирте этиловом и через 10 мин 2 капли кислоты уксусной разведенной. Объем раствора доводят 70 % спиртом этиловым до метки и оставляют на 30 мин.

Оптическую плотность полученного раствора измеряют на спектрофотометре СФ-2000 при длине волны (395 ± 2) нм в кювете с толщиной слоя 10 мм.

В качестве раствора сравнения используют раствор, состоящий из 2 мл исходного извлечения, 2 капель кислоты уксусной разведенной и доведенный 70 % спиртом этиловым до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл [6].

Для качественного определения дубильных веществ готовили водные извлечения (1:10) на кипящей водяной бане в течение 30 минут. Извлечение фильтровали и использовали для проведения реакций с 10% раствором желатина, с железо-аммонийными квасцами, с формальдегидом и концентрированной кислотой хлористоводородной [3].

Для количественного определения дубильных веществ использовали метод перманганатометрии, являющийся фармакопейным для определения дубильных веществ [3].

Результаты и обсуждение.

В ходе исследований было установлено, что выделенные

фенольные соединения растений рода шалфей представлены флавоноидными соединениями (7 веществ), фенолкарбоновыми кислотами (7 соединений), кумаринами (3 соединения), дубильными веществами.

Выделенные флавоноиды по результатам качественного анализа, хроматографии в различных системах растворителей, УФ-спектроскопии, продуктов количественного кислотного гидролиза, физико-химических свойств отнесены к агликонам флавонов, флаванолов и флавонолов их моногликозидов и биогликозидов. Агликоны представлены: апигенином, лютеолином, кверцетином, кемпферолом, дигидрокверцетином. Углеводная часть у моногликозида флавона представлена глюкозой, присоединена она по 7 положению молекул гликозида, а у биогликозида флавонола – глюкозой и рамнозой, которые присоединяются по 3 положению. В продуктах кислотного гидролиза исследуемых соединений идентифицировали лютеолин, кверцетин. Таким образом, исследуемые флавоноиды были идентифицированы как цинарозид (лютеолин-7-глюкозид), рутин (кверцетин-3-глюкозид-(1→6) рамнозид)

Установление структуры выделенных фенолкарбоновых кислот и их производных проводили по флуоресценции пятен на хроматограммах, качественным цветным реакциям с железа хлоридом, диазотированной кислотой сульфаниловой и бромкрезоловым зеленым, УФ- спектрам, физическим константам, хроматографической подвижности. Они идентифицированы как хлорогеновая, кофейная, розмариновая, феруловая, галловая, цикориевая, коричная кислоты.

Выделенные кумарины идентифицировали по флуоресценции пятна на хроматограмме в УФ-свете, хроматографической подвижности, данным УФ-, ИК-спектров. Кумариновая природа исследуемых соединений подтверждена также деструкцией кислотой йодистоводородной в среде жидкого фенола. В сравнении с достоверными образцами их охарактеризовали как эскулетин, умбеллиферон, кумарин.

Количественное определение суммы флавоноидов спектрофотометрическим методом показало, что в траве исследуемых видов рода шалфей содержание их колеблется от 0,59% (шалфей блестящий) до 1,90 % (шалфей поникающий). Содержание суммы флавоноидов в официальном виде сырья «Шалфей лист» находится в пределах от 1,35% до 2,78%.

Результаты качественного определения дубильных веществ свидетельствуют о том, что в сырье исследуемых видов рода шалфей содержатся дубильные вещества

преимущественного конденсированной группы. Содержание дубильных веществ колеблется от 5,05 % (шалфей блестящий) до 26,42% (шалфей мутноватый). Содержание дубильных веществ в официальном виде сырья «Шалфея лист» составляет от 7, 97% до 15,97%.

Выводы.

Таким образом, в результате проведенных исследований были изучены фенольные соединения культивируемых и дикорастущих растений рода шалфей. Установлено, что растения данного рода содержат фенольные соединения, представленные флавоноидами, фенолкарбоновыми кислотами, кумаринами, дубильными веществами.

Список литературы

1. Байкова, Е.В. Род шалфей: морфология, эволюция, перспективы интродукции – Новосибирск: Наука, 2006. – 248 с.
2. Бубенчиков, Р.А. Изучение фенольных соединений и полисахаридов травы фиалки скальной / Р.А. Бубенчиков // Башкир. Хим. журн. - 2011, т. 18, № 1. – С. 128-130.
3. Государственная фармакопея СССР. – 11- изд. – М.: Медицина, 1987. – Вып. 1. –277с.
4. Государственная фармакопея СССР: Вып.2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье / МЗ СССР. 11-е изд., доп. М.: Медицина, 1989. - 400 с.
5. Растительные ресурсы России. Дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность. Том 4. Семейства Caprifoliaceae - Lobeliaceae. /Отв. ред. А.Л. Буданцев. - СПб.; М.: Товарищество научных изданий КМК, 2011. - 630 с.
6. Смирнова, Л.П. Количественное определение суммы флавоноидов в цветках бессмертника песчаного / Л.П. Смирнова, Л.Н. Первых // Хим. - фарм. журн. - 1998. - №6. - С. 35-38.

УДК 547.917

ИССЛЕДОВАНИЕ ДУБЯЩИХ СВОЙСТВ АНТРАХИНОН-СОДЕРЖАЩЕГО ПРЕПАРАТА *POLYGONUM AVICULARE* L.

Корулькин Д.Ю., Музычкина Р.А.

Казахский национальный университет имени аль-Фараби, Алматы,
Казахстан, тел. 727-2923731, e-mail: physcion@rambler.ru

Для поиска эффективных растительных дубителей полифенольного типа было исследовано казахстанское растение *Polygonum aviculare* L. Для выделения антрахинонов указанного

растения, экстракцию растительного сырья проводили трехкратно 70% этиловым спиртом при кипячении на водяной бане с обратным холодильником в течение 30, 20 и 10 минут при соотношении сырья и растворителя 1:10. Объединенный фильтрат сгущали до небольшого объема и проводили фракционирование последовательной обработкой экстракта н-гексаном и хлороформом. Сконцентрированный гексановый экстракт подвергли рехроматографированию на колонке с силикагелем, проводя градиентное элюирование смесью н-гексан-этилацетат состава от 10:0 до 7:3. Хлороформное извлечение наносили на колонку с силикагелем, элюируя компоненты хлороформом и хлороформ-метанольными смесями состава от 9:1 до 1:1. Разделение компонентов контролировали методом ТСХ в системе толуол - этиловый эфир муравьиной кислоты - муравьиная кислота (5:4:1).

При поиске эффективных растительных дубителей, в ряду полифенолов, мы исходили из того, что дубление должно было закреплять свойства кожи, полученные на предыдущих стадиях обработки (мездрение, пикелевание), обеспечивать необходимую устойчивость к намоканию, требуемую температуру сваривания для процесса крашения.

Ранее дубление и крашение на меховых предприятиях проводили, используя, в основном, древесные дубители (кора и древесина дуба, ивы, каштана, акации) и красители (сандаловое дерево, чернильный орешек, сумаха). Недостатком этих дубителей, полученных из коры названных деревьев, в невысоком выходе (до 18%), кроме того, в них преобладают дубильные вещества конденсированного типа, что сказывается на их ограниченной растворимости в воде и кора деревьев после ее снятия регенерируется в течение нескольких лет.

Позже начали использовать минеральные дубители – соли хрома. Алюминия, циркония, железа. В настоящее время наиболее широкое применение получил хром. Для крашения каракуля (волосяного покрова) используются окислительные красители (черный для меха Д - урзол) и кислотные (кислотный черный – для окраски волоса черных шкур и прямой черный и кислотный синий – для подцветки кожи). К недостаткам этого способа относится длительность процесса дубления, достигающая 12 часов, уменьшение размера (усадка) площади шкур в процессе дубления, экологические проблемы обезвреживания сточных вод и их очистки от ионов металлов хрома, железа, алюминия, циркония, натрия и анионов хлора, что значительно удорожает процесс обработки шкур.

Известен также способ дубления шкур синтанамми – дубителями смешанного типа, недостатками которых является их дороговизна, практическая недоступность для кожевенных и мехообрабатывающих предприятий Республики Казахстан и недостаточно высокие пластические и физико-химические показатели готового полуфабриката (эти дубители производят фирмы «Байер», «Хенкель» (Германия) и «Сантос» (Швейцария)).

Задачей настоящего исследования явился скрининг доступных, дешевых, экологически безвредных дубителей из местного казахстанского сырья, лишенных указанных выше недостатков:

- длительности процесса дубления;
- усадки изделий;
- недостаточно высоких пластических и др. свойств готовой продукции.

В результате исследований был отобран суммарный антрахинон-содержащий препарат из надземной части *Polygonum aviculare* L., который показал наибольшую эффективность, обладал низкой себестоимостью и удовлетворял всем вышеперечисленным требованиям.

Экспериментальная проверка дубящих свойств препарата продолжалась 2 года в различных режимах и при использовании различных промышленных образцов шкур животных.

Обработка шкур антрахиноновым препаратом *Polygonum* позволила увеличить, по сравнению с сырьем, размер площади, тогда как при хромовом дублении происходила усадка шкур.

Увеличение размера шкур связано с пластическими свойствами кожаной ткани, что имеет важное значение для скорняжных работ.

Хорошая степень пластичности способствует уменьшению расхода полуфабриката на изделие.

Обработка шкур каракуля и шубной овчины растительным антрахинон-содержащим дубителем из растения *Polygonum aviculare* L. позволила:

1. Увеличить размер площади от 6.4 до 14.2 процентов, тогда как при хромовом дублении произошла усадка на 14.6-4.9%.
2. Сократить время дубления вдвое (6 часов против 12 часов).

При оценке пластических свойств по принятой на меховых предприятиях Казахстана и России по 5-ти балльной системе. Мягкость и пластичность кожаной ткани в опытных производственных партиях, обработанных препаратом, оказалась

выше чем при хромовом дублении на 0,3-0,5 и 0,3-0,6 балла соответственно.

В целях определения прочности шкурок каракуля, обработанных растительным дубителем проведены физико-механические испытания по наиболее важным для прочности полуфабриката показателям в соответствии с ГОСТ 22597-77 «Шкурки меховые и овчина шубная выделанные. Методы механических испытаний».

По показателю «Появление трещин лицевого слоя» шкурки растительного дубления превысили и требования ГОСТ, и показатели шкурок хромового дубления в 1,5-2,0 раза. Также шкурки обработанные препаратом выдержали нагрузку при разрыве полуфабриката (продольного и поперечного участков), установленного нормативами ГОСТ, на величину 2-2,6 Н больше.

Прочность шкурок, продубленных антрахиноновым препаратом на разрыв, была выше, чем у шкурок хромового дубления на величину от 2 до 10 ньютон.

Таким образом, получены практически значимые результаты по интенсификации процесса дубления за счет более быстрого достижения требуемой температуры сваривания, в увеличении выхода полезной площади полуфабриката, в улучшении качества товарных свойств и физико-механических характеристик, при использовании дубителя на основе казахстанского растения *Polygonum aviculare* L.

ИЗУЧЕНИЕ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ СЫРЬЯ БОЯРЫШНИКА

Куркин В.А., Куркина А.В., Правдивцева О.Е., Морозова Т.В.

ГБОУ ВПО «Самарский государственный медицинский университет»

Минздрава России, Самара, Россия, 8-(846)-260-33-59, E-mail:

Kurkinvladimir@yandex.ru

Растения рода боярышник (*Crataegus* L., сем. Розоцветные - *Rosaceae*) широко распространены в Российской Федерации [1, 2, 3]. На основе боярышника плодов получают настои, сборы и препарат «Боярышника настойка». Боярышника плоды отличаются богатым химическим составом и содержат флавоноиды (гиперозид, кверцетрин, витексин), витамины, сапонины, стерины, дубильные вещества, фенилпропаноиды, сахара и др. [2, 3]. Препараты на основе цветков и плодов боярышника широко применяются в народной и традиционной медицине в качестве кардиотонических

средств [1, 3, 4]. Как известно, сердечно-сосудистая патология очень распространена в современном мире. В то же время препараты на основе лекарственного растительного сырья сочетают в себе высокую эффективность фармакологического действия с отсутствием значительного количества побочных эффектов и противопоказаний. Поэтому их целесообразно назначать лицам молодого возраста при первых признаках заболеваний.

Ранее нами был исследован жидкий экстракт на основе плодов боярышника кроваво-красного на наличие диуретической активности на белых беспородных крысах. Было обнаружено, что жидкий экстракт плодов боярышника значительно увеличивает диурез [4]. Мочегонная активность экстракта плодов боярышника может способствовать уменьшению объема циркулирующей крови, а, следовательно, и снижению повышенного артериального давления, выведению токсических веществ из организма при комбинированной терапии заболеваний сердечно-сосудистой системы. Полученные данные свидетельствуют о необходимости более углубленного изучения химического состава сырья боярышника кроваво-красного, а также сравнительное исследование других фармакопейных видов рода *Crataegus*.

Как известно, в медицинской практике РФ при заготовке сырья используют 12 видов боярышника, среди которых имеются как дикорастущие, так и культивируемые виды [1]. Однако типичными для Самарской области являются два вида – боярышник кроваво-красный (*Crataegus sanguinea* Pall.) и боярышник однопестичный (*Crataegus monogyna* Jacq.). Кроме цветков боярышника представляется перспективным использование также листьев этого растения, применяемых в зарубежной медицинской практике [2, 5].

Целью настоящей работы явилось сравнительное исследование жидких экстрактов на основе сырья боярышника кроваво-красного и боярышника однопестичного.

С целью проведения исследований нами было использовано сырье, заготовленное на территории Самарской области в 2014 году. Сырьем являлись плоды и цветки с листьями боярышника кроваво-красного и боярышника однопестичного. Плоды были заготовлены в сентябре месяце в период полного созревания. Цветки вместе с листьями заготавливали в мае в фазу цветения растения. Ранее, при исследовании извлечений из сырья методом тонкослойной хроматографии, нами были замечены отличия в содержании отдельных компонентов сырья двух изучаемых видов боярышника [5].

На основе плодов, а также цветков с листьями в лабораторных условиях были получены жидкие экстракты. Все жидкие экстракты были получены в соотношении «сырье-экстрагент» (1:1) с использованием 70 % спирта этилового в качестве экстрагента. Технология получения всех экстрактов осуществлялась в соответствии с требованиями общей фармакопейной статьи «Экстракты» [1]. Данные жидкие экстракты были исследованы на содержание суммы флавоноидов в пересчете на гиперозид основных действующих веществ с помощью метода дифференциальной спектрофотометрии [2]. Обнаружено, содержание флавоноидов в жидких экстрактах на основе плодов боярышника значительно ниже, чем в аналогичных препаратах, полученных на основе листьев с цветками. Так, сумма флавоноидов в жидком экстракте плодов боярышника кроваво-красного составила 0,015%, для аналогичного препарата на основе плодов боярышника однопестичного – 0,030%. Сумма флавоноидов в жидком экстракте цветков с листьями боярышника кроваво-красного составила 0,208%, для аналогичного препарата на основе цветков с листьями боярышника однопестичного – 0,182%.

Полученные результаты свидетельствуют о различиях в химическом составе листьев и цветков, а также плодов боярышника обоих видов. Также можно сделать вывод о высоком содержании действующих веществ в цветках и листьев как боярышника кроваво-красного, так и боярышника однопестичного. Это обстоятельство позволяет предположить, что исследуемые жидкие экстракты могут являться перспективными лекарственными средствами.

Список литературы

1. Государственная фармакопея СССР. Одиннадцатое издание / МЗ СССР. Вып. 2. М.: Медицина, 1990. - 400 с.
2. Куркина А.В. Флавоноиды фармакопейных растений: монография. – Самара: ООО «Офорт», ГБОУ ВПО СамГМУ Минздравсоцразвития России, 2012. - 290 с.
3. Куркин В.А. Фармакогнозия: Учебник. 2-е изд., перераб. и доп. - Самара: ООО «Офорт», ГОУ ВПО «СамГМУ Росздрава», 2007. - С. 794-799.
4. Куркин В.А., Зайцева Е.Н., Куркина А.В., Правдивцева О.Е., Морозова Т.В., Гараева Р.Р. Диуретические свойства экстракта боярышника кроваво-красного // Материалы конференции «Фармация и общественное здоровье». - Екатеринбург, 2014. - С. 96-100.

-
5. Куркин В.А., Дубищев А.В., Куркина А.В. Правдивцева О.Е. Сравнительное фитохимическое исследование сырья двух видов рода *Crataegus* // Интер-медикал. 2014. № 1. С. 90-92.
-

ФЕНОЛЬНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ В СТАНДАРТИЗАЦИИ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ И ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ

Куркин В.А.

ГБОУ ВПО «Самарский государственный медицинский университет»
Минздрава России, Самара, Россия, тел.: 8-(846)-260-33-59, E-mail:
Kurkinvladimir@yandex.ru

В настоящее время особую значимость приобретают фенольные соединения лекарственных растений, которые являются ценным источником адаптогенных, тонизирующих, ноотропных, антидепрессантных, анксиолитических, седативных, иммуномодулирующих, гепатопротекторных, желчегонных, антиоксидантных, противовирусных, антимикробных, противовоспалительных и слабительных лекарственных средств [1-9].

В группе фенольных веществ наиболее распространенными являются фенилпропаноиды, флавоноиды и антраценпроизводные, которые в силу большого структурного разнообразия обладают широким спектром биологической активности [2-9]. При этом следует отметить, что на основе изучения физико-химических, спектральных и фармакологических свойств ранее была разработана современная классификация фенольных веществ, а также обоснована необходимость введения в фармакогнозию фенилпропаноидов как самостоятельного класса биологически активных соединений (БАС) [3], что нашло отражение в учебнике «Фармакогнозия» [4].

В настоящее время одной из нерешенных в полной мере проблем является стандартизация лекарственного растительного сырья и фитопрепаратов, содержащих фенольные соединения, в том числе в плане гармонизации методических и методологических подходов к анализу.

Цель исследования – обоснование новых подходов к стандартизации лекарственного растительного сырья (ЛРС) и фитопрепаратов, содержащих фенольные соединения.

В качестве объектов использованы корневища и биомассу родиолы розовой (*Rhodiola rosea* L.), кора сирени обыкновенной

(*Syringa vulgaris* L.), корневища и корни элеутерококка колючего [*Eleutherococcus senticosus* (Rupr. et Maxim.) Maxim.], кора сирени обыкновенной (*Syringa vulgaris* L.), семена и плоды лимонника китайского (*Schizandra chinensis* Baill.), трава Melissa лекарственной (*Melissa officinalis* L.), цветки лаванды колосовой (*Lavandula spica* L.), трава зверобоя продырявленного (*Hypericum perforatum* L.) и зверобоя пятнистого (*Hypericum maculatum* Grantz.), трава эхинацеи пурпурной [*Echinacea purpurea* (L.) Moench.], плоды расторопши пятнистой [*Silybum marianum* (L.) Gaertn.], листья гинкго двулопастного (*Ginkgo biloba* L.), цветки пижмы обыкновенной (*Tanacetum vulgare* L.), цветки бессмертника песчаного [*Helichrysum arenarium* (L.) Moench.], почки тополя черного (*Populus nigra* L.), цветки календулы лекарственной (*Calendula officinalis* L.), кора ивы остролистной (*Salix acutifolia* Willd.), листья березы бородавчатой (*Betula verrucosa* Ehrh.), корни солодки голой (*Glycyrrhiza glabra* L.), трава гречихи посевной (*Fagopyrum sagittatum* Gilib.), плоды черники обыкновенной (*Vaccinium myrtillus* L.), плоды жостера слабительного (*Rhamnus cathartica* L.), кора крушины ломкой (*Frangula alnus* Mill.), листья кассии остролистной (*Cassia acutifolia* Del.), корни щавеля конского (*Rumex confertus* Willd.), а также фенилпропаноиды, флавоноиды и антраценпроизводные, выделенные из исследуемого ЛРС.

В работе использованы тонкослойная хроматография (ТСХ), высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ), спектрофотометрия, ¹H-ЯМР-спектроскопия, масс-спектрометрия, различные химические превращения. ¹H-ЯМР-спектры получали на приборах «Bruker AM 300» (300 МГц), масс-спектры снимали на масс-спектрометре «Kratos MS-30», регистрацию УФ-спектров проводили с помощью спектрофотометра «Specord 40» (Analytik Jena). Контроль за разделением веществ с использованием колоночной хроматографии осуществляли с помощью ТСХ-анализа на пластинках «Сорбфил ПТСХ-АФ-А-УФ» в различных системах растворителей.

В результате изучения химического состава целого ряда лекарственных растений выделены и охарактеризованы с использованием УФ-, ЯМР-спектроскопии, масс-спектрометрии, ТСХ и ВЭЖХ, различных химических превращений фенилпропаноиды (1-8), флавоноиды (9-20) и антраценпроизводные (21-24), представляющие интерес с точки зрения химической стандартизации сырья и препаратов соответствующих лекарственных растений (рис. 1-3).

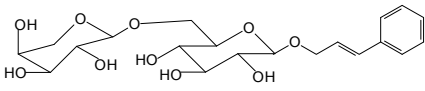
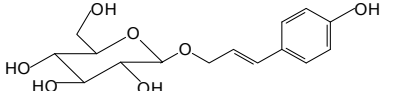
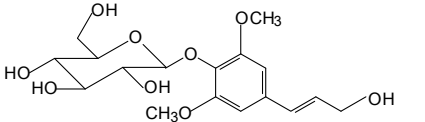
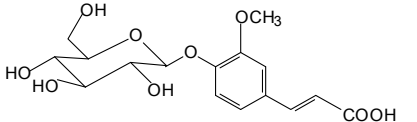
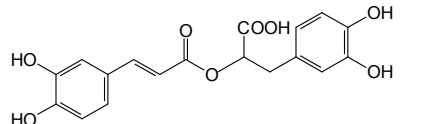
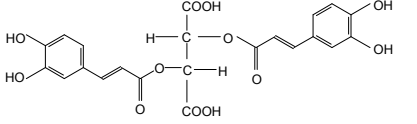
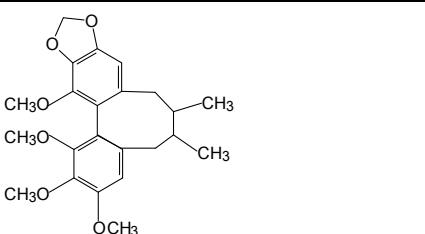
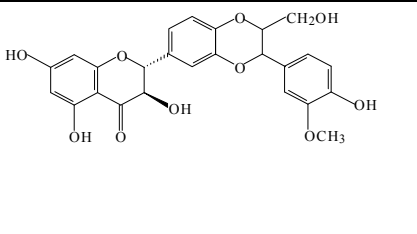
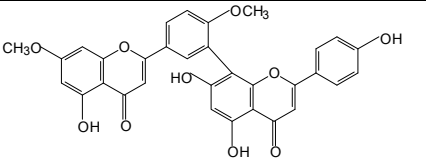
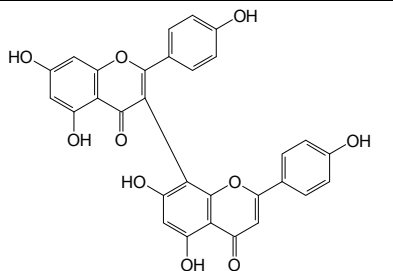
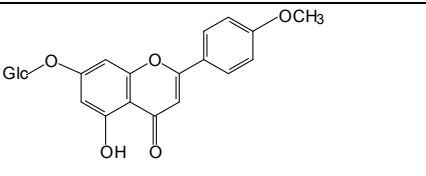
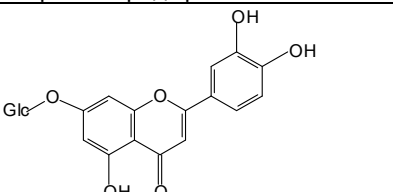
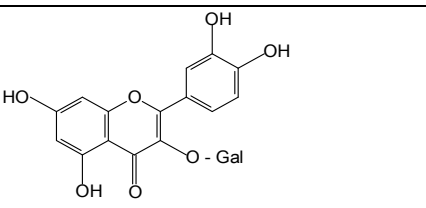
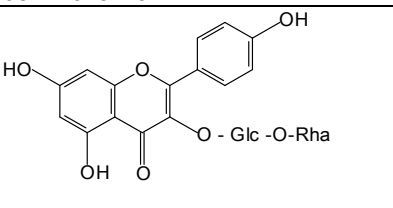
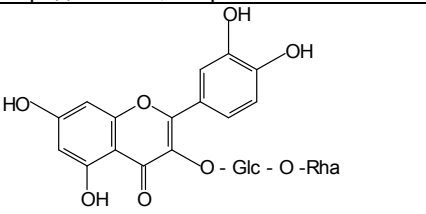
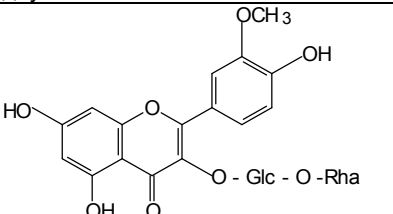
	
Розавин (1): родиола розовая	Триандрин (2): родиола розовая (биомасса)
	
Сирингин, или элеутерозид В (3): элеутерококк колючий, сирень обыкновенная	Лавандозид (4): лаванда колосовая
	
Розмариновая кислота (5): Melissa officinalis	Цикориевая кислота (6): Echinacea purpurea
	
Гамма-схизандрин (7): лимонник китайский	Силибинин (8): расторопша пятнистая

Рис. 1. Фенилпропаноиды лекарственных растений

На основе изучения химического состава целого ряда видов ЛРС, сформулированы подходы к стандартизации сырья и фитопрепаратов, заключающиеся в использовании в методиках анализа стандартных образцов розавина (родиола розовая), триандрина (биомасса родиолы розовой), сирингина (элеутерококк колючий, сирень обыкновенная), силибина (расторопша пятнистая), лавандозида (лаванда колосовая), розмариновой кислоты (мелисса лекарственная), цикориевой кислоты (эхинацея пурпурная), гамма-схизандрина (лимонник китайский), гинкгетина (гинкго двулопастный), 3,8¹¹-биаспигенина (зверобой продырявленный), тилианина (пижма обыкновенная), цинарозида (пижма обыкновенная), гиперозида (береза бородавчатая, зверобой

пятнистый), никотифлорина (гинкго двулопастный).

	
Гинкгетин (9): гинкго двулопастный	3,8'-Бисапигенин (10): зверобой продырявленный
	
Тилианин (11): пижма обыкновенная	Цинарозид (12): пижма обыкновенная
	
Гиперозид (13): береза бородавчатая, зверобой пятнистый	Никотифлорин (14): гинкго двулопастный
	
Рутин (15): зверобой продырявленный, гречиха посевная и др.	Нарциссин (16): календула лекарственная

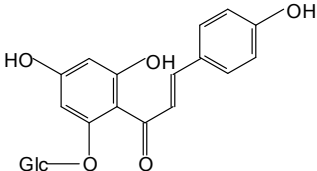
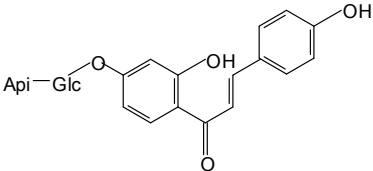
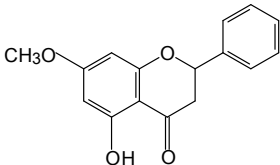
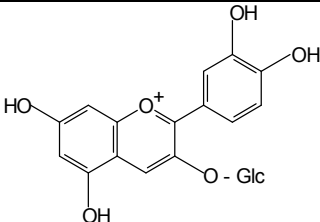
	
Изосалипурпозид (17): бессмертник песчаный, ива остролистная	Ликуразид (18): солодка голая
	
Пиностробин (19): тополь черный	Цианидин-3-О-глюкозид (20): черника обыкновенная

Рис. 2. Флавоноиды лекарственных растений

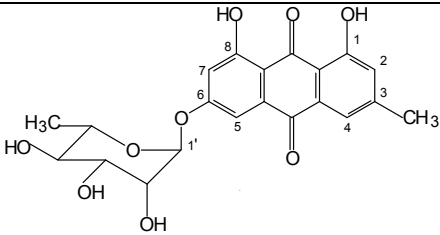
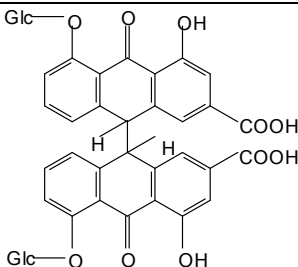
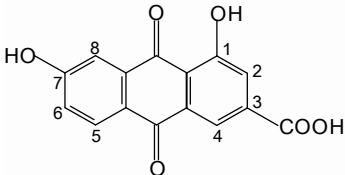
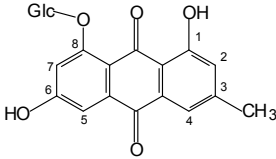
	
Франгулин А (21): крушина ломкая, жостер слабительный	Сеннозид В (22): кассия остролистная
	
1,7-Дигидрокси-3-карбоксиантрахинон (23): кассия остролистная	8-О-β-D-глюкопиранозид эмодина (24): щавель конский

Рис. 3. Антраценпроизводные лекарственных растений

Кроме того: нарциссина (календула лекарственная), изосалипурпозид (бессмертник песчаный), ликуразид (солодка

голая), пиностробина (тополь черный), цианидин-3-О-глюкозида (черника обыкновенная), франгулина А (крушина ломкая, жостер слабительный), сеннозида В (кассия остролистная), 1,7-дигидрокси-3-карбоксиантрахинона (кассия остролистная), 8-О-β-D-глюкопиранозида эмодина (щавель конский).

Таким образом, в результате проведенных исследований обоснованы новые подходы к стандартизации лекарственного растительного сырья и фитопрепаратов, содержащих фенолпропаноиды, флавоноиды и антраценпроизводные, с использованием ТСХ, ВЭЖХ, спектрофотометрии и соответствующих стандартных образцов, что будет способствовать совершенствованию нормативной документации на ЛРС, содержащего фенольные соединения.

Список литературы

1. Запрометов М.Н. Фенольные соединения. Распространение, метаболизм и функции в растениях. М.: Наука, 1993. 272 с.
2. Коруткин Д.Ю., Абилов Ж.А., Музычкина Р.А., Толстиков Г.А. Природные флавоноиды. - Новосибирск: Академическое издательство «Гео», 2007. – 232 с.
3. Куркин В.А., Запесочная Г.Г., Авдеева Е.В., Ежков В.Н. Фенилпропаноиды лекарственных растений. - Самара: ООО «Офорт»; ГОУ ВПО «СамГМУ», 2005. – 128 с.
4. Куркин В.А. Фармакогнозия: Учебник для фармацевтических вузов (факультетов). 2-е изд., перераб. и доп. - Самара: ООО «Офорт», ГОУ ВПО «СамГМУ Росздрава», 2007. - 1239 с.
5. Куркина А.В. Флавоноиды фармакопейных растений: Монография. - Самара: ООО «Офорт»; ГБОУ ВПО СамГМУ Минздравсоцразвития России, 2012. - 290 с.
6. Муравьева Д.А., Самылина И.А., Яковлев Г.П. Фармакогнозия: Учебник М.: Медицина, 2002. 656 с.
7. Тюкавкина, Н.А. Биофлавоноиды. Химия, пища, лекарства, здоровье: Актовая речь / Н.А. Тюкавкина. – М., 2002. – 56 с.
8. Фенольные соединения: фундаментальные и прикладные аспекты / Под редакцией Н.В. Загоскиной, Е.Б. Бурлаковой. - М.: Научный мир, 2010. - 450 с.
9. Muzychkin R.A. Natural Anthraquinones. Biological properties and physicochemical characteristics / Ed. by G.A. Tolstikov. Moscow: PHASIS, 1998. - 864 p.

ПОЛИФЕНОЛЬНЫЕ КОМПЛЕКСЫ ИЗ ОТХОДОВ ОТ ПЕРЕРАБОТКИ ЯГОДНОГО СЫРЬЯ УССУРИЙСКОЙ ТАЙГИ

Кушнерова Н.Ф.¹, Момот Т.В.²

¹ФГБУН Тихоокеанский океанологический институт им. В.И. Ильичева
Дальневосточного отделения РАН, Владивосток, тел. (423)2313061. e-mail:
natasha50@mail.ru

²Школа биомедицины Дальневосточного федерального университета,
Владивосток, тел. (423)2513423. e-mail: kushnerova83@mail.ru

Природные ресурсы Дальнего Востока предоставляют широкие возможности для создания разнообразных фитопрепаратов, содержащих природные полифенольные соединения. На сегодняшний день существует ряд препаратов, так называемых адаптогенов, включающих широко известные средства традиционной и народной медицины: женьшень, экстракт элеутерококка, настойка аралии, настойка родиолы розовой, настойка лимонника. Однако запасы этих растений снижаются ежегодно в связи с преимущественным использованием корней и семян. Кроме того, при передозировке они токсичны и вызывают стимуляцию нервной системы. Следовательно, очевидна актуальность и необходимость поиска и изучения новых источников сырья, в частности, использование других частей этих растений, как отходов от их переработки (оси соцветий лимонника, аралии, винограда, отжим после отделения сока жимолости, рябины, калины), особенно если они являются конечным бросовым продуктом в технологической цепи.

Отходы от переработки представляют ценное сырье для получения биологически активных веществ. Это большой возобновляемый сырьевой резерв, который в настоящее время не утилизируется и не используется должным образом. Такой подход позволяет внедрить процесс безотходной переработки ценного растительного сырья и наряду с выработкой традиционных продуктов, таких как соки и сиропы, получать биологически активные препараты с низким уровнем токсичности. Преимущество использования именно пищевых видов растительного сырья определяется эволюционной адаптацией организма человека к вторичным метаболитам растений, традиционно употребляемым им в пищу. Одним из наиболее важных классов вторичных растительных метаболитов являются полифенольные соединения, которые обладают высокой антиоксидантной и антирадикальной активностью.

Целью данной работы явилось определение количественных характеристик полифенольного комплекса в препаратах, полученных из отходов от переработки дикорастущих растений Уссурийской тайги.

В работе были использованы оси соцветий винограда амурского (*Vitis amurensis*), оси соцветий лимонника китайского (*Schizandra chinensis*), оси соцветий аралии маньчжурской (*Aralia mandchurica*), отжим (кожица, семена, оси соцветий) после отделения сока калины Саржента (*Viburnum sargentii*), отжим после отделения сока жимолости съедобной (*Lonicera edulis*), отжим после отделения сока рябины амурской (*Sorbus amurensis*). Суховоздушное сырье экстрагировали 40% этиловым спиртом методом реперколяции. Выход экстракта составлял 1 л из 1 кг сырья. Содержание суммарной полифенольной фракции в изученных препаратах достигает 10,2 – 32,8 г/л, что является достаточно высоким показателем. Так, в составе экстракта из осей соцветий винограда было обнаружено 32,40 г/л общих полифенолов, из которых 16,58 г/л составляли проантоцианидины.

В составе экстракта из осей соцветий лимонника общие полифенолы составляли 10,90 г/л, из которых 4,63 г/л были проантоцианидины. Экстракт из осей соцветий аралии содержал 18,20 г/л общих полифенолов, из которых 6,30 г/л приходилось на проантоцианидины. В экстракте из отжима калины общие полифенолы составляли 32,80 г/л, а проантоцианидины – 18,00 г/л. В экстракте из отжима жимолости содержание общих полифенолов составляло 25,00 г/л, а проантоцианидинов – 15,80 г/л. Экстракт из отжима рябины содержал 10,20 г/л общих полифенолов, а проантоцианидинов – 1,00 г/л. В экстрактах была определена антирадикальная активность, которая составляла в экстракте из осей соцветий винограда 10,42 ммоль-экв тролокса/л, аралии – 2,89, из отжима калины – 8,22, из лимонника – 2,62, из отжима рябины – 29,73, отжима винограда – 30,24, отжима жимолости – 114,85.

Наиболее характерным и важным свойством полифенольных соединений является их способность выступать в качестве полноценной окислительно-восстановительной системы. Способность к данному процессу, носящему название «семихинонной осцилляции», позволяет полифенолам выступать как донорами, так и акцепторами протонов и электронов. Они могут выступать в качестве буферной емкости, способной нормализовать окислительно-восстановительный баланс в организме, а также инактивировать активные формы кислорода и азота, прерывая развитие окислительной модификации биологических структур, в

частности, липидов и липопротеинов. Одним из основных компонентов полифенольного комплекса изученных экстрактов является комплекс олигомерных проантоцианидинов или конденсированных танинов, представляющих собой полимерные формы флавоноидов из группы катехинов, обладающих широким спектром биологической активности [1]. Их главное отличие от всех остальных полифенольных соединений в том, что они составляют основную (до 80%) часть потребляемых человеком биофлавоноидов.

Сам факт того, что проантоцианидины в значительном количестве содержатся в растениях и напитках традиционно употребляемых человеком в пищу, а также их самое благоприятное влияние на здоровье, обуславливает стремление человека к их включению в свой ежедневный рацион питания [2]. Проантоцианидины существуют в виде «олигомеров», содержащих от двух до шести «катехиновых» единиц и растворимых в воде, а также в виде «полимеров» в воде не растворимых со степенью полимеризации от 7 и выше, но которые представляют собой основную (до 80%) часть проантоцианидиновых комплексов [3].

Число фенольных функциональных групп в молекуле проантоцианидина лежит в основе трех основных свойств: образование танин-белковых комплексов, образование хелатных соединений с металлами и обладанием восстановительного потенциала. Проантоцианидины способны эффективно инактивировать гидроксил-радикал и супероксид-анион, превосходя в этом в несколько раз низкомолекулярные антиоксиданты: витамины С и Е [4]. При этом олигомерные проантоцианидины являются наиболее активной фракцией извлечений из растений их содержащих, в которой локализовано до 80% общей антирадикальной активности [5].

Таким образом, отходы от переработки Дальневосточных дикоросов, таких как виноград амурский, лимонник китайский, аралия маньчжурская, калина Саржента, жимолость съедобная, рябина амурская могут служить перспективным источником сырья для получения растительных фитопрепаратов, содержащих полифенольные комплексы с высоким содержанием биологически активных проантоцианидинов и антирадикальной активностью.

Список литературы

1. Packer L., Rimbach G. and Virgili F. Antioxidant activity and biologic properties of a procyanidin-rich extract from pine (*pinus maritima*) bark, pycnogenol // *Free Radic. Biol. Med.* 1999. V. 27, N 5-6. P. 704-724.

-
2. Soleas G. J., Diamandis E. P. and Goldberg D. M. Wine as a biological fluid: History, production, and role in disease prevention // J. Clin. Lab. Anal. 1997. N 5(11). P. 287-313
 3. Haslam E. Natural polyphenols (vegetable tannins) as drugs: Possible modes of action // J. Nat. Prod. 1996. N 2 (59). P. 205-215.
 4. Bagchi D., Garg A., Krohn R., et al. Oxygen free radical scavenging abilities of vitamins c and e, and a grape seed proanthocyanidin extract in vitro // Res. Commun. Mol. Pathol. Pharmacol. 1997. N 2 (95). P. 179-189.
 5. Спрыгин В.Г., Кушнерова Н.Ф., Фоменко С.Е. и др. Антирадикальная активность извлечений из дальневосточных растений, содержащих олигомерный проантоцианидиновый комплекс // Бюлл. физиол. и патол. дыхания. 2002. № 11. P. 50-53.
-

УДК 664.951

СТАБИЛИЗАЦИЯ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТОЙ В ВОДНО-СПИРТОВЫХ ЭКСТРАКТАХ АМАРАНТА ПРИ ПРОИЗВОДСТВЕ РЫБНЫХ ПРОДУКТОВ

Лапин А.А., Зеленков В.Н.¹, Исламова А.А., Ахмерова Л.Р.

ФГБОУ ВПО Казанский государственный энергетический университет,
Казань, Россия, тел. (843) 519-43-53, e-mail: lapinanatol@mail.ru

¹ФГБНУ ВНИИ Овощеводства РАН, д. Верея, Московской обл., Россия,
тел.8-910-451-37-45, e-mail: zelenkov-rsen@mail.ru

Среди различных биохимических компонентов растений амаранта *Amaranthus L.*, составляющих его суммарную антиоксидантную активность (САОА) большое значение имеют различные фенольные соединения, которые представлены в основном флавоноидами, полифенолами, витаминами группы Р (рутин, кверцетин и др.). Антиоксидантное действие флавоноидов (ФЛ) обусловлено их способностью связывать свободные радикалы и образовывать хелатные соединения с ионами металлов (железа, меди), уменьшая их каталитические свойства в процессах окисления. В наших исследованиях было показано, что зависимость САОА 70%-ных водно-спиртовых экстрактов листьев амаранта прямо пропорционально содержанию ФЛ, коэффициенты корреляции при этом составляли 0,50 – 0,97, а САОА характеризуется высокими показателями от 6,55 до 14,00 г рутина/100 г абсолютно сухого образца [1].

Аскорбиновая кислота (витамин С, Е300) - один из сильнейших антиокислителей. По данным Комитета по пищевым добавкам Аскорбиновая кислота (АК), как природный антиоксидант,

прерывает реакции самоокисления в компонентах пищевых изделий, предотвращая снижение органолептических характеристик продуктов, увеличивает срок хранения продуктов, обеспечивает устойчивый и равномерный посол, ускоряет процесс консервирования. Рекомендуемая дозировка АК в рассоле 5 – 12,5 кг на 1 м³ воды.

Цель работы — проведение исследований стабилизации фенольных экстрактов амаранта аскорбиновой кислотой в производстве рыбных продуктов от окисления.

Объектами исследования нами использовалась АК производства ООО «Озон» (г. Жигулевск, Самарской обл.), 70%-ный водно-спиртовой экстракт листьев амаранта (СЭА) с содержанием ФЛ 1,830 мг/см³. Суммарную антиоксидантную активность (CAOA) образцов водных растворов АК в процессе окисления определяли по сертифицированной методике [2]. Стабильность смесей АК с разными концентрациями СЭА определялась по CAOА образцов растворов при постоянном перемешивании в культиваторе с температурой 25 °С.

В водных растворах фенольные соединения, такие как рутин, кверцетин и дигидрокверцетин легко окисляются, их стабильность возрастает в ряду рутин < дигидрокверцетин < кверцетин, при этом кверцетин является наиболее окисленной формой и в меньшей степени подвержен окислительному действию, что объясняется идентичностью структур фрагмента окисленной формы аскорбиновой кислоты и кверцетина:

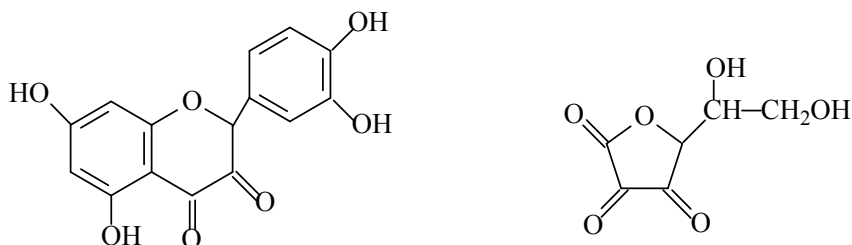


Рис. кверцетин дегидроаскорбат

При введении аскорбиновой кислоты в растворы окисление растительных полифенолов значительно замедляется в ряду: кверцетин > дигидрокверцетин > рутин, при этом аскорбиновая кислота практически полностью расходуется. Это связано с тем, что аскорбиновая кислота, проявляя антиоксидантные свойства, стабилизирует растительные полифенолы, сама в первую очередь участвует в реакции окисления как восстановитель. Меньшая

устойчивость рутина в этом ряду, очевидно, обусловлена его гидролизом, при котором образуется легкоокисляющийся сахар – глюкоза. Данные исследования имеют практическое значение для стабилизации полифенолов в пищевых объектах [2].

Для окисления раствора АК при концентрации 1,062 % масс. - контрольный образец 1 (КО1) и его смесей с добавлением СЭА в количествах 0,20; 0,40; 0,60; 1,00; 1,19; 1,40; 1,60; 2,00; 3,98; 4,03; 5,26; 6,00; 7,94; 9,96 % масс., водный раствор СЭА 9,22 % масс.- контрольный образец 2 (КО2) использовали постоянное перемешивание при 25 °С. Первое измерение САОА провели через 1 час после перемешивания, оно показало следующие результаты: КО1- 2931,69; КО2 - 370,09; 0,20 - 1913,33; 0,40 - 1831,1; 0,60 - 1811,74; 1,00 - 1993,16; 1,19 - 1961,71; 1,40 - 1901,24; 1,60 - 1870,18; 2,00 - 2034,28; 3,98 - 2145,55; 4,03 - 1942,36; 5,26 - 1947,2; 6,00 - 2027,02; 7,94 - 2324,55; 9,96 - 2688,59 мг рутина (Ru) на 1 дм³ раствора при относительной ошибке измерения не более 7 %, в основном 2-4 %, n = 5.

Попытка расчета влияния добавки СЭА на показатели САОА выявило аддитивное уменьшение экспериментального показателя САОА относительно расчетной величины:

$$CAOA_{\text{excess}} = CAOА_{\text{эксперим.}} - CAOА_{\text{расчетная}}$$

Показатель САОА_{excess} линейно увеличивается к нулю при увеличении добавки СЭА и описывается уравнением $Y = 78.33X - 1122,6$, при $R^2 = 0,808$, по приведенному уравнению эффект синергизма пропадает при содержании СЭА 14,33 % масс.

В литературе известны синергетические смеси дигидрокверцетина с витаминами С, Е, А в определенных соотношениях, при этом активность смесей оценивалась по скорости накопления продуктов перекисного окисления липидов. Например, предполагается, что виноградные вина представляют собой синергетические смеси антиоксидантов, обладающие каскадным антиоксидантным действием. Наши исследования измерений эффектов синергизма и антагонизма купажей вин по их САОА показали, что подобные явления достаточно стабильны во времени [2].

Дальнейшие испытания показали, что максимальная скорость окисления контрольных образцов КО1 и КО2 наблюдается до 25 часов, затем она уменьшается. При уменьшении концентрации СЭА с 9,96 до 1,60 % масс. в течение 25 часов САОА смесей падает, затем линейно увеличивается ($R^2 = 0,88$ до 0,99) до конца процесса окисления (96 часов) с максимальной САОА относительно начального значения до 56,78 % (образец с 5,26 % СЭА) и составляет 3052,88 мг Ru на 1 дм³ (КО1 2931,69 мг Ru на 1

дм³). Дальнейшее уменьшение концентрации СЭА до 0,20 масс. приводит к уменьшению САОА образцов до 48 часа окисления, затем она линейно увеличивается ($R^2 = 0,99$) до конца процесса окисления, при этом максимальное увеличение САОА составляет 3146,97 мг Ru на 1 дм³ (до 67,63 % относительно начального значения) при концентрации СЭА 0,20 масс.

Таким образом, введение в рассол при приготовлении рыбных продуктов аскорбиновой кислоты с растительными экстрактами специй, содержащими фенольные соединения, не только может улучшить их вкусовые качества, но и замедлить потери аскорбиновой кислоты (витамина С) – усилителя различных консервантов.

Наличие широкого спектра антиоксидантов, включая различные фенольные соединения, характеризуют амарант, как перспективное биологически активное сырье для создания пищевых добавок при разработке новых перспективных видов экологической продукции, которая относится к развивающемуся сегменту мирового рынка продовольствия.

Список литературы.

1. Зеленков В.Н., Гулышина В.А., Лапин А.А. Амарант. Биохимический и химический портрет в онтогенезе. – М.: Изд-во РАЕН. – 2011. – С. 73 – 78.
2. Лапин А.А., Романова Н.Г., Зеленков В.Н. Применение метода гальваностатической кулонометрии в определении антиоксидантной активности различных видов биологического сырья и продуктов их переработки. – М.: МСХА им. К.А. Тимирязева. – 2011. – 197 с.

УДК 582.689.2:581.192.2:547.1-32:615.07

О ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЯХ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА ПЕРВОЦВЕТ (*PRIMULA* L.)

Латыпова Г.М.¹, Бубенчикова В.Н.², Иксанова Г.Р.¹

¹ГБОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет»,
Уфа, Россия, 8 917 75 25 174, E-mail: guzel_latypova 2014@yandex.ru

²ГБОУ ВПО «Курский государственный медицинский университет», Курск,
Россия, 8-905-042-20-32, E-mail: fg.ksmu@mail.ru

Растительные фенольные соединения относятся к важнейшему классу природных соединений, определяющих широкий спектр фармакологической активности известных фитопрепаратов. Среди них большой популярностью в

медицинской и фармацевтической практике пользуются препараты с антиоксидантными, гепатозащитными, противовоспалительными, иммуномодулирующими свойствами [1]. В связи с этим поиск дополнительных растительных источников полифенольных соединений с целью создания новых эффективных лекарственных средств является актуальной задачей.

Растения рода первоцвет (*Primula* L.) широко распространены во флоре РФ. По оценкам различных специалистов, он насчитывает до 600 видов [2, 3]. В РФ отмечен высокий уровень биологического разнообразия *Primula* L. на ценотическом, экосистемном и популяционно-видовом уровнях. Сегодня выявлены перспективные виды *Primula* L. для хозяйственного использования: это лекарственные и декоративные, а также виды, подлежащие охране.

В РФ разрешены в качестве пищевого поливитаминного растительного сырья только листья первоцвета весеннего (ГОСТ 3166-76 «Листья первоцвета весеннего»), тогда как корневище с корнями первоцвета весеннего входят в Европейскую, Немецкую и др. фармакопеи. В Европейскую фармакопею включены корневища с корнями *Primula veris* L., *Primula elatior* (L.) Hill., на их основе созданы биологически активные добавки (БАД) к пище и, что особенно важно, отхаркивающие лекарственные препараты зарубежного производства («Бронхипрет ТП», «Синупрет», «Бронхикум эликсир» и др.). Надземная часть первоцвета весеннего недостаточно изучена в отношении химического состава, фармакологических свойств и используется ограниченно как пищевое поливитаминное сырье. Согласно данным литературы надземная часть первоцветов богата сапонинами, органическими кислотами, витаминами, состав фенольных соединений изучен недостаточно.

Целью настоящих исследований явилось изучение состава фенольных соединений представителей рода первоцвет (*Primula* L.).

Материалы и методы. Объектами исследований явились трава близкородственных видов первоцвета весеннего (лекарственный) (*Primula veris* L., или *P. officinalis* (L.) Hill.) и первоцвета крупночашечного (*Primula macrocalyx* Bunge.), заготовленные в Европейской части РФ (Курской и Белгородской областях) и некоторых районах Республики Башкортостан в течение 2005-2011 годов в различные фазы вегетации.

Ранее нами был изучен качественный состав фенольных соединений названных растений. Методами ТСХ, БХ, ВЭЖХ были идентифицированы флавоноиды, простые фенолы, дубильные

вещества, кумарины, фенолокислоты, гидроксикоричные кислоты [4]. Установлено, что фенольные соединения являются перспективными для дальнейшего изучения.

На следующем этапе наших исследований было проведено выделение индивидуальных веществ. Экспериментально установлено, что максимальный выход фенольных соединений (качественно и количественно) осуществляется раствором спирта этилового 70%. Полученные извлечения упаривали под вакуумом до водного остатка и разделяли методами адсорбционной колоночной хроматографии и избирательной жидкостной экстракции.

При разделении веществ методом колоночной хроматографии упаренные извлечения наносили на силикагель L 40/100 и L 100/110 мкм. Элюирование веществ проводили хлороформом, спирто-хлороформными смесями и спиртом этиловым. Полученные элюаты делились на фракции одинакового состава (по результатам ТСХ – анализа) и упаривались под вакуумом. Индивидуальные вещества получали методом рехроматографии на микроколонках с полиамидным сорбентом (Wolem DC) и путем перекристаллизации из различных растворителей.

В случаях разделения веществ с использованием метода избирательной жидкостной экстракции предварительно очищенные концентрированные извлечения обрабатывались равными количествами органических растворителей (диэтилового эфира, хлороформа, этилацетата, бутанола). Для каждого растворителя обработку повторяли 6-8 раз. Полученные извлечения обезвоживали натрия сульфатом безводным и упаривали под вакуумом до удаления растворителя. Вещества из фракций разделяли колоночной и тонкослойной хроматографией на полиамиде и силикагеле, с помощью дробной кристаллизации и перекристаллизации.

Процесс фракционирования БАВ контролировали методами БХ, ТСХ, УФ-спектроскопии. Для ТСХ-анализа использовали пластинки «Sorbfil» (марки ПТСХ-П-А и ПТСХ-АФ-А-УФ), " Silufol" UV 254, 366, различные системы растворителей. Спектры растворов выделенных веществ и водно-спиртовых извлечений регистрировали с помощью спектрофотометра «Specord 40».

В результате проведенных исследований из исследуемых видов сырья выделено 30 фенольных соединения, представленных 18 флавоноидными соединениями, из них 7 – полиметоксилированных флавоноидов, 1 фенологликозидом, 6 производными фенолкарбоновых кислот, 2 кумаринами, 3

соединениями из группы дубильных веществ.

Структуру выделенных веществ установлена методами ЯМР¹H-, ЯМР¹³C –спектроскопии; корреляционной спектроскопии ЯМР ¹H – ¹H COSY, ¹H – ¹³C HSQCED, HMBC (ЯМР спектрометр высокого разрешения «Bruker Avance III 500MHz»); хромато-масс-спектрометрии; а также с использованием данных УФ-спектроскопии, ТСХ, БХ, с помощью различных химических превращений и сравнением со стандартными образцами веществ (СО).

Сравнительный анализ состава фенольных соединений травы изучаемых видов первоцветов, проведенный методами ВЭЖХ, ТСХ, показал незначительные отличия по содержанию основных классов фенольных соединений. Состав основных групп флавоноидов исследуемых растений практически идентичен, общими и доминирующими флавоноидами явились рутин и гиперозид. По составу фенолокарбоновых кислот и фенилпропаноидов первоцвет крупночашечный отличается дополнительным содержанием салициловой и неохлорогеновой кислот.

В растениях рода первоцвет методами колоночной хроматографии были выделены и определены специфические для рода первоцвет полиметоксилированные флавоноиды. Анализ спектральных данных, данных УФ-спектров, сопоставление физико-химических показателей позволило идентифицировать 7 полиметоксилированных флавоноидов, преобладающими из которых явились 3',4'-метилендиокси-5'-метоксифлавоны и запотин. Вещество 3',4'-метилендиокси-5'-метоксифлавоны предложено нами впервые в качестве специфического маркера для стандартизации надземной части первоцвета весеннего, что позволит расширить перечень специфических веществ-маркеров для стандартизации ЛРС (патент РФ № 2532999 от 20.01.15 «Новое природное вещество из травы первоцвета весеннего»).

Сравнительный анализ состава полиметоксилированных флавоноидов, являющихся индикаторными соединениями для растений рода первоцвет, также показал отмеченное сходство исследуемых растений.

Нами получен густой экстракт из травы первоцвета весеннего (ГЭТПВ). Изучена антиоксидантная активность ГЭТПВ на модели Fe²⁺ -индуцированной хемилюминесценции в следующих модельных системах: генерирующей активные формы кислорода и с использованием суспензии липосом яичного желтка. Исследование показало, что растворы ГЭТПВ проявляют прямое

антиоксидантное действие (подтверждено патентом РФ на изобретение (№ 2342942 от 10.01.2009).

Исследование противогипоксических свойств при профилактическом введении изучаемого экстракта, проведенное в условиях экспериментальной нормобарической гипоксии с гиперкапнией, свидетельствует об антигипоксантами активности ГЭТПВ.

Нами определены гепатозащитные свойства ГЭТПВ («Применение густого экстракта травы первоцвета весеннего (*Primula veris* L.) в качестве гепатозащитного средства» (решение о выдаче патента на изобретение от 12.01.2015 по заявке № 2014114957/15 (023446)).

Таким образом, растения рода первоцвет наряду с сапонинами, органическими кислотами, витаминами содержат богатый комплекс фенольных соединений и могут рассматриваться в качестве перспективных источников антиоксидантных, антигипоксантами и гепатозащитных средств.

Список литературы

1. Флавоноиды как гепатопротекторы и антиоксиданты / В.А. Куркин, Е.В. Авдеева, В.Б. Браславский [и др.] // Человек и лекарство: материалы IX Рос. нац. конгр. (7-11 апреля 2002 г., г. Москва). – М., 2002. – С. 164.
2. Растительные ресурсы России: Дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность / отв. ред. А.Л. Буданцев. - СПб.; М.: Товарищество научных изданий КМК, 2009. - Т. 2. Семейства Actinidiaceae-Malvaceae, Euphorbiaceae-Haloragaceae. – 513 с.
3. Фёдоров, А.А. Первоцвет - *Primula* L. / А.А. Фёдоров // Флора СССР. - М.-Л.: АН СССР, 1952. - Т. 18. - С. 111-202.
4. Латыпова, Г.М. Изучение фенольных соединений растений рода первоцвет (*Primula* L.). Латыпова Г.М., Бубенчикова В.Н., Романова З.Р. Фенольные соединения: фундаментальные и прикладные аспекты: материалы докладов VIII Международного симпозиума (2-5 октября 2012 г., Москва) / отв. ред. Н.В. Загоскина. - М.: ИФР РАН; РУДН, 2012. - С. 592-596.

ВЛИЯНИЕ РАСТИТЕЛЬНЫХ АЛКИЛРЕЗОРЦИНОВ НА АКТИВНОСТЬ И СТАБИЛЬНОСТЬ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНЫХ ФЕРМЕНТОВ

Лойко Н.Г.¹, Краснова М.А.², Эль-Регистан Г.И.¹

¹ФГБУН Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского РАН, Москва, Россия, 8-(499) -135-10-89, loikonat@mail.ru

²ФГБОУ ВПО Московский Государственный Университет Пищевых Производств, Москва, Россия, 8-(499) -750-0111, mariya-moskva@mail.ru

В настоящее время на фармацевтическом рынке представлено огромное количество ферментных препаратов. Например, для улучшения процессов пищеварения предлагается применять пепсин, панзинорм, панкреатин, фестал, мезим-форте и др. А при гнойно-некротических процессах: трипсин, химотрипсин, дезоксирибонуклеазу, коллагеназу и др. Однако, производство ферментных препаратов сопряжено с определенными трудностями, связанными с чувствительностью ферментов к различным физико-химическим или биологическим факторам, под воздействием которых они теряют свою активность. Это ограничивает их применение в биотехнологических процессах. Улучшить свойства ферментов: повысить их активность и стабильность, помогает направленная модификация их структуры с помощью низкомолекулярных лигандов, таких как растительные ауторегуляторы – алкилрезорцины (АР), которые благодаря своим свойствам способны изменять конформацию макромолекул [1-3].

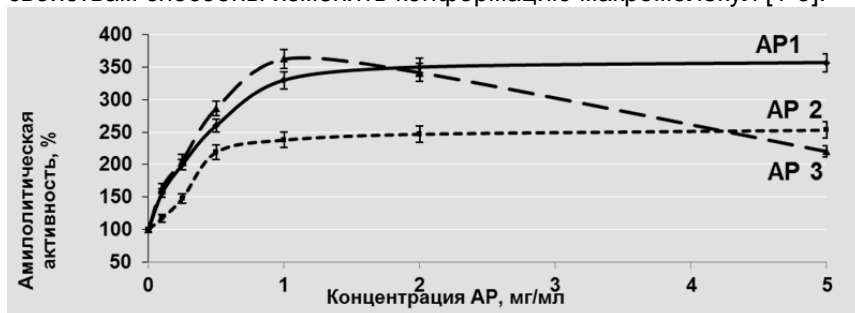


Рис. 1. Влияние короткоцепочечных алкилрезорцинов разной степени окисленности на амилалитическую активность.

Целью исследования стала разработка способов повышения активности и стабильности пищеварительных ферментов с помощью взаимодействия с растительными

алкилрезорцинами. Объектами исследования являлись растительные алкилрезорцины, отличающиеся длиной алкильного радикала и степенью окисленности, а также пищеварительные ферменты: амилаза, целлюлаза, трипсин, днказа, пероксидаза.

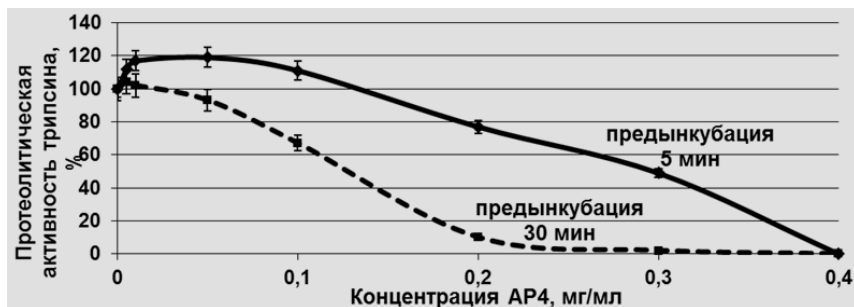


Рис. 2. Влияние длинноцепочечного алкилрезорцина на протеолитическую активность трипсина.

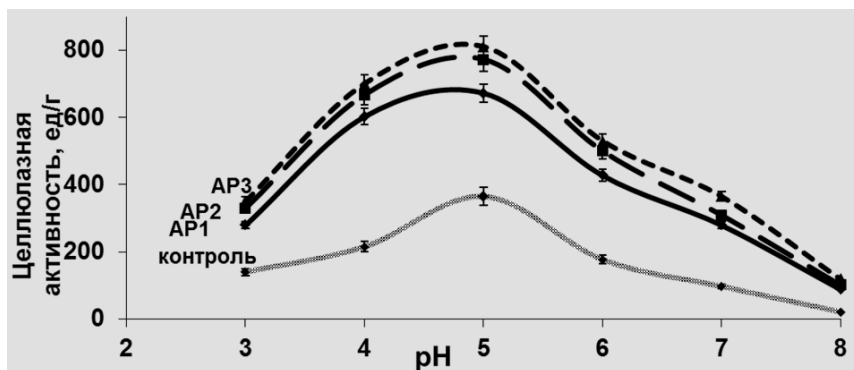


Рис. 3. Расширение pH диапазона активного катализа фермента целлюлазы, модифицированной AP1-3 в концентрации 1 мг/мл (контроль – нативный фермент).

Проведенные исследования показали, что модифицирующее действие алкилрезорцинов зависит от их структуры, концентрации и времени воздействия, а также природы самого ферментного белка. Так, модификация структуры амилазы с помощью трех короткоцепочечных алкилрезорцинов разной степени окисленности в диапазоне их концентраций 0.1-5 мг/мл позволила повысить её активность в 2-3.5 раза (рис. 1). Подобный эффект наблюдался и при использовании других ферментов: целлюлазы, пероксидазы, днказы. При этом применение длинноцепочечных алкилрезорцинов

чаще приводило к снижению каталитической активности пищеварительных ферментов (рис. 2).

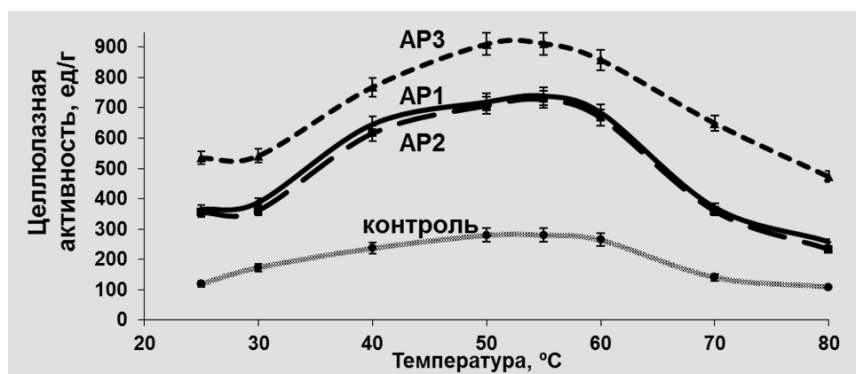


Рис. 4. Расширение температурного диапазона активного катализа фермента целлюлазы, модифицированной AP1-3 в концентрации 1 мг/мл (контроль – нативный фермент).

Дальнейшие эксперименты показали, что модификация пищеварительных ферментов алкилрезорцинами позволяет существенно расширить температурный и pH диапазоны их эффективной работы (рис. 3, 4). Так, если при pH 3 активность нативного фермента составляла 175 ед/г, то активность модифицированной алкилрезорцинами целлюлазы составляла 275-315 ед/г. Тот же эффект наблюдался и при проведении процесса гидролиза крахмала в щелочных условиях ($\text{pH} \geq 7$) (рис. 3). В других экспериментах было показано, что модификация целлюлазы короткоцепочечными алкилрезорцинами разной степени позволяет снизить оптимальную температуру гидролиза до более низких значений без потери активности фермента (рис. 4). Даже при проведении гидролиза при 30 °C активность целлюлазы, модифицированной AP1 и AP2 оставалась в 1.4 раза выше, а модифицированной AP3 в 2 раза выше, чем активность нативного фермента в оптимальных условиях при 50 °C.

Разработанные способы модификации пищеварительных ферментов могут быть применены при производстве лекарственных препаратов. Например, хорошие результаты были получены по увеличению в несколько раз сроков хранения модифицированного алкилрезорцинами фермента ДНКазы при разных температурах в сравнении с нативным ферментом. Также возможно применение алкилрезорцинов для регулирования энергетического обмена и снижения уровня накопления жиров в

организме человека.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (гранты № 13-04-01145 А и № 13-04-40231- Н).

Список литературы.

1. Stasiuk M, Kozubek A. Biological activity of phenolic lipids // Cell Mol. Life Sci. 2010. V. 67. P. 841-860.
 2. Эль-Регистан Г.И., Мулюкин А.Л., Николаев Ю.А., Сузина Н.Е., Гальченко В.Ф., Дуда В.И. Адаптогенные функции внеклеточных ауторегуляторов микроорганизмов // Микробиология. 2006. Т. 75. №4. С. 446-456.
 3. Петровский А.С., Дерябин Д.Г., Лойко Н.Г., Михайленко Н.А., Кобзева Т.Г., Канаев П.А., Николаев Ю.А., Крупянский Ю.Ф., Козлова А.Н., Эль-Регистан Г.И. Регуляция алкилоксибензолами функциональной активности лизоцима // Микробиология. 2009. Т. 78. № 2. С. 176–185.
-

УДК 581.19+547.992+ 543.429

ФЕНОЛЬНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ ХМЕЛЯ: БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ И ПРИМЕНЕНИЕ

Луцкий В.И., Чеснокова А.Н.

ФГБОУ ВПО Национальный исследовательский государственный технический университет, Иркутск, Россия, тел. (3952)40-51-22, vladlutsky@gmail.com

Хмель обыкновенный (*Humulus lupulus* L.) широко распространенное и чрезвычайно полезное растение, которое с давних пор используется человеком, прежде всего, как сырье для производства пива. Именно различные сорта хмеля придают пиву своеобразный аромат и вкус, а также способствуют его консервации. Кроме того, хмель является ценным лекарственным сырьем как в народной, так и в официальной медицине.

Основными веществами, обуславливающими биологическую активность шишек хмеля, являются горькие кислоты, фенольные соединения и эфирное масло [1].

Полифенольные соединения, содержащиеся в растительном сырье, оказывают непосредственное влияние на качество напитков, поскольку эти соединения ответственны за их вкусовую и коллоидную стабильность [1]. В последнее время появилось большое количество работ, показывающих, что потребление продуктов питания и напитков, в том числе и пива, обогащенных полифенолами, способствует профилактике

сердечно-сосудистых и раковых заболеваний, благодаря их антиоксидантным свойствам [2-4].

Среди фенолов хмеля присутствуют такие уникальные соединения, как пренилированные флавоноиды халконового и флаванонового типов. Учёные начали активное изучение данных веществ только в последнем десятилетии прошлого века, в связи с выявлением их высокой биологической активности. Они проявляют значительные антиканцерогенные, фитоэстрагенные, антиоксидантные, антимикробные и противовирусные свойства [2-5].

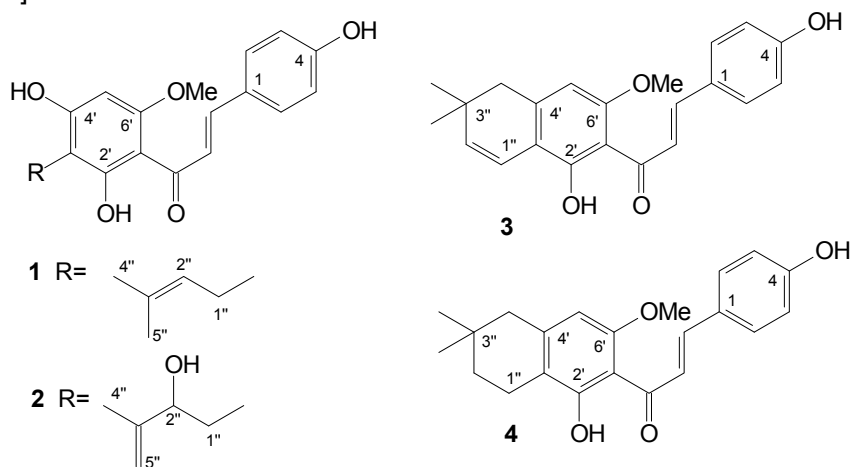


Рис.1. Пренилированные флавоноиды, выделенные из хмеля сорта Магнум: 1-ксантогумол; 2-Ксантогумол D; 3-ксантогумол С и 4- 1'',2''-дигидроксантогумол С.

Доминирующим пренилированным халконом хмеля является ксантогумол. Доказано, что ксантогумол в 200 раз активнее против рака груди, чем резвератрол, содержащийся в красном вине [6]. Кроме того, данное соединение проявляет высокую антиоксидантную, противовирусную и фитоэстрагенную активность [6-8]. Благодаря данным свойствам ксантогумол представляет большой интерес как для медицины, так и для пивоварения. Известно, что в процессе производства пива, часть его переходит в продукт и повышает физиологическую ценность напитка.

Для сохранения ценных компонентов хмеля и повышения эффективности его промышленного использования вырабатывают различные виды хмелепродуктов. На долю последних приходится до 80% производимого хмелевого сырья. Хмелепродукты

представляют собой чрезвычайно сложные комплексы химических соединений, причем состав отдельных видов резко отличается. Несмотря на то, что хмель подвергался довольно тщательному исследованию учеными, фенольные соединения хмелепродуктов с химической точки зрения изучены недостаточно.

Целью работы явилось исследование пренилированных флавоноидов хмелепродуктов, используемых на пивоваренных заводах Сибирского региона.

В задачу исследования входило: выделение и идентификация доминирующих биологически активных пренилированных флавоноидов гранулированного хмелепродукта; изучение процесса изомеризации ксантогумола в изоксантогумол, а также количественное определение ксантогумола в различных видах хмелепродуктов.

Экспериментальная часть. Гранулированный хмелепродукт сорта Магнум (Германия) проэкстрагировали гексаном, а оставшийся хмелевой остаток — этилацетатом. Пренилфлавоноиды оказались в этилацетатной фракции, гексановый экстракт и хмелевой шрот эту группу соединений не содержали. Из этилацетатной фракции хроматографическими методами, включая аналитическую и препаративную ВЭЖХ, выделены 4 индивидуальных пренилированных халкона: ксантогумол, ксантогумол D, ксантогумол C и 1'',2''-дигидроксантогумол C. Последний обнаружен в хмелепродуктах впервые. Идентификация проведена спектральными методами (ИК, УФ, ^1H и ^{13}C и 2D ЯМР спектроскопией, а также масс-спектрометрией высокого разрешения) [9,10].

Методом УФ-спектроскопии впервые изучена динамика изомеризации ксантогумола в изоксантогумол (рис.2) в зависимости от кислотности среды и времени процесса в модельных условиях, приближенных к производственному процессу [11].

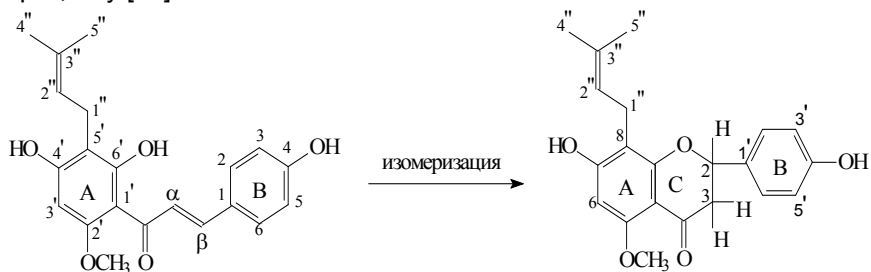


Рис.2. Схема изомеризации ксантогумола в изоксантогумол

Разработана методика количественного определения ксантогумола из хмеля методом ОФ ВЭЖХ с УФ-детектированием [12]. Идентификацию соединения осуществляли по временам удерживания по сравнению со стандартом, выделенным нами ранее, и по УФ-спектрам. С помощью данной методики впервые исследованы хмелепродукты из хмеля российской и зарубежной селекции на содержание ксантогумола и установлено влияние технологической переработки хмеля на содержание ксантогумола в хмелепродуктах (табл.).

Найдено, что в прессованных шишковых хмелепродуктах всех исследованных сортов содержание ксантогумола находится в пределах 0.06 - 0.70% в.с.в, а в молотых брикетированных – 0.25-1.09 % в.с.в.

Показано, что в молотых брикетированных хмелепродуктах из хмеля сортов *Подвязный* и *Крылатский* содержание ксантогумола значительно выше, чем в прессованных шишковых образцах.

Таблица.

Количественное содержание ксантогумола в хмелепродуктах [12]

№ пробы	Вид хмелепродуктов	Сорт хмеля	Содержание ксантогумола, (% от массы воздушносухого вещества)
1	Гранулированный (концентрат 45)	Магнум	1,26
2	Шишковый	Дикорастущий, Иркутск обл.	0,55
3	шишковый прессованный	Подвязный	0,06
4		Крылатский	0,70
5		Сумерь	0,51
6	молотый брикетированный	Подвязный	0,25
7		Крылатский	1,09
8		Сумерь	0,57

В молотом брикетированном хмелепродукте из хмеля сорта *Крылатский* отмечено наибольшее содержание ксантогумола, сравнимое с содержанием этого соединения в импортом гранулированном хмелепродукте из хмеля сорта *Магнум*.

В шишках дикорастущего хмеля, собранного в Иркутской области содержание ксантогумола составило 0.55 %, что сопоставимо с концентрацией этого соединения в хмелепродуктах из селекционного хмеля

Список литературы.

1. Б. М. Зузук, Р. В. Куцик // Провизор. – 2004. – №14. – С. 18-19.
2. C. L. Miranda, J. F. Stevens, A. Helmrich et al. // Food Chem. Toxicol. – 1999. – №37(9), P. 271-285.
3. J. F Stevens, C. L. Miranda, D. R. Buhler, M.L. DeinzerJ. Am. Soc. Brew.Chem., 56, 136–145 (1998).
4. J. F Stevens, C. L. Miranda, D. R. Buhler // Journal Am. Soc. Brew. Chem. – 1998.– № 56(4). – С. 136-145.
5. C. L. Miranda et. al. // J. Agric. FoodChem. – 2000. – №48, P. 3876.
6. J. F Stevens, C. L. Miranda, D. R. Buhler, M.L. DeinzerJ. Am. Soc. Brew.Chem., 56, 136–145 (1998).
7. C. L. Miranda, J. F. Stevens, A. Helmrich, Food Chem. Toxicol., 37 (9), 271-285,(1999).
8. C. L. Miranda, J.F. Stevens, V. Ivanov, M. McCall, B. Frei, M.L. Deinzer, D.R. Buhler, J. Agric. FoodChem,48, 3876–3884 (2000).
9. Луцкий В.И., Чеснокова А.Н., Громова А.С., Ушаков И.А. Вестник Иркутского государственного технического университета, 2007,№ 1, с. 55-60.
10. Chesnokova A.N., Lutskii V.I., Gorskov A.G. Chemistry of Natural Compounds, Vol. 45, No.5, p. 719-714.
11. Луцкий В.И., Баженов Б.Н., Молокова К.В., Финкельштейн Б.Л., Чеснокова А.Н. Химия растительного сырья, 2011, № 3, С. 75-80.
12. Луцкий В.И., Чеснокова А.Н. Мат.докл. Всероссийской мол. НПК «Биотехнология растительного сырья, качество и безопасность пищевых продуктов», Иркутск, 2009 , с. 105-107.

УДК 577.19.591.21

ДЕЙСТВИЕ МАЛЫХ ДОЗ ФЕНОЛ-СОДЕРЖАЩИХ ЭФИРНЫХ МАСЕЛ НА МЫШЕЙ

Мишарина Т.А., Фаткуллина Л.Д., Бурлакова Е.Б.

ФГБУН Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва,
Россия, тел.8-495-939-73-43, e-mail:tmish@rambler.ru

Пряно-ароматические растения занимают важное место в жизни человека. С их помощью готовят разнообразную вкусную и ароматную пищу, в течение столетий они являлись основными лекарственными и профилактическими средствами, в этом качестве их используют и в наше время. Фармакологические свойства таких растений обусловлены присутствующими в них биологически активными соединениями, в том числе летучими, смесь которых получают перегонкой с водяным паром и называют эфирными маслами (ЭМ) [1]. Эфирные масла являются

натуральной, сложной, многокомпонентной системой, биосинтезируемой растениями в период их вегетации и созревания для предохранения от инфекций, паразитов или в ответ на стрессовые ситуации [2]. ЭМ представляют собой смесь моно- и сесквитерпеновых углеводов, спиртов, альдегидов, кетонов, сложных эфиров, фталидов, а также производных фенола, сохраняющих структуру терпенов. Компоненты ЭМ – полифункциональные соединения с высокой химической реакционной способностью и поэтому они обладают различными видами биологической активности.

В многочисленных исследованиях установлено, что ЭМ обладают обезболивающим, гипотензивным, противотромбозным, иммунно-модулирующим, нейропротекторным действием. ЭМ – эффективные антиоксиданты, ряд из них имеют противоопухолевую активность, но нужно сказать, что все исследования проведены на культуре клеток и практически нет работ на животных. В основе биологической активности лежит то, что компоненты эфирных масел липофильны и легко проходят через клеточные мембраны [1,3].

Цель работы – изучение *in vivo* влияния малых доз ЭМ на продолжительность жизни, антиоксидантный и иммунный статус мышей. Проведено 4 серии экспериментов с молодыми мышами трех линий: Balb/c, гибридами F1- CBA/C57B1 и АКР со спонтанным лейкозом. Эфирные масла орегано, чабера и гвоздики имели в качестве основных компонентов фенолы – карвакрол, тимол или эвгенол. Мыши на протяжении всей жизни ежедневно пили воду, содержащую 150 нг/мл ЭМ. Периодически, в зависимости от цели эксперимента, проводили определение биохимических и физико-химических параметров в органах мышей, в двух экспериментах определили продолжительность их жизни.

Исследование показало, что изученные ЭМ проявили себя *in vivo* как эффективные биоантиоксиданты [4]. Через 6 месяцев их употребления снижалось содержание продуктов ПОЛ в мембранах эритроцитов, возрастала устойчивость мембран к спонтанному гемолизу, снижалась их микровязкость, сохранялась структурная целостность и функциональная активность. Аналогичное действие ЭМ оказывали на печень и мозг мышей и самым эффективным антиоксидантом было ЭМ гвоздики. Более того, найдено, что ЭМ увеличивали устойчивость липидов печени и мозга к окислению при хранении тканей этих органов при 3-5°C. Так, в печени мышей контрольного образца величина ТБК-АП через 7 дней автоокисления увеличилась в 3,6 раза, в опытных – только в 2 и в 1,5 раза. ЭМ повышали активность антиоксидантных ферментов

печени мышей: СОД в 1,2-1,5 раза, ГП – в 1,1 раза, глутатион-S-трансферазы в 1,6-2 раза. Такое действие ЭМ на антиоксидантную и защитную ферментативные системы обнаружено впервые.

В этом же эксперименте найдено, что ЭМ повышали иммунитет мышей и проявляли радиозащитные свойства. После 6 месячного приема ЭМ орегано и гвоздики мышей линии Balb/c облучили дозой 1 Гр и определили их способность к иммунному ответу по количеству антителообразующих клеток (АОК) в селезенке. В контрольной группе облучение привело к снижению количества АОК в 4,2 раза. Количество АОК в опытных группах мышей, подвергшихся облучению, также снизилось по сравнению с необлученными мышами, но эти различия были намного меньше, чем для контрольной группы. Максимальной эффективностью обладало ЭМ гвоздики, количество АОК в селезенке мышей этой группы было в 2 раза выше, чем в контрольной группе облученных мышей и в 1,6 раза увеличивало количество АОК ЭМ орегано. Можно предположить, что наиболее вероятным и обоснованным с точки зрения имеющихся на сегодняшний день данных, основным механизмом действия ЭМ при иммунодефицитных состояниях является наличие у них антиоксидантных и антирадикальных свойств. Таким образом, проведенное исследование показало, что прием малых доз ЭМ значительно повышало антиоксидантный и иммунный статус мышей, увеличивало их радиустойчивость.

Было изучено влияние систематического приема малых доз ЭМ орегано на протяжении всей жизни на организм и продолжительность жизни здоровых мышей линии Balb/c. В результате исследований впервые было установлено, что это масло обладало выраженным геропротекторным действием. Кривые выживаемости описывались линейными уравнениями:

$$Y_{\text{конт.}} = 0,37 X - 204,2, Y_{\text{эксп.}} = 0,32 X - 208,2, p < 0.001$$

По уравнениям рассчитаны некоторые параметры и найдено, что регулярный прием эфирного масла увеличивал: латентный период - на 11%, среднюю и максимальную продолжительность жизни мышей – на 17% и 26%, соответственно (таблица).

Аналогичные результаты были получены для ЭМ чабера и мышей линии АКР, которые заболевают спонтанным лейкозом практически в 90-100%. Участки кривых между 10% и 90% выживаемости хорошо описываются линейными уравнениями:

$$Y_{\text{конт.}} = 0,52 X - 74,4, Y_{\text{эксп.}} = 0,67 X - 150,8, p < 0.001.$$

Из этих уравнений рассчитаны параметры, которые приведены в таблице. Так, найдено, что употребление масла чабера в малых дозах в течение жизни приводило к увеличению

латентного периода, средней и максимальной продолжительности жизни. В опытных группах число мышей, заболевших лейкозом, было на 35% меньше, чем в контрольной группе, то есть эфирное масло чабера имело и геропротекторное, и противоопухолевое действие, так как снижало заболевание мышей лейкозом.

Таблица.

Влияние эфирных масел орегано и чабера на продолжительность жизни мышей линии Balb/c и АКР.

Параметр	Мыши линии Balb/c, ЭМ орегано			Мыши линии АКР, ЭМ чабера		
	Контроль	Экспери- мент	Разница	Контроль	Экспери- мент	Разница
Латентный период, сутки	552	620	+68, сут +12%	143	225	+82, сут +57%
Средняя продолжительность жизни, сутки	694	812	+118, сут +17%	239	301	+62, сут + 26 %
Максимальная продолжительность жизни, сутки	856	1082	+226, сут +26%	335	375	+ 40 сут +12%
Частота лейкоза, %	-	-	-	98	63	- 35%

Феномен увеличения продолжительности жизни экспериментальных животных может являться результатом не только направленного воздействия эфирных масел на механизмы старения, но и следствием снижения риска развития патологических процессов или более благоприятного течения заболеваний, устойчивость к которым снижается с возрастом. Действительно, мы нашли, что изученные ЭМ, сдержавшие в качестве основных компонентов фенолы – карвакрол и эвгенол, снижали интенсивность окислительных процессов в клетках мышей, модулировали и активировали антиоксидантную и защитную ферментативные системы, а также иммунную систему, снижали вредное воздействие облучения. Возможно, что такое многогранное действие ЭМ приводило к увеличению продолжительности жизни.

Для оценки влияния ЭМ орегано на опухолевые процессы мы выбрали модель перевиваемой солидной опухоли карциномы

Льюис. В течение 3 мес мыши гибридной линии СВА/С₅₇В1-F1 принимали питьевую воду, содержащую 150 нг/мл ЭМ орегано. Затем мышам контрольных и опытных групп ввели инокуляты, содержавшие 5×10^4 или 5×10^5 клеток в мл. При концентрации клеток опухоли 5×10^5 прививаемость составляла 100% в обеих группах, но скорость роста опухоли и ее максимальный размер был на 10% меньше в опытной группе. При концентрации клеток 5×10^4 степень прививаемости опухоли была в 1,8 раз, а ее максимальный размер был в 1,5 раза меньше в опытной группе по сравнению с контрольной. Также меньше была и скорость роста опухоли.

Полученные данные с высокой достоверностью доказали, что ЭМ орегано обладало противоопухолевой активностью. Даже краткосрочный, 3-месячный, прием этого масла существенно увеличивал сопротивляемость организма мышей к канцерогенам. Дозы масла, которые получали мыши, сопоставимы с тем количеством масла, которое вдыхает человек в теплое время суток за 4-5 часов прогулки в местах, где растет орегано, душица или тимьян. Возможно, способность ЭМ из этих растений защищать организм людей от вредного воздействия различных внешних факторов является основой ароматерапии и отвечает за долгую жизнь и низкую степень заболеваемости людей в некоторых регионах Земли.

Таким образом, очевидно, что пряно-ароматические растения и препараты, получаемые их переработкой, обладают различными видами биологической активности. Наличие комплекса полезных свойств отвечает за фармакологическое действие препаратов. Способность предупреждать и лечить различные заболевания растительными препаратами хорошо известна и широко используется народной и нетрадиционной медициной, в том числе фито- и ароматерапией. Однако до сих пор очень часто остаются не известными ключевые компоненты и механизмы их действия в живых организмах. Поэтому изучение биологической активности растительных препаратов, их состава и механизма действия является актуальнейшей проблемой современности. Кроме выявления новых видов лекарственных растений открываются возможности синтеза аналогов природных биологически-активных веществ, которые будут иметь высокую фармакологическую активность при минимальных побочных эффектах. Как показали исследования, многие растительные препараты могут использоваться в профилактике и даже лечении рака.

Список литературы

1. *Koroch A.R., Juliani H.R., Zygodlo J.A.* Bioactivity of essential oils and their components. // In: *Flavours and Fragrances. Chemistry, Bioprocessing and Sustainability* / Ed.R.G.Berger. New York: Springer, 2007. P.87-115.
 2. *Запрометов М.Н.* Фенольные соединения: распространение, метаболизм и функции в растениях. М.: Наука, 1993. 272 p.
 3. *Saad N.Y., Muller C.D., Lobstein A.* // *Flavour and Fragrance J.* 2013. V. 28. P. 269–279.
 4. *Бурлакова Е.Б.* Биоантиоксиданты: вчера, сегодня, завтра. // *Биологическая кинетика.* М.: Химия, 2005. С. 10–45.
-

УДК 615.322+612.017

МЕМБРАНОЗАЩИТНЫЕ СВОЙСТВА РАСТИТЕЛЬНЫХ КОМПЛЕКСОВ ПОЛИФЕНОЛОВ ИЗ РЯБИНЫ ПРИ СТРЕССЕ

Момот Т.В.

¹Школа биомедицины Дальневосточного федерального университета, Владивосток, Россия, тел. (423)2513423. e-mail: kushnerova83@mail.ru

Влияние стресса сопровождается образованием семихинонных радикалов адреналина, инициирующих свободно-радикальные реакции, а также передачей неспаренного электрона кислороду с образованием супероксидного радикала, что приводит к напряжению системы антиоксидантной защиты. При хроническом воздействии стресса наступает предел прочности системы и запускается механизм перекисного окисления липидов. В результате нарушается соотношение липидных компонентов мембран, повышается их текучесть, что обуславливает увеличение среднего объема и диаметра эритроцита, развитие макроцитоза [1]. В последнее время становится все более актуальным вопрос о фармакологической регуляции стресса. Применение препаратов, осуществляющих защиту мембранных структур от действия радикалов при стрессе, является важным этапом системы его профилактики и реабилитации после него. Одним из путей восстановления нарушенных стрессом метаболических реакций организма, является использование растительных полифенольных комплексов, обладающих высокой антирадикальной и антиоксидантной активностью, то есть способностью эффективно инактивировать высокотоксичные гидроксил-радикалы, пероксинитрит, синглетный кислород, перекиси липидов, а также свободные радикалы. Мембрана эритроцита – биологическая

модель для изучения стрессовых нарушений в структуре мембран, а перспективными антиоксидантами являются природные полифенольные соединения [2]. В плодах рябины обыкновенной присутствует комплекс полифенольных соединений флавоноидной природы: катехины, флавонолы, лейкоантоцианы, органические кислоты, сахара, аскорбиновая кислота, липиды, микроэлементы и др. [3]. Применение растительных полифенольных антиоксидантов, способных инактивировать свободные радикалы, имеет целый ряд положительных эффектов на здоровье человека.

Целью работы явилось изучение профилактического влияния экстракта, полученного из высушенного отжима рябины амурской (*Sorbus amurensis* Koehne) при моделировании у животных острого стресса.

Сухой отжим после отделения сока измельчали до размеров частиц, равных 0,1-0,5 см и экстрагировали 40% этанолом, где в процессе реперколяции из 1 кг сырья выход экстракта составлял 1 л. Готовый экстракт упаривали на водяной бане при температуре 45-55⁰С до 2/3 объема для удаления этанола и затем доводили дистиллированной водой до исходного объема. В состав экстракта входят катехины, кверцетин, флавонолы, лигнин, органические кислоты, каротиноиды, что составляло в среднем, 11% общих полифенолов. Готовый экстракт обладает низкой токсичностью (ЛД₅₀ составляет 60 мл/кг) и не оказывает вредного действия при длительных введениях в желудок и парентерально, что позволило провести экспериментальные исследования, показавшие выраженное стресс-протекторное действие экстракта. В качестве препарата сравнения использовали полифенольный комплекс из аптечного экстракта элеутерококка – широко известного стресс-протектора. Стресс вызывали путем вертикальной фиксации животных за дорзальную шейную складку на 24 часа. Препараты вводили животным внутрижелудочно через зонд 2 раза в течение эксперимента (до вертикальной фиксации и через 4 часа после). Водные растворы сухого остатка экстракта отжима рябины и экстракта элеутерококка (предварительно освобожденный от спирта аптечный экстракт путем упаривания в вакууме) вводили в количестве 100 мг общих полифенолов/кг массы тела [4]. Эксперимент проводили на белых крысах-самцах линии Вистар с массой тела 180-200 г., содержащихся в стандартных условиях вивария и на стандартном рационе питания. Экстракты рябины и элеутерококка животным вводили внутрижелудочно через зонд в дозе 0,4 мл/100 г массы 2 раза в сутки. Животные были разделены на 4 группы по 10 крыс в каждой: 1-я-контрольная (интактные животные), 2-я - стресс, 3-я - стресс

+экстракт рябины, 4-я – стресс+экстракт элеутерококка.

Вертикальная фиксация крыс за дорзальную шейную складку вызывала формирование типичной картины стресса с характерными геморрагическими деструкциями желудка и гипертрофией надпочечников, масса которых повысилась на 42% ($8,43 \pm 0,25$ мг/100 г массы против $5,94 \pm 0,55$ мг/100 г массы в контроле, $p < 0,001$). Количество изъязвлений на слизистой желудка составило $2,7 \pm 0,08$ ед/жив., в контроле 0. Изучение размерных характеристик эритроцитов показало, что при стрессе происходит увеличение среднего диаметра эритроцитов (СДЭ) на 23%. Также увеличился средний объем эритроцитов (СОЭр) до $102,4 \pm 2,43$ мкм³ (в контроле $54,42 \pm 1,93$ мкм³; $p < 0,001$), что определяет развитие макроцитоза. При этом, начало и завершение гемолиза эритроцитов происходило раньше, чем у контрольных крыс (начало при концентрации NaCl $0,50 \pm 0,02\%$, а завершение – при $0,45 \pm 0,02\%$). В контроле начало гемолиза происходило при $0,45 \pm 0,01\%$, а завершение при $0,35 \pm 0,01\%$ NaCl. Стресс сопровождался снижением количества общих фосфолипидов до $50,96 \pm 1,80\%$, что на 21% ($p < 0,001$) меньше контрольных значений ($64,82 \pm 1,41\%$). Исследование уровня холестерина в мембранах эритроцитах показало, что его содержание превышало контрольный уровень на 29% ($p < 0,01$). В связи с этим увеличился коэффициент ХС/ФЛ до $0,61 \pm 0,01$ (в контроле $0,37 \pm 0,02$; $p < 0,001$), который свидетельствует о повышении жесткости мембран и снижении их лабильности. Активация перекисного окисления липидов подтверждается тем, что величина малонового диальдегида (МДА) в эритроцитах крыс при стрессе была на 36% выше, чем таковая в контроле. Стресс сопровождался изменениями в фосфолипидном спектре мембран эритроцитов. Так, на 16%, относительно контроля, увеличивалось содержание лизофосфатидилхолина и на 19% лизофосфатидилэтанолamina. Это определяет активацию фосфолипазы A₂. Одновременно наблюдалось достоверное снижение на 10% в содержании основного структурного компонента мембран – фосфатидилхолина. Известно, что при активации свободнорадикальных процессов в мембранах, в первую очередь, происходит окисление полиненасыщенных жирных кислот фосфолипидов, что и вызывает уменьшение их содержания. Следует отметить увеличение уровня сфингомиелина на 26%, что является защитной реакцией организма на повышение проницаемости мембран. Обращает на себя внимание снижение количества фосфатидилсерина на 20% при одновременном увеличении фосфатидилинозита на 13% и фосфатидной кислоты на 8%, что также подтверждает активацию

фосфолипаз при стрессе.

При введении экстракта рябины или элеутерококка при стрессе (3 и 4 группы) нормализовался вес надпочечников и практически отсутствовали язвы слизистой желудка. Изменения исследуемых параметров в мембранах эритроцитов относительно контроля были менее выраженными, чем таковые во 2-й группе (стресс). При анализе физиологических характеристик эритроцитов крыс в 3-й группе отмечалось восстановление СДЭ и СОЭр до контрольных значений, тогда как в 4-й группе СДЭ был выше контроля на 7%, а СОЭр на 21%. То есть, введение элеутерококка не полностью восстановило размерные характеристики эритроцитов. Что касается осмотической резистентности эритроцитов, то при введении экстракта рябины границы устойчивости эритроцитов расширились: начало гемолиза происходило при $0,40 \pm 0,02\%$ NaCl, а завершение при $0,30 \pm 0,01\%$ NaCl ($p < 0,001$). При введении элеутерококка начало гемолиза происходило при концентрации NaCl $0,47 \pm 0,01\%$, а завершение при $0,37 \pm 0,01\%$, то есть устойчивость эритроцитов была пониженной. Количество общих фосфолипидов в 3-й группе восстановилось до контрольных значений, тогда как при введении элеутерококка содержание общих фосфолипидов было ниже контрольного уровня на 7% ($p < 0,05$). Аналогичная картина прослеживалась и в изменении уровня холестерина: при введении экстракта рябины его величина была на уровне контроля, а при введении элеутерококка на 17% выше. В результате коэффициент ХС/ФЛ в 3-й группе был $0,39 \pm 0,02$, а в 4-й – $0,46 \pm 0,02$. В фосфолипидном спектре мембран эритроцитов 3-й группы отсутствовали различия с контролем, тогда как в 4-й группе было выявлено достоверно сниженное содержание фосфатидилхолина (на 6%) и повышенное количество сфингомиелина (на 12%).

На основании выше изложенного следует, что влияние стресса вызывает разбалансировку фосфолипидного состава мембран эритроцитов, что сопровождается изменением их размерных характеристик и, как следствие, функциональных свойств. Введение растительных экстрактов из рябины и элеутерококка до- и в период стресс-воздействия способствовало восстановлению размерных характеристик эритроцитов и соотношения фосфолипидных фракций. Это обусловлено тем, что растительные полифенолы, входящие в состав экстрактов ингибируют фосфолипазы [5]. Молекулы полифенолов взаимодействуют с поверхностью мембран, и этим увеличивают прочность поверхностного слоя клеток, что препятствует лизису [6]. Однако при сравнении эффектов действия

экстракта из рябины и элеутерококка, наиболее близкими к контрольным значениям величины были в 3-й группе, тогда как в 4-й группе имелись достоверные отличия от контроля в размерах эритроцитов, в соотношении фосфолипидных фракций. В то же время, оба экстракта обладают мембранозащитными свойствами при действии стрессовых факторов. Применение препаратов к ежедневной диете позволит решить проблему профилактики стрессорных заболеваний.

Работа поддержана Министерством образования и науки, проект № 1326.

Список литературы:

1. Кушнерова Н.Ф., Рахманин Ю.А., Кушнерова Т.В., Другова Е.С. Профилактика нарушений физиологических и биохимических характеристик эритроцитов при интоксикации сероуглеродом // Гигиена и санитария. 2010. № 4. С. 17-21.
2. Момот Т.В., Кушнерова Н.Ф. Оси соцветий винограда Амурского - перспективное сырье для получения стресс-протекторных препаратов // Фундаментальные исследования. 2014. № 11. С. 832-835.
3. Тихонов В.Н., Калинкина Г.И., Сальникова Е.Н. Лекарственные растения, сырье и фитопрепараты / Под редакцией проф. Дмитрука С.Е. / Учебное пособие. Часть I. Томск, 2004. 116 с.
4. Венгеровский А.И., Маркова И.В., Саратиков А.С. Доклиническое изучение гепатозащитных средств // Ведомости фарм. комитета. - 1999. - № 2. - С. 9-12.
5. Kropacova, K. Misurova E, Nakova H. Protective and therapeutic effect of silymarin on the development of latent liver damage // Radiats. Biol. Radioecol. - 1998. - Vol. 38, N 3. - P. 411-415.
6. Афанасьева Ю.Г., Фахретдинова Е.Р., Спирихин Л.В., Насибуллин Р.С. О механизме взаимодействия некоторых флавоноидов с фосфатидилхолином клеточных мембран //Хим.-фарм. журн. - 2007. - Т. 41, № 7. - С. 12-14.

УДК 547.972

ФИТОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ БАВ КАЗАХСТАНСКИХ РАСТЕНИЙ РОДА *RUMEX* L.

Музычкина Р.А., Корулькин Д.Ю.

Казахский национальный университет имени аль-Фараби, Алматы,
Казахстан, тел. 727-2923731, e-mail: rmuz@mail.ru

Объектом исследования явились корни щавелей пирамидального, Маршалловского и памирского, заготовленных в

Алматинской (Обр.1), Южно-Казахстанской (Обр.2) и Семипалатинской (Обр.3) областях в 4 фазы вегетации.

Таблица 1.
Содержание основных групп БАВ щавелей в фазу бутонизации

	Ант	Фл	Дв	Пол	Ак	Ок
<i>Rumex thyrsiflorus</i> Fingerh.						
Обр. 1	3.17	1.94	16.50	4.01	3.21	6.87
Обр. 2	2.67	2.56	17.72	2.50	2.99	8.44
Обр. 3	2.85	2.17	13.88	3.69	3.95	7.79
<i>Rumex marschallianus</i> Reichenb.						
Обр. 1	2.99	3.22	20.30	2.79	5.93	9.15
Обр. 2	2.62	2.89	22.01	2.10	5.61	9.82
Обр. 3	2.71	1.92	17.99	2.32	5.37	9.45
<i>Rumex pamiricus</i> Rech. f.						
Обр. 1	1.45	2.44	14.80	3.63	4.13	7.86
Обр. 2	2.18	2.10	17.77	2.57	4.74	8.98
Обр. 3	2.06	2.88	15.65	3.90	3.95	8.33

Таблица 2.
Содержание основных групп БАВ щавелей в фазу цветения

	Ант	Фл	Дв	Пол	Ак	Ок
<i>Rumex thyrsiflorus</i> Fingerh.						
Обр. 1	3.26	1.90	17.20	3.79	3.27	6.31
Обр. 2	2.75	2.42	17.99	2.41	3.03	7.92
Обр. 3	2.98	2.02	14.23	3.38	3.78	6.98
<i>Rumex marschallianus</i> Reichenb.						
Обр. 1	3.03	3.11	21.60	2.59	6.04	7.33
Обр. 2	2.72	2.67	22.72	1.97	5.70	8.19
Обр. 3	2.88	1.72	18.56	2.14	5.31	8.77
<i>Rumex pamiricus</i> Rech. f.						
Обр. 1	1.79	2.28	15.91	3.44	4.27	7.01
Обр. 2	2.44	1.87	18.61	2.21	4.68	7.85
Обр. 3	2.29	2.55	16.39	3.53	4.01	7.66

Разделение групп БАВ проводили экстракцией разнополярными растворителями. Водно-органические извлечения концентрировали до небольшого объема и хроматографировали или фракционировали, в зависимости от состава извлечений. Содержание основных групп БАВ определяли по фармакопейным методикам. Сводные данные по количественному определению антрахинонов (Ант), флавоноидов (Фл), дубильных веществ гидролизуемого типа (Дв), полисахаридов (Пол), аминокислот (Ак) и оксикоричных кислот (Ок) трех видов щавелей сведены в таблицы

1-4.

Таблица 3.

Содержание основных групп БАВ щавелей в фазу плодоношения

	Ант	Фл	Дв	Пол	Ак	Ок
<i>Rumex thyrsiflorus</i> Fingerh.						
Обр. 1	3.33	1.83	18.30	3.63	3.25	6.14
Обр. 2	2.87	2.45	18.52	2.25	3.12	7.65
Обр. 3	3.20	1.90	15.41	3.22	3.69	6.80
<i>Rumex marschallianus</i> Reichenb.						
Обр. 1	3.17	2.85	22.93	2.40	6.09	5.61
Обр. 2	2.90	2.44	23.30	1.87	5.73	6.66
Обр. 3	3.01	1.83	19.01	2.00	5.25	7.05
<i>Rumex pamiricus</i> Rech. f.						
Обр. 1	1.90	2.03	16.19	3.29	4.25	5.38
Обр. 2	2.52	2.07	18.95	2.09	4.60	5.72
Обр. 3	2.61	2.36	16.87	3.46	4.04	5.39

Таблица 4.

Содержание основных групп БАВ щавелей в фазу покоя

	Ант	Фл	Дв	Пол	Ак	Ок
<i>Rumex thyrsiflorus</i> Fingerh.						
Обр. 1	3.40	1.96	18.48	3.70	3.38	5.96
Обр. 2	2.96	2.57	18.76	2.31	3.26	6.71
Обр. 3	3.45	2.19	17.00	3.39	3.71	6.61
<i>Rumex marschallianus</i> Reichenb.						
Обр. 1	3.30	2.92	23.00	2.54	5.99	5.87
Обр. 2	3.20	2.50	23.50	1.96	6.00	6.29
Обр. 3	3.08	1.95	20.14	2.36	5.31	6.95
<i>Rumex pamiricus</i> Rech. f.						
Обр. 1	1.98	2.15	16.40	3.19	4.34	5.19
Обр. 2	2.80	2.31	19.17	2.31	4.74	6.03
Обр. 3	2.95	2.40	17.17	3.34	4.19	6.00

Таким образом, в результате нами была выявлена динамика накопления основных, практически ценных групп БАВ казахстанских видов щавелей по фазам вегетации и по трем областям их потенциальной заготовки для практического использования.

ИССЛЕДОВАНИЕ ФЕНОЛЬНОГО СОСТАВА СУХОГО ЭКСТРАКТА ИЗ ЛИСТЬЕВ ШАЛФЕЯ ЛЕКАРСТВЕННОГО ПОЛУЧЕННОГО ПУТЕМ КОМПЛЕКСНОЙ ПЕРЕРАБОТКИ

Мыга М.М., Вовк Г.В., Кошевой О.Н.

Национальный фармацевтический университет, Харьков, Украина,
+38(068)3957233, chemis23@rambler.ru

Нерациональное использование лекарственного растительного сырья фармацевтической промышленностью привлекает все большее внимание. Отходами производства становятся сотни тонн шрота, которые содержат значительное количество биологически активных веществ и могут использоваться для создания новых лекарственных средств. Ввиду ограниченности природных ресурсов, задачей современной фармацевтической отрасли является разработка методов комплексной переработки, позволяющих максимально использовать возможности лекарственного растительного сырья. Отечественной фармацевтической промышленностью изготавливаются настойка из листьев шалфея лекарственного. Ежегодно после ее производства в Украине остается более 50 тонн шрота листьев шалфея, которые содержат значительное количество биологически активных веществ, в частности фенольной природы [1, 2].

Поэтому целью наших исследований было изучение фенольного состава сухого экстракта, полученного из отходов производства настойки листьев шалфея лекарственного.

Для получения сухого экстракта 1,0 кг шрота листьев шалфея после получения настойки помещали в колбу со шлифом, добавляли 3,0 л воды очищенной, нагревали на кипящей водной бане в течение 1 часа и сутки настаивали. Экстракцию проводили трижды. Полученные извлечения объединяли, упаривали при температуре 85 - 95 °С под вакуумом в вакуум-циркуляционном аппарате при разрежении 680-700 мм рт. ст. до объема водного остатка 0,7 л. Кубовый остаток – густая темно-коричневая жидкость, которую оставляли для отстаивания на 4-5 суток в холодильнике. Полученный водный концентрат сушили в распылительной сушке с температурой теплоносителя 160 °С и на выходе - 80 - 90 °С до сухого экстракта.

Для установления качественного состава использовали общепринятые методы исследований - качественные реакции, бумажную (БХ), тонкослойную хроматографию (ТСХ) [3, 4, 5]. Фенолкарбоновые кислоты определяли качественными реакциями. Это позволило установить наличие в экстракте производных

галловой кислоты. Гидроксикоричные кислоты изучали методом двухмерной бумажной хроматографии с достоверными образцами производных коричной кислоты. Были идентифицированы кофейная, *п*-кумаровая, феруловая и хлорогеновая кислоты. Наличие флавоноидов определяли с помощью общеизвестных качественных реакций и методами БХ и ТСХ. Установлено, что в экстракте содержится не менее 3 соединений флавоноидной природы.

Определение качественного состава и количественного содержания фенольных соединений в сухом экстракте проводили также методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с помощью хроматографа Agilent Technologies (модель 1100). В экстракте содержатся преимущественно производные лютеолина (лютеолин, лютеолин-7-О-глюкозид и два С-глюкозида лютеолина). Кроме того, в экстрактах в большом количестве обнаружены две гидроксикоричные кислоты: кофейная и розмариновая.

Количественное определение суммы гидроксикоричных кислот, флавоноидов и фенольных соединений проводили спектрофотометрическим методом. Содержание суммы гидроксикоричных кислот составляет $23,82 \pm 0,03\%$ в перерасчете на хлорогеновую кислоту при длине волны 327 нм: содержание флавоноидов – $4,63 \pm 0,04\%$ в перерасчете на рутин при длине волны 417 нм после образования комплекса из алюминия хлоридом; содержание суммы фенольных соединений в перерасчете на галловую кислоту при длине волны 270 нм – $39,53 \pm 0,03\%$ [3, 4, 5].

Таким образом, был изучен фенольный состав сухого экстракта, полученного из отходов производства настойки листьев шалфея лекарственного, что создает предпосылки создания нового лекарственного средства путем комплексной переработки данного сырья.

Список литературы:

1. Кошовий О. М. Створення нового лікарського засобу на основі комплексної переробки листя евкаліпту прутовидного : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. фарм. наук : спец. 15.00.02 "фармацевтична хімія та фармакогнозія" / Кошовий Олег Миколайович – Київ, 2007. – 23 с.
2. Перспективи створення нового антибактеріального засобу з листя шавлії лікарської / О. М. Кошовий, Є. О. Передерій, О. П. Гудзенко, А. М. Ковальова, А. М. Комісаренко // Український журнал клінічної та лабораторної медицини. – 2010. – № 1. – С. 33–35.

-
3. Дослідження фенольних сполук листя евкаліпту / О. М. Кошовий, А. М. Комісаренко, А. М. Ковальова [та ін.] // Фармаком. – 2005. – № 2/3. – С. 151 – 161.
 4. Кореман Я.И. Анализ экстрактов фенолов методом тонкослойной хроматографии / Кореман Я.И., Крюков А.И. // Журнал аналитической химии. – 1990. – Т. 45, Вып. 6. – С. 1140-1144.
 5. Фенольний склад листя деяких видів шавлії України / О. М. Кошовий, Г. П. Зайцев, А. М. Ковальова, А. М. Комісаренко // Збірник наукових праць співробітників НМАПО ім. П. Л. Шупика. – 2012. – Вип. 21, кн. 4. – С. 305–310.
-

УДК 547. 576 + 547.786 + 547.788

СИНТЕЗ ПРОСТЫХ ЭФИРОВ РАСТИТЕЛЬНЫХ АЛЬДЕГИДОФЕНОЛОВ И ИХ АНАЛОГОВ НА ОСНОВЕ 5- АРИЛИЗОКСАЗОЛИ-3-ИЛ(4,5-ДИХЛОРИЗОТИАЗОЛ-3- ИЛ)ХЛОРМЕТАНОВ

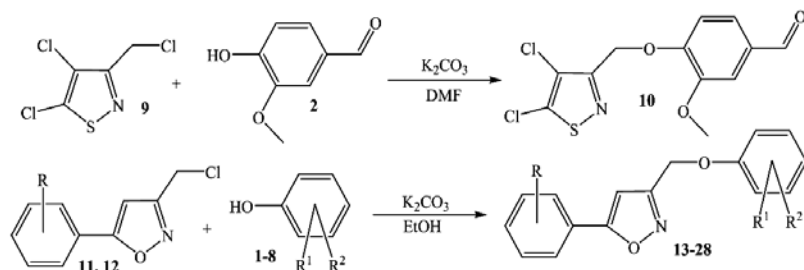
Петкевич С.К., Клецков А.В., Дикусар Е.А., Поткин В.И.

Институт физико-органической химии НАН Беларуси, Беларусь, тел. 8017-2841600, petkevich@ifoch.bas-net.by

Фенольные соединения растительного происхождения относятся к одному из наиболее распространенных представителей вторичных растительных метаболитов [1-10]. Благодаря их доступности, относительно низкой стоимости и возможности получения из природного возобновляемого сырья, эти соединения представляют собой удобные строительные блоки (*building blocks*) в синтезе биологически активных веществ [11-14].

В свою очередь, в ряду производных изоксазола и изотиазола найдено большое число соединений, обладающих высокой биологической активностью [15-19]. Изоксазольный гетероцикл входит в состав молекул различных фармацевтических субстанций, в частности, сульфаметоксазола, сульфизоксазола (антибактериальные средства), эдонентана (препарат для лечения гипертонии и сердечно-сосудистых заболеваний), изокарбоксазида (антидепрессант), лефлюномида (средство для лечения ревматоидных артритов), валдекоксиба (противовоспалительное средство) [20-23]. Некоторые производные изоксазола обладают противоопухолевым действием [24-26]. В ряду изотиазолов также выявлены соединения с высокой цитостатической активностью [27-28].

В настоящей работе представлен синтез простых эфиров растительных альдегидофенолов (салицилового альдегида **1**, ванилина **2** и ванилалля **3**), эвгенола **4**, их аналогов (*изо*-ванилина **5**, 4-гидроксibenзальдегида **6**) и гомологов (фенола **7**, 4-*мет*-октилфенола **8**) на основе 5-арилизоксазол-3-ил(4,5-дихлоризотиазол-3-ил)хлорметанов. Предложенный синтетический подход позволяет получить в одну стадию и с хорошими выходами реакционноспособные простые эфиры природных альдегидофенолов и их аналогов, содержащие фармакофорные гетероциклические фрагменты.



R = H (**11,13-20**), CH₃ (**12,21-28**)

R¹ = 2-CHO, R² = H (**1,13,21**); R¹ = 4-CHO, R² = 3-OCH₃ (**2,14,22**), 3-OC₂H₅ (**3,15,23**), H (**6,18,26**); R¹ = 3-CHO, R² = 4-OCH₃ (**5,17,25**); R¹ = 2-OCH₃, R² = 4-CH₂-CH=CH₂ (**4,16,24**); R¹ = H, R² = H (**7,19,27**), C(CH₃)₂-CH₂-C(CH₃)₃ (**8,20,28**)

Простые эфиры **10**, **13-28** образовывались с выходами 72-85%.

4-((4,5-дихлоризотиазол-3-ил)метокси)-3-метоксибензальдегид **10.** К раствору 2.02 г (10 ммоль) 4,5-дихлор-3-(хлорметил)изотиазола **9** в 50 мл диметилформамида прибавляли 3.04 г (20 ммоль) ванилина и 2.76 г (20 ммоль) карбоната калия и кипятили 24 ч. Реакционную смесь выливали в 100 мл 10%-ного раствора хлорида натрия. Осадок отфильтровывали, промывали водой 20 x 50 мл и сушили на воздухе при 40°C. Продукт очищали флэш-хроматографией, элюент - хлористый метилен.

Простые эфиры **13-28. Общая методика.** К раствору 10 ммоль 3-хлорметил-5-арилизоксазола **11** или **12** в 50 мл этанола прибавляли 30 ммоль соответствующего фенола и 4.15 г (30 ммоль) карбоната калия и кипятили 36 ч. Реакционную смесь выливали в 100 мл 10%-ного раствора хлорида натрия. Осадок отфильтровывали, промывали водой 20 x 50 мл и сушили на воздухе при 40°C. Продукт очищали флэш-хроматографией, элюент - хлористый метилен.

Список литературы

1. Фенольные соединения: фундаментальные и прикладные аспекты. / Отв. ред. Н.В. Загоскина, Е.Б. Бурлакова. М.: Научный мир, 2010. – 400 с.
2. Кабиев О.Н., Балмуханов С.Б. Природные фенолы – перспективный класс противоопухолевых и радиопотенцирующих соединений. М.: Медицина, 1975. – 190 с.
3. Запрометов М.Н. Основы биохимии фенольных соединений. М.: Высшая школа, 1974. – 214 с.
4. Запрометов М.Н. Фенольные соединения: Распространение, метаболизм и функции в растениях. М.: Наука, 1993. – 272 с.
5. Рогинский В.А. Фенольные антиоксиданты: реакционная способность и эффективность. М.: Наука, 1988. – 247 с.
6. Барабой В.А. Биологическое действие растительных фенольных соединений. Киев: Наукова Думка, 1976. – 260 с.
7. Барабой В.А. Растительные фенолы и здоровье человека. М.: Наука, 1984. – 155 с.
8. Барабой В.А. Биологическое действие растительных фенольных соединений. Киев, 1986. – 210 с.
9. Блажей А., Шутый Л. Фенольные соединения растительного происхождения. М.: Мир, 1977. – 240 с.
10. Волинец А.П. Фенольные соединения в жизнедеятельности растений. Минск: Беларуская Наука, 2013. – 283 с.
11. Дикусар Е.А. Простые и сложные эфиры в линкерных технологиях. Современные аспекты молекулярного дизайна – от душистых веществ до биологически активных соединений. Saarbrücken, Deutschland: LAP LAMBERT Academic Publishing / OmniScriptum GmbH & Co. KG, 2014. – 582 с.
12. Дикусар Е.А., Петкевич С.К., Рудаков Д.А., Поткин В.И., Козлов Н.Г., Стёпин С.Г. // Вестник фармации. 2014. № 4 (66). С. 100-108.
13. Дикусар Е.А., Поткин В.И., Козлов Н.Г., Петкевич С.К., Рудаков Д.А. // ХПС. 2014. № 3. С. 61-84.
14. Петкевич С.К., Дикусар Е.А., Поткин В.И., Михей И.В. // ЖОрХ. 2015. Т. 51. Вып. 1. С. 40-47.
15. Clerici F., Gelmi M.L., Pellegrino S., Pocar D. Bioactive Heterocycles III. Berlin–Heidelberg: Springer, 2007, 9, 179.
16. Smith R.A., Barbosa J., Blum C.L., Bobko M.A., Caringal Y.V., Dally R., Johnson J.S., Katz M.E., Kennure N., Kingery-Wood J., Lee W., Lowinger T.B., Lyons J., Marsh V., Rogers D.H., Swartz S., Walling T., Wild H. Bioorg. Med. Chem. Lett. 2001. 11. 2775.
17. Luyten, I., Winter, H., Busson, R. Synthesis of 2' - Deoxy - 5 - (isothiazol - 5 - yl) uridine and Its Interaction with the HSV - 1 Thymidine Kinase / I Luyten., H. Winter, R. Busson // Helvetica chimica. 1996. № 79. С. 1462-1474
18. Инсектицидная композиция: пат.11556 Респ. Беларусь, МПК А 01N 53/00, А 01N 43/72, А 01P 7/04/ В.И. Поткин, А.И. Быховец,

-
- Р.В.Кабердин, В.М. Гончарук, Н.И. Нечай, Р.М. Золотарь (Беларусь); заявитель ГНУ ИФОХ НАН Беларуси, ГНУ ИБОХ НАН Беларуси// Оpubл. 28.02.2009. Офиц.бюл. №1(66). С.46.
19. Бинарная инсектицидная композиция: пат. 11593 Респ. Беларусь, МПК А 01N 53/00, А 01N 43/72, А 01P 7/04 / В.И. Поткин, А.И. Быховец, Н.И. Нечай, Р.М. Золотарь, С.К. Петкевич, В.М. Гончарук (Беларусь); заявитель ГНУ ИФОХ НАН Беларуси, ГНУ ИБОХ НАН Беларуси// Оpubл. 28.02.2009. Офиц.бюл. №4(66). С.46.
20. Murugesan N., Gu Z., Spergel S., Young M., Chen P., Mathur A., Leith L., Hermsmeier M., Liu E.C., Zhang R., Bird E., Waldron T., Marino A., Koplowitz B., Humphreys W.G., Chong S., Morrison R.A., Webb M.L., Moreland S., Trippodo N., Barrish J.C. J. Med. Chem. 2003. 46. 125.
21. Gardner T.S., Wenis E., Lee J. J. Med. Chem. 1960. 2. 133.
22. Pinto P., Dougados M. Acta reumatologica portugues. 2006. 31. 215.
23. Talley J.J., Brown D.L., Carter J.S., Graneto M.J., Koboldt C.M., Masferrer J.L., Perkins W.E., Rogers R.S. J. Med. Chem. 2000. 3. 775.
24. Shailaja M., Manjula A., Vittal Rao B. Indian J. Chem. 2011. 50B. 214.
25. Rzeski W., Ikonomidou Ch., Turski L. Biochem. Pharm. 2002. 64. 1195.
26. Kamal A., Bharathi E.V., Reddy J.S., Ramaiah M.J., Dastagiri D., Reddy K., Viswanath A., Reddy, T.L., Shaik T.B., Pushpavalli S.N.C.V.L., Bhadra M.P. Eur. J. Med. Chem. 2011. 46. 691.
27. Clerici F., Gelmi M.L., Pellegrino S., Pocar D. Bioactive Heterocycles III. Berlin–Heidelberg: Springer, 2007. 9. 179.
28. Beebe J.S., Jani, J.P., Knauth E., Goodwin P., Higdon C., Rossi A.M., Emerson E., Finkelstein M., Floyd E., Harriman S., Atherton J., Hillerman S., Soderstrom C., Kou K., Gant T., Noe M.C., Foster B., Rastinejad F., Marx M.A., Schaeffer T., Whalen P.M., Roberts W.G. Cancer Res. 2003. 63. 7301.
-

СОДЕРЖАНИЕ РОЗМАРИНОВОЙ КИСЛОТЫ В ЛИСТЬЯХ *ONONIS ARVENSIS* L. (*FABACEAE*)

Петрова Н.В., Медведева Н.А., Буданцев А.Л., Шаварда А.Л.

Ботанический институт им. В. Л. Комарова РАН, Санкт-Петербург, Россия.

Тел. (812) 346-47-08 NPetrova@binran.ru

Розмариновая кислота, обладающая широким спектром биологической активности, широко распространена в растительном мире, в том числе среди видов семейств *Lamiaceae* (яснотковые), *Boraginaceae* (бурачниковые) и *Umbelliferaeae* (зонтичные) (Petersen et al., 2009; Буданцев, Лесиовская, 2012). В тоже время, у видов сем. *Fabaceae* (бобовые) это соединение ранее не указывалось.

Объектом данного исследования послужили листья

стальника полевого (*Ononis arvensis* L., *Fabaceae*), настойка и отвар корней которого разрешены к использованию в качестве кровоостанавливающего средства при геморроидальных кровотечениях (Государственная фармакопея..., 1987, 1990).

Листья *O. arvensis* были собраны в июле 2013 года у нецветущих экземпляров, выращиваемых на научно-опытной станции БИН РАН «Отрадное» (Ленинградская обл., Приозерский р-н)). Листья фиксировались в метаноле в течение 2 недель, затем удаляли метанол в вакууме при комнатной температуре. Сухой остаток подвергали силилированию. Образцы исследовали на хромато-масс-спектрометре фирмы Agilent Maestro 7820 с масс-селективным детектором Agilent 5975 D. Хроматографическое разделение проводили на капиллярной колонке AgilentHP-5MS, длиной 30 м, внутренним диаметром 0.25 мм и толщиной пленки неподвижной фазы 0.25 мкм в режиме программирования температуры. Программа: 70°–6°/мин–325° (50 мин), газ-носитель – гелий. Анализ проводился в режиме постоянства скорости газового потока через колонку (1 мл/мин). Температура испарителя 300°C, деление потока при вводе проб 1:20. Сканирование масс-спектров от 50 до 1050 а.е.м со скоростью 2 скана/сек. Хроматограммы образцов регистрировали по полному ионному току. Идентификацию розмариновой кислоты в образцах проводили на основании сравнения полученного масс-спектра с данными МС-библиотеки NIST 2011.

В образцах *O. arvensis* содержание розмариновой кислоты оставляет 6000 ppm. Это количество сравнимо с ее содержанием в таких растениях, как *Nepeta cataria* L. (2000 ppm), *Hyssopus officinalis* L. (5000 ppm) и *Origanum vulgare* L. (от 4000 до 16000 ppm)(www. ars-grin.gov).

Список литературы

1. Petersen M., Abdullah Y., Benner J., Eberle D., Gehlen K., Hücherig S., Janiak V., Kim K. H., Sander M., Weitzel C., Wolters S. Evolution of rosmarinic acid biosynthesis. *Phytochemistry*. 2009. Vol. 70, N 15–16. P. 1663–1679.
2. Буданцев А. Л., Лесиовская Е. Е. Розмариновая кислота: источники и биологическая активность // *Раст. ресурсы*. 2012. Т. 48, вып. 3. С. 453–468.
3. Государственная фармакопея СССР. XI издание. Вып. 1. М., 1987. Вып. 2. М., 1990.

ВЛИЯНИЕ ГАЛЛОВОЙ КИСЛОТЫ НА ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ЛИПОПОЛИСАХАРИДОВ РИЗОБАКТЕРИЙ *AZOSPIRILLUM BRASILENSE* SP7

Петрунина А.А., Федоненко Ю.П., Бурыгин Г.Л.¹, Коннова С.А.¹

ФГБОУ ВПО Саратовский государственный университет им. Н.Г.

Чернышевского

¹ФГБУН Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов
РАН Саратов, Россия, тел. +78452503858, petr.alex.ya@yandex.ru

Среди микроорганизмов, обладающих способностью стимулировать рост и развитие растений, одним из наиболее исследованных таксонов являются грамотрицательные бактерии рода *Azospirillum* [1]. Они способны продуцировать фитогормоны, солюбилизировать фосфаты и ряд других минеральных солей, а также фиксировать молекулярный азот [2, 3]. Выявлено, что капсульные полисахариды и липополисахариды (ЛПС) азоспирилл вносят существенный вклад в формирование эффективных ассоциаций с растением-хозяином [4]. В свою очередь, растение может оказывать направленное влияние на окружающую его микробиоту, продуцируя различные химические соединения. Среди них известна важная роль разнообразных фенольных компонентов, к которым относятся фенольные кислоты, в частности широко распространённая в растениях галловая (3,4,5-триоксибензойная) кислота [5, 6]. Однако данные о влиянии веществ фенольной природы на состав гликополимеров поверхности ризосферных микроорганизмов немногочисленны и разрозненны. Накопление знаний об изменениях, происходящих в структуре гликополимеров поверхности бактерий под влиянием фенольных соединений растений, необходимо для понимания механизма формирования ассоциации.

Целью исследования было выявление изменений физико-химических свойств ЛПС типового штамма бактерий *Azospirillum brasilense* Sp7 под влиянием галловой кислоты. Выбор объекта исследования связан с высоким уровнем изученности данной бактериальной культуры и наличием информации о структуре О-специфических полисахаридов (ОПС) ее ЛПС [7].

Выбор фенольного соединения связан с его широкой распространенностью в растениях [8]. Кроме того, галловая кислота входит в состав танинов, а конденсированные танины представляют собой производные флавоноидов, использовавшихся в подобных исследованиях [9].

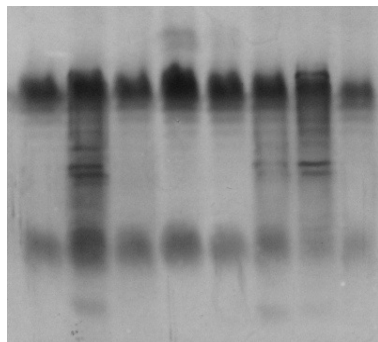
Бактерии *A. brasilense* Sp7 были предоставлены коллекцией

микроорганизмов ИБФРМ РАН (г. Саратов). Культивирование микроорганизмов проводили в жидкой синтетической среде с малатом натрия (МС) в присутствии галловой кислоты в диапазоне концентраций от 0,3 до 20 мМ в течение 24 ч. По имеющимся литературным данным было выяснено, что концентрация фенольных соединений в почве находится примерно в этом диапазоне [10]. Растворы галловой кислоты в диметилформамиде (ДМФА) вносили в среду после стерилизации и до внесения инокулята. Измерение ориентационных спектров клеток проводили на электрооптическом анализаторе ELUS в соответствии с методикой [11]. Изменения в антигенном составе ЛПС выявляли методом твердофазного иммуноферментного анализа (ТИФА) в полистироловых 96-луночных планшетах. Использовали кроличьи антитела к интактным гомологичным ЛПС и коммерческие козлиные антикроличьи антитела, конъюгированные с пероксидазой хрена («Sigma», США). В качестве субстратного реагента использовали перекись водорода с о-фенилендиамином. Оптическое поглощение продуктов реакции пероксидазы с субстратом в исследуемых пробах определяли на иммуноферментном анализаторе Multiscan ascent при $\lambda = 492$ нм. Электрофорез в препаратах ЛПС, полученных ЭДТА-экстракцией [12], в полиакриламидном геле (ПААГ) с додецилсульфатом натрия выполняли в соответствии с методикой [13]. Визуализация результата электрофореза проводилась красителем на основе азотнокислого серебра с предварительным периодатным окислением [14].

Исходя из того, что реализация воздействия выделяемых растениями фенольных веществ на бактериальные клетки может выражаться в изменении состава полисахаридов, локализованных на их поверхности [15], был проведён анализ электрофоретических профилей ЛПС азоспирилл, выращенных в присутствии различных концентраций галловой кислоты (1 – 600; 2 – 300; 3 – 150; 4 – 75; 5 – 37,5; 6 – 18,75; 7 – 9,375 мкг/мл). Выращивание бактериальных клеток в присутствии галловой кислоты проводили до окончания экспоненциальной фазы роста. Экстракты ЛПС ЭДТА содержащим буфером для освобождения от белковых примесей обрабатывали протеиназой K («Sigma», США).

Результат электрофоретического разделения в ПААГ показал, что некоторые из исследуемых концентраций галловой кислоты оказали влияние на гетерогенность молекул ЛПС (рис. 1). Следует обратить внимание на S-форму молекул ЛПС у образцов, выращенных в присутствии 9,375; 150 и 300 мкг/мл галловой кислоты, где наблюдалось появление новых полос в верхней части геля. Сравнительный анализ белковых профилей ЛПС той же

бактериальной культуры показал аналогичные результаты. Наблюдалось накопление по сравнению с контролем низкомолекулярных фракций ЛПС в образцах с тем же содержанием галловой кислоты.



К 7 6 5 4 3 2 1

Рис. 1 Электрофорез в ПААГ препаратов ЛПС внешних мембран бактерий *A. brasilense* Sp7 выращенных в присутствии галловой кислоты (концентрации приведены в тексте).

Учитывая наличие изменений в макромолекулярной организации ЛПС и то, что в полисахаридной части его локализованы О-антигенные детерминанты, был выполнен анализ сродства по отношению к гомологичным антителам ЛПС клеток, которые подвергались воздействию галловой кислоты. ТИФА выполняли при всех концентрациях галловой кислоты и, несмотря на изменения макромолекулярной организации, показанные методом электрофореза, влияние галловой кислоты на антигенные свойства ЛПС было незначительным.

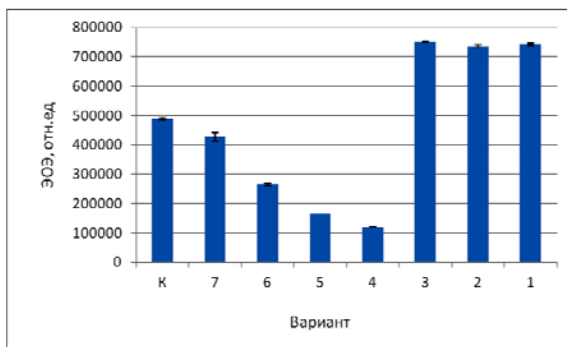


Рис. 2. Зависимость показателя ЗОЭ при частоте 1000 кГц бактерий *A. brasilense* Sp7, культивируемых на МС (К) и при добавлении различных концентраций галловой кислоты (1-7 – концентрации приведены в тексте).

Поскольку ЛПС является одним из преобладающих компонентов поверхности клеток грамотрицательных бактерий, мы проанализировали электрооптические свойства (ЭОС) клеточных суспензий бактерий, позволяющие оценить изменения свойств поверхности бактериальных клеток при выращивании в присутствии исследуемых концентраций галловой кислоты. Результаты анализа показали, что добавление в культуральную жидкость галловой кислоты приводило к изменению ЭОС бактериальных клеток, что свидетельствует об изменении физико-химических характеристик поверхности бактерий (рис. 2). Однако характер выявляемых изменений зависел от используемой концентрации галловой кислоты. В диапазоне 600 – 150 мкг/мл галловая кислота приводила к увеличению величины электрооптической экстинкции (ЭОЭ), по сравнению с контрольным вариантом. В диапазоне концентраций галловой кислоты 75,5 – 9,375 мкг/мл наблюдалось снижение значений ЭОЭ относительно контроля. Эти изменения демонстрировали концентрационную зависимость, т.е. при уменьшении концентрации феноловой кислоты в культуральной жидкости уменьшались различия с контрольными значениями ЭОЭ бактериальной суспензии *A. brasilense* Sp7.

Таким образом, в результате проведенной исследовательской работы было установлено, что присутствие галловой кислоты в культуральной жидкости бактерий *A. brasilense* Sp7 вызывает изменения в макромолекулярной организации ЛПС, коррелирующие с незначительными изменениями их антигенного состава, а также к изменению физико-химических свойств поверхности бактериальных клеток.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант 14-04-01658).

Список литературы

1. Молекулярные основы взаимоотношений ассоциативных микроорганизмов с растениями / [отв. ред. В.В. Игнатов]; Ин-т биохимии и физиологии растений и микроорганизмов. – М.: Наука, 2005. 262 с.
2. Okon Y., Vanderleyden J. *ASM News. Rev.* (1997) 63, 366-370.
3. Коннова С.А., Скворцов И.М., Макаров О.Е., Игнатов В.В. *Микробиология.* (1994) 63, 1020-1030.
4. Steenhoudt O., Vanderleyden J. *FEMS Microbiol.* (2000) 24, 487-506.
5. Das, S.; Rosazza, J.P.N. *J. Nat. Prod.* (2006) 69, 499-508.
6. Martins S., Mussato S.I., Martinez-Avila G., Montanez-Saenz J., Aguilar C.N., Teixeira J.A. *Biotechnol. Adv.* (2011) 29, 365-373.
7. Sigida E.N., Fedonenko Y.P., Shashkov A.S., Zdorovenko E.L., Konnova S.A., Ignatov V.V., Knirel Y.A. *Carbohydr. Res.* (2013) 380, 76-80.

-
8. Еремина А.В., Решетняк В.Ю., Везиришвили М.О. *Химико-фармацевтический журнал* (2004) 38, 26-28.
 9. Петрунина А.А., Каневский М.В., Федоненко Ю.П., Гулий О.И., Коннова С.А. *Известия Саратовского университета. Серия Химия. Биология. Экология*. (2014) 14, 83-89.
 10. Волюнец А.П. Фенольные соединения в жизнедеятельности растений. – Минск: Беларус. навука, 2013. – 283 с.
 11. Каневский М.В., Петрунина А.А., Гулий О.И., Федоненко Ю.П., Коннова С.А. *Изв. Самар.науч. центра РАН*. (2014) 16, 286–290.
 12. Lindahl M., Faris A., Wadstorm T., Hjerten S. *Biochim. Biophys. Acta*. (1981). 677, 471–476.
 13. Hitchcock P.J., Brown T.M. *J. Bacteriol.* (1983) 154, 269–277.
 14. Bloom H., Beier H., Gross H.S. *Electrophoresis* (1987) 8, 93-99.
 15. Каневский М.В., Коннова С.А., Бойко А.С., Федоненко Ю.П., Сигида Е.Н., Игнатов В.В. *Микробиология*. (2014) 83, 143-151.
-

УДК 615.21:615.038:547.568:616.831-005

НОВЫЕ СВОЙСТВА И МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ *l*-ТИРОЗОЛА

**Плотников М.Б.^{1, 2}, Алиев О.И.^{1, 2}, Чернышева Г.А.^{1, 2},
Смольякова В.И.¹, Анищенко А.М.¹, Сидехменова А.В.¹,
Логвинов С.В.³, Жданкина А.А.³, Осипенко А.Н.³**

¹НИИФирМ им. Е.Д. Гольдберга, Томск, Россия, тел.: (3822)418373,
mbp2001@mail.ru

²НИ ТГУ, Томск, Россия

³ГБОУ ВПО СибГМУ Росздора, Томск, Россия

l-Тирозол (4-(2-гидроксиэтил)фенол) – водорастворимое фенольное соединение, обладающее адаптогенной, антигипоксической, антиоксидантной, антиметастатической и другими видами фармакологической активности [1, 2].

Новые свойства *l*-тирозола выявлены при исследовании на моделях острой ишемии головного мозга с реперфузией и острой ишемии миокарда с реперфузией у крыс Вистар. Модель острой ишемии головного мозга (ОИГМ) воспроизводили у наркотизированных хлоралгидратом (450 мг/кг внутривенно) крыс посредством одномоментного лигирования а. carotis communis sin., tr. brachiocephalicus и а. subclavia sinistra через первое межреберье без вскрытия плевральной полости в течение 7 мин с последующей реперфузией [3]. Для моделирования острой ишемии миокарда (ОИМ) у наркотизированных эфиром крыс проводили

окклюзию левой коронарной артерии на уровне нижнего края auricula sinistra без нарушения топографии сердца в грудной клетке по методу А.Х.Когана [4] в течение 30 мин с последующей реперфузией.

На модели ОИГМ с реперфузией *л*-тирозол ускорял восстановление уровня микроциркуляции в ткани головного мозга через 24 часа, уменьшая число плазматических капилляров и увеличивая долю капилляров, проходимых для эритроцитов и участвующих в газообмене. Курсовое введение *л*-тирозола крысам с ОИГМ оказывало выраженный нейропротекторный эффект, способствуя сохранности численности нейронной популяции и ограничивая дегенерацию нейронов по светлому и темному типу. Электронномикроскопическое исследование мозга крыс после ОИГМ показало, что *л*-тирозол в значительной степени препятствовал развитию ультраструктурных нарушений нейронов, заметно снижал степень выраженности сосудистых изменений и глиальных реакций, уменьшал степень повреждения межнейронных синапсов. Препарат ограничивал снижение численной плотности активно функционирующих положительно искривленных синапсов, находящихся в фазе экзоцитоза везикул.

Курсовое внутривенное введение *л*-тирозола в дозе 20 мг/кг повышало в 1,7 раза выживаемость животных, перенесших ОИГМ. Введение *л*-тирозола в 2,3 раза снижало развитие тяжелых неврологических расстройств у животных и ускоряло восстановление неврологического статуса в постишемическом периоде.

На 5-е сутки после моделирования ОИМ с реперфузией у крыс развивалось нарушение сократительной функции сердца и процессов расслабления миокарда, что отражалось в снижении давления, развиваемого левым желудочком, индекса сократимости миокарда, максимальной скорости сокращения и расслабления миокарда. Повышалось конечное диастолическое давление и снижался уровень систолического артериального давления. У крыс, которым внутривенно вводился *л*-тирозол во время и после эпизода острой ишемии миокарда, к 5-м суткам наблюдалась более полная сохранность сократительной функции левого желудочка, на что указывали достоверно более высокие значения давления, развиваемого левым желудочком, индекса сократимости и максимальной скорости сокращения миокарда.

Зона гипоперфузии в группе животных, получавших *л*-тирозол, занимала $31,9 \pm 2,3\%$ от общей площади поперечных срезов миокарда. Зона резко сниженной дегидрогеназной активности составила $16,7 \pm 1,8\%$ от общей площади миокарда и

53,7±6,3% от площади зоны гипоперфузии и была на 19% меньше, чем в контрольной группе.

Наличие у *l*-тирозола кардиопротекторного эффекта подтверждается достоверным увеличением выживаемости животных, перенесших ОИМ. В течение первых суток после возобновления перфузии в контрольной группе погибло 7 крыс из 18 на фоне явлений острой сердечной недостаточности; в группе животных, которым вводили *l*-тирозол, погибло 1 животное из 13.

В рамках исследования механизмов нейро- и кардиопротекторного действия *l*-тирозола проведено изучение процессов перекисного окисления липидов в ишемизированной ткани головного мозга и сердца, а также исследование гемореологической, антитромбоцитарной и эндотелийпротекторной активности *l*-тирозола.

Показано, что к 5-м суткам после эпизода ОИГМ у крыс значимо возросло количество как первичных (диеновые и триеновые конъюгаты), так и вторичных (основания Шиффа) продуктов ПОЛ в ткани мозга. В этих условиях *l*-тирозол в дозе 20 мг/кг проявил высокую антиоксидантную активность, выразившуюся в существенном ограничении накопления первичных и вторичных продуктов ПОЛ в ткани мозга в постишемическом периоде.

Введение *l*-тирозола на 15-й мин ишемического периода при ишемии/реперфузии миокарда ограничивало липопероксидацию: уровень диеновых конъюгатов и триеновых конъюгатов был достоверно ниже в сравнении с контролем на 16 и 20% соответственно.

В постишемическом периоде после ОИГМ и ОИМ у крыс развивался синдром повышенной вязкости крови, выразившийся в нарушениях микро- и макрореологических показателей. Курсовое внутривенное введение *l*-тирозола в дозе 20 мг/кг крысам, перенесшим ОИГМ, значимо улучшало реологические свойства крови: наблюдалось снижение вязкости крови опытных животных на 29–31% в диапазоне низких ($3\text{--}10\text{ с}^{-1}$) и на 19–25% в диапазоне высоких ($50\text{--}300\text{ с}^{-1}$) скоростей сдвига, повышение индекса деформируемости эритроцитов на 31–40%; коэффициент доступности кислорода для тканей возрастал на 21–31% по сравнению с контролем.

Под действием *l*-тирозола показатель вязкости крови у животных, перенесших ОИМ, восстанавливался до значений, близких значениям в группе ложнооперированных животных. Отмечалось отчетливое улучшение показателей микрореологии, о чем свидетельствует повышение полупериода агрегации эритроцитов в 1,9 раза и улучшение их деформируемости на 9–89%

по отношению к контрольным значениям. Введение крысам *л*-тирозола повышало доступность кислорода для тканей на 11–21%.

Курсовое введение *л*-тирозола в дозе 20 мг/кг ослабляло гиперагрегацию тромбоцитов, вызванную ОИГМ и ОИМ, до уровня ложноперированных животных.

У животных с моделями ОИГМ и ОИМ курсовое введение *л*-тирозола в дозе 20 мг/кг способствовало сохранению антиагрегантной активности сосудистой стенки: после инкубации плазмы с сегментом аорты леченых крыс амплитуда АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов снижалась до значений, близких к значениям в группе ложноперированных животных.

Изучение влияния курсового внутривенного введения *л*-тирозола на вазодилаторную функцию эндотелия выявило способность соединения предотвращать нарушения функции эндотелиальных клеток, что отражалось в снижении коэффициента эндотелиальной дисфункции по сравнению с контролем при ОИГМ на 33% и при ОИМ на 32%.

Исследование характера распределения *л*-тирозола в организме после внутривенного введения показало, что соединение в максимальных концентрациях обнаруживается в мышцах, миокарде и мозге. Для печени характерно минимальное содержание *л*-тирозола по сравнению с другими хорошо перфузируемыми органами. Максимальная концентрация в этих тканях определялась спустя 1 мин после введения. Более медленно *л*-тирозол проникал в жировую ткань, что обусловлено низким уровнем перфузии этой ткани: максимальная концентрация отмечена лишь через 10 мин после внутривенного введения. Вместе с тем, *л*-тирозол удерживался в жировой ткани дольше, чем в органах с высокой перфузией. Для сердца и мозга характерны наибольшие величины констант распределения и показателей тканевой доступности, что свидетельствует об избирательном накоплении препарата в этих органах.

Таким образом, изучение эффектов *л*-тирозола в условиях моделей острой церебральной ишемии с реперфузией и острой ишемии миокарда с реперфузией у крыс выявило новые свойства препарата: церебропротекторные, кардиопротекторные, гемореологические, антитромбоцитарные и эндотелийпротекторные.

Список литературы.

1. Саратиков А.С., Краснов Е.А. Родиола розовая – Томск : Изд-во Том. ун-та, 2004. – 286 с.

-
2. Drummen G.P., Makkinje M., Verkley A.J. et al. Attenuation of lipid peroxidation by antioxidants in rat-1 fibroblasts comparison of the lipid peroxidation reporter molecules cis-parinaric acid and C-11 BODIPY (581/591) in a biological setting // Biochim. Biophys. Acta. – 2004. – Vol. 1636. – P. 136–150.
 3. Чернышева Г.А., Смолякова В.И., Осипенко А.Н., Плотников М.Б. Оценка выживаемости и неврологического дефицита крыс на новой модели тотальной транзиторной ишемии головного мозга // Бюл. эксперим биол. и мед. – 2014. – Т. 158, № 8. – С. 159–161.
 4. Коган А.Х. Хирургический метод моделирования коронароокклюзионного инфаркта и аневризмы сердца у крыс // Патол. физиол. и эксперим. терапия. – 1979. – № 3. – С. 79–81.
-

УДК: 547.656:561.123

ПОЛУЧЕНИЕ ВОДОРАСТВОРИМОГО КОМПЛЕКСА БАТРИДЕНА ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ АУТОИММУННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Режепов К.Ж., Эрматов А.М., Зияев Х.Л.

Институт биоорганической химии имени академика А.С.Садыкова АН РУз,
Ташкент, Республика Узбекистан, 100125, ул. Мирзо Улугбека, 83,
rcuralus@mail.ru

Аннотация. Получен водорастворимый комплекс батридена с полимером медицинского назначения N–поливинилпирролидоном (N–ПВП), названный Мебавином, изучены его свойства. Изучение активности Мебавина на различных моделях аутоиммунных заболеваний показало, что он является относительно малотоксичным, некумулирующим препаратом. Обладает выраженным иммуномодулирующим эффектом, а также противовоспалительной активностью.

Ключевые слова: батриден, N–поливинилпирролидон, комплекс, мебавин, хронический гломерулонефрит, иммуномодулятор, фармакокинетика, фармакопейная статья.

В настоящее время, по мнению ведущих иммунологов Р.М.Хаитова и Б.В.Пинегина, в учении об иммуномодуляторах отмечается, в частности, о более обоснованном подходе к направленному синтезу новых химических соединений, обладающих тропностью к иммунной системе.

Изучение многочисленных производных госсипола показало, что большинство из них иммуностропны. Один из производных – батриден было разрешен для медицинского

применения в качестве иммуносупрессора при аллотрансплантации почки (Машковский М.Д. Лекарственные средства. /15-издание, Москва, Новая волна, Издатель Умеренков. 2008.– С. 744.).

Батриден применяли после пересадки почки в сочетании со стероидными гормонами. Вначале суточная доза батридена – 2-9 мг/кг, её делят на 2-3 приёма. В дальнейшем дозу снижают до 2-6 мг/кг. Терапию батридеом продолжали в течение всей жизни пациента с трансплантатом. Ни у одного больного не наблюдали развития хронического гепатита – характерного осложнения в случае применения таких антиметаболитов как имуран, азатиоприн, циклофосфамид. При применении батридена не было обнаружено ни одного случая развития злокачественных новообразований.

Позднее область применения батридена была расширена и его применяли при хроническом гломерулонефрите и аллергодерматозах. Некоторым недостатком батридена, затрудняющим его использование, является полное отсутствие растворимости его в воде.

С целью повышения биодоступности батридена, увеличения накопления его в иммунокомпетентных органах, более быстрого и полного выведения его из организма был получен водорастворимый комплекс батридена с полимером медицинского назначения N–ПВП (М.м.8000±2000), названный Мебавином.

Наиболее подходящим способом получения комплекса N–ПВП с производным госсипола оказался метод, состоящий в соосаждении препарата с полимером в неводных системах растворителей после перемешивания их при комнатной температуре.

Изучены физико-химические свойства Мебавина и на основании ИК-спектров предложена наиболее вероятная структура (рис.1.).

Полученный комплекс–аморфный порошок от оранжево-красного до тёмно-красного цвета, со слабым специфическим запахом, полностью растворимый в воде.

Мибавин – соединение окрашенное и в УФ-спектре его наблюдается характерный максимум поглощения при 495 нм, который является одной из характеристик для установления подлинности препарата. Температура плавления для комплекса не характерна.

Для определения подлинности используется также ИК-спектр, снятый в таблетке с KBr в области от 400 до 4000 см⁻¹. При характеристике комплексов физиологически активных соединений с полимерами медицинского назначения часто используют метод УФ-

спектроскопии, отмечая при этом незначительные изменения максимума поглощения комплекса от значений, определенных для исходных веществ, что является подтверждением «мягкого» взаимодействия полимера с химическим соединением, не сопровождающегося изменениями в структуре этого соединения.

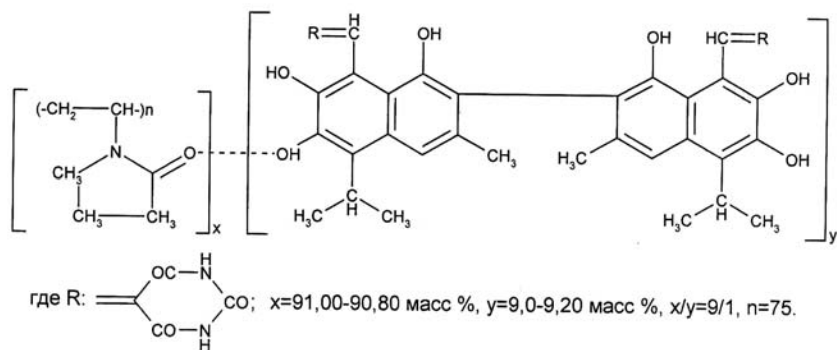


Рис. 1. Структурная формула Мебавина.

Количественное определение мебавина проводят спектрофотометрическим методом с использованием стандартного образца мебавина, измеряя оптическую плотность при 495 нм.

При изучении биологической активности нового соединения была обнаружена его высокая иммуносупрессивная активность на различных моделях аутоиммунных заболеваний (аллотрансплантация почки, экспериментальный хронический гломерулонефрит, адъювантный артрит и др.).

Данные по изучению полученного нами комплекса батридена с N-поливинилпирролидоном свидетельствуют о его высокой иммуномодулирующей эффективности, малой токсичности ($LD_{50} > 2000$ мг/кг), широком спектре действия.

Сравнительное изучение фармакокинетических параметров радиоактивно меченных образцов ^{14}C -батридена и ^{14}C -мебавина выявило увеличение скорости всасывания ^{14}C -мебавина из желудочно-кишечного тракта примерно на 2 порядка выше по сравнению с ^{14}C -батриденом, увеличение скорости всасывания и накопления препарата в иммунокомпетентных органах, более быстрое и полное выведение из организма мебавина, чем батридена.

На модели трансплантационного иммунитета было показано, что мебавин способствует приживаемости кожных лоскутов до $29,3 \pm 3,63$ дня, тогда как в контроле приживаемость

составила $-7,8 \pm 0,52$ дня.

На модели экспериментального хронического гломерулонефрита терапевтический эффект мебавина не уступает импортному препарату азатиоприну.

На модели экспериментального аллергического контактного дерматита (АКД) было показано, что мебавин по иммуномодулирующему действию не уступает метотрексату и циклофосфану, в силу малотоксичности и избирательности на Т-клеточное звено иммунитета оказывает более выраженное ингибирующее и корригирующее влияние на клинику и развитие АКД.

Терапевтический эффект мебавина был обнаружен и на модели адьювантного артрита (адекватного ревматоидному артриту у человека) и хотя его противовоспалительный эффект несколько уступает преднизолону, при сочетанном введении проявляется синергизм их действия и более успешное разрешение патологического процесса.

Практически важным моментом при применении мебавина является то, что его можно применять в сочетании с такими известными препаратами как циклоспорин А, имуран, дексазон, преднизолон на различных моделях в дозах в 2 раза меньших, чем при применении их в отдельности, и в этом случае их специфический эффект суммируется (синергизм действия) и позволяет получать более выраженный терапевтический эффект.

Вышеприведённые данные свидетельствуют о возможности и необходимости создания на основе мебавина нового малотоксичного и эффективного препарата для лечения аутоиммунных заболеваний.

Была разработана вся необходимая нормативно-техническая документация, требующаяся для получения разрешения на клиническое испытание Мебавина (материалы по изучению специфической активности и фармако-токсикологии, проекты временных фармакопейных статей на субстанцию, стандартный образец, таблетки Мебавина по 0,1 г) и представлена на рассмотрение в Главное Управление по контролю качества лекарственных средств и медицинской техники (ГУККЛСиМТ) МЗ РУз.

УДК: 547.656:561.123

РОМЕТИН - ПРЕПАРАТ ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ ВИРУСНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

**Режепов К.Ж.¹, Казанцева Д.С.¹, Эрматов А.М.¹, Намазов О.М.²,
Алимова М.Т.³, Якубова Р.А.¹, Зияев Х.Л.¹**

¹Институт биоорганической химии имени академика А.С.Садыкова АН РУз,
Республика Узбекистан, Ташкент, 100125, ул. Мирзо Улугбека, 83,
Тел.: (+99871) 2623540, Факс: (+99871) 2627063, E-mail: rcuralus@mail.ru

²Ташкентский Химико – Технологический институт, 100011, Узбекистан,
Ташкент, проспект Навои, 32, Тел.: (+99871) 2449248, Факс: (+99871)
2449248.

³Институт Иммунология АН РУз, Республика Узбекистан, Ташкент, 100060,
ул. Я.Гулямова, 74, Тел.: (+99871) 1330855, Факс: (+99871) 1360923.

Аннотация. Получены производные госсипола Мегосин и Рометин, обладающие интерферониндуцирующей активностью. Рометин является водорастворимым комплексом N-поливинилпирролидона с Мегосином. Изучены общая фармакология, специфическая токсикология субстанции Рометина (острая токсичность, кумуляция, хроническая токсичность, аллергенность, влияние на центральную нервную систему (ЦНС), на периферическую нервную систему (ПНС), давление и дыхание, сердечно-сосудистую систему), также исследованы мутагенность и иммуноотоксичность.

Ключевые слова: госсипол, мегосин, комплекс, рометин, индуктор интерферона.

Полифункциональность молекулы госсипола (индуктор интерферона), природного растительного полифенола, извлекаемого из хлопкового масла, делает возможным получение многочисленных его производных, изучение интерферониндуцирующей активности которых позволяет создать нетоксичных, высокоэффективных индукторов интерферона, применение которых позволит решать актуальные проблемы борьбы с инфекционными заболеваниями.

В настоящее время синтезированы целый ряд физиологически активных соединений на основе госсипола - Рагосин, Гозалидон, Мегосин, которые также являются индукторами интерферонов, стимуляторами образования эндогенных α -, β -, γ - интерферонов [1].

Проведенные ранее исследования (ВИЛР, Москва) показали, что как и сам госсипол, так и его иминопериопродукт

Мегосин обладает выраженными вирулицидными и вирусингибирующими действиями в отношении ряда миксовирусов. Они почти полностью инактивируют ДНК- и РНК-содержащие вирусы, что указывает на широкий диапазон их действия [2,3]. Несколько позже было установлено, что Мегосин является индуктором интерферона и индуцирует синтез α -, β -интерферонов в организме [1].

Некоторым недостатком Мегосина является малая растворимость в воде. С целью придания Мегосину способности растворяться в воде и тем самым достичь большей биодоступности был получен комплекс N-поливинилпирролидона (М.м. 8000 ± 2000) с Мегосином - динатриевой солью (1,1',6,6' – тетрагидроксид -5,5' – диизопропил – 3,3' – диметил – 7,7' – диоксо – 2,2'-динафтил)-8,8'-диметилениминосультфонокислоты, названный Рометином.

Изучены общая фармакология, специфическая токсикология субстанции Рометина (острая токсичность, кумуляция, хроническая токсичность, аллергенность, влияние на ЦНС, ПНС, давление и дыхание, сердечно-сосудистую систему).

Изучена иммунотоксичность Рометина и определено, что под влиянием препарата Рометин наблюдалось увеличение или тенденция к увеличению массы и клеточности (общего содержания клеток) селезенки, тимуса и лимфоузлов, усиление процессов антителообразования в лимфоидных органах и сделано заключение, что препарат не оказывает токсического действия на иммунную систему организма.

Изучена мутагенная активность Рометина на лимфоцитах периферической крови человека. Количество микроскопически обнаруженных видимых структурных мутаций на хромосомах лимфоцитов в опытных препаратах остаётся на контрольном уровне. Сделан вывод, что препарат Рометин не обладает мутагенным действием на хромосомном уровне.

Таким образом, показана перспективность исследований в плане создания индукторов интерферона на основе веществ природного происхождения.

Список литературы.

1. Ф.И. Ершов, Э.Б.Тазулахова. Индукторы интерферона – новое поколение иммуномодуляторов. // Вестник РАМН. Москва, Медицина, 1999, С. 52-56.
2. Вичканова С.А., Горюнова Л.В. Изучение вирулицидной активности *in vitro*. //Антибиотики, 1968. т.13. С. 828.
3. Садыков А.С., Вичканова С.А., Исмаилов А.И., Горюнова Л.В. и др. Изучение противовирусных свойств госсипола в эксперименте и

ИССЛЕДОВАНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ СПИРТОВОГО ЭКСТРАКТА ТРАВЫ ПУСТЫРНИКА

Романенко Е.А., Кошевой О.Н., Комиссаренко А.Н.

Национальный фармацевтический университет, Харьков, Украина.
+38(095)8986033, geKa1991.91@mail.ru

Трава пустырника и препараты на ее основе широко используются в фармакотерапии различных заболеваний. Несмотря на то, что трава пустырника уже достаточно длительное время используется, как в народной, так и в официальной медицине, химический состав продуктов ее первичной и вторичной переработки изучены недостаточно [1, 2, 3].

Поскольку сведений о составе и количественном содержании фенольных соединений мало, в основном работы посвящаются изучению веществ терпеноидной природы (изопrenoиды, иридоиды и дитерпены), то целью нашей работы было изучение качественного состава и количественного содержания фенольных соединений в спиртовом экстракте травы пустырника.

Объектом исследования был сухой экстракт травы пустырника, полученный 70% этанолом. Исследование фенольных соединений проводили с помощью метода высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с помощью хроматографа Agilent Technologies (модель 1100). Для идентификации компонентов использовали библиотеку масс-спектров NIST05 и WILEY 2007. Идентификацию и количественное содержание исследуемых компонентов проводили по масс-спектрам и времени удерживания компонентов.

В результате исследования фенольного состава экстракта травы пустырника найдено 10 веществ фенольной природы: производные гидроксикоричных кислот и флавоноиды. Из производных гидроксикоричных кислот обнаружено 5 соединений, 2 из которых идентифицировано: кофейную и хлорогеновую кислоты. Из флавоноидов выявлено 3 соединения, из которых идентифицировано 2: рутин и апигенин. Общее количественное содержание гидроксикоричных кислот 3917 мг/100 г: содержание хлорогеновой кислоты составляет 397 мг/100 г, что соответствует 10,14% от общего их содержания. Наибольшую концентрацию

среди флавоноидов имеет: рутин, содержание которого составляет 2279 мг/100 г экстракта, или 72,93% от содержания всех флавоноидов исследуемого экстракта. Почти в четыре раза меньше количество апигенина, содержание которого составляет 596 мг/100 г экстракта, или 19,07% от общего количества флавоноидов. Следует отметить, что эти два компонента составляют более 40% от общего содержания фенольных соединений.

В результате проведенных исследований изучен качественный состав и количественное содержание фенольных соединений сухого спиртового экстракта пустырника, найдено 10 соединений фенольной природы, из которых идентифицировано только 4: кофейная и хлорогеновая кислоты, рутин, апигенин. Полученные данные свидетельствуют о перспективности дальнейшего изучения фенольных соединений исследуемого объекта для создания нового лекарственного средства.

Список литературы:

1. Данилов С. А. Пустырник: фитохимические особенности и новые грани фармакологических свойств / С. А. Данилов, С. Ю. Штрыголь, С. И. Степанова // Провизор. – 2011. – №9. – С. 27 – 30.
2. Кобзар А. Я. Фармакогнозия в медицине / А. Я. Кобзар. – К. : Медицина, 2007. – 544 с.
3. Загурская Ю. В. Систематика, морфология и лекарственные свойства растения *Leonurus Quinquelobatus* Gilib / Ю. В. Загурская. // *Advances in current natural sciences*. – 2014. – №12. – С. 56 – 59.

УДК 615.322

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ СПЕКТРАЛЬНЫЙ АНАЛИЗ СУММЫ ФЛАВОНОИДОВ ТРАВЫ ТАТАРНИКА КОЛЮЧЕГО И РАСТОРОПШИ ПЯТНИСТОЙ

Рыжов В.М., Куркин В.А., Бельченко А.С.

ГБОУ ВПО СамГМУ Минздрава России, Самара, Российская Федерация,
тел. 8 (846) 260-33-59, e-mail: lavr_rvm@mail.ru

Расторопша пятнистая *Silybum marianum* Gaertn. и татарник колючий *Onopordum acanthium* L. близкородственные виды, принадлежащие подколену (подтрибе) *Carduinae* О. Hoffm., семейства Сложноцветные (*Compositae*) [1]. Оба вида являются ценными лекарственными растениями. При этом основной биологически активной группой веществ у расторопши являются

флаволигнаны, локализованные в плодах [2], а у татарника - иридоиды и сапонины, содержащиеся в траве [3, 4]. Однако в настоящее время недостаточно изученными остаются флавоноидные комплексы травы расторопши и татарника.

С целью выявления и изучения флавоноидных комплексов в траве указанных видов нами был проведен сравнительный спектральный анализ суммы флавоноидов в липофильных и гидрофильных экстрактах травы татарника колючего и расторопши пятнистой.

В качестве объектов исследования использовались экстракты на основе травы расторопши пятнистой (август-сентябрь 2014г, Ботанический сад, г. Самара) и татарника колючего (август 2014 г., Самарская область, совхоз Черновский). Для выявления и сравнения гликозидных и агликоновых флавоноидов сумму фенолов экстрагировали последовательно: хлороформом (липофильные агликоны) и спиртом этиловым 70% (гидрофильные гликозиды).

Спектральное исследование суммы флавоноидов травы расторопши пятнистой и татарника колючего проводили методом дифференциальной спектрофотометрии с добавлением комплексообразователя ($AlCl_3$) [5]. Спектры получали на спектрофотометре Specord 40 (Analytik Jena) в кюветках с толщиной слоя 10 мм. Раствором сравнения служил 96 % спирт этиловый.

Спектроскопический анализ исходных спектров поглощения исследуемых экстрактов позволил выявить характерные для них максимумы поглощения. При этом для гидрофильных настоек (на 70% этиловом спирте) флавоноидные максимумы спектров поглощения составили 276, 294, 336 нм (расторопша пятнистая) (рис. 1А) и 302, 336 нм (татарник колючий) (рис. 2А). Для липофильных экстрактов (хлороформ) флавоноидные максимумы спектров поглощения составили 273, 330, 380 нм (расторопша пятнистая) (рис. 3А) и 276, 334, 374 нм (татарник колючий) (рис. 4А).

Основываясь на справочных данных о спектральных характеристиках флавоноидных структур, можно предположить, что в липофильных экстрактах доминируют флавоноиды группы флавонов, а в гидрофильных - группы флавонолов [5, 6].

Для более селективного определения природы флавоноидных комплексов нами оценивались спектральные характеристики экстрактов с добавлением комплексообразователя (спиртовой раствор $AlCl_3$). Кроме того, для оценки количественной характеристики флавоноидного комплекса использовался метод дифференциальной спектрофотометрии.

Оценка дифференциальных кривых электронных спектров поглощения образцов гидрофильных настоек выявила основные максимумы в области 396 нм (расторопша пятнистая) (рис. 1Б) и 382 нм (татарник колючий) (рис. 2Б). Указанные спектральные характеристики дифференциальных кривых соотносятся с таковыми для ряда флавонов, в частности, цинарозида и космосиина [5].

Основные максимумы поглощения в дифференциальных кривых спектров для образцов липофильных экстрактов находились в области 428 нм (расторопша пятнистая) (рис. 3Б) и 424 нм (татарник колючий) (рис. 4Б). Указанные спектральные характеристики дифференциальных кривых соотносятся с таковыми для ряда флавонолов: кверцетина и кемпферола [5].

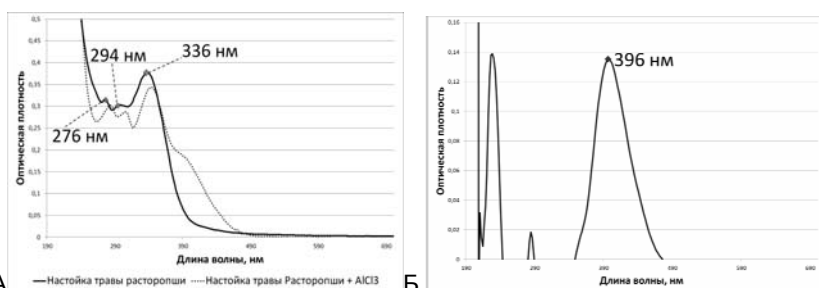


Рис. 1. Спектральные характеристики настойки травы расторопши пятнистой:

А – батохромный сдвиг при добавлении комплексобразователя ($AlCl_3$),
Б – дифференциальная кривая.

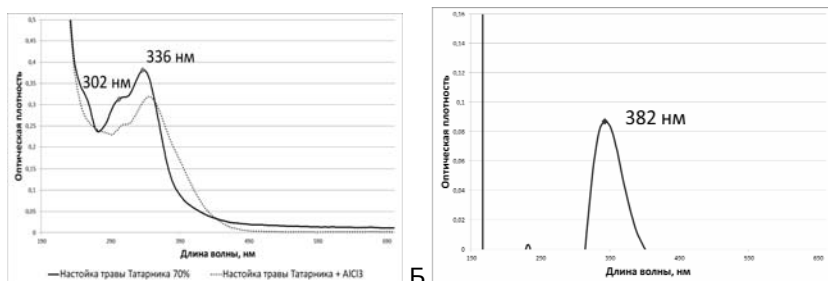


Рис. 2. Спектральные характеристики настойки травы татарника колючего:

А – батохромный сдвиг при добавлении комплексобразователя ($AlCl_3$),
Б – дифференциальная кривая.

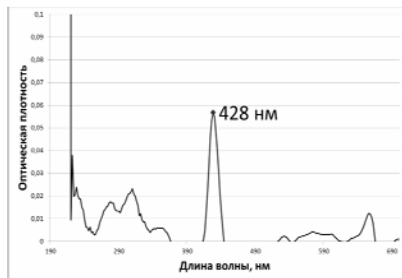


Рис. 3. Спектральные характеристики хлороформного экстракта травы расторопши пятнистой:
 А – батохромный сдвиг при добавлении комплексообразователя (AlCl_3),
 Б – дифференциальная кривая.

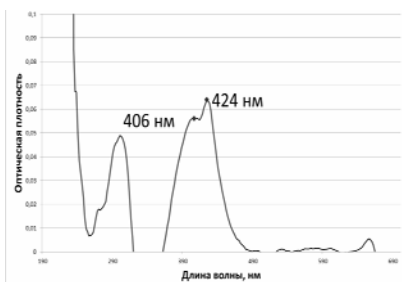
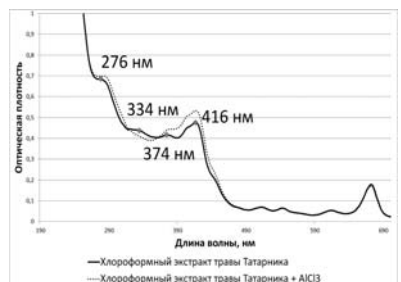


Рис. 4. Спектральные характеристики хлороформного экстракта травы татарника колючего:
 А – батохромный сдвиг при добавлении комплексообразователя (AlCl_3),
 Б – дифференциальная кривая.

Выявленные спектральные характеристики дифференциальных кривых позволили произвести предварительный расчет суммы флавоноидов. Сумму флавонов в гидрофильных экстрактах из травы татарника и расторопши определяли в пересчете на ГСО цинарозид [6]. Содержание флавонолов в липофильных экстрактах определяли в пересчете на ГСО кверцетин [5]. Результаты количественного определения приведены на гистограмме сравнения (рис. 5).

Из гистограммы видно, что количественные характеристики агликоновых и гликозидных флавоноидов у сравниваемых видов растений значительно отличаются. Так, в траве татарника доминируют агликоны флавонолов (0,82%), а флавоноидные гликозиды представлены незначительно (0,29%). В траве расторопши агликоны (0,66%) и гликозиды (0,58%) флавоноидов содержатся в приблизительно равном соотношении.

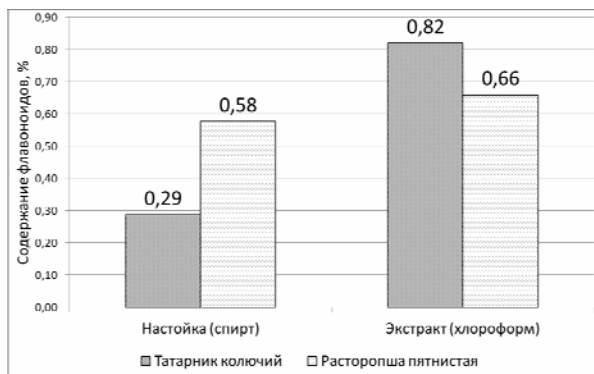


Рис. 5. Гистограмма сравнения содержания флавоноидов в извлечениях из травы татарника и расторопши

Таким образом, проведенный сравнительный спектральный анализ экстрактов на основе травы татарника колючего и расторопши пятнистой позволил выявить флавоноидные комплексы и их количественные характеристики. Дальнейшее исследование по выделению и установлению флавоноидных структур позволит уточнить группы флавоноидов в изучаемых объектах.

Список литературы.

1. Флора СССР: Род *Onopordum* L. / Под ред. В.Л. Комарова. – Т. 28. – М. – Л.: изд-во Академии Наук СССР, 1963. – 653 с.
2. Расторопша пятнистая : монография / В.А. Куркин, Г.Г. Запесочная, Е.В. Авдеева, В.М. Рыжов и др. – Самара : «Офорт» ; ГБОУ ВПО «СамГМУ Росздрава», 2010. – 118 с.
3. Иванова, Л.Р. Определение иридоидов в траве татарника колючего (*Onopordum acanthium* L., род *Onopordum*) / Иванова Л.Р., Бутенко Л.И., Лигай Л.В., Сбежнева В.Г. // Химия растительного сырья. - 2010. - №4. - С. 131–133.
4. Tyumkina, T.V. PMR and ^{13}C NMR spectra of biologically active compounds. XXIII. Structure and stereochemistry of a new phenylpropanoid glycoside isolated from *Onopordum acanthium* seeds / T.V. Tyumkina, I.F. Nuriev, L.M. Khalilov, V.R. Akhmetova, U.M. Dzhemilev // Chemistry of Natural Compounds. – 2009. - Vol. 45. – P. 91-95.
5. Куркина, А.В. Флавоноиды фармакопейных растений : монография / А.В. Куркина – Самара: ООО «Офорт», ГБОУ ВПО СамГМУ Минздравсоцразвития России, 2012. – 290 с.
6. Лессовая, Ж.С. Разработка методики стандартизации травы репешка обыкновенного *Agrimonia eupatoria* по флавоноидам / Ж.С. Лессовая, Д.И. Писарев, О.О. Новиков // Научные ведомости Белгородского

УДК 579.6

ВЛИЯНИЕ ПОЛИФЕНОЛСОДЕРЖАЩИХ ЭКСТРАКТОВ РАСТЕНИЙ НА ОБРАЗОВАНИЕ БИОПЛЕНОВ КИШЕЧНЫМИ БАКТЕРИЯМИ

Самойлова З.Ю., Смирнова Г.В., Октябрьский О.Н.

ФГБУН Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского
отделения РАН, Пермь тел. (342)212-20-86, e-mail: samzu@mail.ru

В настоящее время совокупная микрофлора кишечника человека и животных рассматривается как особый физиологический орган, деятельность которого вносит важный вклад в поддержание здоровья макроорганизма. Известно, что представители нормальной микрофлоры формируют защитный слой на стенках кишечника в виде биопленок (БП), защищая эпителий от действия токсикантов и препятствуя адгезии болезнетворных микробов. Перспективным направлением является изучение факторов, повышающих биопленкообразование представителями полезной микрофлоры, с одной стороны, и препятствующих формированию БП болезнетворными бактериями, с другой.

Одним из факторов, влияющих на активность микрофлоры, населяющей желудочно-кишечный тракт (ЖКТ), является состав потребляемой пищи. Особый интерес представляют полифенолсодержащие субстраты (овощи, фрукты, экстракты лекарственных растений). ПФ представляют собой обширный класс вторичных метаболитов растений, обладающих антиоксидантной активностью (АОА). Предполагается, что в этом качестве ПФ, поступающие в организм, участвуют в предотвращении патологий, связанных прямо или косвенно с окислительным стрессом (сердечно-сосудистые заболевания, канцерогенез, воспалительные процессы).

В последние годы происходит существенный пересмотр взглядов на механизм действия ПФ в организме человека и животных. Применение современных высокочувствительных методов показало, что концентрации ПФ в большинстве органов человека слишком малы, чтобы оказывать прямое антиоксидантное действие [1]. На основании этих данных было выдвинуто предположение о том, что основной сайт антиоксидантного

действия ПФ находится в желудочно-кишечном тракте (ЖКТ), где концентрация полифенолов достаточна, для защиты клеток эпителия и кишечной микрофлоры от активных форм кислорода (АФК) [2]. Благоприятные для здоровья эффекты, наблюдаемые при низких концентрациях ПФ в других органах, связывают с их воздействием на регуляторные каскады.

В результате переваривания пищи в кишечнике, происходит непрерывное изменение параметров среды (сдвиги pH, изменение состава питательных субстратов, образование токсичных веществ, в том числе, АФК). В определенных условиях это может создавать стрессовые условия для жизнедеятельности кишечных бактерий в составе биопленок. Вопрос о влиянии растительных субстратов, в первую очередь полифенолов, на образование и функционирование биопленок кишечными бактериями при стрессах остается малоизученным. Ранее нами были изучены антиоксидантные эффекты индивидуальных полифенолов и полифенолсодержащих экстрактов растений на планктонные культуры бактерий *Escherichia coli* [3, 4]. Выявлено выраженное антиоксидантное и прооксидантное действие экстрактов ряда растений ряд в этих условиях [5, 6].

Целью данной работы явилось изучение влияния экстрактов растений, широко используемых в народной и официальной медицине, на образование биопленок бактериями *Escherichia coli*. Водные экстракты были приготовлены из коммерческих фармпрепаратов (ОАО «Красногорсклексредства», «Иван-чай»), зеленый и черный чай – из препаратов Greenfield “Golden Ceylon”.

Влияние экстрактов на биопленкообразующую способность оценивали по методу [7]. Также определяли радикал-связывающую активность (PCA) [8], металл-хелатирующую способность (МХС) экстрактов *in vitro* [9], продукцию пероксида экстрактами [10], а также содержание полифенолов в испытуемых экстрактах [11].

Выявлено достоверное повышение удельного биопленкообразования бактериями *E. coli* BW25113 при обработке экстрактами брусники, липы, толокнянки и чёрного чая в 2-3 раза по сравнению с клетками, необработанными экстрактами.

Обработка бактериальных клеток экстрактами из частей березы, кукурузы, чаги и пустырника способствовала достоверному увеличению удельного биопленкообразования в 1,3-1,8 раза. В этих же условиях обработка клеток бактерий экстрактами крапивы и ламинарии оказывала противоположный эффект и приводила к достоверному снижению удельного биопленкообразования в 1,4 и 1,2 раза, соответственно, по сравнению с клетками,

необработанными экстрактами.

Результаты экспериментов по определению PCA и МХС активности *in vitro* и измерению скорости продукции пероксида свидетельствуют о наличии редокс-активности у испытуемых экстрактов. Установлено, что наибольшей PCA *in vitro* обладали экстракты черного и зеленого чая, а также экстракты толокнянки, брусники и душицы, наименьшей – хвоща и ламинарии. Наибольшей МХС обладали экстракты зеленого и черного чая, а также череды, толокнянки и березы, наименьшей – экстракты подорожника, эхинацеи и брусники. Обнаружено, что среди испытуемых экстрактов с наибольшей скоростью продуцировали пероксид экстракты черного и зеленого чая, толокнянки и брусники, с наименьшей – экстракты ламинарии, эхинацеи и ноготков. Выявлена корреляция между содержанием в испытуемых экстрактах полифенолов и их PCA активностью, а также способностью продуцировать пероксид ($r = +0,97$ и $r = +0,89$, соответственно).

Корреляционный анализ указывает на наличие связей между удельным биоплёнкообразованием в обработанных экстрактами культурах и способностью экстрактов продуцировать пероксид ($r = +0,89$), а также содержанием полифенолов в испытуемых экстрактах ($r = +0,73$). Выявлена обратная корреляция между содержанием полифенолов в испытуемых экстрактах и влиянием на экспрессию гена *rpoS* ($r = -0,80$), кодирующего регулятор процесса биопленкообразования в клетках *E. coli*.

Полученные результаты свидетельствуют о способности полифенолсодержащих экстрактов лекарственных растений модулировать биопленкообразование кишечных бактерий.

Работа поддержана грантом РФФИ-Урал № 14-04-96031.

Список литературы.

1. Koltover V.K. Bioantioxidants: the systems reliability standpoint // *Toxicol. Ind. Health*. 2009. V. 25. P. 295-299.
2. Halliwell B., Rafter J., Jenner A. Health Promotion by Flavonoids, Tocopherols, Tocotrienols, and Other Phenols: Direct or Indirect Effects? Antioxidants or Not? // *Am. J. Clin. Nutr.* 2005. V. 81(suppl.). P. 268S-276S.
3. Smirnova G.V., Samoylova Z.Y., Muzyka N.G., Oktyabrsky O.N. Influence of Polyphenols on *Escherichia coli* Resistance to Oxidative Stress // *Free Radic. Biol. Med.* 2009. V. 46. P. 759-768.
4. Smirnova G.V., G.I. Vysochina, N.G. Muzyka, Z.Y. Samoylova, T.A. Kukushkina, O.N. Oktyabrsky. Evaluation of Antioxidant Properties of Medicinal Plants Using Microbial Test Systems // *World J. Microbiol. Biotechnol.* 2010. V. 26. P. 2269-2276.

-
5. Smirnova G., Samoilova Z., Muzyka N., Oktyabrsky O. Influence of Plant Polyphenols and Medicinal Plant Extracts on Antibiotic Susceptibility of *Escherichia coli* // J. Appl. Microbiol. 2012. V. 113. P.192-199.
 6. Samoilova Z., Smirnova G., Muzyka N., Oktyabrsky O. Medicinal plant extracts variously modulate susceptibility of *Escherichia coli* to different antibiotics // Microbiol. Res., 2014, V. 169, P. 307-313.
 7. Naves P., del Prado G., Huelves L., Gracia M., Ruiz V., Blanco J., Rodriguez-Cerrato V., Ponte M.C., Soriano F. Measurement of biofilm formation by clinical isolates of *Escherichia coli* is method-dependent // J.Appl. Microbiol. 2008. Vol. 105. P.585-590.
 8. Shyur L.-F., Tsung J.-H., Chen J.-H., Chiu C.-Y., Lo C.-P. Antioxidant properties of extracts from medicinal plants popularly used in Taiwan // Int. J. Appl. Sci. Eng. 2005. V. 3. P. 195-202.
 9. Kim H.-J., Chen F., Wang X., Chung H.Y., Jin Z. Evaluation of antioxidant activity of vetiver (*Vetiveria zizanioides* L.) oil and identification of its antioxidant constituents // J. Agric. Food Chemistry. 2005. V. 53. P. 7691-7695.
 10. Seaver L.C., Imlay J.A. Alkyl hydroperoxide reductase is the primary scavenger of endogenous hydrogen peroxide in *Escherichia coli* // J. Bacteriol. 2001. V. 183. P. 7173-7181.
 11. Wu L.-C., Hsu H.-W., Chen Y.-C., Chin C.-C., Lin Y.-I., Ho J.A. Antioxidant and antiproliferative activities of red pitaya // Food Chem. 2006. V. 95. P. 319-327.
-

УДК 577.127:547.973

**IN VITRO АНТИОКСИДАНТНАЯ И АНТИДИАБЕТИЧЕСКАЯ
АКТИВНОСТЬ *AGRIMONIA ASIATICA* И *GERANIUM
COLLINUM***

**Сапко О.А., Утарбаева А.Ш., Чебоненко О.В., Турсунова А.К.,
Абайлдаев А.О., Амиркулова А.Ж.**

РГП «Институт молекулярной биологии и биохимии им. М.А.Айтхожина» КН
МОН РК, Алматы, Казахстан, тел.: +7(727)2937091, a.utar@mail.ru

Сахарный диабет (СД) - глобальная медико-социальная проблема современности. Важную роль в патогенезе и развитии СД играет окислительный стресс (ОС), который в настоящее время рассматривается как «универсальная основа» развития всех осложнений при СД. В связи с этим, очевидна необходимость применения антиоксидантов в комплексной терапии СД. Другим критическим фактором риска СД является постпрандиальная гипергликемия. Важной стратегией контроля уровня сахара в крови служит снижение уровня продукции и поглощения углеводов в желудочно-кишечном тракте путем подавления активности

пищеварительных карбогидратных гидролитических ферментов, таких как α -амилаза и α -глюкозидаза. Поиск и разработка природных безопасных антидиабетических (АД) средств, обеспечивающих целевые терапевтические и профилактические эффекты, является актуальным направлением современных медико-биологических исследований.

Способность некоторых растений уменьшать проявления СД с давних пор использовалась народной медициной. Растительные препараты, как правило, обладают низкой степенью токсичности и побочных негативных реакций при их длительном применении. Широко распространенным классом природных веществ, определяющих биологическую активность большого числа растений, являются фенольные соединения (ФС). Растительные ФС и флавоноиды (ФЛ), как один из наиболее активных классов этих веществ, характеризуются разносторонним влиянием на организм животных и человека.

Agrimonia asiatica Juz. и *Geranium collinum* Steph., растения, с высоким содержанием ФС, используются в народной медицине стран Европы, Центральной Азии и Казахстана при лечении различных хронических заболеваний, в том числе СД [1,2]. Целью данного исследования было изучение *in vitro* антиоксидантной активности (АОА), α -амилазной и α -глюкозидазной ингибиторной активности, анализ содержания ФС и ФЛ различных экстрактов видов *Agrimonia asiatica* и *Geranium collinum*, произрастающих на территории Казахстана.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектами служили растения, собранные в 2012 году в период цветения в предгорьях Заилийского Алатау в окрестностях Алматы. Общее содержание растворимых ФС определяли по методу Фолина-Чокальтеу в модификации Синглетона и Росси [3]. Флавоноиды определяли с использованием комплексообразующей реакции с 2% спиртовым раствором $AlCl_3$ [4]. Общую восстанавливающую активность растительных экстрактов определяли по методу Benzie и Strain [5]. Определение радикал-связывающей активности с использованием DPPH (2,2'-дифенил-1-пикрилгидразила) проводили согласно методу [6]. Антирадикальную активность с использованием катион-радикала $ABTS^{+•}$ (2,2'-азино-бис-(3-этилбензотиазолин-6-сульфонат) определяли по методу [7]. Для количественной оценки АОА использовали показатель TEAC (Trolox-Equivalent Antioxidant Capacity). α -Амилазную активность определяли по методу [8]. Изучение α -глюкозидазной активности *in vitro* проводили согласно методу [9].

Таблица 1.

Антиоксидантная активность, содержание ФС и ФЛ экстрактов *G.collinum*

Образец	Экстрагент	ФС, мг/г сухого веса	ФЛ, мг/г сухого веса	TEAC*, мкмоль TE / г сухого веса		FRAP, ммоль Fe ²⁺ / г сух.веса
				ABTS	DPPH	
<i>G. collinum</i>	Последовательная экстракция:					
надземная часть	гексан	0,19	0,37	5,37	3,88	3,89
	хлороформ	0,13	4,88	67,95	30,06	2,73
	этилацетат	1,07	1,09	53,66	18,63	10,92
	этанол	81,23	6,65	496,36	599,2	980,54
корень	гексан	0	0	-	-	-
	хлороформ	0,19	0,12	5,74	8,93	3,39
	этилацетат	12,60	0,37	78,13	26,42	47,61
	этанол	59,17	1,31	472,43	519,33	808,36
	Прямая экстракция:					
надземная часть	этанол	13,45	6,86	647,25	1110,78	972,23
	70% этанол	131,7	18,14	1612,76	2322,0	1852,3
	ацетон	22,27	5,82	526,92	391,75	830,64
	70% ацетон	81,85	11,49	1567,51	1645,38	1536,3
корень	этанол	56,83	1,51	931,56	987,29	738,93
	70% этанол	82,61	2,68	1070,53	1435,81	1030,12
	ацетон	45,56	1,05	925,07	1043,57	413,94
	70% ацетон	105,04	3,56	2114,553	1889,6 3	1430,52
Содержание ФС представлено в пересчете на галловую кислоту, содержание суммы ФЛ - в пересчете на рутин. Антиоксидантную активность выражали в тролоксовом эквиваленте, мкм TE / г сухого веса растения.						

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для изучения АОА различных классов и групп ФС *A.asiatica* и *G.collinum* использовали растворители с различной полярностью, методы прямой и последовательной экстракции. Было установлено, что для исследованных растений максимальное содержание ФС и ФЛ, АОА наблюдаются при использовании для экстракции водно-ацетоновых и водно-спиртовых смесей. Неполярные и малополярные растворители обладали более низкой экстрагирующей активностью и низкими показателями АОА (таблица 1). Максимальная АОА, в том числе антирадикальная

активность, установленная по способности восстанавливать ОН-в реакции как с DPPH[•], так и в реакции с ABTS^{•+}, а также общая восстанавливающая активность (FRAP), были определены для 70% этанольных экстрактов надземной части *G. collinum* и 70% ацетоновых экстрактов корней. Высокая AOA также установлена для 70% этанольных экстрактов корней *A.asiatica*. Показатели общей восстанавливающей активности (FRAP метод) для корней *A. asiatica* в пересчете на г сухого веса растения были примерно одинаковы с уровнем AOA *G.collinum*, и в 2-2,5 раз ниже показателей антирадикальная активность, как для экстрактов корней, так и экстрактов надземной части. AOA водно-этанольных и водно-ацетоновых экстрактов *G.collinum* и *A.asiatica* достоверно коррелировала с содержанием ФС.

Таблица 2.

In vitro α–амилазная и α–глюкозидазная ингибиторная активность экстрактов *A.asiatica* и *G.collinum*

Экстрагент/ растение	IC ₅₀ , мг/мл					
	96% этанол	70% этанол	50% этанол	70% ацетон	хлороформ	этилацетат
α–амилазная ингибиторная активность (IC ₅₀ акарбозы = 0, 09 мг/мл)						
<i>A.asiatica</i> корень	НА*	1,63	1,95	5,63	НА	1,52
	лист	НА	1,66	4,21	5,75	0,92
<i>G.collinum</i> корень						
	1,34	0,37	0,49	4,03	НА	НА
надз.часть	0,54	0,98	2,25	5,67	НА	НА
α–глюкозидазная ингибиторная активность (IC ₅₀ акарбозы = 3,32 мг/мл)						
<i>A.asiatica</i> корень	2,41	1,63	2,97	4,13	-	2,83
	лист	-	3,15	5,92	6,31	-
<i>G.collinum</i> корень	1,54	0,63	2,07	1,62	-	2,83
	надз.часть	2,25	3,19	4,12	2,98	-
НА* - низкая активность, меньше 50% для всех испытанных концентраций						

Гликемическую активность экстрактов тестировали *in vitro* по их влиянию на ключевые гидролитические ферменты желудочно-кишечного тракта - α-амилазу и α-глюкозидазу, контролирующих постпрандиальную гипергликемию. Для экстрактов *G.collinum* и *A.asiatica* была установлена значительная α–глюкозидазная ингибиторная активность. Для количественной оценки ингибиторной активности использовали величину

эффективной дозы, IC_{50} , равную количеству экстрактивных веществ, на 50% подавляющих исходную активность фермента. Значение IC_{50} определяли на основании зависимости процента ингибирования от концентрации экстрактивных веществ. Сравнение эффективности растительных ингибиторов проводили с акарбозой, коммерческим синтетическим ингибитором α -амилазной и α -глюкозидазной активности, широко используемым в терапии СД 2-го типа. Полученные данные отражены в таблице 2.

Максимальная α -глюкозидазная ингибиторная активность установлена для 70% этанольного экстракта корней *G.collinum* ($IC_{50}=0,63\pm0,05$ мг/мл), что в 5 раз ниже эффективной дозы акарбозы ($IC_{50}=3,32\pm0,19$ мг/мл). Высокая ингибирующая активность, в 2 раза превышающая эффективность акарбозы, показана для 96% этанольного экстракта корней *G.collinum* ($IC_{50} = 1,54 \pm 0,09$ мг/мл) и 70% этанольных экстрактов корней *A.asiatica* ($IC_{50} = 1,63 \pm 0,09$ мг/мл). Значительная часть исследованных экстрактов характеризовалась близким или сопоставимым с акарбозой значением α -глюкозидазной ингибиторной активности. Установлена прямо пропорциональная зависимость общего содержания ФС и α -глюкозидазной ингибиторной активности *in vitro* для некоторых экстрактов *G.collinum*. α -Амилазная ингибиторная активность исследованных экстрактов была значительно ниже активности акарбозы. Максимальная ингибиторная активность определена для водно-этанольных экстрактов корней *G.collinum* ($IC_{50} = 0,37$ мг/мл, 70% этанол; $IC_{50} = 0,49$ мг/мл, 50% этанол). Максимальная α -амилазная ингибиторная активность у *A.asiatica* установлена для хлороформного экстракта корней ($IC_{50} = 0,92$ мг/мл). Для большинства исследованных экстрактов 50% эффект ингибирования достигался при концентрациях экстрактивных веществ 1,6-8,7 мг/мл, что в 15-90 раз ниже активности акарбозы.

Список литературы.

1. Kubinova R., Jankovska D., Bauerova V. Antioxidant and α -glucosidase inhibition activities and polyphenol content of five species of *Agrimonia genus* // Acta Fytotech. Zootech. -2012.- Vol. 2. –P. 238–241.
2. Ahmad B., Ismail M., Iqbal Z., Choudhary M. I. Biological activities of *Geranium wallichianum* // Asian Journal of Plant Sciences. -2003. – Vol. 2. –P. 971–973.
3. Singleton V.L., Rossi J.A.. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdicphoungstic acid reagent // Am. J. Enol. Vitic. - 1965. - Vol. 16. - P. 144-158.
4. Государственная фармакопея СССР 9-е изд. М., 1990.- Вып. 2. - 398 с.

-
5. Benzie I.F.F., Strain J.J. The ferric reducing ability of Plasma (FRAP) as a measure of "Antioxidant Power": The FRAP assay //Anal. Biochem. – 1996. – V. 239. – P. 70 - 76.
 6. Koleva I.I., Van Beek T.A., Linssen J.P.H., De Groot A., Evstatieva L.N. Screening of plant extracts for antioxidant activity: a comparative study on three testing methods // Phytochem. Anal. -2002. – Vol. 13 – P. 8 – 17.
 7. Pellegrini R. Re, N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C.A. Antioxidant Activity Applying an Improved ABTS Radical Cation Decolorization Assay // Free Radical Biol. Med. -1999. – Vol. 26. – P. 1231–1237.
 8. Narkhede M. B., Ajimire P. V., Wagh A. E., Manoj M., Shivashanmugam A.T. *In vitro* antidiabetic activity of *Caesalpinia digyna* (R.) methanol root extract // Asian Journal of Plant Science and Research. – 2011. Vol. 1 (2). – P. 101-106.
 9. Sabitha V., Panneerselvam K., Ramachandran S. In vitro α -glucosidase and α -amylase enzyme inhibitory effects in aqueous extracts of *Abelmoschus esculentus* (L.) Moench// Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. - 2012. –Vol.2(1) - P. 162 – 164.
-

УДК 582.711.714:581.46:661.74:54.062

АЛИФАТИЧЕСКИЕ, ФЕНОЛКАРБОНОВЫЕ И ГИДРОКСИКОРИЧНЫЕ КИСЛОТЫ ЦВЕТКОВ ВИДОВ РОДА БОЯРЫШНИК СЕКЦИИ *OXYCASANTHA* L.

Сидора Н.В., Ковалева А.М., Авидзба Ю.Н.

Национальный фармацевтический университет, Харьков, Украина, тел.
+380508531819 sidora2005@rambler.ru

Фенолкарбонové и гидроксикоричные кислоты – биологически активные соединения фенольной природы, участвующие в процессах фотосинтеза и дыхания растений, обмене углеводов и липидов, в комплексе с другими веществами обладают широким спектром фармакологической активности: являются мощными антиоксидантами, оказывают иммуностимулирующее, противовирусное, противовоспалительное действие. В комплексе с флавоноидами гидроксикоричные кислоты обладают гипотензивной активностью [1]. В эксперименте установлено, что феруловая кислота обладает выраженным антиаритмическим эффектом при постишемической реперфузии миокарда у крыс [2]. Известно, что моно-, ди- и трикарбонové кислоты являются катализаторами биохимических процессов организма, активаторами тканевого дыхания, стимулируют перистальтику кишечника, улучшают пищеварение, предотвращают

образование канцерогенных нитрозаминов, обладают антимикробным действием.

В результате проведенного ранее фитохимического исследования цветков, плодов и листьев представителей рода Боярышник (*Crataegus* L.) семейства Розоцветные (*Rosaceae*) разных ботанических секций, были идентифицированы фенольные и терпеноидные соединения, жирные кислоты, аминокислоты, микроэлементы [3, 4]. С целью расширения сведений о химическом составе сырья, а также проведения в дальнейшем хемотаксономического исследования рода *Crataegus* L., нами были изучены фенолкарбоновые и гидроксикоричные кислоты цветков *Crataegus subrotunda* Klok., *C. ambigua* C.A.M. и *C. monogyna* Jacq. Все виды принадлежат к секции *Oxyacantha* L.

Материалы и методы. Объектами исследования стали образцы воздушно-сухого сырья – цветков *C. subrotunda* Klok., *C. ambigua* C.A.M. и *C. monogyna* Jacq., заготовленные в мае 2014 года в фазе бутонизации в г. Харькове (Ботанический сад Национального университета им. Н. Н. Каразина).

Для предварительного хроматографического исследования 1,0 г обезжиренного сырья помещали в коническую колбу со шлифом, заливали 10 мл 70% спирта этилового, соединяли с обратным холодильником и нагревали на водяной бане 30 минут. Полученное извлечение охлаждали и фильтровали через бумажный фильтр. Исследование с помощью бумажной хроматографии (БХ) проводили на хроматографической бумаге «Filtrak» (FN-12); «свидетелями» служили стандартные образцы кислот: винная, янтарная, яблочная, лимонная, аскорбиновая, а также салициловая, ванилиновая, сиреневая, гентизиновая, феруловая и хлорогеновая. Хроматографирование проводили в системе растворителей: этилацетат – кислота муравьиная – вода (10:2:3).

Аскорбиновую кислоту обнаруживали методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) на пластинках «Silufol» в системе растворителей: этилацетат – кислота уксусная ледяная (8:2). В качестве хромогенного реактива для кислот использовали 0,1% раствор бромтимолового синего в 96% спирте этиловом; для аскорбиновой кислоты – 0,04% водный раствор 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия; для фенолкарбоновых и гидроксикоричных кислот – свежеприготовленный щелочной раствор диазотированной сульфаниловой кислоты.

Качественный состав и количественное содержание органических кислот проводили хромато-масс-спектрометрическим методом на хроматографе Agilent Technology 6890N с масс-

спектрометрическим детектором 5973N. Для экстракции веществ из сырья использовали гексан. Условия анализа: хроматографическая колонка капиллярная DB-5 (длина 30 м, внутренний диаметр 0,25 мм); газ-носитель – гелий; температура термостата 50 °С с программированием 4°/мин. до 320 °С. Для идентификации компонентов использовали данные библиотеки масс-спектров NIST05 и WILEY 2007 с общим количеством спектров более 470000 в комплексе с программами для идентификации AMDIS и NIST. Содержание веществ рассчитывали относительно внутреннего стандарта (раствор 50 мкг тридекана в гексане) [5, 6].

Таблица 1.
Органические кислоты цветков боярышников

№ п/п	Название кислоты	Время удерживания, мин.	Содержание, мг/кг		
			<i>C. subrotunda</i> Klok.	<i>C. monogyna</i> Jacq.	<i>C. ambigua</i> C.A.M.
1	Капроновая	5.893-5.932	53.96	26.85	16.24
2	Щавелевая	10.985-11.091	6978.52	3040.05	1339.31
3	Малоновая	13.266-13.327	2562.37	1969.33	1206.54
4	Фумаровая	13.985-13.996	144.10	232.33	75.78
5	Янтарная	15.167-15.201	1763.44	1316.32	675.53
6	Салициловая	19.144-19.172	54.02	26.95	15.52
7	Яблочная	24.163-24.241	5200.20	3104.82	2019.39
8	Азелаиновая	26.377-26.388	167.07	109.61	63.07
9	Лимонная	31.452-31.491	8275.21	6286.13	2098.57
10	Ванилиновая	34.302-34.313	111.91	44.80	40.02
11	<i>p</i> -Гидроксibenзойная	39.41-39.427	526.31	341.33	208.36
12	Сиреневая	39.695-39.739	75.35	22.37	33.84
13	Гентизиновая	40.37-40.414	113.15	51.42	18.46
14	Феруловая	42.556-42.561	386.00	78.43	61.45
Итого:			26336.26	16650.74	7872.08

Результаты и обсуждение. Методом БХ в спиртовых извлечениях цветков *C. subrotunda* Klok., *C. ambigua* C.A.M. и *C. monogyna* Jacq. были идентифицированы щавелевая (Rf=0,24), янтарная (Rf=0,70), яблочная (Rf=0,52) и лимонная кислоты (Rf=0,36); пятна кислот окрасились в ярко-желтый цвет на

голубовато-синем фоне. Аскорбиновая кислота проявлялась обесцвеченным пятном на розовом фоне ($R_f=0,40$).

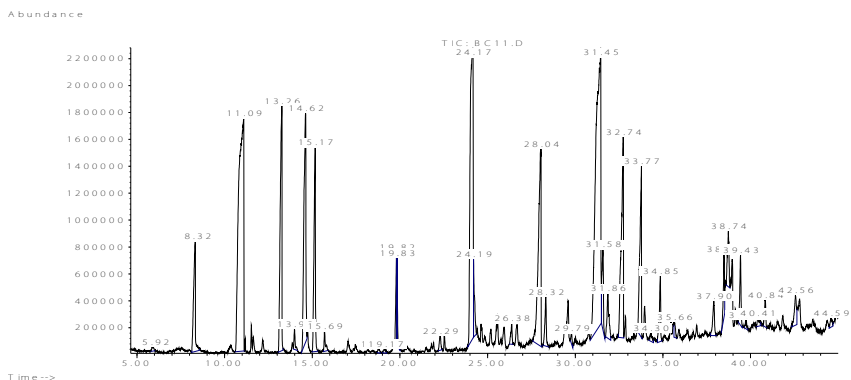


Рис. 1. Хроматограмма органических кислот цветков *C. subrotunda* Klok.

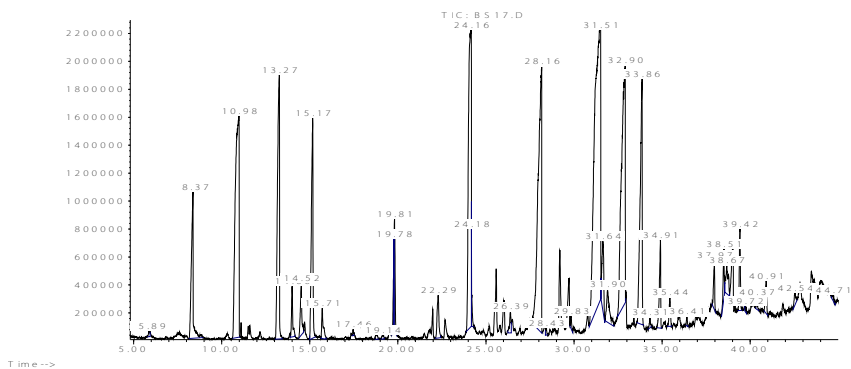


Рис. 2. Хроматограмма органических кислот цветков *C. monogyna* Jacq.

На основании сравнения значений R_f и окраски с диазореактивом пятен выявленных веществ с достоверными образцами фенолкарбоновых и гидроксикоричных кислот, во всех видах были обнаружены феруловая ($R_f=0,78$) и хлорогеновая ($R_f=0,64$) кислоты; в цветках *C. subrotunda* – салициловая, ванилиновая, сиреневая, гентизиновая кислоты.

В результате хромато-масс-спектрометрического исследования в сырье было идентифицировано 14 органических кислот, из них: 1 одноосновная карбоновая кислота – капроновая, 6 дикарбоновых кислот – щавелевая, малоновая, фумаровая, янтарная, яблочная, азелаиновая, 1 трикарбоновая кислота – лимонная, 5 фенолкарбоновых кислот – ванилиновая, *p*-

гидроксibenзойная, сиреневая, салициловая, гентизиновая, 1 гидроксикоричная кислота – феруловая (рис. 1-3, табл. 1).

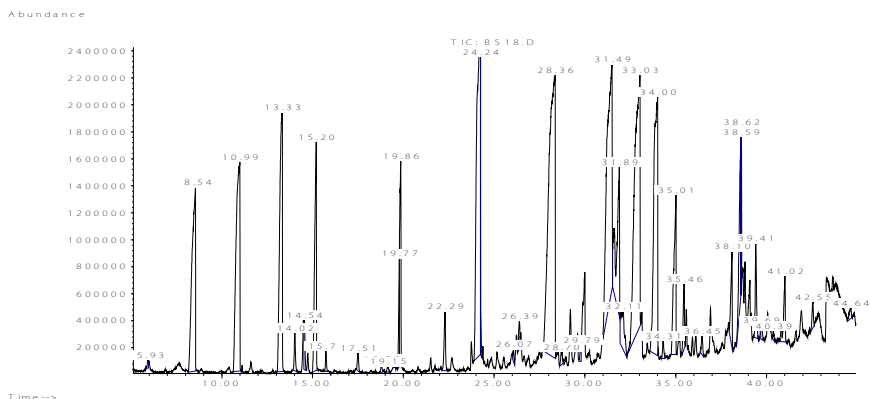


Рис. 3. Хроматограмма органических кислот цветков *C. ambigua* С.А.М.

В цветках исследуемых видов рода *Crataegus* L. секции *Oxyacantha* L. доминирующими являются лимонная, яблочная, щавелевая и янтарная кислоты. Сумма кислот в цветках *C. subrotunda* составляет 2.63%, в цветках *C. monogyna* – 1.67%, в цветках *C. ambigua* – 0.79% в пересчете на абсолютно сухое сырье.

В цветках *C. subrotunda* Klok. в пересчете от общей суммы кислот преобладают щавелевая (26.49%), малоновая (9.72%), янтарная (6.69%), яблочная (19.74%) и лимонная (31.42%) кислоты; в цветках *C. monogyna* Jacq. – щавелевая (18.25%), фумаровая (1.39%), янтарная (7.9%), лимонная (37.75%); в цветках *C. ambigua* С.А.М. – янтарная (8.58%), яблочная (25.65%), лимонная (26.65%). Феруловая кислота (1.47%) превалирует в цветках *C. subrotunda* Klok.

Выводы.

1. В результате хроматографического исследования (БХ и ТСХ) обнаружены 11 кислот: 5 алифатических – щавелевая, янтарная, яблочная, лимонная, аскорбиновая; 4 фенолкарбоновых – салициловая, ванилиновая, сиреневая, гентизиновая; 2 гидроксикоричных – феруловая и хлорогеновая.
2. Хромато-масс-спектрометрическим методом в цветках *C. subrotunda* Klok., *C. monogyna* Jacq., *C. ambigua* С.А.М. идентифицировано 14 органических кислот, из которых преобладают лимонная, яблочная, щавелевая, малоновая и янтарная кислоты.

-
3. Идентифицированы 5 фенолкарбоновых кислот: ванилиновая, *p*-гидроксibenзойная, сиреневая, салициловая, гентизиновая; 2 гидроксикоричные кислоты: хлорогеновая и феруловая.

Список литературы

1. Исследование гипотензивного действия комбинированного низкодозового препарата Фитокардин / Авидзба Ю.Н., Залюбовская О.И., Сидора Н.В., Комиссаренко А.Н. // Український журнал клінічної та лабораторної медицини, Т.6., №4. – 2011. – С.158-162.
 2. Дьяков А.А., Перфилова В.Н., Тюренков И.Н. Противоаритмическое действие феруловой кислоты // Вестник аритмологии. – № 39. – 2005. – С. 49 – 52.
 3. Современные технологии поиска растительных источников биологически активных веществ на основе многомерного таксономического анализа / А.М. Ковалева, Н.Ф. Гончаров, Н.В. Сидора, А.Н. Комиссаренко // Монография. – Москва – 2010. – 115 с.
 4. Хромато-масс-спектрометрическое исследование компонентов эфирного масла цветков *Crataegus jackii*, *Crataegus robesoniana* и *Crataegus flabellata* / А.М. Ковалева, Н. Ф. Гончаров, А.Н. Комиссаренко, Н.В. Сидора, С.В. Ковалев // Химия природных соединений, №4. – 2009. – С. 490 - 491.
 5. Methods of the chromat-mass-spectrometric research / C. Bicchi, C. Brunelli, C. Cordero, P. Rubiolo, M. Galli, A.Sironi // J. Chromatogr. A. - 2004. - № 1-2. - P.195-207.
 6. Haynes H., William M., ed. // CRC Handbook of Chemistry and Physics (92nd ed.). – CRC Press. – 2011. – pp.5–94 to 5–986.
-

УДК 615.322:615.27: 678.746.47

СОДЕРЖАНИЕ ПОЛИФЕНОЛОВ И АНТИРАДИКАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ЭКСТРАКТОВ ИЗ МОРСКИХ ВОДОРΟΣЛЕЙ ПРИБРЕЖНОЙ АКВАТОРИИ ЗАЛИВА ПЕТРА ВЕЛИКОГО, ЯПОНСКОГО МОРЕА

Спрыгин В.Г., Павлова Т.В.

ФГБУН Тихоокеанский океанологический институт им. В.И. Ильичева ДВО РАН, Владивосток, Российская Федерация, тел.: (423) 231-1400, e-mail: vsprygin@poi.dvo.ru

В настоящее время не вызывает сомнения важная роль нарушений антиоксидантного статуса организма в этиологии и патогенезе различных заболеваний человека. Механизм метаболических нарушений в организме при воздействии неблагоприятных факторов различной природы имеет

универсальный характер, в основе которого лежит активация свободно-радикальных реакций, приводящих к резкому увеличению уровня перекисного окисления липидов и обуславливающих развитие деструктивных процессов в биологических мембранах, являющихся начальным и ключевым фактором формирования патологических состояний в организме.

Традиционным подходом при профилактике подобных нарушений является введение в ежедневный рацион антиоксидантов растительного происхождения. В связи с этим актуальным является поиск новых растительных объектов, которые могли бы служить источником получения природных антиоксидантных комплексов. В последние годы все большее внимание в этом плане привлекают морские водоросли. Они представляют собой богатый природный источник биологически активных веществ. Известно, что водоросли содержат минералы, полисахариды, производные аминокислот, стеролы, каротиноиды и полифенолы. Особое внимание уделяется полифенолам из-за их высокой эффективности при применении для профилактики и лечении многих дегенеративных заболеваний, в качестве антираковых препаратов, антиоксиданты и противовоспалительных средств. Поэтому изучение полифенольных комплексов из водорослей представляет большой интерес и имеет важное значение для обоснования их применения в качестве фармакологических препаратов и пищевых субстанций антиоксидантного действия.

Доминирующей группой полифенольных соединений в бурых водорослях являются флоротаннины. Они представляют собой полимеры флороглюкинола (1,3,5 –тригидроксибензола и могут составлять по литературным данным до 15% от сухого веса бурых водорослей.

Целью настоящей работы было проведение скринингового исследования по оценке содержания общих полифенольных соединений в водно-спиртовых экстрактах полученных из ряда водорослей обычно встречающихся в прибрежных водах акватории Залива Петра Великого, Японского моря. Образцы макрофитов, относящиеся к классам бурых, красных, зеленых водорослей и морских трав были собраны в различных бухтах о. Попов акватории залива Петра Великого Японского моря. Была проведена оценка уровня антирадикальной активности полученных извлечений и ее взаимосвязи с содержанием в экстрактах общих полифенольных соединений.

Высушенные до сухо-воздушного состояния образцы водорослей экстрагировали 50% этанолом в соотношении образец

экстрагент 1:10 в течении трех дней. Полученные экстракты упаривали в вакууме досуха. Содержание полифенольных соединений в экстрактах определяли с помощью реактива Фолина-Чикалтео (Parys et al., 2007) и выражали в мг-экв галловой кислоты на грамм сухой водоросли. Антирадикальную активность экстрактов определяли по отношению к катион радикалу ABTS⁺ (Re et al., 1999) выражали в мкмольх Тролокса на мг общих полифенольных соединений (удельная антирадикальная активность) и в мкмольх Тролокса на грамм сухой водоросли (суммарная антирадикальная активность ассоциированная с полифенольной фракцией). Полученные результаты представлены в таблице.

Таблица

Название	Класс	Содержание ОПФ в мг/г ^а	АРА μ М Тролокса/мг ОПФ ^б	АРА μ М Тролокса/г ^в
<i>Codiumfragile</i>	<i>Chlorophyta</i>	0,31 $\pm$ 0,03	4,72 $\pm$ 0,23	1,46
<i>Ulva fenestrata</i>	<i>Chlorophyta</i>	0,39 $\pm$ 0,01	4,72 $\pm$ 0,19	1,84
<i>Saccharinacichorioides</i>	<i>Paeophyta</i>	4,69 $\pm$ 0,09	16,45 $\pm$ 0,95	77,15
<i>Saccharinajaponica</i>	<i>Paeophyta</i>	1,56 $\pm$ 0,03	15,10 $\pm$ 0,79	23,56
<i>Agarum cribrosum</i>	<i>Paeophyta</i>	1,54 $\pm$ 0,02	10,86 $\pm$ 0,53	16,72
<i>Sargassum pallidum</i>	<i>Paeophyta</i>	5,84 $\pm$ 0,11	6,03 $\pm$ 0,18	35,22
<i>Cystoseira crassipes</i>	<i>Paeophyta</i>	6,84 $\pm$ 0,13	9,88 $\pm$ 0,44	67,58
<i>Polyshyphonia japonica</i>	<i>Rhodophyta</i>	2,68 $\pm$ 0,02	1,85 $\pm$ 0,09	4,96
<i>Ahnfeltia tobuchiensis</i>	<i>Rhodophyta</i>	0,25 $\pm$ 0,02	0,27 $\pm$ 0,03	0,068
<i>Zosteramarina</i>	<i>Liliopsida</i>	0,75 $\pm$ 0,04	9,23 $\pm$ 0,52	6,92

^аСодержание Общих Полифенолов в мг-экв галловой кислоты на грамм сухой водоросли; ^бАнтирадикальная активность в μ М Тролокса на мг общих полифенолов;

^вАнтирадикальная активность в μ М Тролокса в пересчете на грамм сухой водоросли

Как следует из полученных данных, наибольшим содержанием общих полифенолов характеризуются бурые водоросли цистозейра толстоногая (*Cystoseira crassipes*) и саргассум бледный (*Sargassum pallidum*), где оно составляет 6,84 и 5,84 мг-экв галловой кислоты на грамм сухой водоросли. Высокое содержание полифенольных соединений было отмечено сахарине

цикориевидной (*Saccharina cichorioides*), которое составило 4,69 мг-экв галловой кислоты на грамм сухой водоросли. В образцах макрофитов агаруме продырявленном (*Agarum cribrosum*) и сахарине японской (*Saccharina japonica*) данный показатель составил порядка 25% от такового у *C. crassipes* и *S. pallidum*. Зеленые водоросли в отличие от бурых не содержат флоротанинов, что обуславливает более низкое содержание в них полифенольных соединений. Так все образцы зеленых макрофитов (*Codium fragile* и *Ulva fenestrata*), собранные в различных бухтах острова Попов содержали 0,3 – 0,39 мг-экв галловой кислоты на грамм сухой водоросли. Образец красной водоросли полисифонии японской (*Polysiphonia japonica*) характеризовался относительно высоким содержанием полифенольных соединений, которое составляло 2,68 мг-экв ГК на грамм сухой водоросли, тогда как аналогичный показатель для анфельции тобучинской (*Ahnfeltia tobuchiensis*) был почти в 10 раз ниже. Низкий уровень содержания полифенольных соединений отмечали также в образце zostеры морской (*Zostera marina*).

Как видно из результатов, представленных в таблице, самая высокая удельная антирадикальная активность была характерна для бурых водорослей, что обусловлено содержанием в составе полифенольного комплекса флоротанинов с высокой антиоксидантной активностью. При этом для макрофитов *S. cichorioides* и *S. japonica* удельная антирадикальная активность превышала таковую для других представителей бурых водорослей *A. cribrosum*, *S. pallidum*, *C. crassipes* в 1,5 – 2 раза (см. табл). Относительно высокая удельная антирадикальная активность отмечена у образцов зеленых водорослей, однако, по мнению авторов она может быть обусловлена присутствием аскорбиновой кислоты, содержание которой, например, в *U. fenestrata* может достигать 190 мг на 100 г сухой водоросли, при этом аскорбиновая кислота способна также вступать в реакцию с реактивом Фолина-Чикалтео, давая характерное для полифенольных соединений окрашивание. Высокой удельной антирадикальной активностью отличался полифенольный комплекс *Z. marina*, что на наш взгляд может быть обусловлено содержанием аналогов вторичных метаболитов наземных растений лютеолина и его сульфатов.

Одним из важных показателей при выборе вида сырья для получения полифенольных комплексов представляется суммарная антирадикальная активность ассоциированная с полифенольной фракцией рассчитанная на грамм сухой водоросли. Данный показатель отражает качественную и количественную характеристики комплекса полифенолов, который возможно

получить при переработки единицы веса сухой водоросли и представляет собой сбалансированный количественный коэффициент возможного продукта, выраженный в мкмольях эталонного антиоксиданта сравнения Тролокса. Как следует из таблицы, наиболее высокой суммарной антирадикальной активностью характеризуются образцы макрофитов, относящихся к классу бурых водорослей *S.cichorioides*, *S. pallidum* и *C. crassipes*, которые представляют наибольший интерес с точки зрения их дальнейшего использования в качестве сырья для получения комплексов полифенольных соединений с высокой антирадикальной активностью.

Дальнейшая работа по настоящему проекту будет направлена на выделение полифенольных комплексов обозначенных выше бурых водорослей, изучение их состава и антиоксидантных свойств.

Список литературы

1. Parys S., Rosenbaum A., Kehraus S. et al. Evaluation of quantitative methods for the determination of polyphenols in algal extracts// Journal of Natural Products. - 2007. - Vol. 70. - N 12.- P. 1865-1870.
2. Re R., Pellegrini N., Proteggente A. et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay// Free Radic Biol Med. - 1999. - Vol. 26. - N 9-10.- P. 1231-1237.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ПОЛИФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ОТЕЧЕСТВЕННОМ КОМПЛЕКСНОМ ФИТОПРЕПАРАТЕ «АНГИОНОРМ»

**Стручков П.А.¹, Савватеев А.М.¹, Белобородов В.Л.¹,
Воскобойникова И.В.², Колхир В.К.²**

¹ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова, Москва, Россия, +7 (985)
7818630, peter455@yandex.ru

²ЗАО «ФПК ФармВИЛАР», Москва, Россия, тел. +7 (916) 641 52 38,
kolkhir@pharmvilar.ru

Одним из направлений в фитотерапии является применение комплексных препаратов, содержащих несколько видов лекарственного растительного сырья (ЛРС). Представителем комплексных фитопрепаратов является отечественное растительное средство Ангионорм, разработанное ЗАО «ФПК ФармВИЛАР». Ангионорм представляет собой сухой экстракт смеси ЛРС: семян (плодов) конского каштана обыкновенного *Aesculus*

hippocastanum L., корней солодки *Glycyrrhiza glabra* L., плодов боярышника – *Fructus Crataegi* L., плодов шиповника – *Fructus Rosae* L. (лекарственная форма – таблетки, покрытые оболочкой) [1]. К основным биологически активным компонентам препарата относятся тритерпеновые гликозиды каштана (эсцин) и солодки (глицирризин, глицирризиновая кислота), флавоноиды и халконы солодки (ликвиритин и др), флавоноиды и производные гидроксикоричных и галловой кислот боярышника и шиповника. Препарат обладает антиагрегационным, ангиопротекторным, анальгетическим, противовоспалительным, венотоническим и диуретическим действием [1].

Проведенное нами предварительное исследование состава сухого экстракта смеси ЛРС хроматографическими методами показало, что он содержит комплекс полифенолов – флавоноидов и их гликозидов, гидроксикоричных кислот и их сложных эфиров, фенолокислот. Для оценки содержания суммы полифенольных соединения применили метод Фолина-Чокалтеу, с целью возможного его использования для стандартизации сухого экстракта и препарата.

Материалы и методы. Реактив Фолина-Чокалтеу (Scharlau, Испания), галловая кислота (98%, Акрос, Россия), натрия карбонат (ч.д.а., Реахим, Россия). Спектрофотометрическое определение проводили на спектрофотометре Cary 100 (Varian, США).

Определение суммы полифенольных соединений. Для анализа взвешивали 3 таблетки Ангионорма (точная навеска), добавляли 30 мл 30% этанола, перемешивали до распада таблеток. Раствор выдерживали 20 часов для полного растворения действующих веществ и их экстракции. Полученный раствор отфильтровывали. К 0,5 мл раствора добавляли 0,5 мл воды, центрифугировали в течение 5 мин. К 0,1 мл образца добавляли 1 мл реактива Фолина-Чокалтеу (разведенного водой в соотношении 1:4). Выдерживали при комнатной температуре 5 мин, добавляли 0,4 мл 20% раствора натрия карбоната, инкубировали раствор при 40°C в течение 30 мин. Затем добавляли 3,7 мл воды и измеряли оптическую плотность при длине волны 760 нм. Раствор сравнения готовили так же, за исключением того, что 0,1 мл образца заменяли на 0,1 мл дистиллированной воды.

Результаты и их обсуждение. В основу разработки методики положен метод [2] с небольшой модификацией. В процессе разработки методики оптимизировали следующие характеристики: соотношение количеств образца и реактива Фолина-Чокалтеу, время и температуру проведения реакции, количество добавляемого для нейтрализации и создания щелочной среды карбоната натрия.

Например, сопоставимые результаты достигаются при выдержке образца в течение 2 часов при комнатной температуре (22°C) и в течение 30 минут при 40°C. Очевидно, что нагревание образца до 40°C не разрушает комплекс исследуемых соединений и выбор был сделан в пользу данной температуры.

Наиболее употребимым параметром количественной оценки содержания полифенолов является характеристика в мг/эквивалентах галловой кислоты на 1 г сухого вещества. С этой целью получена калибровочная зависимость на основе матричного раствора галловой кислоты (4 мг/мл). Калибровочная кривая, построенная по 6 точкам в интервале 0,4-0,12 мг/мл, характеризуется уравнением прямой $y=0,0094x+0,0345$ (коэффициент корреляции $R^2=0,9995$).

Известно, что с реактивом Фолина-Чокалтеу также реагируют некоторые азотистые гетероциклы, ароматические амины, аминокислоты и енолы, в том числе и аскорбиновая кислота, реакция с которой идет в кислой среде (до добавления карбоната натрия) [2]. Для того, чтобы установить поправку на реакцию соэкстрактивных веществ, не относящихся к фенолам, было произведено исследование их возможного вклада. К 0,1 мл образца добавляли 1 мл реактива Фолина-Чокалтеу (разведен водой в соотношении 1:4). Карбонат натрия не добавляли. Через 5 минут добавляли 4,1 мл воды и проводили измерения при длине волны 760 нм. Раствор сравнения готовили также, с заменой 0,1 мл образца на 0,1 мл воды. Определение легкоокисляемых соединений показало, что абсорбция при длине волны 760 нм составляет $0,099 \pm 0,003$ ($n=5$), что может быть обусловлено имеющейся в экстракте аскорбиновой кислотой.

Восстанавливающие сахара в относительно высоких концентрациях также могут реагировать с реактивом Фолина-Чокалтеу [2], и для оценки их влияния на результат была проведена реакция с модельной смесью сахаров, соответствующей составу вспомогательных веществ таблетки. Отвешивали 141 мг сахарозы, 57 мг лактозы моногидрата, 89 мг крахмала, добавляли 10 мл 30% этанола, далее пробу готовили также, как и таблетки. Спектрофотометрическое определение проводили тем же образом, что и для образцов таблеток. С использованием модельной смеси сахаров установили, что сахара, входящие в состав таблетки, имеют незначительное поглощение и не мешают определению полифенолов с помощью реактива Фолина-Чокалтеу.

Содержание полифенольных соединений в таблетках Ангионорм (серия 10313) составило с учетом вклада легкоокисляемых соединений, не относящихся к фенолам, но

реагирующих с реактивом Фолина-Чокалтеу, $48,76 \pm 2,40$ мг GAE/г сухого экстракта ($n=5$).

Таким образом, разработанная методика определения содержания полифенольных соединений в комплексном фитопрепарате Ангионорм обладает достаточной воспроизводимостью, что позволяет рекомендовать ее в качестве способа стандартизации препарата по содержанию суммы полифенольных соединений.

Список литературы.

1. С.А. Вичканова, В.К. Колхир, Т.А. Сокольская и др. Лекарственные средства из растений (опыт ВИЛАР) — М.: АДРИС, 2009. //Ангионорм, ангиопротекторное средство — С. 47-54
2. Singleton V.L. Analysis of Total Phenols and Other Oxidation Substrates and Antioxidants by Means of Folin-Ciocalteu Reagent / V. L. Singleton, R. Orthofer, R. M. Lamuela-Raventos // Methods Enzymol. — 1999. — Т. 299 — 152–178с.

УДК 582.912.4:547.56

ФЕНОЛЬНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ ВЕРЕСКОВЫХ: ОБНАРУЖЕНИЕ, ВЫДЕЛЕНИЕ И ОПРЕДЕЛЕНИЕ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ИСТОЧНИКОВ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СРЕДСТВ

**Таланов А.А., Онегин С.В., Жаворонкова М.Е., Горькова А.С.,
Мозуль В.И., Фурса Н.С.**

Ярославский государственный медицинский университет, Ярославль,
Россия, +7 (4852) 72-66-03, andrewtalanov87@rambler.ru

Характерным признаком видов семейства вересковых (Ericaceae Juss.) является наличие разнообразных фенольных соединений. Из них наиболее изученными являются толокнянка (*Arctostaphylos uva ursi* (L.) Spreng.), брусника (*Vaccinium vitis-idaea* L.), листья которых используют как диуретическое средство, обладающее уросептическими свойствами; черника (*Vaccinium myrtillus* L.), плоды и побеги которой находят применение соответственно в качестве вяжущего и гипогликемического средства; багульник болотный (*Ledum palustre* L.), побеги которого показаны в качестве отхаркивающего средства.

В качестве объектов исследования нами использованы, кроме упомянутых выше, листья видов багульника (б. крупнолистного — *L. macrophyllum* Tolm., б. стелющегося — *L.*

decumbens (Ait.) Lodd. ex Stend., б. подбела – *L. hypolencum* Kom.), рододендрона (Р. адамса – *R. adamsii* Rehd., Р. даурского – *R. dauricum* L., Р. желтого – *R. luteum* Sweet., Р. золотистого – *R. aureum* Georgi, Р. кавказского – *R. caucasicum* Pall., Р. понтийского – *R. ponticum* L., Р. смирнова – *R. smirnovii* Trautv., Р. шлиппенбаха – *R. schlippenbachii* Maxim. и др.), Вереска обыкновенного (*Calluna vulgaris* (L.) Hull.), Голубики болотной (*Vaccinium uliginosum* L.), Грушанки круглолистной (*Pyrola rotundifolia* L.), Зимолюбки зонтичной (*Chimaphila umbellata* Pers.), Клюквы болотной (*Oxycoccus palustris* Pers.), Хамедафны прицветничковой (*Chamedaphne* ssp. Moench) и плоды брусники, голубики, клюквы, черники [8].

Цель исследования – выявить специфические особенности в накоплении отдельных групп фенольных соединений в видах различных подсемейств семейства вересковые.

Первоначально из некоторых видов, в частности, из надземных органов вереска, голубики, хамедафне, по известным методикам получали суммарные извлечения фенольных соединений с дальнейшим выделением отдельных фракций – флавоноидов, гидроксикоричных кислот, фенологликозидов, при разделении которых выделили 24 индивидуальных вещества. Изучение их химического строения осуществляли по классическим и современным методам исследования. Так, при LC/MS – анализе в плодах одного из сортов голубики, произрастающего в окрестностях г. Костромы, идентифицировали кемпферол, кверцетин, мирицетин, кверцетагенин, 3-О-β-D – галактопиранозид кверцетина, 3-О-β-D – глюкопиранозиды мирицетина, кверцетагетина, 6,7 – диметокси - 3', 4', 5 – тригидроксифлавона, 3-О-L – арабинопиранозиды кверцетина, мирицетина и кверцетагетина, рутин.

При сравнительном анализе качественного состава флавоноидных агликонов и гликозидов оказалось, что он наиболее разнообразен в надземных органах вереска обыкновенного (подсемейство Ericoideae Drude), представленный гликозидами кемпферола, кверцетина, мирицетина, изорамнетина, гербацетина, таксофолина, апигенина) и толокнянки (подсемейство Arbutoidae (Drude) E. Busch) – кемпферола, кверцетина, мирицетина, лютеолина; несколько меньше – рододендронов, багульников (подсемейство Rhododenroidae Drude) и брусничных (подсемейство Vaccinoidae Drude), беднее всего – грушанковых (подсемейство Pyroloidae Drude) и хамедафне (подсемейство Andromedoidae (Drude) E. Busch). В последней выявлены преимущественно гликозиды кверцетина.

Доминирующими флавоноидными компонентами упомянутых выше вересковых является кверцетин и его гликозиды (гиперозид - вереск, рододендроны, багульники, толокнянка, зимолюбка, грушанка и рутин – другие анализируемые виды).

При ВЭЖХ-анализе отмечен во всех видах разнообразный состав гидроксикоричных кислот, представленных о-кумаровой, коричной, кофейной, феруловой, хлорогеновой, неохлорогеновой и другими кислотами.

Во всех видах содержались фенологликозиды, среди которых преобладал арбутин, и дубильные вещества.

Количественное определение гидроксикоричных кислот и фенологликозидов провели прямым спектрофотометрированием (в пересчете соответственно на хлорогеновую кислоту и арбутин), флавоноидов – дифференциальной спектрофотометрией после реакции комплексообразования с алюминия хлоридом (в пересчете на гиперозид или рутин), дубильных веществ – по фармакопейной методике [1-7].

Из определений следует, что фенологликозидов больше всего содержалось в листьях толокнянки (3,15 – 20,50%), зимолюбки (6,74 – 16,91%), рододендрона даурского (12,80 %), грушанки (2,75 – 12,69%), брусники (7,74 – 10,10%), багульника болотного (3,13 – 7,64%); флавоноидов – голубики (2,07 – 4,35%), рододендронов Адамса (3,09%), кавказского (3,09%) и даурского (1,85%), грушанки (0,51 – 2,29%); гидроксикоричных кислот – в листьях вереска (9,13%), черники (7,70%), голубики (7,42%), багульника болотного (4,95%); дубильных веществ – в листьях толокнянки (33,55%), зимолюбки (30,95%), рододендрона желтого (19,14%), кавказского (17,42%), брусники (15,55%), голубики (14,63%). Содержание фенольных соединений в плодах значительно ниже, чем в листьях.

Следовательно, виды из различных подсемейств характеризуются не только разнообразным составом фенольных соединений, но и значительным их содержанием, что в известной мере обуславливает возможности использования наряду с официальными видами других вересковых в качестве антисептических, кровоостанавливающих, вяжущих и противовоспалительных средств, показанных в лечении болезней почек, мочевыводящих путей, хронических диарей, ран и др.

Список литературы.

1. Государственная Фармакопея СССР. – XI изд., вып. 1. – М.: Медицина, 1987. – 335 с.; вып. 2. – М.: Медицина, 1990. – 398 с.

-
2. Жаворонкова, М.Е. Сравнительное изучение европейских и азиатских видов рода *Rhododendron* L. флоры России: автореф. дис. ... канд. фармац. наук. – Пермь, 2012. – 22 с.
 3. Коротаева, М.С. Фармакогностическое изучение четырех видов рода *Ledum* L.: автореф. дис. ... канд. фармац. наук. – Пермь, 2006. – 23 с.
 4. Мазепина Л.С. Сравнительное фармакогностическое изучение грушанки круглолистной, зимолюбки зонтичной и толокнянки обыкновенной: автореф. дис. ... канд. фармац. наук. – Москва, 2010. – 24 с.
 5. Марсов, Н.Г. Фитохимическое изучение и биологическая активность брусники, клюквы и черники: автореф. дис. ... канд. фармац. наук. – Пермь, 2006. – 24 с.
 6. Онегин, С.В. Фармакогностическое изучение вереска обыкновенного (*Calluna vulgaris* (L.) Hull.): автореф. дис. ... канд. фармац. наук. – Пермь, 2008. – 24 с.
 7. Таланов, А.А. Фармакогностическое изучение голубики болотной (*Vaccinium uliginosum* L.): автореф. дис. ... канд. фармац. наук. – Пермь, 2013. – 23 с.
 8. Флора СССР. Семейство Ericaceae / Под. ред. В.Л. Комарова. - Т.18. – М. – Л.: Изд-во АН СССР, 1952. – С. 8-104.
-

УДК663.252.31

ЭКСТРАКЦИЯ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ВИНОДЕЛИИ

Третьякова В.О., Макагонов А.Ю., Брановицкая Т.Ю.

Таврическая академия Крымского федерального университета имени В.И. Вернадского, Симферополь, Крым, Россия, тел. +7-978-762-3367, e-mail: veronik-flower@mail.ru

Особая роль биологической ценности винограда принадлежит фенольным соединениям, которые, обладая Р-витаминной активностью, антимикробным свойствам участвуют в создании вкусовой основы и цветовой гаммы продуктов из винограда. Подвергаясь различным превращениям, фенольные вещества активно влияют на вкус, цвет и прозрачность вин. При их недос-татке вина кажутся «пустыми» и «жидкими» во вкусе, а при избытке — излишне грубыми, терпкими [1].

Извлечение фенольных, в том числе красящих, и ароматических веществ из мезги происходит в результате экстрагирования и зависит от многих факторов – степени механического и ферментативного разрушения клеток, содержащих эти соединения, температуры, условий массообмена в мезге и др. Необходимо найти наилучший способ экстракции фенольных веществ[2].

Целью исследований явилась сравнительная

технологическая оценка эффективности различных методов экстрагирования антоцианов и фенольных веществ из кожицы винограда [3].

Материалы и методы. Предметом исследований являлась мезга сортов винограда Каберне-Совиньон, Красностоп золотовский и Мерло технической стадии зрелости, полученная на поточной линии переработки винограда с центробежной дробилкой-гребнеотделителем ЦДГ-20А (ГП Винзавод "Алушта" НПО "Массандра", 2008 г.).

Таблица 1.

Показатели	Сорт винограда		
	Красностоп золотовский	Мерло	Каберне-Совиньон
Массовая концентрация фенольных веществ (сумма), мг/дм ³	1130	2100	2265
Массовая концентрация антоцианов, мг/дм ³	265	1060	1375

Таблица 2.

Вариант опыта	Красностоп золотовский		Мерло		Каберне-Совиньон	
	Фенольные	Антоцианы	Фенольные	Антоцианы	Фенольные	Антоцианы
1	2	3	4	5	6	7
Нагревание мезги до 50°C	0,876	0,717	0,840	0,764	0,821	0,625
Нагревание мезги до 60°C	0,894	0,792	0,886	0,792	0,848	0,673
Обработка ферментным препаратом Trenolin opti (доза 1,5 мг/дм ³)	0,912	0,830	0,890	0,863	0,874	0,684
Обработка ферментным препаратом Trenolin opti (доза 2,0 мг/дм ³)	0,956	0,906	0,938	0,901	0,923	0,716
Обработка ферментным препаратом Trenolin Color DF (доза 1,5 мг/дм ³)	0,929	0,868	0,895	0,887	0,883	0,698

Тепловая обработка мезги перед сбраживанием проводилась при температурах 50 и 60 оС[2].

Для ферментативной обработки мезги использовали препараты Trenolin opti и Trenolin Color DF (Германия). Доза вносимого препарата составляла 1,5 и 2,0 мг/дм³.

Механическое воздействие на мезгу осуществлялось двумя способами: путем перемешивания мезги мешалкой через каждые 8 ч (контроль) и с помощью низкочастотного вибрационного

воздействия (частота 50 Гц, амплитуда колебаний 4 мм). Мезга подвергалась вибрационному воздействию в течение 3 и 5 мин.

Результаты и обсуждение. В результате проведенных исследований получены данные, представленные в табл. 1 и 2.

Степень экстракции фенольных веществ и антоцианов при различных способах обработки мезги (в ед. от технологического запаса).

Анализ полученных данных показывает, что наиболее эффективным способом экстрагирования из сравниваемых вариантов обработки мезги является ферментативный способ (препарат Trenolin Color DF, доза 2,0 мг/дм³). Хорошие результаты достигаются при тепловой обработке мезги (нагревание до 60°C) и механическом воздействии (периодическое перемешивание мешалкой и низкочастотное вибрационное воздействие), а также при брожении мезги в среде диоксида углерода [2]. Однако, если учитывать экономические аспекты технологического процесса экстрагирования с позиций ресурсо- и энергосбережения, то анализ показывает, что оптимальный результат достигается при применении механических способов воздействия на мезгу, в особенности, если для этих целей использовать энергию газа брожения.

Таблица 3.

1	2	3	4	5	6	7
Обработка ферментным препаратом Trenolin Color DF (доза 2,0 мг/дм ³)	0,965	0,943	0,938	0,906	0,927	0,731
Брожение мезги с погруженной шапкой"	0,867	0,660	0,829	0,840	0,826	0,622
Брожение мезги с плавающей "шапкой"	0,850	0,566	0,786	0,755	0,786	0,585
Брожение мезги в среде диоксида углерода	0,876	0,623	0,833	0,802	0,821	0,615
Вибрационная обработка в течение 3 мин.	0,788	0,491	0,781	0,717	0,797	0,582
Вибрационная обработка в течение 5 мин.	0,805	0,509	0,824	0,750	0,828	0,615
Периодическое перемешивание мезги (производственный опыт) – контроль	0,823	0,528	0,819	0,783	0,808	0,618

Заключение. На основании проводимых исследований по изучению способов экстракции фенольных, в том числе и красящих

веществ, методам брожения мезги и оборудования, используемого для их осуществления, предложен комплекс технологических приёмов по интенсификации процесса экстрагирования фенольных и красящих веществ, предусматривающий использование низкочастотной вибрации (5 мин), нагревания мезги (температура 60°C) и ферментной обработки мезги препаратом "Тренолин опти" (доза 2 мг/дм³), увеличивающие степень извлечения фенольных веществ и антоцианов (до 85-94 % от технологического запаса) [3].

Список литературы

1. Виноградов В.А. Оборудование винодельческих заводов.- Т.1 / В.А. Виноградов. – Симферополь: Таврида, 2002.- 416 с.
2. Справочник по виноделию / Под ред. Г.Г. Валушко, В.Т. Косюры. Симферополь: Таврида, 2003. – 620 с.
3. Riva M., Cantarelli C., Cassani L. Estrazione dei polifenoli dalla bassa dell'uva e riduzione delle dimensioni / M. Riva, C. Cantarelli, L. Cassani // Ind. bev. – 1980.-10, №1.-P. 33-36 с.

ЗАВИСИМОСТЬ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ ДИГИДРОКВЕРЦЕТИНА ОТ ФАЗОВОГО СОСТОЯНИЯ

Тюкавкина Н.А., Селиванова И.А., Терехов Р.П., Горкавенко Ф.В.

ГБУ ВПО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России, Москва,
Россия, +79652325122, intelligent13@yandex.ru

В настоящее время установлено, что полиморфизм, т.е. способность веществ существовать в виде различных кристаллических структур, является важным фактором, влияющим на физико-химические свойства фармацевтических субстанций. Полиморфные модификации лекарственных средств существенно различаются по растворимости, гигроскопичности, химической стабильности и другим параметрам, что в свою очередь, сказывается на фармакологическом действии. Для некоторых представителей групп флавоноидов, таких как, катехины, флаваноны и флавонолы, было обнаружено участие молекул растворителя в формировании кристаллической структуры (псевдополиморфизм) и явление сокристаллизации, т.е. образование мультикомпонентного кристалла в результате соосаждения молекул флавоноида с молекулами других органических соединений, которые при обычных условиях находятся в твердом агрегатном состоянии. Выявлено, что

псевдополиморфизм и сокристаллизация в значительной степени влияют на физико-химические свойства, например растворимость, фармакокинетические параметры и биодоступность флавоноидов. Промышленно доступным представителем флавоноидов является дигидрокверцетин – 2,3-дигидро-3,5,7-тригидрокси-2-(3,4-дигидроксифенил)-4H-1-бензопиранон-4 (ДКВ).

На высокой антиоксидантной активности ДКВ базируется широкий спектр его фармакологической активности: капилляропротекторная, противовоспалительная, гиполипидемическая, гастро- и гепатопротекторная, радиопротекторная [1, 2, 3]. На основе ДКВ созданы такие лекарственные средства как Диквертин и Асковертин [4, 5, 6]. Одной из проблем создания новых лекарственных средств на базе ДКВ является низкая биодоступность, которую многие исследователи напрямую связывают с его низкой растворимостью в воде. В связи с этим предприняты попытки получения водорастворимых форм ДКВ. Работа по созданию таких форм ведется по двум основным направлениям. Первое связано с получением твердых дисперсий, образующих водорастворимые супрамолекулярные системы со вспомогательными веществами, например, арабиногалактаном (АГ), циклодекстринами [7, 8, 9]. Второе направление – микронизация ДКВ различными способами: методом осаждения из этанольных растворов с использованием в качестве антирастворителя воды [10], или суперкритического антирастворителя углерода диоксида [11]. В этих работах для нанодисперсного ДКВ выявлено повышение растворимости, биодоступности и антиоксидантной активности. Учитывая, что растворимость ДКВ в составе композиций с АГ, полученных по способу [9], оказалось повышенной, представляло интерес установить, не приводит ли сушка методом распыления к микронизации ДКВ и изменению его фазового состояния, что может служить одной из причин повышенной растворимости.

Цель работы. Исследование взаимосвязи физико-химических параметров ДКВ и его фазового состояния.

Материалы и методы. Объектом исследования служил образец ДКВ (1), полученный из древесины лиственницы даурской и высушенный методом распыления. Объектом сравнения служил стандартный образец ДКВ (2), выделенный из древесины лиственницы сибирской путем водно-ацетоновой экстракции, с последующей хроматографической очисткой методом полупрепаративной ВЭЖХ и кристаллизацией из водных растворов [12].

Фазовое состояние исследуемых образцов устанавливали

на дифрактометре ДРОН-4 (Буревестник, СПб, Россия); излучение $\text{Cu K}\alpha$; режим съемки 30 кВ, 20 мА; съемка без вращения; режим сканирования по программе EXPRESS: шаг 0,05 град/мин; время набора импульсов – 5 сек.; наполнитель при изготовлении образцов – приборное масло.

Растворимость образцов ДКВ в воде и потерю в массе при высушивании определяли согласно требованиям ГФ ХП.

Равновесную растворимость в воде исследовали методами седиментации и центрифугирования, с последующим спектрофотометрическим определением концентрации ДКВ в растворе на спектрофотометре Carry-100 (Agilent, США) в максимуме поглощения при длине волны 290 нм. В работе использовали миксер Eppendorf 5432 (Германия), режим работы 1450 встряхиваний/мин, центрифугу Eppendorf 5413, режим работы 15000 об/мин, время центрифугирования – 5 мин; пробирки для микропроб Eppendorf объемом 1,5 мл.

Результаты и обсуждение. Учитывая, что образец **1** был высушен методом распыления, представляло интерес сравнить потерю в массе при высушивании анализируемых образцов. При высушивании до постоянной массы при температуре 105°C этот показатель для образца **1** оказался равным 3,88 %, а образца **2** – 7,25 %, т.е. в 1,88 раза меньше, чем в образце **2**.

Фазовое состояние образцов оценивали методом рентгенофазового анализа. На дифрактограмме образца **2** наблюдается серия острых и высоких пиков, следовательно, образец имеет кристаллическую структуру, дифракционные пики на дифрактограмме образца **1** отсутствуют, что свидетельствует об аморфной модификации образца. Ранее для образца **2** методом рентгеноструктурного анализа было выявлено, что ДКВ кристаллизуется в хиральной пространственной группе C_2 с двумя независимыми молекулами и пятью молекулами воды [13]. Различие молекул ДКВ в ячейке является конформационным: разность углов между плоскостями гетероциклического кольца и конденсированного с ним бензольного цикла составляет $2,1^\circ$, а значения углов, характеризующих поворот плоскости дигидроксифенильной группы, относительно средней плоскости гетероциклического кольца составляет $76,4^\circ$ для одной молекулы и $81, 8^\circ$ – для другой. Учитывая наличие молекул растворителя в ячейке и конформационное различие молекул, образец **2** может быть охарактеризован как псевдополиморфная конформационная модификация.

Понятие растворимости в области анализа лекарственных средств характеризует приблизительную растворимость и

учитывает примерное количество растворителя, необходимого для растворения 1 г вещества. В результате определения этого показателя образец **1** был отнесен к категории «мало растворим», а образец **2** – к категории «очень мало растворим». Показатели равновесной растворимости, полученные методами седиментации и центрифугирования, хорошо согласуются между собой. По данным этих методов растворимость аморфной модификации в 2,6 раза превышает растворимость кристаллической.

Выводы. Установлена взаимосвязь между фазовым состоянием ДКВ и его физико-химическими параметрами. По результатам рентгеноструктурного и рентгенофазового анализа фазовые состояния ДКВ охарактеризованы как аморфная (образец **1**) и псевдополиморфная конформационная (образец **2**) модификации. Продолжается изучение и сопоставительный анализ антиоксидантных и фармакологических свойств этих образцов.

Список литературы.

1. Kolhir V.K., Bykov V.A., Baginskaja A.I. et al. Antioxidant Activity of Dihydroquercetin Isolated from *Larix gmelinii* (Rupr.) Rupr. Wood // Phytother. Res. 1996. № 10. P. 478-482.
2. Teselkin Yu.O., Babenkova I.V., Kolhir V.K. et al. Dihydroquercetin as a Means of Antioxidative Defence in Rats with Tetrachloromethane Hepatitis // Phytother. Res. 2000. № 14. P. 160-162.
3. Teselkin Yu.O., Babenkova I.V., Tjukavkina N.A. et al. Influence of Dihydroquercetin on the Lipid Peroxidation of Mice During Post-radiation Period // Phytother. Res., 1998, 12, p. 517-519.
4. Плотников М.Б., Тюкавкина Н.А., Плотникова Т.М. Лекарственные препараты на основе дигидрокверцетина. Томский университет. 2005. 224 с.
5. Plotnikov M.B., Aliev O.I., Tyukavkina N.A. et al. Hemorheological Effects of Antioxidant Complex Comprising Dihydroquercetin and Ascorbic acid (Ascovertin) – A New Aspect of Antioxidants Application // Frontiers in antioxidants research. H.V. Panglossi (Ed.), Nova Science Publishers Inc. New York. 2006. P. 103-132.
6. Plotnikov M.B., Logvinov S.V., Suslov N.I. et al. The Neuroprotective Effect of Antioxidant Complex Comprising Dihydroquercetin and Ascorbic acid in Cerebral Ischemia // New trands in brain hypoxia ischemia research. E. Härmäläinen (Ed.). Nova Science Publishers Inc. New York. 2007. P. 93-134.
7. Душкин А.В., Метелева Е.С., Чистяченко Ю.С. и др. Механохимическое получение и свойства твердых дисперсий, образующих водорастворимые супрамолекулярные системы // Фундаментальные исследования. 2013. № 1. С.741-749.
8. Zu Y., Wu W., Zhao X. et al. The high water solubility of inclusion complex of taxifolin- γ - CD prepared and characterized by the emulsion solvent evaporation and the freeze drying combination method // Int. J. Pharm.

-
2014. V. 477. P. 148-158.
9. Остронков В.С., Лашин С.А. Супрамолекулярный комплекс, обладающий противовоспалительной и ангиопротекторной активностью и способ его получения // Патент РФ 2533231. Бюл. № 32. 2014.
 10. Zu Y., Wu W., Zhao X. et al. Enhancement of solubility, antioxidant ability and bioavailability of taxifolin nanoparticles by antisolvent precipitation technique. *Int. J. Pharm.* 2014. V. 471. P. 366-376.
 11. Zu S., Yang L., Huang J. et al. Micronization of Taxifolin by Supercritical Antisolvent Process and Evaluation of Radical Scavenging Activity // *Int. J. Mol. Sci.* 2012. V. 13. P. 8869-8881.
 12. Тюкавкина Н.А., Хуторянский В.А., Колесник Ю.А. и др. Способ выделения дигидрокверцетина. Патент РФ 2114631. Бюл. № 9. 1998.
 13. Селиванова И.А., Тюкавкина Н.А., Колесник Ю.А. и др. Исследование кристаллической структуры дигидрокверцетина // *Хим.-фарм. журн.* 1999. № 4. С. 51-53.
-

УДК544.77

ФЕНОЛЬНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ В НАНОТЕХНОЛОГИИ

Филиппов А.Г.

ФГБНУ Общей патологии и патофизиологии, Москва, Россия,
algf@yandex.ru

Наиболее известное применение фенольных соединений в нанотехнологии – использование в синтезе наночастиц металлов. Фенольные соединения восстанавливают ионы металла и одновременно продуктами окисления стабилизируют наночастицы, предотвращая их агрегацию. Учитывая значения окислительно-восстановительного потенциала фенольных соединений, их (в первую очередь производные пирокатехина и пирогаллола) возможно применять для синтеза растворов наночастиц серебра и золота, однако, полифенолы не способны восстановить до металлического состояния активные металлы (железо, кобальт, цинк). Окислительный потенциал фенольных соединений является рН-зависимым и падает с ростом рН, например, E° кверцетина около 0,5 В при рН = 2 и около 0,05 В при рН = 9[1], поэтому синтез эффективно проводить в щелочной среде, при этом ионы серебра можно удерживать в растворе, избегая гидролиза, в виде амминокомплекса.

Фенол и его производные не являются эффективными восстановителями ионов серебра при комнатной температуре, незамещенный пирокатехин и пирогаллол не дают стабильных

растворов наночастиц серебра (AgHЧ), а замещенные пирокатехин и пирогаллол позволяют быстро синтезировать AgHЧ , так добавлением к водному раствору нитратадиамминосеребра ($[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]\text{NO}_3$) в концентрации 0,8 мМ спиртового раствора рутина (0,125 мМ) был получен стабильный в течение длительного времени (по крайней мере более трех лет) раствор AgHЧ . Средний размер AgHЧ составлял 10 нм. Кофейная кислота также позволяет получать стабильные растворы AgHЧ посредством добавления к водному раствору нитрата серебра кофеата натрия, размер наночастиц варьирует от 10 до 30 нм и средний составляет 14 нм. Также были получены AgHЧ с использованием полимерных фенольных соединений (олигомеров диоксан-лигнина, ДОФА-меланина, гидрохинон-формальдегида). Для придания дополнительной агрегативной стабильности в растворах высокой ионной силы, например, физиологическом растворе к растворам AgHЧ добавляли спиртовой раствор фосфатидилхолина до концентрации 0,4 мМ. Картина дифракции электронов на всех препаратах AgHЧ отвечала гранецентрированной кубической решетке серебра.

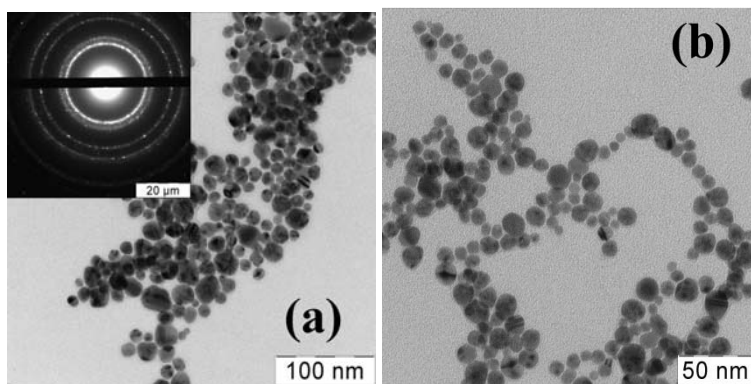


Рис. 1. Электронная микрофотография AgHЧ синтезированных с использованием кофеата натрия (а), рутина (b) и картина дифракции электронов, подтверждающая образование фазы металлического серебра (а, вставка).

Учитывая широкую распространенность фенольных соединений в растениях, естественно использовать их экстракты в качестве восстановителей и одновременно стабилизаторов в синтезе наночастиц серебра и золота, так AgHЧ среднего размера 9 нм быстро образуются при внесении спиртового экстракта зеленого чая в водный раствор $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]\text{NO}_3$ с концентрацией 0,8

мМ. Так же AgНЧ среднего размера от 5 до 30нм были получены с использованием других богатых полифенолами растительных экстрактов (сухого красного вина, растворимого кофе, экстракта коры дуба, *Rhodiola rosea*, *Eucalyptus viminalis*). При этом интенсивность характеристической полосы плазмонного поглощения AgНЧ при 400 - 420 нм была пропорциональна содержанию фенольных соединений в экстракте. Оценка содержания фенольных соединений в экстракте, определяемая таким образом, хорошо коррелировала ($R^2=0,96$) с известным методом оценки содержания фенольных соединений, основанном на образовании окрашенной турнбулевой сини.

Фенольные соединения могут быть иммобилизованы на различные нанообъекты. Например, фенольные соединения, имеющие в молекуле NH_2 -группу, могут быть «пришиты» на наноллисты оксида графена, посредством реакции аминогрупп с оксидановыми группами оксида графена. Таким образом, были получены наноллисты оксида графена, модифицированные дофамином и ДОФА. Добавление водного раствора $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]\text{NO}_3$ к водному раствору ДОФА (или дофамин)-модифицированного оксида графена приводит к образованию AgНЧ среднего размера 20-50 нм на нанолликах.

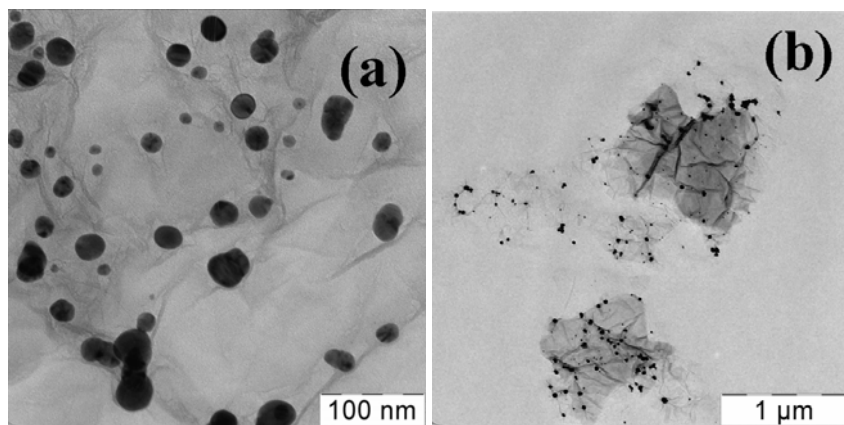


Рис. 2. AgНЧ (0,2мМ) синтезированные на дофамин-модифицированном (а), и ДОФА-модифицированном оксиде графена (б).

При внесении в воду спиртовых или ДМСО растворов нерастворимых в воде фенольных соединений образуются коллоидные растворы. Агрегаты молекул фенольных соединений могут быть различных размеров в зависимости от используемых

концентраций, так при введение 0,5 мМ спиртового раствора кверцетина в воду до конечной концентрации 60 мкМ формируются растворы самоорганизующихся наночастиц размером 15 нм стабильные по крайней мере в течение нескольких недель.

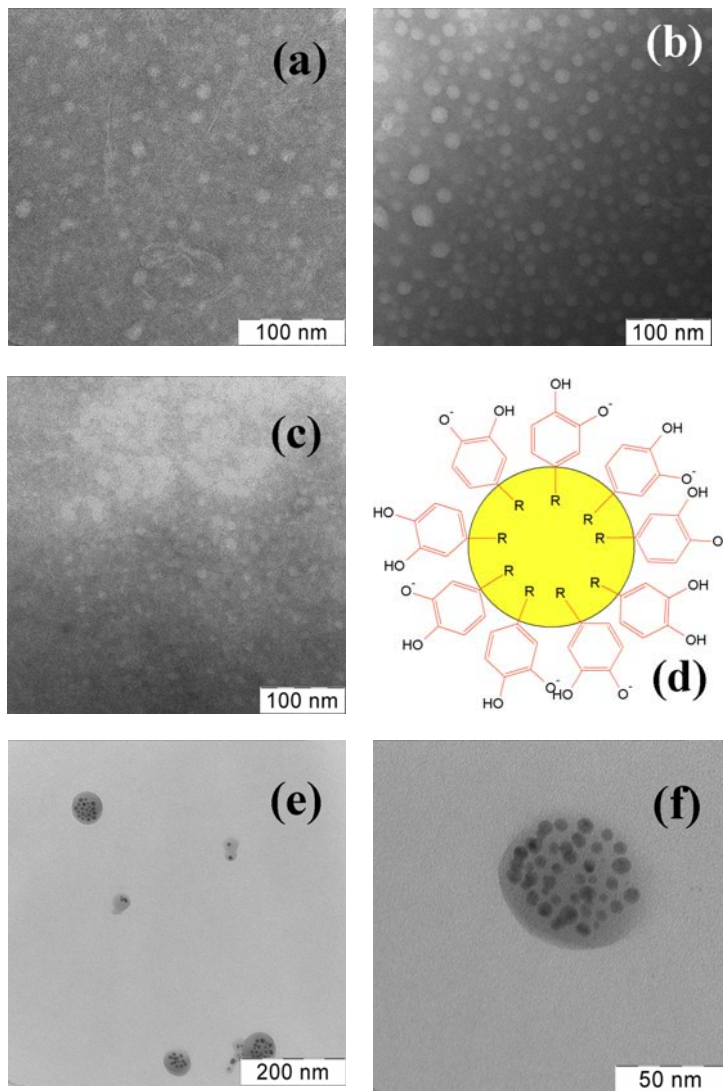


Рис. 3. Электронные микрофотографии, сделанные по методу обратного

контраста, органических наночастиц: кверцетина (а), прополиса (b), экстракта зеленого чая (с) и AgНЧ синтезированных внутри наночастиц прополиса (е, f).

Аналогично были получены наночастицы прополиса. Учитывая, что его основные компоненты - кофейная кислота и её эфиры, флавоноиды и терпены, можно предположить, что наночастицы прополиса имеют гидрофобное ядро образованное терпенами, метоксилированными флавоноидами и дифильную оболочку эфиров кофейной кислоты. Наночастицы стабилизируются посредством взаимного электростатического отталкивания, заряд на поверхности наночастиц возникает при диссоциации фенольных групп.

Ранее в ряде работ получали наноразмерные агрегаты компонентов экстракта чая, наночастицы куркумина с противоопухолевыми свойствами, была показана способность наноагрегатов органических соединений вызывать частичную денатурацию белков, неселективно ингибировать ферменты, кроме того, усвояемость малорастворимых полифенолов пищи (вина, чая, соков) может зависеть от степени их дисперсности. Безусловно, изучение самоорганизующихся органических наночастиц необходимо для развития фармакологии и особенно фитофармакологии, так как биологическое действие многих фитопрепаратов обусловлено действием полифенолов, которые часто являются мало – или нерастворимыми в воде веществами.

Наночастицы фенольных соединений были использованы для получения иммобилизованных AgНЧ. Добавлением раствора $[Ag(NH_3)_2]NO_3$ в недостатке к раствору наночастиц фенольных соединений были получены AgНЧ размером от 3 до 30 нм на агрегатах молекул рутина размером от 130 до 280 нм и AgНЧ размером около 6 нм внутри наночастиц прополиса с размером 30 - 60 нм.

Список литературы.

1. Timbola A.K., Souza C.D., Giacomelli C., Spinelli A. Electrochemical oxidation of quercetin in hydro-alcoholic solution //J. Braz. Chem. Soc.2006. V. 17.P. 139.

АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ И ГЕПАТОПРОТЕКТОРНЫЙ ЭФФЕКТ ПОЛИФЕНОЛЬНОГО КОМПЛЕКСА ИЗ ЖИМОЛОСТИ

Фоменко С.Е.

ФГБУН Тихоокеанский океанологический институт им. В.И. Ильичева ДВО
РАН, Владивосток, Россия, (423) 231-30-61, e-mail: sfomenko@poi.dvo.ru

В последнее время проводится большое количество исследований, посвященных изучению терапевтических эффектов извлечений из фруктов и ягод, традиционно употребляемых в пищу, в предупреждении различных заболеваний. Ягоды являются богатым источником обширной группы антиоксидантных полифенолов, включая антоцианы, проантоцианидины, флавоноиды, фенольные кислоты и др. [1]. Высокая антиоксидантная способность полифенолов позволяет защитить организм от проявлений оксидативного стресса, который является одной из основных причин развития болезней цивилизации (диабет, гипертония, псориаз, ожирение, цирроз печени).

Из ягодных культур особый интерес представляет синяя, съедобная жимолость (*род Lonicera*, сем. *Caprifoliaceae*). Дикорастущие виды жимолости широко представлены на востоке России (Дальний Восток, Камчатка, Сахалин). В дальневосточной жимолости съедобной содержание общих полифенолов в ягодах может варьировать от 775 до 2000 мг/100 г сухого вещества [2], а количество антоцианов достигать более 50% от общих полифенолов [3], что свидетельствует о перспективности создания на их основе растительных препаратов и биологически активных добавок с высокой антиоксидантной активностью. И хотя ягоды жимолости давно используются в пищевой индустрии благодаря своему уникальному вкусу и питательным компонентам, сообщений в литературе об их биологической активности недостаточно. В частности, отсутствуют сведения о гепатопротекторных свойствах жимолости в условиях острого и хронического воздействия гепатотоксических агентов. Кроме того, использование отходов от переработки ягодного сырья на пищевых производствах, в частности отжим после отделения сока (кожица, семена, оси соцветий), является экономически выгодным.

Целью настоящей работы явилось исследование антиоксидантной активности и гепатопротекторного действия экстракта, выделенного из высушенного отжима ягод дальневосточной жимолости (*Lonicera edulis Turcz.*), в условиях

интоксикации крыс четыреххлористым углеродом (CCl_4).

Высушенный отжим из ягод жимолости (после отделения сока) экстрагировали 40% этиловым спиртом методом реперколяции, где из 1 кг сырья выход экстракта составлял 1 л. Эксперимент проводили на белых крысах-самцах линии Вистар массой 200-220 г, содержащихся в стандартных условиях вивария. Интоксикацию животных CCl_4 осуществляли, согласно руководству для проведения доклинических испытаний [4]: крысам внутрижелудочно через зонд вводили 50%-ный масляный раствор CCl_4 из расчета 1,25 мл/кг в течение 4-х суток. Контрольным животным вводили оливковое масло в сопоставимой дозе. В качестве эталонного препарата сравнения использовали «Легалон®140» (MADAUS AG, Германия). Лекарственная форма – капсулы, содержащие 173-188,7 мг сухого экстракта из плодов расторопши пятнистой (*Silybum marianum*).

При определении химического состава экстракта доминирующей среди биологически активных соединений являлась полифенольная фракция, поэтому дозу вводимого вещества рассчитывали в мг суммы общих полифенолов (ПФ) на 1 кг массы животного. Водный раствор экстракта из плодов жимолости (предварительно освобожденный от спирта) животным вводили внутрижелудочно через зонд в дозе 100 мг/кг общих ПФ. Легалон – в виде взвеси в 1% крахмальном клейстере в той же дозе. В ходе эксперимента были выделены следующие группы животных по 10 крыс в каждой: 1-я – контроль; 2-я – внутрижелудочное введение CCl_4 в течение 4-х дней; 3-я - введение CCl_4 в течение 4-х дней с последующей отменой (депривация) в течение 7 дней; 4-я – введение экстракта из жимолости в период депривации в течение 7 дней; 5-я – введение легалона в период депривации в течение 7 дней. Крыс выводили из эксперимента декапитацией под легким эфирным наркозом с соблюдением Правил и международных рекомендаций Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург, 1986). Исследовали весовые характеристики животных и печени, биохимические показатели печени и крови.

Суммарное содержание общих ПФ в экстракте, определенное с помощью реактива Folin-Ciocalteu [5], составляло 2,5 г-экв галловой кислоты на 100 мл экстракта. Содержание общих ПФ в экстракте коррелирует с уровнем антирадикальной активности (АРА), который составлял $115 \pm 0,11$ ммоль тролокса/л. Данный показатель оценивали по способности экстракта восстанавливать органический катион-радикал ABTS^+ [6], и количественно выражали в эквивалентах тролокса –

водорастворимого аналога витамина Е.

Таблица

Влияние экстракта из жимолости и полифенольного препарата «Легалон» на весовые и биохимические параметры печени и крови крыс после интоксикации четыреххлористым углеродом ($M \pm m$, $n=10$).

Показатели	Группы животных				
	1-я Контроль	2-я CCl ₄	3-я Депри- вация	4-я Депри- вация+ жимолость	5-я Депри- вация+ легалон
Масса животных (г)	216,0± 2,33	180,8± 2,16 ³	180,8± 2,90 ³	217,0± 2,13 ^{в,е}	200,5± 2,79 ^{3,в}
Удельная масса печени (г/100 гмассы)	4,29± 0,19	5,12± 0,24 ¹	5,79± 0,19 ²	4,30± 0,08 ^{в,д}	4,93± 0,19 ^{1,б}
Общие липиды (мг/г ткани)	43,11± 2,86	140,69± 4,87 ³	120,46± 4,33 ³	45,95± 2,26 ^{в,г}	56,16± 3,44 ^в
АлАТ (ед/л)	44,60± 2,17	295,74± 8,65 ³	140,72± 5,38 ³	48,32± 2,66 ^{в,е}	63,24± 2,19 ^{3,в}
МДА (нмоль/мл плазмы)	4,22± 0,16	7,53± 0,40 ³	9,06± 0,23 ³	4,53± 0,07 ^{в,е}	5,40± 0,11 ^{3,в}
АРА (ед. тролокса/мл плазмы)	10,93± 0,33	7,68± 0,48 ³	6,64± 0,20 ³	10,60± 0,29 ^{в,г}	9,50± 0,25 ^{2,б}
СОД (усл/ед)	706,85± 16,96	253,42± 9,50 ³	211,20± 9,90 ³	708,08± 9,41 ^{в,е}	590± 12,00 ^{3,в}
Г-SH (мкмоль/г гемоглобина)	6,60± 0,17	2,94± 0,08 ³	3,40± 0,11 ³	6,93± 0,07 ^{в,е}	6,10± 0,15 ^{1,в}

Примечание: Различия статистически значимы по сравнению:

с контролем: ¹ - $p < 0,05$; ² - $p < 0,01$; ³ - $p < 0,001$;

с 3-й группой (депривация): ^а - $p < 0,05$, ^б - $p < 0,01$, ^в - $p < 0,001$;

с 5-й группой (легалон): ^г - $p < 0,05$, ^д - $p < 0,01$, ^е - $p < 0,001$.

АлАт – аланинаминотрансфераза, МДА – малоновый диальдегид, АРА – антирадикальная активность, СОД – супероксиддисмутаза, Г-SH – восстановленный глутатион.

Введение CCl₄ сопровождалось снижением массы животных на 16% ($p < 0,001$) и возрастанием удельной массы печени на 19% ($p < 0,05$), которое обусловлено увеличением количества общих липидов в 3,3 раза ($p < 0,001$) по сравнению с контролем (Таблица). В печени отмечалась зернистость жировых включений, что свидетельствует о выраженной жировой инфильтрации, характерной при интоксикации CCl₄. Кроме того, отмечалось повышение активности аланинаминотрансферазы (АлАТ) в плазме

крови более чем в 6,6 раза ($p < 0,001$). Фермент АлАТ является биохимическим маркером печеночных повреждений, а увеличение его активности связано с выходом фермента в кровь в результате повышения проницаемости мембран гепатоцитов. Активность антиоксидантных ферментов и собственно антиоксидантов, которые ингибируют образование свободных радикалов, имеет существенное значение для защиты клеток печени от воздействия CCl_4 и его метаболитов. Так, активность супероксиддисмутазы (СОД), ключевого фермента антиокислительной защитной системы, после интоксикации CCl_4 была в 2,8 раза ниже ($p < 0,001$) контроля.

Также отмечалось снижение количества восстановленного глутатиона (Г-SH) на 55% ($p < 0,001$), который являясь собственно антиоксидантом, действует как внутри клетки, так и вне ее. Такие нарушения в показателях системы антиоксидантной защиты можно определить как ее напряжение. Кроме того, выражено истощение антирадикальной защиты организма, что подтверждается снижением уровня АРА в плазме крови на 30% ($p < 0,001$). Нарушения защитной системы печени сопровождались также увеличением количества малонового диальдегида (МДА) на 78% ($p < 0,001$), что характеризует высокую активность перекисного окисления жирных кислот, входящих в состав мембранных фосфолипидов.

Через 7 дней после отмены CCl_4 (3-я группа, период депривации) весовые характеристики и большинство изученных биохимических параметров не соответствовали норме. В печени сохранялась зернистость жировых включений. По нашему мнению, период отмены токсического агента является стрессом для организма, так как стали еще больше различия с контролем и со 2-й группой для некоторых изученных биохимических показателей, а также удельной массы печени (таблица).

При введении животным в период отмены CCl_4 экстракта из отжима ягод жимолости (4-я группа) отмечалась нормализация в содержании исследованных параметров печени, а при введении препарата сравнения «Легалон®» (5-я группа) была выражена лишь тенденция к их нормализации. Так, масса тела у животных 5-й группы была ниже контроля на 8% ($p < 0,05$). При этом, удельная масса печени и содержание общих липидов превышали контроль на 15% и 30% ($p < 0,05$). Активность АлАТ была выше контрольного уровня на 42% ($p < 0,001$), что указывает на сохранение повышенной проницаемости мембран гепатоцитов. Исследование величин антирадикальной и антиоксидантной систем защиты у животных 4-й и 5-й групп выявило достоверное увеличение активности СОД, величины АРА, Г-SH и снижение уровня МДА по сравнению с

показателями в 3 группе (депривация). Можно предположить, что антирадикальную функцию выполняли полифенолы, входящие в состав растительных препаратов, как «ловушки» свободных радикалов. Однако при введении легалона, уровни Г-SH, АРА и активность СОД оставались ниже контроля (в среднем на 8-16%), а содержание МДА превышало его значения на 28% ($p < 0,001$).

Таким образом, введение экстракта из отжима жимолости и легалона сопровождалось более эффективным восстановлением изученных показателей печени, чем при депривации без применения растительных комплексов. В то же время действие экстракта из жимолости в восстановлении функции печени оказалось более эффективным, чем легалона в отношении исследуемых параметров. Экстракт из отжима ягод жимолости является перспективным источником фенольных соединений для создания препаратов и пищевых добавок с высокой антиоксидантной активностью.

Список литературы

1. Paredes-López O., Cervantes-Ceja M.L., Vigna-Pérez M., Hernández-Pérez T. Berries: improving human health and healthy aging, and promoting quality life - a review. *Plant Foods Hum Nutr.* 2010. Vol. 65, N 3. P. 299-308.
2. Wojdyło A., Jáuregui P.N., Carbonell-Barrachina A.A. et al. Variability of phytochemical properties and content of bioactive compounds in *Lonicera caerulea* L. var. *kamtschatica* berries // *J Agric Food Chem.* 2013. Vol. 61, N 49. P. 12072 – 12084.
3. A.Jurgoński A., Juśkiewicz J., Zdunczyk Z. An anthocyanin-rich extract from Kamchatka honeysuckle increases enzymatic activity within the gut and ameliorates abnormal lipid and glucose metabolism in rats. // *Nutrition.* 2013. Vol. 29, N 6. P. 898-902.
4. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. Р.У. Хабриев (ред): пер. 2-е изд. Москва, 2005. с. 832.
5. Singleton V.L., Orthofer R., Lamuela-Raventos R.M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-ciocalteu reagent // *Oxidants and Antioxidants.* Academic Press Inc., San Diego. 1999. Vol. 299. P. 152-178.
6. Re R., Pellegrini N., Proteggente A. et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS⁺ radical cation decolorization assay // *Free Radical Biology & Medicine.* 1999. Vol. 26, N 9-10. P. 1231–1237.

ФЛАВОНОИДЫ И АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ РАСТЕНИЙ ДВУХ ВИДОВ ЛАБАЗНИКА (*FILIPENDULA* MILL.) ИЗ ИНТРОДУКЦИОННЫХ ПОПУЛЯЦИЙ

Шалдаева Т.М.

ФГБУН Центральный сибирский ботанический сад СО РАН, ул.
Золотодолинская, 101, Новосибирск, 630090 (Россия),
tshaldaeva@yandex.ru

Аннотация - Изучено содержание флавоноидов и суммарной антиоксидантной активности надземной части двух видов лабазника *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim и *F. vulgaris* Moench из интродукционных популяций ЦСБС СО РАН в фазе цветения за 2013 и 2014 гг. Наибольшее количество флавоноидов обнаружено в 2014 г. в образцах лабазника обыкновенного (*F. vulgaris*) – до 8,75 % в цветках, до 4,10 % в листьях и до 1,34 % в стеблях. Оба исследованных вида лабазника проявляли разную степень антиоксидантной активности.

Ключевые слова - *Filipendula ulmaria*, *Filipendula vulgaris*, флавоноиды, антиоксидантная активность.

Лабазник вязолистный и лабазник обыкновенный - многолетние растения из семейства розоцветные (*Rosaceae*). Они обладают широким спектром фармакологического действия и используются в официальной и народной медицине. Влияние лабазника на организм человека определяется преимущественным действием флавоноидов (гиперозид, авикулярин, дипентозид кверцетина), дубильных веществ, фенольных соединений (салициловый альдегид), фенолкарбоновых кислот (кофейной, эллаговой), катехинов, эфирных масел [1,2]. Клиническое исследование спиртовых, водных и сухих экстрактов выявило наличие мощной противовоспалительной активности. Цветки лабазника разрешены к применению в качестве противовоспалительного и ранозаживляющего средства для лечения длительно не заживающих ран, язв и кожных болезней. Препараты, в том числе флавоноиды, полученные из цветков *F. ulmaria*, обладают антиоксидантной активностью. Предполагают, что флавоноиды являются не единственным классом природных соединений, обуславливающих антиоксидантную активность настоя цветков. Применение природных антиоксидантов показало ряд их преимуществ в лечении и профилактике свободнорадикальных патологий. Для большинства из них характерно эффективное воздействие на ведущие факторы повреждения, отсутствие

побочных эффектов и низкая токсичность [3]. Поэтому весьма актуальным является поиск высокоактивных природных антиоксидантов, значительные перспективы в этом отношении имеет лабазник.

Целью настоящей работы является определение содержания флавоноидов и антиоксидантной активности растений двух видов лабазника, произрастающих на интродукционном участке Центрального сибирского ботанического сада СО РАН.

Методы исследования. Объектом исследования была надземная часть растений *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim. и *F. vulgaris* Moench из интродукционных популяций в фазе цветения. Образцы растений высушивали в тени в проветриваемом помещении до воздушно-сухого состояния и измельчали в ступке до размера частиц 1-2 мм. Количественное определение флавоноидов проводили методом спектрофотометрии, используя реакцию комплексообразования с раствором алюминия хлорида в кислой среде [4]. Определение суммарного содержания антиоксидантов проводили на приборе «ЦветЯуза-01-АА» с амперометрическим детектированием [5].

Таблица 1.
Содержание флавоноидов (%) в растениях *Filipendula ulmaria* и *Filipendula vulgaris* из интродукционных популяций в фазе цветения.

Номер рас- тения	<i>Filipendula ulmaria</i>			<i>F. vulgaris</i>			<i>F. ulmaria</i>			<i>F. vulgaris</i>		
	Л.	Ц.	С.	Л.	Ц.	С.	Л.	Ц.	С.	Л.	Ц.	С.
	2013 год						2014 год					
1.	1,84	2,11	0,06	1,73	3,64	0,99	1,33	2,29	0,07	2,97	8,56	1,0
2.	1,23	2,28	0,08	1,32	4,02	1,02	1,84	2,11	0,09	3,24	7,35	1,34
3.	1,40	3,37	0,09	1,46	5,00	1,0	1,49	3,32	0,04	2,39	8,1	1,05
4.	1,30	1,80	0,05	1,40	6,05	0,72	1,35	1,90	0,06	4,1	7,52	1,08
5.	1,77	2,40	0,50	1,77	6,21	1,2	1,82	2,37	0,10	3,06	8,75	0,54
6.	1,79	3,9	0,53	1,36	4,92	0,97	1,90	5,00	0,05	2,87	6,9	1,11
7.	1,92	1,43	0,10	1,52	4,22	0,63	0,86	1,63	0,08	3,15	5,3	0,87

Примечание – Л – листья, Ц. – цветки, С. – стебли

Результаты исследования. Данные по содержанию флавоноидов и антиоксидантной активности листьев, цветков и стеблей растений двух видов лабазника в фазе массового цветения представлены в таблицах 1 и 2. За два года исследования (2013, 2014 гг.) проанализировано по 14 образцов растений, выращенных на интродукционном участке. Содержание

флавоноидов в цветках и листьях *F. ulmaria* и *F. vulgaris* в 2014 году было выше по сравнению с 2013 годом. Если в первый год исследования содержание флавоноидов в листьях *F. ulmaria* составило 1,23 - 1,92 % , а в цветках от 1,43 - 3,9 %, то на следующий год этот показатель вырос существенно - 1,63 - 5,0 %.. В листьях *F. vulgaris* в 2013 году содержание флавоноидов варьировало в листьях от 1,32 до 1,77 %, а в цветках от 3,64 до 6,21 %. В последующий год содержание флавоноидов у *F. vulgaris* было максимальным – о 2,39 - 4,1 % в листьях, 5,3 - 8,75 % в цветках и 0,54 -1,34 % в стеблях. У растений *F. ulmaria* по наибольшему содержанию флавоноидов можно выделить образцы 3,5,6, а у *F. vulgaris* - 4,5,6.

Проведенный нами анализ на суммарную антиоксидантную активность растений *Filipendula ulmaria* и *Filipendula. vulgaris* выявил, что этот показатель значительно варьирует. Самые высокие показатели антиоксидантной активности водно-спиртовых экстрактов листьев и цветков - у *Filipendula vulgaris* (2014 г.) - от 1,22 до 1,9 мг/г в цветках и от 0,43 до 0,95 мг/г в листьях. У растений *F. ulmaria* антиоксидантная активность ниже - от 1,01 до 1,64 мг/г в цветках и от 0,5 до 0,91 мг/г в листьях.

Таблица 2.

Антиоксидантная активность (мг/г) в растениях *Filipendula ulmaria* и *Filipendula. vulgaris* из интродукционных популяций в фазе цветения.

Номер рас- тения	<i>Filipendula ulmaria</i>			<i>F. vulgaris</i>			<i>F. ulmaria</i>			<i>F. vulgaris</i>		
	Л.	Ц.	С.	Л.	Ц.	С.	Л.	Ц.	С.	Л.	Ц.	С.
	2013 год						2014 год					
1.	0,37	0,73	0,12	0,27	1,02	0,03	0,69	1,03	0,04	0,95	1,56	0,02
2.	0,25	0,39	0,10	0,14	1,23	0,05	0,84	1,11	0,05	0,86	1,48	0,03
3.	0,23	0,30	0,09	0,19	1,08	0,07	0,68	1,02	0,03	0,54	1,22	0,04
4.	0,28	0,41	0,08	0,36	1,00	0,02	0,50	1,01	0,04	0,64	1,46	0,06
5.	0,56	0,99	0,18	0,29	1,61	0,04	0,91	1,46	0,02	0,43	1,52	0,02
6.	0,63	1,00	0,12	0,33	1,4	0,03	0,80	1,64	0,04	0,92	1,63	0,09
7.	0,30	0,45	0,05	0,16	1,22	0,02	0,75	1,07	0,06	0,68	1,90	0,05

Из исследованных растений двух видов лабазника выделяется образец под номером 6 с наибольшим содержанием флавоноидов и высокой антиоксидантной активностью.

Выводы - Оба изученных вида лабазника *Filipendula ulmaria* и *Filipendula. vulgaris* содержат значительное количество флавоноидов: в листьях *F. ulmaria* - 1,92 %, в цветках - 5,0%, а

максимальное содержание отмечено у *F. vulgaris* - от 4,1 % в листьях до 8,75 % в цветках. Следовательно, растения лабазника могут быть рекомендованы для использования в качестве сырья, содержащего флавоноиды.

Список литературы.

1. Горбачева А. В., Аксиненко С. Г., Пашинский В. Г. Лабазник вязолистный в фитотерапии воспалительных процессов. Томск, 2005. 299 С. 2.
2. Барнаулов О. Д., Болдина И. Г., Галушко В. В. и др. Фармакологические свойства галеновых препаратов из цветков *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim // Раст. ресурсы. – 1979. – Т. 15, вып. 3. – С. 399-407.
3. Решение Фармакологического комитета Упр. по внедрению новых лек. средств и медтехники МЗ СССР от 14 декабря 1984 г., протокол №24 по препарату цветки лабазника вязолистного.
4. Беликов В.В., Шрайбер М.С. Методы анализа флавоноидных соединений // Фармация. 1970. Т.19. №1. С. 66-72.
5. Яшин А.Я., Яшин Я.И., Черноусова Н.И., Пахомов В.П. Новый прибор для определения природных антиоксидантов. М., 2005. 100 с.

УДК 615.015:[547.458+547.972]

ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ КОМПОЗИЦИЙ НА ОСНОВЕ ДИГИДРОКВЕРЦЕТИНА И АРАБИНОГАЛАКТАНА

**Шаманаев А.Ю.¹, Сидехменова А.В.¹, Плотников М.Б.¹,
Селиванова И.А.², Тюкавкина Н.А.²**

¹НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга, Томск, Россия, тел.: (3822)418373,
sham_man@mail.ru

²ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России, тел.:
+7(903)5021205

Дигидрокверцетин (3,5,7,3',4'-пентагидроксифлаванон, ДГК) известен как вещество с широким спектром фармакологических свойств [1]. ДГК обладает антиоксидатными свойствами, капилляротекторной и противоотечной активностью. Применяется в качестве патогенетической терапии при острых пневмониях, хронических обструктивных бронхитах, бронхиальной астме и в комплексной терапии ишемической болезни сердца [2]. Лекарственные свойства ДГК могут быть полезны и для коррекции нарушений, возникающих на разных стадиях хронической венозной недостаточности, что было продемонстрировано экспериментально [3]. К сожалению, общим недостатком флавоноидов, как показала клиническая практика, является их низкая биодоступность, что

влечет за собой необходимость увеличения суточной дозы [4]. В связи с этим актуальной задачей является разработка комплексных лекарственных средств, повышающих выраженность фармакологических эффектов флавоноидов.

Для повышения активности ДГК использованы методы, основанные на образовании комплексов с различными веществами [1, 5, 6]. В ряде работ в качестве комплексообразователя использовался полисахарид арабиногалактан (АГ) [6, 7], обладающий иммуномодулирующими, гастропротекторными, антимикробными, а также пребиотическими свойствами [8]. Для композиций АГ с рядом лекарственных веществ выявлено значительное повышение их фармакологической активности [7, 9].

Поскольку при хронической венозной недостаточности наблюдаются такие патофизиологические процессы как оксидативный стресс, воспалительные реакции, повышение проницаемости сосудов и затруднение лимфооттока целью данной работы было исследование антиоксидантной, капилляропротекторной, противовоспалительной и лимфокинетической активности композиций ДГК и АГ.

Методы исследования

В работе использовали ДГК и АГ, выделенные из древесины лиственницы даурской (*Larix dahurica* Turcz.), а также композиции ДГК и АГ в соотношениях 1:3 (композиция № 1), 1:5 (композиция № 2) и 1:10 (композиция № 3).

Эксперименты по изучению капилляропротекторной и лимфокинетической активности выполнены на 58 крысах-самцах Вистар массой тела 250–300 г. Для изучения противовоспалительной активности использовали 40 мышей самцов CD 1 массой 25–30 г. Животные были выращены в отделе экспериментальных биологических моделей НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга, г. Томск. Перед началом исследования было получено одобрение Биоэтического комитета НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга (протокол-заявка № 43022013). Определение общей антиоксидантной активности *in vitro* проводили с использованием спектрофотометрического метода [10]. Противовоспалительную активность оценивали по снижению отека задней конечности у мышей при субплантарном введении формалина (0,04 мл 2% раствора) [11]. При этом исследуемые вещества и их композиции вводили однократно внутрижелудочно за час до инъекции формалина. Капилляропротекторную активность изучали по методу [12], исследуемые субстанции вводили крысам внутрижелудочно ежедневно в течение недели. Лимфокинетическую активность оценивали по скорости оттока лимфы (мкл/кг·мин), выделившейся

через прокол млечной цистерны (*cisterna chyli*) животных. Лимфу стабилизировали гепарином в конечной концентрации 50 ЕД/мл. Крысы получали ДГК, АГ и композицию № 2 внутривенно за один час до забора лимфы.

Результаты исследования

ДГК в концентрации 0,002% проявлял высокую антиоксидантную активность. Активность композиций ДГК и АГ № 1 и № 2 была ниже на 13% и 15% соответственно ($p < 0,05$), в то время как активность композиции № 3 значимо не отличалась от таковой у ДГК. АГ в концентрации 0,02% проявлял слабую антиоксидантную активность. Сопоставимая с ДГК антиоксидантная активность АГ достигалась лишь при его 0,2% концентрации, т. е. в 100 раз большей, чем у ДГК.

В ответ на введение формалина у животных контрольной группы прирост объема задней конечности составил $58 \pm 2\%$. ДГК в дозе 100 мг/кг и АГ в дозе 1000 мг/кг не оказывали достоверного противовоспалительного эффекта. Композиция № 1 в дозе 400 мг/кг, композиция № 2 в дозе 600 мг/кг и композиция № 3 в дозе 1100 мг/кг значимо ($p < 0,05$) уменьшали прирост объема задней конечности на 33%, 26% и 31% соответственно.

При изучении капилляропротекторной активности установлено, что у контрольных животных время выхода красителя составило 105 ± 4 с. ДГК в дозе 50 мг/кг проявлял тенденцию к увеличению времени выхода красителя. АГ в дозе 250 мг/кг значимо ($p < 0,05$) ускорял время выхода красителя у животных на 10% по сравнению с контролем, что подтверждает данные о его способности повышать проницаемость сосудов [13]. Композиция № 1 в дозе 200 мг/кг и композиция № 3 в дозе 550 мг/кг при курсовом введении не влияли на время выхода красителя. Введение животным композиции № 2 в дозе 300 мг/кг приводило к увеличению времени выхода красителя на 22% ($p < 0,05$).

Установлено, что ДГК достоверно увеличивал скорость оттока лимфы на 14% по сравнению с контролем, АГ – на 16%. Наибольшее увеличение (на 40%) наблюдалось в группе животных, получавших композицию № 2.

Таким образом, у композиций ДГК и АГ выявлено противовоспалительное, капилляропротекторное и лимфокинетическое действие, по выраженности превосходящее эффекты компонентов в отдельности.

Список литературы.

1. Плотников М.Б., Тюкавкина Н.А., Плотникова Т.М. Лекарственные препараты на основе дигидрокверцетина. Томск: Изд-во Том. ун-та,

-
- 2005, 228 с.
2. Патент РФ № 2090205. Способ комплексной терапии заболеваний. Оpubл. 20.09.1997. Бюл. № 26.
 3. Иванов И.С., Сидехменова А.В., Алиев О.И. и др. Противоотечный эффект антиоксидантной композиции в условиях модели хронической венозной недостаточности. Бюл. эксп. биол. мед. 2011. Т. 152, № 7. С. 28–31.
 4. Богачев В.Ю. Консервативное лечение хронической венозной недостаточности нижних конечностей с точки зрения доказательной медицины. Consilium Medicum. 2005. Т. 7, № 5. С. 415–418.
 5. Иванов И.С., Сидехменова А.В., Анищенко А.М. и др. Фармакологическая активность композиции на основе дигидрокверцетина и липоевой кислоты. Бюл. сиб. мед. 2011. № 5. С. 43–47.
 6. Толстикова Т.Г., Хвостов М.В., Брызгалов А.О. и др. Арабиногалактан – растительный полисахарид как новое средство для клатрирования фармаконов. Докл. АН. 2010. Т. 433, № 5. С. 713–714.
 7. Патент РФ № 2421215. Композиция с повышенной фармакологической активностью на основе дигидрокверцетина и растительных полисахаридов (варианты). Оpubл. 20.06.2011, Бюл. № 17.
 8. Медведева Е.Н., Бабкин В.А., Остроухова Л.А. и др. Арабиногалактан – уникальный продукт из древесины лиственницы. Хвойные бореальной зоны. 2003. № 1. С. 100–108.
 9. Душкин А.В., Чистяченко Ю.С., Толстикова Т.Г. и др. Фармакологические и физико-химические свойства механохимически синтезированных супрамолекулярных комплексов ацетилсалициловой кислоты и полисахарида арабиногалактана из лиственниц *Larix sibirica* и *Larix gmelinii*. Доклады Академии Наук. 2013. Т. 451, № 1. С. 107.
 10. Prieto P., Pineda M., Aguilar M. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. Anal. Biochem. 1999. Vol. 269, № 2. P. 337–341.
 11. Шварц Г.Я., Сюбаев Р.Д. Методологические рекомендации по доклиническому изучению нестероидных противовоспалительных лекарственных средств. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. М.: Гриф и К., 2013. С. 746–758.
 12. Ойвин И.А., Монакова К.Н. Методика количественного изучения противовоспалительных средств. Фармакол. и токсикол. 1953. Т. 16, № 6. С. 50–51.
 13. Kind L.S., Macedo-Sobrinho B., Ako D. Enhanced vascular permeability induced in mice by larch arabinogalactan. Immunology. 1970. No. 19. P. 799–807.
-

СОЗДАНИЕ НОВЫХ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМ ПРОИЗВОДНЫХ ГОССИПОЛА

Эрматов А.М.¹, Назирова Я.К.², Режепов К.Ж.¹, Зияев Х.Л.¹

¹Институт биоорганической химии имени академика А.С.Садыкова АН РУз, Узбекистан, Ташкент, 100125, ул. Мирзо Улугбека, 83, rcuralus@mail.ru

²Ташкентский Фармацевтический институт, Узбекистан, Ташкент, 100015, ул. Айбека, 45, ynk3061@mail.ru

Аннотация: В последнее время наблюдается рост бактериальных и вирусных заболеваний среди населения. Многие исследования по разработке противоиных лекарственных форм направлены на оптимизацию составов рекомендуемых средств.

В данной статье освещены результаты изучения качества суппозитория на основе субстанций производных госсипола, где применяется новый носитель Энзифоб. Качественные показатели соответствуют нормативной документации (НД), что позволяет применять изучаемые основы в технологии ректальных лекарственных форм.

Ключевые слова: индукторы интерферона, производные госсипола, рагосин, мегосин, гозалидон, технология суппозитория, оценка качества.

Из литературных источников известно, что многочисленные производные госсипола, препарата растительного происхождения (рагосин, гозалидон, мегосин и др.) являются индукторами интерферона – препарата, стимулирующего образование эндогенных α -, β -, γ -интерферонов растительного происхождения [1].

В настоящее время наблюдается тенденция роста бактериальных и вирусных заболеваний среди населения, в частности заболеваний хламидиозом, герпесом и гепатитом. В связи с этим актуальным является создание высокоэффективных антибактериальных, противовирусных препаратов для лечения и профилактики болезней соответствующей этиологии. Учеными Института биоорганической химии имени академика А.С.Садыкова АН РУз было предложено создание лекарственной формы с использованием лекарственных препаратов гозалидона, мегосина и рагосина, синтезированных в лаборатории полифенольных соединений. Клинические исследования данных препаратов свидетельствуют об антихламидийной активности гозалидона, противогерпетическом действии мегосина и гепатопротекторном свойстве рагосина. В настоящее время утверждены и успешно используются в медицинской практике таблетки гозалидона по 0,1г,

рагосина по 0,05г, 1% мазь мегосина.

Эти препараты примечательны тем, что кроме антибактериального, противовирусного действий, являются индукторами интерферона. Это свойство делает возможным применение их не только для лечения, но и профилактики хламидиоза, герпеса и гепатита.

Применение ректальных лекарственных форм (РЛФ) имеют такие преимущества как, избежание взаимодействия с пищей и пищеварительными ферментами, прохождения лекарственных веществ через печень. При этом отсутствует раздражающее действие на слизистые ротовой полости, желудка, двенадцатиперстной и тонкой кишок и снижается число отрицательных побочных реакций. РЛФ не нуждаются в корригировании (маскировке неприятного вкуса, запаха, улучшении цвета). Безусловно, самого серьезного внимания заслуживают сведения о снижении уровня аллергических реакций в ответ на введение препаратов *per rectum*, а также данные о положительном действии медикаментозных комбинаций при лекарственных несовместимостях и о преодолении лекарственной болезни.

Преимущества и недостатки ректального введения лекарств обусловлены анатомо-физиологическими особенностями прямой кишки, которая имеет большую поверхность всасывания. Это обеспечивает достаточно быстрое и полное всасывание введенных в нее лекарственных веществ.

Одной из важнейших задач здравоохранения в настоящее время является расширение ассортимента высококачественных, эффективных лекарственных препаратов, нормализующих обменные процессы, применяемых для профилактики и лечения различных заболеваний.

Целью настоящего исследования является подбор научно обоснованного состава и разработка технологии суппозиториев гозалидона, мегосина и рагосина, обеспечивающих качество, высокую биологическую доступность и стабильность их при хранении.

Известно, что для приготовления РЛФ важное значение имеет выбор суппозиторных основ, обеспечивающих стабильность и высокую терапевтическую активность препаратов в используемой лекарственной форме. Результаты научного моделирования показали, что в качественном отношении суппозиторная основа (СО) «Суппорин М», состоящая из гидрогенизата хлопкового масла с 5% содержанием эмульгатора Т-2, соответствует вышеуказанным требованиям. Такие же результаты показала разработанная при Ташфарми гидрофобная основа «Энзифоб», содержащая

перезтерификат хлопкового масла и говяжьего жира (в соотношении 52:48) с эмульгатором Т-2 в количестве 5 % от общей массы основы. Для получения суппозиториев производных госсипола на выбранных суппозиторных основах и масло какао (основа сравнения) мы использовали метод выливания в специальные формы. Технология суппозиториев примечательна тем, что субстанции в состав СО вводятся по типу суспензии. Субстанции подготавливали измельчением до степени «наимельчайшие» в аппарате Исламгулова М.Х. с оборотом вращения 1500 об/мин в течении 1-2 мин и просеиванием через сито № 61.

Технология получения предлагаемых суппозиториев с производными госсипола заключалась в следующем: приготовление суппозиторной массы, состоящей из жировой основы и действующего вещества, вливание эту массу в заранее смазанные ячейки, охлаждение до получения суппозиториев надлежащей формы с последующей оценкой качества. В качестве смазки использовали смесь мягкого мыла, глицерина и этанола 90% в соотношений 1:1:5. Взвешенное количество основы помещали в фарфоровую чашку и выдерживали на водяной бане при температуре от 38 до 40⁰С до равномерного расплавления основы. Взвешенное количество субстанции, предварительно измельченной до степени дисперсности «наимельчайшие», вносили по типу суспензии в расплавленную основу, перемешивали до полной гомогенизации. Полученной смесью заполняли ячейки формы, предварительно смазав и выдержав их в холодильнике 20 – 30 мин.

При изготовлении суппозиториев коэффициент замещения не учитывали, из-за малой дозировки лекарственных веществ. Далее производили оценку качества суппозиториев производных госсипола. При этом изучали структурно-механические и физико-химические показатели предлагаемых суппозиториев.

Готовые суппозитории производных госсипола имеют конусовидную форму со средней массой $1,3 \pm 5\%$, в продольном срезе механические вкрапления и воздушный стержень отсутствуют. Также сравнение со стандартными образцами суппозиториев дали положительные результаты. В частности, температура плавления составила в среднем 36,7⁰С, время полной деформации (ВПД) – 5-6 минут, подлинность препаратов идентифицирована. Однородность дозирования удовлетворительна, отклонения составили $\pm 0,001\%$.

С учетом полученных результатов показано влияние вида и количества вспомогательных веществ на уровень индукции интерферона и противовирусную активность. Исследованы их

основные качественные показатели, которые указывают на то, что предлагаемые суппозитории соответствуют предварительным требованиям НД.

Список литературы

1. Ф.И.Ершов, Э.Б.Тазулахова. Индукторы интерферона – новое поколение иммуномодуляторов. /Вестник Российской Академии Медицинских Наук. Москва, «Медицина», 1999.– №4.– С. 52-56.

УДК 575.167:57.04/57.017.3

ВЛИЯНИЕ ПСЕВДОГИПЕРИЦИНА НА ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ И ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Юшкова Е.А., Пунегов В.В., Зайнуллин В.Г.

ФГБУН Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар, Россия, тел. (8212) 43-06-50, e-mail: ushkova@ib.komisc.ru

В последнее время внимание исследователей привлекают фенольные соединения растительного происхождения. Важное значение имеют препараты клинического назначения, содержащие гиперин и его функциональные производные (псевдогиперин) — нафтодиантроновые пигменты *Hypericum perforatum* L. (сем. *Hypericaceae*). Повышенный интерес к данным веществам вызван тем, что препараты на их основе обладают антибактериальным, антивирусным, противогрибковым, регенеративным, антидепрессивным действием [1, 2]. Они успешно используются в ранней диагностике злокачественных новообразований и фотодинамической терапии рака [3, 4].

Дрозофила является уникальной модельной системой животного организма, позволяющей оценивать воздействие химических соединений на разных уровнях организации (молекулярном, клеточном, организменном) и на большом статистически достоверном материале (одна особь в среднем может дать 50-70 потомков в сутки). Хорошая изученность биологии, физиологии и генетики дрозофилы дает нам возможность исследовать не только биологическую активность тестируемых веществ, но и молекулярно-генетические механизмы, обуславливающие их эффективность. Для изучения таких процессов используют мутантные генотипы, имеющие различные нарушения в жизненно важных для клетки системах, таких как репарация и антиоксидантная система защиты, и применяют ряд современных методик.

В настоящем сообщении изучена биологическая

эффективность псевдогиперицина у особей *Drosophila melanogaster*, мутантных по репарации и антиоксидантной системе защиты.

Экспериментальным материалом служили линия дрозофилы дикого типа *Canton-S*, линия с дефектами в репарации двучпочечных разрывов ДНК (*Rad54/+* с генотипом *okr^{A17-11}cnbw/CyO*), линии с нарушениями в системе антиоксидантной защиты (*Sodⁿ¹/+* с генотипом *Sod[n1]red[1]/TM3,Sb[1]Ser[1]* и *Sod^{delta2}/+* с генотипом *y[1]w[*]; Sod2[Delta02]/CyO*).

Питательную среду обрабатывали псевдогиперицином в разной концентрации (1, 10, 20 и 100 мкМ), на которую помещали родительские формы исследуемых линий дрозофилы для получения кладок. Обработку псевдогиперицином проводили на протяжении всех стадий предимагинального развития дрозофил (общее время экспозиции для всех концентраций составило 5-6 суток). Одновременно с опытными вариантами использовали два контроля: в качестве *Контроля - 1* применяли дистиллированную воду, в качестве *Контроля - 2* — спирт. Все экспериментальные культуры дрозофилы содержали в стандартных условиях: при температуре 25°C ± 0.1 и 12-ти часовом режиме освещения. Спиртовой раствор псевдогиперицина был получен методом флешхроматографии сотрудником отдела Ботанический сад Института биологии Коми НЦ УрО РАН В.В. Пунеговым.

Биологическую эффективность псевдогиперицина исследовали по физиологическому (по скорости индивидуального развития) и цитогенетическому (по уровню двунитевых разрывов ДНК в соматических клетках) показателям [5].

Статистический анализ данных проводили с использованием программы Statistica (версия 7.0.61.0, StatSoft, Inc., США, лицензия № 3145689012).

Полученные результаты свидетельствуют, что псевдогиперицин обладает цитогенетическим эффектом, выражающийся не только в повышении уровня повреждений ДНК (характерно для всех линий), но и снижении частоты двучпочечных разрывов (ДР) (только у *MnSod*-линии). Цитотоксическое его действие варьирует в зависимости от концентрации вещества и линейных характеристик дрозофилы. Так, в соматических клетках особей дикого типа *Canton-S* выявлено достоверное увеличение фрагментации ДНК при воздействии псевдогиперицина в медианных концентрациях (10-20 мкМ). Подобная реакция наблюдается у особей с мутациями генов *Cu/Zn*-цитоплазматической (*Sodⁿ¹/+*, при концентрациях, не превышающих 100 мкМ) и *Mn*-митохондриальной (*Sod^{delta2}/+*, только в дозе 20 мкМ) супероксиддисмутазы, а также у линии с дефектами репарации ДР (*Rad54/+*, при всех концентрациях, кроме 10 мкМ). Снижение

цитогенетического эффекта у особей линии *Sod^{delta2}/+* отмечено при введении в их диету псевдогиперицина в концентрациях до 10 мкМ, что, по-видимому, обусловлено способностью гиперицинсодержащих соединений в физиологически значимых дозах нивелировать повышенный уровень свободных радикалов в клетках особей, имеющих сниженное содержание митохондриальных антиоксидантов.

Псевдогиперицин также влияет на динамику индивидуального развития животных с очень низким синтезом физиологически значимых для клетки ферментов, активно участвующих в работе целого комплекса клеточных процессов восстановления. По сравнению с животными нормального фенотипа (*Canton-S*), на развитие которых псевдогиперицин не оказывал достоверного воздействия, у исследуемых мутантов *Sodⁿ¹/+* и *Rad54/+* обнаружена достоверная ($p < 0.01$) задержка развития личинок при обработке препаратом в концентрациях 20 (только для линии *Sodⁿ¹/+*) и 100 (для обеих линий) мкМ.

Таким образом, результаты цитогенетического исследования и анализа эмбрионального развития дрозофил показали, что у животных (*Canton-S*), не имеющих генетических нарушений, псевдогиперицин оказывает достоверное токсическое действие в концентрациях выше 1 мкМ. У мутантных генотипов биологическая эффективность псевдогиперицина сильно варьирует и зависит от концентрации препарата, генотипических особенностей животных и анализируемого показателя. Для некоторых из них достоверный цитотоксический эффект псевдогиперицина, выражающийся в значимом повышении ДР ДНК, может наблюдаться уже при низкой концентрации (1 мкМ), по другим показателям подобная реакция проявляется в концентрациях, превышающих 10 мкМ.

Список литературы.

1. Mennini T., Gobbi M. // Life Sci. 2004. Vol. 75. N 9. P. 1021-1027.
 2. Saddiqe Z., Naeem I., Maimoona A. // J. Ethnopharmacol. 2010. Vol. 131. N 3. P. 511-521.
 3. Agostinis P., Vantieghe A., Merlevede W., de Witte P.A. // Int. J. Biochim. Cell. Biol. 2002. Vol. 34. N 3. P. 221-241.
 4. Kamuhabwa A.R., Huygens A., De Witte P. // Int. J. Oncology. 2003. Vol. 23. P. 1445-1450.
 5. Bilbao C., Ferreira J.A., Comendador M.A., Sierra L.M. // Mutat. Res. 2002. Vol. 503. N 1. P. 11-19.
-

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ФЕНОЛЬНОГО КОМПЛЕКСА КРАСНОГО СТОЛОВОГО ВИНА

Яланецкий А.Я.

ГБУ РК «Национальный научно-исследовательский институт винограда и вина «Магарач», Ялта, Республика Крым, Россия, тел. (0654)23-06-08, yal.anatol@gmail.com

Красное вино занимает особое место в жизни человека. Повышенный интерес к данному виду винодельческой продукции вызван повышенным содержанием в нем биологически-активных веществ (БАВ). Их влияние на физиологические функции и здоровье человека издавна вызывали интерес многих ученых, который не ослабевает и до настоящего времени (Валуйко Г.Г., Авидзба А.М., Макаров А.С., Мизин В.И., Огай Ю.А., Агеева Н.М. и др.). Красные вина обладают лечебно-профилактическими свойствами широкого спектра, в т.ч. радиопротекторными, антиоксидантными, бактерицидными и другими [1-3], что определяет высокую значимость красных вин в рационе питания человека.

Многие исследователи установили, что в столовых красных винах среди БАВ доминирующим является полифенольный комплекс, в состав которых входят флаванои́ды, фенолкарбоновые кислоты и дубильные вещества. Высокая их биологическая активность обусловлена наличием в молекулах гидроксильных и карбонильных групп, которые участвуют в биохимических процессах организма [4].

В связи с этим в последние годы в институте «Магарач» совместно с Крымским государственным медицинским университетом им. С.И. Георгиевского на базе санатория «Ливадия» проведены исследования биологической ценности красного столового вина «Каберне» в составе комплексного санаторно-курортного восстановительного лечения больных с ишемической болезнью сердца на курорте Южного берега Крыма.

При изучении влияния вина сравнение полученных данных проводилось между двумя группами: основная группа «А» – с применением столового сухого красного вина «Каберне» на фоне комплексного лечения, группа сравнения «Б» – с применением комплексного лечения без вина. Все больные получали лечение, которое предусматривало полноценное применение всех индивидуально показанных пациентам лечебных факторов – климатотерапии, лечебной физической культуры, массажа,

бальнеотерапии, аппаратной физиотерапии и др. в соответствии со стандартами санаторно-курортного лечения. В группе «А» в дополнение к индивидуально показанному комплексу реабилитации в рацион питания пациентов было включено красное столовое вино «Каберне». Прием столового сухого красного вина «Каберне» осуществлялся однократно, после обеда, суточные дозы составляли 200 мл вина (т.е. 20,8 мл спирта). В среднем в основной группе «А» курсовые дозы составили 2979,310 ($\sigma = 880,495$) мл вина, принятого в ходе 14,897 ($\sigma = 4,402$) процедур.

Установлено влияние суммы фенольных веществ, а также отдельных полифенольных соединений на функциональную активность красного вина.

При анализе влияния полифенолов на весь комплекс параметров больных ИБС отмечена высокая функциональная активность (50%) и положительный баланс (+38) влияния суммарного комплекса полифенолов.

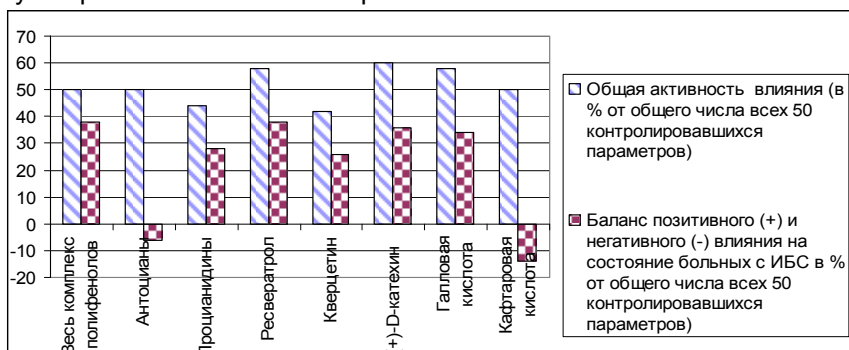


Рис. 1 Функциональная активность общих фенольных веществ и отдельных компонентов на состояние больных с ИБС

При этом отдельные группы полифенолов и полифенольные соединения демонстрируют существенные различия их физиологического влияния. Меньшей общей активностью обладают антоцианы, их функциональная активность преимущественно отрицательная. Отмечается негативное влияние антоцианов на ряд показателей, в том числе головные боли и головокружение. Полученные данные раскрывают механизм так называемого «эффекта бокала красного вина», вызывающего головные боли и описанного в фундаментальном обзоре Джексона [5].

Наибольшую общую физиологически позитивную активность проявляют представители группы катехинов – (+)D-катехин (60%) и оксibenзойных кислот – галловая кислота (58%),

проявляя позитивный баланс + 36% и +34% (соответственно). Высокую общую активность влияния (на 58% изученных параметров больных с ИБС) демонстрирует представитель группы стильбенов – транс-ресвератрол, суммарно оказывая наибольшее среди отдельных полифенольных соединений позитивное влияние, а именно + 38%. Из группы флаванолов – кверцетин – обеспечивает не только высокую общую (на 42% параметров), но и весомую позитивную физиологическую активность (+ 26%). Другой представитель этой группы – кверцетин-3-О-гликозид – имеет незначительные отклонения параметров (38% и +22% соответственно).

Функциональная активность отдельных соединений – транс-ресвератрола, D-катехина и галловой кислоты – близка к активности всей группы других полифенолов как по выраженности общего влияния, так и по позитивному балансу влияния. Но флавоны, в т.ч. кверцетин и кверцетин-3-О-гликозид, обладают меньшей общей активностью и менее позитивным балансом. Кафтаровая кислота проявляет высокую активность на 50% параметров, но обладает суммарно отрицательной физиологической активностью -14%, и подобна антоцианам по характеру их влиянию на параметры больных с ИБС.

Таким образом, проведенные исследования подтверждают высокую значимость не только суммарного комплекса полифенолов, которые обеспечивают высокую позитивную функциональную активность столового красного вина, а и отдельных компонентов фенольного комплекса.

Список литературы

1. Валуйко Г.Г. Биохимия и технология красных вин. – М.: Пищевая промышленность, 1973. – 296 с.
2. Маркосов В.А., Агеева Н.М. Биохимия, технология и медико-биологические особенности красных вин. – Краснодар, 2008. – 224 с.
3. Виноградное вино как система антиалкогольных веществ / Г.Г. Валуйко, Г.Н. Арпентин и др. // Виноградарство и виноделие СССР. – 1990. - № 5. – С. 32-36.
4. Mizin V.I., Ogay Y.A. Catastrophe Medicine and Environmental security: The Dietary Grape Polyphenol Concentrate “ENOANT” as Functional Food in Prevention and Treatment. In: Environmental and Food Safety and Security for South-East Europe and Ukraine// Ed. K. Vitale. Proceedings of the NATO Advanced Research Workshop, Dnepro-petrovsk, Ukraine, 17-19 May, 2011. - Dordrecht: “Springer”, 2012. - P.229-240.
5. Jackson R.S. Wine science. Principles and applications. 3rd ed. - Oxford: Elsevier, 2008, 794 p.

ПРИРОДНЫЕ АНТИОКСИДАНТЫ - НЕОТЪЕМЛЕМАЯ ЧАСТЬ ЗДОРОВОГО И ПОЛНОЦЕННОГО ПИТАНИЯ И ЗАЩИТА ЧЕЛОВЕКА ОТ ОПАСНЫХ БОЛЕЗНЕЙ И СТАРЕНИЯ

Яшин Я.И., Веденин А.Н., Яшин А.Я.

Компания «ИНТЕРЛАБ», Москва. Yashin@interlab.ru

Пусть Ваша еда будет для Вас
лекарством, а лекарство едой
Гиппократ

Антиоксиданты – неотъемлемая часть здорового и полноценного питания и защита от опасных болезней и стресса. Антиоксиданты входят в программы: Здоровое питание, Функциональное питание, Пища как лекарство, Здоровье нации. Основные антиоксиданты – природные полифенолы (флавоноиды, фенольные кислоты, витамин С, Е и др.), о них опубликовано более 150.000 работ.

Каждый год в мире проходят симпозиумы и конференции по полифенолам-антиоксидантам. Основные темы: антиоксиданты и окислительный стресс, антиоксиданты и здоровье, антиоксиданты и долголетие, антиоксидантная терапия.

Предшественник болезней - окислительный стресс, т.е. избыточное содержание реакционных кислородных и азотных соединений, в т.ч. свободных радикалов в организме человека, вызванное плохой экологией, облучением, загрязненной пищей, некоторыми лекарствами, курением, алкоголизмом, стрессами и пр.

Длительное состояние окислительного стресса неизбежно приводит к опасным социально- значимым болезням (сердечно-сосудистым, онкологическим, диабету и другим более 200 болезням) и преждевременному старению. Таким образом, одной из первопричин смертельных болезней является окислительный стресс.

Во многих случаях окислительный стресс можно убрать антиоксидантной терапией, т.е. потреблением природных антиоксидантов, присутствующих в овощах, фруктах, ягодах, растительных маслах, меде, чае, вине и пр.

Однако, для контролируемого потребления антиоксидантов необходимо знать содержание антиоксидантов в пищевых продуктах, напитках, БАДах, лекарственных препаратах.

На первый план в этой проблеме выступают объективные, надежные, дешевые методы измерения природных антиоксидантов

в ежедневно употребляемых доступных населению продуктах.

Для эффективного применения антиоксидантной терапии против окислительного стресса необходимо достоверно выяснить следующие вопросы:

---определить количественное и качественное содержание антиоксидантов в ежедневно употребляемых пищевых продуктах и напитках; (при избытке некоторые антиоксиданты становятся проантиоксидантами)

---исследовать биодоступность антиоксидантов при оральном потреблении пищевых продуктов и напитков;

---изучить метаболизм антиоксидантов в органах человека (некоторые метаболиты обладают также антиоксидантной активностью)

---изучить фармакокинетику антиоксидантов и их метаболитов в организме человека;

---выявить смеси антиоксидантов, обладающих синергетическим эффектом;

- диагностировать окислительный стресс;
- назначить правильную и эффективную антиоксидантную терапию;

- контролировать течение антиоксидантной терапии.

Во многих странах проводятся работы по созданию банков данных содержания антиоксидантов в пищевых продуктах и напитков. Самые известные из них:

--Antioxidant Food Database-более 3100 пищевых продуктов, БАДов и напитков со всего мира;

--База данных, созданная ОАО «Химавтоматика» и ООО «Интерлаб» (г.Москва), более 1200 пищевых продуктов, напитков, БАДов, лекарств и лекарственных трав; впервые определены жирорастворимые антиоксиданты в молочных, рыбных и мясных продуктах, а также в растительных маслах, орехах и какао;

--USDA Database for the flavonoid content of selected foods-26 флавоноидов в 231 пищевых продуктах;

--Phenol-Explorer- 502 полифенолов в 452 пищевых продуктах;

--Euro FIR-Basis-256 полифенолов в 199 пищевых продуктах.

В таблице 1 приведены данные о суммарном содержании антиоксидантов в ежедневно употребляемых продуктах, измеренные нами амперометрическим методом на приборе «Близар» (ООО «Интерлаб»).

Таблица 1.

Суммарное содержание антиоксидантов (ССА) в ежедневно
употребляемых пищевых продуктах

Название	ССА, мг на 100г	Название	ССА, мг на 100г
Хлеб черный	50-60	Томаты	60
Хлеб белый	20	Морковь	60
Гречиха	180 (380)	Лимон	75
Горох	100 (520)	Апельсин	60
Овес	34 (334)	Груша	50
Рожь	30 (320)	Яблоки	20-60
Пшеница	24 (275)	Перец черный	5100
Картофель	20-40	Корица	2800
Мясо	20-50	Куркума	2300
Рыба	10-50	Петрушка	1400
Икра красная	50-130	Базилик	1000
Масло топленое	140	Имбирь	950
Масло сливочное	30-50	Грецкий орех	180
Творог	30-70	Фундук	100
Сыр	50-120	Кедровый орех	90
Молоко	30-70	Какао	420
Растительные масла	50-130	Чай зеленый	5000-20000
Мед	10-30	Чай черный	5000-10000
Чеснок	270	Кофе	2100-3200
Красный перец	245	Мате	5800
Свекла	220	Ройбаш	1150
Лук	120	Каркаде	900
Капуста краснокочанная	75	Сок гранатовый	95
Капуста белокочанная	70	Сок виноградный	90
Салат-кресс	100	Вино красное сухое	150-250
Сельдерей	100	Вино белое сухое	30-60
Укроп	50	Пиво темное	50-70
Лук зеленый	30-50	Пиво светлое	30-50

Примечание: указанные диапазоны данных связаны с разными видами и сортами продуктов; данные в скобках для зерновых продуктов – это данные для проросших зерен; данные для молочных, рыбных и мясных продуктов относятся к жирорастворимым антиоксидантам.

В РФ принят документ «Рекомендуемые уровни потребления пищевых продуктов и биологически активных веществ» (Москва, 2008) (под ред. В.А.Тутельяна, утвержден Г.Г.Онищенко). В этом документе рекомендованы уровни ежедневного потребления антиоксидантов – полифенолов: адекватного и допустимого (для здоровых людей и для людей, находящихся в стрессовых ситуациях и для больных людей).

Во многих странах делаются попытки определения ежедневного уровня потребления антиоксидантов в пищевом рационе. В таблице 2 приведены некоторые из этих сведений.

Таблица 2.

Ежедневное потребление полифенолов- антиоксидантов в разных странах мира

Страна	Потребление в мг в день	Пищевые продукты
Финляндия	863±415	Фенольные кислоты (кофе, зерновые культуры) 75%; проантоцианидины (ягоды) - 14%; антоцианидины (ягод)-6%; флавоноиды (фрукты). Пищевые продукты, содержащие больше всего антиоксидантов: отруби ржи, красная капуста, ревень, клюква, брусника, черника, голубика.
Греция	1306	Исследовано 200 ежедневно употребляемых пищевых продуктов и 15 напитков. Кроме полифенолов жители Греции потребляют 4460 мг в день каротиноидов, 214 витамина С и 28 витамина Е
Испания	1170	Из сотен пищевых продуктов.Каротеноиды-1679; витамин С-137; витамин Е-8,6.
Франция	278,5	Основные источники полифенолов: картофель, яблоки, клубника, лук, салат-леттук
США	189,7	Приведен только уровень потребления флавоноидов (более 80% флаван-3-олы)
Австралия	128	Определено 7 типов флавоноидов (за исключением изофлавонов) в пищевом рационе
Бразилия	59,5-106,3	Флавоноиды в овощах, фруктах, напитках

Примечание: кроме вышеуказанных стран, работы по определению количества потребляемых полифенолов проводились также в Японии, Дании, Голландии и Южной Корее.

Основные пищевые продукты в Средиземноморской диете: зерновые, рыба, овощи, фрукты, бобы, орехи, оливки, сыр, оливковое масло, вино. (меньше мяса и молока). Опубликовано много статей и обзоров о положительном влиянии пищевых антиоксидантов на основе массовых эпидемиологических исследований. Наиболее яркие из них приведены в таблице 3.

Таблица 3.
Доказательства положительного влияния потребления антиоксидантов на здоровье человека

Средиземноморская диета	Основное достоинство этой диеты — сбалансированное содержание воды и жирорастворимых антиоксидантов, а также антоцианов	Население, употребляющее средиземноморскую диету, значительно меньше болеют сердечно-сосудистыми и онкологическими болезнями
Пищевой рацион жителей о.Окинавы (Япония)	Потребление пищи богатой антиоксидантами. В крови жителей значительно больше флавоноидов, чем у европейских жителей	На острове много долгожителей (до 100 лет) Люди в преклонном возрасте здоровы и активны.
Диета жителей индейского племени Куна, живущих на островах Сан Блас около Панамы	Регулярно потребляют напитки из какао по древним рецептам ацтеков (до 5 раз в день)	В десять раз меньше умирают от сердечно — сосудистых и онкологических заболеваний и в пять раз меньше от диабета, чем эти же индейцы, живущие на материке на современной диете.

Диагностирование состояние у человека окислительного стресса (избыточное содержание реакционных кислородных и азотных соединений, включая и свободных радикалов) можно проводить:

---по определению антиоксидантного статуса человека (определение суммарного содержания антиоксидантов в биологических жидкостях человека) на приборе «Близар»

---по определению биомаркеров окисления молекул ДНК, белков, липидов методом ВЭЖХ на приборе МаэстроВЭЖХ.

---по определению отношений восстановленных и окисленных форм эндогенных и экзогенных антиоксидантов (глутатиона GSH—GSSG, цистеина к цистину, убихинола к убихинону, а также восстановленных и окисленных форм мочевой кислоты, витамина С, нитрита к нитрату) методом ВЭЖХ.

Массовое внедрение этого комплекса позволит выявлять начало развития опасных болезней на самой ранней стадии и, используя антиоксидантную терапию на основе Банка данных о содержании антиоксидантов в пищевых продуктах, напитках, лекарствах, витаминах и экстрактах лекарственных трав (также созданного нами) не допустить дальнейшего развития этих болезней. Это позволит значительно сократить затраты на лечение, увеличить продолжительность жизни и снизить смертность.

Обследования на предмет раннего выявления окислительного стресса могут быть организованы не только в больницах и специальных диагностических центрах, но и в профилакториях, санаториях, домах отдыха и других оздоровительных учреждениях. Стоимость таких обследований будет доступна большинству населения.

Выявление окислительного стресса – предшественника болезней – и его устранение можно отнести к новой профилактической медицине.

Основные преимущества диагностики окислительного стресса и антиоксидантной терапии

- выявление предболезней;
 - подавление развития болезни в самом начале ее развития антиоксидантной терапией;
 - значительное сокращение числа заболевших опасными болезнями, в т.ч. и такими социально-значимыми болезнями, как сердечно-сосудистые, онкологические и диабет;
 - увеличение продолжительности жизни в дееспособном рабочем состоянии (это исключительно важно в связи с ростом числа людей пенсионного возраста);
 - в десятки раз сокращает затраты на медицину;
 - в общем поднимает качество жизни человека.
-

АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ СПЕЦИЙ И ИХ ВЛИЯНИЕ НА ЗДОРОВЬЕ ЧЕЛОВЕКА

Яшин Я.И.¹, Яшин А.Я.¹, Немзер Б.В.²

¹ Компания «Интерлаб», Москва, yashin@interlab.ru

² Компания "FutureCeuticals", США

Специи, пряности и кулинарные растения добавляются в пищу с древнейших времен как ароматные продукты, улучшающие органолептические свойства. Кроме того, специи широко применялись для консервирования пищевых продуктов и как средства народной медицины. Еще в древнем Египте, Востоке специи использовались как лекарства. В средние века в Европе появился огромный интерес к специям (пряностям) как к продуктам, улучшающим вкус и аромат пищевых продуктов. Некоторые из специй ценились на вес золота, а чтобы их доставлять из стран Азии снаряжались целые флотилии. Как известно Х.Колумб собирался открыть новый путь в Индию за специями, а открыл новый континент Америку. Таким образом, открытие Америки связано с интересом к специям. За места произрастания специй и рынки их сбыта европейские колониальные страны даже воевали друг с другом.

В последние годы интерес к специям возрос в связи с тем, что многие из них обладают высокой антиоксидантной активностью. Они стали дополнительным источником природных антиоксидантов: флавоноидов, фенольных кислот, танинов, алкалоидов, фенольных дитерпенов и витаминов. Вышли книги и обзоры по специям [1-5].

Природные антиоксиданты в специях помогают бороться с окислительным стрессом—избыточным содержанием реакционных кислородных и азотных соединений, включая и свободные радикалы, в биологических жидкостях человека. Продолжительное состояние окислительного стресса приводит к болезням, в том числе и самым опасным социально значимым. Поэтому одно из актуальнейших направлений в медицине - это раннее диагностирование состояния окислительного стресса и его подавление с помощью специальной антиоксидантной терапии.

Химический состав специй и их антиоксидантная активность

Антиоксидантная активность специй связана с его химическим составом, в первую очередь, с присутствием в них полифенольных и других соединений. Это прежде всего флавоноиды, фенольные кислоты, лигнаны, эфирные масла,

алкалоиды.

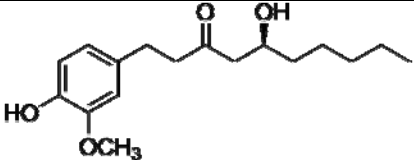
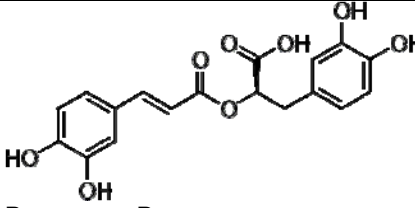
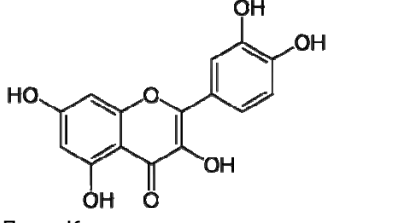
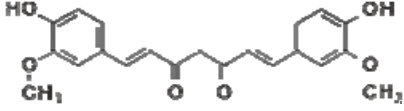
В базе данных USDA собраны сведения о содержании флавоноидов в специях и кулинарных растениях, определенных методом ВЭЖХ с УФ и МС детекторами. Больше всего флавоноидов содержится в петрушке, душице, сельдерее, шафране, укропе, сладком укропе (фенхеле) и тасманском перце. Потребление этих специй и кулинарных трав может вносить существенный вклад антиоксидантов в рацион питания человека.

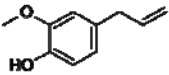
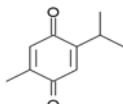
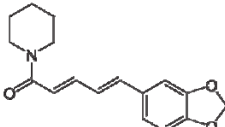
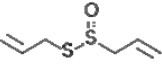
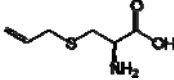
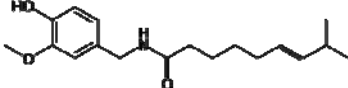
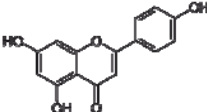
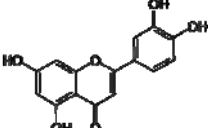
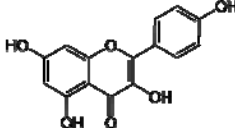
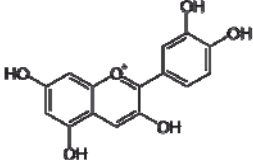
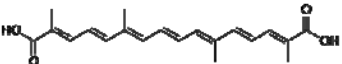
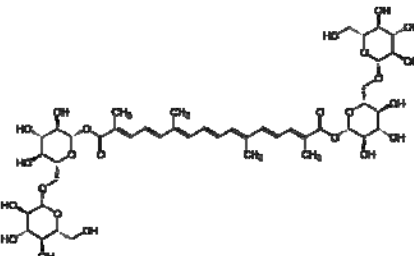
Всего идентифицировано и определено 10 флавоноидов, которые содержались в специях в значимых количествах. Чаще встречаются в специях кверцетин (в 11 специях), лутеолин (в 8 специях), кемпферол (в 9 специях). Самое большое содержание в мг на 100г: апигенина в сухой петрушке (4503,5), затем лутеолин в мексиканской душице (1028,7), лутеолина в зернах сельдерея (762,4), цианидина в тасманском перце (752,7). Больше всего кемпферола (259,2) и кверцетина (233,8) в каперсах (сапер).

В таблице 1 приведены наиболее биологически активные соединения, содержащиеся в разных специях. Многие из этих соединений—антиканцерогенные. Они обладают также и другими лечебными эффектами. Подробнее об этом будет написано в следующем разделе. Далее будут приведены сведения об антиоксидантной активности специй. В последнее десятилетие опубликованы сотни статей и обзоров на эту тему.

Таблица 1.

Наиболее активные антиоксиданты в специях
(Специя - действующее вещество)

 Имбирь - Гингерол	 Розмарин - Розмариновая кислота
 Лук – Кверцетин	 Куркума – Куркумин

 Гвоздика – Евгенол	 Чернушка полевая – Тимохинон
 Перец черный – Пиперин	  Чеснок - Аллицин, s-аллилцистеин
 Перец красный – Капсаицин	 Петрушка – Апигенин
 Душица, сельдерей (зерна) – Лутеолин	 Каперсы – Кемпферол
 Тасманский перец - Цианидин	  Шафран - Кроцетин, кроцин

Общая антиоксидантная емкость определена методом TEAC и суммарное содержание фенольных соединений методом Folin-Ciocalteu в 26 специях из 12 ботанических семейств. Качественный и количественный анализы выполнены методом ОФ ВЭЖХ с использованием диодно-матричного детектора [3]. Значения антиоксидантной емкости колебались в широких пределах 0,55 - 168,7 ммоль на 100г относительно Trolox, а суммарное содержание фенольных соединений было в диапазоне

0,04—14,38г в 100г относительно галловой кислоты. Между значениями ТЕАС и суммарным содержанием фенолов наблюдалась хорошая корреляция ($R=0,9613$). Методом ВЭЖХ идентифицированы фенольные кислоты, флавоноиды, летучие фенольные соединения, фенольные дитерпены, производные кумарина и др.

В гвоздике определено: галловой кислоты 2375,8 мг в 100г (сухой), евгенола 9381,7, ацетилевгенола 2075,1,кверцетина 28,4, кемпферола 23,8, сумма других флавоноидов 365,5. В корице преобладает циннамилловый альдегид 16162,3 мг в 100г (сухой), содержание катехина 454,4, кофейной кислоты 24,2. В душице определены следующие антиоксиданты (в мг на 100г): розмариновая кислота 2562,7, кафеоил производные 1324,2, п-кумариновая кислота 214,8, кофейная кислота 50,0, сумма других фенольных кислот 208,5, карвакрол 14,6, сумма флавоноидов 21,0.

Содержание розмариновой кислоты обнаружено больше всего в следующих специях (мг в 100г): душица 2562,7, шалфей 2186,1, розмарин 1286,1, мята 1908,5, базилик сладкий 1086,1, тмин 681,1.

Содержание флавоноидов в исследованных специях (в мг в 100г): гвоздика 366,5, укроп 241,2, тмин 171,9, кориандр 167,2, душица 51,3, розмарин 37,8, мята 23,2, базилик 21,0, шалфей 20,5.

В этой же статье приведены профильные хроматограммы мяты, душицы, шалфея, базилика, розмарина, чабреца на длине волны 280 нм. На хроматограммах идентифицированы: галловая, кофейная, п-кумариновая, розмариновая, карнозиновая кислоты, катехин, производные кафеоида, евгенол, эфирозманол, карнозол, тимол, карвакрол, розмариаль, кемпферол. Проведено сопоставление профильных хроматограмм, полученных на длинах 280 и 370 нм. На длине волны 280 нм больше регистрируется слабоудерживаемых компонентов.

В базе [4] содержатся данные о 425 исследованных специй и кулинарных растений из 59 стран разных производителей. Измерения проводились модифицированным методом FRAP. Антиоксиданты экстрагировались смесью вода-метанол. В 27 специях содержание антиоксидантов было больше всего и колебалось в пределах 100 - 465 ммоль на 100г. В таблице приведены значения содержания антиоксидантов в некоторых специях.

В статье [5] определена антиоксидантная активность несколько десятков специй, кулинарных и лекарственных (китайских и японских) растений. Наблюдается тысячекратное различие величин антиоксидантной активности. Прием в пищу

специй может внести существенный вклад в общее потребление антиоксидантов в диете человека. В некоторых случаях это сопоставимо с вкладом фруктов, ягод и овощей. В работе [5] проведено сопоставление антиоксидантной активности 30 растительных экстрактов, включая и специи, разными методами (DPPH, ABTS, FRAP, SOD, ORAC). Общее содержание полифенолов определено методом Folin-Ciocalteu в мг на г : корица-309,23; гвоздика-212,85; лавровый лист-59,85; ваниль-51,64; лаванда-27,42; имбирь-26,18. Наилучшая корреляция была между данными методов FRAP и ABTS (0,946), хуже между методами ABTS и DPPH (0,906).

Влияние специй на здоровье человека

Специи обладают разнообразными оздоровительными воздействиями на организм человека: антисклеротическим; антигиперлипидемическим; антиатеросклеротическим; противовоспалительным; антиаритмическим; антиревматоидным; антимутагенным; гастропротекторным; липидоснижающим;

Кроме того, специи обладают радиопротекторным (защищает от излучения), противоаллергическим, антималярийным воздействиями. Специи ингибируют окисление липопротеидов низкой плотности и гликирование белков.

Многие специи сильнее антибактериальные, они обладают антибактериальным, в т. ч. против сальмонеллы, антимикробным (базилик, розмарин, шалфей) и даже противовирусным действием (мелисса против вируса герпеса). Наблюдался синергетический эффект при одновременном воздействии гвоздики и антибиотиков на оральные бактерии.

Опубликовано много общих обзоров и книг о влиянии специй на здоровье человека, в частности, корица и здоровье, чеснок, чернушка, лук против болезней.

Специи используются в функциональном питании.

Предклинические, клинические и терапевтические испытания специй.

Лечебный эффект от некоторых специй настолько значителен, что их стали испытывать в ряде предклинических, клинических, а также терапевтических исследованиях. Предклинические испытания розмарина проведены как канцерпротекторного средства. Клинические и терапевтические испытания специй проведены против ряда болезней: противовоспалительные свойства куркумина, терапевтический эффект куркумина при желудочно-кишечных заболеваниях, ингибирование окисления липопротеинов низкой плотности куркумином, куркумин против нейродегенеративных

заболеваний, терапевтический эффект имбиря, чеснок против сердечнососудистых заболеваний.

Против онкологических заболеваний: гвоздика, чернушка, черный перец, кардамон, имбирь. Также весьма эффективен против рака выдержанный водно-спиртовой экстракт чеснока. Антиканцерогенными действиями обладают следующие соединения, содержащиеся в специях: куркумин, апигенин, лутеолин, кверцетин, корнезол, носкарин, тимохинон, изотиоцианат.

Другие применения специй

Специи за счет высокой антиоксидантной активности подавляют вредное действие загрязнителей, которые могут находиться в пищевых продуктах и напитках: афлатоксинов; гетероциклических аминов, возникающих при поджаривании мяса и мучных продуктов; акрилоамида, образующегося при нарушении технологии обжаривания кофе и какао, 1,2-диметилгидразина;

Специи нейтрализуют вредное действие опасных растворителей и выхлопов автомобильного транспорта в городах.

Нужно отметить, что все приведенные соединения канцерогенные, при систематическом их попадании в организм человека могут развиваться онкологические заболевания. Таким образом, важно констатировать, что потребление специй поможет человеку защититься от вредных воздействий окружающей среды, особенно в крупных мегаполисах.

Список литературы.

1. Charles D.J. Antioxidant Properties of Spices, Herbs and other sources. Springer. 2013. 610p.
 2. Srinivasan K. Antioxidant potential of spices and their active constituents (on line). Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 2012. 54. 352 – 372.
 3. Shan B., Cai Y.Z., Sun M., Corke H. Antioxidant capacity of 26 spice extracts and characterization of their phenolic constituents. J.Agric.Food Chem. 2005. 53. 7749-7759.
 4. Carlsen M.H., Halvorsen B.L., Holte K. et.al. The total antioxidant content of more than 3100 foods, beverages, spices, herbs and supplements used worldwide Nutrition J. 2010. 9. 3 - 11.
 5. Dudonne S., Vitrac X., Coutiere P., Woillez M., Merillon J.-M. Comparative study of antioxidant properties and total phenolic content of 30 plant extracts of industrial interest using DPPH, ABTS, FRAP, SOD and ORAC assays. J. Agric. Food Chem. 2009. 57. 1768-1774.
-

K.A. Timiryazev Institute of Plant Physiology
Russian Academy of Sciences

IX International Symposium

Phenolic compounds: Fundamental and Applied Aspects

April 20-25, 2015, Moscow, Russia

Section 1. Phenolic compounds and their biological activity
(*structure, reactivity, physicochemical properties*).

Section 2. Phenolic compounds in plant life (growth and development, maintain viability, distribution, and localization)

Section 3. Plant polyphenols and their application in medicine and industry (pharmacy, wine, functional food)

1 SECTION

Perspective new polyphenols from the plants in Uzbekistan

Abdulladjanova N., Mavlyanov S., Salikhov Sh., Ziyavitdinov Z., Karamov E.¹

Institute of bioorganic chemistry AS RUz, Tashkent, Uzbekistan, e-mail: ibchem@uzsci.net

¹Head Ivanovsky Institute of Virology, Moscow, 127562 Russia, Phone: 7 499 190-3048, karamov2004@yandex.ru

During study of plants, belonged to family Euphorbiaceae L. there were revealed some new polyphenols. Chemical structures of isolated compounds were determined by physical-chemical and spectral methods, and revealed their biological properties. Obtained results would be used as scientific basis on creation new prospect medicines from natural compounds.

The study of biologically active substances in the extract of *Saussurea controversa* possessing immunomodulatory activity

Avdeeva E.Yu., Krasnov E.A.

Siberian State Medical University, Tomsk, Russia, (3822) 533309, e-mail: elenaavdeev@yandex.ru

In the composition of the extract of *Saussurea controversa* DC, possessing immunomodulatory activity, we have established the presence of coumarins, phenolic acids, a wide set of flavonolglycosides and amino acids, as well as a significant quantity of inorganic components.

Chitosan conjugates with plant phenolic antioxidants: structure-properties

Alexandrova V.A.¹, Domnina N.S.²

¹The Topchiev Institute of Petro-Chemical Synthesis, RAS. Moscow, Leninckii pr., 29.

²Sankt-Peterburg State University. Institute of Chemistry. Sankt-Peterburg, Petergoph, University pr., 26.

The chitosan derivatives bearing antiradical fragments of (poly)phenolic type in the polymer side chains have been synthesized. It was shown that chitosan conjugates were markedly higher efficient inhibitors of radicals (DPhPG, nitroxyl and others) than their low molecular plant oxidant analogs.

The structural organization role of Pfenozan at model and bio-membranes

Alekseeva O.M.¹, Fatkullina L.D.¹, Kim Yu.A.², Goloschapov A.N.¹

¹Emanuel Institute of Biochemical Physics RAS, Moscow, Russia; T.8(495)939-74-09

²Institute of Cell Biophysics RAS, Pushchino. E-mail: olgavek@yandex.ru

This work deal with the screened phenol phenozan (β - (4-hydroxy-3, 5-di-tert-butylphenyl) propionic acid). The role of phenozan at membranes is determined besides of its antioxidant properties of its structural organization properties. Phenozan was used as potassium salt of phenozan acid (phenozan-K or phenoksan). Phenoksan is hydrophilic substance. Its actions to membranes tested at next experimental objects: the model phospholipid membranes, formed from dimyristoilphosphatidylcholine, and the erythrocytes and Erlich ascetic carcinoma cells. As the more hydrophobic antioxidant were used IHFANs, that are the derivatives of phenozan. The choline esters was added to phenozan that was quaternized by long chain alkyl halogenides with number of carbon atoms from 8 up to 16 - (4-hydroxy-3, 5-di- tert- butyl phenyl) propionyl butyl] ammonia halogenides. The results of testing, provided by using DSC, SPR, light scattering, ion-selective potentiometric methods, suggested to the polymodal effects depended of concentration phenozan and IHFANs. The accumulation of IHFANS at membranes was discovered when the polymodal concentration-dependent curves, obtained by us, were compared with the physic-chemical parameters famous earlier in the literature.

Study of phenolic compounds of roots *Lupinus polyphyllus* high performance liquid chromatography

Boynik V.V., Akritidou Ch.P.

National University of Pharmacy Kharkov, Ukraine, факс (8057)714 25 40, E-mail: elenaakritidou@mail.ru

In the roots of *Lupinus polyphyllus* was founded 10 phenolic substances: 1 hydroxycinnamic acid (chlorogenic acid), 1 coumarin (coumarin), 3 flavanoids substances (apigenin, catechin and epicatechin) and 5 tannic substances (gallic and ellagic acids, catechin gallate, epicatechin gallate and epigallocatechin).

In quantitative terms dominate (in %): coumarin (0.67), catechin (0.49), ellagic acid (0.37), epigallocatechin (0.36) and apigenin (0.35).

Comparative analysis of phenolic compounds of branch *Salix caprea* L., *Salix purpurea* L., *Salix viminalis* L.

Borodina N.V., Kovalyov V.N.

Department of pharmacognosy. National University of Pharmacy,
Kharkov, Ukraine, tel. +38-063-2361581, e-mail
natalijaborodina@gmail.com

Branch of willow are a rich source of connections of phenolic nature (flavonoids, tannic substances), carbohydrates, organic acids, vitamins, macro - and microelements. The objects of the study were branch *Salix caprea* L., *Salix purpurea* L., *Salix viminalis*., which were collected during 2012 - 2014 years in various parts of the Kharkiv region of Ukrainian. It was made at first comparative analysis of phenolic compounds composition by high performance liquid chromatography in different herbal samples. It was established 23 phenolic compounds. Results talk about perspective of the use of vegetative part of willows.

Antioxidant properties and spectral characteristics of leaf extracts of *Glycine max* (L.) Merr. samples

Vlasova E.V., Motyleva S.M., Mertvicheva M.E., Gorbunova J.V.

All-Russian Horticultural Institute for Breeding, Agrotechnology and
Nursery (FSBSI ARHIBAN), Moscow, Russia, e-mail: stevlas@yandex.ru

The indicators of the antioxidant activity of soybean leaves extracts from most samples are within: 37,8-56,5% (alcohol), 68,9-86,0% (water). Two samples (Severnaya Zvezda and PEP 27) have been characterized by low rates: 10,5 and 13,9% (alcohol), 27,1 and 48,1% (water), respectively. Spectral characteristics of the methanol leaves extracts of these samples in the ultraviolet region (190-370 nm) differed from the others

High positive correlations ($r = 0.81-0.88$) between the wavelength of the peak in the 370-420 nm area and the absorbance units in photosynthetic pigments peaks 534-535 nm, 610-613 nm, 664,5-665,5 nm have been obtained on the alcoholic extracts of the soybean leaves in visible spectrum (370-750 nm).

Keywords: antioxidant activity, DPPH-method, soybeans, leaves, spectrum.

Cascade mechanism of antibacterial activity of phenol antioxidants

**Vol'eva V.B., Ovsyannikova M.N., Belostotskaya I.S.,
Komissarova N.L., Malkova A.V., Prokof'eva T.I.**

Emanuel Institute of Biochemical Physics of Russian Academy of Sciences Kosygina str., 4, Moscow 119334, Russia

Hindered phenols (HP) combine antioxidant and pharmacological activity. A set of HP was tested as antibacterial agents with the use of *E.coli* and *St.albus*. The highest level of activity was registered for HP capable to multisteped oxidative transformation resulting in a line of substances with own antibacterial activity.

Research physical and chemical properties of the modified alkaline pine extract was made from low-quality raw materials

Goncharova N.V.¹, Syachinova N.V.², Motorin V.S.³

East-Siberian State University of Technology and Management, Ulan-Ude, Russia, ¹8(3012)417-222, natvic@list.ru, ² 8(3012)417-226, c-h-v@mail.ru, ³ 8(3012)417-222, vladislavv932010@mail.ru

Plant extracts of pine breeds contain a large number of the polyphenolic substances and pitch acids. These substances can to react with each other by polycondensation reaction. In this work was research opportunity of use of the alkaline extracts of a pine modified by urotropin as paintwork material for protection of wood was studied.

Chromatographic study of *Cytisus ruthenicus* phenylpropanoids

Demeshko O.V., Kovalyov V.N.

National university of Pharmacy, Kharkov, Ukraine, olgademeshko@gmail.com

In the *Cytisus ruthenicus* by two-dimensional paper chromatography revealed 10 phenolic compounds, of which 5 referred to phenylcarboxylic and hydroxycinnamic acid, 5 - to the flavonoids. Method with high-performance liquid chromatography identified 6 phenylpropanoids derivatives: chlorogenic acid; Manuf. p-coumaric acid; Flavonoids: orientin; izoorientin; vitexin; rutin. Established their quantitative content.

Hydrotropic lignin isolated from *Miscanthus*

Denisova M.N.

Institute for Problems of Chemical and Energetic Technologies, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Biysk, Russia; tel. 8(3854)305985, e-mail: aniram-1988@mail.ru

Hydrotropic lignin was isolated after cooking *Miscanthus* in a 30% solution of C_6H_5COONa . The composition of the hydrotropic lignin was determined and its structure was characterized by spectral analysis techniques. Potential applications of the hydrotropic *Miscanthus* lignin were shown.

Potassium phenosan alters the functional characteristics mitochondria of pea seedlings

Zhigacheva I.V., Burlakova E.B., Goloschapov A.N.

Emanuel Institute of Biochemical Physics, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia.

Studied the effect of phenolic antioxidant - potassium phenosan at the functional characteristics mitochondria 6 day etiolated pea seedlings. It was found that at concentrations 10^{-8} - 10^{-16} 10^{-18} - 10^{-21} M it reduces the fluorescence of LPO products upon control values in the membranes of mitochondria and activates the electron transport in the oxidation of NAD-dependent substrates. Potassium phenosan had a protective effect in low moisture, increasing the length of the roots of seedlings in 5 times. It is assumed that anti-stress properties of the drug, probably due to its antioxidant activity.

Technological aspects of isolation biologically active compounds from *Limonium* Mill

Zhusupova A.I., Gadetskaya A.V., Zhusupova G.E.

al-Farabi Kazakh National University, Almaty, Kazakhstan, Tel.: +7-707-463-1638, aizhan.zhusupova@gmail.com

Technological data on comparative isolation of biologically active compounds from *Limonium* Mill genus plants, which are the valuable source for the production of wide-range of action medications, is presented.

Studying organic acids of a ginger plant

Zolotaikina M.Yu., Gontovaya T.N.

National Pharmaceutical University, Kharkov, Ukraine, marg-vodopyanova@yandex.ru

With the help of chromatography-mass spectrometry method the qualitative composition of organic acids in the flowers and leaves of a ginger plant has been studied and their quantitative composition has been identified.

Key words: ginger plant, flowers, leaves, organic acids.

Inhibition by glyphosate of para-hydroxyphenyl ethanol synthesis in the culture of *Rhodospirillum rubrum*

Ivanova E.P., Smolygina L.D., Serdyuk O.P.

Institute of Basic Biological Problems RAS, Pushchino, Russia; cheredova@mail.ru

Para-hydroxyphenyl ethanol (pHPHE) with high cytokinin activity in the culture medium (CM) of purple photosynthetic bacterium *Rhodospirillum rubrum* (*R. rubrum*) has been found. The goal of this work was to clarify is the pHPHE a product of the cells degradation or it is exometabolite synthesized by shikimate pathway. Glyphosate-specific inhibitor of the 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase – initial enzyme of the shikimate pathway have used. Dependence pHPHE level per gram of wet cells on the concentration of glyphosate in the CM was found. Not effect at 10^{-5} M of glyphosate. Reducing the pHPHE level at 10^{-4} M and 10^{-3} M of $8\pm 2\%$ and $15\pm 3\%$ respectively were found. The maximum inhibitory effect for 90% was observed at concentrations of glyphosate 10^{-2} M equal 10^{-1} M in comparison with the control. Based on the obtained results we concluded that pHPHE is exometabolite of *R. rubrum* culture and is the product of shikimate pathway.

Phenolic compounds from rhizomes of *Iris carthaginiensis*

Isaev D.I.¹, Gurbanov G.M.¹, Mykhailenko O.O.², Kovalev V.N.²

¹Azerbaijan Medical University, Baku, Azerbaijan, provanalitik@mail.ru

²National University of Pharmacy, Kharkov, Ukraine, gnosi@ukrfa.kharkov.ua, тел.: 8(057)67-92-08, z_ola07@mail.ru, тел. +3(8050)9277385

Two new isoflavones was isolated from rhizomes of *Iris carthaginiensis* Fomin of flora of Azerbaijan. Their structure was established as 5,7,4'-trihydroxy-6-methoxyisoflavone (tectorigenin) and 5,4'-dihydro-6-methoxy-7-(o-glucoside) isoflavone (tectordin) based on

physicochemical properties; UV, IR, ^1H NMR spectroscopy and mass spectrometry.

Thermodynamic properties of flavonoid salvigenin

Kasenova Sh.B.¹, Mukusheva G.K.², Kasenov B.K.¹, Sagintaeva Zh.I.¹, Zhanimhanova P.Zh.², Adekenov S.M.²

¹Abishev Chemical and Metallurgical Institute, Karaganda, Kazakhan, kasenov1946@mail.ru

²JC «International research and production holding «Phytochemistry», Karaganda, Kazakhan, e-mail: phyto_pio@mail.ru

The method of the experimental calorimetry determined a standard enthalpy of dissolution in the standard (infinitely) diluted 96% solution of ethanol of a flavonoid salvigenin. Standard enthalpies of combustion, melting and formation of $\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{O}_6$ are calculated.

Interaction of chlorophyll and naphthoquinone: complex formation and charge separation

Klimenko I.V.¹, Lobanov A.V.², Zhuravleva T.S.¹

¹Emanuel Institute of Biochemical Physics, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia, тел. +7(495)939-71-97, inna@deom.chph.ras.ru

²Semenov Institute of Chemical Physics, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia, +7(495)939-79-45, avlobanov@mail.ru

It is shown that the photophysical properties of chlorophyll *a* (Chl) depend on the nature and relative amounts of 2_methyl_1,4_naphthoquinone (MNQ). It is shown that the quenching of Chl fluorescence in an MNQ solution at Chl and MNQ concentrations of 1×10^{-5} M and $6.7 \times 10^{-5} - 1 \times 10^{-4}$ M, respectively, is described by a linear dependence in the Stern–Volmer coordinates; no complex formation is observed for Chl and MNQ under these conditions, and electron transfer is of the dynamic type. Static or mixed_type energy transfer from MNQ to Chl dominates at elevated MNQ concentrations.

Quantitative characteristics of antioxidant activity of phenolic compound in leaves of various brands of tobacco

Kozlova Z.G.

Emanuel Institute of Biochemical Physics of the Russian Academy of Sciences (RAS), Moscow, Russia, +7(495)939-71-05, e-mail: zg-kozlova@mail.ru

Quantitative antioxidant activity (AOA) data of 5 brands of dry tobacco leaves were examined by an express method based on using a model reaction of initiated oxidation of hydrocarbon – cumene, developed in

the Institute of Chemical Physics RAS under the direction of academician N.M. Emanuel. These data vary from 5.0×10^{-3} to 3.8×10^{-1} mole/kg for the total content. The obtained AOA values correlate with values found earlier for spicy, aromatic- and several medicinal plants, such as cloves, red and black pepper, nutmeg, mustard, nettle, valerian, milk thistle, plantain etc. According to the data presented in this work these tobacco brands could be used as the source of natural AO for solving concrete practical problems (in medicine, food industry etc.).

Study on the composition and content of phenolic compounds *Atraphaxis frutescens* (L.) C. Koch. and *a. Pungens* (Bieb.) Jaub. et spach. by HPLC

Kostikova V.A., Kostikov D.K., Vysochina G.I., Petruk A.A.

Central Siberian Botanical Garden, SB RAS; Russia, Novosibirsk, tel.: +7 (383) 3399814; e-mail: serebryakova-va@yandex.ru

Nine compounds were founded in hydrolysates of extracts from leaves of plants of the *Atraphaxis frutescens* (L.) C. Koch. и *A. pungens* (Bieb.) Jaub. by the method HPLC. Four compounds are main. Flavonol aglycons - myricetin, quercetin and kaempferol were identified. *A. pungens* leaves contain more quercetin, with its quantity prevails in the fruiting phase (1.49 %). *A. frutescens* leaves contain more myricetin (0.91%). Hydrolysates from the leaves of *A. pungens* in the flowering stage do not differ from hydrolysates in the fruiting stage on qualitative composition of phenolic compounds.

X-ray diffraction study of lipid films with phenolic antioxidant ichphan

Krivandin A.V., Shatalova O.V., Fatkullina L.D., Goloschapov A.N., Burlakova E.B.

N. M. Emanuel Institute of Biochemical Physics, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia, tel. 84959397324, e-mail a.krivandin@sky.chph.ras.ru

ICHPHANS is a new class of hybrid antioxidants synthesized in the Institute of Biochemical Physics RAS. The molecules of ICHPHANS include fragments providing antioxidant and cholinesterase activities. So they are expected to be effective agents for curing cognitive damages of ageing people including the Alzheimer's disease. These damages are mainly considered as membrane pathologies resulting from oxidative stress, and molecular mechanisms of antioxidants protective action on membranes are of a primary interest. In order to get insight in these mechanisms we performed the X-ray diffraction study of one of

ICHPHANs (namely ICHPHAN-10-C-10) ability to incorporate into lipid multilayers in oriented lipid films. The lipid multilayered films were prepared on aluminum plates from the egg phosphatidylcholine and ICHPHAN combined chloroform solutions with ICHPHAN:phosphatidylcholine mass ratio varied from 0% (without ICHPHAN) to ~30%. The phase signs of the structure amplitudes were determined utilizing the swelling method and the electron density profiles of lipid membranes were calculated with ~1.2 nm resolution. Results obtained show the significant alteration of phosphatidylcholine membrane structure in the presence of ICHPHAN implying the ability of ICHPHAN to incorporate in lipid membranes at high concentrations.

HPLC method definition of polyphenolic compounds in the substance and the capsule of medication from the plant

***Euphorbia soongarica* Boiss**

Kushnarevich D.A.¹, Rakhmadiyeva S.B.¹, Murzagulova K.B.²

¹L.N. Gumilyov Eurasian National University, Astana, Kazakhstan, dka05@mail.ru

²TOO «ФК POMAT», Pavlodar, Kazakhstan.

Polyphenolic compounds in the substance Suttigen and the capsules were determined by HPLC method on equipment Agilent 1290 Infinity. Such flavonoids as quercetin, quercetin-3-O-glucoside, quercitrin, quercetin-3-O-rutinosid, gallic acid were identified. The qualitative and quantitative content of flavonoids in the substance and the capsules are the same. Determination of tannin on HPLC is difficult because it gives multiple peaks.

Determination of phenolic compounds in extract of *Convolvulus aucheri* by hplc-dad

Mammadov R.¹, Ozay C.¹, Aykut C.², Kalashnikova E.A.³

¹Department of Biology, Faculty of Science and Literature, Pamukkale University, Denizli, Turkey rmammad@yahoo.com

²Department of Biology, Faculty of Science, Akdeniz University, Antalya, Turkey

³Department of genetics, biotechnology, plant breeding and seed, Faculty of Agronomy and Biotechnology, Russian State Agrarian University-MTAA Timiryazeva, Moscow, Russia

Phenolic compounds have strong antioxidant activities associated with their abilities to scavenge free radicals, donate hydrogen, chelate metals, break radical chain reactions, and quench singlet oxygen in vitro and in vivo (Duthie et al., 2000). Among dietary antioxidants, phenolics

are by far the most abundant compounds in most of the diets. Epidemiological studies have revealed the associations between the consumption of phenolic-rich foods and the prevention of oxidative stress-related diseases (Rice-Evans et. al., 1997; Lima et.al., 2006; Sies, 1997). Concurrently, the synthetic antioxidants have restricted use in food as they are suspected to be carcinogenic (Semalty, 2009). People's demand for natural products that can enhance and preserve health has never been greater with the enhancement of health consciousness.

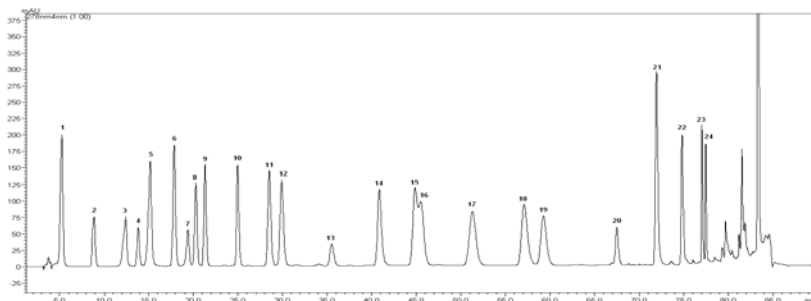


Figure 1. HPLC-DAD chromatogram of standards: 1, gallic acid; 2, protocatechuic acid; 3, catechin; 4, *p*-hydroxy benzoic acid; 5, chlorogenic acid; 6, caffeic acid; 7, epicatechin; 8, syringic acid; 9, vanilin; 10, *p*-coumaric acid; 11, ferulic acid; 12, sinapinic acid; 13, benzoic acid; 14, *o*-coumaric acid; 15, rutin; 16, naringin; 17, hesperidin; 18, rosmarinic acid; 19, eriodictiol; 20, cinnamic acid; 21, quercetin; 22, luteolin; 23, kaempferol; 24, apigenin.

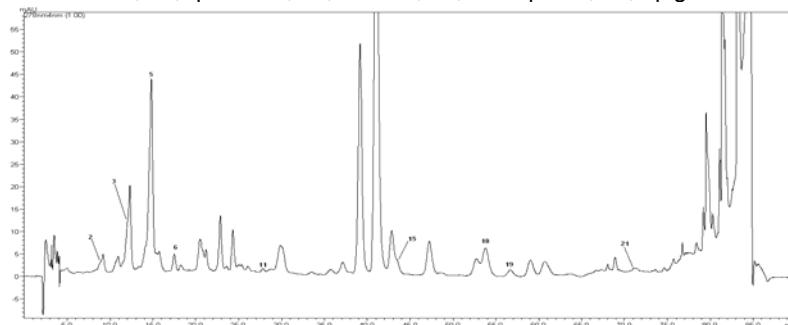


Figure 2. HPLC-DAD chromatogram of methanolic extract of *C. aucheri*. where: 2, protocatechuic acid; 3, catechin; 5, chlorogenic acid; 6, caffeic acid; 11, ferulic acid; 15, rutin; 18, rosmarinic acid; 19, eriodictiol; 21, quercetin.

The content of phenolic compounds in biological samples can be determined by various analytical instrumental methods, such as gas chromatography, thin-layer chromatography, and capillary

electrophoresis. However, high performance liquid chromatography (HPLC) has proved to be the most appropriate owing to the structural similarity and diversity of phenolic compounds, allowing the analysis with sufficient precision, selectivity and within a reasonable time. HPLC typically hyphenated with ultraviolet visible (UV), photodiode array (DAD), mass spectrometry (MS), electrochemical (ED), fluorescence (FD), chemiluminescence (CL), refractive index (RI), and evaporative light scattering (ELSD) detectors has been the best method of choice for routine analysis of phenolic compounds in most hitherto published studies.

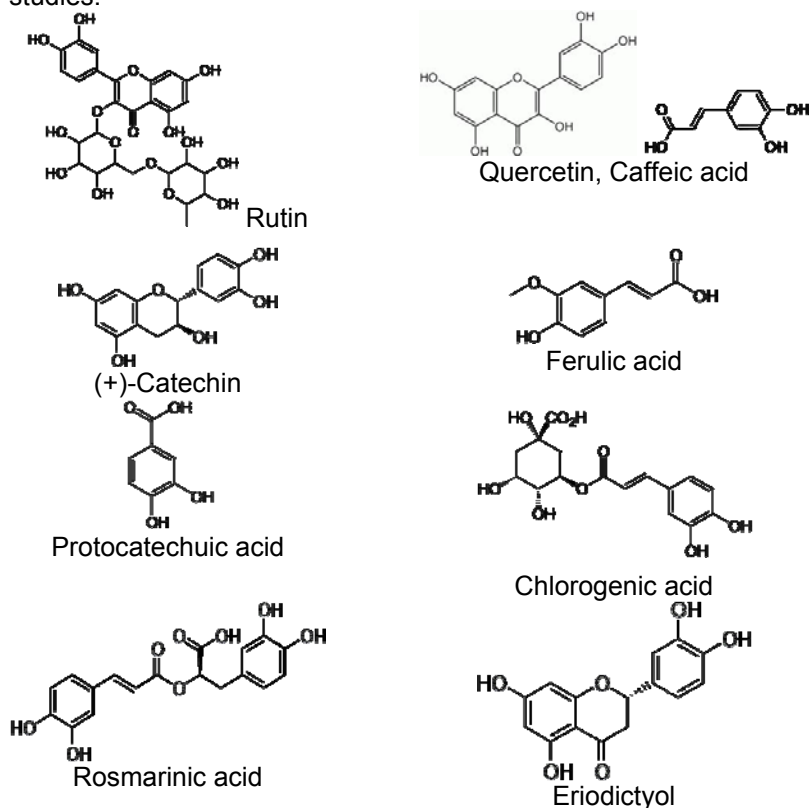


Figure 3. Chemical structures of phenolic compounds detected in *C.aucheri* methanolic extract

Convolvulus is a genus of approximately 250 species of flowering plants in the Convolvulaceae family, commonly known as bindweeds, some of which occur in Mediterranean regions (Alapetite,

1981). Extracts of several members of this genus, such as *C. hystrix*, *C. althaeoides*, *C. pluricaulis*, *C. fatmensis*, and *C. arvensis* have been reported to exhibit antioxidant activity, which was correlated to their phenolic content (Krzaczek et al., 2004).

Alkaloids, flavonoids, coumarins, sterols, saponins, resin glycosides, tannins and stilbene derivatives have been isolated from plants of this genus (Molyneux et al., 1993; Dawidar et al., 2000). Many *Convolvulus* species are known for their medicinal utilization and exhibit interesting biological properties such as purgative, CNS (*central nervous system*) disturbing and antidepressant, antioxidant, hypoglycemic, antinociceptive, anticancer, anti-ulcerogenic and antidiarrhoeal activities (Parihar and Hemnani, 2003; Kumar, 2006).

In this study, the methanolic extract of *Convolvulus aucheri* Choisy was firstly investigated for its phenolic composition. The HPLC analyses were conducted on a Shimadzu liquid chromatograph system (Shimadzu Corp, Kyoto, Japan) equipped with a quaternary pump, a vacuum degasser, an autosampler, a diode array detector and an Agilent Eclipse XDB-C18 column (250 mm × 4.6 mm, 5 µm). The flow rate was 0.8 mL/min, and the injection volume was 20 µL for each sample. Solvent A was 3% acetic acid and solvent B was 100% methanol (v/v). Results were acquired and processed by the Shimadzu Workstation software (Shimadzu Corp). The HPLC chromatograms of standards and *C. aucheri* and the chemical structures of phenolic compounds are presented in Figure 1, 2 and 3, respectively. As a result, nine phenolic compounds were detected. These compounds are protocatechuic acid, catechin, chlorogenic acid, caffeic acid, ferulic acid, rutin, rosmarinic acid, eriodictiol and quercetin.

Research on phenolic compounds is of current interest since they have important biological and pharmacological properties. In our previous study we found that *C. aucheri* methanolic extract has antioxidant properties. Phenolic compounds identified in this study support this observation. Eventually it can be concluded that *C. aucheri* and its phenolic compounds can be used for further experiments.

REFERENCES

1. Alapetite, G.P. 1981. Flore de la Tunisie. Publications scientifiques Tunisiennes, Imprimerie Officielle de la République Tunisienne, Tunis, Tunisie, p. 564.
2. Dawidar A. M., Ezmirly S. T., Abdel-Mogib M., El- Dessouki Y., and Angawi R. F. 2000. New stilbenecarboxylic acid from *Convolvulus hystrix*. Pharmazie 55, 848-849.
3. Duthie, G.G., Duthie, S.J., Kyle, J.A.M. 2000. Plant polyphenols in cancer and heart disease: Implications as nutritional antioxidants. Nutr. Res. Rev., 13, 79-106.

-
4. Krzaczek, T., Bogucka-Kocka, A., Ryn, D. 2004. Chromatographical analysis of phenolic compounds in herb *Convolvulus arvensis* L. Herba Polon. 50, 17-22.
 5. Kumar V. 2006. Potential medicinal plants for CNS disorders: an overview. Phytother Res. 20, 1023-1035.
 6. Lima, C.F., Fernandes-Ferreira, M., Pereira-Wilson, C. 2006. Phenolic compounds protect HepG2 cells from oxidative damage: Relevance of glutathione levels. Life Sci., 79, 2056-2068.
 7. Molyneux R. J., Pan Y. T., Goldmann A., Tepfer D. A., and Elbein A. D. 1993. Calystegins, a novel class of alkaloid glycosidase inhibitors. Arch. Biochem. Biophys. 304, 81-88.
 8. Parihar M. S. and Hemnani T. 2003. Phenolic antioxidants attenuate hippocampal neuronal cell damage against kainic acid induced excitotoxicity. J. Biosci. 28, 121-128.
 9. Rice-Evans, C.A., Miller, N.J., Paganga, G. 1997. Antioxidant properties of phenolic compounds. Trends Plant Sci., 2, 152-159.
 10. Semalty, M., Semalty, A., Joshi, G.P., Rawat, M.S.M. 2009. Comparison of *in vitro* Antioxidant Activity of *Trigonella foenum-graecum* and *T. corniculata* Seeds. Res. J. Phytochem., 3, 63-67.
 11. Sies, H. 1997. Oxidative stress: Oxidants and antioxidants. Exp. Physiol., 82, 291-295.

Extraction of chlorogenic acid from marsh cinquefoil *Comarum palustre* L.

Maksimenko E.V., Filonova O.V., Lekar A.V., Borisenko S.N., Vetrova E.V., Kabanova A.D., Borisenko N.I.

Institute of Physical and Organic Chemistry, Southern Federal University, Rostov-on-Don, Russia, boni@ipoc.rsu.ru

The aim of work was to develop method of eco-friendly extraction of chlorogenic acid from marsh cinquefoil (*Comarum palustre* L.) in medium of subcritical water. Chlorogenic acid (3-O-coffee-quinic acid, CA) and its isomers are effective antioxidants. CA is contained in various fruits and beverages, such as blueberries, eggplant, apples, and especially its high content recorded in green coffee beans. The amount of chlorogenic acid in the extracts obtained in the medium of subcritical water and in aqueous ethanol was determined by HPLC.

Acylation of polyprenol by chloranhydrides of aromatic carbonic acids

Malenkovskaya M.A., Rasadkina E.N., Pugashova N.M.

Federal State Financed Educational Institution of Higher Professional Education "Moscow State Pedagogical University" (MSPU), Institute of Biology and Chemistry, Chair of Organic Chemistry, Moscow, Russia, 8(499)246-57-90, e-mail: chemdept@mail.ru

The investigation of hydroxyl groups activation of polyprenol, obtained from spruce needles, with chloroanhydrides of acetylsalicylic and 2-(4-isobutylphenyl)propionic acids was started. The corresponding esters, which are potential bioactive nanotype structures, were synthesized and described with the use of ^1H and ^{13}C NMR spectroscopy including 2D technique and heteronuclear (HETCOR ^1H - ^{13}C) correlations.

Antioxidant phenoan K caused induction of the antiapoptotic protein bcl-2

Mil E.M.

Emanuel Institute of Biochemical Physics RAS, Moscow, Russia. +7(499) 137-41-81, e-mail: elenamil2004@mail.ru

By the immunoblotting method it was shown that phenoan K (at a concentration of 10^{-14} and 10^{-4}M) caused induction of the antiapoptotic protein Bcl-2, which prolongs cell survival, in spleen cells of mice F1 (CBA $\times$ C57 BL) and in blood cells of leukemia AKR mice. This can be connected with numerous positive effects phenoan K such as adaptation, anti-inflammatory, reparation DNA, etc. At the same time the antioxidant ICHFAN-10 and melaphen result to a reduction of the protein Bcl-2, which may indicate the initiation of apoptotic signaling in the cells of mice. According to literature data, flavonoids of the plants various origin, some from theaflavins can lead to the proapoptotic effect, increased expression of p53 and apoptosis proteins BAX, while others lead to decreased expression of Bcl-XL, or Bcl-2.

Phenolic compounds from the flowers of *Helleborus caucasicus*

Muzashvili T.¹, Pecio L.², Kemertelidze E.¹, Oleszek W.², Stochmal A.²

¹Ivel Kutateladze Institute of Pharmacochimistry, Tbilisi State Medical University, 0159 Tbilisi, Georgia;

²Department of Biochemistry and Crop Quality, Institute of Soil Science and Plant Cultivation State Research Institute, 24-100 Pulawy, Poland, tamar.muzashvili@gmail.com

Helleborus species are evergreen, perennial flowering plants from Ranunculaceae family. The color of *Helleborus* flowers depending on species range from white-green and yellow to pinks and red. There are very few reports on the chemical composition of *Helleborus* flowers. So far only quercetin 7-glucoside-3-(caffeoyl) sophoroside was isolated from *Helleborus foetidus* petals [1]. Recently in sepals of *Helleborus*

niger cyanidin glycosides and flavonoids have been identified and quantified [2].

For the first time *Helleborus caucasicus* flowers were researched for their phenolic profile.

Plant material was extracted with 80% MeOH once at room temperature and two times for 30 min. at 45°C. Extracts were pooled and concentrated under reduced pressure. Crude residue was dissolved in water and successively portioned with ethylacetate/*n*-BuOH. The obtained fractions further were separated by preparative column chromatography (10 mm × 200 mm, LiChroprep Si 60, 25-40 µm; Merck), using solvent system chloroform/methanol/water (26:14:3). This approach resulted in isolation of a new acylated flavonol glycoside [Quercetin 3-O-(2-E-caffeoyl)-β-Xyl-(1→2)-β-Gal 7-O-(6-E-caffeoyl)-β-Glc], along with known flavonoids and phenolic acids. The structures of isolated individual compounds were established by extensive 1D and 2D NMR spectroscopy, and MS analyses.

Acknowledgements: The work was supported from the Shota Rustaveli National Science Foundation (Contract No. №PG/102/8-404/13).

References

1. Harborne JB.: *Experientia*. 1963,19,7-8.
2. Schmitzer V., Mikulic-Petkovsek M., Stampar F.: *Journal of plant physiology*. 2013, 16,1407-1415.

Obtaining of sulfonic acids of hydroxyanthraquinones and studying of their biological activity

Muzychkina R.A., Korulkin D.Yu., Bazhakanova S.K.

Al-Faraby Kazakh National University, Almaty, Kazakhstan,
87022596499, bazhakanova.saltanat@gmail.com

Worked out optimal technological parameters of sulfonation reaction dioxanthraquinones. The synthesis of a series of new, potentially bioactive anthraquinones.

Sulfoacids of hydroxyanthraquinones have higher mycocide, bactericide, fungicide and antitumor activities, radioprotective effect.

Reactions with production of sulfoacids are perspective in terms of search for new biologically active compounds as practically all sulfoacids on the base of hydroxyanthraquinones and their salts are soluble in water, which facilitates studying of their activity.

Extraction and phytochemical research of bioactive substances of the Kazakhstan *Tillaea vaillantii* Willd. plant

Muzychkina R.A., Nuraliev R.M., Korulkin D.Yu.

al-Farabi Kazakh National University, Almaty, Kazakhstan, tel. 727-2923731, e-mail: rmuz@mail.ru

The results of research on chemical composition and dynamics of accumulation of the phenols, phenolic and hydroxycinnamic acids, carbohydrates, coumarins, flavonoids and hydrolysable tannins in Kazakhstan *Tillaea vaillantii* Willd. plant on vegetation phases are presented.

Comparative characteristics of the phenolic compounds factions of dry extract *Coluria geoides* (Rosaceae)

Myadelets M.A.¹, Dutova S.V.²

¹Central Siberian Botanical Garden, SB RAS, Novosibirsk, Russia, phone (383) 339-98-14, e-mail: MarinaMyadelets@yandex.ru

²Khakas State University, Abakan, Russia, phone (3902) 34-27-20, e-mail: coluria@mail.ru

A study of phenolic compounds fractions (water, ethanol, butanol, acetone) biologically active substances *C. geoides* dry extract by high performance liquid chromatography. The highest content of the investigated components noted in the water and ethanol fraction. In the aqueous fraction was transferred to a large degree cinnamic acids (ellagic, 61.78%), gallic, 53.67%), m – coumaric, 43.19%) is simply phenylpropanoids that may cause a pharmacological activity.

Non-covalent conjugates of 3-hydroxyflavone and carbohydrates in aqueous solution

Pogodaeva N.N.¹, Suhov B.G.¹, Medvedeva S.A.²

¹A.E. Favorsky Irkutsk Institute of Chemistry SB RAS, Irkutsk, Russia, e-mail: nat_pogodaeva@iroch.irk.ru

²Irkutsk Research Technical University, Irkutsk, Russia

Interactions between 3-hydroxyflavones and carbohydrates in aqueous solutions have been investigated by physicochemical methods (IR, UV, optical rotary dispersion). It is found, 3-hydroxyflavones and carbohydrates generate molecular complexes. The complexation is performed by involving of tautomeric α -diketoform of 3-hydroxyflavones, which contribution is considerably increased as the result of its stabilization, when α -diketo groups of flavones interact with cis-diol groups of carbohydrates.

Optimization of chromatographic separation parameters of natural polyphenol mixtures

Polunina I.A., Polunin K.E.

N. Frumkin Institute of Physical Chemistry and Electrochemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia, polunina@phych.ea.ru

The separation of multicomponent mixtures of phenolic compounds and isolation of the final product of chemical synthesis widely uses the adsorption methods, such as a column and thin layer chromatography. A protocol of their isolation from the natural raw materials occur most effective via normal phase chromatography. In order to optimize parameters of separation process in normal phase chromatography we conducted a study to investigate an influence of the solution composition and nature of hydroxystilbenes on the retention of these compounds on silica. The retention characteristics of *trans*-hydroxystilbenes (4-hydroxystilbene, 4,4'-hydroxystilbene, $\alpha\alpha'$ -diethyl-4,4'-dihydroxystilbene (diethylstilbestrol), 3,5,4'-trihydroxystilbene (resveratrol) were compared. A mixture of n-hexane and ethyl acetate was used as a solvent.

The numerical values of the coefficients obtained were used for simulation of dynamic separation of mixtures of physiologically active derivatives of stilbene in the range of linear adsorption isotherms. The observed patterns can be used to optimize conditions for the practical separation of mixtures of plant extracts of hydroxystilbenes and mixtures of products of chemical synthesis.

An algorithm of numerical modeling of stilbenoid concentration front motion under conditions of preparative TLC on chromatotron is proposed. The correspondence of theoretical and experimental results is shown.

This work was supported by the Russian Foundation of Basic Research (project no. 15-08-08006 and 14-08-00780).

Polyphenolic compounds of plant of *Lepidium ruderae* Linn. and their biological activity

Rakhmadiyeva S.B., Kudarova A.N., Shertaeva N.T.

L.N. Gumilyov Eurasian National University, Astana, Kazakhstan, rakhmadiyeva_sb@enu.kz

Research results of polyphenols of *Lepidium ruderae* Linn. and their biological activity are given in this article. The plant was collected on the territory of Bayan - Aul nature reserve of the Pavlodar region. Research was conducted by methods of a highly performance liquid chromatography (HPLC) and mass- spectrometry.

The chromatographic behavior of rutin and gallic acid using isocratic rp hplc

Sanzhiev A.N.¹, Marchenko R.D.¹, Krivoschekov S.V.^{1,2}

¹National Research Tomsk Polytechnic University, Tomsk, +73822529832, mr.nuts1993@gmail.com

²Siberian state medical university, Tomsk, +73822529832, ksv_tsu@mail.ru

Currently, the most widely used reverse phase chromatography. Reversed-phase high performance chromatography firmly holds the position of the principal method for routine quantitative and qualitative analysis of substances. The main condition of it is that the material should be soluble in a solvent for HPLC. Grafted hydrophobic phase C18 sorbent is the most common of several homologues C2, C4, C8, C16. There is stationary phases C6H5, but they are less popular than C18. C18 sorbent widely used due to the highest hydrophobicity, thereby increasing the retention time of a substance [1] and the separation occurs mainly on reversed-phase mechanism due to hydrophobic (solvophobic) interactions. In RP HPLC using polar solvents such as acetonitrile, water, less tetrahydrofuran (long-term storage form peroxides) and methanol (toxic and bindings). As a mobile phase predominantly used aqueous-organic solutions, also for the elution used buffer solutions of mineral acids, salts and bases with specify a pH value.

Flavonoids are a group of biologically active substances derived dephenylpropionic structure of polyphenolic nature. They are among of largest group of phenolic compounds, and include two aromatic rings connected by aliphatic three-carbon bridge. The general structure of flavonoids written as follow: C6-C3-C6. Particular interest to this group of substances due to their wide range of biological activities, low toxicity, and in some cases its absence, the huge spread in nature. Rutin is a good antioxidant, exhibits P-vitamin properties and together with ascorbic acid involved in strengthening the walls of blood vessels. Gallic acid also exhibits P-vitamin properties.

The synthesis of functional derivatives based on semisynthetic isobornylphenols

Sukrusheva O.V., Shumova O.A., Chukicheva I.Yu., Kuchin A.V.

Institute of Chemistry of the Komi Science Center of the Ural Division of the Russian Academy of Sciences, Syktyvkar, Russia, Sukrusheva@mail.ru

At present, sterically hindered phenols are the most representative and popular class amongst synthetic antioxidants. These compounds are

biologically active substances, which effectively slows the lipid peroxidation and oxidative stress of organism. One of the most promising methods to improve the efficiency of phenolic antioxidants is to obtain a polyfunctional (hybrid) antioxidants, the molecules of which contain multiple reaction centers capable of inhibiting oxidative processes by means of various mechanisms.

It is known that the terpenophenols synthesized at the Institute of Chemistry, the Komi Science Centre exhibit antioxidant activity and are promising compounds for drug development, the introduction of additional functional groups into their molecules being the subject of special interest. The synthesized derivatives of halogenated phenols containing sulfur atoms in various functional groups (sulfide, disulfide, thiol, thio ester) are promising antioxidants.

Effect of polyphenols compounds yerba maté (*Ilex paraguariensis*) on the process of phospholipid peroxidation
Teselkin Yu.O.¹, Buravlev E.A.¹, Buravleva K.V.³, Lubitskiy O.B.¹, Bobok M.N.², Pavlova L.A.^{1,2}

¹N.I.Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia (495) 434-8192, yu_teselkin@mail.ru

²I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia, (495) 708-3971, id@mma.ru

³SRI of Physico-Chemical Medicine, Moscow, Russia, (499) 246-4409, niifhm@fmbamail.ru

The influence of the extract of the leaves and shoots Yerba Maté (*Ilex paraguariensis*) on the process of Fe²⁺-induced peroxidation of egg phospholipids (PL) solubilized by Triton X-100 was investigated. Process of egg PL peroxidation was measured by chemiluminescence (CL) in the presence of the activator luminescence of isoquinoline coumarin C-525. It was found that the addition of the aqueous extract Yerba Maté in this model system was accompanied by a dose-dependent decrease in the amplitude of the "slow" flash CL. It was shown that the antioxidant activity (AOA) of aqueous extract Yerba Maté exceeds AOA of some aqueous extracts other plants (*Betula pendula* Roth., *Betula nana* L. and *Ziziphora clinopodioides*). It is assumed that the AOA extract Yerba Maté is due to its constituent of polyphenolic compounds, having the ability to intercept lipid radicals and bind Fe²⁺ ions.

Group composition and phenolic compounds of the siberian larch needles and twigs extractives

Tranchuk N.V., Roshchin V.I.

St. Petersburg State Forest Technical University named after S.M. Kirov,
St. Petersburg, Russia, +79112544886, E-mail: tran4uk@yandex.ru ,
kaf.chemdrev@mail.ru

Larch is the most widespread wood species in Russia. Larch forest occupies the territory of about 278 mil. hectares, which is about 40% of all the forest area in our country. Siberian larch is the most widespread species of the *Larix* genus. At the present time mankind lacks of available natural and the direction of the complex processing of wood is actual. But for the industrial processing of the larch only the stem part of a tree is used, and the crown belongs to waste. That is irrational. Also larch needles fall in autumn and its chemical composition isn't the same during all vegetation period. That's why there are many specific problems with its industrial processing.

It is well known that the wood green of the coniferous is extremely rich with biological activity substances such as phenolic compounds. These compounds can be used in medicine, veterinary, cosmetology, agricultural industry.

The purpose of this research is to investigate the phenolic compounds composition of the Siberian larch needles and twigs.

Effect of antioxidant Phenozan on structural characteristics of the membranes and dna the development of spontaneous leukemia mice

Fatkullina L.D., Burlakova E.B., Zavarykina T.M., Zhizhina G.P.

Emanuel Institute of Biochemical Physics RAS, Moscow, Russia, Tel. 8(495)939-74-00; e-mail: bcp-lfat@mail.ru

We studied the effect of phenolic antioxidant phenozan in different doses on the structural characteristics of the DNA and cell membranes and organs of mice with spontaneous AKR leukemia. Found that phenozan in small and super small doses reduced the damage to the DNA structure of the spleen, slowed the intensity of the LPO in the blood and changed the structural condition of erythrocyte membrane lipids in mice AKR in the process of development of leukemia, which gives the opportunity to consider phenozan as promising antioxidant to prevent cancer.

Supramolecular complexes Megosin

Khaitbaev A.Kh.

National University of Uzbekistan, Department of Chemistry, Tashkent,
tel. +998935499966, polyphenol-10@yandex.ru

Among the synthesized azomethine derivatives of gossypol in the plan based on them drugs of interest gossypol compounds with glycyrrhizic acid.

Antioxidant activity and the content of anthocyanins in the fruits of wild and cultivated varieties of blueberries in Adjara

Hahutaishvili M., Dzhararidze I., Vanidze M.

Batumi Shota Rustaveli State University, Georgia, E-mail
vanidzemaia@gmail.com

The results of a comparative study of 9 varieties of Blueberry (Mist, Legacy, Oneal, Bluecrop, Chandler, Reka, Blueray, Bluegold and Earliblue) and wild blueberry on the content of monomeric anthocyanins and antiradical capacity using the free radical DPPH.

Effect of some *para*-substituted phenolics on macrobasidiomycetes cultures

Tsvileva O.M.¹, Pankratov A.N.², Tsymbal O.A.², Yurasov N.A.², Doikova D.O.², Puchkova T.A.³, Kapich A.N.³

¹Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms, RAS Saratov, Russia, phone: +7(8452)970444, e-mail: tsvileva@ibppm.sgu.ru

²N.G. Chernyshevskii Saratov State University, Saratov, Russia, phone: +7(8452)516960, e-mail: PankratovAN@info.sgu.ru

³Institute of Microbiology, NASB, Minsk, Belarus Republic, phone: +(375)17-267-47-66, e-mail: microbio@mbio.bas-net.by

The capability of 4-(2-hydroxyethyl)phenol, 4-hydroxyphenylacetic acid, 4-hydroxybenzoic acid, and 3,5-dimethoxy-4-hydroxybenzoic (syringic) acid at a definite concentration to influence the balance in antioxidative defence system of macrobasidiomycetes *Lentinula edodes*, *Ganoderma applanatum* and *Grifola umbellata*, and to minimize the oxidative stress has been studied. The analysis of the data obtained in relation to the biological peculiarities of oxidative metabolism of the basidiomycetes, their adaptability has been performed.

Phenolic compounds from Tannin Extract of hops

Chesnokova A.N.¹, Kunz T.², Lutsky V.I.¹, Methner F.-J.²

National Research Irkutsk State Technical University, Irkutsk, Russia, tel. (3952) 40-51-22, vladlutsky@gmail.com

Berlin University of Technology, Berlin, Germany, +49 (30) 314-27504, brauwesen@tu-berlin.de

A number of polyphenolic compounds of the Tannin Extract of hops, namely catechins, phenolic acids and phenol glycosides were characterized by HPLC-DAD. Among the studied compounds our attention was focused on 1-[(2-methylpropanoyl)phlorogluciny]- β -D-glucopyranoside (co-multifidolglucoside), which exhibits anti-inflammatory activity. It was isolated by preparative HPLC from the Tannin Extract and identified by NMR (^1H , ^{13}C and 2D), MS and UV. We have also found the compound in unstabilised beer and wash solution of PVPP regeneration after beer filtration. The participation of co-multifidolglucoside in beer haze formation was confirmed with model solution trials.

Analogues of natural prenyphenols: synthesis and biological activity

Chukicheva I.Yu., Fedorova I.V., Koroleva A.A., Kutchin A.V.

Institute of Chemistry of the Komi Science Center of the Ural Division of the Russian Academy of Sciences, tel. (8212)21-9916, chukicheva-iy@chemi.komisc.ru

We have developed methods for selective directed synthesis of semisynthetic terpenephensols with a different structure type, which are promising antioxidants and stabilizers for various purposes. Established a number features of the alkylation phenol and dihydroxy-benzenes by terpenic allyl alcohols, including Betula-prenols and polyprenols isolated from cotton.

Flavonoids from some varieties *Gossypium* L.

Shamuratov B., Mavlyanov S.

Institute of bioorganic chemistry Academy of Sciences of Uzbekistan, Tashkent, Uzbekistan, e-mail: ibchem@uzsci.net

It was studied some sorts of *Gossypium hisutum* L. for phenolic content. As a result of extraction, separation on column chromatography, purification on HPLC were isolated and identified flavonoids: 4',5',7-trihydroxyflavone (apigenin), kaempferol-3-O-glucoside (astragalin), 3',4',5,7-tetrahydroxyflavone (luteolin) and 3,3',4',5,5',7-hexahydroxyflavone (myricetin).

Biological activity of novel derivatives of α -mangostin

Shevchenko O.G.¹, Buravlev E.V.², Kutchin A.V.²

¹Institute of Biology, Komi Scientific Center, Ural Branch of the RAS, Syktyvkar, Russia, phone: 8(8212)430478, e-mail: microtus69@mail.ru

²Institute of Chemistry, Komi Scientific Center, Ural Branch of the RAS, Syktyvkar, Russia, phone: 8(8212)219916, e-mail: eugeneburavlev@gmail.com

Biological activity of some novel derivatives of α -mangostin was evaluated. It has been shown on a model of H₂O₂-induced erythrocyte hemolysis that the aminomethylated derivatives with morpholine and piperidine fragments differ from α -mangostin by their high antioxidant and membrane-protective activity.

Phenolic compounds extracts and fractions are *Alfredia cernua*

Shilova I.V.^{1,2}

¹Institute of Pharmacology Research and Regenerative Medicine named after E.D. Goldberg, Tomsk, Russia, +79138087736, e-mail: inessashilova@gmail.com

²National Research Tomsk State University, Tomsk, Russia, +79138087736, e-mail: inessashilova@gmail.com

It is established that most of the flavonoids in ethyl acetate and concentrated the fractions butanol; lignans, coumarins found in the chloroform and ethyl acetate fractions; simple phenols, phenolic acids – in chloroform, ethyl acetate and butanol fractions. Extract *Alfredia cernua* (L.) Cass. isolated lignans (arktiin), flavonoids (quercetin, izoquercitrin, rutin), phenolic acids (vanillic, chlorogenic).

Inhibitory efficiency of the plant cell components in autooxidation processes

Shishkina L.N., Kozlov M.V., Mazaletskaya L.I., Khrustova N.V., Sheludchenko N.I.

Emanuel Institute of Biochemical Physics of Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia, 8(495)9397186, shishkina@sky.chph.ras.ru

Lipids isolated from *Laminaria japonica*, 20% ethanol extract from fruits of *Sophora japonica*, quercetin and dihydroquercetin, mixture of plant

sterols (serpisten), β -carotene and Vetoron (mixture of β -carotene, ascorbic acid and α -tocopherol), mixture of α -tocopherol and serpisten were selected to study their inhibitory efficiency in autooxidation processes using the methyl oleate oxidation model and KINS program. It is shown that the inhibitory efficiency of the plant cell components is due to physicochemical properties of compounds which consist in their composition and substantially depends on the concentration of components and the initiation rate in system.

Manifestation of membranotropic properties of flavonoids and their complexes with cations of iron (II)

Yagolnik E.A.¹, Muzafarov E.N.¹, Kim Yu.A.², Tarahovsky Y.S.³

¹Tula State University, Tula, Russia, ser-gajdin@yandex.ru, yea_88@mail.ru, enmuzafarov@mail.ru, 8 (920) 272-60-83

²Institute of Cell Biophysics, RAS, Pushchino, Russia, yuk01@rambler.ru

³Institute of Theoretical and Experimental Biophysics, RAS, Pushchino, Russia, tarahov@rambler.ru

We studied complex formation of flavonoids with iron(II) and the complex influence on phase transitions of phospholipid bilayer. UV–Vis spectroscopy revealed that the stoichiometry of flavonoid-iron complexes was equal to 3:2 and 2:1. Molecular modeling and experimental measurements demonstrated the increase of flavonoids lipophilicity after the complex formation. A considerable influence of quercetin–iron complex on DMPC and POPE transitions from bilayer to hexagonal HII phase was detected by differential scanning calorimetry. The obtained data are related to flavonoid/iron complexes bioavailability, their influence on cell membrane functioning, and should be considered in designing liposomal vehicles for drug and gene delivery.

2 SECTION

The role of salicylic acid in functioning of pro- and antioxidant systems of cucumber plants under saline conditions

Abilova G.A.

Daghestan State University, Makhachkala, Russian Federation, 4
Batraya Str, gulyaraabilova@mail.ru

In cotyledons of 10-day-old seedlings of cucumber (*Cucumis sativus* L.) of sort Phoenix grown from seeds pretreated with 1 mM solution of salicylic acid (SA) when watering 50 mM NaCl, has been determined the intensity of lipid peroxidation and superoxide dismutase. The observed changes in both components of pro- and antioxidant system indicate on preadaptation effect of SA on cucumber seedlings under saline conditions.

Seasonal changes of phenolic content of *Pentaphylloides fruticosa* growing in south of the Amur region

Andysheva E.V.¹, Khramova E.P.²

¹Amur branch of Botanical Garden – Institute FEB RAS, Amur Region, Blagoveschensk, Russia, High Road Ignatievsk 2^{ed} km, 675000, Fax: 8(4162)33-32-53, e-mail: lenk-luchik@mail.ru

²Central Siberian Botanical Garden SB RAS, Zolotodolinskaya ave. 101, 630090, Novosibirsk, Russia, Fax: 8(383)3301986, e-mail: khramova@ngs.ru

Seasonal changes of phenolic compounds content in the leaves of *Pentaphylloides fruticosa* during the vegetative season were studied. Six glycosides of flavonol (hyperoside, isoquercitrin, rutin, avikulyarin, quercitrin and astragalin), three aglicones (quercetin, kaempferol and rhamnetin) as well tannins (ellagic acid and its glycoside) were identified. The higher content of phenolic compounds in phases of a blossoming and fructification was established. The higher content of ellagic acid in the phase of a budding, and glycoside of ellagic acid in the phase of a blossoming were noted. Quercetin glycosides and kaempferol glycosides were found during the vegetative season. Rhamnetin glycosides were found only in mature leaves. The higher content of glycosides of flavonol types were noted in a phase of a beginning and mass blossoming and fructification, a quercetin – at the

beginning of vegetation and the end of a blossoming. The fact of discrepancy of dynamics of accumulation of glycosides and their aglicones were revealed. The content of the majority of separate phenolic compounds in mature leaves in a phase of a blossoming and fructification were maximum.

Phenoloxidase wheat seeds, its inhibitors and activators

Babitsky A.Ph.

Slavic University, Kishinev sity, Moldova, babandre@mail.ru

A method of mass selection wheat seeds for phenoloxidase activity has been developed. There are found new inhibitors of phenoloxidase, including chelating copper atoms rubeanic acid and 8-hydroxyquinoline; zirconium nitrate, a molecule in the stable enol form: 2-methyl-1,3-cyclopentandion, levamisole known in pharmacy as weak immunomodulator and drugs papaverine and drotaverine. It is shown that rubeanic acid can detect surface discontinuities content of phenoloxidase enzyme on the surface of the pericarp of wheat kernel. The most potent inhibitor of the drugs is levamisole. The rubeanic acid allows to highlight the topography of phenoloxidase distribution over the surface of a seeds. The highest content of the fenoloxidase is located on the grain surface in the vicinity of the embryo of wheat and gradual decreases toward the tip of the seed.. It is proposed to use the phenoloxidase test system of wheat seed for mass screening of drugs and medicine on the inhibitory activity to the genesis of melanine in biological systems.

Dynamics of accumulation of phenolic compounds in different organs burnet (*Sanguisorba officinalis* L. (Rosaceae) in ontogenesis

Bahtenko E.Yu.¹, Kurapov P.B.²

¹Department of botany, Vologda State Pedagogical University, Vologda, 160600, Russia, tel. +7(911)508-40-07, e-mail: bakhtenko@yandex.ru

²Department of Medical Nanobiotechnologies, Pirogov Russian State Medical University, Moscow, 117997, Russia, tel. +7(916)255-78-99, e-mail: kurapoff@mail.ru

The contents of bioflavonoids in raw materials burnet was determined according to the known method based on the spectral analysis. The level of phenolic compounds varies from 10 to 100 mg/g dry weight. The maximum of bioflavonoids are concentrated in the roots and leaves of plants.

The minimum level of the flavonoid recorded in the leaves of young plants in the vegetative stage. With the development of plants, phenolic compounds, which is produced primarily in the leaves, is transported

through the stalk, and in significant amounts accumulated in the roots and rhizomes. The level of the bioflavonoids above in plants, grown on more favorable soils of floodplain terrace.

Effect of wga on the cadmium-inducible lignin and suberin localization in wheat roots

Bezrukova M.V., Lubyanova A.R., Shakirova F.M.

Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Scientific Centre Russian Academy of Sciences, Ufa, Russia, tel. +7 347 2356088, lectin@anrb.ru

Pretreatment with WGA was found to induce the lignin and suberin deposition in root cell walls that was due to transient accumulation of ABA caused by this lectin and was observed on the background of its growth-stimulating effect on plants. However, the deposition of lignin and suberin significantly contributes to the protective effect of WGA pretreatment on plants under cadmium stress. Under WGA influence in stress conditions there were found incrustation of lignin and suberin in the root cell walls in the critical regions of exo- and endodermal apoplastic barriers, especially in the region of Casparian strips, which limited cadmium entry into the stele and then to the shoot as well as in maintaining of growth rate of these seedlings at least at the control level.

Phenolic compounds hellebore Lobel (*Veratrum lobelianum* Bernh.) in the increase of germination of hard seeds of legumes

Bekuzarova S.A., Ktsoeva M.S.

Gorsky State Agrarian University, Vladikavkaz, North Ossetia-Alania, bekos37@mail.ru

As a stimulator used a plant of a *Veratrum lobelianu*, containing phenolic connections which in concentration of 0,1% dissolved in boron-containing Karmadon water at an exposition of 8-10 hours.

Dynamics of phenolic compounds content in cranberry callus cultures

Berezina E.V., Garanina Yu.D., Patunina A.S., Brilkina A.A.

Lobachevsky State University of Nizhni Novgorod, Nizhni Novgorod, Russia, 8(831)4623208, berezina.kat@gmail.com

The work is devoted to investigation of phenolic compounds content in European and American cranberry calluses as dependent on hormonal medium composition and cultures age. The most intensive polyphenols accumulation in European cranberry was observed on medium with

NAA/iP while in American cranberry – on medium with NAA/kinetin. Biosynthetic activity maximum was in the 5th week of culturing when calluses switched to stationary growth phase. Metabolite production was erratic within 8 subcultures (one-year investigation cycle).

Phenolic compounds contribution to cranberry and lingonberry antioxidant system during vegetation

Brilkina A.A., Berezina E.V., Garanina Yu.D., Veselov A.P.

Lobachevsky State University of Nizhni Novgorod, Nizhni Novgorod, Russia, 8(831)4623208, annbril@mail.ru

There was studied dynamics of antioxidant activity, phenolic compounds (total soluble phenolic compounds, flavonoids, catechins and procyanidins), ascorbic acid and carotenoids content in lingonberry, European and American cranberry leaves during vegetation period. It is supposed that phenolic compounds made the highest contribution to total antioxidant activity as their seasonal changes were comparable.

Dependens of proanthocyanidins content in the willow bark from congested soil humidity

Buzuk G.N., Kuzmichova N.A.

Vitebsk state medical university, Vitebsk, Belarus, 8-0212-370929, buzukg@mail.ru

By example of *Salix viminalis* L. and *Salix cinerea* L. was showed, that proanthocyanidins content in the willow bark and leaves increase in habitats with congested type of soil humidity as compared to flowing type. It could be due to increase of manganese ions accessibility for plants in conditions of congested soil humidity.

Obtaining callus cultures pharmacologically valuable species of plants *Iris pseudocorus*, *Ornithogalum umbellatum*, *Taxus baccata*

Bulatova A.A., Shapchits M.P., Korik E.O., Semak I.V.

Belarus State University, Department of Biochemistry, Minsk, Belarus, Bulatovan84@mail.ru

Sterilization conditions for plants *Iris pseudocorus*, *Ornithogalum umbellatum*, *Taxus baccata* were selected. Callus cultures of these species of plants were obtained and media for cultivation recieved callus cultures were selected.

The comparative analysis of the total contents of phenolic compounds and carbohydrates in extracts from various parts of plants *Iris pseudocorus*, *Ornithogalum umbellatum*, *Taxus baccata* and their callus cultures

Bulatova A.A., Shapchits M.P., Korik E.O., Semak I.V.

Department of Biochemistry, Belarus State University, Minsk, Belarus,
Bulatovan84@mail.ru

Total phenolic compounds and carbohydrates contents were evaluated in extracts from different parts of whole plants of *Iris pseudocorus*, *Ornithogalum umbellatum*, *Taxus baccata* and their callus cultures. For extraction of phenolic compounds were used different concentrations of ethyl alcohol (70 % and 96 %). Water-soluble and total sugar content were determined by an anthrionic method.

Influence of illumination and processing gibberellin on the growth and accumulation of phenolic compounds in the plants of *Comarum palustre* L.

Bulatova S.V., Bahtenko E.Yu.

Vologda State University, Vologda, ul.Lenina, 15, +7 (911) 508-40-07, e-mail: bakhtenko@yandex.ru

The differences in the total content of phenolic compounds (PC) from plants growing in habitats differing in light intensity. In plants, *C. palustre* L., collected in coenopopulations I (13000-20000 lx illumination), the contents of PC and FL higher than in plants collected in coenopopulations II (2000-5000 lx illumination).

Salicylic acid changes permeability of the inner membrane of lupine mitochondria

Boutsanets P.A., Shugaev A.G.

Timiryazev Institute of Plant Physiology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia, (499)231-83-40, p.corbeau@list.ru

Effect of salicylic acid (SA) on generation of transmembrane electric potential ($\Delta\Psi$) on the inner membrane of mitochondria isolated from lupine cotyledons and oxidizing succinate in the presence of glutamate and ATP was investigated. It was found that incubation of mitochondria in the presence of 0.5 mM SA resulted to dissipation of the $\Delta\Psi$ after the lag-period (8-10 min) while in the absence of the phytohormone they can keep their membrane potential for a long time (more than 30 min). Increasing of SA concentration in the incubation medium up to 2-3 mM

induced the dissipation of the $\Delta\Psi$ as well, but in this case duration of the lag-period was significantly decreased. These results suggest that the observed dissipative action of SA may be consequence of opening in the inner mitochondrial membrane of especial uncoupling pore or channel permeable for protons and possibly other cations such as K^+ and Ca^{2+} .

Change phenolic complex seeds of cultivated plants in the process of maturation, storage and germination

Volynets A.P.

V.F. Kuprevich Institute of Experimental Botany at National Academy of Sciences of Belarus, Akademicheskaya str. 27, Minsk, Belarus, +375172840543; patphysio@mail.ru

The article presents data on the nature of changes in phenolic complex seeds of cultivated plants in the process of maturation, storage and germination. It were shown that the maximum phenolic complex rearrangement occurs during germination of seed them less - when ripe and very small - the storage of seeds, which is associated with changes in seed composition and content of phenolic growth regulators.

Investigation of biological efficacy of *Rheum rhaponticum* L. root extract phenolic compounds in control of powdery mildew

Gladcaia A., Todiras V., Stratulat T.

Institute of Genetics, Physiology and Plant Protection, Academy of Sciences of Moldova. Chisinau, Republic of Moldova Tel: (+373 22) 77-04-47, e-mail: asm_igfpp@yahoo.com

The important role in plant protection on control fungal diseases plays polyphenols and their derivatives. The aim of the study was to determine the biological efficacy of alcohol extracts obtained from the *R. rhaponticum* L. roots in control of powdery mildew on vegetables. The evaluation of the fungicidal effect of *R. rhaponticum* L. alcohol extracts was conducted against the conidial germination of *Sphaerotheca fuliginea* on *Cucurbitaceae* plants: *Cucumis melo* L., *Cucurbita pepo* L. and *Cucumis sativus* L.

The high fungicidal activity of *R. rhaponticum* L. extract at the concentrations 1,5 and 2% on *Cucurbitaceae* seedlings was determined. The biological efficacy of extracts constituted 93,7– 97,5% in comparison with untreated control. It should be noted the additional effect of *R. rhaponticum* L. highest concentrations of extract foliage treatment. The chlorophyll index of the treated leaves was 38.2% higher than that of the

control leaves. Based on retrieved data we can conclude that *R. rhaponticum* L extract has fungistatic effect against powdery mildew and enhances their flexibility, by increasing the index of chlorophyll.

Key words: *Rheum rhaponticum*, root extract, powdery mildew, Cucurbitaceae seedlings.

Features of phenolic compounds in juvenile, virginal sprouts and callus cultures flax (*Linum usitatissimum*)

Goncharuk E.A.¹, Gorchakova Yu.A.², Nazarenko L.V.²

¹Timiryazev Institute of Plant Physiology Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia, tel. (495)9779433, e-mail: goncharuk.ewgenia@yandex.ru

²Institute of Mathematics, Informatics and Natural Sciences GBOU IN Moscow City Pedagogical University, Moscow, Russia, e-mail: nlv.mgpu@mail.ru

In *in vitro* conditions studied especially the formation of phenolic compounds in the early stages of flax ontogenesis in progenerative period of growth in seedlings of juvenile and virginal age state, as well as callus cultures. It is shown that the formation of phenolic compounds in flax seedlings under *in vitro* conditions is related to the ontogenetic growth phase of "fir-tree" and "rapid growth" in the conditions *in vivo*, which correspond to juvenile and virginal as seedlings. Phenolic complex juvenile seedlings represented mainly flavonoids, while virginal dominated phenylpropanoids. In callus culture complex phenolic compounds represented by simple phenolic compounds.

Tartary buckwheat cell cultures for production of biologically active phenolic compounds

Gumerova E.A.¹, Akulov A.N.², Rumyantseva N.I.³

KIBB KazSC, Kazan, Russia, phone: +7(432)-31-90-42, e-mails:

¹gumeri@mail.ru, ²akulov_anton@mail.ru, ³nat_rumyantseva@mail.ru

Some methods and approaches are worked out to establish and maintain cell cultures of tartary buckwheat. The morphogenic and high differentiated callus and suspension cultures of tartary buckwheat initiated from immature embryos were obtained. These cell cultures possess the high capacity to synthesize biologically active phenolic compounds. It was shown that applying the stress factors such as methyl jasmonate may cause not only quantitative or qualitative changes in phenolic patterns but also the synthesis of new phenolic compounds.

Effect of salicylic acid on the activity of pro oxidants in potato plants

Davlyatnazarova Z.B., Shukurova M.H., Aliev K.

Institute of botany, physiology and genetics of plants Academy of Sciences of the Republic of Tajikistan, Dushanbe, Aini street 299/2, e-mail: zulfiyad@gmail.com

Salicylic acid (SA) under salt stress at low concentrations increased the RNA and proteins, while higher concentrations reduced protein content with increased RNA content. Low concentrations of SA caused a decrease of malondialdehyde (MDA) and hydrogen peroxide, and increase its concentration resulted in an increase contents of MDA and hydrogen peroxide.

SA apparently can stimulate stress gene expression and accumulation of antioxidant enzymes and systems, and is one of the intracellular regulators that reduce the toxic effect of the stressors.

Influence of methyl jasmonate and salicylic acid on the L-phenylalanine ammonia-lyase activity and hydroxycinnamic acids content in *Echinacea purpurea* suspension culture

Ditchenko T.I., Kravchuk K.A.

Belarusian State University, Minsk, Belarus, ditchenko@bsu.by

Methyl jasmonate acts as more effective elicitor in comparison with salicylic acid for *Echinacea purpurea* suspension culture, inducing significant increase of L-Phenylalanine ammonia-lyase activity and hydroxycinnamic acids content.

Flax phenylpropanoids: characterization and biotechnological approach for production enhancement

Docimo T.^a, Gabotti D.^a, Locatelli F.^a, Consonni R.^b, Cusano E.^b, Mattana M.^a

^a Istituto di Biologia e Biotecnologia Agraria, CNR, via Bassini, 15, 20133 Milano, Italy

^b Istituto per lo Studio delle Macromolecole, Lab NMR, CNR, Via Bassini 15, 20133 Milano, Italy

Docimo T. present address: Istituto di Bioscienze e Biorisorse, CNR, Via Università, 133, 80055 Portici Napoli, Italy

Flax (*Linum usitatissimum* L.) is a common fiber and oilseed crop considered as a valuable functional food since it constitutes one of the key sources of ω -3 fatty acids, phenylpropanoids (lignans) and mucilage [1]. During the last years there has been an increasing interest

in dietary human consumption of flaxseeds in order to improve the nutritional and health status. In our laboratory we are interested in the study of phenylpropanoids metabolism. The main class of phenylpropanoids found in flax are lignans, diphenolic compounds displaying a broad range of biological activities such as antioxidant, cytotoxic, antifungal, antiviral, and phytoestrogenic [2; 3]. These phenolic compounds are of great interest for pharmaceutical, cosmetic and food industry. With the aim to identify and select the cultivar with the highest production of metabolites, the phenylpropanoid content of 7 flax cultivars (Linoal, Valoal, Natural, Festival, Merlin, Solal, Kaolin) and the expression level of key genes (PAL, Phenylalanine ammonia-lyase and 4CL, 4-Coumarate:CoA ligase) involved in their biosynthesis were compared.

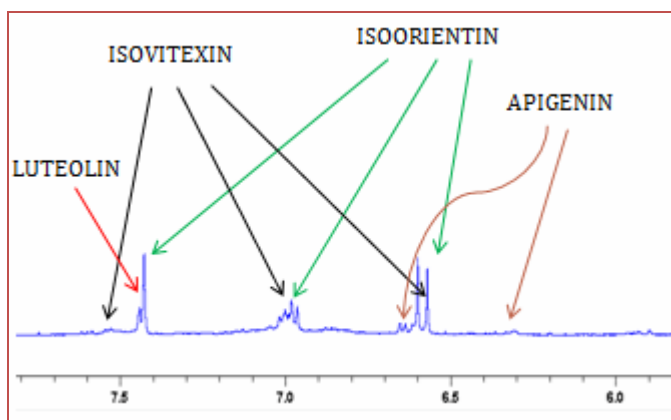


Figure 1. Aromatic region of ^1H -NMR spectrum from flax leaves.

Moreover, the cultivar showing either the highest level of phenylpropanoids production and the highest level of expression of two key biosynthetic genes were chosen to start the production of flax cell cultures in order to improve the accumulation of bioactive compounds. In fact, it has been reported that plant cell cultures represent a promising system to optimize the production of valuable secondary metabolites [4].

Results. The ^1H -NMR metabolite profiling of leaves (Fig.1) showed the presence of flavonoids, isoorientin, luteolin, apigenin and isovitexin, whereas seeds showed mainly lignans compounds.

Real-Time PCR approach was used to evaluate the relative expression level of PAL and 4CL, representing two genes in the first part of phenylpropanoid biosynthetic pathway. Among the cultivars

analysed, we found that Valoal and Solal are those with the highest expression level of PAL and 4CL both in leaves and in seeds (Fig.2).

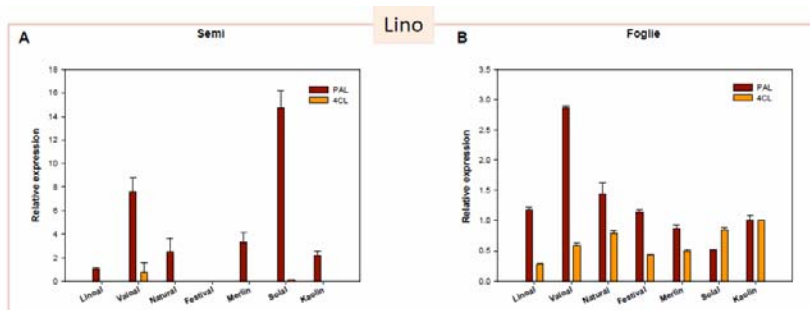


Figure 2. Relative expression level of PAL and 4CL genes in seeds (A) and leaves (B) of flax. * expression not detectable.

The determination of the specific activity of PAL and 4CL enzymes was in agreement with gene expression data, highlighting Valoal and Solal as the cultivars with the highest phenylpropanoids production.

On the basis of these results Valoal was selected to start the production of *in vitro* cell cultures. To verify if in this system the ability to produce bioactive compounds was maintained we performed both biochemical and $^1\text{H-NMR}$ analysis on the cultured cells. Preliminary analysis showed that flax cell cultures mainly produce compounds belonging to lignans, resembling the secondary metabolites identified in flax seeds. To increase the performance of flax cell cultures two strategies were used: a) the optimization of the medium composition and b) the use of some elicitors such as yeast extract, salicylic acid and methyl-jasmonate.

Conclusion.

The results obtained from flax leaves and seeds highlighted the presence of flavonoids and lignans with demonstrated antioxidant, antiinflammatory, chemopreventive properties on human. The molecular analysis performed on the general phenylpropanoid pathway could help to better understand the biosynthesis of these compounds. Moreover, the preliminary results from the *in vitro* cultured cells suggest that this system is able to produce lignans as secondary metabolites resembling the flax seeds tissue. This finding is particularly encouraging since lignans have phytoestrogenic and cancer chemopreventive properties [5].

REFERENCES

1. Oomah, B. D. (2001), Flaxseed as a functional food source. J. Sci. Food Agric., 81: 889–894.
2. Meagher, L.P., Beecher, G.R., Flanagan, V.P., Li, B.W. (1999), Isolation and characterization of the lignans, Isolariciresinol and pinoresinol, in flaxseed meal. J.Agric. Food Chem., 47:3173-3180.
3. Corbin C, Renouard C, Lopez C, Lamblin C, Lainé E, Hano C (2013) Identification and characterization of cis-1 acting elements involved in the regulation of ABA- and/or GA-mediated LuPLR1 gene expression and lignan biosynthesis in flax (*Linum usitatissimum* L.) cell cultures. J. Plant Physiol., 170: 516-522.
4. Wilson S.A., Roberts S.C. (2012). Recent advances towards development and commercialization of plant cell culture processes for the synthesis of biomolecules. Plant Biotech. J., 10:249-268.
5. Goyal A., Sharma V., Upadhyay N., Gill S., Sihag M., (2014) Flax and flaxseed oil: an ancient medicine & modern functional food. J Food Sci Technol., 51(9):1633-53.

Lignin as linear oligomer

Evstigneyev E.I.

Saint Petersburg State Forest Technical University, Saint Petersburg, Russia, Tel. (812) 5527724, e-mail: edward_evst@mail.ru

Modern conceptualizations about lignin structure are discussed.

Chromatographic study of daily and seasonal dynamics of phenolic compounds in the leaves and inflorescences of medicinal plants

Zhivetiev M.A., Dudareva L.V., Graskova I.A., Voinikov V.K.

Siberian Institute of plant physiology and biochemistry, Russia, Irkutsk, Lermontov st., 132

The object of investigation served the leaves and inflorescences of *Alchemilla subcrenata* and *Veronica chamaedry*, growing on the left bank at 700 m from the edge of Lake Baikal. Found small differences in the quantity and quality of phenolic compounds in the leaves of one species even selected at one time. At the same time, differences in the different times of the day were even more pronounced. The inflorescences, *Alchemilla subcrenata* dynamics of flavonoids has been characterized by more stable composition, than in the leaves of it. For *Veronica*'s tissues and organs is a larger variety of seasonal cocktail of phenolic compounds, than in the *Alchemilla subcrenata*. Expect a variety of phenolic compounds in inflorescences of *Veronica* seasonal cocktail was higher than in the leaves.

Accumulation of phenolic compounds and other secondary metabolites in sweet basil plants as affected by light spectral quality

Ivanitskikh A.S., Tarakanov I.G.

Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy, Moscow, Russia, phone: +789165062094, e-mail: alinena@yandex.ru

We studied the effect of light spectral quality on the essential oil accumulation in *Ocimum basilicum* plants grown in controlled environment using the variable-spectrum light modules with three types of high-power LEDs with emission peaked in red, blue and red light, white LEDs, and high-pressure sodium (HPS) lamps as reference. Qualitative and quantitative essential oil determinations were conducted using gas chromatography with mass selective and flame ionization detection and internal standard method. In our studies, we used several sweet basil varieties differing in the essential oil composition.

In general, the highest essential oil accumulation was observed in plants during transition to flowering. In the varieties with delayed development, the higher secondary metabolite content was in the red-and-blue LED environment. Red light enhanced essential oil accumulation, especially due to the high amount of eugenol and eucalyptol; interestingly, in Lemon flavor variety, only red light treatment induced estragol accumulation.

Our studies show that controlled variations in light spectral composition can be used for the directed biosynthesis of the target substances including phenolic compounds.

Some regularities of phenolic compounds accumulation in giant knotweed leaves

Ivanova R.A.¹, Titei V.G.²

¹IGPPP ASM, Republic of Moldova, Chisinau, +323 22 55 52 59, ralivanova@yahoo.com

²Botanical Garden (Institute) ASM, Republic of Moldova, Chisinau, +323 22 55 04 43

The main purpose of this work was to study the dynamics of phenolic compounds accumulation in different phases of vegetation in the leaves of giant knotweed cultivated in the Republic of Moldova, in the climatic conditions which do not correspond to its natural areas of growth. The amount of phenolic compounds extracted from giant knotweed leaves varied depending on the period of plants vegetation and weather

conditions of growing season. The greatest amount was found in the leaves during flowering of giant knotweed. In this period the phenolics content in 100 g of fresh leaf weight was from 2.89 to 3.69 g. Therefore, the modification of phenolic compounds accumulation was observed during the all period of vegetation with maximal peak in the flowering phase only. The antioxidant activity of the leaves extracts reached its maximum in the phase of intensive growth completion and remained almost constant over a long period till phase of plants flowering.

Formation of phenolic compounds in the early stages of ontogeny buckwheat

Kazantseva V.V.¹, Goncharuk E.A.¹, Glotova I.², Zhivuhina E.A.², Zagoskina N.V.¹

¹Timiryazev Institute of Plant Physiology Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia, tel. (495)9779433, e-mail: k.v.-90@mail.ru

²Moscow State Pedagogical University, Moscow, Russia, e-mail: zhivukhina@yandex.ru

The aim of the study was to investigate the features of the formation of phenolic compounds in the early stages of ontogeny diploid and tetraploid varieties of buckwheat. The differences in the accumulation of phenolic compounds in the early stages of ontogeny diploid and tetraploid seedling varieties of buckwheat.

The content of phenolic compounds in white cabbage regenerated plants

Kalashnikova E.A., Kirakosyan R.N.

Russian State Agrarian University – Moscow Agricultural Academy named after K.A.Timiryazev, Agronomy Faculty, Department of Genetics and Biotechnology, 49 Timiryazevskaya St., 127550, Moscow, Russia, tel.8(499)976-40-72 e-mail: mia41291@mail.ru

One of the factors limiting the process of morphogenesis is the synthesis of phenolic compounds, involved in the basic processes of growth and development. It is established that under stress plants accumulate large amounts of phenols that leads to inhibition of growth processes and increase of their resistance to adverse conditions. Determined that the total content of phenolic compounds in the leaves of haploid plants cabbage is 1.5-2 times higher than diploid plants.

Hydroquinone and resorcinol effect on morphometric parameters of *Elodea canadensis* Michx. and *Potamogeton perfoliatus* L.

Kislitsina M.N., Borisova G.G.

Ural Federal University named after the first President of Russia B.N. Yeltsin, Ekaterinburg, Russia 8(343)2616685,
mariyakislitsina@yandex.ru

Hydroquinone and resorcinol effects on the roots and stems morphometric parameters of *Elodea canadensis* and *Potamogeton perfoliatus* was studied. It was shown that the hydroquinone was more toxic for the aquatic plants in comparison with resorcinol. The feasible stimulating effect of exogenous resorcinol for roots and stems growth was noticed.

Intra-specific variability of rutin content in plants of *Fagopyrum esculentum* Moench

Klykov A.G., Moiseyenko L.M.

FSBSI "Primorsky Scientific Research Institute of Agriculture"

There were defined peculiarities of intra-specific variability of rutin content in buckwheat depending on the plants colour. As a result of the study there was determined diagnostic indication (anthocyanin coloring of the stems, flowers, root system, buckwheat groats), which is reasonable to use in practical selection in order to develop new varieties of *Fagopyrum esculentum* with high rutin content.

Influence of the gene expression of the fungi laccase on the lignin content in wood of transgene aspen plants

Kovalitskaya Yu.A.¹, Tugbaeva A.S.², Schestibratov K.A.¹

¹Branch of Shemyakin and Ovchinnikov institute of bioorganic chemistry, Russian academy of sciences, Pushchino, Russia, +7(4967)330966, kovalitskaya@inbox.ru

²Federal State autonomous educational institution of higher professional education Ural Federal University the first president of Russia Boris Yeltsin, natural sciences department, Yekaterinburg, Russia

We obtained transgenic aspen plants expression laccase gene of *Trametes hirsute*. Gen expression is confirmed in PtXVIILac15c, PtXVIILac21c, PtXVIILac27b clones by RT-PCR. It has been studied growth of these plants adapted to the greenhouse conditions, enzymatic activity of recombinant laccase and wood composition. Clones

PtXVIIIac15c and PtXVIIIac21c were low then control plants, and enzyme activity was higher than the control indicators. The increase of lignin content it was found in wood of clones PtXVIIIac15c, PtXVIIIac21c, PtXVIIIac27b.

Phenolic-based humic substances and physiological effect on the plant

Komarov A.A.¹, Komarov A.A.²

¹FGBNU Agrophysical Institute, St. Petersburg, Russia,. tel. 8-911-745-20-25, Zelenydar@mail.ru

²FGBNU LenNIISKH, Leningrad region., Belogorka, Russia +7-911-777-35-53, e-mail: Kommon87@mail.ru

It is shown that phenolic basis of humic substances determines not only the stability of this natural compound in the soil, but the specifics of its physiological effects on plants.

Active substances hogweed sosnowskyi (*Heracleum sosnowskyi* Manden) and their possible use in agriculture

Kondratiev M.N., Budarin S.N., Larikova Yu.S.

Moscow Timiryazev academy, department of plant physiology, 127550, Moscow, Timiryazevskaya street, 49; tel. (499) 976-20-54; e-mail: tel06ck@rambler.ru, snegin20000@yandex.ru)

The main ecological and physiological mechanisms of introduction Sosnowski hogweed (*Heracleum sosnowskyi* Manden) to "run wild" agroecosystem are: development of a powerful mass of aerial organs, high seed productivity, extended in time of seed germination, the ability to winter autumn shoots, weak defect pests and diseases, the content of a wide spectrum of secondary compounds possess allelopathic activity. The factors limiting the spread of hogweed - the presence of micro - and mezodepressy in agro-ecosystems, and felt tight steblestoy dried grass-buryanistoy vegetation, impeding penetration of fruits on the soil surface, the ability to self-thinning, soil contamination by certain chemicals. Allelopathic effect of the active compounds contained in the bodies of hogweed depended on their concentration in the juice and susceptibility to them the test plants.

Keywords: Hogweed sosnowskyi (*Heracleum sosnowskyi* Manden),

invasiveness, allelopathy, bioassays, inhibition, stimulation, the test plants.

Effect of salicylic acid on formation of the resistance to uv-radiation in chrysanthemums infected with fungal infection

Kondrat'eva V.V., Shelepova O.V., Olecknovich L.S., Shatilo V.I., Voronkova T.V., Enina O.L.

Federal State Budgetary Institution of Science Main Botanical Garden named after N.V. Tsitsin RAS, Moscow, R.F., tel.: 8(499)977-91-54, e-mail: lab-physiol@mail.ru

Following effect of biotic and abiotic stress on varieties of chrysanthemums, different in resistance to fungal infection, changes in the content and role of SA in this situation was studied. It was revealed that in the resistant variety of chrysanthemums level of SA was 3 times more after infection than that in the susceptible variety. When exposed to UV radiation to block fungal infection resistant variety retained selective permeability of cell membranes in leaves and formed more viable plants after ending of exposure to UV.

The role of phenolic compounds in necrotic protective reaction of rye to rust infection

Karytsko L.A.¹, Melnikova E.V.¹, Nedved E.L.²

¹Institute of experimental botany of the NAS of Belarus, Minsk, Belarus, *patphysio@mail.ru*

²Institute of Biophysics and cell engineering of NAS of Belarus, Minsk, Belarus

The total content of phenolic compounds in the healthy leaves of Derzhavin rye is higher than in leaves of susceptible rye on the 25-30%. Infecting of plants with rust does not affect the total level of phenols, but causes a material restructuring of the phenolic complex, resulting in the content of free FCA in leaves of resistant rye increases, and in the leaves of susceptible decreases. The total content of free phenol carbonic acids increases during the formation of the protective necrosis in 7-8 times (calculated on the weight of necrosis), mainly due to oxycinnamic acids. Treatment of seeds by FCA solutions ($10^{-4}M$) contributes to the stability of rye plants to rust infection.

Effect of fermentation on concentration of phenolics in leafs of *Bergenia* species cultivated in Finland

Kosman V.M.¹, Pozharitskaya O.N.¹, Shikov A.N.¹, Galambosi B.², Makarov V.G.¹

¹Saint-Petersburg Institute of Pharmacy, St-Petersburg, Russia, +7-812-603-24-32, kosmanvm@mail.ru; ²MTT Agrifood Research Finland, Mikkeli, Finland

Bergenia crassifolia L. (Fritsch), Saxifragaceae, is an evergreen perennial plant known in traditional medicine of Russia, Mongolia and China. Rhizomes are included in Russian State Pharmacopoeia as astrigen for external application and used in traditional medicine as anti-inflammatory, haemostatic and antimicrobial drug; green leaves are used in traditional medicine as an anti-inflammatory, diuretic and antimicrobial remedy; black leaves which have passed two winters are used for tea with adaptogen properties [1, 2].

Polyphenols are responsible for pharmacological effects of *Bergenia*. Green leaves contain ellagitannins, gallic acid derivatives and flavonoids, with the remaining gallic acid, arbutin, bergenin and caffeoyl quinic acid. In fermented leaves were founded gallic acid, its derivatives and flavonoids, with the remaining caffeoyl quinic acid, bergenin and arbutin [3]. Arbutin, bergenine and gallic acid are considered to be dominant in *Bergenia* species [4].

Bergenia cordifolia Sternb. is decorative perennial plant with similar chemical composition [5]. B.Galambosi et al. [6] performed the selection of *B.crassifolia*, *B.cordifolia* and *B.crassifolia* x *B.cordifolia* hybrid accessions cultivated in Finland for high arbutin level.

Adaptogenic properties of *Bergenia* species are most perspective for future investigations but it takes long time to obtain black leaves from 2-3-years old plants. The alternative way is to use special pretreatment – fermentation after harvesting. The fermentation improves appearance and quality of a product. In our previous studies fermentation was applied for aerial parts of *Epilobium angustifolium* L. [7, 8], *Bidens tripartita* L. [9] and *B.crassifolia* leaves. Infusions of *B. crassifolia* fermented leaves were reported for their adaptogenic effect in the swimming test [10]. In order to obtain the highest quality of raw material it is necessary it determine the quantity of biologically active compounds in the samples from various botanical and geographical origins, harvested periods, and sample treatment procedures.

The aim of this study was to analyze effect of fermentation procedures on concentration of phenolics in leafs of *Bergenia* species cultivated in Finland.

Table 1.

Result of chemical analysis of *Bergenia* leaf samples (mg/g dry matter, $\bar{X} \pm$ S.D.)

Compound	Year	Non-fermented	Fermented at 35° C	Fermented at 40° C
		B. cordifolia		
Arbutin	2012	174.1±6.5	107.6±0.6	106.2±0.8
	2014	125.9±2.5	105.6±7.2	106.3±5.8
Gallic acid	2012	5.7±0.1	94.0±1.6	128.1±1.7
	2014	7.8±0.1	95.5±4.7	128.9±5.5
Hydrouinone	2012	<0.35	1.2±0.1	1.3±0.1
	2014	<0.35	1.1±0.1	1.2±0.1
Protocatehic acid	2012	<0.08	6.0±0.2	<0.08
	2014	<0.08	11.0±0.1	<0.08
Bergenine	2012	3.6±0.1	4.7±0.3	4.3±0.1
	2014	2.8±0.1	5.1±0.2	4.6±0.2
Ellagic acid	2012	0.28±0.01	0.65±0.02	1.3±0.1
	2014	0.30±0.01	0.92±0.21	1.1±0.2
		B. crassifolia		
Arbutin	2012	176.1±0.8	16.1±0.4	54.3±0.4
	2014	no data	no data	no data
Gallic acid	2012	12.8±0.1	101.9±2.1	108.8±1.3
	2014	no data	no data	no data
Hydrouinone	2012	<0.35	1.9±0.1	2.4±0.1
	2014	no data	no data	no data
Protocatehic acid	2012	<0.08	<0.08	<0.08
	2014	no data	no data	no data
Bergenine	2012	2.5±0.1	1.0±0.1	1.2±0.1
	2014	no data	no data	no data
Ellagic acid	2012	0.42±0.02	0.35±0.01	1.0±0.1
	2014	no data	no data	no data
		B. hybrid "Piha"		
Arbutin	2012	150.7±0.7	91.0±0.1	109.1±0.7
	2014	133.5±0.6	71.1±0.7	104.0±0.4
Gallic acid	2012	13.4±0.2	81.1±0.5	45.9±0.3
	2014	13.1±0.1	80.1±0.6	47.6±0.7
Hydrouinone	2012	<0.35	1.2±0.1	0.8±0.1
	2014	<0.35	0.9±0.1	0.7±0.1
Protocatehic acid	2012	1.8±0.1	8.1±0.2	<0.08
	2014	1.4±0.1	10.8±0.1	<0.08
Bergenine	2012	3.9±0.1	4.4±0.3	3.9±0.1
	2014	3.4±0.1	4.0±0.1	4.4±0.4
Ellagic acid	2012	0.28±0.01	0.51±0.06	0.78±0.07
	2014	0.18±0.01	0.50±0.03	0.94±0.15

Green leaves of *B. cordifolia* accession N 12, *B. crassifolia* accession N 61 and *B. hybrid* "Pyha" plants were harvested from plantation of MTT Agrifood Research Finland, Mikkeli (61°44' N, 27°18' E). Fermentation was done at 35 °C and 40 °C [7]. Humidity (loss of drying) was determined gravimetrically after European Pharmacopoeia recommendations [11].

Table 3.

Stability of main components in *Bergenia* leaf samples with various pretreatment after two years storage period (concentration in 2012 x 100% / concentration in 2014)

Species and processing	Arbutin	Gallic acid	Hydro-quinone	Proto-catehic acid	Bergenine	Ellagic acid
<i>B. cordifolia</i>						
Non-fermented	72.3	105.3	100.0	100.0	77.8	107.0
Fermented at 35° C	98.1	101.6	91.7	183.3	109.0	106.2
Fermented at 40° C	100.0	100.6	92.3	100.0	107.0	84.6
<i>B. hybrid</i> "Piha"						
Non-fermented	88.6	97.8	100.0	73.7	87.2	64.3
Fermented at 35° C	78.1	98.8	75.0	133.3	90.9	98.0
Fermented at 40° C	99.3	104.4	87.5	100.0	105.1	102.6

Phenolics were analyzed by HPLC method [12]. Arbutin (Sigma, Germany), hydroquinone, gallic acid, 3,4-dihydroxybenzoic (protocatechic) acid, ellagic acid (Fluka, Germany), bergenine (Abcr, Germany) were used as reference compounds. Plant material was extracted by methanol and analyzed by HPLC method on Shimadzu HPLC-system (Japan). Separation was done on Luna C₁₈ (2) (4.6x250 mm, 5 µm) (Phenomenex, USA) column with 3.0 mm pre-column with the same sorbent (Phenomenex, USA) in the three steps linear gradient regime, mobile phase – A 0.03% water solution of trifluoroacetic acid (TFA), B – acetonitrile; flow rate 0.7 ml/min; time of analysis - about 60 min. Detection was done at 280 nm. LCsolution PC software (Shimadzu, Japan) was used for chromatograms registration and processing. Method of analysis was validated by main parameters: linearity, limit of quantification, accuracy and precision; received results were conformed to standard requirements and obtained regression equations were used for calculations.

Samples were analyzed in the year of collection (in 2012) and

after two years (in 2014) of storage in double paper bags at room temperature (Tab. 1).

Fermentation results in decrease of arbutin content and increase of gallic acid, hydroquinone and ellagic acid. The temperature of fermentation (35 °C or 40 °C) seems to have no significant effect on chemical composition of samples. *B. cordifolia* and *B. hybrid* "Piha" cultivated in Finland have similar concentrations of analyzed compounds while for *B. crassifolia* lower values were registered. Therefore this species (*B. crassifolia*) was not included into further storage experiment.

Stability of main components of *Bergenia* leaves was calculated to initial value in % (Tab. 3).

Majority of compounds in *Bergenia* leaves samples seem to be stable during two years storage period. At the same time some variations were observed. Arbutin and bergenine have tendency to decrease (72-88% from initial values) in non-fermented samples; the most significant decreasing was registered for ellagic acid in *B. hybrid* non-fermented sample (about 64% from initial value). The tendency to decrease for arbutin (up to 78% from initial value), hydroquinone (up to 75%), protocatechic (up to 74%) and ellagic acids (up to 85%) was noted. Protocatechic acid concentration after storage was higher (in 1.3-1.8 times) than values in 2012 for both studied species but only for samples fermented at 35 °C.

In general, temperature during fermentation doesn't have significant effect on stability of phenolics in *Bergenia* species cultivated in Finland.

The study was supported by project SPECICROP, ENPICBC 2007-2013.

References.

1. Shikov A.N., Pozharitskaya O.N., Makarova M.N., Makarov V.G., Wagner H. *Bergenia crassifolia* (L.) Fritsch - pharmacology and phytochemistry // *Phytomedicine*. 2014;21(12):1534-42.
2. Shikov A.N., Pozharitskaya O.N., Makarov V.G., Wagner H., Verpoorte R., Heinrich M. Medicinal plants of the Russian Pharmacopoeia; their history and applications // *J. Ethnopharmacol.* 2014;154(3):481-536.
3. Salminen J.P., Shikov A.N., Karonen M., Pozharitskaya O.N., Kim J., Makarov V.G., Hiltunen R., Galambosi B. Rapid profiling of phenolic compounds of green and fermented *Bergenia crassifolia* L. leaves by UPLC-DAD-QqQ-MS and HPLC-DAD-ESI-QTOF-MS // *Nat. Prod Res.* 2014;28(19):1530-3.
4. Aroc R., Vegh K., Alberty A., Kery A. Phytochemical composition and analysis of *Bergenia crassifolia* L. (Fritsch.) and *Bergenia cordifolia* Sternb. // *Eur. Chem. Bull.* 2012;1(1-2):31-34.

5. Boroc B., Jakabova S., Madaeasz T., Molnar R., Galambosi B., Kilar F., Felinger A., Farkas A. Validated HPLC method for simultaneous quantitation of bergenin, arbutin, and gallic acid in leaves of different *Bergenia* species // *Chromatographia*. 2014;77(17-18):1129-35.
6. Galambosi B., Galambosi Z.S., Siivari J. Evaluation of accessions of *Bergenia* species for high arbutin content and high leaf yield // IV Int. Symp.on Breeding Research on Medicinal and Aromatic Plants, *Acta Horticulturae*. 2010:129-31.
7. Shikov A.N., Poltanov E.A., Dorman H.J.D., Makarov V.G., Tikhonov V.P., Hiltunen R. Chemical composition and in vitro antioxidant evaluation of commercial water-soluble willow herb (*Epilobium angustifolium* L.) extracts // *J of Agric. and Food Chem.* 2006; 54:3617-24.
8. Kosman V.M. Main groups of BAC of fermented and non-fermented samples of *Epilobium angustifolium* // *Proc. of 3-rd Rus. Sci. conf. "New achievements in chemistry and chemical technology of plant raw materials"* (in rus.). 2007; 2: 319-23.
9. Kosman V.M., Faustova N.M., Pozharitskaya O.N., Shikov A.N., Galambosi B. Evaluation of fermentation on phytochemical composition of herba *Bidens tripartitae* plant raw material // *Proc. of 4-th Rus. Sci. conf. "New achievements in chemistry and chemical technology of plant raw materials"* (in rus.). 2009;258-60.
10. Shikov A.N., Pozharitskaya O.N., Makarova M.N., Dorman H.J.D., Makarov V.G., Hiltunen R., Galambosi B. Adaptogenic effect of black and fermented leaves of *Bergenia crassifolia* L // *J. Funct. Foods*. 2010; 2 (1):71-6.
11. European pharmacopoeia 6.0. (on-line версия сайта <http://www.uspbpep.com/>).
12. Shikov A.N., Pozharitskaya O.N., Dorman H.J.D., Makarov V.G., Tikhonov V.P., Hiltunen R. Chemical composition of extracts from green, brown and black leaves of *Bergenia crassifolia* // *Planta Medica*. 2007;73 (9):897.

Composition and content of the phenolic compounds in plants *astragalus Seriseocanus gontsch. in vivo* and *in vitro*

Kotsupiy O.V., Ambros E.V., Petruk A.A.

FSBIS Central Siberian Botanical Garden SB RAS, Novosibirsk, Russia,
8(383)–3399818, e-mail: olnevaster@gmail.com

Composition and content of the phenolic compounds in the leaves of native, introduced and *in vitro* plants of *Astragalus seriseocanus* Gontsch. were studied by HPLC method. Quercetin, kaempferol and izoramnetin in hydrolysates of leaves extracts were identified. The hydrolysates of *in vitro* plants extracts were contained aglycones less (0,18 %) than *in vivo* plants (0,40 – 0,76%).

The role of taxifolin in the adaptation of seedlings soy to the effects of lead acetate

Kuznetsova V.A., Ostronkov V.S., Lachin S.A., Ivachenko L.E.¹

Closed Joint Stock Company «Ametis», Blagoveshchensk, 8-961-954-33-85, kuzvika3385@yandex.ru

¹Federal State Educational Institution of Higher Professional Education «Blagoveshchensk State Pedagogical University», Blagoveshchensk, 8-914-563-41-00, ivachenko-rog@yandex.ru

Shows a correlation between peroxidase activity of soy isoflavones and biometric indicators in conditions of oxidative stress caused by lead acetate. Germination of seedlings soy in the presence of lead acetate causes inhibition of soy, which indicates a high oxidative stress. Adding the taxifolin increases the activity of peroxidase, changes the amount of isoflavones that enhances adaptive capacity and leads to an improvement of biometric parameters seedlings soy.

Correlation of both flavonoid contents and leaves size of *Salix viminalis* with its position on spear

Kuzmichova N.A.

Vitebsk state medical university, Vitebsk, Belarus, 8-0212-370929, kuzm_n-a@mail.ru

By example of *Salix viminalis* the dependence of leaves size and flavonoid contents is described by quadratic polynomial equation with opposite sign by coefficient at x^2 . Maximum size leaves are situated in the center of spear. Maximum flavonoid contents accumulates in leaves situated near spear base and top (7-9% and 5-7% relatively). Leaves of central spear part have minimum flavonoid contents (about 4%). Maximum approximation level is observed on leaf length.

The participation of salicylic acid in regulating the breathing process in *Solanum tuberosum* depending on the condition of the microfilaments

Lantsev V.L., Puzina T.I.

ФГБОУ ВПО "Орловский государственный университет", г. Орел, Россия, +7(4862)777818, e-mail: vic_lan@mail.ru

The effect of salicylic acid on the process of breathing and its qualitative characteristics of *Solanum tuberosum*, depending on the integrity of the actin cytoskeleton was studied. The stimulation of respiration under the influence of salicylic acid as in conditions of holistic and broken

microfilaments was shown. The observed increase in respiration maintain in the variant with salicylic acid in terms of the destruction of the actin cytoskeleton, which was accompanied by an increase in the mass of the aboveground organs of plants. Not revealed the involvement of salicylic acid in the regulation of the relationship of the initial ways of respiratory exchange.

Determination of lignin composition in transgenic aspen with glutamine synthetase gene gs by two-dimentional NMR

Lebedev V.G.¹, Faskhiev V.N.^{1,2}, Belyy V.A.³, Shestibratov K.A.¹

¹The Branch of the M.M. Shemyakin and Yu.A. Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences, Pushchino, Russia

²Pushchino State Institute of Natural Sciences, Pushchino, Russia

³Institute of Chemistry Komi Scientific Center of Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Syktyvkar, Russia

Increasing the productivity of plants is an important trend of genetic engineering of forest trees. One way is the increased activity of glutamine synthetase - a key enzyme of nitrogen metabolism. The object of our study were transgenic aspen, containing pine GS1 gene, which encoding cytosolic form of glutamine synthetase. Insertion of this gene has led to accelerated growth of transgenic plants. Since there is a relationship between nitrogen metabolism and synthesis of phenylpropanoid units (precursors of lignin), the acceleration of growth could have an impact on the content and composition of lignins, which determine the mechanical, protective and other properties of wood.

Analysis of aspen two-year wood showed that the content of total lignin in four out of five transgenic lines decreased compared to the control at 5-8% (from 33.6% to 30,7-31,7), and it is to the reduction of acid insoluble lignin. Lignin composition (content of G, S and H subunits) was determined by two-dimensional NMR. For control plants, the ratio S/G is 2,35-2,40, of the same four transgenic lines were observed to decrease the value of 1,95-2,21. In general, in transgenic plants G subunits content increased by 3-17% compared with the control, and H and S content reduced to 3-5 subunits and 5-26%, respectively.

The obtained data demonstrated some changes in the content and composition of lignins in aspen with modified nitrogen metabolism. To assess the impact of these changes on suitability of wood for industry further research is needed, including the trials under field conditions.

Anthochlors of plants Asteriaceae

Litvinenko V.I., Popova N.V., Dihtirev S.I., Maslova N.F.

State Research Center of pharmaceuticals and medical products,
Kharkov 61022, st. Astronomical, 33, тел. (057) 720-62-58,
litvinenkovas@rambler.ru, National Pharmaceutical University, Kharkov

The walkthrough of literary data is conducted about chemical composition of flavonoids and application of plants of luings: Coreopsis, Bidens, Cosmos et al. One of the most investigational and applied plants in subtribe Coreopsidinae is a train (Bidens). It is shown that in these plants contained from flavonoids mainly complex of classes, united under the term of "anthochlors".

Anthochlors of analysable plants is presented biosynthetic near chalcones, flavanones, aurones and flavones.

Characteristically, that anthochlors in plants there are derivatived 6-deoxychalcones after rare exceptions.

Considerable interest is presented by pharmacological researches of not only extractions from the investigated plants but also separateclasses of anthochlors, for example chalcones - buteine, okanine, stillopsidine, flavanones - butane, isookanine (flavanomaritimetine), aurones - sulfuretine, maritimetine et al.

These data expose new possibilities for creation of medicinal facilities.

New phenolic compounds from genus *Glycyrrhiza* L. of the global flora

Litvinenko V.I., Ammosov A.C., Popova T.P.

State Research Center of pharmaceuticals and medical products,
Kharkov 61022, st. Astronomical, 33

Information about new 65 phenol compounds extracted from 17 species of genus *Glycyrrhiza* L. of the global flora is presented. The substances are grouped and divided into 3 sub-groups, 4 series and 17 classes according to the biochemical classification of flavonoids and by the morphological organs of the plants. Two sub-groups – euflavonoids and isoflavonoids - prevail. Some marker substances were determined which are used in chemosystematics, biogenetics, resource studies, pharmacological screening and in medical preparations.

N-phenyl-2-naphthylamine influence on growth and activity of components of adenylatecyclase signal system

Pseudomonas syringae* pv. *pisi* and *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae

Makarova L.E., Lomovatskaya L.A., Kuzakova O.V., Kuznetsova V.E.

Siberian Institute of Plant Physiology & Biochemistry Siberian Branch of the Russian Academy of Science, Irkutsk, Russia

N-phenyl-2-naphthylamine, one of the major components of pea root exudates, was for the first time shown to inhibit the growth of phytopathogen *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* and symbiont *Rhizobium leguminosarum*. This was accompanied by the decrease in tocAMP level in the bacteria and their growth medium. The activity of soluble form of adenylatecyclase and phosphodiesterase, but not of transmembrane adenylatecyclase, significantly increased.

The effect of caffeic acid on concentration of phytohormones and growth reactions *Solanum tuberosum* depending on the condition of tubulin cytoskeleton

Makeeva I.Yu., Puzina T.I.

Orel State University, Orel, Russia, e-mail: makmus57@yandex.ru

The effect of caffeic acid on the content of phytohormones and growth of potato plants, depending on the integrity of microtubules, was investigated. Caffeic acid does not change the content of gibberellins, but contribute the accumulation of auxins in conditions of undisturbed tubulin cytoskeleton was revealed. Destruction of microtubules by colchicine reduces the level of auxins. Caffeic acid under these conditions mitigates the negative effect of colchicine on the content of auxins. The absence of growth reaction height above ground shoots, tuber length and formation of nodes under the influence of caffeic acid regardless of microtubules is showed. Stimulation of mass of tubers of plants enriched caffeic acid, both in integrity and a defect tubulin cytoskeleton is detected. Growth reactions are discussed in connection with the peculiarities of the content of phytohormones.

The interaction of phenolic compounds and brassinosteroids in the implementation of protective physiological and biochemical reactions cereals

Manzhelesova N.Y., Volynets A.P.

V.F. Kuprevich Institute of Experimental Botany at National Academy of Sciences of Belarus, Akademicheskaya str. 27, Minsk, Belarus, +375172840543; patphysio@mail.ru

The article discusses the features of the mixtures of natural

phytoregulators phenolic and steroid nature and the formation of physiological and biochemical defense reactions of spring barley and wheat in order to clarify the possibility of using them to protect plants from fungal diseases instead of synthetic fungicides.

Carboxymethyl lignin fragments as plant growth regulators

Markin V.I., Feller S.V.

Altai State University, Lenina ave., 61, Barnaul, 656049 (Russia), tel.: (3852) 298-136, e-mail: markin@chemwood.asu.ru

By molecular mechanics calculations performed some structural fragments of lignin that supposedly possess auxin activity. It is experimentally shown that carboxymethylated plant material has growth promoting activity. The greatest effect was observed in samples with higher lignin content carboxymethylated.

Effect of salicylic acid on antioxidant status of wheat plants under salinity

Maslennikova D.R.¹, Lastochkina O.V.², Shakirova F.M.¹

¹Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Scientific Centre, Russian Academy of Sciences, Ufa, RUSSIA; tel.: (347) 236-60-88; E-mail: shakirova@anrb.ru;

²Bashkortostan Scientific-Research Institute of Agriculture, Ufa, RUSSIA, tel.: (347) 223-07-08, bniish@rambler.ru

This study was devoted to investigation of salicylic acid (SA) effect on the growth and antioxidant status of wheat plants under salinity. There was detected the protective effect of SA pretreatment on wheat plants which was reflected in the prevention of dramatic stress-induced changes in the content of ascorbate and glutathione, maintenance of their growth at the control level and acceleration of the recovery of growth indicators in the post-stress period that shows the effectiveness of SA application in order to increase stress resistance of wheat plants.

Accumulation of phenolic compounds in leaves of *Fragaria orientalis* Losinsk.

Mechikova G.Y., Stepanova T.A., Matyushchenko N.V.

The Far Eastern State Medical University, Khabarovsk, Russia, phone (4212) 32-64-26; e-mail: galina.m.ya@mail.ru

The accumulation of phenolic compounds in leaves of *F. orientalis* Losinsk. was studied on the range of the species. The influence of geography on the content of phenolic compounds was revealed.

Therapeutically significant content of phenolic compounds in leaves of *F. orientalis* Losinsk. was confirmed.

Hydroxybenzoic acid - protection factor of the cells of higher plants from uv-b radiation

Nechaeva T.L.¹, Golubeva E.V.², Nazarenko L.V.², Zagoskina N.V.¹

¹Timiryazev Institute of Plant Physiology Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia, tel. (495)9779433, e-mail: NechaevaTatyana.07@yandex.ru

² Institute of Mathematics, Informatics and Natural Sciences GBOU IN Moscow City Pedagogical University, Moscow, Russia, e-mail: nlv.mgpu@mail.ru

Studied the effect of UV-B radiation on the accumulation of phenolic compounds in callus cultures of the tea plant, previously subjected to the action of salicylic and *p*-hydroxybenzoic acid. Showed that hydroxybenzoic acid influence on the accumulation of phenolic compounds and the level of lipids peroxidation in callus cultures. Salicylic acid shows more pronounced stress-protectant effect against UV-B radiation than hydroxybenzoic acid.

Tea culture (*Camellia sinensis* L.) *in vitro* and accumulation of phenolic compounds

Nechaeva T.L.¹, Lapshin P.V.¹, Gvasaliya M.V.², Malyarovskiy V.I.², Zagoskina N.V.¹

¹Timiryazev Institute of Plant Physiology Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia, tel. (495)9779433, e-mail: NechaevaTatyana.07@yandex.ru

²Russian Scientific and Research Institute of Floriculture and Subtropical Crops of the Russian Academy of Agricultural Sciences, c. Sochi, Russia, e-mail: gvasaliya_aa@mail.ru

Examined the accumulation of phenolic compounds and flavans in callus cultures of the tea plants (*Camellia sinensis* L.). Establish that the duration of passage *in vitro* has minimal effect on the polyphenol content than the composition of the nutrient media. The nutrient medium of Heller more optimal for the formation of phenolic compounds, including flavans, in tea callus culture than Murashige-Skoog medium.

Oxidation of quercetin by peroxidase of the Karelian birch

Nikerova K.M., Galibina N.A.

Forest Research Institute of Karelian Research Center of RAS, Petrozavodsk, Pushkinskaya St. 11, 185910, Russia

Article contains a literary review on structure, properties and reactionary

ability of kvertsetin. We developed a method when kvertsetin can be used as a substrate of peroxidase oxidation. Objects were two forms of Silver birch trees with different degrees of manifestation of wood grain figure. There were *Betula pendula* var. *pendula* and *Betula pendula* var. *carelica*. We studied features and regularities of this reaction. The peroxidase activity was carried out in different pH conditions.

Carbohydrate components of nutrient media, accumulation of polyphenols and activity of l-phenylalaninammiak-lyase in callus culture of tea plant

Nikolaeva T.N., Lapshin P.V., Nechaeva T.L., Zagoskina N.V.

Timiryazev Institute of Plant Physiology Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia, tel. (495)9779433, e-mail: niktat2011@mail.ru

Studied the effect of different carbohydrates (glucose, sucrose) on the formation of phenolic compounds and activity PAL in callus culture of the tea plant. Cultures were grown in the medium containing 1.5% and 2.5% of glucose or sucrose at 16 h. photoperiod. Material was analyzed at the end of the passage (42 days). The highest accumulation of phenolic compounds, including flavans, was calli grown on medium with 1.5% glucose. The lower their quantity observed on media containing sucrose. There was a positive correlation between the activity of the FAL and the ability of callus cultures of tea to the accumulation of phenolic compounds.

Metabolomics of medicinal plants

Ossipov V.I.^{1,2}, Polyakov N.A.¹

¹All Russian Institute of Aromatic and Medicinal Plants, Moscow, 117216, Grina 7, Russia

²Department of Chemistry, University of Turku, Turku, 20014, Vatselankatu 2, Finland

Metabolomics tool was applied for comprehensive phytochemical analysis of extracts, fractions of extracts and preparations from 17 species of medicinal plants that are used widely in traditional medicine. The applied metabolomics tool was based on the combination of two chromatographic platforms: HPLC-MS (Agilent 1200 system with BRUKER micrOTOF-Q-MS detector) and GC-MS (Perkin Elmer AutoSystem XL GC with TurboMass Gold quadrupole MS). The principle objectives of the study were identification and quantification of biologically active compounds and formation of MS library of the medicinal plant metabolites. It was found that varied pharmacological activity of some plant species could be due to the high content of

phenolic compounds. However, the composition of the phenolic compounds in the studied plants was very different. Some species were characterized by relatively high content of ellagitannins (*Hippophae rhamnoides*), proanthocyanidins (*Potentilla alba*, *Comarum polustre*), derivatives of caffeic acid (*Lycopus europeus*, *Tanacetum vulgare*, *Urtica dioica*, *Arnica foliosa*, *Rhaponticum carthamoides*), flavonolignans (*Silybum marianum*), flavonoid-glycosides (*Rubus idaeus*, *Aesculus hippocastanum*, *Serratula coronata*), lignans (*Arctium lappa*) or derivatives phloroglucinol (*Eucaliptus viminalis*). In addition, other classes of biologically active secondary compounds such as sesquiterpen-lactones, triterpenoids were identified in the studied plants.

Contents of phenolic compounds in plants regenerated of *Populus tremula* derived from callus tissue

Petrova G.A.¹, Kalashnikova E.A.², Mammadov R.³

¹Kazan State Agrarian University, Russia, 420015, Kazan, Marxa St., 65, e-mail: guzel-petrva@rambler.ru

²Russian State Agrarian University – MTAA, Russia, 127550, Moscow, Timiryazevskaya St., 49, Agronomy Faculty, Department of Genetics and Biotechnology

³Department of Biology, Faculty of Science and Literature, Pamukkale University, Denizli, Turkey rmammad@yahoo.com

Triploid aspen (*Populus tremula*) is one of the most important tree species. Its core does not rot. Therefore, the cultivation of this breed in Russia is paramount forestry. One of the promising methods of plant propagation is clonal micropropagation, coordinates can be realized in 4 ways. One of these techniques - the production of plants regenerated from callus tissue.

The primary explant used segments of young shoots, isolated from 30 year old trees. The explants were surface sterilized with 0.1% mercuric chloride solution for 10 minutes, washed with sterile distilled water and placed on WPM medium for callus formation. For regeneration of plants from callus tissue culture medium used WPM, 2ir containing 2 mg / l and IAA and 0.5 mg / l. Sucrose in all nutrient media present in a concentration of 2%. Transplant was performed 1 time in 1.5 months. Growing conditions were standard. When callus subculture of the following factors: the percentage of morphogenic callus and plant regeneration percentage.

Studies have shown that shoots obtained from various different callus tissue growth rate. Plants were obtained in two types: 1) plants, characterized by rapid growth, 2) plants, which are characterized by slow growth (Fig. 1).

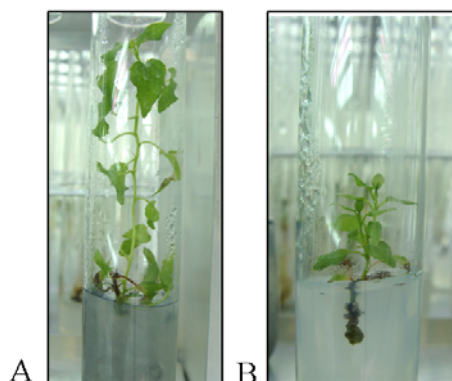


Fig. 1 Two types of plants:
A - plants, characterized by rapid growth,
B - plants, which are characterized by slow growth

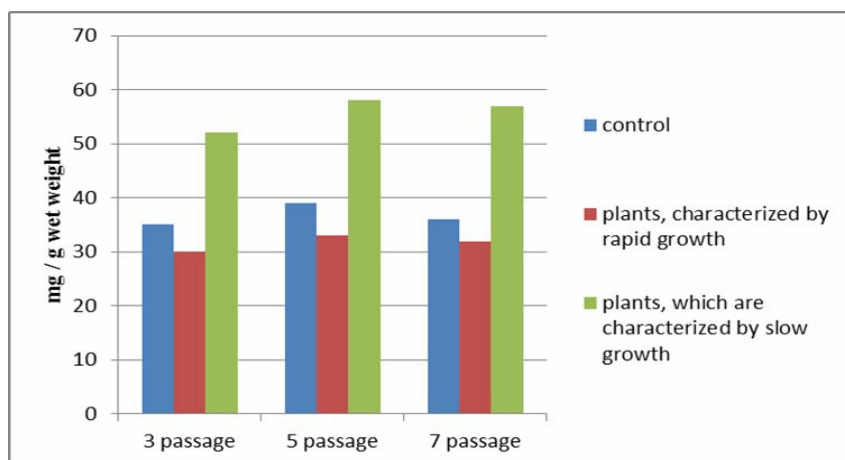


Fig. 2 The total content of soluble phenolic compounds in regenerated plants *Populus tremula*

The morphological characteristics of the plant data are not different from each other. However, biochemical studies have revealed some differences in the total content of soluble phenolic compounds. So plants possessing rapid growth over 5 passages, the total content phenolic compounds was dissolved to a level of 30 - 33 mg / g wet weight. In plants with slow growth of this figure accounted Existing-tively increased and amounted to 52-58 mg / g wet weight (Fig. 2). You can make the assumption that slow growth is due to a high content of phenolic compounds in plant tissues, which in turn can cause inhibition of growth processes.

Thus, the regenerated plants derived from callus or webs,

differed from each other in the growth rate, which may be due to a change in the biochemical processes in particular phenolic metabolism.

Influence of herbivores and pathogen on phenolic compounds synthesis in common oak leaves

Polyakova L.V., Litvinenko V.I.

Ukrainian institute of Forest research and forest melioration. Kharkov
61024 Pushkinskaja 86

The defoliation of oaks is an urgent problem for forestry. Great differences in the defoliation level of individual trees were observed. We combined behavioural peculiarity and biochemical traits of trees on population level. It has shown the presence of three different biochemical genotypes in oak populations. Hydrolysable tannins and phenylpropanoids showed differences in character of correlation with protein content in leaves. In addition, influence of severe pathogen infection on the content of flavonoids and differences in regulation of condensed tannins and flavonols contents in leaves was shown.

Role of phenolic compounds in pathogeny of barley as cellular spottiness

Poliakova N.V., Volynets A.P.

V.F. Kuprevich Institute of Experimental Botany at National Academy of Sciences of Belarus, Akademicheskaya str. 27, Minsk, Belarus,
+375172840543; patphysio@mail.ru

Phenolic compounds of fitopathogenic fungi *Drehslera teres Sacc.* can be related to the factor of pathogeny. It's role is to generate system of infectious affection and demonstrate toxic effect along with ferments and toxins.

Immunomodulatory activity of vanillin, salicylic acid and chitosan in the wheat - exciter dark brown spot *Cochliobolus sativus* Drechs.

Popova E.V.¹, Domnina N.S.², Kovalenko N.M.¹, Tuterev S.L.¹

¹ FSBSI VIZR Federal State Budget Scientific Institution "All-Russian Institute of Plant Protection" Address: Podbelskogo, 3, St Petersburg – Pushkin, 196608

² St Petersburg State University, Institute of chemistry, Address: Universitetskiy pr, 26, St Petersburg, 198504.

Studied the effect of vanillin, salicylic acid, chitosan and its combination with vanilla and salicylic acid in controlling wheat braun spot disease. It is shown that suggested compositions increase resistance of wheat

plants to the fungus *Cochliobolus sativus* Drechs, which resulted in the extension of the biotrophic period during ontogenesis of pathogen.

Phenolic compounds in fruiting vegetables under abiotic factors

Priss O.P., Kalytko V.V.

Tavria State Agrotechnological University, Melitopol, Ukraine, tel. +38 050 3229450, olesyapris@gmail.com

The influence of abiotic factors on formation of phenolic substances in fruiting vegetables has been investigated. Relationships are set on the basis of connection between the pair correlation analysis of abiotic factors change and concentrations of phenolic substances. It was shown that phenolic compounds formation in solanaceae vegetables is significantly influenced by the sum of temperatures in the period of fruit development and ripening period where the coefficient of correlation is 0,77 to 0,80. Rainfall has strong ($r=-0,62...72$) influence on the formation of polyphenolic compounds in fruits of cucumber and zucchini, but does not affect the concentration of phenolic substances in peppers or tomatoes.

Dynamic of phenolic substances of parsley during storage with antioxidants

Priss O.P., Kulik A.S.

Tavria State Agrotechnological University, Melitopol, Ukraine

Dynamics of polyphenols parsley during storage using a nutrient medium with antioxidants was investigated. The total phenolic content during storage parsley has inverse correlation with polyphenoloxidase activity ($r = -0,78...-0,94$). The content of phenolic compounds of parsley during storage using culture medium with hydrogel and antioxidants at the end of storage is higher than in the control group to 25,1...39,7 %, depending on the variety. Polyphenoloxidase activity in experimental variants is lower than in the control samples of 1,7...2,2 times was revealed.

Genetic the control of the formation of flavonoid pigments in the highest plants

Rat'kin A.V.

Vavilov Institute of General Genetics, Russian Academy of Sciences, Moscow, 119991 Russia; e-mail: ratkin@vigg.ru

The genetic, ontogenetic and biochemical aspects of the biosynthesis of flavonoids are studied. Genetic model of the formation of flavonoids is

developed. The possible mechanisms of the action genes are discussed.

Influence of broomrape infection on growth processes and the phenolic compounds content in sunflower lines and hybrids

Sakhno T.V.

Yuriev Plant production institute NAAS, Kharkov, Ukraine +38-050-915-2001, kaskavella18@mail.ru

This paper describes the results of studies the broomrape impact on growth processes and the content of phenolic compounds in sunflower lines and hybrids. Morphometric parameters of sunflower plants with broomrape inoculation were lower than in control samples. It was found that under broomrape inoculation of studied sunflower lines and hybrids the content of phenolic compounds increased in broomrape resistant genotypes, whereas in susceptible – significant changes were not detected.

Keywords: sunflower, line, hybrid, broomrape, phenolic compounds, growth processes.

Prediction of the content of phenolic compounds in apple fruits, depending on weather conditions

Serdyuk M.

Tavria State Agrotechnological University, Melitopol, Ukraine, +38(067)1633371, igorserduk@mail.ru

The changes of the content of phenolic compounds in apple fruits during maturation on the maternal plant. It was found that the average content of phenolic substances in picking-maturity apples, grown in the south-steppe subzone of Ukraine was at the level of 192.41 mg/100 g. Analysis of variance has confirmed that the accumulation of phenolic compounds in apples is significantly influenced (with a share of 37.3 %) by weather conditions for fruit formation. The main weather factor that most affects the content of phenols in picking-maturity apples is the average sum of effective temperatures above 10 °C.

Dynamics of phenylalanine ammonia-lyase activity in common buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench.) plants under chronic aluminium-acid stress

Smirnov A.E., Kosyan A.M., Kosyk O.I., Taran N.Yu.

Educational and Scientific Centre 'Institute of Biology' of Taras

Phenylalanine ammonia-lyase (PAL, EC 4.3.1.24) is one of the most studied plant enzyme. Nowadays it is common knowledge that PAL activity can significantly fluctuates in response to a variety of biotic and abiotic stressors. Our investigation disclosed time-dependent induction of PAL activity in roots and leaves of *Fagopyrum esculentum* Moench over the 10 days of exposure to aluminium (50 μ M). Revealed trends could be explained by time-dependent contact of aluminium ions with plant organs. The reduction of the PAL activity observed in the roots on the latest days may be the result of a retroactive inhibitory effect by PAL reaction products – generated phenolic compounds.

Influence of salicylic acid on cucumber seedlings tolerance to low temperatures

Talanova V.V., Repkina N.S., Fenko A.A.

Institute of Biology Karelian Research Centre RAS, Petrozavodsk, Russia, +7(8142)762712, e-mail: angelina911@ya.ru

In the present study, the effects of exogenous salicylic acid (SA) on cucumber seedlings tolerance to subinjury (12°C) and injury (12°C) low temperatures were investigated. It was showed that SA pretreatment (50 and 100 μ M) decreased the caused by low temperature electrolyte leakage and MDA content and increased in proline content. These results indicated that SA played a role in cucumber seedlings tolerance to low temperatures.

Effect of tyrosine on the accumulation of polyphenols in Curly Dock (*Rumex crispus* L.) leaves

Tatsenko N.A., Feduraev P.V., Chupakhina G.N., Mironov A.I.

Baltic Federal University of Immanuel Kant, Kaliningrad, Russian Federation, 89118611187, tatsenko.n@mail.ru.

The specific of phenol compounds' accretion with usage of tyrosine as a substrate was investigated. The substantial incentive effect for plants treated with solution, i.e 200 μ mol tyrosine's concentration by 8 hours' exposition, was recorded. The effect is observed mainly for total content of polyphenols and catechins. Next, the decrease of investigated materials' level after 24 hours' exposition was displayed. In addition, 1% glycose's solution stimulated the biosynthesis of leucoanthocyanins more efficiently, than tyrosine did.

Keywords: catechins, leucoanthocyanins, total amount of phenolic compounds, tyrosine, Curly Dock

Change of the phenolic metabolism at raspberry microplants at sanitation from viruses by magnitno-pulse treatment

Upadyshev M.T., Motyleva S.M., Mertvishcheva M.E., Donetsk V.I.

The Federal State Budget Research Institution «All-Russian Horticultural Institute for Breeding, Agrotechnology and Nursery», Moscow, Russia, ph. 8 (495) 329-32-33, e-mail: upad8@mail.ru

Magnitno-pulse treatment led to change of a phenolic metabolism at microplants of a raspberry and increased the maintenance chlorogenic acids in plants by 33% in comparison with the control. Biochemical changes can lead to inhibition of viruses in the course of sanitation of plants.

The influence of plant pigment apparatus development on phenolic compounds accumulation by rye (*Secale cereale* L.)

Feduraev P.V., Trembach J.A., Chupakhina G.N.

Immanuel Kant Baltic Federal University, 236040, Universitetskaya str. 2, Kaliningrad, Russia, tel.: (84012)533707; e-mail: pfeduraev@kantiana.ru

The level of plant secondary compounds depends on the condition of the plant pigment apparatus. The character of accumulation of phenolic compounds in plants which grown with a standard photoperiod, grown in complete shading and grown under uncoupling condition of respiration and photosynthesis were shown.

Keywords: catechins, leucoanthocyanins, total phenolic, streptomycin, light, etiolated seedlings, rye.

Flavonoid biosynthesis regulatory network in wheat

Khlestkina E.K., Shoeva O.Y., Gordeeva E.I.

Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia, tel. +7(383)3634952, e-mail: khlest@bionet.nsc.ru

The regulatory flavonoid biosynthesis (FB) genes belong to multigene families and encode transcription factors of MYB, MYC and WD40 types. The presence of multiple orthologous and homoeologous copies of these genes in allohexaploid wheat *Triticum aestivum* L. genome complicates their isolation and sequencing. A good start point for isolation of the FB regulatory genes are the genes determining coloration of different parts of plant in wheat. In 1980-2000s, more than 20 loci determining various patterns of coloration in wheat have been mapped. Later their regulatory role in the biosynthesis of flavonoid pigments anthocyanins, proanthocyanidins and phlobaphenes has been

shown. These studies facilitated further isolation of nucleotide sequences of some of these genes, in particular, MYB-encoding *R* (*red grain color*) genes activating synthesis of proanthocyanidins in seed coat and MYC-encoding *Pp3* (*purple pericarp*) gene responsible for anthocyanin synthesis in caryopsis pericarp. Further set of MYB-encoding genes (*Pp-1*) is still to be isolated. However, the use of a set of wheat near-isogenic lines carrying different combinations of dominant and recessive *Pp3* and *Pp-1* alleles allowed to discover regulatory interaction between MYC- and MYB-encoding *Pp* genes: the dominant *Pp-1* allele partially suppressed the *Pp3* transcription. In addition, some specific features of the regulation of FB structural genes in wheat revealed using several sets of wheat isogenic and recombinant lines will be discussed in this report.

Content of phenolic compounds and mycosymbiotrophy in underground organs of *Epipactis helleborine* (Orchidaceae)

Kholmogorov S.V., Marakaev O.A.

P.G. Demidov Yaroslavl State University, Yaroslavl, Russia, +7(4852) 47-82-98, e-mail: serg_kholm@mail.ru

It is shown in the research the rhizome of *E. helleborine* does not contain mycosymbiont and is characterized by a lower content of sum phenolic compounds and flavonoids as compared with roots. In the roots mycosymbiotrophic relationships formed during the initial period of their formation and continued throughout their growth and development. Indicators of the intensity and frequency of occurrence of mycorrhizal infection is higher in older roots compared with the young. For the growth rate of isolated from the roots of mycosymbiont revealed the opposite. Sum content of phenolic compounds and flavonoids higher in older roots compared with the young. Increasing of accumulation of phenolic compounds in the roots of *E. helleborine* it is marked with increasing indices of mycosymbiotrophy as in the seasonal dynamics, and with increasing age of the organs.

Phenolic compounds in adapting *Pentaphylloides fruticosa* within a natural population

Khranova E.P.

Central Siberian Botanical Garden, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, 630090 Russia, Novosibirsk, Zolotodolynskara, 101

The results of identification of composition and content of phenolic compounds in various organs *Pentaphylloides fruticosa* (L.) O. Schwarz (Fam. Rosaceae), growing in the Altai Mountains, in relation to the

vertical zonation, were presented. It is shown that the composition of phenolic complex *P. fruticosa* was constant regardless of the plant organ and habitation. The total content of phenolic compounds in aboveground organs of *P. fruticosa* increased in series forest steppe—forest — steppe—alpine zone. In vertical zonation the content of 1, 3, hyperoside, isoquercitrin together with rutin, quercetin increased and avikulyarin decreased in the leaves of *P. fruticosa*. In the leaves of plants from alpine zone the free aglycones increased against the background of their glycosides decrease. The example of *P. fruticosa* demonstrated that the content and variation of phenolic composition as well as their correlation with altitude and climatic factors were more significant in leaves compared to flowers and stems.

About the formation of phenolic compounds in potato plants transformed with a gene $\delta 12$ -acyl-lipid desaturase

Tsyurskaya E.V., Zagorskina N.V.

Timiryazev Institute of Plant Physiology Russian Academy of Sciences,
Moscow, Russia, tel. (495)9779433, e-mail: biopenol@gmail.com

Studied the formation of polyphenols in potato plants transformed with the desA gene. Found that the insertion of a gene into the genome desA potato plants causes changes in phenolic metabolism, manifested in increasing both the total accumulation of phenolic compounds and flavonoids accumulation - one of the main components of the phenolic complex potato leaves.

Plasticity of plant flavonoids accumulation in multidimensional ecological niches of South Urals

Scherbakov A.V., Usmanov I.Yu., Faezova G.F.

Bashkir state university, Russia, Ufa, tel. 8(347)2299671, e mail:
Humanist314@rambler.ru

Plasticity accumulation of flavonoids some plant species that live in the Southern Trans-Urals was studied. High intra-and interpopulation plasticity in the accumulation of flavonoids in plants in different habitats is shown. It is concluded that the high plasticity in the accumulation of flavonoids in plants Bashkir South Urals manifested in response to significant variations in the soil content of the individual performance of the chemical elements. Under these conditions, plants can synthesize a wide range of flavonoids, until the biosynthesis of unique compounds - "Chemical endemic." The idea of the necessity for the territory of the South Ural protected area for the protection and study of the variety of flavonoids accumulated by plants in these circumstances is conveyed.

Chemical mutagenesis and changes in flavonoid biosynthesis in flowers of *Petunia*

Shirokova A.V., Zaitsev G., Kostyanovsky R.G., Krutius O.N., Kadorkina G.K.

Koltzov Institute of Developmental Biology of Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

The containing of flavonoids in mutant petunia flowers was studied. The specificity of mutagen effect on biosynthesis of anthocyanidins in mutant flowers of with the changed coloring was revealed. Shown that chemical mutagenesis causes significant changes in flavonoid biosynthesis in petunia flowers. Revealed the specificity of action of mutagens on accumulation of anthocyanins and the prevalence of various colors.

Molecular complexes of *L*-tyrosine with triterpene glycosides

Yakovishin L.A.¹, Grishkovets V.I.², Korzh E.N.¹

¹Sevastopol State University, Sevastopol, Russia, +7(8692)435-106, chemsevntu@rambler.ru

²V.I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Russia

Molecular complexes in the 1:1 molar ratio of *L*-tyrosine with triterpene glycosides monoammonium glycyrrhizinate (glycyram), α -hederin (hederagenin 3-*O*- α -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)-*O*- α -L-arabinopyranoside) and hederasaponin C (hederagenin 3-*O*- α -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)-*O*- α -L-arabinopyranosyl-28-*O*- α -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)-*O*- β -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)-*O*- β -D-glucopyranoside) have been prepared. The complexation has been investigated by UV spectroscopy.

Comparative study of influence of glycosides and complexes on seeds germination *Avena sativa* L. has been made. The complex of α -hederin with *L*-tyrosine has appeared most toxic.

Salicylic acid and jasmonic acid in the regulation of lignin in the accumulation of wheat plants infected with root rot

Yarullina L.G.¹, Kasimova R.I.¹, Akhatova A.R.¹, Yarullina L.M.², Isaev R.F.³, Maksimov I.V.¹

¹Institute of Biochemistry and Genetics of Ufa Scientific Center RAS, Ufa, Russia, e-mail: yarullina@bk.ru

²Bashkir State Univesity, Ufa, Russia

³Bashkir State Agrarian University, Ufa, Russia

A comparative study of the effect of salicylic (SA) and jasmonic (A)

acids on the degree of damage to the leaves of wheat by *B. sorokiniana*, the content of H_2O_2 and deposition of lignin in the cell wall was carried out. Processing SA and JA reduced the degree of plant tissues infected with a pathogen, increased the concentration of ROS in the leaves and accelerated the deposition of lignin in the area of localization of the fungus. These data point to the prospect of using SA and JA to enhance the resistance of wheat plants.

3 SECTION

Grape squeeze as raw material for confectionery semi-prepared foods

Abibullaeva G.A., Branovitskaya T.Yu.

Taurida Academy of Crimean Federal University named after V. I. Vernadsky, Russian Federation, Crimea, Simferopol, Academician Vernadsky Ave., 4, tel. +79788629540, e-mail: gulsumka199388@gmail.com

In this research paper was investigated quantitative content of phenolic and staining agents of such grape varieties as Merlot, Moldova, Tayfi pink and Aligote by colorimetry. It has been described that grape pomace contains a great amount of phenolic substances and organic dyes in their structure, which enables them to be widely used in the confectionery industry for jellies and pastilles.

Keywords: phenolic substances, grape, pomace

The possibility of oxidative stress correction by polyphenol complexes from far eastern plant cell cultures

Azarova O.V., Bryukhanov V.M., Zverev Ya.F.

The Altai State Medical University, 40, Lenin Avenue, Barnaul, Altay Territory, 656038

The use of cell cultures that contain various polyphenols promotes correction of oxidative stress. Mechanisms and their degree of corrective action depends on the nature of the polyphenol antioxidant, on the genesis of oxidative stress and on the extent of imbalance between the processes of lipid peroxidation and antioxidant protection under oxidative stress.

Investigation of perspective population of *Calendula officinalis* inflorescences

Afnas'eva P.V., Kurkina A.V.

Samara State Medical University, Samara, Russia, (846) 2603359, appolnarija03@mail.ru

Research on definition the content of total flavonoids in inflorescence of *Calendula officinalis* L. of perspective population cultivated on Sredne-

Volzhskiy filial GNU VILAR is carried out. As a result established that sample of herbal material of *Calendula officinalis* L. has rather high content of total flavonoids (4,31 %) and is of interest in respect of the creation of the high qualitative drugs.

Study of antioxidant and adaptogenic activities of plant extracts containing ecdysteroids and polyphenols

**Bezmaternykh K.V.¹, Volodina S.O.², Volodin V.V.²,
Smirnova G.V.¹, Oktyabrsky O.N.¹**

¹ Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch of Russian Academy of Sciences, Perm, Russia

² Institute of Biology, Ural Branch of Russian Academy of Sciences, Syktyvkar, Russia

In this paper we have studied the antioxidant and adaptogenic activities of polyphenol and ecdysteroid containing substances (extracts of *Serratula coronata* L. and *Trigonella foenum-graecum*, bioactive supplement Serpisten and 20-hydroxyecdysone). Antioxidant activity was investigated by using a complex of chemical methods (determination of total polyphenols, ability to inhibit stable radicals DPPH, chelating activity and production of H₂O₂) and by applying microplate microbial test systems (determination of *Escherichia coli* sensitivity to peroxide stress and expression of the antioxidant genes *katG*, *katE*, *sodA* and the general stress response regulator *rpoS*). Protection effects of these substances against different antibiotics were studied by determination of minimum inhibitory concentrations (MICs), lysis delay and colony forming ability.

Identification of components and analysis of polyphenol markers of multi-component herbal drugs Prostanorm and Phyto Novo-Sed

**Beloborodov V.L.¹, Voskoboynikova I.V.², Savvateev A.M.¹,
Zakharova N.G.¹, Kolkhir V.K.²**

¹I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia, Tel: +7(916)3522075; e-mail: organicchem@mma.ru

²PPC PharmVILAR, Moscow, Russia, Tel.: +7(916)6415238; e-mail:kolkhir@prostanorm.ru

Prostanorm and Phyto Novo-Sed is a multi-component Russian-made herbal products. Prostanorm containing ethanol-aqueous extract of a mixture of St. John's wort (*Hypericum perforatum* L.), golden rod (*Solidago Canadensis* L.), licorice root (*Glycyrrhiza glabra* L.), *Echinacea purpurea* (L.) and *Moench* rhizome and roots taken in equal

quantities. Phyto Novo-Sed containing extract of a mixture of Motherwort (*Leonurus cardiaca* L.); lemon balm (*Melissa officinalis* L.); hawthorn (*Fructus Crataegi*), cinnamon rose (*Fructus Rosae*), purple coneflower (*Herba Echinacea purpureae* (L.) Moench) in mass parties 2:2:1:2:1.

The 23 major biologically active components of Prostanorm and 17 components of Phyto Novo-Sed were identified. The mixture extract of Herbal drugs containing wide range of polyphenols, such as flavonoids (aglycones and glycosides) and hydroxycinnamates. A combined SPE and HPLC method of quantitative analysis of each extract indicator substances (markers) has been developed. Prostanorm marker components are (in descending order) glycyrrhizinic acid, chycoric acid, rutin, hyperoside, chlorogenic acid, quercetin, caftaric, o-hydroxycinnamic and caffeic acids, kempferol. Phyto Novo-Sed marker components are (in descending order) ascorbic, rosmarinic, chlorogenic acids, rutin, chycoric acid, hyperoside, quercetin and caffeic acid.

Phenolcarbolic acids of plants of the genus thyme of the middle zone flora of european part of Russia

Bubenchikova V.N.¹, Starchak Yu.A.²

¹Kursk State Medical University E-mail: fg.ksmu@mail.ru

²Oryol State University Medical Institute E-mail:yuliya-starchak@yandex.ru

Phenolcarbolic acids of plants of the genus thyme of the middle zone flora of european part of Russia are studied. Caffeic, rosemary, ferulic acids were identified by the methods of paper and thin-layer chromatography. 10 phenolcarbolic acids were determined by the chromatography – mass spectrometry, vanillic, salicylic and ferulic acids dominated.

Technique of quantitative determination of phenolcarbolic acids is worked out: 1) spectrophotometry using the absorption index in ultraviolet spectral range; 2) identification by the differential spectrophotometry it is based on the modified reaction of the phenolic compounds with Folin's reagent.

Effect of heat treatment on polyphenols fresh berries and their products

Voronin M.S., Makarova N.V.

Samara State Technical University 443100, Samara, ul. Molodogvardiys'ka, 244, Main Building

The paper presents the results of a study of total polyphenols, flavonoids and anthocyanins for fresh fruits and processed products for example cherry, blackcurrant, chokeberry and bilberry. According to

these indicators identified products containing high levels of test substances and the effect of heat treatment on these parameters.

The plants of the genus *Bistorta* scop. as a sours of phenolic compounds

Voronkova M.S., Kukushkina T.A.

FSBIS Central Siberian Botanical Garden SB RAS, Novosibirsk, Russia,
89137081714, e-mail bmc_87@mail.ru

It was examined the content of phenolic compounds: flavonols, catechins and tannins in leaves, flowers and roots of the genus *Bistorta* species. The studied species are characterized with high content of flavonols, catechins and tannins. Leaves accumulate up to 7.33% of flavonols and 22.78% of tannins, inflorescence - up to 9.49% of flavonols and 21.67% of tannins. Leaves contain more tannins, but inflorescences bear more flavonols and catechins. The high content of catechins and tannins was found in rhizomes of two species: *B. alopecuroides* - 2,10% and 5,43%, *B. manshurensis* - 2,50% and 9,23% respectively. Introduced plants of *B. attenuata* accumulate less flavonols and tannins compared with herbs from natural populations, and catechins content remains at the same level.

Antioxidant activity of substance Suttigen

Gulyaev A.Y.¹, Rakhmadiyeva S.B.², Kushnarevich D.A.²

¹ «Centre for Life Science» Nazarbayev University, Astana,
rakhmadiyeva_sb@enu.kz

²L.N. Gumilyov Eurasian National University, Astana, Kazakhstan

The original fitodrug Suttigen was made from milled herb of *Euphorbia soongarica* Boiss., which grows on the territory of Kazakhstan and has the commercial reserves. Investigation of antioxidant activity of Suttigen was carried out by three methods using a reagent kit Antioxidant Assay Kit (Sigma).

Phenolics determining fruits juices quality

Deineka V.I., Deineka L.A., Blinova I.P., Kulchenko Ya.Yu.

NRU BelGU, Belgorod, RF, (+7)4722-301150, deineka@bsu.edu.ru

The content of chlorogenic acid has been determined by means of reversed-phase HPLC in some Russian trademarks of apple juices, being the highest for «Sady Pridon'ia» - $150 \pm 10 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$, representing $20 \div 30 \%$ of juice reducing activity. 5-*para*-Coumaroylquinic acid was the second type of phenolic compounds of the juice. Red flashed apples

seemed to be a promising type of plant material to get juices with enhanced antioxidant activity.

The study of changes of phenolic compounds during storage for 1 year on the example dried berries

Dmitrieva A.N.¹, Makarova N.V.²

Samara state technical university, Russia, 443100, Samara,
Molodogvardeyskaya str., 244, ¹dmitrieva.sascha2013@yandex.ru
²makarovnv1969@yandex.ru

This paper studied the effect of duration and storage conditions on the content of phenolic compounds in the dry plant material on the example of blackcurrant. It was suggested that two storage modes: in sealed vessels 12 months at 4 °C ($\pm$ 2 °C), without lighting and at a temperature of 25 °C ($\pm$ 2 °C) under natural light. The studies found that the storage temperature has an impact on the total amount of phenolic compounds. On the basis of our research have been identified optimal mode and storage conditions for the dry plant material. Storage of raw materials at a temperature of 4 °C ($\pm$ 2 °C), no lighting has been identified as optimal.

Research of antiradical activity of the composition of quercetin-glutathione and morin-glutathione

Dubrovskaya A.M., Ilyasov I.R., Beloborodov V.L.

I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia,
+7 499 1653747, anna.mma@list.ru

The aim of the study was to evaluate antioxidant activity of binary mixtures of quercetin-glutathione and morin-glutathione. AOA was measured by modification of ABTS/Potassium persulfate assay. Component ratio – AOA relationship was found to differ for different combinations. Quercetin with glutathione combinations showed synergism, maximum effect was observed at a molar ratio of 1:16. Morin with glutathione combinations showed insignificant antagonism or additive effect, which did not depend on the component ratio.

Study on the changes of the chemical composition of the fruit *Silybum marianum* subjected to the influence of space flight factors

Egorova A.V., Kurkin V.A.

Samara state medical university (443033 Russia, Samara,
Chapaevskaya str., 89)

In this paper the interim results of studies of the influence of space flight factors on the development of higher medicinal plants are presented.

The influence of space flight factors on chemical composition of fruits *Silybum marianum* are investigated. Analyzed water-alcohol extract of fruits *Silybum marianum* by thin layer chromatography and spectrophotometry. The absence of negative influence of space flight factors on the main active ingredients of fruits *Silybum marianum*. Now the further studies of chemical components of fruits *Silybum marianum*.
Keywords: fruits, *Silybum marianum*, factors of space flight, thin layer chromatography, spectrophotometry.

Phenolic plant and synthetic antioxidants for the prophylaxis of malignant tumors

Erokhin V.N., Semenov V.A., Kremetsova A.V., Burlakova E.B.

Emanuel Institute of Biochemical Physics, Russian Academy of Sciences, *ul. Kosygina 4, Moscow, 119991 Russia*

The effect of synthetic antioxidant β -(4-hydroxy-3,5-ditertbutylphenyl) propionic acid (phenosan) and savory essential oil on the development of spontaneous leukemia was studied. Phenosan exhibited a pronounced antitumor activity at ultra-low (10^{-14} mol/kg) dose. This dose increased the life span. The savory essential oil in low doses added with drinking water (150 ng/ml) or with feed (2,5 μ g /g) also increased the lifetime of mice (by 20-35%). The low doses of this drugs seems promising as a prophylactic agents.

Antioxidant activity of dikvertin-based binary mixtures

Ilyasov I.R., Dubrovskaya A.M., Beloborodov V.L., Tyukavkina N.A.

I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia, +7 499 1653747, igor@ilyasov.net

The aim of the study was to evaluate antioxidant activity of binary mixtures of dikvertin with ascorbic acid glutathione or α -tocopherol. AOA was measured by two modifications of ABTS/Potassium persulfate assay. Component ratio – AOA relationship was found to differ for different combinations. Dikvertin with Ascorbic acid combinations showed antagonism, which augmented with increasing of ascorbic acid in the mixture. Dikvertin with α -tocopherol combinations showed insignificant antagonism or additive effect, which did not depend on the component ratio. Dikvertin with glutathione combinations showed synergistic interaction up to 150% related with the component ratio.

Assessment content of flavonoids and carotenoids in extracts from plant material growing in Bashkortostan

Ishmuhametova S.R.¹, Valitova L.A.¹, Lastochkina O.V.², Pusenкова L.I.²

¹Bashkir state agrarian university, Ufa, Russia, thppr13@mail.ru

²Bashkir scientific research institute of agriculture, Ufa, Russia, bniish@rambler.ru

It was analysed the quantitative content of flavonoids and carotinoides (β -carotene) in fresh fruits of mountain ash (*Sorbus aucuparia* L.), common sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) and cranberry bush (*Viburnum opulus* L.) growing on the territory of Bashkortostan. According to spectral analysis of the higher level of flavonoids and β -carotene were found in fruits of *Sorbus aucuparia* L. and *Hippophae rhamnoides* L. which allows to recommend this type of plant material for use in the manufacture of food functional purpose possessing P-vitamin activity.

Antioxidant potentials, phenolic composition and antiproliferative activities of the different solvent extracts of *Cyclamen pseudibericum*, endemic to Turkey

Karagur E.R.¹, Ozay C.¹, Mammadov R.¹, Akca H.²

¹Department of Biology, Faculty of Science and Literature, Pamukkale University, Denizli, Turkey, rmammad@yahoo.com

²Department of Medical Biology, School of Medicine, Pamukkale University, Denizli, Turkey

Turkey has for several reasons such as it is the meeting place of three phytogeographical regions (the Euro- Siberian, Mediterranean and Irano-Turanian regions), Anatolia forms a bridge between Southern Europe and the flora of South-West Asia, many genera and sections have their centre of diversity in Anatolia and species endemism is high, a particularly interesting flora. Therefore, the flora of Turkey there are more than 9000 plant species and about 3000 are endemic (Davis, 1965).

In recent years, researchers have become increasingly interested in medicinal plants. The main reason for this is the recognition of secondary metabolites and their probable role in the prevention chronic and degenerative diseases (Tripoli et al., 2007). For example, phenolics are well-known plant secondary metabolites which possess many biological properties including antioxidant, antimutagenic and anti-inflammatory (Balasundram et al., 2006). Antioxidant effects of phenolics play a vital role in the list of diseases related to oxidative

stress. Oxidative stress is often defined as an imbalance between free radicals and antioxidant defense system. These radicals contribute to the development of many diseases (cancer, alzheimer and diabetes mellitus etc.) and can be neutralized by antioxidants (Bondet et al., 1997). Butylated hydroxyanisole (BHA) and butylated hydroxytoluene (BHT), which are synthetic antioxidants, are used as antioxidants in foods. However, the use of these antioxidants is negatively perceived by consumers due to their toxic effect (Jeong et al., 2004). Thus, recent studies are focusing on replacement of synthetic antioxidants with naturally occurring antioxidants derived from medicinal plants.

Throughout the centuries, several plant extracts have been tested for antitumor potential. Plants have provided many effective anticancer agents in current use such as irinotecan, taxanes, topotecan, vinblastine, vincristine, etc. Plant-derived products are excellent sources for the discovery and development of new anticancer agents. Moreover, plant materials represent promising sources of anticancer agents with lower side effects compared with chemical drugs.

Geophytes (bulbs, tubers and rhizomes plants) with its 26 genus and about 500 species, have a very important place in Turkey. The genus *Cyclamen* L. was formerly classified under the family Myrsinaceae (Kallersjo et al. 2000), but recently it has been re-classified under the family Primulaceae. *Cyclamen* are primarily distributed around the Mediterranean, but extend eastwards as far as the shore of the Caspian sea (Grey 2003). The genus *Cyclamen* comprises about 21 species, which are predominately distributed in Southern Europe, Western Asia, Northern Africa and around the Mediterranean. In Turkey, this genus is represented with 12 taxa, 5 of which are endemic (Guner et al. 2012).

In this study, the different solvent extracts (methanol, ethanol, acetone and water) prepared from tubers and leaves of *Cyclamen pseudibericum* Hildebr. were firstly investigated for their antioxidant potentials, antiproliferative activities and phenolic composition. The antioxidant activities of these extracts were evaluated by using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) and Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) assays. Total phenolic contents were also measured. Among all the extracts evaluated, the highest antioxidant abilities were obtained from ethanolic leaf extracts of *C. pseudibericum*. The different solvent extracts obtained from tubers of *C. pseudibericum* were investigated for its *in vitro* antiproliferative activities against lung cancer A549 cells. The test were carried out as dose-dependent assay starting from 1 ng/ μ L to 1000 ng/ μ L. Values for the concentration at which 50% inhibition occurred (IC₅₀) were calculated for the extracts. Results from our experiment indicated that the cytotoxicity of the acetone extract was

relatively high (IC_{50} = 32.16 ng/ μ L) compared to other extracts (Fig. 1). The strong antiproliferative activities of the tuber extracts suggest that they may contain some substances responsible for the antiproliferative activities, such as phenolic compounds or saponins.

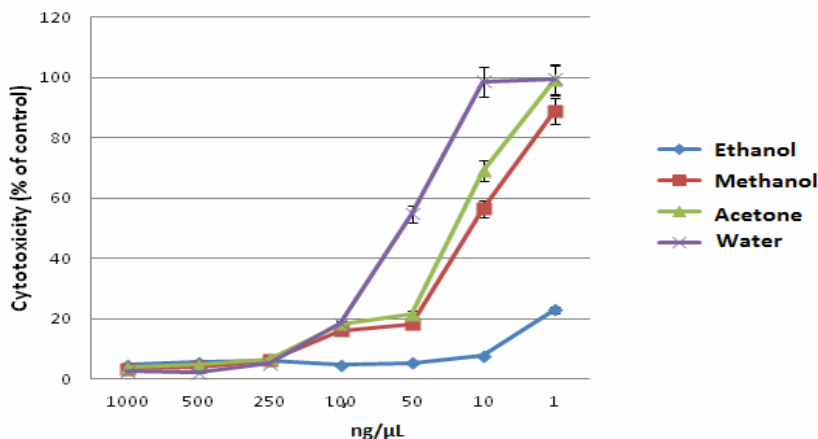


Figure 1. Effect of ethanol methanol, acetone and water, extracts of *C. pseudibericum* on cell proliferation

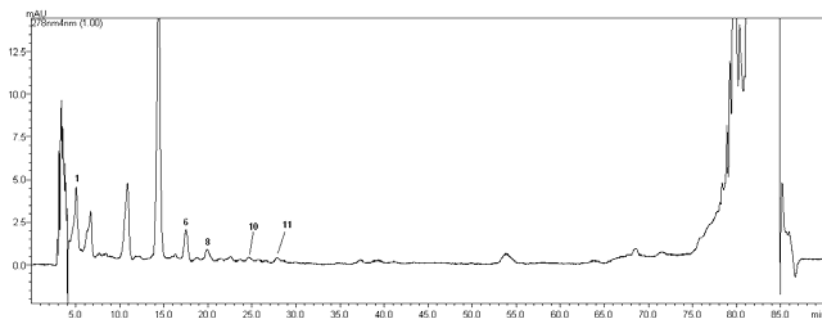


Figure 2. Typical HPLC chromatograph of *C. pseudibericum*. where: 1, gallic acid; 6, caffeic acid; 8, syringic acid; 10, *p*-coumaric acid; 11, ferulic acid. the chemical structures of phenolic compounds.

The phenolic composition of the ethanolic tuber extract of *C. pseudibericum* was determined using high performance liquid chromatography coupled with a diode array detector (Shimadzu HPLC-DAD). The flow rate was 0.8 mL/min, and the injection volume was 20

μL for each sample. Solvent A was 3% acetic acid and solvent B was 100% methanol (v/v). The HPLC chromatogram of *C. pseudibericum* and the chemical structures of phenolic compounds are presented in Figure 2 and 3, respectively.

The results of the present study demonstrated that *C. pseudibericum* has promising antioxidant and anticancer activities. Future studies will be aimed at investigating the mechanisms responsible for anticancer activity.

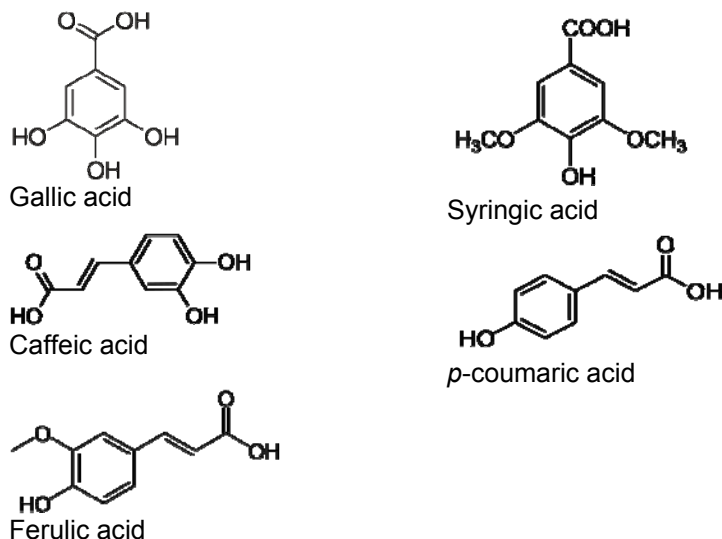


Figure 3. The chemical structures of phenolic compounds detected in *C.pseudibericum* ethanolic tuber extract

REFERENCES

1. Balasundram, N., Sundram, K., Sammar, S., 2006. Phenolic compounds in plants andagri-industrial by-products: antioxidant activity, occurrence and potential uses.Food Chem. 68, 191–203.
2. Bondet, V., Brand-Williams, W., Berset, C., 1997. Kinetics and mechanism of antioxidant activity using the DPPH free radical method. Lebensm. Wiss. Technol. 30,609–615.
3. Davis, P H. 1965. Flora of Turkey and the East Aegean Islands, Vol. 1, Edinburg University Press, Edinburg.
4. Guner, A., Aslan, S., Ekim, T., Vural, M. and Babac, M.T. 2012. Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler). İstanbul: Flora Araştırmaları Derneği ve Nezahat Gokyiğit Botanik Bahcesi Yayını (in Turkish).
5. Grey, W. 2003. C. Cyclamen: a guide for gardeners, horticulturalists and botanists. New. London, Batsford p. 224.

6. Jeong, S.M., Kim, S.Y., Kim, D.R., Jo, S.C., Nam, K.C., Ahn, D.U., Le, S.C., 2004. Effect of heat treatment on the antioxidant activity of extracts from citrus peels. *J. Agric. Food Chem.* 52, 3389–3393.
7. Kallersjö, M., Gerqist G. and Anderberg, A.A. 2000. Generic Realignment in Primuloid Families of the Ericales s.l.: A Phylogenetic Analysis Based on DNA Sequences From Three Chloroplast Genes and Morphology. *American Journal of Botany* 87, 1325–1341.
8. Tripoli, E., Guardia, M.L., Giammanco, S., Majo, D.D., Giammanco, M., 2007. Citrus flavonoids: molecular structure, biological activity and nutritional properties: a review. *Food Chem.* 104, 466–479.

Medico-biological and technological aspects of phenolic compounds

Kaybulaeva R.S., Branovitskaya T.Yu., Chmeleva S.I.

Federal state autonomous institution of higher education "Crimean Federal University of Vernadsky", Simferopol, Crimea, Russian Federation, tel. +79788949078, e-mail: rusana_kaybulaeva@mail.ru

This article describes useful properties of grape. In particular, it says about application of wine industry's waste in confectionery. The results of the research show that the grape is a good object for obtaining such products as fruit butter and pasta. These products have high nutritious and technical rates.

Keywords: phenolics, grapes, pomace.

Perspectives of flavonoids research of representatives of *Begonia* L.

Karpova E.A., Fershalova T.D., Tsybulya N.V.

Central Siberian Botanical Garden, Novosibirsk, Russia, 8-383-339-98-11, karyev@mail.ru

Flavonoids of introduced plants of *Begonia* L. were studied as a source of antimicrobial activity and indicators of physiological state of the plants. The main flavonoid compounds and antimicrobial action of 5 species and cultivars introduced in a greenhouse in condition of Novosibirsk are detected, there are *B. fischeri* Schrank var. *palustris* (Benth.) Irmsch. (section *Begonia*), *B. bowerae* Ziesenh. var. *major* R. Ziesenh., *B. carolineifolia* Reg., *B. heracleifolia* Schlecht. et Cham. var. *nigricans* Hook., *B. 'Erythrophylla'* (*B. hydrocotylifolia* Otto ex Hook. x *B. manicata* Brongn. ex Cels) (section *Gireoudia*). The most broad spectrum of antimicrobial action *B. bowerae*, *B. heracleifolia* var. *nigricans* and *B. 'Erythrophylla'* demonstrate. The main components of the leaves extracts of these species are glycosides of quercetin (isoquercitrin and hyperoside), unlike species *B. carolineifolia* with

minimal antimicrobial activity, in which leaves C-glycosyl flavones (isovitexin, vitexin, orientin) are dominated. To investigate leaf flavonoids as indicators of physiological state of the plant dynamics of flavonoids, including anthocyanins, in leaves of *Begonia grandis* Dryand. subsp. *grandis*, introduced in the open ground and in a greenhouse, in relation with the phases of vegetation and the contents of chlorophyll a, b and carotenoids were studied.

Influence of flavonoids on collagen fibers formation

Kim Yu.A.¹, Tarahovsky Y.S.², Gaidin C.G.³, Yagolnik E.A.³, Muzafarov E.N.³

¹Institute of Cell Biophysics, RAS, Pushchino, Russia, yuk01@rambler.ru

²Institute of Theoretical and Experimental Biophysics, RAS, Pushchino, Russia, 4967-733796, tarahov@rambler.ru

³Tula State University, Tula, Russia, ser-gajdin@yandex.ru, yea_88@mail.ru, enmuzafarov@mail.ru

The ability of plant polyphenols to facilitate formation of collagen fibers is extensively used in the modern medicine. Here we studied influence of flavonoids on collagen fiber formation and stability with photometry and differential scanning calorimetry (DSC). It was found that myricetin and EGCG suppressed formation of fibers, though most effectively increased the temperature of protein melting. On the contrary, taxifolin facilitated formation of fibers while the thermal stabilization of protein was mild. We suppose that the excessive protein stabilization with flavonoids may restrict the flexibility of polypeptide chain necessary for fibers formation.

Determination of flavonoids of “flores cum folia crataegi”

Kiryanova V.A.¹, Babaeva H.Y.², Kalenikova E.I.¹

Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia, +79104030042 valentina-kirjanva@rambler.ru

Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia. +79057530081 babaevaelena@mail.ru

The results of studying of flowers with leaves as a perspective form of *Crataegus sanguinea* medicinal raw material (MRM) is presented. Qualitative analysis of flavonoids (rutin, hyperoside, quercetin) was carried out with HPLC-UV. Solid-phase extraction of flavonoids from MRM extracts was used. This study provides evidence that the content of flavonoids in the flowers with the leaves of *Crataegus* is comparable to pharmacopoeial raw materials. The data obtained can be applied for the development of regulatory documents «*Flores cum folia Crataegi*».

Study of phenolic composition of the dry extract from the bilberry leaves

Kolychev I.A., Krasnikova T.A., Koshevoy O.N.

National University of Pharmacy, Kharkov, Ukraine +380662688727, e-mail: koli4ev@mail.ru

Phenolic composition and hypoglycemic activity of the dry extract from bilberry leaves were studied. It creates prerequisites for the new drug development on the basis of the phenolic compounds from this raw material.

Phenolic compounds plants of the genus *Salvia*

Kondratova J.A., Bubenchikova V.N.

Kursk State Medical University, Kursk, Russia tel. 8-920-714-33-10, E-mail: salvia_julia@mail.ru

The article presents the results of a study of phenolic compounds the aerial part of plants genus *salvia*. The structure of isolation of a substance established by classical chemical and physico-chemical methods of analysis based on the physicochemical properties of the starting compounds and the products of their transformation, UV and IR spectra, Rf values in different solvent systems, as well as the melting temperatures of samples mixed with authentic samples. For the quantitative determination of tannins, used method permanganatometry, flavonoids - spectrophotometry. Studies have found that phenolic compounds isolated plants of the genus *salvia* presented: flavonoids: apigenin, luteolin, quercetin, kaempferol, dihydroquercetin, rutin, cinarozid; phenolcarbonic acids: chlorogenic, caffeic, rosemary, ferulic, gallic, cichoric, cinnamic acids; coumarins: esculetin, umbelliferone, coumarin. Quantification of total flavonoids content ranges from 0,59% to 1,90%, tannins from 5,05 % to 26,42%.

Research of the tanning properties of anthraquinone-containing preparation from *Polygonum aviculare* L. plant

Korulkin D.Yu., Muzychkina R.A.

al-Farabi Kazakh National University, Almaty, Kazakhstan, tel. 727-2923731, e-mail: physcion@rambler.ru

The complex phytopreparation on the base of hydroxyanthraquinones from the *Polygonum aviculare* L. plant is extracted. Comparative tests of the tanning properties of a *Polygonum aviculare* L. phytopreparation and synthetic tannins were carried out. Advantages of an anthraquinone phytopreparation at a tanning of skins of astrakhan fur and a fur-coat sheepskin are shown.

The study of chemical content of preparations on the basis of *Crataegus* L.

Kurkin V.A., Kurkina A.V., Pravdivtseva O.E., Morozova T.V.

Samara State Medical University, Samara, Russian Federation 443099
Samara, ul. Chapaevskaya, 89 Samara, Russia tel. 8-(846)-260-33-59,
E-mail: Kurkinvladimir@yandex.ru

The fruits and flowers of the hawthorn (*Crataegus* sp.) are widely used in medical practice as cardiogenic and hypocholesterinemic drugs. Previously the diuretic activity for fluid extract of hawthorn's fruit has been found. For the preparation of raw materials are used twelve officinal medicinal plants of the genus *Crataegus* species. According to the literature data all of this species have the differences in the chemical composition. We carried out analyses of extract of fruits, flowers and leaves of two species of the genus *Crataegus* - *Crataegus sanguinea* Pall. and *Crataegus monogyna* Jacq. As the optimum extractant in all cases was used ethanol 70%. Comparative phytochemical researches of obtained extracts there were revealed differences between the considered views - *Crataegus sanguinea* Pall. and *Crataegus monogyna* Jacq. Reasonability of phytochemical and pharmacological investigations of officinal species of genus *Crataegus* was marked. The fluid extract Hawthorn's of basis the flowers and leaves are mentioned as perspective raw materials.

The phenolic compounds in the standardization of herbal drugs and pharmaceuticals

Kurkin V.A.

Samara State Medical University, Samara, Russian Federation 443099
Samara, ul. Chapaevskaya, 8, Samara, Russia, tel. 8-(846)-260-33-59,
E-mail: Kurkinvladimir@yandex.ru

On the basis of results of chemical research there were substantiated the new approaches to standardization of herbal drugs and phytopharmaceuticals, containing phenolic compounds, with the using of standard samples of rosin, syringin, triandrin, silybin, γ -schizandrin (phenylpropanoids), rutin, narcissin, hyperoside, cynaroside, tilianin, ginkgetin, nicotiflorin, pinostrobin, isosalipurposide, licuraside, cyanidin-3-O-glucoside (flavonoids), frangulin A, sennoside B, 8-O- β -D-glucoside of emodin, 1,7-dihydroxy-3-carboxyantraquinone (anthracene derivatives).

Polyphenolic complexes from byproducts of berry processing of the Ussuriisk taiga

Kushnerova N.F.¹, Momot T.V.²

¹V.I. Il'ichev Pacific Oceanological Institute FEBRAS; Vladivostok, Russia, Tel: (423)2313061, e-mail: natasha50@mail.ru.

²Biomedicine school of Far Eastern Federal University; Vladivostok, Russia, Tel: (423)2513423. e-mail: kushnerova83@mail.ru

It was studied the total polyphenols and proanthocyanidins contents and level of antiradical activity in extracts of the berry processing wastes and its antiradical activity. It was explored the extracts from crests of *Vitis amurensis*, *Schizandra chinensis* and *Aralia mandshurica*, from pomace (skin, seeds, crests) after separation of juice of *Viburnum sargentii*, *Lonicera edulis* and *Sorbus amurensis*. It was shown that berry processing byproducts might be a promising source for obtaining of herbal preparations that content polyphenol complexes with high level of proanthocyanidins of high antiradical activity.

Ascorbic acid and stabilization of phenolic compounds in water-alcohol extraction of Amaranth in the manufacture of fish products

Lapin A.A., Zelenkov V.N.¹, Akhmerova L.R., Islyamova A.A.
FGBOU Kazan State Energy University, Kazan

¹FGBNU All-Russian Research Institute of Vegetable Growing, Vereya Moscow region

Amaranth is characterized by the presence of a large variety of antioxidants, including phenolic compounds. In the work it is shown that the Ascorbic acid for stabilization of phenolic compounds of amaranth in formulating biologically active raw material to produce nutritional supplements in a segment of the world market of food.

Phenol compounds in *Primula L.* species

Latypova G.M., Bubenchikova V.N., Iksanova G.R.

Bashkirian State Medical University E-mail: guzel_latypova2014@yandex.ru

Kursk State Medical University E-mail: fg.ksmu@mail.ru

We have studied the composition of phenol compounds of closely related species: *Primula veris* L., or *P. officinalis* L. Hill., and *Primula macrocalyx* Bunge. Using the method of column chromatography, 27 substances of phenol origin have been identified. Using NMR ¹H-, NMR ¹³C – spectroscopy, NMR ¹H – ¹H COSY, ¹H – ¹³C HSQCED, HMBC, correlation spectroscopy, and gas chromatography mass spectrometry, phenol compounds have been shown to comprise flavonoids including

flavones (apigenin and its glycosides), polymethoxylated flavones, flavonols (quercetin, kaempferol and their glycosides), flavanonols (dihydroquercetin), simple phenols (arbutin), tanning substances (tannin, catechin, epicatechin, epigallocatechingallate), coumarins (umbelliferon, coumarin), phenol acids (gallic, salicylic acids), hydroxycotinine acids (cinnamon, coffee, ferulic, chlorogenic, neochlorogenic acids).

Influence of plant alkylresorcinol on the activity and stability of digestive enzymes

Loiko N.G.¹, Krasnova M.A.², El'-Registan G.I.¹

¹ Winogradsky Institute of Microbiology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia, 8-(499) -135-10-89, loikonat@mail.ru

² Moscow State University of Food Production, Moscow, Russia, 8-(499) -750-0111, mariya-moskva@mail.ru

There was developed a method to increase the activity and stability of digestive enzymes - trypsin, amylase, cellulase, DNase, peroxidase, etc., through interaction with plant alkylresorcinol. It is shown that modificarea action of alkylresorcinols depends on their structure, concentration and exposure time, as well as the nature of the enzyme protein. The use of alkylresorcinols allows to adjust the efficiency of the action of digestive enzymes in the composition of living organisms, as well as to increase their stability during production of medicinal enzyme preparations.

Phenolic compounds from hops: biological activity and application

Lutsky V.I., Chesnokova A.N.

National Research Irkutsk State Technical University, Irkutsk, Russia, tel. (3952) 40-51-22, vladlutsky@gmail.com

In this study dominant bioactive prenylated flavonoids from hops pellets used in Russian Breweries were isolated and identified by NMR, UV, IR and MS. Isomerization process of xanthohumol to isoxanthohumol was studied. Quantitative analysis of xanthohumol in various kinds of Russian and International hops by HPLC-UV was carried out.

Action of low doses phenol containing essential oils on mice

Misharina T.A., Fatkullina L.D., Burlakova E.B.

Emanuel Institute of Biochemical Physics Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia +7-495-939-73-43 E-mail:tmish@rambler.ru

The study of essential oils action on mice of Balb/c, CBA/C57 B1-F1 AKR lines was carried out *in vivo*. Every day the mouse drunk water

containing 150 ng/ml of essential oils from oregano, savory or clove bud. These essential oils contained phenols - carvacrol and eugenol. It was found that all oils had the properties of bioantioxidants. The essential oils significantly increased the lifetime of mice. The phenomenon of increasing the lifetime of mice can be the result not only directed action of essential oils on the ageing mechanism, but also the consequence of reducing the risk of developing pathological processes or the consequence of favourable disease course, resistance to which declines with age. Really, we found that essential oils inhibited lipid peroxidation (LPO) in the cells of mice, modulated and activated immune system, and antioxidant and protective enzyme systems of liver. They increased the resistance of mice to the action of ionizing radiation. Probably, such many-sided action of essential oils has led to increase of life time.

Membranoprotective properties of vegetable complexes of polyphenols from the mountain ash at the stress

Momot T.V.

Biomedicine school of Far Eastern Federal University; Vladivostok, Russia, Tel: +7(423)251-3423. e-mail: kushnerova83@mail.ru

It is shown, that stress was accompanied by violation of dimensional characteristics of erythrocytes and their osmotic resistance, system of antioxidant protection, a ratio of phospholipids fractions in membranes. Effect of extract of the mountain ash (*Sorbus amurensis*) appeared more effective in restoration of the studied fiziologo-biochemical parameters of erythrocytes, than at reference a stress protector "Extract eleutherococcus". Addition of extract of mountain ash or extract eleutherococcus to a daily diet or in the structure of food stuffs will allow to solve a problem of prevention of stressors diseases.

Phytochemical research of bioactive substances of the Kazakhstan *Rumex* plants

Muzychkina R.A., Korulkin D.Yu.

al-Farabi Kazakh National University, Almaty, Kazakhstan, tel. 727-2923731, e-mail: rmuz@mail.ru

The results of research on dynamics of accumulation of the main types of biologically active substances (anthraquinones, flavonoids, tannins, polysaccharides, amino- and hydroxycinnamic acids) in three *Rumex* types (*Rumex thyrsiflorus* Fingerh., *Rumex marschallianus* Reichenb., *Rumex pamiricus* Rech. f.) on vegetation phases, from various regions of Kazakhstan are presented.

Study of phenolic composition of the dry extract from the *Salvia officinalis* leaves which was obtained by complex processing

Myga M.M., Vovk G.V., Koshevoy O.N.

National University of Pharmacy, Kharkov, Ukraine +380683957233,
chemis23@rambler.ru

The phenolic composition of the dry extract, which was obtained from the waste products of the sage leaves tincture, was studied. It creates prerequisites for the new drug development by complex processing of this raw material.

Synthesis of ethers of natural phenolic aldehydes and their Analogues on the base of 5-arylisoxazol-3-yl(4,5-dichloisothiazol-3-yl)chloromethanes

Petkevich S.K., Kletskov A.V., Dikusra E.A., Potkin V.I.

Institute of Physical Organic Chemistry, National Academy of Sciences of Belarus, Belarus, tel. 8017-2841600, e-mail: petkevich@ifoch.bas-net.by

A methods for the synthesis of ethers of natural phenolic aldehydes (salicylaldehyde, vanillin, vanilal), eugenol and their analogues (*iso*-vanillin, 4-hydroxybenzaldehyde, phenol, 4-*tert* -oktylphenol) on the base of 5-arylisoxazol-3-yl(4,5-dichloisothiazol-3-yl)chloromethanes are presented.

Content of rosmarinic acid in leaves *Ononis arvensis* L. (Fabaceae)

Petrova N.V., Medvedeva N.A., Budantsev A.L., Shavarda A.L.

V. L. Komarov Botanical Institute Russian Academy of Sciences, St-Petersburg, Russia

Ononis arvensis (Fabaceae) leaves have been screened for the presence of rosmarinic acid. The content of rosmarinic acid in *O. arvensis* is 6000 ppm. For the *O. arvensis* containment of rosmarinic acid it is specified for the first time.

Physicochemical properties of lipopolysaccharides of rhizobacteria *Azospirillum brasilense* Sp7 grown in the presence of gallic acid

Petrunina A.A., Fedonenko Y.P., Burygin G.L.¹, Konnova S.A.¹

Saratov State University, ul. Astrakhanskaya 83, 410012 Saratov, Russia

¹Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms,
Russian Academy of Sciences, Prospekt Entuziastov 13, 410049
Saratov, Russia

Plants can provide directional impact on the surrounding microbiota by allocating various chemical compounds. Among them there are phenolic components, which are divided into several main groups: phenolic acids, flavonoids, lignans and stilbenes. At the same time, the phenolic acids are quite large group in which one of the highest prevalence belongs gallic acid excreted virtually all plant species. This study has shown that the cultivation of bacteria in the presence of gallic acid led to changes in the electro-optical properties of the bacterial cell surface and macromolecular organization of lipopolysaccharides.

New properties of p-tyrosol and mechanisms of its action

**Plotnikov M.B.^{1,2}, Aliev O.I.^{1,2}, Chernysheva G.A.^{1,2},
Smolyakova V.I.¹, Anishchenko A.M.¹, Sidehmenova A.V.¹,
Logvinov S.V.³, Zdankina A.A.³, Osipenko A.N.³**

¹E.D. Goldberg Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine,
Tomsk, Russia, (3822)418373, mbp2001@mail.ru

²National Research Tomsk State University, Tomsk, Russia

³Siberian State Medical University, Tomsk, Russia

p-Tyrosol was investigated in Wistar rats with models of total cerebral ischemia with recirculation and myocardial ischemia with recirculation. p-Tyrosol demonstrated cerebroprotective, cardioprotective, hemorheological, antiplatelet, endothelium protective properties.

Preparation of batriden water soluble complex for treatment of autoimmune diseases

Rejepov K.J., Ermatov A.M., Ziyaev Kh.L.

Acad. A.S.Sadykov Institute of bioorganic chemistry Academy of
Sciences Republic of Uzbekistan, 100125, Tashkent, Mirzo Ulugbek str.,
83, Tel./faks: (+99871) 2623540, (+99871) 2627063, E-mail:
rcuralus@mail.ru

There has been obtained a water soluble complex of batriden with N-polyvinylpyrrolidone, called Mebavin, and its properties have been studied. The study of Mebavin activity against different autoimmune diseases has demonstrated that it is low toxic and not cumulated in organs. It exerts enhanced immunomodulating effect and anti-inflammatory activity.

Key words: batriden, N-polyvinylpyrrolidone, complex, mebavin,

chronic glomerulonephritis, immunomodulator, pharmacokinetics, phramacopoeic article.

Rometin - a medical preparation for prophylactics and treatment of viral diseases

Rejepov K.J.¹, Kazantseva D.S.¹, Ermatov A.M.¹, Namazov O.M.², Alimova M.T.³, Yakubova R.A.¹, Ziyaev Kh.L.¹

¹Acad. A.S.Sadykov Institute of bioorganic chemistry Academy of Sciences Republic of Uzbekistan, 100125, Tashkent, Mirzo Ulugbek str., 83, Tel./faks: (+99871) 2623540, (+99871) 2627063, E-mail: rcuralus@mail.ru

²Tashkent chemical - technological Institute, 100011, Tashkent, Navoiy str., 41, Tel./faks: (+99871) 2449248, (+99871) 2449248.

³Institute of immunology Academy of Sciences Republic of Uzbekistan, 100060, Tashkent, Yahyo Gulomov str., 74, Tel./faks: (+99871) 1330855, (+99871) 1360923.

There have been obtained Rometin and Megosin, gossypol derivatives exhibiting interferon inducing activity. Rometin is a water soluble complex of Megosin with N-polyvinylpyrrolidone. There have been studied general pharmacology and specific toxicology of Rometin substance (acute toxicity, accumulation, chronic toxicity, allergenicity, effects on CNS and PNS, blood pressure and respiration, cardiovascular system) as well as mutagenicity and immunotoxicity.

Key words: gossypol, megosin, complex, rometin, interferon inducer.

Study of phenolic compounds of alcoholic motherwort herb extract

Romanenko E.A., Koshevoy O.N., Komissarenko A.N.

National University of Pharmacy, Kharkov, Ukraine +380958986033, geka1991.91@mail.ru

The qualitative composition and quantitative content of the phenolic compounds of the motherwort dry alcoholic extract were studied.

Comparative spectral analysis of total flavonoids of *Onopordum acanthium* and *Silybum marianum* herbs

Ryzhov V.M., Kurkin V.A., Belchenko A.S.

Samara State Medical University tel.8 (846) 260-33-59, e-mail: lavr_rvm@mail.ru

Silybum marianum and *Onopordum acanthium* are closely related species belonging to subtribe *Carduinae* O. Hoffm., family *Compositae*. Both these species are valuable medicinal plants, however the flavonoid

composition of *Silybum marianum* and *Onopordum acanthium* herbs are insufficiently studied nowadays. The comparative spectral researches of total flavonoids in lipophilic and hydrophilic extracts of *Silybum marianum* and *Onopordum acanthium* herbs there were carried out. Flavones and flavonols there were observed in both compared species. There were determined the total flavonoid glycosides and aglycones in the herbs of the studied objects.

Influence of polyphenol-containing plant extracts on biofilm formation of intestine bacteria

Samoilova Z., Smirnova G.V., Oktyabrsky O.N.

Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch of Russian Academy of Sciences, Perm, Russia, e-mail: samzu@mail.ru

Influence of polyphenol-containing plant extracts on biofilm formation of *Escherichia coli* was investigated. The plant extracts studied revealed an ability to modulate bacterial biofilm formation in both directions. The extracts of black tea and *A. uva ursi*, *V. vitis-idaea*, *T. cordata*, *B. pendula* and *Z. mays* stimulated biofilm formation while the extracts of *A. millefolium*, *U. dioica* and *L. japonica* provoked inhibiting effects. Those effects correlated with the extracts' ability to generate peroxide (prooxidant properties) and polyphenol content. A reverse correlation was found between polyphenol content and ability of the extracts to induce expression of *rpoS* gene encoding a transcriptional regulator of biofilm formation.

In vitro* antioxidant and antidiabetic activities of *Agrimonia asiatica* and *Geranium collinum

Sapko O.A., Utarbayeva A.Sh., Chebonenko O.V., Tursunova A.K., Abaildayev A.O., Amirkulova A.Zh.

M. A. Aitkhozhin Institute of Molecular Biology and Biochemistry, Almaty, Kazakhstan, +7(727)2937091, a.utar@mail.ru

Under conditions *in vitro* antioxidant α -amylase and α -glucosidase inhibitory activity, total phenolic and flavonoid content in the extracts from *Agrimonia asiatica* and *Geranium collinum* were studied. The maximum of antioxidant activity was observed for 70% ethanol extracts from aerial parts of plant and 70% acetone extracts from the roots of *G. collinum*. The high antioxidant activity was established for 70% ethanol extracts from the roots and aerial parts of *A. asiatica*. For tested extracts was shown the high α -glucosidase and low α -amylase inhibitory activity. For some extracts established directly proportional dependence between total phenolic content and their antioxidant and α -glucosidase inhibitory activity.

Aliphatic, phenolcarbonic and hydroxycinnamic acids of hawthorn genus species flowers from the *Oxyacantha* L. Section

Sydora N.V.¹, Kovalyova A.M.¹, Avidzba Yu.N.¹

¹National University of Pharmacy, Kharkiv, Ukraine, 80508531819
sidora2005@rambler.ru

By the method of chromatography-mass spectrometry study in flowers of *C. subrotunda* Klok., *C. monogyna* Jacq., *C. ambigua* C.A.M. was determined 14 organic acids. In all investigated species are dominated citric, malic, oxalic, malonic and succinic acids. Using the chromatography method 5 phenolcarbonic acids are identified: vanillinic, *p*-hydroxybenzoic, syringic, salicylic, gentisinic; 2 hydroxycinnamic acids: chlorogenic and ferulic.

Polyphenols content and antiradical activity of extracts from marine algae of coastal waters of Peter the Great Bay of Japan sea

Sprygin V.G., Pavlova T.V.

V.I. Il'ichev Pacific Oceanological Institute FEBRAS, Vladivostok, Russia,
Tel.: (423) 231-1400, e-mail: vsprygin@poi.dvo.ru

To screen algal polyphenols with antiradical activities, 50% ethanol extracts of 10 marine algae commonly found in the coastal waters of Peter the Great Bay of Japan Sea were evaluated. The highest contents of total polyphenols varied from 4,69±0,09 to 6,84±0,13 mg of Gallic acid equivalents per gram of dry weight was found in brown algae *S.cichorioides*, *S. pallidum* and *C. crassipes*. The highest specific antiradical activity towards the cation radical ABTS⁺ varied from 9,88±0,44 to 16,45±0,95 μM Trolox per mg of total polyphenol fraction was expressed by brown algae *S.cichorioides*, *S.japonica*, *A. cribrosum*, and *C. crassipes*. Based on the estimation of total antiradical activity per gram of algae dry weight three species sea macrophytes *S.cichorioides*, *S. pallidum* and *C. crassipes* were determined as the most promising source for obtaining of polyphenol complexes with high antiradical activity.

Total phenolic content determination in “angionorm” herbal medicinal product

**Struchkov P.¹, Savvateev A.M.¹, Beloborodov V.L.¹,
Voskoboynikova I.V.², Kolkhir V.K.²**

¹I.M. Sechenov First Moscow State Medical University.

²ZAO “FPK PharmVILAR”

Angionorm coated tablets contain an extract of horse chestnut seeds,

licorice roots, hawthorn fruits and dog rose fruits mixture. Angionorm is reported to have antiaggregant, vasoprotective, analgetic, anti-inflammatory, venotonic and diuretic effects. The above-mentioned herbal extracts are also rich in polyphenolic compounds, which have antioxidant activity. The method to determine total phenolic content based on standard Folin-Ciocalteu procedure was developed. Determined total phenolic content in tablets (batch 10313) was $48,76 \pm 2,40$ mg GAE/g of dry extract ($n=5$).

Phenolic compounds of Ericaceae: detection, isolation and determination for the revealing of potential sources of pharmacologically active remedies

Talanov A.A., Onegin S.V., Zhavoroncova M.E., Gorcova A.S., Fursa N.S.

Yaroslavl State Medical University, Yaroslavl, Russian Federation +7 (4852) 72-66-03, andrewtalanov87@rambler.ru

As result of studies qualitative composition of phenolic compounds in the aerial parts of 17 species of 5 subfamilies of Ericaceae was analyzed, 24 individual compounds were obtained and specific characteristics of accumulation of particular groups of phenolic compounds in the analyzed Ericaceae species were revealed by quantitative determination.

Extraction of phenolic compounds in winemaking

Tretyakov V.O., Makagonov A.J., Branovitskaya T.Yu.

Taurida Academy of Crimean Federal University named after V. I. Vernadsky, Russian Federation, Crimea, Simferopol, Academician Vernadsky Ave., 4, tel. +7-978-762-3367, e-mail: veronik-flower@mail.ru

The article deals with methods for the extraction of phenolic compounds in the production. On the basis of data obtained from research proposes a set of technological methods to intensify the process of extraction of phenolic and dyes.

The dependence of physico-chemical properties of dihydroquercetin from phase state

Tiukavkina N.A., Selivanova I.A., Terehov R.P., Gorkavenko F.V.

Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia +7965-232-5122, intelligent13@yandex.ru

The relationship between phase state of dihydroquercetine and its physico-chemical properties was established. Phase state of dihydroquercetine was characterized as amorphous modification

(sample 1) and pseudopolymorphous conformational modification (sample 2) according to the results of x-ray diffraction. There is an ongoing study and comparative analysis of the antioxidant and pharmacological properties of these samples.

Phenolic compounds in nanotechnology

Filippov A.G.

The Institute of General Pathology and Pathophysiology, Moscow, Russia, algf@yandex.ru

Silver nanoparticles (NPs) have been produced by using different phenolic compounds (flavonoid rutin; caffeic and gallic acids; natural and synthetic polymers – dioxan-lignin, DOPA – melanin, hydroquinone – formaldehyde oligomers) without additional stabilizers. Also, silver NPs immobilized on DOPA (or dopamine) – modified grapheneoxide were produced. Due to the pH-dependence of the reducing ability and solubility of phenolic compounds, the use of silver salts in the form of diamminesilver (I) nitrate in alkaline medium allowed to carry out silver NPs synthesis quickly and simply at room temperature. The ability to reduce $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]\text{NO}_3$ to silver NPs was used for estimation of the total phenolic content in natural products (wine, tea, coffee, herbal extracts). Insoluble phenolic compounds form self-organized NPs by the addition of their ethanolic solutions in water. Thus aqueous dispersions of flavonoids and extracts rich in polyphenols (tea, propolis) were produced and then silver NPs immobilized on rutin NPs or inside propolis NPs were formed.

Antioxidant activity and hepatoprotective effect of the polyphenolic complex from the honeysuckle

Fomenko S.E.

V.I. Il'ichev Pacific Oceanological Institute, Far East Branch, Russian Academy of Sciences, ul. Baltiiskaya 43, Vladivostok, 690041, Russia, e-mail: sfomenko@poi.dvo.ru.

It was studied the effect of the extract from the dry pomace of honeysuckle fruits *Lonicera edulis Turcz.* and commercial reference preparation "Legalon[®]" on weight and biochemical liver indexes in rats after carbon tetrachloride intoxication. The extract of honeysuckle fruits promoted reducing of general lipids contents and specific liver weight, facilitated the restoration of the activity of serum alanine aminotransferase. It is recorded in blood of rats the increasing of

superoxide dismutase activity, reduced glutathione level, antiradical activity and reducing of the malon dialdehyde quantity. The effect of administration of the honeysuckle fruits pomace extract for restoration of the liver function was found to be more effective than such of "Legalon®".

Key words: carbon tetrachloride, liver, extract of honeysuckle fruits, legalon

Flavonoids and antioxidant activity of two species

***Filipendula* from introduction populations**

Shaldaeva T.M.

Central Siberian Botanical Garden, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, 630090, Russia, Novosibirsk, Zolotodolinskaya str., 101, tshaldaeva@yandex.ru

The content of flavonoids and total antioxidant activity in the above-ground parts of two meadowsweet species *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim and *F. vulgaris* Moench from introduction populations in CSBG SB RAS during flowering stage in 2013-2014 were studied. The highest amount of flavonoids found for 2014 year in *Filipendula vulgaris* - to 8.75% in flowers, to 4.10% in the leaves, and up to 1.34% in steams. Both studied *Filipendula* species showed different degrees of antioxidant activity.

Key words: *Filipendula ulmaria*, *Filipendula vulgaris*, flavonoids, antioxidant activity.

Pharmacologically active compositions based on dihydroquercetin and arabinogalactan

Shamanaev A.Yu.¹, Sidehmenova A.V.¹, Plotnikov M.B.¹, Selivanova I.A.², Tyukavkina N.A.²

¹E.D. Goldberg Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine, Tomsk, Russia, (3822)418373, sham_man@mail.ru

²I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia, tel.: +7 (903)5021205

Antioxidant, capillary-protective, anti-inflammatory and lymphokinetic activities of the dihydroquercetin and arabinogalactan compositions was investigated. It was found that effects of dihydroquercetin and arabinogalactan compositions were higher than the effects of dihydroquercetin or arabinogalactan alone in the same doses.

Development of new, highly effective drug formulations based on gossypol derivatives

Ermatov A.M.¹, Nazirova Ya.K.², Rejepov K.J.¹, Ziyaev Kh.L.¹

¹Acad. A.S.Sadykov Institute of bioorganic chemistry Academy of Sciences Republic of Uzbekistan, 100125, Tashkent, Mirzo Ulugbek str., 83, Tel./faks: (+99871) 2623540, (+99871) 2627063, E-mail: rcuralus@mail.ru

²The Tashkent Pharmaceutical institute, Republic of Uzbekistan, 100015, Tashkent, Aybek str. 45.

Presently we experience enormous growth of bacterial and viral diseases among population. Many researches on development of anti-infectious medicines are oriented on optimization of compositions of existent medicines.

Here we report on results of studying the quality of gossypol derivative-based suppositories, where Enzyphob, a new carrier, is used. Quality indicators correspond to normative documentation (ND), which allows applying these principles in technology of rectal drug formulations.

Key words: interferon inducers, gossypol derivatives, ragosin, megosin, gozalidon, suppository technology, quality rating.

Influence of pseudohypericin into physiological and cytogenetic parametrs *Drosophila melanogaster*

Yushkova E.A., Punegov V.V., Zainullin V.G.

Institute of Biology of Komi SC UB RAS, Syktyvkar, Russia, tel. (8212) 43-06-50, e-mail: ushkova@ib.komisc.ru

An assessment of the influence of pseudohypericin in different concentrations on the physiological and cytogenetic parameters *Drosophila melanogaster* of stock wild type (*Canton-S*) and individuals with disturbances in the repair (*Rad54*) and antioxidant protection (for Cu/ZnSod, MnSod isoenzymes). A toxic effect of the chemical agent for almost all studied lines was revealed. By cytogenetic parameter exceptions are individuals with low levels of synthesis of Mn-superoxide dismutase (stock *Sod^{delta2}/+*) in cells which have been found a significant decrease the frequency of DNA breaks by the action pseudohypericin in low concentrations (1-10 mM). The strong dependence of the biological effectiveness of a pseudohypericin on its concentration, the genotype animals and analyzed parameter was established.

Functional activity of phenolic complex red table wine

Yalanetsky A.Ya.

SBI of Crimea "NNIIViV" Magarach ", Russia, Crimea, Yalta, tel.
(0654)23-06-08, yal.anatol@gmail.com

The biological value of the red table wine as part of complex sanatorium and resort rehabilitation of patients with chronic heart ischemic disease on the South Coast of the Crimea was investigated. The influence of individual polyphenolic compounds on the functional activity of red wine was established.

Natural antioxidants - part healthy and full value of nutrition

Yashin Ya.I., Vedenin A.N., Yashin A.Ya.

Company "Interlab", Moscow, <mailto:Yashin@interlab.ru>
yashin@interlab.ru

In the expanded theses of the report the review of databases of the content of antioxidants in foodstuff and drinks, and also the total content of the polyphenols consumed in the different countries (Finland, Greece, France, Spain, etc.) is resulted. Questions of determination of markers of oxidative stress and antioxidant therapies are discussed also.

Antioxidant activity of spices and their influence on health of human

Yashin Ya.I.¹, Yashin A.Ya.¹, Nemzer B.²

¹Company "Interlab", Moscow, yashin@interlab.ru

²Company "FutureCeuticals", USA

In the expanded theses the short review of chemical composition of spices and them antioxidant activity is resulted. Data on positive influence of consumption of spices on health of the person are resulted.

ОГЛАВЛЕНИЕ

РАЗДЕЛ 1.

ФЕНОЛЬНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ И ИХ БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ (СТРУКТУРА, РЕАКЦИОННАЯ СПОСОБНОСТЬ, ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА)

Абдулладжанова Н.Г., Мавлянов С.М., Салихов Ш.И., Зиявитдинов Ж.Ф., Карамов Э.В. ПЕРСПЕКТИВНЫЕ НОВЫЕ ПОЛИФЕНОЛЫ ИЗ РАСТЕНИЙ УЗБЕКИСТАНА	7
Авдеева Е.Ю., Краснов Е.А. ИССЛЕДОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ ЭКСТРАКТА <i>SAUSSUREA CONTROVERSA</i> , ОБЛАДАЮЩЕГО ИММУНОМОДУЛИРУЮЩЕЙ АКТИВНОСТЬЮ	12
Александрова В.А., Домнина Н.С. КОНЪЮГАТЫ ХИТОЗАНА С ФЕНОЛЬНЫМИ АНТИОКСИДАНТАМИ РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ: СТРУКТУРА-СВОЙСТВА	15
Алексеева О.М., Фаткуллина Л.Д., Ким Ю.А., Голощапов А.Н. СТРУКТУРИРУЮЩАЯ РОЛЬ ФЕНОЗАНА В МОДЕЛЬНЫХ И БИО-МЕМБРАНАХ	20
Бойник В.В., Акритиду Х.П. ИССЛЕДОВАНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ КОРНЕЙ <i>LUPINUS POLYPHYLLUS</i> МЕТОДОМ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ	25
Бородина Н.В., Ковалев В.Н. СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ ПОБЕГОВ <i>SALIX CAPREA</i> L., <i>SALIX PURPUREA</i> L., <i>SALIX VIMINALIS</i> L. ФЛОРЫ УКРАИНЫ	27
Власова Е.В., Мотылева С.М., Мертвищева М.Е., Горбунова Ю.В. АНТИОКСИДАНТНЫЕ СВОЙСТВА И СПЕКТРАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЭКСТРАКТОВ ЛИСТЬЕВ ОБРАЗЦОВ <i>GLYCINE MAX</i> (L.) MERR.	33

Вольева В.Б., Овсянникова М.Н., Белостоцкая И.С., Комиссарова Н.Л., Малкова А.В., Прокофьева Т.И.	
КАСКАДНЫЙ МЕХАНИЗМ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ФЕНОЛЬНЫХ АНТИОКСИДАНТОВ	38
Гончарова Н.В., Сячинова Н.В., Моторин В.С.	
ИЗУЧЕНИЕ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ МОДИФИЦИРОВАННЫХ ЩЕЛОЧНЫХ ЭКСТРАКТОВ СОСНЫ, ПОЛУЧЕННЫХ ИЗ НИЗКОСОРТНОГО СЫРЬЯ	43
Демешко О.В., Ковалев В.Н.	
ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ФЕНИЛПРОПАНОИДОВ РАКИТНИКА РУССКОГО	46
Денисова М.Н.	
ГИДРОТРОПНЫЙ ЛИГНИН, ВЫДЕЛЕННЫЙ ИЗ МИСКАНТУСА	50
Жигачева И.В., Бурлакова Е.Б., Голощапов А.Н.	
ФЕНОЗАН КАЛИЯ ИЗМЕНЯЕТ ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ МИТОХОНДРИЙ ПРОРОСТКОВ ГОРОХА	54
Жусупова А.И., Гадецкая А.В., Жусупова Г.Е.	
ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ВЫДЕЛЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ РАСТЕНИЙ РОДА <i>LIMONIUM</i> MILL	59
Золотайкина М.Ю., Гонтовая Т.Н.	
ИЗУЧЕНИЕ ОРГАНИЧЕСКИХ КИСЛОТ ПИЖМЫ ОБЫКНОВЕННОЙ	65
Иванова Е.П., Смолыгина Л.Д., Сердюк О.П.	
ИНГИБИРОВАНИЕ ГЛИФОСАТОМ СИНТЕЗА ПАРА- ГИДРОКСИФЕНИЛ ЭТАНОЛА В КУЛЬТУРЕ <i>RHODOSPIRILLUM RUBRUM</i>	68
Исаев Д.И., Гурбанов Г.М., Михайленко О.А., Ковалев В.Н.	
ФЕНОЛЬНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ КОРНЕВИЩ <i>IRIS</i> <i>CARTHALINIAE</i>	70
Касенова Ш.Б., Мукушева Г.К., Касенов Б.К., Сагинтаева Ж.И., Жанымханова П.Ж., Адекенов С.М.	
ТЕРМОДИНАМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ФЛАВОНОИДА САЛВИГЕНИНА	74
Клименко И.В., Лобанов А.В., Журавлева Т.С.	
ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ХЛОРОФИЛЛА И НАФТОХИНОНА: КОМПЛЕКСООБРАЗОВАНИЕ И РАЗДЕЛЕНИЕ ЗАРЯДОВ	79
Козлова З.Г.	
КОЛИЧЕСТВЕННАЯ ОЦЕНКА АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В	84

ЛИСТЬЯХ РАСТЕНИЙ ТАБАКА РАЗЛИЧНЫХ СОРТОВ Костикова В.А., Костиков Д.К., Высочина Г.И., Петрук А.А. ИЗУЧЕНИЕ СОСТАВА И СОДЕРЖАНИЯ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ <i>ATRAPHAXIS FRUTESCENS</i> (L.) C. КОСН. И А. <i>PUNGENS</i> (BIEB.) JAUB. ET SPACH. МЕТОДОМ ВЭЖХ	87
Кривандин А.В., Шаталова О.В., Фаткуллина Л.Д., Голощанов А.Н., Бурлакова Е.Б. РЕНТГЕНОДИФРАКЦИОННОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЛИПИДНЫХ ПЛЁНОК С ФЕНОЛЬНЫМ АНТИОКСИДАНТОМ ИХФАН	92
Кушнаревич Д.А., Рахмадиева С.Б., Мурзагулова К.Б. ОПРЕДЕЛЕНИЕ МЕТОДОМ ВЭЖХ ПОЛИФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В СУБСТАНЦИИ И КАПСУЛАХ ПРЕПАРАТА ИЗ <i>EUPHORBIA SOONGARICA</i> BOISS.	96
Максименко Е.В., Филонова О.В., Лекарь А.В., Борисенко С.Н., Ветрова Е.В., Кабанова А.Д., Борисенко Н.И. ИЗВЛЕЧЕНИЕ ХЛОРОГЕНОВОЙ КИСЛОТЫ ИЗ САБЕЛЬНИКА БОЛОТНОГО <i>SOMARUM PALUSTRE</i> L.	102
Маленковская М.А., Расадкина Е.Н., Пугашова Н.М. АЦИЛИРОВАНИЕ ПОЛИПРЕНОЛА ХЛОРАНГИДРИДАМИ АРОМАТИЧЕСКИХ КАРБОНОВЫХ КИСЛОТ	103
Миль Е.М. АНТИОКСИДАНТ ФЕНОЗАН К ВЫЗЫВАЕТ ИНДУКЦИЮ АНТИАПОПТОЗНОГО БЕЛКА BCL-2	106
Музычкина Р.А., Корулькин Д.Ю., Бажаканова С.К. ПОЛУЧЕНИЕ СУЛЬФОКИСЛОТ ОКСИАНТРАХИНОНОВ И ИЗУЧЕНИЕ ИХ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ	110
Музычкина Р.А., Нуралиев Р.М., Корулькин Д.Ю. ВЫДЕЛЕНИЕ И ФИТОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ БАВ КАЗАХСТАНСКОГО РАСТЕНИЯ <i>TILLAEA VAILLANTII</i> WILLD.	114
Мяделец М.А., Дутова С.В. СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СОСТАВА ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ ФРАКЦИЙ СУХОГО ЭКСТРАКТА <i>COLURIA GEOIDES</i> (ROSACEAE)	118
Погодаева Н.Н., Сухов Б.Г., Медведева С.А. НЕКОВАЛЕНТНЫЕ КОНЬЮГАТЫ 3- ГИДРОКСИФЛАВОНОВ С УГЛЕВОДАМИ В ВОДНЫХ РАСТВОРАХ	124
Полунина И.А., Полунин К.Е. ОПТИМИЗАЦИЯ ПАРАМЕТРОВ	126

ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОГО РАЗДЕЛЕНИЯ СМЕСЕЙ ПРИРОДНЫХ ПОЛИФЕНОЛОВ	
Рахмадиева С.Б., Кударова А.Н., Шертаева Н.Т. ПОЛИФЕНОЛЬНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ РАСТЕНИЯ <i>LEPIDIUM RUDERALE</i> LINN. И ИХ БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ	131
Санжиев А.Н., Марченко Р.Д., Кривошеков С.В., ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЕ ПОВЕДЕНИЕ РУТИНА И ГАЛЛОВОЙ КИСЛОТЫ В ИЗОКРАТИЧЕСКОМ РЕЖИМЕ ОФ ВЭЖХ	136
Сукрушева О.В., Шумова О.А., Чукичева И.Ю., Кучин А.В. СИНТЕЗ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ПОЛУСИНТЕТИЧЕСКИХ ИЗОБОРНИЛФЕНОЛОВ	139
Теселкин Ю.О., Буравлев Е.А., Буравлева К.В., Любичский О.Б., Бобок М.Н., Павлова Л.А. ВЛИЯНИЕ ПОЛИФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ ПАДУБА ПАРАГВАЙСКОГО (<i>ILEX PARAGUARIENSIS</i>) НА ПРОЦЕСС ПЕРОКСИДНОГО ОКИСЛЕНИЯ ФОСФОЛИПИДОВ	142
Транчук Н.В., Рощин В.И. ГРУППОВОЙ СОСТАВ И ФЕНОЛЬНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ ЭКСТРАКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ ДРЕВЕСНОЙ ЗЕЛЕНИ ЛИСТВЕННИЦЫ СИБИРСКОЙ.	147
Фаткуллина Л.Д., Бурлакова Е.Б., Заварыкина Т.М., Жижина Г.П. ДЕЙСТВИЕ АНТИОКСИДАНТА ФЕНОЗАНА НА СТРУКТУРНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ МЕМБРАН И ДНК ПРИ РАЗВИТИИ СПОНТАННОГО ЛИМФОЛЕЙКОЗА МЫШЕЙ	151
Хаитбаев А.Х. СУПРАМОЛЕКУЛЯРНЫЙ КОМПЛЕКС МЕГОСИНА	155
Хахутаишвили М., Джараридзе И., Ванидзе М. АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ И СОДЕРЖАНИЕ АНТОЦИАНОВ В ПЛОДАХ ДИКОРАСТУЩИХ И КУЛЬТУРНЫХ СОРТОВ ЧЕРНИКИ В АДЖАРИИ	159
Цивилева О.М., Панкратов А.Н., Цымбал О.А., Юрасов Н.А., Дойкова Д.О., Пучкова Т.А., Капич А.Н. ВЛИЯНИЕ НЕКОТОРЫХ ПАРА-ЗАМЕЩЕННЫХ ФЕНОЛОВ НА КУЛЬТУРЫ МАКРОБАЗИДИОМИЦЕТОВ	162
Чеснокова А.Н., Кунц Т., Луцкий В.И., Метнер Ф.-Ю. ФЕНОЛЬНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ ПОЛИФЕНОЛЬНОГО ЭКСТРАКТА ХМЕЛЯ	167
Чукичева И.Ю., Федорова И.В., Королева А.А., Кучин А.В.	

АНАЛОГИ ПРИРОДНЫХ ПРЕНИЛФЕНОЛОВ: СИНТЕЗ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ	171
Шамуратов Б.А., Мавлянов С.М. ФЛАВОНОИДЫ НЕКОТОРЫХ СОРТОВ <i>GOSSYPIMUM</i> L.	173
Шевченко О.Г., Буравлев Е.В., Кучин А.В. БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ А-МАНГОСТИНА	174
Шилова И.В., ФЕНОЛЬНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ ЭКСТРАКТА И ФРАКЦИЙ <i>ALFREDIA CERNUA</i>	179
Шишкина Л.Н., Козлов М.В., Мазалецкая Л.И., Хрустова Н.В., Шелудченко Н.И. ИНГИБИРУЮЩАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ КОМПОНЕНТОВ РАСТИТЕЛЬНЫХ КЛЕТОК В ПРОЦЕССАХ АВТООКИСЛЕНИЯ	181
Эшбакова К.А., Комилов Б.Д., Тошматов З.О., Айса Н.А., Абдуллаев Н.Д. ФЕНОЛЬНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ ТРЁХ ВИДОВ <i>PULICARIA</i> И ИХ БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ	186
Ягольник Е.А., Музафаров Е.Н., Ким Ю.А., Тараховский Ю.С. ПРОЯВЛЕНИЕ МЕМБРАНОТРОПНЫХ СВОЙСТВ ФЛАВОНОИДОВ И ИХ КОМПЛЕКСОВ С КАТИОНАМИ ЖЕЛЕЗА (II)	191

РАЗДЕЛ 2

УЧАСТИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ЖИЗНИ РАСТЕНИЙ

Абилова Г.А. РОЛЬ САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ В ФУНКЦИОНИРОВАНИИ ПРО- И АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМ РАСТЕНИЙ ОГУРЦА ПРИ ЗАСОЛЕНИИ СРЕДЫ	197
Андышева Е.В., Храмова Е.П. СЕЗОННАЯ ДИНАМИКА НАКОПЛЕНИЯ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ <i>PENTAPHYLLOIDES FRUTICOSA</i> ПРИ ИНТРОДУКЦИИ НА ЮГЕ АМУРСКОЙ ОБЛАСТИ	200
Бабицкий А.Ф. ФЕНОЛОКСИДАЗА СЕМЯН ПШЕНИЦЫ, ЕЕ	205

ИНГИБИТОРЫ И АКТИВАТОРЫ	
Бахтенко Е.Ю., Курапов П.Б. ДИНАМИКА НАКОПЛЕНИЯ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В РАЗЛИЧНЫХ ОРГАНАХ КРОВОХЛЕБКИ (<i>SANGUISORBA OFFICINALIS</i> L. (<i>ROSACEAE</i>) В ОНТОГЕНЕЗЕ	212
Безрукова М.В., Лубянова А.Р., Шакирова Ф.М. ВЛИЯНИЕ АЗП НА КАДМИЙ-ИНДУЦИРУЕМУЮ ЛОКАЛИЗАЦИЮ ЛИГНИНА И СУБЕРИНА В КОРНЯХ ПШЕНИЦЫ	214
Бекузарова С.А., Кцоева М.С. ФЕНОЛЬНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ ЧЕМЕРИЦЫ ЛОБЕЛЯ (<i>VERATRUM LOBELIANUM</i> BERNH.) В ПОВЫШЕНИИ ВСХОЖЕСТИ ТВЕРДЫХ СЕМЯН БОБОВЫХ ТРАВ	219
Березина Е.В., Гаранина Ю.Д., Патунина А.С., Брилкина А.А. ДИНАМИКА СОДЕРЖАНИЯ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В КАЛЛУСНЫХ КУЛЬТУРАХ КЛЮКВЫ	222
Брилкина А.А., Березина Е.В., Гаранина Ю.Д., Веселов А.П. ВОЗМОЖНЫЙ ВКЛАД ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В АНТИОКСИДАНТНУЮ СИСТЕМУ КЛЮКВЫ И БРУСНИКИ В ПРОЦЕССЕ ВЕГЕТАЦИИ	224
Бузук Г.Н., Кузьмичева Н.А. СОДЕРЖАНИЕ ПРОАНТОЦИАНИДИНОВ В КОРЕ ИВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ПРОТОЧНОСТИ УВЛАЖНЕНИЯ ПОЧВЫ	227
Булатова А.А., Шапчиц М.П., Корик Е.О., Семак И.В. ПОЛУЧЕНИЕ КАЛЛУСНЫХ КУЛЬТУР ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИ ЗНАЧИМЫХ ВИДОВ РАСТЕНИЙ <i>IRIS PSEUDOCORUS</i> , <i>ORNITHOGALUM</i> <i>UMBELLATUM</i> , <i>TAXUS BACCATA</i>	230
Булатова А.А., Шапчиц М.П., Корик Е.О., Семак И.В. СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ СУММАРНОГО СОДЕРЖАНИЯ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ И УГЛЕВОДОВ В ЭКСТРАКТАХ ИЗ РАЗЛИЧНЫХ ЧАСТЕЙ РАСТЕНИЙ <i>IRIS PSEUDOCORUS</i> , <i>ORNITHOGALUM UMBELLATUM</i> , <i>TAXUS BACCATA</i> И ИХ КАЛЛУСНЫХ КУЛЬТУР	233
Булатова С.В., Бахтенко Е.Ю. ВЛИЯНИЕ ОСВЕЩЕНИЯ И ОБРАБОТОК ГИББЕРЕЛЛИНОМ НА РОСТ И СОДЕРЖАНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В РАСТЕНИЯХ	236

САБЕЛЬНИКА БОЛОТНОГО	
Буцанец П.А., Шугаев А.Г.	
САЛИЦИЛОВАЯ КИСЛОТА ИЗМЕНЯЕТ ПРОНИЦАЕМОСТЬ ВНУТРЕННЕЙ МЕМБРАНЫ МИТОХОНДРИЙ СЕМЯДОЛЕЙ ЛЮПИНА	238
Волынец А.П.	
ИЗМЕНЕНИЕ ФЕНОЛЬНОГО КОМПЛЕКСА СЕМЯН КУЛЬТУРНЫХ РАСТЕНИЙ В ПРОЦЕССАХ СОЗРЕВАНИЯ, ХРАНЕНИЯ И ПРОРАСТАНИЯ	243
Гладкая А.А., Тодираш В.А., Стратулат Т.Г.	
ИССЛЕДОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ ЭКСТРАКТА КОРНЯ <i>RHEUM RHAPONTICUM</i> L. В КОНТРОЛЕ МУЧНИСТОЙ РОСЫ	247
Гончарук Е.А., Горчакова Ю.А., Назаренко Л.В.	
ОСОБЕННОСТИ ОБРАЗОВАНИЯ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ЮВЕНИЛЬНЫХ, ВИРГИНИЛЬНЫХ ПРОРОСТКАХ И КАЛЛУСНЫХ КУЛЬТУРАХ ЛЬНА (<i>LINUM USITATISSIMUM</i>)	251
Гумерова Е.А., Акулов А.Н., Румянцева Н.И.	
КЛЕТОЧНЫЕ КУЛЬТУРЫ ГРЕЧИХИ ТАТАРСКОЙ КАК ПРОДУЦЕНТЫ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ	257
Давлятназарова З.Б., Шукурова М.Х., Алиев К.	
ВЛИЯНИЕ САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ НА АКТИВНОСТЬ ПРООКСИДАНТОВ У РАСТЕНИЙ КАРТОФЕЛЯ	262
Дитченко Т.И., Кравчук К.А.	
ВЛИЯНИЕ МЕТИЛЖАСМОНАТА И САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ НА АКТИВНОСТЬ L- ФЕНИЛАЛАНИНАММИАК-ЛИАЗЫ И СОДЕРЖАНИЕ ГИДРОКСИКОРИЧНЫХ КИСЛОТ В СУСПЕНЗИОННОЙ КУЛЬТУРЕ <i>ESCHINACEA PURPUREA</i>	265
Евстигнеев Э.И.	
ЛИГНИН КАК ЛИНЕЙНЫЙ ОЛИГОМЕР	268
Живетьев М.А., Дударева Л.В., Граскова И.А., Войников В.К.	
ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ СУТОЧНОЙ И СЕЗОННОЙ ДИНАМИКИ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ЛИСТЬЯХ И СОЦВЕТИЯХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ	271
Загоскина Н.В., Лапшин П.В., Чистяков Ф.Е., Малюкова Л.С., Притула З.В., Назаренко Л.В.	

ВЛИЯНИЕ МИКРОЭЛЕМЕНТОВ НА НАКОПЛЕНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В МОЛОДЫХ ФЛЕШАХ ЧАЙНОГО РАСТЕНИЯ	272
Иваницких А.С., Тараканов И.Г. НАКОПЛЕНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ И ДРУГИХ ВТОРИЧНЫХ МЕТАБОЛИТОВ В РАСТЕНИЯХ БАЗИЛИКА ЭВГЕНОЛЬНОГО В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СПЕКТРАЛЬНОГО КАЧЕСТВА СВЕТА	277
Иванова Р.А., Цыцей В.Г. НЕКОТОРЫЕ ЗАКОНОМЕРНОСТИ НАКОПЛЕНИЯ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ЛИСТЬЯХ ГРЕЧИХИ САХАЛИНСКОЙ	281
Казанцева В.В., Гончарук Е.А., Глотова И., Живухина Е.А., Загоскина Н.В. ОБРАЗОВАНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ НА РАННИХ ЭТАПАХ ОНТОГЕНЕЗА ГРЕЧИХИ (<i>FAGOPYRUM ESCULENTUM</i> MOENCH)	286
Калашникова Е.А., Киракосян Р.Н. СОДЕРЖАНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В РАСТЕНИЯХ-РЕГЕНЕРАНТАХ КАПУСТЫ БЕЛОКОЧАННОЙ	291
Кислицина М.Н., Борисова Г.Г. ВЛИЯНИЕ ГИДРОХИНОНА И РЕЗОРЦИНА НА МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ <i>ELODEA</i> <i>CANADENSIS</i> MICHX. И <i>POTAMOGETON</i> <i>PERFOLIATUS</i> L.	292
Клыков А.Г., Моисеенко Л.М. ВНУТРИВИДОВАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ СОДЕРЖАНИЯ РУТИНА В РАСТЕНИЯХ ГРЕЧИХИ СЪЕДОБНОЙ (<i>FAGOPYRUM ESCULENTUM</i> MOENCH)	295
Ковалицкая Ю.А., Тугбаева А.С., Шестибратов К.А. ВЛИЯНИЕ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА ГРИБНОЙ ЛАККАЗЫ НА СОДЕРЖАНИЕ ЛИГНИНА В ДРЕВЕСИНЕ ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ ОСИНЫ	300
Комаров А.А., Комаров А.А. ФЕНОЛЬНАЯ ОСНОВА ГУМИНОВЫХ ВЕЩЕСТВ И ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ НА РАСТЕНИЯ	305
Кондратьев М.Н., Бударин С.Н., Ларикова Ю.С. АКТИВНЫЕ ВЕЩЕСТВА БОРЩЕВИКА СОСНОВСКОГО (<i>HERAKLEUM SOSNOWSKYI</i> MANDEN) И ВОЗМОЖНОЕ ИХ ПРИМЕНЕНИЕ В СЕЛЬСКОМ ХОЗЯЙСТВЕ	307
Кондратьева В.В., Шелепова О.В., Олехнович Л.С.,	

Шатило В.И., Воронкова Т.В., Енина О.Л. ВЛИЯНИЕ САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ НА ФОРМИРОВАНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ К УФ ИЗЛУЧЕНИЮ У ХРИЗАНТЕМ, ЗАРАЖЕННЫХ ГРИБНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ	311
Корытько Л.А., Мельникова Е.В., Недведь Е.Л. РОЛЬ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В НЕКРОТИЧЕСКОЙ ЗАЩИТНОЙ РЕАКЦИИ РЖИ К РЖАВЧИННОЙ ИНФЕКЦИИ	314
Косман В.М., Пожарицкая О.Н., Шиков А.Н., Галамбози Б., Макаров В.Г. ВЛИЯНИЕ ФЕРМЕНТАЦИИ НА КОНЦЕНТРАЦИЮ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ ЛИСТЬЕВ БАДАНА, КУЛЬТИВИРУЕМОГО В ФИНЛЯНДИИ	319
Коцупий О.В., Амброс Е.В., Петрук А.А. СОСТАВ И СОДЕРЖАНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В РАСТЕНИЯХ <i>ASTRAGALUS</i> <i>SERISEOCANUS</i> GONTSCH. <i>IN VIVO</i> И <i>IN VITRO</i>	320
Кузнецова В.А., Остронков В.С., Лашин С.А., Иваченко Л.Е. РОЛЬ ДИГИДРОКВЕРЦЕТИНА В АДАПТАЦИИ ПРОРОСТКОВ СОИ К ВОЗДЕЙСТВИЮ АЦЕТАТА СВИНЦА	324
Кузьмичева Н.А. ВЗАИМОСВЯЗЬ РАЗМЕРОВ ЛИСТЬЕВ ИВЫ ПРУТЬЕВИДНОЙ И СОДЕРЖАНИЯ В НИХ ФЛАВОНОИДОВ С ПОЛОЖЕНИЕМ ЛИСТА НА ПОБЕГЕ	329
Ланцев В.Л., Пузина Т.И. УЧАСТИЕ САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ В РЕГУЛЯЦИИ ПРОЦЕССА ДЫХАНИЯ <i>SOLANUM TUBEROSUM</i> В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СОСТОЯНИЯ МИКРОФИЛАМЕНТОВ	333
Лапшин П.В., Сажина Н.Н. СУККУЛЕНТНЫЕ РАСТЕНИЯ: СОДЕРЖАНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ И АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ	337
Лебедев В.Г., Фасхиев В.Н., Белый В.А., Шестибратов К.А. ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОСТАВА ЛИГНИНОВ В ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЯХ ОСИНЫ С ГЕНОМ ГЛУТАМИНСИНТЕТАЗЫ GS МЕТОДОМ ДВУМЕРНОГО ЯМР	342

Литвиненко В.И., Попова Н.В., Дихтярев С.И., Маслова Н.Ф.	
АНТОХЛОРЫ РАСТЕНИЙ АСТРОВЫХ	343
Литвиненко В.И., Аммосов А.С., Попова Т.П.	
НОВЫЕ ФЕНОЛЬНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ РОДА <i>GLYCYRRHIZA</i> L. МИРОВОЙ ФЛОРЫ	347
Макарова Л.Е., Ломоватская Л.А., Кузакова О.В., Кузнецова В.Е.	
ВЛИЯНИЕ N-ФЕНИЛ-2-НАФТИЛАМИНА НА РОСТ И АКТИВНОСТЬ КОМПОНЕНТОВ АДЕНИЛАТЦИКЛАЗНОЙ СИГНАЛЬНОЙ СИСТЕМЫ <i>PSEUDOMONAS SIRINGAE</i> PV. PISI И <i>RHIZOBIUM</i> <i>LEGUMINOSARUM</i> BV. VICEAE	351
Макеева И.Ю., Пузина Т.И.	
ВЛИЯНИЕ КОФЕЙНОЙ КИСЛОТЫ НА СОДЕРЖАНИЕ ФИТОГОРМОНОВ И РОСТОВЫЕ РЕАКЦИИ <i>SOLANUM TUBEROSUM</i> В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СОСТОЯНИЯ ТУБУЛИНОВОГО ЦИТОСКЕЛЕТА	356
Манжелесова Н.Е., Волюнец А.П.	
ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ И БРАССИНОСТЕРОИДОВ В ОСУЩЕСТВЛЕНИИ ЗАЩИТНЫХ ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ ЗЛАКОВ	362
Маркин В.И., Феллер С.В.	
КАРБОКСИМЕТИЛИРОВАННЫЕ ФРАГМЕНТЫ ЛИГНИНА, КАК РЕГУЛЯТОРЫ РОСТА РАСТЕНИЙ	367
Масленникова Д.Р., Ласточкина О.В., Шакирова Ф.М.	
ВЛИЯНИЕ САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ НА АНТИОКСИДАНТНЫЙ СТАТУС РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ В УСЛОВИЯХ ЗАСОЛЕНИЯ	372
Мечикова Г.Я., Степанова Т.А., Матющенко Н.В.	
СОДЕРЖАНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ЛИСТЬЯХ <i>FRAGARIA ORIENTALIS</i> LOSINSK.	373
Нечаева Т.Л., Голубева Е.В., Назаренко Л.В., Загоскина Н.В.	
ОКСИБЕНЗОЙНЫЕ КИСЛОТЫ – ФАКТОРЫ ЗАЩИТЫ КЛЕТОК ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ ОТ УФ-Б РАДИАЦИИ	377
Нечаева Т.Л., Лапшин П.В., Гвасалия М.В., Маляровская В.И., Загоскина Н.В.	
СОДЕРЖАНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В <i>IN</i> <i>VITRO</i> КУЛЬТУРАХ <i>CAMELLIA SINENSIS</i> L. ИЗ РАЗЛИЧНЫХ МЕСТ ПРОИЗРАСТАНИЯ	381
Никерова К.М., Галибина Н.А.	

ОКИСЛЕНИЕ КВЕРЦЕТИНА ПЕРОКСИДАЗОЙ КАРЕЛЬСКОЙ БЕРЕЗЫ	386
Николаева Т.Н., Лапшин П.В., Нечаева Т.Л., Загоскина Н.В.	
УГЛЕВОДНЫЕ КОМПОНЕНТЫ ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ, НАКОПЛЕНИЕ ПОЛИФЕНОЛОВ И АКТИВНОСТЬ L-ФЕНИЛАЛАНИНАММИАК-ЛИАЗЫ В КАЛЛУСНЫХ КУЛЬТУРАХ ЧАЙНОГО РАСТЕНИЯ	390
Осипов В.И., Поляков Н.А.	
МЕТАБОЛОМИКА ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ	395
Полякова Л.В., Литвиненко В.И.	
РЕГУЛЯЦИЯ СИНТЕЗА НЕКОТОРЫХ ГРУПП ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ЛИСТЬЯХ ДЕРЕВЬЕВ ДУБА ЧЕРЕШЧАТОГО В УСЛОВИЯХ ПОВРЕЖДЕНИЯ ПАТОГЕННОЙ ИНФЕКЦИЕЙ И НАСЕКОМЫМИ	396
Полякова Н.В., Волынец А.П.	
РОЛЬ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ПАТОГЕНЕЗЕ ЯЧМЕНЯ СЕТЧАТОЙ ПЯТНИСТОСТЬЮ	403
Попова Э.В., Домнина Н.С., Коваленко Н.М., Тютюрев С.Л.	
ИММУНОМОДУЛИРУЮЩАЯ АКТИВНОСТЬ ВАНИЛИНА, САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ И ХИТОЗАНА В РАЗЛИЧНЫХ КОМБИНАЦИЯХ ДЛЯ СИСТЕМЫ ПШЕНИЦА-ВОЗБУДИТЕЛЬ ТЕМНО-БУРОЙ ПЯТНИСТОСТИ <i>COCHLIOBOLUS SATIVUS</i>	407
Присс О.П., Калитка В.В.	
ВЛИЯНИЕ АБИОТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА НАКОПЛЕНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ПЛОДОВЫХ ОВОЩАХ	413
Присс О.П., Кулик А.С.	
ДИНАМИКА ФЕНОЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ ЗЕЛЕНИ ПЕТРУШКИ ПРИ ХРАНЕНИИ С ПРИМЕНЕНИЕМ АНТИОКСИДАНТОВ	417
Ратькин А.В.	
ГЕНЕТИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ ОБРАЗОВАНИЯ ФЛАВОНОИДНЫХ ПИГМЕНТОВ У ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ	420
Сахно Т.В.	
ВЛИЯНИЕ ЗАРАЖЕНИЯ ЗАРАЗИХОЙ НА РОСТОВЫЕ ПРОЦЕССЫ И СОДЕРЖАНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ У ЛИНИЙ И ГИБРИДОВ ПОДСОЛНЕЧНИКА	425
Сердюк М.Е.	
ПРОГНОЗИРОВАНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ФЕНОЛЬНЫХ	431

ВЕЩЕСТВ В ПЛОДАХ ЯБЛОНИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ПОГОДНЫХ ФАКТОРОВ	
Смирнов А.Е., Косян А.М., Косык О.И., Таран Н.Ю. ДИНАМИКА АКТИВНОСТИ ФЕНИЛАЛАНИНАМИАК- ЛИАЗЫ В РАСТЕНИЯХ ГРЕЧИХИ ОБЫКНОВЕННОЙ (<i>FAGOPYRUM ESCULENTUM</i> MOENCH.) В УСЛОВИЯХ ХРОНИЧЕСКОГО АЛЮМОКИСЛОГО СТРЕССА	436
Таланова В.В., Репкина Н.С., Фенько А.А. ВЛИЯНИЕ САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ НА УСТОЙЧИВОСТЬ ПРОРОСТКОВ ОГУРЦА К НИЗКИМ ТЕМПЕРАТУРАМ	440
Таценко Н.А., Миронова А.И., Федураев П.В., Чупахина Г.Н. ВЛИЯНИЕ ТИРОЗИНА НА НАКОПЛЕНИЕ ПОЛИФЕНОЛОВ В ЛИСТЬЯХ ЩАВЕЛЯ КУРЧАВОГО (<i>RUMEX CRISPUS</i> L.)	443
Упадышев М.Т., Мотылева С.М., Мертвищева М.Е., Донецких В.И. ИЗМЕНЕНИЕ ФЕНОЛЬНОГО МЕТАБОЛИЗМА У МИКРОРАСТЕНИЙ МАЛИНЫ ПРИ ОЗДОРОВЛЕНИИ ОТ ВИРУСОВ ПУТЕМ МАГНИТНО-ИМПУЛЬСНОЙ ОБРАБОТКИ	447
Федураев П.В., Трембач Я.А., Чупахина Г.Н. ВЛИЯНИЕ РАЗВИТОСТИ ПИГМЕНТНОГО АППАРАТА РАСТЕНИЙ НА НАКОПЛЕНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ РАСТЕНИЯМИ РЖИ ПОСЕВНОЙ (<i>SECALE CEREALE</i> L.)	452
Хлесткина Е.К., Шоева О.Ю., Гордеева Е.И. РЕГУЛЯТОРНАЯ СЕТЬ БИОСИНТЕЗА ФЛАВОНОИДОВ ПШЕНИЦЫ	456
Холмогоров С.В., Маракаев О.А. СОДЕРЖАНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ И МИКОСИМБИОТРОФИЯ В ПОДЗЕМНЫХ ОРГАНАХ <i>EPIPACTIS HELLEBORINE</i> (ORCHIDACEAE)	459
Храмова Е.П. РОЛЬ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ПРОЦЕССАХ АДАПТАЦИИ <i>PENTAPHYLLOIDES FRUTICOSA</i> К УСЛОВИЯМ ПРОИЗРАСТАНИЯ	464
Цыпурская Е.В., Загоскина Н.В. ОБ ОБРАЗОВАНИИ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В КУЛЬТИВИРУЕМЫХ IN VITRO РАСТЕНИЯХ КАРТОФЕЛЯ, ТРАНСФОРМИРОВАННЫХ ГЕНОМ Δ12-	469

АЦИЛ-ЛИПИДНОЙ ДЕСАТУРАЗЫ	
Щербаков А.В., Усманов И.Ю., Фаезова Г.Ф.	
ПОЛИВАРИАНТНЫЙ ХАРАКТЕР НАКОПЛЕНИЯ ФЛАВОНОИДОВ РАСТЕНИЯМИ ЮЖНОГО ЗАУРАЛЬЯ	473
Широкова А.В., Зайцев Г., Костяновский Р.Г., Крутиус О.Н., Кадоркина Г.К.	
ХИМИЧЕСКИЙ МУТАГЕНЕЗ И ИЗМЕНЕНИЯ В БИОСИНТЕЗЕ ФЛАВОНОИДОВ В ЦВЕТКАХ ПЕТУНИИ	477
Яковешин Л.А., Гришковец В.И., Корж Е.Н.	
МОЛЕКУЛЯРНЫЕ КОМПЛЕКСЫ L-ТИРОЗИНА С ТРИТЕРПЕНЫМИ ГЛИКОЗИДАМИ	482
Яруллина Л.Г., Касимова Р.И., Ахатова А.Р., Яруллина Л.М., Исаев Р.Ф., Максимов И.В.	
САЛИЦИЛОВАЯ И ЖАСМОНОВАЯ КИСЛОТЫ В РЕГУЛЯЦИИ НАКОПЛЕНИЕ ЛИГНИНА В РАСТЕНИЯХ ПШЕНИЦЫ ПРИ ИНФИЦИРОВАНИИ КОРНЕВОЙ ГНИЛЬЮ	483

РАЗДЕЛ 3

ФЕНОЛЬНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ И ИХ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ В МЕДИЦИНЕ И ПРОМЫШЛЕННОСТИ

Абибуллаева Г.А., Брановицкая Т.Ю.	
ВИНОГРАДНЫЕ ВЫЖИМКИ – СЫРЬЕ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ КОНДИТЕРСКИХ ПОЛУФАБРИКАТОВ	487
Азарова О.В., Брюханов В.М., Зверев Я.Ф.	
ВОЗМОЖНОСТЬ КОРРЕКЦИИ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА ПОЛИФЕНОЛЬНЫМИ КОМПЛЕКСАМИ КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУР ДАЛЬНЕВОСТОЧНЫХ РАСТЕНИЙ	490
Афанасьева П.В., Куркина А.В., Куשתель Д.А., Мельникова Г.В., Никифорова О.И.	
ИССЛЕДОВАНИЕ СОЦВЕТИЙ ПЕРСПЕКТИВНОЙ ПОПУЛЯЦИИ КАЛЕНДУЛЫ ЛЕКАРСТВЕННОЙ	496
Безматерных К.В., Володин В.В., Володина С.О., Смирнова Г.В., Октябрьский О.Н.	
ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ И АДАПТОГЕННОЙ АКТИВНОСТИ РАСТИТЕЛЬНЫХ	499

ЭКСТРАКТОВ, СОДЕРЖАЩИХ ЭКДИСТЕРОИДЫ И ПОЛИФЕНОЛЫ	
Белобородов В.Л., Воскобойникова И.В., Савватеев А.М., Захарова Н.Г., Колхир В.К.	
ИДЕНТИФИКАЦИЯ КОМПОНЕНТОВ И АНАЛИЗ МАРКЕРНЫХ ПОЛИФЕНОЛОВ МУЛЬТИИСТОЧНИКОВЫХ ФИТОПРЕПАРАТОВ ПРОСТАНОРМ И ФИТО НОВО-СЕД	503
Бубенчикова В.Н., Старчак Ю.А.	
ФЕНОЛКАРБОНОВЫЕ КИСЛОТЫ РАСТЕНИЙ РОДА ТИМЬЯН ФЛОРЫ СРЕДНЕЙ ПОЛОСЫ ЕВРОПЕЙСКОЙ ЧАСТИ РОССИИ	508
Воронина М.С., Макарова Н.В.	
ВЛИЯНИЕ ТЕРМИЧЕСКОЙ ОБРАБОТКИ НА ПОЛИФЕНОЛЫ СВЕЖИХ ЯГОД И ПРОДУКТЫ ИХ ПЕРЕРАБОТКИ	513
Воронкова М.С., Кукушкина Т.А., Высочина Г.И.	
РАСТЕНИЯ РОДА <i>VISTORTA</i> SCOP. КАК ИСТОЧНИК ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ	517
Гуляев А.Е., Рахмадиева С.Б., Кушнаревич Д.А.	
АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ СУБСТАНЦИИ СУТТИГЕН	521
Дейнека В.И., Дейнека Л.А., Блинова И.П., Кульченко Я.Ю., Ковалева Н.В.	
ФЕНОЛЬНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ И КАЧЕСТВО ФРУКТОВЫХ СОКОВ	527
Дмитриева А.Н., Макарова Н.В.	
ИЗУЧЕНИЕ ИЗМЕНЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ ПРИ ХРАНЕНИИ В ТЕЧЕНИЕ 1 ГОДА НА ПРИМЕРЕ СУШЕНЫХ ЯГОД	530
Дубровская А.М., Ильясов И.Р., Белобородов В.Л.	
ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИРАДИКАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ КОМПОЗИЦИЙ КВЕРЦЕТИН - ГЛУТАТИОН И МОРИН - ГЛУТАТИОН	533
Егорова А.В., Куркин В.А.	
ИССЛЕДОВАНИЯ ПО ИЗУЧЕНИЮ ИЗМЕНЕНИЙ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА ПЛОДОВ РАСТОРОПШИ ПЯТНИСТОЙ, ПОДВЕРГШИХСЯ ВЛИЯНИЮ ФАКТОРОВ КОСМИЧЕСКОГО ПОЛЕТА	537
Ерохин В.Н., Семенов В.А., Кременцова А.В., Бурлакова Е.Б.	
ФЕНОЛЬНЫЕ РАСТИТЕЛЬНЫЕ И СИНТЕТИЧЕСКИЕ АНТИОКСИДАНТЫ В ПРОФИЛАКТИКЕ	540

ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ	
Ильясов И.Р., Дубровская А.М., Белобородов В.Л., Тюкавкина Н.А.	
АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ БИНАРНЫХ КОМПОЗИЦИЙ НА БАЗЕ ДИКВЕРТИНА	545
Ишмухаметова С.Р., Валитова Л.А., Ласточкина О.В., Пусенкова Л.И.	
АНАЛИЗ СОДЕРЖАНИЯ БИОФЛАВОНОИДОВ И КАРОТИНОИДОВ В ЭКСТРАКТАХ ИЗ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ ФЛОРЫ БАШКОРТОСТАНА	550
Кайбулаева Р.С., Брановицкая Т.Ю., Чмелева С.И.	
МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ И ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПРИМЕНЕНИЯ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ	551
Карпова Е.А., Фершалова Т.Д., Цыбуля Н.В.	
ПЕРСПЕКТИВЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ФЛАВОНОИДОВ У ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА <i>VEGONIA</i> L.	555
Ким Ю.А., Тараховский Ю.С., Гайдин С.Г., Ягольник Е.А., Музафаров Е.Н.	
ВЛИЯНИЕ ФЛАВОНОИДОВ НА ПРОЦЕСС ФИБРИЛЛООБРАЗОВАНИЯ КОЛЛАГЕНА	560
Кириянова В.А., Бабаева Е.Ю., Каленикова Е.И.	
ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФЛАВОНОИДОВ В ЦВЕТКАХ С ЛИСТЬЯМИ БОЯРЫШНИКА	564
Колычев И.А., Красникова Т.А., Кошевой О.Н.	
ИССЛЕДОВАНИЕ ФЕНОЛЬНОГО СОСТАВА СУХОГО ЭКСТРАКТА ИЗ ЛИСТЬЕВ ЧЕРНИКИ ОБЫКНОВЕННОЙ	569
Кондратова Ю.А., Бубенчикова В.Н.	
ФЕНОЛЬНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ РАСТЕНИЙ РОДА <i>SALVIA</i> L.	572
Корулькин Д.Ю., Музычкина Р.А.	
ИССЛЕДОВАНИЕ ДУБЯЩИХ СВОЙСТВ АНТРАХИНОН-СОДЕРЖАЩЕГО ПРЕПАРАТА <i>POLYGONUM AVICULARE</i> L.	575
Куркин В.А., Куркина А.В., Правдивцева О.Е., Морозова Т.В.	
ИЗУЧЕНИЕ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ СЫРЬЯ БОЯРЫШНИКА	578
Куркин В.А.	
ФЕНОЛЬНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ В СТАНДАРТИЗАЦИИ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ И ЛЕКАРСТВЕННЫХ	581

ПРЕПАРАТОВ	
Кушнерова Н.Ф., Момот Т.В. ПОЛИФЕНОЛЬНЫЕ КОМПЛЕКСЫ ИЗ ОТХОДОВ ОТ ПЕРЕРАБОТКИ ЯГОДНОГО СЫРЬЯ УССУРИЙСКОЙ ТАЙГИ	587
Лапин А.А., Зеленков В.Н., Исламова А.А., Ахмерова Л.Р. СТАБИЛИЗАЦИЯ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТОЙ В ВОДНО- СПИРТОВЫХ ЭКСТРАКТАХ АМАРАНТА ПРИ ПРОИЗВОДСТВЕ РЫБНЫХ ПРОДУКТОВ	590
Латыпова Г.М., Бубенчикова В.Н., Иксанова Г.Р. О ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЯХ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА ПЕРВОЦВЕТ (<i>PRIMULA</i> <i>L.</i>)	593
Лойко Н.Г., Краснова М.А., Эль-Регистан Г.И. ВЛИЯНИЕ РАСТИТЕЛЬНЫХ АЛКИЛРЕЗОРЦИНОВ НА АКТИВНОСТЬ И СТАБИЛЬНОСТЬ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНЫХ ФЕРМЕНТОВ	598
Луцкий В.И., Чеснокова А.Н. ФЕНОЛЬНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ ХМЕЛЯ: БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ И ПРИМЕНЕНИЕ	601
Мишарина Т.А., Фаткуллина Л.Д., Бурлакова Е.Б. ДЕЙСТВИЕ МАЛЫХ ДОЗ ФЕНОЛ-СОДЕРЖАЩИХ ЭФИРНЫХ МАСЕЛ НА МЫШЕЙ	605
Момот Т.В. МЕМБРАНОЗАЩИТНЫЕ СВОЙСТВА РАСТИТЕЛЬНЫХ КОМПЛЕКСОВ ПОЛИФЕНОЛОВ ИЗ РЯБИНЫ ПРИ СТРЕССЕ	610
Музычкина Р.А., Корулькин Д.Ю. ФИТОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ БАВ КАЗАХСТАНСКИХ РАСТЕНИЙ РОДА <i>RUMEX L.</i>	614
Мыга М.М., Вовк Г.В., Кошевой О.Н. ИССЛЕДОВАНИЕ ФЕНОЛЬНОГО СОСТАВА СУХОГО ЭКСТРАКТА ИЗ ЛИСТЬЕВ ШАЛФЕЯ ЛЕКАРСТВЕННОГО ПОЛУЧЕННОГО ПУТЕМ КОМПЛЕКСНОЙ ПЕРЕРАБОТКИ	617
Петкевич С.К., Клецков А.В., Дикусар Е.А., Поткин В.И. СИНТЕЗ ПРОСТЫХ ЭФИРОВ РАСТИТЕЛЬНЫХ АЛЬДЕГИДОФЕНОЛОВ И ИХ АНАЛОГОВ НА ОСНОВЕ 5-АРИЛИЗОКСАЗОЛИ-3-ИЛ(4,5-ДИХЛОРИЗОТИАЗОЛ- 3-ИЛ)ХЛОРЕТАНОВ	619
Петрова Н.В., Медведева Н.А., Буданцев А.Л., Шаварда А.Л.	

СОДЕРЖАНИЕ РОЗМАРИНОВОЙ КИСЛОТЫ В ЛИСТЬЯХ <i>ONONIS ARVENSIS</i> L. (FABACEAE)	622
Петрунина А.А., Федоненко Ю.П., Бурыйгин Г.Л., Коннова С.А. ВЛИЯНИЕ ГАЛЛОВОЙ КИСЛОТЫ НА ФИЗИКО- ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ЛИПОПОЛИСАХАРИДОВ РИЗОБАКТЕРИЙ <i>AZOSPIRILLUM BRASILENSE</i> SP7	624
Плотников М.Б., Алиев О.И., Чернышева Г.А., Смолякова В.И., Анищенко А.М., Сидехменова А.В., Логвинов С.В., Жданкина А.А., Осипенко А.Н. НОВЫЕ СВОЙСТВА И МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ П- ТИРОЗОЛА	628
Режепов К.Ж., Эрматов А.М., Зияев Х.Л. ПОЛУЧЕНИЕ ВОДОРАСТВОРИМОГО КОМПЛЕКСА БАТРИДЕНА ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ АУТОИММУННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ	632
Режепов К.Ж., Казанцева Д.С., Эрматов А.М., Намазов О.М., Алимова М.Т., Якубова Р.А., Зияев Х.Л. РОМЕТИН - ПРЕПАРАТ ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ ВИРУСНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ	636
Романенко Е.А., Кошевой О.Н., Комиссаренко А.Н. ИССЛЕДОВАНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ СПИРТОВОГО ЭКСТРАКТА ТРАВЫ ПУСТЫРНИКА	638
Рыжов В.М., Куркин В.А., Бельченко А.С. СРАВНИТЕЛЬНЫЙ СПЕКТРАЛЬНЫЙ АНАЛИЗ СУММЫ ФЛАВОНОИДОВ ТРАВЫ ТАТАРНИКА КОЛЮЧЕГО И РАСТОРОПШИ ПЯТНИСТОЙ	639
Самойлова З.Ю., Смирнова Г.В., Октябрьский О.Н. ВЛИЯНИЕ ПОЛИФЕНОЛСОДЕРЖАЩИХ ЭКСТРАКТОВ РАСТЕНИЙ НА ОБРАЗОВАНИЕ БИОПЛЕНОВ КИШЕЧНЫМИ БАКТЕРИЯМИ	644
Сапко О.А., Утарбаева А.Ш., Чебоненко О.В., Турсунова А.К., Абайлдаев А.О., Амиркулова А.Ж. IN VITRO АНТИОКСИДАНТНАЯ И АНТИДИАБЕТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ <i>AGRIMONIA</i> <i>ASIATICA</i> И <i>GERANIUM COLLINUM</i>	647
Сидора Н.В., Ковалева А.М., Авидзба Ю.Н. АЛИФАТИЧЕСКИЕ, ФЕНОЛКАРБОНОВЫЕ И ГИДРОКСИКОРИЧНЫЕ КИСЛОТЫ ЦВЕТКОВ ВИДОВ РОДА БОЯРЫШНИК СЕКЦИИ <i>OXYACANTHA</i> L.	652
Спрыгин В.Г., Павлова Т.В. СОДЕРЖАНИЕ ПОЛИФЕНОЛОВ И АНТИРАДИКАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ЭКСТРАКТОВ ИЗ	657

МОРСКИХ ВОДОРΟΣЛЕЙ ПРИБРЕЖНОЙ АКВАТОРИИ ЗАЛИВА ПЕТРА ВЕЛИКОГО, ЯПОНСКОГО МОРЕЯ	
Стручков П.А., Савватеев А.М., Белобородов В.Л., Воскобойникова И.В., Колхир В.К.	
ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ПОЛИФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ОТЕЧЕСТВЕННОМ КОМПЛЕКСНОМ ФИТОПРЕПАРАТЕ «АНГИОНОРМ»	661
Таланов А.А., Онегин С.В., Жаворонкова М.Е., Горькова А.С., Мозуль В.И., Фурса Н.С.	
ФЕНОЛЬНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ ВЕРЕСКОВЫХ: ОБНАРУЖЕНИЕ, ВЫДЕЛЕНИЕ И ОПРЕДЕЛЕНИЕ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ИСТОЧНИКОВ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СРЕДСТВ	664
Третьякова В.О., Макагонов А.Ю., Брановицкая Т.Ю.	
ЭКСТРАКЦИЯ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ВИНОДЕЛИИ	667
Тюкавкина Н.А., Селиванова И.А., Терехов Р.П., Горкавенко Ф.В.	
ЗАВИСИМОСТЬ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ ДИГИДРОКВЕРЦЕТИНА ОТ ФАЗОВОГО СОСТОЯНИЯ	670
Филиппов А.Г.	
ФЕНОЛЬНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ В НАНОТЕХНОЛОГИИ	674
Фоменко С.Е.	
АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ И ГЕПАТОПРОТЕКТОРНЫЙ ЭФФЕКТ ПОЛИФЕНОЛЬНОГО КОМПЛЕКСА ИЗ ЖИМОЛОСТИ	679
Шалдаева Т.М.	
ФЛАВОНОИДЫ И АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ РАСТЕНИЙ ДВУХ ВИДОВ ЛАБАЗНИКА (<i>FILIPENDULA</i> MILL.) ИЗ ИНТРОДУКЦИОННЫХ ПОПУЛЯЦИЙ	684
Шаманаев А.Ю., Сидехменова А.В., Плотников М.Б., Селиванова И.А., Тюкавкина Н.А.	
ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ КОМПОЗИЦИЙ НА ОСНОВЕ ДИГИДРОКВЕРЦЕТИНА И АРАБИНОГАЛАКТАНА	687
Эрматов А.М., Назирова Я.К., Режепов К.Ж., Зияев Х.Л.	
СОЗДАНИЕ НОВЫХ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМ ПРОИЗВОДНЫХ ГОССИПОЛА	691
Юшкова Е.А., Пунегов В.В., Зайнуллин В.Г.	

ВЛИЯНИЕ ПСЕВДОГИПЕРИЦИНА НА ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ И ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ <i>DROSOPHILA MELANOGASTER</i>	694
Яланецкий А.Я. ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ФЕНОЛЬНОГО КОМПЛЕКСА КРАСНОГО СТОЛОВОГО ВИНА	697
Яшин Я.И., Веденин А.Н., Яшин А.Я. ПРИРОДНЫЕ АНТИОКСИДАНТЫ - НЕОТЪЕМЛЕМАЯ ЧАСТЬ ЗДОРОВОГО И ПОЛНОЦЕННОГО ПИТАНИЯ И ЗАЩИТА ЧЕЛОВЕКА ОТ ОПАСНЫХ БОЛЕЗНЕЙ И СТАРЕНИЯ	700
Яшин Я.И., Яшин А.Я., Немзер Б.В. АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ СПЕЦИЙ И ИХ ВЛИЯНИЕ НА ЗДОРОВЬЕ ЧЕЛОВЕКА	706

TABLE OF CONTENTS

1 SECTION

PHENOLIC COMPOUNDS AND THEIR BIOLOGICAL ACTIVITY (STRUCTURE, REACTIVITY, PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES)

Abdulladjanova N., Mavlyanov S., Salikhov Sh., Ziyavitdinov Z., Karamov E. PERSPECTIVE NEW POLYPHENOLS FROM THE PLANTS IN UZBEKISTAN	713
Avdeeva E.Yu., Krasnov E.A. THE STUDY OF BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES IN THE EXTRACT OF <i>SAUSSUREA CONTROVERSA</i> POSSESSING IMMUNOMODULATORY ACTIVITY	713
Alexandrova V.A., Domnina N.S. CHITOSAN CONJUGATES WITH PLANT PHENOLIC ANTIOXIDANTS: STRUCTURE-PROPERTIES	713
Alekseeva O.M., Fatkullina L.D., Kim Yu.A., Goloschapov A.N. THE STRUCTURAL ORGANIZATION ROLE OF PFENOZAN AT MODEL AND BIO-MEMBRANES	714
Boynik V.V., Akritidou Ch.P. STUDY OF PHENOLIC COMPOUNDS OF ROOTS <i>LUPINUS POLYPHYLLUS</i> HIGH PERFORMANCE	714

LIQUID CHROMATOGRAPHY	
Borodina N.V., Kovalyov V.N.	
COMPARATIVE ANALYSIS OF PHENOLIC COMPOUNDS OF BRANCH <i>SALIX CAPREA</i> L., <i>SALIX</i> <i>PURPUREA</i> L., <i>SALIX VIMINALIS</i> L.	715
Vlasova E.V., Motyleva S.M., Mertvicheva M.E., Gorbunova J.V.	
ANTIOXIDANT PROPERTIES AND SPECTRAL CHARACTERISTICS OF LEAF EXTRACTS OF <i>GLYCINE</i> <i>MAX</i> (L.) MERR. SAMPLES	715
Vol'eva V.B., Ovsyannikova M.N., Belostotskaya I.S., Komissarova N.L., Malkova A.V., Prokof'eva T.I.	
CASCADE MECHANISM OF ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF PHENOL ANTIOXIDANTS	716
Goncharova N.V., Syachinova N.V., Motorin V.S.	
RESEARCH PHYSICAL AND CHEMICAL PROPERTIES OF THE MODIFIED ALKALINE PINE EXTRACT WAS MADE FROM LOW-QUALITY RAW MATERIALS	716
Demeshko O.V., Kovalyov V.N.	
CHROMATOGRAPHIC STUDY OF <i>CYTISUS</i> <i>RUTHENICUS</i> PHENYLPROPANOIDS	716
Denisova M.N.	
HYDROTROPIC LIGNIN ISOLATED FROM <i>MISCANTHUS</i>	717
Zhigacheva I.V., Burlakova E.B., Goloschapov A.N.	
POTASSIUM PHENOSAN ALTERS THE FUNCTIONAL CHARACTERISTICS MITOCHONDRIA OF <i>PEA</i> SEEDLINGS	717
Zhusupova A.I., Gadetskaya A.V., Zhusupova G.E.	
TECHNOLOGICAL ASPECTS OF ISOLATION BIOLOGICALLY ACTIVE COMPOUNDS FROM <i>LIMONIUM</i> MILL	717
Zolotaikina M.Yu., Gontovaya T.N.	
STUDYING ORGANIC ACIDS OF A GINGER PLANT	718
Ivanova E.P., Smolygina L.D., Serdyuk O.P.	
INHIBITION BY GLYPHOSATE OF PARA- HYDROXYPHENYL ETHANOL SYNTHESIS IN THE CULTURE OF <i>RHODOSPIRILLUM RUBRUM</i>	718
Isaev D.I., Gurbanov G.M., Mykhailenko O.O., Kovalev V.N.	
PHENOLIC COMPOUNDS FROM RHIZOMES OF <i>IRIS</i> <i>CARTHALINIAE</i>	718
Kasenova Sh.B., Mukusheva G.K., Kasenov B.K., Sagintaeva Zh.I., Zhanimhanova P.Zh., Adekenov S.M.	

THERMODYNAMIC PROPERTIES OF FLAVONOID SALVIGENIN Klimenko I.V., Lobanov A.V., Zhuravleva T.S. INTERACTION OF CHLOROPHYLL AND NAPHTHOQUINONE: COMPLEX FORMATION AND CHARGE SEPARATION Kozlova Z.G. QUANTITATIVE CHARACTERISTICS OF ANTIOXIDANT ACTIVITY OF PHENOLIC COMPOUND IN LEAVES OF VARIOUS BRANDS OF TOBACCO Kostikova V.A., Kostikov D.K., Vysochina G.I., Petruk A.A. STUDY ON THE COMPOSITION AND CONTENT OF PHENOLIC COMPOUNDS <i>ATRAPHAXIS FRUTESCENS</i> (L.) C. KOCH. AND <i>A. PUNGENS</i> (BIEB.) JAUB. ET SPACH. BY HPLC Krivandin A.V., Shatalova O.V., Fatkullina L.D., Goloschapov A.N., Burlakova E.B. X-RAY DIFFRACTION STUDY OF LIPID FILMS WITH PHENOLIC ANTIOXIDANT ICHPHAN Kushnarevich D.A., Rakhmadiyeva S.B., Murzagulova K.B. HPLC METHOD DEFINITION OF POLYPHENOLIC COMPOUNDS IN THE SUBSTANCE AND THE CAPSULE OF MEDICATION FROM THE PLANT <i>EUPHORBIA SOONGARICA</i> BOISS Mammadov R., Ozay C., Aykut C., Kalashnikova E.A. DETERMINATION OF PHENOLIC COMPOUNDS IN EXTRACT OF <i>CONVOLVULUS AUCHERI</i> BY HPLC- DAD Maksimenko E.V., Filonova O.V., Lekar A.V., Borisenko S.N., Vetrova E.V., Kabanova A.D., Borisenko N.I. EXTRACTION OF CHLOROGENIC ACID FROM MARSH CINQUEFOIL <i>COMARUM PALUSTRE</i> L. Malenkovskaya M.A., Rasadkina E.N., Pugashova N.M. ACYLATION OF POLYPRENOL BY CHLORANHYDRIDES OF AROMATIC CARBONIC ACIDS Mil E.M. ANTIOXIDANT PHENOZAN K CAUSED INDUCTION OF THE ANTIAPOPTOTIC PROTEIN BCL-2 Muzashvili T., Pecio L., Kemertelidze E., Oleszek W., Stochmal A. PHENOLIC COMPOUNDS FROM THE FLOWERS OF <i>HELLEBORUS CAUCASICUS</i>	719 719 719 720 720 721 721 725 725 726 726

Muzychkina R.A., Korulkin D.Yu., Bazhakanova S.K. OBTAINING OF SULFONIC ACIDS OF HYDROXYANTHRAQUINONES AND STUDYING OF THEIR BIOLOGICAL ACTIVITY	727
Muzychkina R.A., Nuraliev R.M., Korulkin D.Yu. EXTRACTION AND PHYTOCHEMICAL RESEARCH OF BIOACTIVE SUBSTANCES OF THE KAZAKHSTAN <i>TILLAEA VAILLANTII</i> WILLD. PLANT	728
Myadelets M.A., Dutova S.V. COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF THE PHENOLIC COMPOUNDS FACTIONS OF DRY EXTRACT <i>COLURIA GEOIDES</i> (ROSACEAE)	728
Pogodaeva N.N., Suhov B.G., Medvedeva S.A. NON-COVALENT CONJUGATES OF 3- HYDROXYFLAVONE AND CARBOHYDRATES IN AQUEOUS SOLUTION	728
Polunina I.A., Polunin K.E. OPTIMIZATION OF CHROMATOGRAPHIC SEPARATION PARAMETERS OF NATURAL POLYPHENOL MIXTURES	729
Rakhmadiyeva S.B., Kudaraova A.N., Shertaeva N.T. POLYPHENOLIC COMPOUNDS OF PLANT OF <i>LEPIDIUM RUDERALE</i> LINN. AND THEIR BIOLOGICAL ACTIVITY	729
Sanzhiev A.N., Marchenko R.D., Krivoshchekov S.V., THE CHROMATOGRAPHIC BEHAVIOR OF RUTIN AND GALLIC ACID USING ISOCRATIC RP HPLC	730
Sukrusheva O.V., Shumova O.A., Chukicheva I.Yu., Kuchin A.V. THE SYNTHESIS OF FUNCTIONAL DERIVATIVES BASED ON SEMISYNTHETIC ISOBORNYLPHENOLS	730
Teselkin Yu.O., Buravlev E.A., Buravleva K.V., Lubitskiy O.B., Bobok M.N., Pavlova L.A., EFFECT OF POLYPHENOLS COMPOUNDS YERBA MATÉ (<i>ILEX PARAGUARIENSIS</i>) ON THE PROCESS OF PHOSPHOLIPID PEROXIDATION	731
Tranchuk N.V., Roshchin V.I. GROUP COMPOSITION AND PHENOLIC COMPOUNDS OF THE SIBERIAN LARCH NEEDLES AND TWIGS EXTRACTIVES	732
Fatkullina L.D., Burlakova E.B., Zavarykina T.M., Zhizhina G.P. EFFECT OF ANTIOXIDANT PHENOZAN ON STRUCTURAL CHARACTERISTICS OF THE	732

MEMBRANES AND DNA THE DEVELOPMENT OF SPONTANEOUS LEUKEMIA MICE	
Khaitbaev A.Kh. SUPRAMOLECULAR COMPLEXES MEGOSIN	733
Hahutaishvili M., Dzhararidze I., Vanidze M. ANTIOXIDANT ACTIVITY AND THE CONTENT OF ANTHOCYANINS IN THE FRUITS OF WILD AND CULTIVATED VARIETIES OF BLUEBERRIES IN ADJARA	733
Tsivileva O.M., Pankratov A.N., Tsymbal O.A., Yurasov N.A., Doikova D.O., Puchkova T.A., Kapich A.N. EFFECT OF SOME PARA-SUBSTITUTED PHENOLICS ON <i>MACROBASIDIOMYCETES</i> CULTURES	733
Chesnokova A.N., Kunz T., Lutsky V.I., Methner F.-J. PHENOLIC COMPOUNDS FROM TANNIN EXTRACT OF HOPS	734
Chukicheva I.Yu., Fedorova I.V., Koroleva A.A., Kutchin A.V. ANALOGUES OF NATURAL PRENYPHENOLS: SYNTHESIS AND BIOLOGICAL ACTIVITY	734
Shamuratov B., Mavlyanov S. FLAVONOIDS FROM SOME VARIETIES <i>GOSSYPIMUM</i> L.	734
Shevchenko O.G., Buravlev E.V., Kutchin A.V. BIOLOGICAL ACTIVITY OF NOVEL DERIVATIVES OF A-MANGOSTIN	735
Shilova I.V. PHENOLIC COMPOUNDS EXTRACTS AND FRACTIONS ARE <i>ALFREDIA CERNUA</i>	735
Shishkina L.N., Kozlov M.V., Mazaletskaya L.I., Khrustova N.V., Sheludchenko N.I. INHIBITORY EFFICIENCY OF THE PLANT CELL COMPONENTS IN AUTOOXIDATION PROCESSES	735
Yagolnik E.A., Muzafarov E.N., Kim Yu.A., Tarahovsky Y.S. MANIFESTATION OF MEMBRANOTROPIC PROPERTIES OF FLAVONOIDS AND THEIR COMPLEXES WITH CATIONS OF IRON (II)	736

2 SECTION

PHENOLIC COMPOUNDS IN PLANT LIFE (GROWTH AND DEVELOPMENT, MAINTAIN VIABILITY, DISTRIBUTION, AND LOCALIZATION)

- Abilova G.A.**
THE ROLE OF SALICYLIC ACID IN FUNCTIONING OF
PRO- AND ANTIOXIDANT SYSTEMS OF *CUCUMBER*
PLANTS UNDER SALINE CONDITIONS 737
- Andysheva E.V., Khramova E.P.**
SEASONAL CHANGES OF PHENOLIC CONTENT OF
PENTAPHYLLOIDES FRUTICOSA GROWING IN
SOUTH OF THE AMUR REGION 737
- Babitsky A.Ph.**
PHENOLOXIDASE WHEAT SEEDS, ITS INHIBITORS
AND ACTIVATORS 738
- Bahtenko E.Yu., Kurapov P.B.**
DYNAMICS OF ACCUMULATION OF PHENOLIC
COMPOUNDS IN DIFFERENT ORGANS BURNET
(*SANGUISORBA OFFICINALIS* L. (ROSACEAE) IN
ONTOGENESIS 738
- Bezrukova M.V., Lubyanova A.R., Shakirova F.M.**
EFFECT OF WGA ON THE CADMIUM-INDUCIBLE
LIGNIN AND SUBERIN LOCALIZATION IN WHEAT
ROOTS 739
- Bekuzarova S.A., Ktsoeva M.S.**
PHENOLIC COMPOUNDS HELLEBORE LOBEL
(*VERATRUM LOBELIANUM* BERNH.) IN THE
INCREASE OF GERMINATION OF HARD SEEDS OF
LEGUMES 739
- Berezina E.V., Garanina Yu.D., Patunina A.S., Brilkina A.A.**
DYNAMICS OF PHENOLIC COMPOUNDS CONTENT IN
CRANBERRY CALLUS CULTURES 739
- Brilkina A.A., Berezina E.V., Garanina Yu.D., Veselov A.P.**
PHENOLIC COMPOUNDS CONTRIBUTION TO
CRANBERRY AND LINGONBERRY ANTIOXDANT
SYSTEM DURING VEGETATION 740
- Buzuk G.N., Kuzmichova N.A.**
DEPENDENS OF PROANTHOCYANIDINS CONTENT IN
THE WILLOW BARK FROM CONGESTED SOIL 740

HUMIDITY

- Bulatova A.A., Shapchits M.P., Korik E.O., Semak I.V.**
OBTAINING CALLUS CULTURES
PHARMACOLOGICALLY VALUABLE SPECIES OF
PLANTS *IRIS PSEUDOCORUS*, *ORNITHOGALUM*
UMBELLATUM, *TAXUS BACCATA* 740
- Bulatova A.A., Shapchits M.P., Korik E.O., Semak I.V.**
THE COMPARATIVE ANALYSIS OF THE TOTAL
CONTENTS OF PHENOLIC COMPOUNDS AND
CARBOHYDRATES IN EXTRACTS FROM VARIOUS
PARTS OF PLANTS *IRIS PSEUDOCORUS*,
ORNITHOGALUM UMBELLATUM, *TAXUS BACCATA*
AND THEIR CALLUS CULTURES 741
- Bulatova S.V., Bahtenko E.Yu.**
INFLUENCE OF ILLUMINATION AND PROCESSING
GIBBERELLIN ON THE GROWTH AND
ACCUMULATION OF PHENOLIC COMPOUNDS IN THE
PLANTS OF *COMARUM PALUSTRE* L. 741
- Boutsanets P.A., Shugaev A.G.**
SALICYLIC ACID CHANGES PERMEABILITY OF THE
INNER MEMBRANE OF LUPINE MITOCHONDRIA 741
- Volynets A.P.**
CHANGE PHENOLIC COMPLEX SEEDS OF
CULTIVATED PLANTS IN THE PROCESS OF
MATURATION, STORAGE AND GERMINATION 742
- Gladcaia A., Todiras V., Stratulat T.**
INVESTIGATION OF BIOLOGICAL EFFICACY OF
RHEUM RHAPONTICUM L. ROOT EXTRACT
PHENOLIC COMPOUNDS IN CONTROL OF POWDERY
MILDEW 742
- Goncharuk E.A., Gorchakova Yu.A., Nazarenko L.V.**
FEATURES OF PHENOLIC COMPOUNDS IN JUVENILE,
VIRGINAL SPROUTS AND CALLUS CULTURES FLAX
(*LINUM USITATISSIMUM*) 743
- Gumerova E.A., Akulov A.N., Rummyantseva N.I.**
TARTARY BUCKWHEAT CELL CULTURES FOR
PRODUCTION OF BIOLOGICALLY ACTIVE PHENOLIC
COMPOUNDS 743
- Davlyatnazarova Z.B., Shukurova M.H., Aliev K.**
EFFECT OF SALICYLIC ACID ON THE ACTIVITY OF
PRO OXIDANTS IN POTATO PLANTS 744
- Ditchenko T.I., Kravchuk K.A.**
INFLUENCE OF METHYL JASMONATE AND SALICYLIC 744

ACID ON THE L-PHENYLALANINE AMMONIA-LYASE ACTIVITY AND HYDROXYCINNAMIC ACIDS CONTENT IN <i>ECHINACEA PURPUREA</i> SUSPENSION CULTURE	
Docimo T., Gabotti D., Locatelli F., Consonni R., Cusano E., Mattana M.	
FLAX PHENYLPROPANOIDS: CHARACTERIZATION AND BIOTECHNOLOGICAL APPROACH FOR PRODUCTION ENHANCEMENT	744
Evstigneyev E.I.	
LIGNIN AS LINEAR OLIGOMER	747
Zhivetiev M.A., Dudareva L.V., Graskova I.A., Voinikov V.K.	
CHROMATOGRAPHIC STUDY OF DAILY AND SEASONAL DYNAMICS OF PHENOLIC COMPOUNDS IN THE LEAVES AND INFLORESCENCES OF MEDICINAL PLANTS	747
Ivanitskikh A.S., Tarakanov I.G.	
ACCUMULATION OF PHENOLIC COMPOUNDS AND OTHER SECONDARY METABOLITES IN SWEET BASIL PLANTS AS AFFECTED BY LIGHT SPECTRAL QUALITY	748
Ivanova R.A., Titei V.G.	
SOME REGULARITIES OF PHENOLIC COMPOUNDS ACCUMULATION IN GIANT KNOTWEED LEAVES	748
Kazantseva V.V., Goncharuk E.A., Glotova I., Zhivuhina E.A., Zagoskina N.V.	
FORMATION OF PHENOLIC COMPOUNDS IN THE EARLY STAGES OF ONTOGENY BUCKWHEAT	749
Kalashnikova E.A., Kirakosyan R.N.	
THE CONTENT OF PHENOLIC COMPOUNDS IN WHITE CABBAGE REGENERATED PLANTS	749
Kislitsina M.N., Borisova G.G.	
HYDROQUINONE AND RESORCINOL EFFECT ON MORPHOMETRIC PARAMETERS OF <i>ELODEA</i> <i>CANADENSIS</i> MICHX. AND <i>POTAMOGETON</i> <i>PERFOLIATUS</i> L.	750
Klykov A.G., Moiseyenko L.M.	
INTRA-SPECIFIC VARIABILITY OF RUTIN CONTENT IN PLANTS OF <i>FAGOPYRUM ESCULENTUM</i> MOENCH	750
Kovalitskaya Yu.A., Tugbaeva A.S., Schestibratov K.A.	
INFLUENCE OF THE GENE EXPRESSION OF THE FUNGI LACCASE ON THE LIGNIN CONTENT IN WOOD OF TRANSGENE ASPEN PLANTS	750
Komarov A.A., Komarov A.A.	

PHENOLIC-BASED HUMIC SUBSTANCES AND PHYSIOLOGICAL EFFECT ON THE PLANT	751
Kondratiev M.N., Budarin S.N., Larikova Yu.S. ACTIVE SUBSTANCES HOGWEED SOSNOWSKIY (<i>HERAKLEUM SOSNOWSKIY</i> MANDEN) AND THEIR POSSIBLE USE IN AGRICULTURE	751
Kondrat'eva V.V., Shelepova O.V., Olecknovich L.S., Shatilo V.I., Voronkova T.V., Enina O.L. EFFECT OF SALICYLIC ACID ON FORMATION OF THE RESISTANCE TO UV-RADIATION IN CHRYSANTHEMUMS INFECTED WITH FUNGAL INFECTION	752
Karytsko L.A., Melnikova E.V., Nedved E.L. THE ROLE OF PHENOLIC COMPOUNDS IN NECROTIC PROTECTIVE REACTION OF RYE TO RUST INFECTION	752
Kosman V.M., Pozharitskaya O.N., Shikov A.N., Galambosi B., Makarov V.G. EFFECT OF FERMENTATION ON CONCENTRATION OF PHENOLICS IN LEAFS OF <i>BERGENIA</i> SPECIES CULTIVATED IN FINLAND	753
Kotsupiy O.V., Ambros E.V., Petruk A.A. COMPOSITION AND CONTENT OF THE PHENOLIC COMPOUNDS IN PLANTS <i>ASTRAGALUS</i> <i>SERISEOCANUS</i> GONTSCH. <i>IN VIVO</i> AND <i>IN VITRO</i>	757
Kuznetsova V.A., Ostronkov V.S., Lachin S.A., Ivachenko L.E. THE ROLE OF TAXIFOLIN IN THE ADAPTATION OF SEEDLINGS SOY TO THE EFFECTS OF LEAD ACETATE	758
Kuzmichova N.A. CORRELATION OF BOTH FLAVONOID CONTENTS AND LEAVES SIZE OF <i>SALIX VIMINALIS</i> WITH ITS POSITION ON SPEAR	758
Lantsev V.L., Puzina T.I. THE PARTICIPATION OF SALICYLIC ACID IN REGULATING THE BREATHING PROCESS IN <i>SOLANUM TUBEROSUM</i> DEPENDING ON THE CONDITION OF THE MICROFILAMENTS	758
Lebedev V.G., Faskhiev V.N., Belyy V.A., Shestibratov K.A. DETERMINATION OF LIGNIN COMPOSITION IN TRANSGENIC ASPEN WITH GLUTAMINE SYNTHETASE GENE GS BY TWO-DIMENSIONAL NMR	759

Litvinenko V.I., Popova N.V., Dihtirev S.I., Maslova N.F. ANTHOCHLORS OF PLANTS ASTERIACEAE	760
Litvinenko V.I., Ammosov A.C., Popova T.P. NEW PHENOLIC COMPOUNDS FROM GENUS <i>GLYCYRRHIZA</i> L. OF THE GLOBAL FLORA	760
Makarova L.E., Lomovatskaya L.A., Kuzakova O.V., Kuznetsova V.E. N-PHENYL-2-NAPHTHYLAMINE INFLUENCE ON GROWTH AND ACTIVITY OF COMPONENTS OF ADENYLATECYCLASE SIGNAL SYSTEM <i>PSEUDOMONAS SIRINGAE</i> PV. PISI AND <i>RHIZOBIUM</i> <i>LEGUMINOSARUM</i> BV. VICEAE	761
Makeeva I.Yu., Puzina T.I. THE EFFECT OF CAFFEIC ACID ON CONCENTRATION OF PHYTOHORMONES AND GROWTH REACTIONS <i>SOLANUM TUBEROSUM</i> DEPENDING ON THE CONDITION OF TUBULIN CYTOSKELETON	761
Manzhelesova N.Y., Volynets A.P. THE INTERACTION OF PHENOLIC COMPOUNDS AND BRASSINOSTEROIDS IN THE IMPLEMENTATION OF PROTECTIVE PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL REACTIONS CEREALS	761
Markin V.I., Feller S.V. CARBOXYMETHYL LIGNIN FRAGMENTS AS PLANT GROWTH REGULATORS	762
Maslennikova D.R., Lastochkina O.V., Shakirova F.M. EFFECT OF SALICYLIC ACID ON ANTIOXIDANT STATUS OF WHEAT PLANTS UNDER SALINITY	762
Mechikova G.Y., Stepanova T.A., Matyushchenko N.V. ACCUMULATION OF PHENOLIC COMPOUNDS IN LEAVES OF <i>FRAGARIA ORIENTALIS</i> LOSINSK.	762
Nechaeva T.L., Golubeva E.V., Nazarenko L.V., Zagoskina N.V. HYDROXYBENZOIC ACID - PROTECTION FACTOR OF THE CELLS OF HIGHER PLANTS FROM UV-B RADIATION	763
Nechaeva T.L., Lapshin P.V., Gvasaliya M.V., Malyarovskiy V.I., Zagoskina N.V. TEA CULTURE (<i>CAMELLIA SINENSIS</i> L.) <i>IN VITRO</i> AND ACCUMULATION OF PHENOLIC COMPOUNDS	763
Nikerova K.M., Galibina N.A. OXIDATION OF QUERCETIN BY PEROXIDASE OF THE KARELIAN BIRCH	763

Nikolaeva T.N., Lapshin P.V., Nechaeva T.L., Zagoskina N.V. CARBOHYDRATE COMPONENTS OF NUTRIENT MEDIA, ACCUMULATION OF POLYPHENOLS AND ACTIVITY OF L-PHENYLALANINAMMIK-LYASE IN CALLUS CULTURE OF TEA PLANT	764
Ossipov V.I., Polyakov N.A. METABOLOMICS OF MEDICINAL PLANTS	764
Petrova G.A., Kalashnikova E.A., Mammadov R. CONTENTS OF PHENOLIC COMPOUNDS IN PLANTS REGENERATED OF <i>POPULUS TREMULA</i> DERIVED FROM CALLUS TISSUE	765
Polyakova L.V., Litvinenko V.I. INFLUENCE OF HERBIVORES AND PATHOGEN ON PHENOLIC COMPOUNDS SYNTHESIS IN COMMON OAK LEAVES	767
Poliakova N.V., Volynets A.P. ROLE OF PHENOLIC COMPOUNDS IN PATHOGENY OF BARLEY AS CELLULAR SPOTTINESS	767
Popova E.V., Domnina N.S., Kovalenko N.M., Tuterev S.L. IMMUNOMODULATORY ACTIVITY OF VANILLIN, SALICYLIC ACID AND CHITOSAN IN THE WHEAT - EXCITER DARK BROWN SPOT <i>COCHLIOBOLUS</i> <i>SATIVUS</i> DRECHS.	767
Priss O.P., Kalytka V.V. PHENOLIC COMPOUNDS IN FRUITING VEGETABLES UNDER ABIOTIC FACTORS	768
Priss O.P., Kulik A.S. DYNAMIC OF PHENOLIC SUBSTANCES OF PARSLEY DURING STORAGE WITH ANTIOXIDANTS	768
Rat'kin A.V. GENETIC THE CONTROL OF THE FORMATION OF FLAVONOID PIGMENTS IN THE HIGHEST PLANTS	768
Sakhno T.V. INFLUENCE OF BROOMRAPE INFECTION ON GROWTH PROCESSES AND THE PHENOLIC COMPOUNDS CONTENT IN SUNFLOWER LINES AND HYBRIDS	769
Serdyuk M. PREDICTION OF THE CONTENT OF PHENOLIC COMPOUNDS IN APPLE FRUITS, DEPENDING ON WEATHER CONDITIONS	769
Smirnov A.E., Kosyan A.M., Kosyk O.I., Taran N.Yu. DYNAMICS OF PHENYALANINE AMMONYA-LYASE	769

ACTIVITY IN COMMON BUCKWHEAT (<i>FAGOPYRUM ESCULENTUM</i> MOENCH.) PLANTS UNDER CHRONIC ALUMINIUM-ACID STRESS	
Talanova V.V., Repkina N.S., Fenko A.A.	
INFLUENCE OF SALICYLIC ACID ON CUCUMBER SEEDLINGS TOLERANCE TO LOW TEMPERATURES	770
Tatsenko N.A., Feduraev P.V., Chupakhina G.N., Mironov A.I.	
EFFECT OF TYROSINE ON THE ACCUMULATION OF POLYPHENOLS IN CURLY DOCK (<i>RUMEX CRISPUS</i> L.) LEAVES	770
Upadyshev M.T., Motyleva S.M., Mertvishcheva M.E., Donetskikh V.I.	
CHANGE OF THE PHENOLIC METABOLISM AT RASPBERRY MICROPLANTS AT SANITATION FROM VIRUSES BY MAGNITNO-PULSE TREATMENT	771
Feduraev P.V., Trembach J.A., Chupakhina G.N.	
THE INFLUENCE OF PLANT PIGMENT APPARATUS DEVELOPMENT ON PHENOLIC COMPOUNDS ACCUMULATION BY RYE (<i>SECALE CEREALE</i> L.)	771
Khlestkina E.K., Shoeva O.Y., Gordeeva E.I.	
FLAVONOID BIOSYNTHESIS REGULATORY NETWORK IN WHEAT	771
Kholmogorov S.V., Marakaev O.A.	
CONTENT OF PHENOLIC COMPOUNDS AND MYCOSYMBIOTROPHY IN UNDERGROUND ORGANS OF <i>EPIPACTIS HELLEBORINE</i> (ORCHIDACEAE)	772
Khramova E.P.	
PHENOLIC COMPOUNDS IN ADAPTING <i>PENTAPHYLLOIDES FRUTICOSA</i> WITHIN A NATURAL POPULATION	772
Tsypurskaya E.V., Zagoskina N.V.	
ABOUT THE FORMATION OF PHENOLIC COMPOUNDS IN POTATO PLANTS TRANSFORMED WITH A GENE $\Delta 12$ -ACYL-LIPID DESATURASE	773
Scherbakov A.V., Usmanov I.Yu., Faezova G.F.	
PLASTICITY OF PLANT FLAVONOIDS ACCUMULATION IN MULTIDIMENSIONAL ECOLOGICAL NICHES OF SOUTH URALS	773
Shirokova A.V., Zaitsev G., Kostyanovsky R.G., Krutius O.N., Kadorkina G.K.	
CHEMICAL MUTAGENESIS AND CHANGES IN FLAVONOID BIOSYNTHESIS IN FLOWERS OF <i>PETUNIA</i>	774

Yakovishin L.A., Grishkovets V.I., Korzh E.N. MOLECULAR COMPLEXES OF L-TYROSINE WITH TRITERPENE GLYCOSIDES	774
Yarullina L.G., Kasimova R.I., Akhatova A.R., Yarullina L.M., Isaev R.F., Maksimov I.V. SALICYLIC ACID AND JASMONIC ACID IN THE REGULATION OF LIGNIN IN THE ACCUMULATION OF WHEAT PLANTS INFECTED WITH ROOT ROT	774

3 SECTION

PLANT POLYPHENOLS AND THEIR APPLICATION IN MEDICINE AND INDUSTRY (PHARMACY, WINE, FUNCTIONAL FOOD)

Abibullaeva G.A., Branovitskaya T.Yu. GRAPE SQUEEZE AS RAW MATERIAL FOR CONFECTIONERY SEMI-PREPARED FOODS	776
Azarova O.V., Bryukhanov V.M., Zverev Ya.F. THE POSSIBILITY OF OXIDATIVE STRESS CORRECTION BY POLYPHENOL COMPLEXES FROM FAR EASTERN PLANT CELL CULTURES	776
Afnas'eva P.V., Kurkina A.V. INVESTIGATION OF PERSPECTIVE POPULATION OF <i>CALENDULA OFFICINALIS</i> INFLORESCENCES	776
Bezmaternykh K.V., Volodina S.O., Volodin V.V., Smirnova G.V., Oktyabrsky O.N. STUDY OF ANTIOXIDANT AND ADAPTOGENIC ACTIVITIES OF PLANT EXTRACTS CONTAINING ECDYSTEROIDS AND POLYPHENOLS	777
Beloborodov V.L., Voskoboynikova I.V., Savvateev A.M., Zakharova N.G., Kolkhir V.K. IDENTIFICATION OF COMPONENTS AND ANALYSIS OF POLYPHENOL MARKERS OF MULTI-COMPONENT HERBAL DRUGS PROSTANORM AND PHYTO NOVO- SED	777
Bubenchikova V.N., Starchak Yu.A. PHENOLCARBONIC ACIDS OF PLANTS OF THE GENUS <i>THYME</i> OF THE MIDDLE ZONE FLORA OF EUROPEAN PART OF RUSSIA	778
Voronin M.S., Makarova N.V.	

EFFECT OF HEAT TREATMENT ON POLYPHENOLS FRESH BERRIES AND THEIR PRODUCTS	778
Voronkova M.S., Kukushkina T.A. THE PLANTS OF THE GENUS <i>BISTORTA</i> SCOP. AS A SOURS OF PHENOLIC COMPOUNDS	779
Gulyaev A.Y., Rakhmadiyeva S.B., Kushnarevich D.A. ANTIOXIDANT ACTIVITY OF SUBSTANCE SUTTIGEN	779
Deineka V.I., Deineka L.A., Blinova I.P., Kulchenko Ya.Yu. PHENOLICS DETERMINING FRUITS JUICES QUALITY	779
Dmitrieva A.N., Makarova N.V. THE STUDY OF CHANGES OF PHENOLIC COMPOUNDS DURING STORAGE FOR 1 YEAR ON THE EXAMPLE DRIED BERRIES	780
Dubrovskaya A.M., Ilyasov I.R., Beloborodov V.L. RESEACH OF ANTIRADICAL ACTIVITY OF THE COMPOSITION OF QUERCETIN-GLUTATHIONE AND MORIN-GLUTATHIONE	780
Egorova A.V., Kurkin V.A. STADY ON THE CHANGES OF THE CHEMICAL COMPOSITION OF THE FRUIT <i>SILYBUM MARIANUM</i> SUBJECTED TO THE INFLUENCE OF SPACE FLIGHT FACTORS	780
Erokhin V.N., Semenov V.A., Kremontsova A.V., Burlakova E.B. PHENOLIC PLANT AND SYNTHETIC ANTIOXIDANTS FOR THE PROPHYLAXIS OF MALIGNANT TUMORS	781
Ilyasov I.R., Dubrovskaya A.M., Beloborodov V.L., Tyukavkina N.A. ANTIOXIDANT ACTIVITY OF DIKVERTIN-BASED BINARY MIXTURES	781
Ishmuhametova S.R., Valitova L.A., Lastochkina O.V., Pusenkova L.I. ASSESSMENT CONTENT OF FLAVONOIDS AND CAROTENOIDS IN EXTRACTS FROM PLANT MATERIAL GROWING IN BASHKORTOSTAN	782
Karagur E.R., Ozay C., Mammadov R., Akca H. ANTIOXIDANT POTENTIALS, PHENOLIC COMPOSITION AND ANTIPROLIFERATIVE ACTIVITIES OF THE DIFFERENT SOLVENT EXTRACTS OF <i>CYCLAMEN PSEUDIBERICUM</i> , ENDEMIC TO TURKEY	782
Kaybulaeva R.S., Branovitskaya T.Yu., Chmeleva S.I. MEDICO-BIOLOGICAL AND TECHNOLOGICAL ASPECTS OF PHENOLIC COMPOUNDS	786

Karpova E.A., Fershalova T.D., Tsybulya N.V. PERSPECTIVES OF FLAVONOIDS RESEARCH OF REPRESENTATIVES OF <i>BEGONIA</i> L.	786
Kim Yu.A., Tarahovsky Y.S., Gaidin C.G., Yagolnik E.A., Muzafarov E.N. INFLUENCE OF FLAVONOIDS ON COLLAGEN FIBERS FORMATION	787
Kiryanova V.A., Babaeva H.Y., Kalenikova E.I. DETERMINATION OF FLAVONOIDS OF "FLORES CUM FOLIA CRATAEGI"	787
Kolychev I.A., Krasnikova T.A., Koshevoy O.N. STUDY OF PHENOLIC COMPOSITION OF THE DRY EXTRACT FROM THE BILBERRY LEAVES	788
Kondratova J.A., Bubenchikova V.N. PHENOLIC COMPOUNDS PLANTS OF THE GENUS <i>SALVIA</i>	788
Korulkin D.Yu., Muzychkina R.A. RESEARCH OF THE TANNING PROPERTIES OF ANTHRAQUINONE-CONTAINING PREPARATION FROM <i>POLYGONUM AVICULARE</i> L. PLANT	788
Kurkin V.A., Kurkina A.V., Pravdivtseva O.E., Morozova T.V. THE STUDY OF CHEMICAL CONTENT OF PREPARATIONS ON THE BASIS OF <i>CRATAEGUS</i> L.	789
Kurkin V.A. THE PHENOLIC COMPOUNDS IN THE STANDARDIZATION OF HERBAL DRUGS AND PHARMACEUTICALS	789
Kushnerova N.F., Momot T.V. POLYPHENOLIC COMPLEXES FROM BYPRODUCTS OF BERRY PROCESSING OF THE USSURIISK TAIGA	790
Lapin A.A., Zelenkov V.N., Akhmerova L.R., Islyamova A.A. ASCORBIC ACID AND STABILIZATION OF PHENOLIC COMPOUNDS IN WATER-ALCOHOL EXTRACTION OF <i>AMARANTH</i> IN THE MANUFACTURE OF FISH PRODUCTS	790
Latypova G.M., Bubenchikova V.N., Iksanova G.R. PHENOL COMPOUNDS IN <i>PRIMULA</i> L. SPECIES	790
Loiko N.G., Krasnova M.A., El'-Registan G.I. INFLUENCE OF PLANT ALKYLRESORCINOL ON THE ACTIVITY AND STABILITY OF DIGESTIVE ENZYMES	791
Lutsky V.I., Chesnokova A.N. PHENOLIC COMPOUNDS FROM HOPS: BIOLOGICAL ACTIVITY AND APPLICATION	791

Misharina T.A., Fatkullina L.D., Burlakova E.B. ACTION OF LOW DOSES PHENOL CONTAINING ESSENTIAL OILS ON MICE	791
Momot T.V. MEMBRANOPROTECTIVE PROPERTIES OF VEGETABLE COMPLEXES OF POLYPHENOLS FROM THE MOUNTAIN ASH AT THE STRESS	792
Muzychkina R.A., Korulkin D.Yu. PHYTOCHEMICAL RESEARCH OF BIOACTIVE SUBSTANCES OF THE KAZAKHSTAN <i>RUMEX</i> PLANTS	792
Myga M.M., Vovk G.V., Koshevoy O.N. STUDY OF PHENOLIC COMPOSITION OF THE DRY EXTRACT FROM THE <i>SALVIA OFFICINALIS</i> LEAVES WHICH WAS OBTAINED BY COMPLEX PROCESSING	793
Petkevich S.K., Kletskov A.V., Dikusra E.A., Potkin V.I. SYNTHESIS OF ETHERS OF NATURAL PHENOLIC ALDEHYDES AND THEIR ANALOGUES ON THE BASE OF 5-ARYLISOXAZOL-3-YL(4,5-DICHLORISOTHIAZOL-3- YL)CHLOROMETHANES	793
Petrova N.V., Medvedeva N.A., Budantsev A.L., Shavarda A.L. CONTENT OF ROSMARINIC ACID IN LEAVES <i>ONONIS ARVENSIS</i> L. (FABACEAE)	793
Petrulina A.A., Fedonenko Y.P., Burygin G.L., Konnova S.A. PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES OF LIPOPOLYSACCHARIDES OF RHIZOBACTERIA <i>AZOSPIRILLUM BRASILENSE</i> SP7 GROWN IN THE PRESENCE OF GALLIC ACID	793
Plotnikov M.B., Aliev O.I., Chernysheva G.A., Smolyakova V.I., Anishchenko A.M., Sidehmenova A.V., Logvinov S.V., Zdankina A.A., Osipenko A.N. NEW PROPERTIES OF P-TYROSOL AND MECHANISMS OF ITS ACTION	794
Rejepov K.J., Ermatov A.M., Ziyaev Kh.L. PREPARATION OF BATRIDEN WATER SOLUBLE COMPLEX FOR TREATMENT OF AUTOIMMUNE DISEASES	794
Rejepov K.J., Kazantseva D.S., Ermatov A.M., Namazov O.M., Alimova M.T., Yakubova R.A., Ziyaev Kh.L. ROMETIN - A MEDICAL PREPARATION FOR PROPHYLACTICS AND TREATMENT OF VIAL DISEASES	795
Romanenko E.A., Koshevoy O.N., Komissarenko A.N.	

STUDY OF PHENOLIC COMPOUNDS OF ALCOHOLIC MOTHERWORT HERB EXTRACT	795
Ryzhov V.M., Kurkin V.A., Belchenko A.S. COMPARATIVE SPECTRAL ANALYSIS OF TOTAL FLAVONOIDS OF <i>ONOPORDUM ACANTHIUM</i> AND <i>SILYBUM MARIANUM</i> HERBS	795
Samoilova Z., Smirnova G.V., Oktyabrsky O.N. INFLUENCE OF POLYPHENOL-CONTAINING PLANT EXTRACTS ON BIOFILM FORMATION OF INTESTINE BACTERIA	796
Sapko O.A., Utarbayeva A.Sh., Chebonenko O.V., Tursunova A.K., Abaildayev A.O., Amirkulova A.Zh. IN VITRO ANTIOXIDANT AND ANTIDIABETIC ACTIVITIES OF <i>AGRIMONIA ASIATICA</i> AND <i>GERANIUM COLLINUM</i>	796
Sydora N.V., Kovalyova A.M., Avidzba Yu.N. ALIPHATIC, PHENOLCARBONIC AND HYDROXYCINNAMIC ACIDS OF <i>HAWTHORN</i> GENUS SPECIES FLOWERS FROM THE <i>OXYACANTHA</i> L. SECTION	797
Sprygin V.G., Pavlova T.V. POLYPHENOLS CONTENT AND ANTIRADICAL ACTIVITY OF EXTRACTS FROM MARINE ALGAE OF COASTAL WATERS OF PETER THE GREAT BAY OF JAPAN SEA	797
Struchkov P., Savvateev A.M., Beloborodov V.L., Voskoboynikova I.V., Kolkhir V.K. TOTAL PHENOLIC CONTENT DETERMINATION IN "ANGIONORM" HERBAL MEDICINAL PRODUCT	797
Talanov A.A., Onegin S.V., Zhavoroncova M.E., Gorcova A.S., Fursa N.S. PHENOLIC COMPOUNDS OF ERICACEAE: DETECTION, ISOLATION AND DETERMINATION FOR THE REVEALING OF POTENTIAL SOURCES OF PHARMACOLOGICALLY ACTIVE REMEDIES	798
Tretyakov V.O., Makagonov A.J., Branovitskaya T.Yu. EXTRACTION OF PHENOLIC COMPOUNDS IN WINEMAKING	798
Tiukavkina N.A., Selivanova I.A., Terehov R.P., Gorkavenko F.V. THE DEPENDENCE OF PHYSICO-CHEMICAL PROPERTIES OF DIHYDROQUERCETIN FROM PHASE STATE	798

Filippov A.G.	
PHENOLIC COMPOUNDS IN NANOTEHNOLOGY	799
Fomenko S.E.	
ANTIOXIDANT ACTIVITY AND HEPATOPROTECTIVE EFFECT OF THE POLYPHENOLIC COMPLEX FROM THE HONEYSUCKLE	799
Shaldaeva T.M.	
FLAVONOIDS AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF TWO SPECIES <i>FILIPENDULA</i> FROM INTRODUCTION POPULATIONS	800
Shamanaev A.Yu., Sidehmenova A.V., Plotnikov M.B., Selivanova I.A., Tyukavkina N.A.	
PHARMACOLOGICALLY ACTIVE COMPOSITIONS BASED ON DIHYDROQUERCETIN AND ARABINOGALACTAN	800
Ermatov A.M., Nazirova Ya.K., Rejepov K.J., Ziyaev Kh.L.	
DEVELOPMENT OF NEW, HIGHLY EFFECTIVE DRUG FORMULATIONS BASED ON GOSSYPOL DERIVATIVES	801
Yushkova E.A., Punegov V.V., Zainullin V.G.	
INFLUENCE OF PSEUDOHYPERICIN INTO PHYSIOLOGICAL AND CYTOGENETIC PARAMETRS <i>DROSOPHILA MELANOGASTER</i>	801
Yalanetsky A.Ya.	
FUNCTIONAL ACTIVITY OF PHENOLIC COMPLEX RED TABLE WINE	802
Yashin Ya.I., Vedenin A.N., Yashin A.Ya.	
NATURAL ANTIOXIDANTS - PART HEALTHY AND FULL VALUE OF NUTRITION	802
Yashin Ya.I., Yashin A.Ya., Nemzer B.	
ANTIOXIDANT ACTIVITY OF SPICES AND THEIR INFLUENCE ON HEALTH OF HUMAN	802

Указатель авторов:

- Абайлдаев А.О., 647
Абдулладжанова Н.Г., 7
Абдуллаев Н.Д., 186
Абибуллаева Г.А., 487
Абилова Г.А., 197
Авдеева Е.Ю., 12
Авидзба Ю.Н., 652
Адекенов С.М., 74
Азарова О.В., 490
Айса Н.А., 186
Акритиду Х.П., 25
Акулов А.Н., 257
Александрова В.А., 15
Алексеева О.М., 20
Алиев К., 262
Алиев О.И., 628
Алимова М.Т., 636
Амброс Е.В., 320
Амиркулова А.Ж., 647
Аммосов А.С., 347
Андышева Е.В., 200
Анищенко А.М., 628
Афанасьева П.В., 496
Ахатова А.Р., 483
Ахмерова Л.Р., 590
Бабаева Е.Ю., 564
Бабицкий А.Ф., 205
Бажаканова С.К., 110
Бахтенко Е.Ю., 212, 236
Безматерных К.В., 499
Безрукова М.В., 214
Бекузарова С.А., 219
Белобородов В.Л., 503, 533, 545, 661
Белостоцкая И.С., 38
Белый В.А., 342
Бельченко А.С., 639
Березина Е.В., 222, 224
Блинова И.П., 527
Бобок М.Н., 142
Бойник В.В., 25
Борисенко Н.И., 102
Борисенко С.Н., 102
Борисова Г.Г., 292
Бородин Н.В., 27
Брановицкая Т.Ю., 487, 551, 667
Брилкина А.А., 222, 224
Брюханов В.М., 490
Бубенчикова В.Н., 508, 572, 593
Буданцев А.Л., 622
Бударин С.Н., 307
Бузук Г.Н., 227
Булатова А.А., 230, 233
Булатова С.В., 236
Буравлев Е.А., 142
Буравлев Е.В., 174
Буравлева К.В., 142
Бурлакова Е.Б., 54, 92, 151, 540, 605
Бурыгин Г.Л., 624
Буцанец П.А., 238
Валитова Л.А., 550
Ванидзе М., 159
Веденин А.Н., 700
Веселов А.П., 224
Ветрова Е.В., 102
Власова Е.В., 33
Вовк Г.В., 617
Войников В.К., 271
Володин В.В., 499
Володина С.О., 499
Волынец А.П., 243, 362, 403
Вольева В.Б., 38
Воронина М.С., 513
Воронкова М.С., 517
Воронкова Т.В., 311
Воскобойникова И.В., 503, 661

Высочина Г.И., 87, 517
Гадецкая А.В., 59
Гайдин С.Г., 560
Галамбози Б., 319
Галибина Н.А., 386
Гаранина Ю.Д., 222, 224
Гвасалия М.В., 381
Гладкая А.А., 247
Глотова И., 286
Голощанов А.Н., 20, 54, 92
Голубева Е.В., 377
Гонтовая Т.Н., 65
Гончарова Н.В., 43
Гончарук Е.А., 251, 286
Горбунова Ю.В., 33
Гордеева Е.И., 456
Горкавенко Ф.В., 670
Горчакова Ю.А., 251
Горькова А.С., 664
Граскова И.А., 271
Гришковец В.И., 482
Гуляев А.Е., 521
Гумерова Е.А., 257
Гурбанов Г.М., 70
Давлятназарова З.Б., 262
Дейнека В.И., 527
Дейнека Л.А., 527
Демешко О.В., 46
Денисова М.Н., 50
Джараридзе И., 159
Дикусар Е.А., 619
Дитченко Т.И., 265
Дихтярев С.И., 343
Дмитриева А.Н., 530
Дойкова Д.О., 162
Домнина Н.С., 15, 407
Донецких В.И., 447
Дубровская А.М., 533, 545
Дударева Л.В., 271
Дутова С.В., 118
Евстигнеев Э.И., 268
Егорова А.В., 537
Енина О.Л., 311
Ерохин В.Н., 540
Жаворонкова М.Е., 664
Жанымханова П.Ж., 74
Жданкина А.А., 628
Живетьев М.А., 271
Живухина Е.А., 286
Жигачева И.В., 54
Жижина Г.П., 151
Журавлева Т.С., 79
Жусупова А.И., 59
Жусупова Г.Е., 59
Заварыкина Т.М., 151
Загоскина Н.В., 272, 286, 377, 381, 390, 469
Зайнуллин В.Г., 694
Зайцев Г., 477
Захарова Н.Г., 503
Зверев Я.Ф., 490
Зеленков В.Н., 590
Зиявитдинов Ж.Ф., 7
Зияев Х.Л., 632, 636, 691
Золотайкина М.Ю., 65
Иваницких А.С., 277
Иванова Е.П., 68
Иванова Р.А., 281
Иваченко Л.Е., 324
Иксанова Г.Р., 593
Ильясов И.Р., 533, 545
Исаев Д.И., 70
Исаев Р.Ф., 483
Исламова А.А., 590
Ишмухаметова С.Р., 550
Клюков А.Г., 750
Кабанова А.Д., 102
Кадоркина Г.К., 477
Казанцева В.В., 286
Казанцева Д.С., 636
Кайбулаева Р.С., 551
Калашникова Е.А., 291
Каленикова Е.И., 564
Калитка В.В., 413
Капич А.Н., 162
Карамов Э.В., 7

Карпова Е.А., 555
Касенов Б.К., 74
Касенова Ш.Б., 74
Касимова Р.И., 483
Ким Ю.А., 20, 191, 560
Киракосян Р.Н., 291
Кириянова В.А., 564
Кислицина М.Н., 292
Клецков А.В., 619
Клименко И.В., 79
Клыков А.Г., 295
Ковалев В.Н., 27, 46, 70
Ковалева А.М., 652
Ковалева Н.В., 527
Коваленко Н.М., 407
Ковалицкая Ю.А., 300
Козлов М.В., 181
Козлова З.Г., 84
Колхир В.К., 503, 661
Кольчев И.А., 569
Комаров А.А., 305
Комилов Б.Д., 186
Комиссаренко А.Н., 638
Комиссарова Н.Л., 38
Кондратова Ю.А., 572
Кондратьев М.Н., 307
Кондратьева В.В., 311
Коннова С.А., 624
Корж Е.Н., 482
Корик Е.О., 230, 233
Королева А.А., 171
Корулькин Д.Ю., 110, 114, 575, 614
Корытько Л.А., 314
Косман В.М., 319
Костиков Д.К., 87
Костинова В.А., 87
Костяновский Р.Г., 477
Косык О.И., 436
Косян А.М., 436
Коцупий О.В., 320
Кошевой О.Н., 569, 617, 638
Кравчук К.А., 265
Красникова Т.А., 569
Краснов Е.А., 12
Краснова М.А., 598
Кременцова А.В., 540
Кривандин А.В., 92
Кривошеков С.В., 136
Крутиус О.Н., 477
Кударова А.Н., 131
Кузакова О.В., 351
Кузнецова В.А., 324
Кузнецова В.Е., 351
Кузьмичева Н.А., 227, 329
Кукушкина Т.А., 517
Кулик А.С., 417
Кульченко Я.Ю., 527
Кунц Т., 167
Курапов П.Б., 212
Куркин В.А., 537, 578, 581, 639
Куркина А.В., 496, 578
Кучин А.В., 139, 171, 174
Кушнаревич Д.А., 96, 521
Кушнерова Н.Ф., 587
Куштель Д.А., 496
Кцоева М.С., 219
Ланцев В.Л., 333
Лапин А.А., 590
Лапшин П.В., 272, 337, 381, 390
Ларикова Ю.С., 307
Ласточкина О.В., 372, 550
Латыпова Г.М., 593
Лашин С.А., 324
Лебедев В.Г., 342
Лекарь А.В., 102
Литвиненко В.И., 343, 347, 396
Лобанов А.В., 79
Логвинов С.В., 628
Лойко Н.Г., 598
Ломоватская Л.А., 351
Лубянова А.Р., 214
Луцкий В.И., 167, 601

Любичкий О.Б., 142
Мавлянов С.М., 7, 173
Мазалецкая Л.И., 181
Макагонов А.Ю., 667
Макаров В.Г., 319
Макарова Л.Е., 351
Макарова Н.В., 513, 530
Макеева И.Ю., 356
Максименко Е.В., 102
Максимов И.В., 483
Маленковская М.А., 103
Малкова А.В., 38
Малюкова Л.С., 272
Маляровская В.И., 381
Манжелесова Н.Е., 362
Маракаев О.А., 459
Маркин В.И., 367
Марченко Р.Д., 136
Масленникова¹ Д.Р., 372
Маслова Н.Ф., 343
Матющенко Н.В., 373
Медведева Н.А., 622
Медведева С.А., 124
Мельникова Г.В., 496
Мельникова Е.В., 314
Мертвищева М.Е., 33, 447
Метнер Ф.-Ю., 167
Мечикова Г.Я., 373
Миль Е.М., 106
Миронова А.И., 443
Михайленко О.А., 70
Мишарина Т.А., 605
Мозуль В.И., 664
Моисеенко Л.М., 295
Момот Т.В., 587, 610
Морозова Т.В., 578
Моторин В.С., 43
Мотылева С.М., 33, 447
Музафаров Е.Н., 191, 560
Музычкина Р.А., 110, 114,
575, 614
Мукушева Г.К., 74
Мурзагулова К.Б., 96
Мыга М.М., 617
Мяделец М.А., 118
Назаренко Л.В., 251, 272, 377
Назирова Я.К., 691
Намазов О.М., 636
Недведь Е.Л., 314
Немзер Б.В., 706
Нечаева Т.Л., 377, 381, 390
Никерова К.М., 386
Никифорова О.И., 496
Николаева Т.Н., 390
Нуралиев Р.М., 114
Овсянникова М.Н., 38
Октябрьский О.Н., 499, 644
Олехнович Л.С., 311
Онегин С.В., 664
Осипенко А.Н., 628
Осипов В.И., 395
Остронков В.С., 324
Павлова Л.А., 142
Павлова Т.В., 657
Панкратов А.Н., 162
Патунина А.С., 222
Петкевич С.К., 619
Петрова Н.В., 622
Петрук А.А., 87, 320
Петрунина А.А., 624
Плотников М.Б., 628, 687
Погодаева Н.Н., 124
Пожарицкая О.Н., 319
Полунин К.Е., 126
Полунина И.А., 126
Поляков Н.А., 395
Полякова Л.В., 396
Полякова Н.В., 403
Попова Н.В., 343
Попова Т.П., 347
Попова Э.В., 407
Поткин В.И., 619
Правдивцева О.Е., 578
Присс О.П., 413, 417
Притула З.В., 272
Прокофьева Т.И., 38

Пугашова Н.М., 103
Пузина Т.И., 333, 356
Пунегов В.В., 694
Пусенкова Л.И., 550
Пучкова Т.А., 162
Расадикина Е.Н., 103
Ратькин А.В., 420
Рахмадиева С.Б., 96, 131, 521
Режепов К.Ж., 632, 636, 691
Репкина Н.С., 440
Романенко Е.А., 638
Рощин В.И., 147
Румянцева Н.И., 257
Рыжов В.М., 639
Савватеев А.М., 503, 661
Сагинтаева Ж.И., 74
Сажина Н.Н., 337
Салихов Ш.И., 7
Самойлова З.Ю., 644
Санжиев А.Н., 136
Сапко О.А., 647
Сахно Т.В., 425
Селиванова И.А., 670, 687
Семак И.В., 230, 233
Семенов В.А., 540
Сердюк М.Е., 431
Сердюк О.П., 68
Сидехменова А.В., 628, 687
Сидора Н.В., 652
Смирнов А.Е., 436
Смирнова Г.В., 499, 644
Смолыгина Л.Д., 68
Смольякова В.И., 628
Спрыгин В.Г., 657
Старчак Ю.А., 508
Степанова Т.А., 373
Стратулат Т.Г., 247
Стручков П.А., 661
Сукрушева О.В., 139
Сухов Б.Г., 124
Сячинова Н.В., 43
Таланов А.А., 664
Таланова В.В., 440
Тараканов И.Г., 277
Таран Н.Ю., 436
Тараховский Ю.С., 191, 560
Таценко Н.А., 443
Терехов Р.П., 670
Теселкин Ю.О., 142
Тодиращ В.А., 247
Тошматов З.О., 186
Транчук Н.В., 147
Трембач Я.А., 452
Третьякова В.О., 667
Тугбаева А.С., 300
Турсунова А.К., 647
Тюкавкина Н.А., 545, 670, 687
Тютерев С.Л., 407
Упадышев М.Т., 447
Усманов И.Ю., 473
Утарбаева А.Ш., 647
Фаезова Г.Ф., 473
Фасхиев В.Н., 342
Фаткуллина Л.Д., 20, 92, 151, 605
Федоненко Ю.П., 624
Федорова И.В., 171
Федураев П.В., 443, 452
Феллер С.В., 367
Фенько А.А., 440
Фершалова Т.Д., 555
Филиппов А.Г., 674
Филонова О.В., 102
Фоменко С.Е., 679
Фурса Н.С., 664
Хаитбаев А.Х., 155
Хахутаишвили М., 159
Хлесткина Е.К., 456
Холмогоров С.В., 459
Храмова Е.П., 200, 464
Хрустова Н.В., 181
Цивилева О.М., 162
Цыбуля Н.В., 555
Цымбал О.А., 162
Цыпурская Е.В., 469
Цыцей В.Г., 281

-
- Чебоненко О.В., 647
Чернышева Г.А., 628
Чеснокова А.Н., 167, 601
Чистяков Ф.Е., 272
Чмелева С.И., 551
Чукичева И.Ю., 139, 171
Чупахина Г.Н., 443, 452
Шаварда А.Л., 622
Шакирова Ф.М., 214, 372
Шалдаева Т.М., 684
Шаманаев А.Ю., 687
Шамуратов Б.А., 173
Шапчиц М.П., 230, 233
Шаталова О.В., 92
Шатило В.И., 311
Шевченко О.Г., 174
Шелепова О.В., 311
Шелудченко Н.И., 181
Шертаева Н.Т., 131
Шестибратов К.А., 300, 342
Шиков А.Н., 319
Шилова И.В., 179
Широкова А.В., 477
Шишкина Л.Н., 181
Шоева О.Ю., 456
Шугаев А.Г., 238
Шукурова М.Х., 262
Шумова О.А., 139
Щербаков А.В., 473
Эль-Регистан Г.И., 598
Эрматов А.М., 632, 636, 691
Эшбакова К.А., 186
Юрасов Н.А., 162
Юшкова Е.А., 694
Ягольник Е.А., 191, 560
Яковинин Л.А., 482
Якубова Р.А., 636
Яланецкий А.Я., 697
Яруллина Л.Г., 483
Яруллина Л.М., 483
Яшин А.Я., 700, 706
Яшин Я.И., 700, 706
Abaildayev A.O., 796
Abdulladjanova N., 713
Abibullaeva G.A., 776
Abilova G.A., 737
Adekenov S.M., 719
Afanas'eva P.V., 776
Akca H., 782
Akhatova A.R., 774
Akhmerova L.R., 790
Akritidou Ch.P., 714
Akulov A.N., 743
Alekseeva O.M., 714
Alexandrova V.A., 713
Aliev K., 744
Aliev O.I., 794
Alimova M.T., 795
Ambros E.V., 757
Amirkulova A.Zh., 796
Ammosov A.C., 760
Andysheva E.V., 737
Anishchenko A.M., 794
Avdeeva E.Yu., 713
Avidzba Yu.N., 797
Aykut C., 721
Azarova O.V., 776
Babaeva H.Y., 787
Babitsky A.Ph., 738
Bahtenko E.Yu., 738, 741
Bazhakanova S.K., 727
Bekuzarova S.A., 739
Belchenko A.S., 795
Beloborodov V.L., 777, 780, 781, 797
Belostotskaya I.S., 716
Belyy V.A., 759
Berezina E.V., 739, 740
Bezmaternykh K.V., 777
Bezrukova M.V., 739
Blinova I.P., 779
Bobok M.N., 731
Borisenko N.I., 725
Borisenko S.N., 725
Borisova G.G., 750
Borodina N.V., 715

Boutsanets P.A., 741
Boynik V.V., 714
Branovitskaya T.Yu., 776, 786, 798
Brilkina A.A., 739, 740
Bryukhanov V.M., 776
Bubenchikova V.N., 778, 788, 790
Budantsev A.L., 793
Budarin S.N., 751
Bulatova A.A., 740, 741
Bulatova S.V., 741
Buravlev E.A., 731
Buravlev E.V., 735
Buravleva K.V., 731
Burlakova E.B., 717, 720, 732, 781, 791
Burygin G.L., 793
Buzuk G.N., 740
Chebonenko O.V., 796
Chernysheva G.A., 794
Chesnokova A.N., 734, 791
Chmeleva S.I., 786
Chukicheva I.Yu., 730, 734
Chupakhina G.N., 770, 771
Consonni R., 744
Cusano E., 744
Davlyatnazarova Z.B., 744
Deineka L.A., 779
Deineka V.I., 779
Demeshko O.V., 716
Denisova M.N., 717
Dihtirev S.I., 760
Dikusra E.A., 793
Ditchenko T.I., 744
Dmitrieva A.N., 780
Docimo T., 744
Doikova D.O., 733
Domnina N.S., 713, 767
Donetskih V.I., 771
Dubrovskaya A.M., 780, 781
Dudareva L.V., 747
Dutova S.V., 728
Dzhararidze I., 733
Egorova A.V., 780
El'-Registan G.I., 791
Enina O.L., 752
Ermatov A.M., 794, 795, 801
Erokhin V.N., 781
Evstigneyev E.I., 747
Faезova G.F., 773
Faskhiev V.N., 759
Fatkullina L.D., 714, 720, 732, 791
Fedonenko Y.P., 793
Fedorova I.V., 734
Feduraev P.V., 770, 771
Feller S.V., 762
Fenko A.A., 770
Fershalova T.D., 786
Filippov A.G., 799
Filonova O.V., 725
Fomenko S.E., 799
Fursa N.S., 798
Gabotti D., 744
Gadetskaya A.V., 717
Gaidin C.G., 787
Galambosi B., 753
Galibina N.A., 763
Garanina Yu.D., 739, 740
Gladcaia A., 742
Glotova I., 749
Goloschapov A.N., 714, 717, 720
Golubeva E.V., 763
Goncharova N.V., 716
Goncharuk E.A., 743, 749
Gontovaya T.N., 718
Gorbunova J.V., 715
Gorchakova Yu.A., 743
Gorcova A.S., 798
Gordeeva E.I., 771
Gorkavenko F.V., 798
Graskova I.A., 747
Grishkovets V.I., 774
Gulyaev A.Y., 779

Gumerova E.A., 743
Gurbanov G.M., 718
Gvasaliya M.V., 763
Hahutaishvili M., 733
Iksanova G.R., 790
Ilyasov I.R., 780, 781
Isaev D.I., 718
Isaev R.F., 774
Ishmuhametova S.R., 782
Islyamova A.A., 790
Ivachenko L.E., 758
Ivanitskikh A.S., 748
Ivanova E.P., 718
Ivanova R.A., 748
Kabanova A.D., 725
Kadorkina G.K., 774
Kalashnikova E.A., 721, 749, 765
Kalenikova E.I., 787
Kalytka V.V., 768
Kapich A.N., 733
Karagur E.R., 782
Karamov E., 713
Karpova E.A., 786
Karytsko L.A., 752
Kasenov B.K., 719
Kasanova Sh.B., 719
Kasimova R.I., 774
Kaybulaeva R.S., 786
Kazantseva D.S., 795
Kazantseva V.V., 749
Kemertelidze E., 726
Khaitbaev A.Kh., 733
Khlestkina E.K., 771
Kholmogorov S.V., 772
Khramova E.P., 737, 772
Khrustova N.V., 735
Kim Yu.A., 714, 736, 787
Kirakosyan R.N., 749
Kiryanova V.A., 787
Kislitsina M.N., 750
Kletskov A.V., 793
Klimenko I.V., 719
Kolkhir V.K., 777, 797
Kolychev I.A., 788
Komarov A.A., 751
Komissarenko A.N., 795
Komissarova N.L., 716
Kondrat'eva V.V., 752
Kondratiev M.N., 751
Kondratova J.A., 788
Konnova S.A., 793
Korik E.O., 740, 741
Koroleva A.A., 734
Korulkin D.Yu., 727, 728, 788, 792
Korzh E.N., 774
Koshevoy O.N., 788, 793, 795
Kosman V.M., 753
Kostikov D.K., 720
Kostikova V.A., 720
Kostyanovsky R.G., 774
Kosyan A.M., 769
Kosyk O.I., 769
Kotsupiy O.V., 757
Kovalenko N.M., 767
Kovalev V.N., 718
Kovalitskaya Yu.A., 750
Kovalyov V.N., 715, 716
Kovalyova A.M., 797
Kozlov M.V., 735
Kozlova Z.G., 719
Krasnikova T.A., 788
Krasnov E.A., 713
Krasnova M.A., 791
Kravchuk K.A., 744
Krementsova A.V., 781
Krivandin A.V., 720
Krivoshchekov S.V., 730
Krutius O.N., 774
Ktsoeva M.S., 739
Kuchin A.V., 730
Kudarova A.N., 729
Kukushkina T.A., 779
Kulchenko Ya.Yu., 779
Kulik A.S., 768

Kunz T., 734
 Kurapov P.B., 738
 Kurkin V.A., 780, 789, 795
 Kurkina A.V., 776, 789
 Kushnarevich D.A., 721, 779
 Kushnerova N.F., 790
 Kutchin A.V., 734, 735
 Kuzakova O.V., 761
 Kuzmichova N.A., 740, 758
 Kuznetsova V.A., 758
 Kuznetsova V.E., 761
 Lachin S.A., 758
 Lantsev V.L., 758
 Lapin A.A., 790
 Lapshin P.V., 763, 764
 Larikova Yu.S., 751
 Lastochkina O.V., 762, 782
 Latypova G.M., 790
 Lebedev V.G., 759
 Lekar A.V., 725
 Litvinenko V.I., 760, 767
 Lobanov A.V., 719
 Locatelli F., 744
 Logvinov S.V., 794
 Loiko N.G., 791
 Lomovatskaya L.A., 761
 Lubitskiy O.B., 731
 Lubyanova A.R., 739
 Lutsky V.I., 734, 791
 Makagonov A.J., 798
 Makarov V.G., 753
 Makarova L.E., 761
 Makarova N.V., 778, 780
 Makeeva I.Yu., 761
 Maksimenko E.V., 725
 Maksimov I.V., 774
 Malenkovskaya M.A., 725
 Malkova A.V., 716
 Malyarovskiy V.I., 763
 Mammadov R., 721, 765, 782
 Manzhelesova N.Y., 761
 Marakaev O.A., 772
 Marchenko R.D., 730
 Markin V.I., 762
 Maslennikova D.R., 762
 Maslova N.F., 760
 Mattana M., 744
 Matyushchenko N.V., 762
 Mavlyanov S., 713, 734
 Mazaletskaya L.I., 735
 Mechikova G.Y., 762
 Medvedeva N.A., 793
 Medvedeva S.A., 728
 Melnikova E.V., 752
 Mertvicheva M.E., 715
 Mertvishcheva M.E., 771
 Methner F.-J., 734
 Mil E.M., 726
 Mironov A.I., 770
 Misharina T.A., 791
 Moiseyenko L.M., 750
 Momot T.V., 790, 792
 Morozova T.V., 789
 Motorin V.S., 716
 Motyleva S.M., 715, 771
 Mukusheva G.K., 719
 Murzagulova K.B., 721
 Muzafarov E.N., 736, 787
 Muzashvili T., 726
 Muzychkina R.A., 727, 728, 788, 792
 Myadelets M.A., 728
 Myga M.M., 793
 Mykhailenko O.O., 718
 Namazov O.M., 795
 Nazarenko L.V., 743, 763
 Nazirova Ya.K., 801
 Nechaeva T.L., 763, 764
 Nedved E.L., 752
 Nemzer B., 802
 Nikerova K.M., 763
 Nikolaeva T.N., 764
 Nuraliev R.M., 728
 Oktyabrsky O.N., 777, 796
 Olecknovich L.S., 752
 Oleszek W., 726

Onegin S.V., 798
Osipenko A.N., 794
Ossipov V.I., 764
Ostronkov V.S., 758
Ovsyannikova M.N., 716
Ozay C., 721, 782
Pankratov A.N., 733
Patunina A.S., 739
Pavlova L.A., 731
Pavlova T.V., 797
Pecio L., 726
Petkevich S.K., 793
Petrova G.A., 765
Petrova N.V., 793
Petruk A.A., 720, 757
Petrulina A.A., 793
Plotnikov M.B., 794, 800
Pogodaeva N.N., 728
Poliakova N.V., 767
Polunin K.E., 729
Polunina I.A., 729
Polyakov N.A., 764
Polyakova L.V., 767
Popova E.V., 767
Popova N.V., 760
Popova T.P., 760
Potkin V.I., 793
Pozharitskaya O.N., 753
Pravdivtseva O.E., 789
Priss O.P., 768
Prokof'eva T.I., 716
Puchkova T.A., 733
Pugashova N.M., 725
Punegov V.V., 801
Pusenkova L.I., 782
Puzina T.I., 758, 761
Rakhmadiyeva S.B., 721, 729, 779
Rasadkina E.N., 725
Rat'kin A.V., 768
Rejepov K.J., 794, 795, 801
Repkina N.S., 770
Romanenko E.A., 795
Roshchin V.I., 732
Rumyantseva N.I., 743
Ryzhov V.M., 795
Sagintaeva Zh.I., 719
Sakhno T.V., 769
Salikhov Sh., 713
Samoilova Z., 796
Sanzhiev A.N., 730
Sapko O.A., 796
Savvateev A.M., 777, 797
Scherbakov A.V., 773
Schestibratov K.A., 750
Selivanova I.A., 798, 800
Semak I.V., 740, 741
Semenov V.A., 781
Serdyuk M., 769
Serdyuk O.P., 718
Shakirova F.M., 739, 762
Shaldaeva T.M., 800
Shamanaev A.Yu., 800
Shamuratov B., 734
Shapchits M.P., 740, 741
Shatalova O.V., 720
Shatilo V.I., 752
Shavarda A.L., 793
Shelepova O.V., 752
Sheludchenko N.I., 735
Shertaeva N.T., 729
Shestibratov K.A., 759
Shevchenko O.G., 735
Shikov A.N., 753
Shilova I.V., 735
Shirokova A.V., 774
Shishkina L.N., 735
Shoeva O.Y., 771
Shugaev A.G., 741
Shukurova M.H., 744
Shumova O.A., 730
Sidehmenova A.V., 794, 800
Smirnov A.E., 769
Smirnova G.V., 777, 796
Smolyakova V.I., 794
Smolygina L.D., 718

Sprygin V.G., 797
 Starchak Yu.A., 778
 Stepanova T.A., 762
 Stochmal A., 726
 Stratulat T., 742
 Struchkov P., 797
 Suhov B.G., 728
 Sukrusheva O.V., 730
 Syachinova N.V., 716
 Sydora N.V., 797
 Talanov A.A., 798
 Talanova V.V., 770
 Tarahovsky Y.S., 736, 787
 Tarakanov I.G., 748
 Taran N.Yu., 769
 Tatsenko N.A., 770
 Terehov R.P., 798
 Teselkin Yu.O., 731
 Titei V.G., 748
 Tiukavkina N.A., 798
 Todoras V., 742
 Tranchuk N.V., 732
 Trembach J.A., 771
 Tretyakov V.O., 798
 Tsivileva O.M., 733
 Tsybulya N.V., 786
 Tsymbal O.A., 733
 Tsypurskaya E.V., 773
 Tugbaeva A.S., 750
 Tursunova A.K., 796
 Tuterev S.L., 767
 Tyukavkina N.A., 781, 800
 Upadyshev M.T., 771
 Usmanov I.Yu., 773
 Utarbayeva A.Sh., 796
 Valitova L.A., 782
 Vanidze M., 733
 Vedenin A.N., 802
 Veselov A.P., 740
 Vetrova E.V., 725
 Vlasova E.V., 715
 Voinikov V.K., 747
 Vol'eva V.B., 716
 Volodin V.V., 777
 Volodina S.O., 777
 Volynets A.P., 742, 761, 767
 Voronin M.S., 778
 Voronkova M.S., 779
 Voronkova T.V., 752
 Voskoboynikova I.V., 777, 797
 Vovk G.V., 793
 Vysochina G.I., 720
 Yagolnik E.A., 736, 787
 Yakovishin L.A., 774
 Yakubova R.A., 795
 Yalanetsky A.Ya., 802
 Yarullina L.G., 774
 Yarullina L.M., 774
 Yashin A.Ya., 802
 Yashin Ya.I., 802
 Yurasov N.A., 733
 Yushkova E.A., 801
 Zagorskina N.V., 749, 763, 764, 773
 Zainullin V.G., 801
 Zaitsev G., 774
 Zakharova N.G., 777
 Zavarykina T.M., 732
 Zdankina A.A., 794
 Zelenkov V.N., 790
 Zhanimhanova P.Zh., 719
 Zhavoroncova M.E., 798
 Zhigacheva I.V., 717
 Zhivetiev M.A., 747
 Zhivuhina E.A., 749
 Zhizhina G.P., 732
 Zhuravleva T.S., 719
 Zhusupova G.E., 717
 Zhusupova A.I., 717
 Ziyaev Kh.L., 794, 795, 801
 Ziyavitdinov Z., 713
 Zolotaikina M.Yu., 718
 Zverev Ya.F., 776

ФЕНОЛЬНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ: ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ И ПРИКЛАДНЫЕ АСПЕКТЫ

СБОРНИК МАТЕРИАЛОВ IX МЕЖДУНАРОДНОГО СИМПОЗИУМА

Москва, 20 -25 апреля 2015 года

Издание подготовлено в авторской редакции

Оригинал-макет П.В.Лапшин
Технический редактор:
А.Д.Лысенко

Гарнитура "Ариал", уч.-изд.л. 40,12 Тираж 250 экз.

Подписано в печать 15.4.2015 Заказ №106

Отпечатано в ООО "ИПЦ "Маска""

Москва, Научный проезд, 20. Тел. +7 495 510 32 98

www.maska.su, info@maska.su