



В номере

СТАТЬИ

- Володин В., Шадрин Д., Пылина Я., Володина С., Родионов А., Ткаченко К.**
Молекулярно-филогенетический подход в изучении распространения
фитостероидов в растениях 2
- Шадрин Д., Володина С., Володин В., Цицилин А.** Пажитник сенной –
продуцент стероидных гликозидов в культуре на Севере 6
- Алексеева Л., Груздев И., Быструшкин А., Тетерюк Л.** Химический состав
эфирного масла эндемичных тимьянов европейского северо-востока России и Урала . 9
- Ширшова Т., Бешлей И. Матистов Н.** Представители рода *Allium*
как перспективный источник биологически активных веществ и микронутриентов 15
- Уфимцев К., Пестов С.** Консортивные связи экидистероидсодержащих растений
рода *Serratula* (*Asteraceae*) 21
- Петрова Н., Володин В., Володина С., Стрелкова М.** Действие экидистероид-
содержащей субстанции Серпистен на физико-химические свойства
мембраны эритроцитов и состояние симпато-адреналовой системы крыс 24
- Карманов А., Кочева Л., Борисенков М.** Антиоксидантные свойства лигнинов 31
- Донцов А.** Активация пектинолитических ферментов в процессе очистки.
Эффект использования сильных ионитов 35
- Тарабукин Д.** Мультиэнзимные композиции для обработки трудноусвояемых
компонентов кормов для птиц и моногастричных животных 38
- Щемелинина Т.** Липазная активность в качестве диагностического критерия оценки
нефтезагрязненных почв 40
- Чадин И., Володин В.** Применение аэрофотосъемки для решения задач
ботанического ресурсоведения 41

КОНФЕРЕНЦИИ

- Володин В.** Второе международное совещание по фитоэкидистероидам 45
- Володин В.** Международные семинары ученых России и стран АСЕАН
«Применение современных биотехнологий в пищевой промышленности» 47

ВЫСТАВКИ

- Хозяинова Ю.** Пятая биотехнологическая выставка-ярмарка «РосБиоТех-2011» 48

Издается
с 1996 г.

Главный редактор: д.б.н. С.В. Дегтева
Зам. главного редактора: к.б.н. И.Ф. Чадин
Ответственный секретарь: И.В. Рапота
Редакционная коллегия: д.б.н. В.В. Володин, к.х.н. Б.М. Кондратенко,
к.б.н. Е.Г. Кузнецова, к.б.н. Е.Н. Мелехина, д.б.н. А.А. Москалев,
к.б.н. А.Н. Петров, к.с.-х.н. Н.В. Портнягина, д.б.н. Г.Н. Табаленкова,
к.с.-х.н. А.Л. Федорков, к.б.н. Т.П. Шубина

**МОЛЕКУЛЯРНО-ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОДХОД
В ИЗУЧЕНИИ РАСПРОСТРАНЕНИЯ ФИТОСТЕРОИДОВ В РАСТЕНИЯХ**



В. Володин



Д. Шадрин



Я. Пылина



С. Володина



А. Родионов



К. Ткаченко

При исследовании распространения отдельных групп вторичных метаболитов в царстве растений широко используется принцип филогенетического родства, который позволяет выявить новые источники биологически активных веществ [1]. Однако в некоторых случаях искусственность существующих систем классификации не позволяет установить филогенетическое родство растений. В последнее время в этих целях наряду с основными на морфолого-анатомических признаках системами применяют молекулярно-генетические методы, основанные на сравнении последовательностей ДНК. Ранее в рамках международного проекта INTAS (1998-2000 гг.) с участием лаборатории биохимии и биотехнологии Института биологии Коми НЦ УрО РАН была сделана попытка применения молекулярно-филогенетического подхода в изучении закономерностей распространения фитоэктистероидов (растительных аналогов гормонов насекомых) в сем. Caryophyllaceae [3]. Более обширные исследования на основе хемотаксономического и молекулярно-филогенетического подходов в изучении распределения алкалоидов и непротеиногенных аминокислот на примере сем. Fabaceae были проведены М. Винком [12].

Настоящая работа направлена на выявление закономерностей распространения двух биогенетически близких групп фитостероидов: сапонинов (на примере сем. Fabaceae) и эктистероидов (на примере трибы Cardueae, сем. Asteraceae).

Материалы и методы

Для определения содержания вторичных метаболитов использованы известные экспрессные фи-

зико-химические и биологические методы тестирования растений: способность к пенообразованию, гемолизу эритроцитов для сапонинов [4] и радиоиммунный анализ для эктистероидов [5], а также ТСХ- и ВЭЖХ-хроматография. Для установления тонкой структуры соединений использовали методы масс-спектрометрии и ЯМР-спектроскопии. Для выявления закономерностей распространения сапонинов и эктистероидов реконструирована молекулярная филогения сем. Fabaceae и трибы Cardueae, сем. Asteraceae. При проведении анализа близкородственных таксонов использовали последовательности внутренних транскрибируемых спейсеров ITS1 и ITS2 из базы данных Национального центра биотехнологической информации США (GenBank). Последовательности генов выравнивали вручную и с помощью программы ClustalW, входящей в пакет программ MEGA 4. Нами использованы метод максимальной парсимонии и метод объединения ближайших соседей. Генетические расстояния рассчитывали, исходя из модели Таджима-Неи (для сем. Fabaceae) и Kimura-2 (для сем. Asteraceae) [10].

Результаты и обсуждения

На содержание тритерпеновых и стероидных гликозидов исследовано 93 образца 47 видов растений из 14 родов сем. Fabaceae (см. таблицу). Установлено, что подавляющее большинство изучаемых видов содержит тритерпеновые гликозиды. Стероидные гликозиды обнаружены у представителей родов *Trigonella* (триба *Trifolieae*), *Thermopsis* (*Thermopsidae*) и *Coronilla* (*Loteae*). Распределение стероидных и тритерпеновых сапонинов часто является взаимноисключающим, что может указывать на более

Володин Владимир Витальевич – д.б.н., проф., зав. лабораторией биохимии и биотехнологии. E-mail: volodin@ib.komisc.ru. Область научных интересов: *биотехнология растений*.

Шадрин Дмитрий Михайлович – м.н.с. этой лаборатории. E-mail: shdima@ib.komisc.ru. Область научных интересов: *биологически активные вещества растений*.

Пылина Яна Игоревна – аспирантка этой же лаборатории. E-mail: pylina@ib.komisc.ru. Область научных интересов: *биологически активные вещества растений*.

Володина Светлана Олеговна – к.б.н., с.н.с. этой же лаборатории. E-mail: volodina@ib.komisc.ru. Область научных интересов: *растительные ресурсы, технология растительного сырья*.

Родионов Александр Викентьевич – д.б.н., проф., зав. лабораторией биосистематики и цитологии Ботанического института им. В.Л. Комарова РАН (Санкт-Петербург). E-mail: avrodionov@mail.ru. Область научных интересов: *биосистематика и цитология*.

Ткаченко Кирилл Гаврилович – к.б.н., руководитель группы интродукции полезных растений и семеноведения Ботанического сада этого же Института. E-mail: kigatka@gmail.com. Область научных интересов: *ботаника, ресурсы и интродукция полезных растений*.

Распространение тритерпеновых (ТГ) и стероидных (СГ) гликозидов в сем. Fabaceae Lindl. по данным литературы (верхняя строка) и эксперимента (нижняя строка)

Триба, род	Общее количество видов	ТГ	СГ
Триба Hedysareae			
Hedysarum L.	6	3	—
Onobrychus Hill.	1	—	—
	4	4	—
Триба Loteae			
Anthyllis L.	2	1	1
Coronilla	1	—	1
	1	—	1
Триба Tripholeae			
Medicago L.	9	9	—
Melilotus L.	3	3	—
	2	1	1
Tripholium L.	2	2	—
	4	3	—
	9	9	—
Trigonella L.	5	—	4
Ononis L.	2	—	2
	4	—	—
Триба Genisteae			
Lupinus L.	1	1	—
	1	1	—
Chamaecytisus Link.	1	—	—
	—	—	—
Триба Phaseoleae			
Phaseolus L.	1	1	—
	1	1	—
Glicine Willd	1	1	—
	—	—	—
Триба Galegeae			
Astragalus L.	24	13	—
	4	4	—
Caragana Fabr	4	1	—
	1	1	—
Galega L.	2	—	—
	—	—	—
Glycyrriza L.	4	4	—
	—	—	—
Halimadendron DC.	1	—	—
	—	—	—
Oxytropis DC.	9	9	—
	2	2	—
Триба Viciaeae			
Lathyrus L.	1	1	—
	4	4	—
Vicia L.	8	8	1
	4	4	—
Pisum L.	1	1	—
	1	1	—
Триба Thermopsidae			
Thermopsis R.Br.	1	—	—
	3	—	3
Baptisia	1	1	—
	2	2	—
Сумма	94	58	8
	47	41	6

Примечание: прочерк – соединение отсутствует.

экономичное использование защитных ресурсов растений. Тем не менее, в литературе имеются сведения о том, что вид *Vicia tenuifolia* L. содержит и тритерпеновые, и стероидные гликозиды [4], что, на наш взгляд, требует дополнительных исследований, доказывающих возможность одновременного присутствия двух типов сапонинов в растениях.

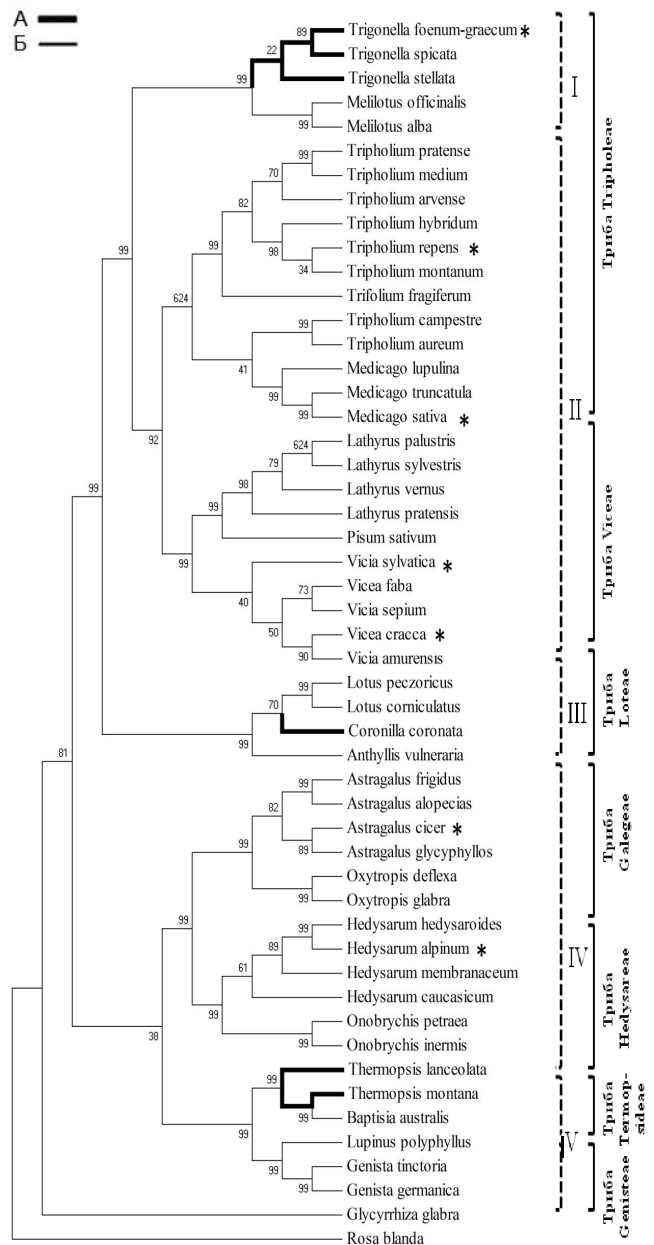


Рис. 1. Филогенетическое древо растений сем. Fabaceae Lindl. Выделены виды, содержащие стероидные (А) и тритерпеновые (Б) гликозиды. Отмечены (*) виды, ITS-последовательности которых получены нами; I-V – клады. Здесь и далее: цифры – коэффициент Бутстрэпа.

Наличие стероидных гликозидов в трибе Trifolieae в роде *Trigonella* и у вида *Melilotus tauricus* [6], в трибе Loteae в р. *Coronilla* и у вида *Anthyllis macrocephala* [2], а в трибе Thermopsidae – только в р. *Thermopsis*, но не у других представителей этой трибы, позволило заметить, что в сем. Fabaceae стероидные гликозиды присущи видам и родам, не связанным монофилитическими отношениями на уровне триб, к которым они принадлежат (рис. 1), и обнаружены только у некоторых филогенетически обособленных таксонов в трибах Loteae, Thermopsidae и Trifolieae. При этом в трибе Trifolieae стероидные гликозиды обнаружены только в родах *Trigonella* и *Melilotus*, которые на молекулярно-филогенетической кладограмме образуют отдельную кладу, обособленную от других представителей данной

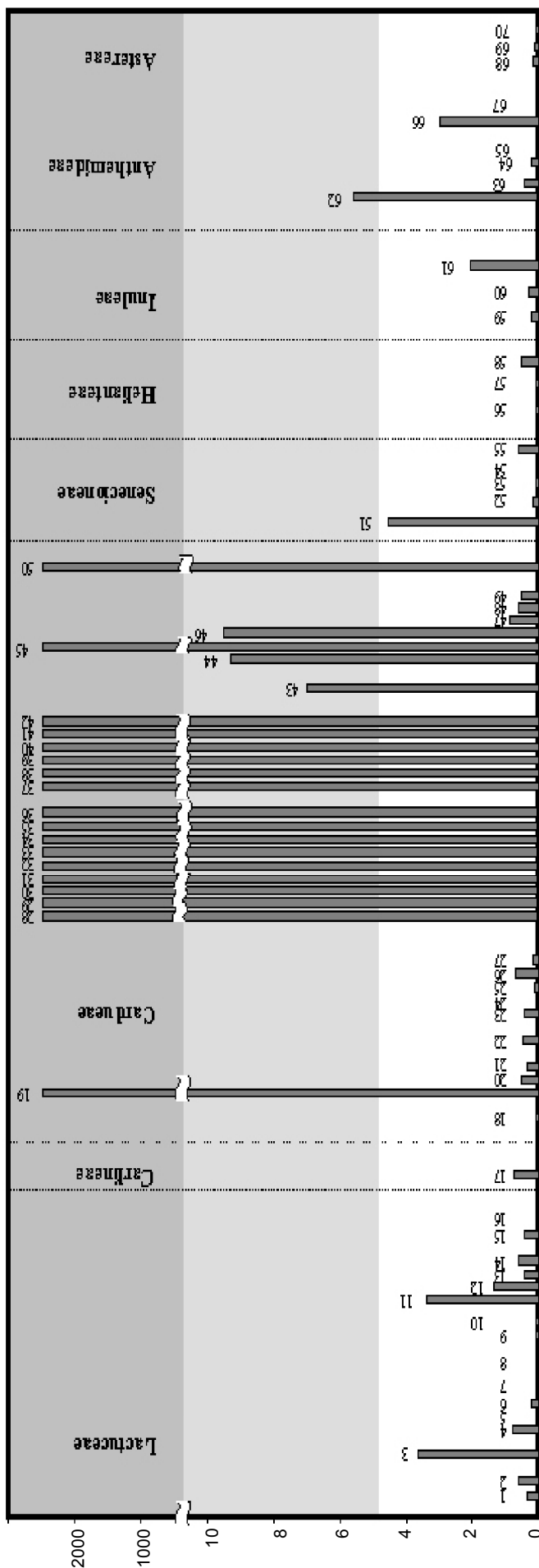


Рис. 2. Распространение экидистероидов в сем. Asteraceae [5].
LACTUCOIDEAE – Lactuceae: 1 – *Hieracium sibiricum*, 2 – *H. umbellatum*, 3 – *Leontodon autumnalis*, 4 – *Picris hieracioides*, 5 – *P. hieracioides*, 6 – *P. umbellatum* (корни), 7 – *P. umbellatum* (стебли), 8 – *Scorzonera humilis*, 9 – *Lactuca sativa*, 10 – *L. tatarica*, 11 – *Crepis paludosa*, 12 – *C. praemorsa*, 13 – *C. sibirica*, 14 – *C. tectorum*, 15 – *Taraxacum officinale*, 16 – *Sonchus asper*.
Cardiferae: 17 – *Carlina* sp.; **Cardueae:** **Carduineae:** 18 – *Arctium tomentosum*, 19 – *Saussurea latifolia*, 20 – *S. alpina*, 21 – *S. parviflora*, 22 – *Carduus nutans*, 23 – *Cirsium heterophyllum*, 24 – *C. oleraceum*, 25 – *C. palustre*, 26 – *C. setosum*, 27 – *C. vulgare*. **Cardueae:** **Centauriineae:** 28 – *Serratula algida*, 29 – *S. centaurioides*, 30 – *S. coronata*, 31 – *S. inermis*, 32 – *S. lyratifolia*, 33 – *S. procumbens*, 34 – *S. quinquefolia*, 35 – *S. sogdiana*, 36 – *S. xeranthemoides*, 37 – *Rhaponticum carthamoides*, 38 – *Rh. integrifolium*, 39 – *Rh. karatavicum*, 40 – *Rh. lyratum*, 41 – *Rh. nitidum*, 42 – *Rh. pulchrum*, 43 – *Acroptilon repens*, 44 – *Centauria scabiosa*, 45 – *C. americana*, 46 – *C. rothrockii*, 47 – *C. phytgia*, 48 – *C. jacea*, 49 – *C. fischeri*, 50 – *Amberboa moschata*.
ASTEROIDEAE – Senecioneae: 51 – *Ligularia sibirica*, 52 – *Petasites spurius*, 53 – *Cacalia nastata*, 54 – *Senecio nemorosensis*, 55 – *S. vulgaris*; **Heliantheae:** 56 – *Bidens cernua*, 57 – *B. tripartita*, 58 – *Ambrosia* sp.; **Inuleae:** 59 – *Antennaria dioica*, 60 – *Omalotheca sylvaticum*, 61 – *Inula salicina* L.; **Anthemideae:** 62 – *Achillea millefolium*, 63 – *A. ptarmica*, 64 – *Matricaria recutita*, 65 – *M. suaveolens*, 66 – *Leucanthemum vulgare*, 67 – *Artemisia campestris*; **Astereae:** 68 – *Solidago virgaurea*, 69 – *Erigeron acris*, 70 – *E. canadensis*.
 Высокие концентрации (□), обнаруживаются традиционными методами (положительный ответ в биотесте), умеренные концентрации (▨), обнаруживаются РИА (отрицательный ответ в биотесте). По вертикали: – содержание экидистероидов, мкг/г сухого вещества.

трибы, что в свою очередь отражает эволюцию этих таксонов. На данном этапе исследования выявленная нами закономерность не может быть истолкована однозначно. С одной стороны, ее можно объяснить тем, что гены, кодирующие биосинтез ферментов, ответственных за синтез стероидных гликозидов, были приобретены в процессе эволюции в нескольких таксонах независимо друг от друга. С другой стороны, не исключена и гипотеза о том, что эти гены были приобретены на ранних этапах эволюции цветковых растений, однако их экспрессия происходит только в определенных таксонах, что находит свое отражение и на уровне изучаемого семейства. Тот факт, что тритерпеновые гликозиды являются характерными для подавляющего числа видов растений подсемейств Caesalpinioideae, Mimosoideae и большинства триб подсемейства Papilionoideae (сем. Fabaceae), куда входят исследованные нами виды, указывает на генетическую предрасположенность видов этого семейства к биосинтезу сапонинов именно этой группы.

Закономерности распространения тритерпеновых и стероидных гликозидов среди представителей сем. Fabaceae использованы нами для составления хемотаксономического прогноза их обнаружения во флоре европейского северо-востока России. Таким образом, большинство видов флоры содержит тритерпеновые гликозиды, стероидные гликозиды можно искать в растениях триб Loteae, Thermopsidae и Trifolieae, не связанных монофилетическими отношениями.

Ранее считалось, что не существует связи между распространением экидистероидов и филогенетической классификацией растений, поскольку экидистероиды встречаются как в филогенетически близких, так и удаленных семействах. Внутри семейств и даже внутри родов могут

встречаться как экистероидсодержащие, так и лишённые этих соединений виды [9]. Имеются сведения, что едва ли не все виды растений содержат следовые количества экистероидов, обнаруживаемые с помощью радиоиммунного анализа в концентрации менее 4 мкг/г [5]. В некоторых из исследованных видов с помощью биотеста на культуре клеток *Drosophila melanogaster* были обнаружены высокие, т.е. гормонально активные по отношению к насекомым, концентрации экистероидов. Таким образом, признак гормонально активной концентрации экистероидов закреплён на внутрисемейственном уровне в трибах, хотя эта закономерность и не носит абсолютного характера. Это свидетельствует о том, что гены, кодирующие ферменты биосинтеза экистероидов, присутствуют у всех растений, но их выраженная экспрессия происходит только в группах близкородственных видов, ограниченных определёнными родами и трибами, в которых, по видимому, экистероиды выполняют экологическую функцию.

В сем. Asteraceae, насчитывающем по разным источникам 20-25 тыс. видов, экистероиды обнаружены только у представителей трибы Cardueae. На основании данных GenBanka нами было построено молекулярно-филогенетическое древо трибы Cardueae подсемейства Lactucoideae. Эта триба включает две подтрибы Carduinae (B), виды которой содержат экистероиды только в следовых количествах, и Centaureinae (A), которая, по данным В.В. Володина и И.Ф. Чадина, включает виды (рис. 2) с экологически значимой концентрацией, т.е. «положительные» в биотесте [5]. Подтриба Centaureinae образует обособленную кладу, включающую две подклады (A1 и A2) с высоким коэффициентом Бутстрепа (рис. 3). Следует отметить, что виды, давшие отрицательную реакцию в биотесте, представлены двумя родами *Carthamus* и *Centaurea* и образуют подкладу A1. На молекулярно-филогенетическом древе подкладу A2 образовали виды, давшие положительную реакцию в биотесте и представленные родами *Rhaponticum*, *Acroptilon*, *Amberboa*, *Serratula*, *Centaurea*. Причем в р. *Centaurea* из 11 исследованных видов значительное содержание экистероидов было обнаружено только у *C. americana* и *C. moschata* [11]. Важно отметить, что последний из приведенных видов согласно флоре СССР относится к р. *Amberboa* [7] – филогенетически близкого р. *Acroptilon*. Исходя из данного замечания, уже не кажется неожиданным обнаружение нами высокого содержания экистероидов как в образцах растений *Acroptilon*

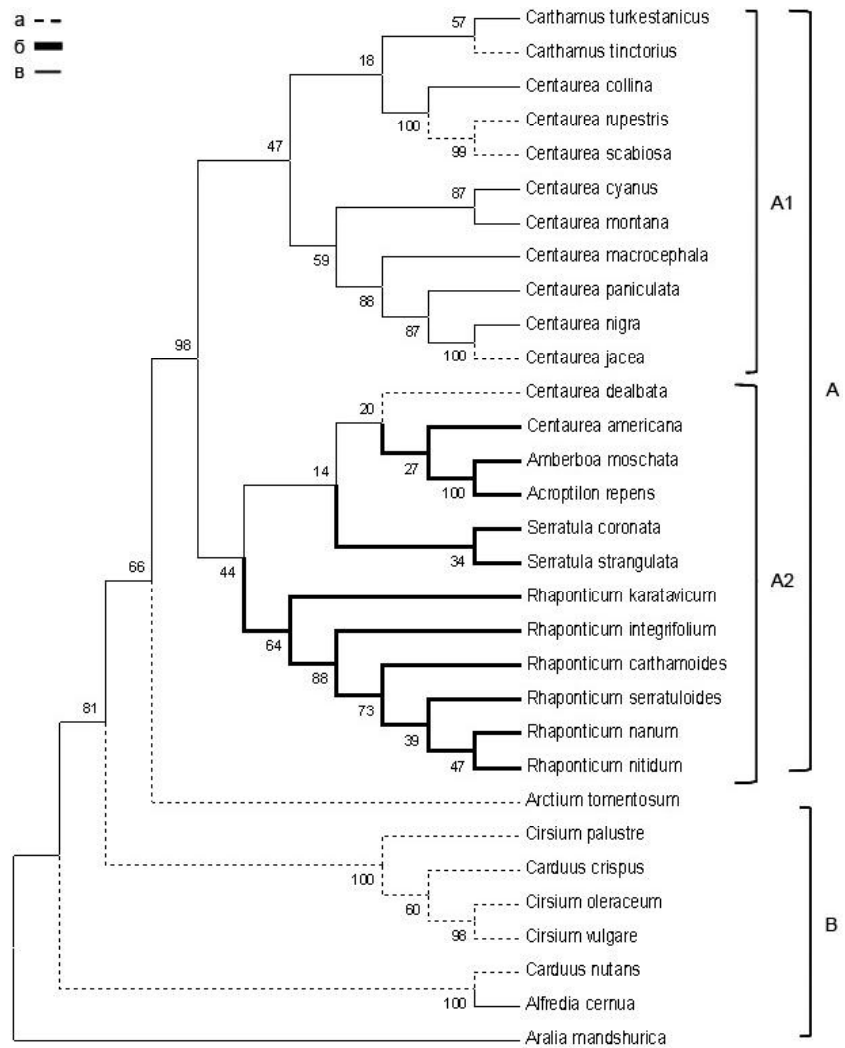


Рис. 3. Филогенетическое древо растений трибы Cardueae сем. Asteraceae Dumort.: подтрибы Centaureinae (A) с подкладами A1 и A2 и Carduinae (B). Выделены виды с нулевой и низкой концентрацией фитоэкистероидов, определенных с помощью РИА(а), виды с концентрацией, дающей «положительный» ответ в биотесте (б) и виды, не содержащие экистероидов (в).

repens, так и в *Amberboa moschata* (= *C. moschata*). Полученные нами данные соответствуют представлению M. Dittrich о разделении подтрибы Centaureinae на основании анатомических, морфо- и палинологических признаков на группы родов, согласно которому *Acroptilon* входит в одну группу с экистероидсодержащими родами *Rhaponticum* и *Serratula*, а роды *Carthamus* и *Centaurea* принадлежат другой группировке родов [8], представители которых не содержат значимых концентраций экистероидов. На построенном нами молекулярно-филогенетическом древе представители родов *Acroptilon* и *Amberboa* имеют общего, предположительно экистероидсодержащего предка. Выявленные нами закономерности в распространении экистероидов в трибе Cardueae позволяют разработать научно обоснованный прогноз обнаружения этих соединений в сем. Asteraceae, а также открывают возможность использования данных хемотаксономии и молекулярной филогении для уточнения систематического положения некоторых спорных видов, например, в р. *Centaurea*.

Выводы

При помощи молекулярно-генетических методов, основанных на сравнении последовательностей ДНК, проведена филогенетическая реконструкция изучаемых нами видов сем. Fabaceae и трибы Cardueae (сем. Asteraceae). Показано, что большинство видов сем. Fabaceae содержат тритерпеновые гликозиды, а стероидные гликозиды обнаружены только у представителей некоторых филогенетически обособленных таксонов в трибах Loteae, Thermopsidae и Trifolieae. Установлено, что в сем. Asteraceae среди представителей трибы Cardueae виды с высоким содержанием экидистероидов образуют кладу, включающую представителей филогенетически близких родов *Rhaponticum*, *Serratula*, *Acroptilon*, *Amberboa* и *Centaurea*.

Таким образом, применение хемотаксономического и молекулярно-филогенетического подходов позволило выявить связи между распространением двух групп фитостероидов в растениях на внутрисемейственном уровне и оценить их значимость в качестве хемотаксономических маркеров, а также использовать для разработки научно обоснованного прогноза поиска ресурсных видов растений – продуцентов вторичных метаболитов.

Работа выполнена при финансовой поддержке программы Отделения биологических наук РАН «Биологические ресурсы России, оценка состояния и фундаментальные основы мониторинга» в рамках темы «Состояние ресурсов полезных растений европейского северо-востока России: мониторинг и разработка биотехнологических подходов по рациональному использованию и воспроизводству» (проект № 09-Т-4-1002).

ЛИТЕРАТУРА

1. *Высочина Г.И.* Хемотаксономический метод в подборе объектов интродукции // Ускорение ин-

тродукции растений Сибири. Новосибирск: Наука, 1989. С. 56-60.

2. *Галкин М.А., Казаков А.Л.* Дикорастущие полезные растения Северного Кавказа. Ростов-на-Дону, 1980. 128 с.

3. (*Зибарева Л.Н.*) Distribution of phytoecdysteroids in the Caryophyllaceae / *L. Zibareva, V. Volodin, L. Dinan et al.* // *Phytochem.*, 2003. Vol. 64. P. 499-517.

4. *Куваев И.Б., Блинова К.Ф.* Предварительная химическая оценка лекарственных растений тибетской медицины, произрастающих в Забайкалье // *Вопросы фармакогнозии. Л.*, 1961. Вып. 1. С. 213-262.

5. Фитоэкидистероиды / Под ред. В.В. Володина. СПб.: Наука, 2003. 293 с.

6. (*Ходаков Г.В.*) Triterpene and steroid saponins isolated from two *Melilotus* species / *G.V. Khodakov, Y.A. Akimov, A.S. Shashkov et al.* // *Adv. Exp. Med. Biol.*, 1996. Vol. 40, № 5. P. 405211-22.

7. *Черепанов С.К.* Сосудистые растения России и сопредельных государств. СПб., 1995. 992 с.

8. *Dittrich M.* Cynareae-systematic review // *The biology and the chemistry of Compositae* / Eds V.H. Heywood, I.B. Harborne, B.L. Turner. London, 1977. P. 999-1015.

9. *Lafont R., Bouthier A., Wilson I.D.* Phytoecdysteroids: structures, occurrence, biosynthesis and possible ecological significance // *Proceedings of Insect chemical ecology conference. Tabor (Czech)*, 1991. P. 197-214.

10. *Nei M., Kumar S.* Molecular evolution and phylogenetics. N.-Y.: Oxford Univ. Press, 2000. 333 p.

11. (*Sarker S.*) Occurrence of ecdysteroids in the genus *Centaurea* (Compositae): 20-hydroxyecdysone from *Centaurea moschata* / *S. Sarker, L. Dinan, P. Whiting et al.* // *Biochem. System. Ecol.*, 1997. Vol. 25. P. 367-368.

12. *Wink M.* Evolution of secondary metabolites from an ecological and molecular phylogenetic perspective // *Phytochem.*, 2003. Vol. 64. P. 3-19. ❖

ПАЖИТНИК СЕННОЙ – ПРОДУЦЕНТ СТЕРОИДНЫХ ГЛИКОЗИДОВ В КУЛЬТУРЕ НА СЕВЕРЕ

Установление характера распределения вторичных метаболитов по органам растений является важной предпосылкой для понимания роли этих соединений для самих растений, а также имеет практическое значение для определения оптимальных сроков заготовки растительного сырья.

Спиростаноловый гликозид диосцин и его фуростаноловый аналог протодиосцин (класс стероидных гликозидов) являются производными диосгенина – широко востребованного в фармацевтической промышленности в качестве полупродукта для синтеза кортикостероидов и получения гормональных лекарственных препаратов.



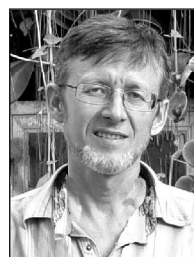
Д. Шадрин



С. Володина



В. Володин



А. Цицилин

Широкий спектр биологической активности стероидных гликозидов неизменно привлекал интерес исследователей [1, 4, 6, 10]. В 70–80-х годах прошлого века были разработаны препараты полиспонин, представляющий собой сухой экстракт из корневищ и

корней диоскореи nipponской (*Dioscorea nipponica* Makino), и трибуспонин, получаемый из травы якорцы стелющиеся (*Tribulus terrestris* L.). Оба препарата содержат сумму стероидных гликозидов и обладают гипохолестеринемической активностью. Три-

Цицилин Андрей Николаевич – к.б.н., директор ботанического сада Всероссийского научно-исследовательского института лекарственных и ароматических растений. E-mail: fitovit@gmail.com. Область научных интересов: *интродукция лекарственных растений*.

бупонин способствует уменьшению свертываемости крови, повышает тонус тонкого кишечника и обладает анаболической активностью [5, 8]. В 80-х годах во Всероссийском научно-исследовательском институте лекарственных и ароматических растений (Москва) из семян пажитника сеного (*Trigonella foenum-graecum* L.) был разработан антисклеротический препарат пасенин, однако из-за отсутствия сырьевой базы данный препарат не был зарегистрирован. За рубежом на основе семян пажитника сеного выпускают препараты антидиабетического (Fenumax) и гипохолестеринемического (Sterofen) действия.

Имеющиеся сведения о локализации биосинтеза стероидных гликозидов в растениях указывают на то, что стероидные гликозиды синтезируются в листьях в виде фураностаноловых производных, а при транспорте в подземные органы трансформируются в спиростаноловые аналоги (см. рисунок). На примере диоскореи дельтовидной (*Dioscorea deltoidea* Wall.) было показано, что этот процесс катализирует эндогенная специфичная β-глюкозидаза, обнаруженная в листьях растений [11]. Данный фермент в тканях корневищ и проростков растений костуса красивого (*Costus speciosus* (Koen.) Smith) в системе *in vitro* также трансформирует фураностаноловый гликозид протограцилин в его спиростаноловый аналог грацилин. Растения юкки славной (*Yucca gloriosa* L.) накапливают в листьях стероидные гликозиды в фураностаноловой форме, однако с расщепляющим их ферментом β-глюкозидазой имеют разную тканевую и внутриклеточную компартментацию: фермент локализован в мезофильной ткани листа, а субстрат – в клетках эпидермиса [2]. Предполагается, что различная тканевая и внутриклеточная локализация субстрата и фермента обеспечивает в листьях сохранность фураностаноловой структуры, в форме которой происходит транспорт стероидного гликозида в центры аккумуляции. Повреждение тканей влечет за собой переход фураностаноловой структуры в спиростаноловую, которая представляет собой эндогенный фактор защиты растений против фитопатогенов за счет мембранолитической активности. Фураностаноловые гликозиды, имеющие слабо выраженные мембранолитические свойства, стимулируют ростовые процессы в растениях [1].

Целью нашей работы являлось изучение характера распределения

стероидных гликозидов спиро- (диосцин) и фураностанолового (протодиосцин) рядов в растениях пажитника сеного, выращиваемого в подзоне средней тайги Республики Коми.

Материал и методы

Пажитник сеной – однолетнее травянистое растение сем. Fabaceae Lindl. с прямым слабовеетвистым стеблем высотой до 40-70 см, с очередными тройчатосложными листьями, прилистники – ланцетные, листья на длинных черешках, к основанию клиновидно-суженные. Цветки сидячие, по одному-два в пазухах листьев, мотыльковые, венчик беловато-желтый, к основанию слегка фиолетовый. Цветет пажитник сеной в июне-июле, плод – боб длиной 9-15 см, толщиной 3-5 мм, голый или опушенный, содержащий 10-18 семян. Семена желтоватые, крупные, ромбические, со специфическим запахом. Созревают семена в августе-сентябре. Родина растения – восточная часть Средиземноморья. В культуре известен с глубокой древности как ценное кормовое, пищевое и лекарственное растение. В настоящее время культивируют главным образом в Индии, Эфиопии и Китае [9].

Опыт по выращиванию пажитника сеного проводили в течение трех лет в период 2008-2010 гг. в подзоне средней тайги в окрестностях г. Сыктывкар на территории радиобиологического комплекса Института биологии Коми НЦ УрО РАН. Географическое происхождение исходных семян пажитника сеного – ВИЛАР. Семена высевали в конце мая–первых числах июня на открытых делянках 4 м² в трех повторностях. Ширина междурядий составляла 20, глубина посева – 2 см, нор-

ма высева – 2-3 г/м². В период вегетации определяли полевую всхожесть семян на 10-, 20- и 30-й день после посадки, среднюю высоту растений в фазу массового созревания плодов и урожай семян. Фиксировали сроки прохождения растениями основных фенологических фаз. Для выявления характера распределения стероидных гликозидов в растениях отбирали образцы разных частей растений в разные фазы его развития. В начале вегетации (первая фаза) анализировали растение целиком. В периоды бутонизации, начала цветения и массового цветения (вторая-четвертая фазы соответственно) – листья, стебли и корни. В период массового плодоношения (пятая фаза) – листья, стебли, корни и семена. Урожайность семян определяли произведением числа растений на среднее число плодов на растении и на среднюю массу семян в плоде по отношению к площади посева. Определение содержания диосцина и протодиосцина как исходных семян, так и семян своей репродукции 2008-2010 гг. проводили методом ВЭЖХ-хроматографии на системе Varian (США) с использованием обращено-фазной колонки Microsorb-100A-C₁₈ с размером частиц 5 мкм. После сушки при температуре 60 °С образцы измельчали, растительный материал экстрагировали 70%-ным этанолом. При анализе проб на содержание протодиосцина и диосцина использовали элюент ацетонитрил:вода в соотношении 27:73 v/v и 80:20 v/v соответственно, скорость потока – 1.5 мл/мин., длина волны – 207 нм. В качестве стандартов использовали протодиосцин и диосцин фирмы ChromoDex (США).

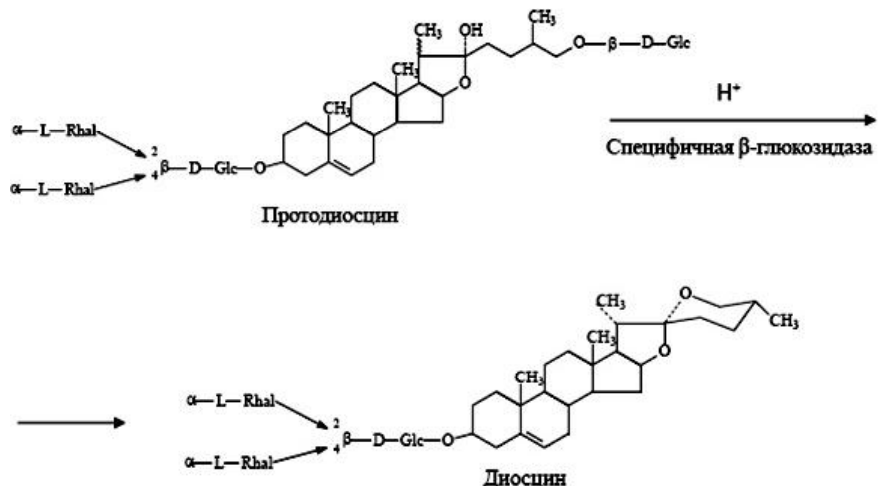


Схема перехода стероидного гликозида фураностаноловой формы в спиростаноловую.

Полученные данные были статистически обработаны с использованием непарного t-критерия Стьюдента.

Результаты и обсуждение

Установлено, что между исходными семенами и семенами собственной репродукции нет особых различий в полевой всхожести. Для всех испытываемых семян на 30-й день после посева величина данного показателя составляла соответственно 73, 67 и 69 %. В литературе имеются сведения о том, что полевая всхожесть семян одного и того же географического происхождения по годам может колебаться от 40 до 80 % [7]. Одним из основных показателей реакции растений на новые условия произрастания является изменение ритмов роста и развития растений. По нашим наблюдениям, ни удлинение (затяжное начало лета 2009 г.), ни укорочение (жаркие июль и первая декада августа 2010 г.) начальной фазы вегетации развития растений существенно не влияли на длительность последующих фенологических фаз, и массовое созревание плодов (дата сбора) наступало в одни и те же сроки. Таким образом, выращивание пажитника сеного в среднетаежной зоне Республики Коми является возможным, так как при продолжительности вегетационного периода в 109, 110 и 101 день (соответственно в 2008-2010 гг.) растения успевают пройти полный цикл своего развития и образовать полноценные жизнеспособные семена.

Известно, что затенение влияет на высоту растений. Например, в Московской и Новосибирской областях средняя высота растений пажитника сеного в зависимости от степени затененности менялась от 31.3 до 37.9 и от 41.0 до 61.0 см соответственно [7]. Эти данные представляют несомненный интерес в сравнительном плане, поскольку наш эксперимент проводи-

ли в условиях длинного светового дня на Севере. Кроме того, нас интересовали ростовые реакции растений, полученных из исходных семян и семян собственной репродукции, по годам. Различий по высоте растений, полученных из семян собственной репродукции, по годам наблюдений не выявлено. Эти растения оказались выше растений, полученных из исходных семян, и разница по высоте составила 23 % ($p < 0.001$). Урожай семян пажитника сеного в зависимости от их происхождения может варьировать от 5.0 до 11.0 ц/га [3]. Учитывая, что промышленным источником стероидных гликозидов пажитника сеного являются именно семена, данные об их урожайности представляли для нас особый интерес. Большой урожайностью характеризовались растения, полученные из семян собственной репродукции, по сравнению с растениями, полученными из исходных семян:

Географическое происхождение	Показатель					
	I	II	III	IV	V	VI
Москва	2008	35.67 ± 0.75	8.33 ± 1.06	12.41 ± 0.41	0.152 ± 0.006	79.77 ± 5.15
Сыктывкар	2009	46.39 ± 1.00	12.45 ± 1.65	13.98 ± 0.36	0.151 ± 0.009	105.28 ± 4.31*
	2010	45.64 ± 0.88	18.44 ± 2.02	14.77 ± 0.39	0.149 ± 0.007	96.16 ± 8.10

Примечание: I – год посева; II – средняя высота растений, см; III – число плодов на растении, шт.; IV – число семян в одном плоде, шт.; V – средняя масса семян, г; VI – урожай семян, г/м². Различия (*) в сравнении с 2008 г. достоверны при $p < 0.05$.

Качественный и количественный химический анализ показал, что содержание (%) диосцина и протодиосцина в семенах урожаях разных лет не постоянно:

Стероидный гликозид	Исходные семена (ВИЛАР, Москва)	Сыктывкарская репродукция, год		
		2008	2009	2010
Диосцин	0.98 ± 0.11	0.93 ± 0.10	1.07 ± 0.12	1.27 ± 0.09*
Протодиосцин	2.68 ± 0.19***	1.47 ± 0.13	2.47 ± 0.15***	2.23 ± 0.17**

Примечание: различия с 2008 г. достоверны при $p < 0.05$ (*), $p < 0.01$ (**) и $p < 0.001$ (***).

Содержание протодиосцина в семенах урожая 2008 г. на 45 % ниже,

чем в исходных семенах московской репродукции, а по сравнению с семенами урожая 2009 и 2010 гг. ниже на 40 и 34 % соответственно. Содержание диосцина в семенах урожая 2010 г. на 36 % выше, чем в 2008 г. При исследовании характера распределения протодиосцина и диосцина в различных органах растения пажитника сеного по фазам развития установлено, что содержание протодиосцина и диосцина в проростках на стадии начала вегетации составило 1.37 и 0.62 % соответственно.

Установлено, что в фазу бутонизации содержание протодиосцина (см. таблицу) в листьях пажитника сеного составляет 1.65 %, затем в фазу начала цветения его содержание уменьшалось до 0.41 % ($p < 0.001$), а в фазу массового цветения вновь возросло до 0.76 % ($p < 0.05$), при этом практически не изменяясь в фазу массового плодоношения. Во всех фазах развития растения содержание прото-

диосцина в стеблях и корнях не превышало 0.10 %. При этом в стеблях и корнях содержание протодиосцина в фазе бутонизации приблизительно одинаково. В фазе начала цветения

его содержание в стеблях увеличилось в четыре раза ($p < 0.001$), а в корнях, наоборот, снизилось более чем в три раза ($p < 0.001$). В фазе массового цветения содержание протодиосцина в стеблях незначительно уменьшается, а в корнях увеличивается более чем на порядок ($p < 0.001$). В фазе массового плодоношения в стеблях содержание протодиосцина по сравнению с предыдущей фазой уменьшилось на 44 % ($p < 0.05$), а в корнях, наоборот, возросло на 56 % ($p < 0.05$).

Содержание диосцина (см. таблицу) в листьях растений в фазах бутонизации и начала цветения приблизительно одинаково и составляет в сред-

Доля прото- (верхняя строка) и диосцина (нижняя строка) в сухой массе растений пажитника сеного, %

Часть растения	Фаза			
	Бутонизация	Начало цветения	Массовое цветение	Массовое плодоношение
Лист	1.65 ± 0.18	0.40 ± 0.04	0.76 ± 0.06	0.846 ± 0.08
	0.53 ± 0.05	0.51 ± 0.05	1.27 ± 0.10	0.15 ± 0.02
Стебель	0.02 ± 0.003	0.08 ± 0.014	0.073 ± 0.008	0.05 ± 0.002
	0.42 ± 0.070	0.44 ± 0.05	0.65 ± 0.08	0.14 ± 0.02
Корень	0.014 ± 0.003	0.004 ± 0.0001	0.051 ± 0.006	0.08 ± 0.01
	0.69 ± 0.09	0.1 ± 0.026	0.032 ± 0.005	0.33 ± 0.06

Примечание: доля указанных соединений в сухой массе семян составляла 1.96 ± 0.14 и 1.12 ± 0.08 % соответственно.

нем 0.50 %. В фазе массового цветения его содержание в листьях составляет 1.27 %, что более чем в два раза больше, чем в предыдущих фазах ($p < 0.001$). В фазе массового плодоношения содержание диосцина в листьях пажитника сеного резко падает до 0.15 % – это в восемь раз ниже, чем в фазе массового цветения. В стеблях в фазах бутонизации и начала цветения содержание диосцина составляет в среднем 0.43 %, в фазе массового цветения оно увеличивается в 1.5 раза ($p < 0.05$) и составляет 0.65 %. В фазе массового плодоношения его содержание уменьшается более чем в четыре раза по сравнению с предыдущей фазой ($p < 0.001$). В корнях содержание диосцина в фазе начала цветения по сравнению с фазой бутонизации уменьшилось более чем в шесть раз ($p < 0.001$), составив 0.10 %. В фазе массового цветения по сравнению с фазой начала цветения содержание диосцина в корнях уменьшилось еще в три раза ($p < 0.001$) и составило 0.03 %. в фазе массового плодоношения в сравнении с предыдущей стадией содержание диосцина в корнях возросло в 10 раз ($p < 0.001$) и составило 0.33 %.

Таким образом, при изучении особенностей онтогенеза растений пажитника сеного на европейском северо-востоке России и накопления в них стероидных гликозидов показано, что

пажитник сеной за вегетационный период проходит все стадии своего развития и образует полноценные жизнеспособные семена с высоким содержанием стероидных гликозидов фуру- (протодиосцин) и спиростанолового (диосцин) рядов. Накопление данных веществ в проростках (основную часть которых составляют первые два листа), листьях и семенах полностью соответствует представлению о том, что максимальное количество соединений, ответственных за ростовые реакции и защиту растений от фитопатогенов, сосредотачивается в физиологически молодых тканях растений и семенах.

ЛИТЕРАТУРА

1. Васильева И.С., Пасешниченко В.А. Стероидные гликозиды растений и культуры клеток диоскорей, их метаболизм и биологическая активность // Усп. биол. хим., 2000. Т. 40. С. 153-204.
2. Гиоргадзе Ц.А. Динамика накопления стероидных гликозидов в листьях юкки славной // Хим. журн. Грузии, 2006. Т. 6, № 1. С. 62-63.
3. Израильсон В.Ф., Киселев В.П. К интродукции пажитника сеного в Новосибирской области // Ресурсы и интродукция полезных растений Сибири. Новосибирск: Наука, 1981. С. 23-29.
4. Иоффе Д.В. Природные соединения с антисклеротическими свойствами // Химия природных соединений, 1984. Т. 2, № 1. С. 275-282.

5. (Кемертелидзе Э.П.) Новый антисклеротический препарат трибуспонин / Э.П. Кемертелидзе, Т.А. Пхеидзе, Т.Н. Качухашвили и др. // Хим.-фарм. журн., 1982. № 1. С. 119-122.
6. (Кинтя П.К.) Контрацептивная активность некоторых стероидных гликозидов / П.К. Кинтя, М.Н. Мац, С.А. Швец и др. // Растительные ресурсы, 1988. Т. 24, вып. 2. С. 263-270.
7. Киселев В.П., Израильсон В.Ф., Костромина М.М. Биологические особенности пажитника сеного в условиях Новосибирской области // Растительные ресурсы южной Сибири и пути их освоения. Новосибирск: Наука, 1977. С. 146-152.
8. Мулевич В.М., Богачева Н.П. Экономическое обоснование использования пажитника сеного в качестве сырья для производства стероидных препаратов // Хим.-фарм. журн., 1977. Т. 5, № 2. С. 138-140.
9. Фармакогнозия. Лекарственное сырье растительного и животного происхождения / Под ред. Г.П. Яковлева. СПб., 2010. 863 с.
10. (Francis G.) The biological action of saponins in animal systems: a review / G. Francis, Z. Kerem, H. Makkar et al. // British J. Nutrition, 2002. Vol. 88. P. 587-605.
11. (Joly R.) The biosynthesis of steroidal saponins in *Dioscorea floeibunda* from labelled cholesterol / R. Joly, J. Bonner, R. Bennett et al. // Phytochem., 1969. Vol. 8. P. 1445-1448. ❖

**ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ ЭФИРНОГО МАСЛА ЭНДЕМИЧНЫХ ТИМЬЯНОВ
ЕВРОПЕЙСКОГО СЕВЕРО-ВОСТОКА РОССИИ И УРАЛА**

Род *Thymus* (сем. Lamiaceae) популярен в традиционной медицине многих стран и народов как источник ценного лекарственного сырья. Настои рекомендуются применять как отхаркивающее и болеутоляющее средство при острых и хронических бронхитах. В медицине и парфюмерии широко используются *Thymus serpyllum* и *T. vulgaris*. Для многих тимьянов показана антимикробная [22], противовоспалительная [10], антиоксидантная [12, 16], цитотоксическая [32], спазмолитическая [28], ан-



Л. Алексеева



И. Груздев



А. Быструшкин



Л. Тетерук

тинематоцидная [13] активность. Традиционно тимьяны используются как источники эфирных масел [3]. Результаты многолетних исследований хи-

Алексеева Людмила Ивановна – к.х.н., с.н.с. лаборатории биохимии и биотехнологии Института биологии Коми НЦ УрО РАН. E-mail: alexeeva@ib.komisc.ru. Область научных интересов: биологически активные вещества, хроматографические методы анализа.

Груздев Иван Владимирович – к.х.н., с.н.с. экоаналитической лаборатории Института биологии Коми НЦ УрО РАН. E-mail: gruzdev@ib.komisc.ru. Область научных интересов: химия органических соединений, хроматографические методы анализа объектов окружающей среды.

Быструшкин Андрей Геннадьевич – к.б.н., н.с. Ботанического сада УрО РАН, Екатеринбург. E-mail: manpupuner@rambler.ru. Область научных интересов: популяционная биология, экология растений.

Тетерук Людмила Владимировна – к.б.н., с.н.с. отдела флоры и растительности Севера Института биологии Коми НЦ УрО РАН. E-mail: teteruk@ib.komisc.ru. Область научных интересов: фитоценология, экология растений.

мического состава тимьянов обобщены в обзоре «Thyme: The genus *Thymus*» [29]. Вместе с тем, актуальной задачей является исследование химического состава ранее не изучавшихся видов тимьянов с небольшими ареалами, поскольку в этих объектах могут быть обнаружены новые соединения вторичного обмена, представляющие как теоретический, так и практический интерес.

Нами проведено исследование химического состава шести видов р. *Thymus* из флоры Урала и прилегающих территорий (табл. 1). Образцы растений собирали в фазу активного цветения. Подготовку сырья (высушивание до воздушно-сухого состояния), отбор проб и получение эфирного масла производили с использованием общепринятых приемов. В состав проб входили стебли молодых побегов, листья и соцветия. Одревесневшие части растений удаляли. Эфирное масло получали методом гидродистилляции из воздушно-сухого сырья. Навеску сырья массой 50.0 г загружали в колбу емкостью 2 л, заливали водой 1 л и доводили до кипения. Длительность одной отгонки составляла 3 ч. Анализ эфирного масла проводили на хромато-масс-спектрометре «Trace DSQ» (Thermo) в режиме ионизации электронным ударом, энергия электронов 70 эВ, диапазон масс 50-650 а.е.м. Условия определения: программирование температуры термостата колонок 40 °С (4 мин.) – 4 °С/мин. – 200 °С, кварцевая капиллярная колонка 30 м × 0.32 мм × 0.25 мкм (TR-1, Thermo). Газ-носитель – гелий, чистота 99.99 %. Скорость потока газа-носителя через колонку – 0.6 мл/мин., деление потока – 1:50, температура испарителя 280 °С, детектора – 200 °С. Интерпретацию масс-спектров веществ эфирных масел проводили с использованием программного обеспечения Xcalibur Data System (Version 1.4 SR1) и библиотеки масс-

спектров NIST 05 (Version 2.0, 220 000 веществ). Соединение считалось идентифицированным только в том случае, если коэффициент совпадения его масс-спектра с библиотечным масс-спектром составлял не менее 90 %.

Впервые изучен состав эфирных масел эндемичных растений р. *Thymus* европейского северо-востока России и Урала – *T. hirticaulis*, *T. talijevii*, *T. paucifolius*, *T. guberlinensis*, *T. punctulosus*. Обнаружены не характерные для растений р. *Thymus* соединения, но известные для *Mentha piperita* – азулен [15] и *транс*-4-изопропил-1-метил-2-циклогексен-1-ол [21], для *Salvia tricochlada* [5] и *S. potentillifolia* [11] – *транс*-4,5-эпоксикаран, для *Teucrium ramosissimum* [25] – и эудесм-7(11)-ен-4-ол. Выявлены также впервые для сем. Lamiaceae эпоксид изоаромадендрена и 1,3,5-гирметиленциклогептан (табл. 2). В составе эфирных масел *Thymus hirticaulis* идентифицировано 27, *T. talijevii* – 36, *T. paucifolius* – 33, *T. guberlinensis* – 41 соединение, *T. punctulosus* – 34 соединений, составляющих около 9 % суммы эфирного масла, из которых 12 являются общими для всех пяти видов (табл. 3). Для сравнения был изучен состав эфирных масел интродуцированного на территорию Республики Коми *Thymus serpyllum*, в составе которого идентифицировано 33 соединения.

Проведенный химический анализ образцов *Thymus paucifolius*, *T. guberlinensis* и *T. punctulosus* показал высокую внутривидовую вариабельность состава эфирных масел. Основным компонентом эфирного масла *Thymus hirticaulis* (образец I) и *T. talijevii* (образец II) является линалоол. Эфирное масло растений *Thymus paucifolius* отличает кариофиллена оксид и линалоол с высоким содержанием (образец III) и *транс*-неролидол (образец IV). Только 16 из идентифицированных соединений эфирных масел *Thymus guberlinensis* (образцы V-VII) характерны для всех исследованных ценопопуляций, в том числе линалоол с высоким содержанием (образец V), ацетат гераниола (образцы VI и VII), гераниаль и ацетат нерола (образец VI) и терпинен-4-ол (образец VII). Основными компонентами эфирного масла *Thymus punctulosus* (образцы VIII и X) являются *транс*-неролидол и кариофиллена оксид. Только 16 из идентифицированных соединений эфирных масел *Thymus serpyllum* (образцы X и XI) характерны для всех исследованных ценопопуляций, в том числе линалоол и линалилацетат с высоким содержанием. Различия в составе эфирных масел между образцами одинаковых видов из различных популяций могут быть обусловлены экологическими факторами, в том числе различием почвенных условий, как это было показано ранее для некоторых других видов р. *Thymus* [7].

Таблица 1
Географические пункты сбора растительного материала

Вид (номер образца)	Место сбора
<i>Thymus hirticaulis</i> Klok. (I) Тимьян опушенный	Выходы известняков урочища Адак гряды Чернышова по р. Уса (Интинский р-н, Республика Коми)
<i>T. talijevii</i> Klok. et. Schost. subsp. <i>Talijevii</i> (II) Тимьян Талиева	Выходы известняков по р. Сойва (Троицко-Печорский р-н, Республика Коми)
<i>T. paucifolius</i> Klok. (III) Тимьян малолистный	Выходы известняков по р. Печорская Пижма (Усть-Цилемский р-н, Республика Коми)
<i>T. paucifolius</i> Klok. (IV) Тимьян малолистный	Выходы кристаллических сланцев на хребте Уреньга (Челябинская обл.)
<i>T. guberlinensis</i> Iljin (V) Тимьян губерлинский	Горные склоны с выходами серпентенитовых горных пород (Хайбуллинский р-н, Республика Башкортостан)
<i>T. guberlinensis</i> Iljin (VI) Тимьян губерлинский	Известняковые скалы по левому берегу р. Сакмара (Хайбуллинский р-н, Республика Башкортостан)
<i>T. guberlinensis</i> Iljin (VII) Тимьян губерлинский	Выходы метаморфизированных кристаллических сланцев (Кувандыкский р-н, Оренбургская обл.)
<i>T. punctulosus</i> Klok. (VIII) Тимьян точечный	Выходы известняков, Южный Урал (Троицкий р-н, Челябинская обл.)
<i>T. punctulosus</i> Klok. (IX) Тимьян точечный	Выходы известняков по р. Урал, Южный Урал (Кизильский р-н, Челябинская обл.)
<i>T. serpyllum</i> (X) Тимьян ползучий	Интродуцент (ботсад Сыктывкарского государственного университета)
<i>T. serpyllum</i> (XI) Тимьян ползучий	Интродуцент (ботсад Института биологии Коми НЦ УрО РАН, г. Сыктывкар)

Масс-спектры новых соединений эфирного масла растений р. Thymus

Масс-спектр	Формула	Соединение*
		<p><i>транс</i>-4-изопропил-1-метил-2-циклогексен-1-ол MW 154 $C_{10}H_{18}O$ 1153</p>
		<p><i>транс</i>-4,5-эпоксикаран MW 152 $C_{10}H_{16}O$ 1182</p>
		<p>1,3,5-триметиленцикло-гептан MW 134 $C_{10}H_{14}$ 1397</p>
		<p>Азулен MW 204 $C_{15}H_{24}$ 1504</p>
		<p>Эудесм-7(11)-ен-4-ол MW 222 $C_{15}H_{26}O$ 1677</p>
		<p>Эпоксид изоаромадендрена MW 220 $C_{15}H_{24}O$ 1682</p>

* Указано название, молекулярная масса, структурная формула, индекс удерживания на колонке TR-5MS. По горизонтали – m/z, по вертикали – относительная интенсивность, %.

Химический состав эфирного масла растений
Thymus hirticaulis, *T. talijevii*, *T. paucifolius*, *T. guberlinensis*, *T. punctulosus* и *T. serpyllum*

Соединение	R _i	Доля компонента в сумме эфирного масла, %										
		I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI
α-Пинен	850	0.16	–	–	–	1.90	–	0.29	–	–	–	–
Камфен	901	0.52	0.14	0.29	0.18	2.49	–	0.25	0.45	0.15	–	–
β-Пинен	942	0.50	0.14	0.40	0.18	2.50	–	0.35	–	–	–	–
β-Мирцен	972	2.49	0.45	0.50	0.95	4.49	–	1.70	0.31	0.15	0.58	0.09
α-Терпинен	998	–	–	–	–	3.61	–	1.47	–	–	–	–
o-Цимол	1024	–	–	–	–	2.65	–	1.34	0.45	–	–	–
Лимонен	1028	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0.12	–
1, 8-Цинеол	1032	0.79	0.14	0.31	1.85	7.47	0.26	5.33	3.08	1.86	–	0.11
транс-β-Оцимен	1036	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0.17	–
Цис-β-Оцимен	1045	2.37	0.35	0.40	0.89	6.72	0.12	3.33	0.21	0.31	0.43	0.09
γ-Терпинен	1058	–	–	–	–	6.88	–	3.58	–	–	–	–
цис-β-Терпинеол	1071	–	–	–	–	2.25	0.10	–	–	–	–	–
Терпинолен	1084	–	–	–	–	1.39	–	0.95	–	–	0.18	–
Линалоол	1098	62.07	15.91	25.35	7.85	21.44	3.61	4.19	3.37	3.91	40.35	88.18
Алло-Оцимен	1152	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0.06	–
транс-4-изопропил-1-метил-2-циклогексен-1-ол	1153	–	–	–	–	0.55	–	0.38	–	–	–	–
Камфора	1154	2.69	1.14	1.46	3.39	2.92	0.60	2.06	2.93	2.37	–	0.26
(S)-Цис-Вербенол	1156	–	–	–	–	–	0.23	–	–	–	–	–
Борнеол	1179	0.35	0.22	0.37	0.66	–	0.57	–	1.30	0.95	–	0.18
транс-4,5-эпокси-каран	1182	–	–	–	–	–	0.73	–	–	–	–	–
Терпинен-4	1186	0.33	0.33	0.74	2.72	8.79	1.81	18.10	3.93	1.60	0.12	–
α-Терпинеол	1199	0.74	0.97	0.65	7.03	1.21	0.59	2.54	1.36	0.79	7.94	1.06
Цис-Гераниол	1227	–	0.14	–	0.66	–	2.17	1.25	0.28	0.31	1.44	0.19
Нераль	1245	–	–	–	–	0.41	7.19	3.92	0.89	0.39	–	–
Линалилацетат	1246	0,95	1,64	0,31	8,39	–	–	–	0,45	–	30,01	1,31
транс-Гераниол	1255	0,33	0,65	0,37	1,95	–	6,35	2,85	0,76	0,48	–	0,52
1-Деканол	1265	–	–	–	–	0.56	–	–	–	–	–	–
Гераниаль	1275	–	0.14	–	0.93	–	13.99	7.39	2.01	1.13	0.09	–
Борнилацетат	1285	2.05	0.55	0.75	0.72	–	–	–	1.40	0.30	–	0.05
Карвакрол	1304	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0.31	–
γ-Элемен	1329	0.41	0.52	0.37	0.28	0.36	0.50	0.75	0.28	0.28	0.15	–
Нерола ацетат	1358	0.16	0.69	0,28	1,52	0,15	10,63	3,61	1,23	0,58	3,11	0,26
Гераниола ацетат	1379	0.36	2.00	0,46	3,61	0,22	26,02	10,26	2,78	0,74	7,04	0,60
β-Бурбонен	1384	0.77	0.33	0.31	0.66	1.20	0.77	1.81	1.62	0.15	0.06	0.12
β-Элемен	1392	0.79	0.86	0.81	–	–	–	–	–	–	–	–
1,3,5-Триметилен циклогептан	1397	–	–	–	–	–	0.77	–	0.26	–	–	–
Кариофиллен	1422	10.62	9.02	10.60	2.25	5.26	2.35	6.76	3.48	0.93	3.03	3.17
(Z)-β-Фарнезен	1441	0.35	0.74	0.83	0.18	–	–	–	–	–	–	–
α-Гумулен	1457	0.42	0.38	0.31	–	–	–	–	–	–	0.15	0.13
Аромадендрен	1463	–	1.36	1.77	0.81	–	–	–	0.26	0.15	–	–
Гермакрен Д	1485	3.73	8.62	7.45	1.90	3.51	2.50	5.48	1.76	1.29	1.40	0.93
γ-Гурьюнен	1497	–	5.10	–	–	–	–	–	–	–	–	–
(E, E)-α-Фарнезен	1498	1.93	1.64	4.89	1.53	–	–	–	–	–	0.31	0.13
Азулен	1504	–	–	–	–	0.93	0.86	2.30	–	–	–	–
δ-Кадинен	1518	0.47	7.66	8.01	–	0.60	0.32	1.23	3.34	1.15	–	0.22
γ-Муролен	1520	–	–	0.83	4.05	–	–	–	–	–	–	–
цис-α-Бизаболен	1539	–	–	–	–	–	2.21	–	1.33	0.38	1.83	0.98
3,7-диметил-2,6-октадиениловый эфир бутановой кислоты	1553	–	–	–	–	–	2.79	1.10	–	–	–	–
транс-Неролидол	1560	0.56	1.80	1.37	20.68	0.60	–	0.35	23.71	59.20	0.17	0.07
Кариофиллена оксид	1591	1.98	19.96	14.47	–	6.87	7.32	4.28	18.18	1.86	–	0.49
Ледол	1619	–	1.21	0.97	–	–	–	–	–	–	–	–
Спатчуленол	1640	–	–	–	5.17	–	0.28	–	–	10.00	0.55	–
Кубенол	1645	–	0.73	–	5.47	–	–	–	1.85	0.87	–	–
γ-Кадиол	1649	–	4.63	5.34	8.90	–	0.51	–	5.78	2.95	0.17	0.22
α-Кадиол	1664	–	6.67	7.45	1.27	0.53	0.44	–	2.24	0.60	–	0.16
Эудесм-7(11)-ен-4-ол	1677	–	–	–	0.88	–	1.66	–	3.70	1.17	–	–
Изоаромадендрен эпиксид	1682	–	0.83	0.50	–	–	–	–	–	–	–	–
(Z, E)-Фарнезол	1703	–	1.97	1.06	–	–	–	–	0.25	0.31	–	–

Примечания: номера образцов те же, что и табл. 1. R_i – индекс удерживания на колонке TR-5MS. Прочерк – компонент отсутствует или его содержание не превышает 0.01 %.

Ароматические монотерпены не обнаружены в составе эфирных масел *Thymus hirticaulis* (образец I), *T. talijevii* (образец II), *T. paucifolius* (образцы III и IV), *T. guberlinensis* (образец VI), *T. punctulosus* (образец XI), а также отсутствует их предшественник [18] γ -терпинен. В составе эфирных масел *Thymus guberlinensis* (образцы V и VII) обнаружен *o*-цимол, а также их предшественник γ -терпинен, *T. punctulosus* (образец VIII) и *T. serpyllum* (образец X) – незначительное количество *o*-цимола (γ -терпинен не обнаружен) и карвакрола соответственно. В составе эфирных масел *Thymus serpyllum* L. s.l. (места естественного произрастания в различных районах Алтайского края и Республики Алтай) и *T. serpyllum* L. ssp. (Национальный ботанический сад Ирана) содержание фенольных монотерпенов составляет от 2.1 до 44.8 [1] и 39.4–39.8 % [23] соответственно. Известно, что нефенольный хемотип *Thymus vulgaris* показывает значительно лучшее выживание при низких температурах [4], напротив, растения фенольного хемотипа лучше защищены от моллюсков *Helix aspersa* [13] и микроорганизмов [26]. Таким образом, нефенольный хемотип растений р. *Thymus* способствует их адаптации к низким температурам.

Монотерпены являются основными компонентами эфирных масел *Thymus hirticaulis* – 76.86 (образец I), *T. guberlinensis* – 79.53, 78.54 и 80.42 (образцы V, VI и VII) и *T. serpyllum* – 91.95 и 92.90 % (образцы X и XI соответственно), при этом доминируют ациклические соединения, составляя для указанных видов растений 72.87 (образец VI), 68.73 (образец I), 39.60 (образец VII) и 33.99 % (образец V), и неароматические моноциклические монотерпены – 32.15 (образец V) и 32.35 % (образец VII).

Сесквитерпены составляют основу эфирных масел *Thymus talijevii* – 74.03 (образец II), *T. paucifolius* – 67.34 и 54.03 (образцы III и IV соответственно) и *T. punctulosus* – 67.78 и 81.29 % (VIII и IX соответственно), наибольшее содержание ациклических соединений отмечено для *T. punctulosus* – 59.51 (образец IX), *T. punctulosus* и *T. paucifolius* – 23.96 (образец VIII) и 22.39 % (образец IV) соответственно. Высокое содержание ациклических сесквитерпенов обнаружено у *T. atticus* – 17.9 и *T. parnassicus* Halacsy – 21.5 (Греция) [31], *T. eriphorus* – до 22.0 (Азербайджан), *T. serpyllum* – до 29.8 (Россия) [1] и до 72.5 (Эстония) [20], *T. quinquecostatus* Celak – до 56.1 % (Япония) [2]. Высокое содержание бициклических сесквитерпенов, в состав которых входят оксид кариофиллена, кариофиллен, δ -кадинен, γ -гурьюнен, кубенол, γ -муролен, τ -кадиол, α -кадиол и эудесм-7(11)-ен-4-ол, показано для *T. talijevii* – 53.77 (образец II), *T. paucifolius* – 46.70 (образец III) и *T. punctulosus* – 38.57 % (образец VIII). Растения *Thymus hirticaulis* (образец I) имеют высокое содержание кариофиллена при низком суммарном содержании сесквитерпенов в целом.

Считается, что в эфирных маслах растений одного и того же вида более высокое содержание моно- и сесквитерпенов обусловлено известковыми и кремнеземными почвами соответственно [7]. Однако основными компонентами эфирного масла *Thymus guberlinensis* являются монотерпены, и их содержа-

ние имеет близкие значения у растений, произрастающих как на известняках (образец VI), так и серпентинитовых горных породах (образец V) и кристаллических сланцах (образец VII). Напротив, основная часть эфирных масел *Thymus paucifolius* (образец III) и *T. punctulosus* (образцы VIII и IX), произрастающих на известняках, и *T. paucifolius* (образец IV), произрастающего на кристаллических сланцах, представлена сесквитерпенами. Таким образом, в данном случае особенности почв не являются фактором, определяющим состав эфирных масел *Thymus guberlinensis*, *T. paucifolius* и *T. punctulosus*.

Сравнение с данными литературы позволяет говорить о необычно высоком содержании бициклических сесквитерпенов в составе эфирных масел *Thymus talijevii* (образец II), *T. paucifolius* (образец III) и *T. punctulosus* (образец VIII). Для *T. praecox* subsp. *arcticus* показано, что τ -кариофилленольный и кадинольный хемотипы встречаются только у 5 и 6 % растений соответственно [24]. Высокое содержание бициклических сесквитерпенов редко встречается среди представителей рода *Thymus* L. и было ранее отмечено для *T. pulegioides* L. (Латвия) – до 17.28 [14], *T. vulgaris* (Франция) – до 20.3 [30], *T. atticus* (Греция) – до 24.9, *T. samius* (Греция) – до 21.04, *T. parnassicus* (Греция) – до 27.74 [31] и *T. serpyllum* (Эстония) – до 58.3 % [20]. Бициклические сесквитерпены, такие как δ -кадинен, кариофиллен и γ -муролен, синтезируются в результате циклизации и перегруппировки *транс*-, *транс*-фарнезилпирофосфата, который в свою очередь образуется из геранилпирофосфата [6]. Является ли увеличение биосинтеза сесквитерпенов, включая их бициклические производные, влиянием факторов стресса или других факторов в настоящее время неизвестно [9]. Среди образцов с высоким содержанием бициклических сесквитерпенов *Thymus talijevii* (образец II) и *T. paucifolius* (образец III) произрастают в сходных условиях.

Известна болеутоляющая и противовоспалительная активность оксида кариофиллена [29], обезболивающая – кариофиллена [8], антимикробная – α -кадинола [17]. Противоопухолевой активностью обладают оксид кариофиллена и кариофиллен [19]. Таким образом, *Thymus talijevii*, *T. paucifolius* и *T. punctulosus* могут быть источниками бициклических сесквитерпенов и объектами для изучения биосинтеза сесквитерпенов и их производных.

ЛИТЕРАТУРА

1. Банаева Ю.А., Покровский Л.М., Ткачев А.В. Исследование химического состава эфирного масла представителей рода *Thymus* L., произрастающих на Алтае // Химия растительного сырья, 1999. № 3. С. 41–48.
2. Дембитский А.Д., Юрина Р.А., Кротова Г.И. Компоненты эфирных масел *Thymus marschallianus* // Химия природных соединений, 1984. № 4. С. 510–514.
3. Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование. Семейства Hippuridaceae–Lobeliaceae. СПб., 1991. С. 100–109.

4. (Amiot J.) Differential resistance to freezing and spatial distribution in a chemically polymorphic plant *Thymus vulgaris* / J. Amiot, Y. Salmon, C. Collin et al. // Ecol. Lett., 2005. Vol. 8, № 4. P. 370-377.
5. Bagci E., Kocak A. Essential oil composition of the aerial parts of two *Salvia* L. (*S. multicaulis* Vahl. Enum and *S. tricochlada* Benth) species from east Anatolian region (Turkey) // Intrn. J. Sci. Technol., 2008. Vol. 3, № 1. P. 13-18.
6. Dubey V.S., Bhalla R., Luthra R. An overview of the non-mevalonate pathway for terpenoid biosynthesis in plants // J. Biosci., 2003. Vol. 28, № 5. P. 637-646.
7. (Feo V.D.) / V.D. Feo, M. Bruno, B. Tahiri et al. Chemical composition and antibacterial activity of essential oils from *Thymus spinulosus* Ten. (Lamiaceae) / V.D. Feo, M. Bruno, B. Tahiri et al. // J. Agric. Food Chem., 2003. Vol. 51, № 13. P. 3849-3853.
8. (Ghelardini C.) Local anaesthetic activity of β -caryophyllene / C. Ghelardini, N. Galeotti, L. Di Cesare Mannelli et al. // Il Farmaco, 2001. Vol. 56, № 5-7. P. 387-389.
9. Hampel D., Mosandl A., Wust M. Biosynthesis of mono- and sesquiterpenes in carrot roots and leaves (*Daucus carota* L.): metabolic cross talk of cytosolic mevalonate and plastidial methylerythritol phosphate pathways // Phytochem., 2005. Vol. 66, № 3. P. 305-311.
10. (Ismaili H.) Topical anti-inflammatory activity of extracts and compounds from *Thymus broussonetii* / H. Ismaili, S. Sosa, D. Brkic et al. // J. Pharm. Pharmacol., 2002. Vol. 54, № 8. P. 1137-1140.
11. (Kivrak I.) Antioxidant, anticholinesterase and antimicrobial constituents from the essential oil and ethanol extract of *Salvia potentillifolia* / I. Kivrak, M.E. Duru, M. Ozturk et al. // Food Chem., 2009. Vol. 116. P. 470-479.
12. Kulisic T., Dragovic-Uzelac V., Milos M. Antioxidant activity of aqueous tea infusions prepared from Oregano, Thyme and wild Thyme // Food Technol. Biotechnol., 2006. Vol. 44, № 4. P. 485-492.
13. Linhart Y.B., Thompson J.D. Thyme is of the essence: biochemical polymorphism and multi-species deterrence // Evol. Ecol. Res., 1999. Vol. 1, № 2. P. 151-171.
14. Loziene K. Selection of fecund and chemically valuable clones of thyme (*Thymus*) species growing wild in Lithuania // Industrial Crops Products, 2009. Vol. 29, № 2-3. P. 502-508.
15. Lucida G.M., Wallace J.M. Herbal medicines. A clinicians guide. N.-Y.: Pharm. Products Press, 1998. 382 p.
16. Miura K., Kikuzaki H., Nakatani N. Antioxidant activity of chemical components from sage (*Salvia officinalis* L.) and thyme (*Thymus vulgaris* L.) measured by the oil stability index method // J. Agric. Food Chem., 2002. Vol. 50, № 7. P. 1845-1851.
17. Okoh O.O., Sadimenko A.A., Afolayan A.J. The effects of age on the yield and composition of the essential oils of *Calendula officinalis* // J. Appl. Sci., 2007. № 7. P. 3806-3810.
18. Passet J. *Thymus vulgaris* L.: chemotaxonomie et biogenese monoterpénique. Montpellier, 1971. – (Doctoral Thesis; Faculte de Pharmacie).
19. Pichette A., J. Legault, Madelmont J.-C. Antitumor methods and compositions comprising sesquiterpene derivatives. – (Patent. Assignees: F.P.L. Pharma, Inc. Origin: Falls church, VA US IPC8 Class: AA61 K31015FI USPC Class: 514475).
20. (Raal A.) Content and composition of the essential oil of *Thymus serpyllum* L. growing wild in Estonia / A. Raal, U. Paaver, E. Arak et al. // Medicina, 2004. Vol. 40, № 8. P. 795-800.
21. Rohloff J. Monoterpene composition of essential oil from peppermint (*Mentha piperita* L.) with regard to leaf position using solid-phase microextraction and gas chromatography/mass spectrometry analysis // J. Agric. Food Chem., 1999. Vol. 47. P. 3782-3786.
22. (Rota M.C.) Antimicrobial activity and chemical composition of *Thymus vulgaris*, *Thymus zygis* and *Thymus hyemalis* essential oils / M.C. Rota, A. Herrera, R.M. Martinez et al. // Food Control, 2008. Vol. 19, № 7. P. 681-687.
23. Sefidkon F., Dabiri M., Mirmostafa S. A The composition of *Thymus serpyllum* L. oil // J. Essential Oil Res., 2004. № 16. P. 184-185.
24. Schmidt A., Bischof-Deichnik C., Stahl-Biskup E. Essential oil polymorphism of *Thymus praecox* subsp. *arcticus* on the British Isles // Biochem. Ecol., 2004. № 32. P. 409-421.
25. (Sghaier M.B.) Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Teucrium ramosissimum* (Lamiaceae) / M.B. Sghaier, I. Chraief, I. Skandrani et al. // Chem. Biodiversity, 2007. Vol. 4, № 7. P. 1480-1486.
26. (Simeon de Bouchberg M.) Proprietés microbiologiques des huiles essentielles de chimiotypes de *Thymus vulgaris* Linnaeus. / M. Simeon de Bouchberg, J. Allegrini, C. Bessiere et al. // Estratto dalla Rivista Italiana Essenze, Profumi, Piante officinali, Aromi, Saponi, Cosmetici, Aerosol., 1976. Vol. 58. P. 527.
27. (Sokmen A.) The in vitro antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts of endemic *Thymus spathulifolius* / A. Sokmen, M. Gulluce, H.A. Akpulat et al. // Food Control., 2004. № 15. P. 627-634.
28. (Szentandrassy N.) Effect of thymol on kinetic properties of Ca and K currents in rat skeletal muscle / N. Szentandrassy, P. Szentesi, J. Magyar et al. // BMC Pharmacol., 2003. № 3. P. 9.
29. Thyme: The genus *Thymus* / Eds. E. Stahl-Biskup, F. Saez. London–New York, 2002. 330 p.
30. (Thompson J.D.) Qualitative and quantitative variation in monoterpene co-occurrence and composition in the essential oil of *Thymus vulgaris* chemotypes / J.D. Thompson, J.-C. Chalchat, A. Michet et al. // J. Chem. Ecol., 2003. Vol. 29, № 4. P. 859-880.
31. Tzakou O., Constantinidis T. Chemotaxonomic significance of volatile compounds in *Thymus samius* and its related species *Thymus atticus* and *Thymus parnassicus* // Biochem. Systematic. Ecol., 2005. № 33. P. 1131-1140.
32. (Wang M.) Acetophenone glycosides from Thyme (*Thymus vulgaris* L.) / M. Wang, H. Kikuzaki, C.-C. Lin et al. // J. Agric. Food Chem., 1999. Vol. 47, № 5. P. 1911-1914. ❖

**ПРЕДСТАВИТЕЛИ РОДА ALLIUM КАК ПЕРСПЕКТИВНЫЙ ИСТОЧНИК
БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ И МИКРОНУТРИЕНТОВ**

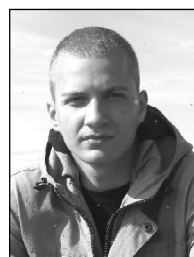
Прогресс в развитии промышленности и высоких технологий, позволяющий значительно поднять уровень и комфортность жизни населения, имеет и свою отрицательную сторону. Увеличение расхода пресной воды, возросшие объемы эксплуатации природных ресурсов и другие факторы влияют на экологию планеты и подводят нас к развитию глобального экологического кризиса. Многократное увеличение воздействия факторов окружающей среды на жителей большинства стран мира привело к острой необходимости осуществления срочных мер защиты человеческой жизни. Одним из наиболее перспективных путей решения этой проблемы является правильное питание. Накопленные в последнее время экспериментальные результаты, а также анализ статистических данных продолжительности жизни населения разных стран свидетельствуют о перспективности использования в такой защите биологически активных веществ (БАВ) растений. Эта тенденция к возвращению представлений медицины прошлого о лекарственных свойствах растительной пищи, наметившаяся в конце прошлого столетия, в настоящее время получила ускоренное развитие. Возникло новое лечебно-профилактическое направление медицины – микронутриентология, которое изучает биологическую роль витаминов, микро- и макроэлементов, БАВ, содержащихся в пищевых продуктах, фармакологические свойства пищи, физиологическое влияние пищи на организм, нормирование потребностей в микронутриентах. В ее функции входит создание биологически активных пищевых добавок, изучение профилактического и лечебного действия этих добавок при различных болезнях. Известно, что хронический дефицит БАВ создает предпосылки для развития почти 70 % наиболее распространенных заболеваний. Сегодня микронутриентология – одно из самых перспективных направлений лечебно-



Т. Ширшова



И. Бешлей



Н. Матистов

профилактической медицины. Во всем мире предписания именно этой науки являются основой первичной профилактики и оздоровления. Микронутриентология особенно бурно развивается в последние годы в экономически развитых странах, прежде всего в США, Японии, Франции. Россия по потреблению микронутриентов, в том числе витаминов, к сожалению, значительно отстает не только от развитых стран, но и от большинства других стран мира.

На стыке микронутриентологии и других наук возникают новые научные направления. Одно из них – фармаконутрициология, занимающаяся научными и практическими вопросами применения биологически активных компонентов пищи для лечения хронических заболеваний [3]. Сформулирована концепция фармаконутриентологии, т.е. фармакологии действия микронутриентов, синергично использующая достижения таких наук, как микронутриентология, диетология и фармакология, и значительно раздвигающая границы их возможностей [2, 30].

Представители р. *Allium* – лук – относятся к пищевым растениям, обладающим уникальным комплексом БАВ с широким спектром физиологического действия. Как было доказано, лук ингибирует рост опухолей и микробных клеток, снижает риск заболевания раком, улавливает свободные радикалы и защищает человека от сердечно-сосудистых заболеваний, что связывают с наличием серосодержащих соединений и флавоноидов [43]. В литературе неоднократно отмечали высокие антиоксидантные свойства многолетних луков, обусловленные как на-

личием специфических химических форм селена, так и высокими концентрациями витаминов Е и С и флавоноидов [46]. Многие лекарственные свойства связывают с присутствием в луке стероидных гликозидов (СГ) [41, 45].

Род *Allium* L. (Alliaceae) входит в число 20 крупнейших родов цветковых растений, относится к классу однодольных Liliatae, подклассу Liliidae, порядку Liliales и является третьим по числу видов среди родов с преимущественно голарктическим распространением (после *Astragalus* и *Carex*). Он самый большой в семействе луковых. По разным оценкам, он объединяет от 750 до 800 видов, основная часть которых (около 500) произрастает в северном полушарии [13, 39, 47]. На территории России и сопредельных государств насчитывается 332 вида, что составляет около половины мировой флоры. В Российской Федерации наиболее богата луком флора Сибири, которая содержит 54 вида и три подвида [25], и Кавказа, насчитывающая по разным данным от 51 [16, 17] до 70 [28] видов. Для Дальнего Востока и Якутии описано всего девять видов [7, 26]. Флора Республики Коми (РК) имеет очень скудный видовой ассортимент представителей р. *Allium*. Ее родовой комплекс составляют всего три вида, уступая даже такому суровому по климатическим условиям региону, как Якутия. Однако, один из видов – *Allium schoenoprasum* L. (лук скорода, резаец, шнитт) – издавна используемый населением в качестве пищевого и лекарственного растения, произрастает по всей территории РК и заходит в Арктику до 75° с.ш. Два других вида – *Allium angulosum* L. (лук угловатый) и *A. strictum* Schrad. (лук торчащий) – встречаются гораздо реже. Они занесены в Красную книгу Республики Коми.

Несмотря на то, что луки уже давно используются для лечения многих заболеваний, в последнее время интерес к ним резко возрос благодаря

Ширшова Татьяна Ивановна – к.х.н, в.н.с. лаборатории биохимии и биотехнологии. E-mail: shirshova@ib.komisc.ru. Область научных интересов: химия биологически активных природных соединений, фармаконутриентология.

Бешлей Игорь Васильевич – м.н.с. этой же лаборатории. E-mail: beshley@ib.komisc.ru. Область научных интересов: биоорганическая химия, биологически активные вещества растений.

Матистов Николай Вячеславович – аспирант этой же лаборатории. E-mail: matistov@ib.komisc.ru. Область научных интересов: химия биологически активных природных соединений.

обнаружению у них высоких аккумулярующих свойств по отношению к некоторым микроэлементам (Se, Cr, Ge), которые выполняют многообразные и чрезвычайно важные функции в организме.

Изучение химического состава представителей р. *Allium* в лаборатории биохимии и биотехнологии проводится уже более десяти лет. Были исследованы сотни образцов лука из флоры Республики Коми – от окрестностей Сыктывкара до Воркуты, Северного и Приполярного Урала. Учитывая обширность территории республики и разнообразие ее физико-географических условий, можно было ожидать большой изменчивости как в качественном составе БАВ, так и в их количественном содержании. Нами была исследована внутривидовая и межвидовая изменчивость содержания и компонентного состава различных групп БАВ, макро- и микроэлементов под воздействием различных факторов: видовой и сортовой принадлежности, фазы развития, эдафических и эколого-географических условий произрастания. Изучение культурных видов лука, интродуцированного в Республике Коми, было возможно благодаря сотрудничеству с отделом Ботанический сад, коллекцию которого (более 130 видов) смело можно отнести к крупнейшим коллекциям луков России и даже зарубежья. Комплексное изучение химического состава трех видов лука позволило нам впервые представить наиболее полную картину количественного содержания и компонентного состава таких БАВ, как нейтральные липиды (НЛ), высшие жирные кислоты (ВЖК), протеиногенные аминокислоты, витамины, СГ, а также макро- и микроэлементы, которые играют важную роль не только как естественные компоненты пищи, обладающие выраженным физиологическим и фармакологическим влиянием на организм человека и его основные регуляторные и метаболические процессы, но и выполняют многочисленные функции в самом растении.

Важнейшими представителями БАВ в растениях являются витамины, которые относят к «минорным факторам

питания» – микронутриентам [2, 3, 23]. Одним из наиболее важных для человека водорастворимых витаминов является витамин С, дефицит которого приводит к снижению иммунитета и возникновению различных заболеваний, одно из которых – цинга – было постоянным спутником моряков и путешественников, а также народов, населяющих районы Крайнего Севера. Большинство животных, в отличие от человека, способны синтезировать витамин С в собственном организме в количествах от 3000 до 12000 мг в день в зависимости от массы тела. По предположению Л. Полинга это может служить причиной отсутствия у животных инфарктов, инсультов и сердечно-сосудистых заболеваний. Аскорбиновая кислота (АК) вместе с витаминами А и Е, а также микроэлементом селеном составляет четыре важнейших антиоксиданта в организме человека, поддерживающих здоровье всех клеток. Это соединение защищает организм от таких видов активных форм кислорода, как, например, свободные радикалы и перекиси [5, 48].

Зеленый лук, продукт с высокой С-витаминной активностью, является прекрасным средством для восполнения запаса витаминов, особенно в период весеннего авитаминоза. Зеленое перо различных видов лука в среднем накапливает 50-90 мг% АК, т.е. 100 г зеленого лука содержит дневную норму витамина С для взрослого человека [22]. В состав ростков зеленого лука входят также каротин и витамины группы В. Данные литературы о содержании витамина С в растениях р. *Allium* крайне разноречивы, что объясняется эколого-географическими и климатическими факторами, условиями про-

исхождения, географическим положением района выращивания [8, 14] и даже методами определения [22]. Эти изменения касаются и АК, содержание которой увеличивается при продвижении на север и зависит от длины светового дня [33].

Нами было изучено изменение количественного содержания АК в листьях *Allium angulosum* L., *A. schoenoprasum* L. и *A. strictum* Schrad., выращенных в ботаническом саду Института биологии Коми НЦ УрО РАН (БС). Сбор растительного сырья проводили в фазы отрастания, бутонизации, цветения и плодоношения растений с мая по август в 2010 г. Количественное определение содержания витамина С осуществляли титрованием гомогенатов, полученных из листьев, щелочным раствором 2,6-дихлорфенолиндифенола [24]. Максимальное содержание АК было обнаружено почти во всех образцах в фазу отрастания. Наиболее богатыми по содержанию АК были листья *Allium strictum*, выращенного из семян, полученных из Южно-Алтайского ботанического сада Алтайского государственного университета (Барнаул). Массовая доля АК в нем была значительно выше (120 мг/100 г влажного сырья), чем во всех других образцах в фазу отрастания (от 50 до 80 мг), что по нашему мнению может быть связано с возрастом этого лука, интродуцированного в БС в 2009 г. (рис. 1). Хотя по данным И.В. Булох, исследовавшей в течение трех лет химический состав четырех видов лука, в том числе и *Allium angulosum*, возраст лука не оказывает отрицательного влияния на химические показатели, наибольшие изменения в химическом составе связаны с фазами развития [1].

Согласно нашим многолетним наблюдениям, большая часть БАВ и микронутриентов накапливается в молодых растениях в фазу отрастания. Так, *Allium schoenoprasum* содержит меньше АК, чем два других вида – *A. angulosum* и *A. strictum*, и только в фазе отрастания содержание АК в нем несколько выше, чем в *A. angulosum*, но значительно ниже, чем в *A. strictum* (рис. 1). Во всех образцах наблюдается тенденция к уменьшению содержания АК при пе-

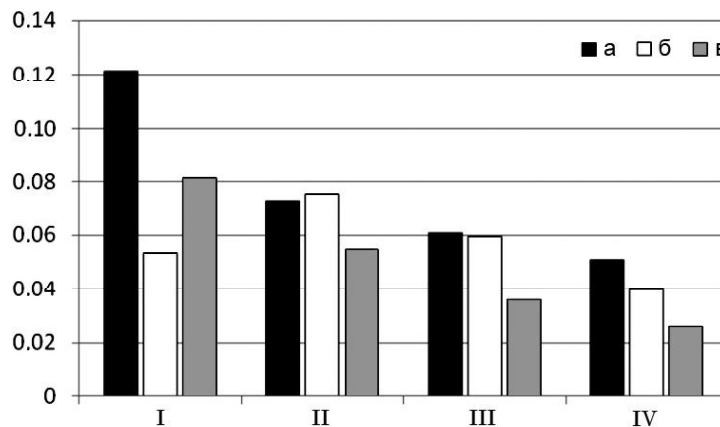


Рис. 1. Содержание (%) аскорбиновой кислоты в растениях-интродуцентах ботанического сада (Институт биологии, Сыктывкар): *Allium strictum* (а) – получен семенами из Южно-Алтайского ботанического сада АлтГУ (Барнаул), *A. angulosum* (б) и *A. schoenoprasum* (в) – из окрестностей г. Сыктывкар в фазы отрастания (I), бутонизации (II), цветения (III) и плодоношения (IV).

реходе растения из фазы отрастания в фазу плодоношения. Согласно данным литературы, употребление небольших количеств (10-20 г) свежего лука может обеспечить в среднем 15 мг (~22 %) АК при рекомендуемом потреблении 70 мг в сутки. Включение в рацион питания свежего пера лука даже в небольших количествах вносит ощутимый вклад в обеспечение организма этим витамином [22, 23, 33].

Липиды являются одним из важнейших и интересных классов БАВ. Это один из основных продуктов биосинтеза растений, которые в зависимости от компонентного состава обладают разного рода биологической активностью и разной степенью изменчивости в зависимости от систематического положения вида и условий его существования [35]. Роль липидов в растениях, а также их значение для человеческого организма многообразна и чрезвычайно важна. Липиды являются важнейшими структурными элементами клеточных мембран и способны изменяться в зависимости от среды обитания. До настоящего времени липиды лекарственных растений изучены мало, сведения о них в научной литературе весьма скудны.

НЛ извлекали из воздушно-сухого сырья трехкратной экстракцией гексаном [31]. Они представляют собой маслообразные жидкости со специфическим «луковым» запахом, окраска которых зависит от части растения. Количественное содержание НЛ во всех образцах трех видов лука как природного, так и культурного происхождения, различается незначительно. Более низким содержанием НЛ во всех частях лука отличается *Allium angulosum*. Содержание НЛ в семенах, как и следовало ожидать, значительно выше, чем в других органах растения, и достигает 5.2-9.8 %. НЛ семян имеют консистенцию растительного масла и

по коэффициенту преломления совпадают с оливковым маслом ($n_{D}^{25} = 1.473$). Высокое содержание НЛ было обнаружено также в соцветиях и бутонах всех образцов. В бутонах *Allium schoenoprasum* оно достигает 3-7, соцветиях 3-5 %, соцветиях *A. strictum* – 8.6 %, а в бутонах и соцветиях *A. angulosum* значительно ниже – всего 1.3-1.7 %. В луковицах и листьях *Allium angulosum* содержание НЛ также ниже, чем в двух других видах. Нами было показано, что в луковицах *A. strictum* в фазе отрастания содержание НЛ составляет всего 0.5 %, в листьях оно гораздо выше – 2.1 %. При переходе в фазу цветения содержание НЛ в луковицах возрастает до 1.4, а в листьях существенно падает – до 0.8 %. В луке *A. angulosum* в разные фазы развития содержание НЛ в луковицах ниже, чем в листьях. По-видимому, снижением содержания НЛ можно объяснить ухудшение вкусовых качеств лука – в фазе отрастания листья лука гораздо нежнее, чем в фазе бутонизации и цветения, когда они становятся более жесткими и менее пригодными в пищу.

Основными компонентами НЛ всех исследуемых видов, согласно результатам ТСХ-анализа (хроматографические пластинки фирмы Merck (Германия); система растворителей гексан:диэтиловый эфир:ледяная уксусная кислота 73:25:5 (v:v:v); проявитель – 10%-ный раствор фосфорномолибденовой кислоты в этаноле), являются стеринны ($R_f = 1.18$) и их эфиры ($R_f = 0.8$), свободные жирные кислоты ($R_f = 0.36$) и их эфиры ($R_f = 0.57$), триацилглицериды (ТАГ, $R_f = 0.48$). Однако НЛ разных частей лука отличаются и качественным составом, и их количественным содержанием. В НЛ луковиц эфиры стериннов обнаружены не были. Преобладающими компонентами

НЛ семян являются ТАГ, что характерно для растительных масел.

При помощи ГЖХ-анализа метиловых эфиров был установлен жирнокислотный состав НЛ, который представлен молекулами с длиной цепи от C_{16} до C_{20} и четным числом углеродных атомов. Главными по содержанию во всех видах лука являются линолевая ($C_{18:2}$) и линоленовая ($C_{18:3}$) полиненасыщенные ВЖК (ПНВЖК), которые относятся к незаменимым (эссенциальным) ВЖК. Максимальное содержание линолевой кислоты обнаружено в корнях (до 70 %), луковицах и бутонах. Наблюдается увеличение ее содержания во всех частях растения при переходе из фазы цветения в фазу плодоношения. Содержание линолевой кислоты в листьях всех образцов почти в два раза ниже, чем в остальных частях растения, но при этом значительно повышается содержание линоленовой кислоты ($C_{18:3}$). Из насыщенных ВЖК (НВЖК) во всех образцах обнаружено высокое содержание пальмитиновой кислоты ($C_{16:0}$), особенно в корнях, луковицах и соцветиях. В соцветиях преобладают пальмитиновая и стеариновая насыщенные кислоты. В соцветиях *Allium angulosum* и *A. strictum* пальмитиновая кислота является главной по содержанию. В соцветиях *Allium schoenoprasum* преобладает линолевая кислота, содержание которой достигает 68 %. Стеариновая кислота ($C_{18:0}$), которая в растениях совместно с пальмитиновой участвует в биосинтезе ПНВЖК, в наибольших количествах обнаружена в покровных чешуях всех образцов. Вместе с тем, наблюдается значительное снижение содержания всех ненасыщенных кислот. В НЛ семян основными по содержанию являются линолевая и олеиновая ($18:1$) кислоты, количество которых достигает 70 и 23 % соответственно, что совпадает с их

НАШИ ПОЗДРАВЛЕНИЯ



Д.б.н. Алексею Александровичу Москалеву и **к.б.н. Михаилу Вячеславовичу Шапошникову** с присуждением премии Н.В. Тимофеева-Ресовского за цикл работ «Генетические механизмы радиустойчивости и долголетия в исследованиях на модельных животных».

Желаем дальнейших творческих успехов!

Постановление Президиума УрО РАН
от 20.10.2011 № 8-4



содержанием в большинстве растительных масел.

Таким образом, нами показано, что *Allium angulosum* отличается от *A. strictum* и *A. schoenoprasum* более низким содержанием НЛ. Компонентный состав и закономерности распределения по частям растения НВЖК и ПНВЖК у данных видов одинаковы. Во всех исследуемых видах обнаружено высокое содержание линолевой и линоленовой кислот, являющихся предшественниками эйкозановых ПНВЖК, которые при попадании в организм человека с пищей образуют БАВ, обладающие многообразным влиянием на различные метаболические процессы [30].

Интерес к изучению СГ растений р. *Allium* особенно возрос в конце прошлого века, хотя впервые СГ в луках были обнаружены в 1943 г. авторами [44], которые выделили сапогенин *Allium tricoccum* – тигогенин. Десятилетие спустя в 12 из 32 проанализированных видов р. *Allium* были обнаружены СГ [29]. В 22 из 29 видов лука из флоры Грузии методом ТСХ были обнаружены сапонины [34]. Благодаря развитию хроматографии и инструментальных методов анализа природных соединений в 70-е годы прошлого столетия намечился существенный прогресс в выделении СГ из многокомпонентных смесей, в составе которых они присутствуют в растениях, и установлении их строения. На сегодняшний день стероидные гликозиды и их генины обнаружены в 43 видах р. *Allium*. При этом из луков выделено 45 фураностаноловых (ФГ) и 48 спиростаноловых (СПГ) гликозидов. В состав углеводных цепей этих соединений входят D-глюкоза, D-ксилоза, D-галактоза, L-рамноза и L-арабиноза. Кроме гликозидов, из разных видов лука изолировано 28 генинов, среди которых самым распространенным является диосгенин, найденный у 18 видов. Наибольший интерес представляют *Allium fuscovio-*

laceum (лук темно-фиолетовый) и *A. nutans* (лук поникающий), содержащие соответственно 2.1 и 2.3 % диосгенина [15]. Отмечено, что содержание диосгенина в соцветиях лука гораздо выше, чем в подземных органах. Для большинства луков характерно присутствие генинов с двумя и более гидроксильными группами. Так, для всех изученных среднеазиатских видов р. *Allium* – *A. giganteum* (лук гигантский), *A. karataviense* (лук каратавский), *A. turcomanicum* (лук туркменский), *A. stipitatum* (лук стебельчатый) и *A. suvorovii* (лук Суворова) показательно присутствие юккагенина. Основным генином *Allium waldsteinii* (лук Вальдштейна), произрастающего в Грузии, является β-хлорогенин [21]. Исследования показывают, что СГ накапливаются в подземных органах, цветочных корзинках и семенах луков. Листья и цветоносные побеги в большинстве своем содержат лишь следовые количества гликозидов и сапогенинов. Вероятнее ожидать большей аккумуляции свободных сапогенинов в подземных частях, а гликозидов – в репродуктивных органах [15]. Наряду с ФГ и СПГ в луках были обнаружены холестановые гликозиды (ХГ). Впервые эти соединения были выделены из растения *Allium schubertii* Zuss. (лук Шуберта) [40]. К настоящему времени они обнаружены в 11 видах лука [42]. Агликоном большинства ХГ является полигидроксилированный холестерин.

Интерес к растениям р. *Allium* как продуцентам сапонинов продолжает возрастать благодаря уникальным биологическим свойствам данного класса БАВ. Гликозиды, выделенные из растений р. *Allium*, проявляют инсектицидную и антифунгальную активность, обладают спазмолитическим, антиишемическим, противораковым действием [10, 42].

Нами из девяти видов лука-интродуцента из коллекции БС (*Allium angu-*

stifolium L., *A. komarovianum*, *A. jajlae*, *A. schoenoprasum*, *A. schoenoprasum* cv. Prazska Krajova, *A. ramosum*, *A. nutans*, *A. giganteum*, *A. porrum* L., *A. narcissiflorum* Wells.) были выделены ФГ и СПГ, а также генин большинства СПГ – диосгенин [32]. Наиболее глубокие исследования содержания СГ были проведены для *Allium schoenoprasum* L. Растения собирали в фазы бутонизации и цветения. Выделение суммы СГ из воздушно-сухого сырья проводили трехкратной экстракцией 70%-ным водным этанолом [19, 32]. Для разделения СПГ и ФГ использовали различия в их растворимости в воде – СПГ при стоянии на холоде выпадали в виде осадков, ФГ оставались в растворе. Наибольший выход суммы экстрактивных веществ (СЭВ), содержащих СГ, получен из соцветий и бутонов, что соответствует данным литературы [15] и, по-видимому, частично связано с извлечением сахаристых веществ и белков. СЭВ из листьев содержит желтые (каротин) и зеленые (хлорофиллы) пигменты. Самое низкое содержание СЭВ было обнаружено в луковицах и семенах. Использование хроматографических систем разной полярности и набора проявителей (реактив Санье, Эрлиха, ванилин-фосфорная кислота) позволило методом ТСХ обнаружить в разных частях растения от четырех до шести индивидуальных веществ, из которых два относятся к ФГ. Во всех частях растения были обнаружены несвязанный диосгенин, дельтонин (СПГ), дельтозид и протодиосцин (ФГ). Кроме того, во всех частях растения, за исключением покровных чешуй и бутонов, были обнаружены неидентифицированные вещества с $R_f = 0.53, 0.58$ и 0.60 . После разделения суммы СПГ при помощи колоночной хроматографии полученные узкие фракции анализировали методом обращено-фазовой (ОФ) высокоэффективной жидко-

НАШИ ПОЗДРАВЛЕНИЯ



К.б.н. Владимиру Валериевичу Елсакову с признанием экспертным советом всероссийского конкурса 2010-2011 гг. «Лучшие идеи по использованию космических снимков», организованного инженерно-технологическим центром «СканЭкс» (Москва) его проекта «Спутниковая съемка в оценке продуктивности экосистем европейского Севера» одной из лучших идей использования космических снимков и присвоением второго места в секции «Наука и образование»!

Желаем дальнейших творческих успехов и побед!

стной хроматографии (ВЭЖХ), что позволило по времени удерживания обнаружить наличие дельтонина ($t_R = 8'25''$) и неидентифицированного вещества – сапонина А ($t_R = 14'44''$), а также несвязанный диосгенин ($t_R = 7'06''$). Структура генина и сахаров, входящих в СпГ, была установлена после кислотного гидролиза серной кислотой при повышенном давлении [11]. Наличие диосгенина было подтверждено методом внутреннего стандарта – при введении в анализируемую пробу диосгенина (Sigma-Aldrich, Germany) наблюдали увеличение пика, совпадающего с ним по времени удерживания. Строение диосгенина было подтверждено методами хромато-масс-спектрометрии (ХМС) и ИК-спектроскопии. Данные ХМС показали, что пику со значением $m/z = 414$ соответствует молекулярный ион M^+ диосгенина. Сахара в водном остатке гидролизата были идентифицированы методом нормально-фазовой ВЭЖХ. На хроматограмме обнаружены два пика, соответствующие L-рамнозе ($t_R = 7'47''$) и D-глюкозе ($t_R = 14'58''$) в соотношении 2:1, что характерно для СпГ. ФГ, выделенные из водных растворов, очищали от примесей гель-хроматографией на сефадексе G-25. Методами ТСХ и ОФ ВЭЖХ было обнаружено присутствие дельтозида и протодиосцина, которые были идентифицированы методом ХМС. Пик со значением $m/z = 1122$ соответствует молекулярный ион M^+ дельтозида. Наиболее четко выявляются фрагменты с $m/z = 445$ ($M - C_{27}H_{53}O_{21}$)⁺, $m/z = 397$ ($M - C_{29}H_{54}O_{22}$)⁺, $m/z = 282$ ($M - C_{36}H_{69}O_{23}$)⁺, $m/z = 269$ ($M - C_{37}H_{70}O_{23}$)⁺, $m/z = 139$ ($M - C_{47}H_{53}O_{23}$)⁺.

Таким образом, впервые в разных частях растения *Allium schoenoprasum* нами идентифицированы дельтонин (СпГ), дельтозид и протодиосцин (ФГ), а также обнаружен диосгенин (генин СГ) как в несвязанном состоянии, так и в продуктах гидролиза суммы СГ.

Одной из важных характеристик пищевой и фармакологической ценности растений является содержание в них наряду с первичными и вторичными метаболитами макро- и микроэлементов. По мнению специалистов, практически все элементы Периодической системы элементов Д.И. Менделеева являются структурными и функциональными компонентами организма или различными путями поступают в его системы [2, 30]. При недостатке необходимого элемента возникают первичные нарушения метаболизма, за которыми следуют цепные

процессы, приводящие в конце концов к более глубокому нарушению. Дефицит минеральных компонентов в питании человека называется гипозлементозами (аналогично гиповитаминозам) и в условиях России носит тотальный характер [30]. Минеральный состав трех видов лука представлен широким спектром макро- и микроэлементов. Количественное содержание их изменяется в широких пределах и зависит от многих факторов. Во всех видах преобладает калий, содержание которого в воздушно-сухой массе колеблется от 0.5 до 4.4 % в луковичах и до 4.0 % в листьях. Содержание магния изменяется в пределах от 0.06 до 0.12 % в луковичах и от 0.13 до 0.38 % в листьях, фосфора соответственно 0.16-0.90 и 0.18-0.67 %.

Представители р. *Allium* содержат богатый набор микроэлементов. Одним из важнейших является железо, по содержанию которого многие виды корневищных луков уступают только шпинату (300 мг/кг), а среди растений р. *Allium* самое большое содержание (275 мг/кг) обнаружено у *A. angulosum* [27]. В исследованных нами образцах содержание железа колеблется в очень широких пределах и зависит от многих факторов. Так, в луковичах величина данного показателя составляет от 33 до 540, в листьях – от 70 до 160 мг/кг воздушно-сухой массы. Такой же широкий диапазон колебаний в содержании других микроэлементов – Zn, Mn, Cu, Al. На примере некоторых дикорастущих видов лука было

показано, что они являются аккумуляторами многих микроэлементов [4]. Аккумуляционные свойства растений по отношению к микроэлементам можно оценить с помощью коэффициента биологического накопления (КБН) – соотношение содержания (мг/кг) микроэлемента в сухой биомассе и почве. При значениях КБН ≥ 1 растения рассматривались как аккумуляторы микроэлементов. Одним из несомненных положительных качеств многолетних луков являются их высокие аккумуляционные свойства, например, по отношению к селену. В настоящее время установлено, что данный микроэлемент предотвращает возникновение и развитие кардиологических и онкологических заболеваний, способствует выведению тяжелых металлов из организма, нормализует репродуктивную функцию и повышает иммунитет [6, 36-38].

Результаты наших исследований подтверждают способность растений трех видов р. *Allium*, произрастающих на территории РК, накапливать высокие концентрации селена, антиоксидантной активности которого наш организм обязан защите от многих заболеваний. Определение содержания селена в дикорастущих и культурных образцах показало, что максимальное его количество накапливают листья *Allium angulosum* (КБН = 1.0-1.9), луковича *A. schoenoprasum* (0.6-1.4), листья (0.6-1.0) и луковича (0.5-1.1) *A. strictum* (рис. 2). У некоторых дикорастущих образцов исследованных ви-

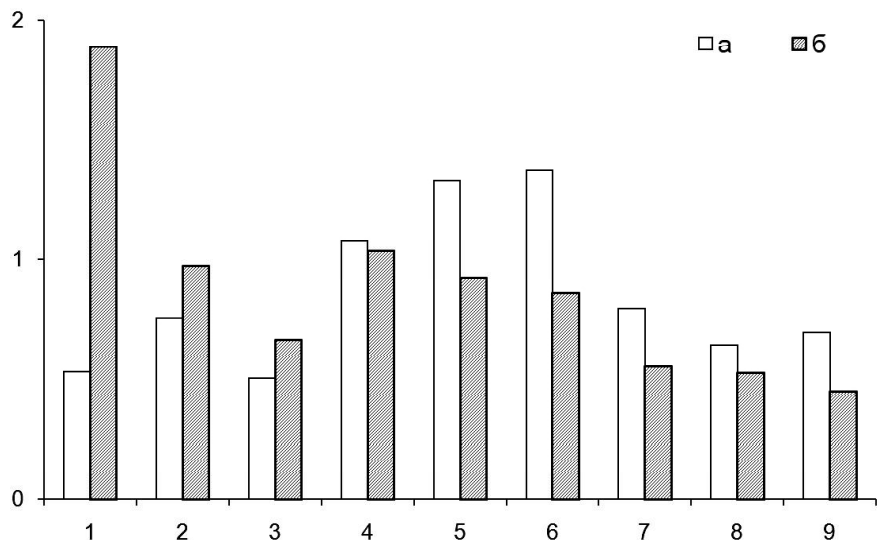


Рис. 2. Содержание селена в луковичах (а) и листьях (б) растений р. *Allium*: 1 – *A. angulosum* – интродуцент (БС), 2 – *A. angulosum* (с. Гам, Усть-Вымский р-н, РК), 3 – *A. strictum* – интродуцент (БС), 4 – *A. strictum* (р. Щугор, Северный Урал, РК), 5 – *A. schoenoprasum* – интродуцент (БС), получен семенами из ВИЛАРа (Москва), 6 – *A. schoenoprasum* (берег р. Илыч, Северный Урал, РК), 7 – *A. schoenoprasum* (с. Гам, Усть-Вымский р-н, РК), 8 – *A. schoenoprasum* var. major – интродуцент (БС), получен семенами из БИНа (Санкт-Петербург); 9 – *A. schoenoprasum* cv. Prazska Krajova – интродуцент (БС), получен семенами из Южно-Алтайского ботанического сада АлтГУ (Барнаул).

дов (*Allium strictum*, *A. angulosum*) КБН селена был выше, чем у культурных. Согласно нашим данным, почвы Республики Коми обеднены селеном (98-156 мкг/кг), лишь на некоторых участках БС его содержание достигает 260 мкг/кг. Однако какой-то корреляции между содержанием общего селена в почвах и его концентрацией в изучаемых образцах лука нами выявлено не было, что хорошо согласуется с известными данными литературы о малой информативности валового содержания селена в почве [9].

Таким образом, проведенные нами исследования показывают как пищевую, так и лекарственную ценность *Allium angulosum*, *A. strictum* и *A. schoenoprasum* из родового комплекса *Allium* флоры Республики Коми, являющихся источником БАВ и жизненно важных микронутриентов, которые играют важную физиологическую роль в растении и необходимы человеку для нормального функционирования организма.

В выполнении работы принимала участие О.В. Петухова – студентка-дипломница химико-биологического факультета СыктГУ.

Авторы благодарят сотрудников экоаналитической лаборатории за большой объем работы, выполненный по анализу растений р. *Allium*.

ЛИТЕРАТУРА

1. Булох И.В. Влияние возраста многолетних луков на урожайность и биохимические показатели // Научные труды Западно-Сибирской овощекартофельной селекционной опытной станции НИИ овощного хозяйства. Барнаул, 1986. Вып. 5. С. 138-144.
2. Гичев Ю.П. Общие представления о биологической и фармакологической роли микронутриентов // Введение в общую микронутриентологию. Новосибирск, 1998. С. 29-91.
3. Гичев Ю.Ю., Гичев Ю.П. Руководство по микронутриентологии. Роль и значение биологически активных добавок к пище. М., 2006. 264 с.
4. Голубев Ф.В., Голубкина Н.А., Горбунов Ю.Н. Минеральный состав диких луков и их пищевая ценность // Прикладная биохим. микробиол., 2003. Т. 39, № 5. С. 602.
5. (Голубкина Н.А.) Биологически активные соединения овощей / Н.А. Голубкина, С.М. Сирота, В.Ф. Пивоваров и др. М., 2010. 200 с.
6. Голубкина Н.А., Папазян Т.Т. Селен в питании. Растения, животные, человек. М., 2006. 255 с.
7. Данилова Н.С. Луковичные геифиты в культуре. Якутск, 1999. 117 с.
8. Казакова А.А., Луковникова Г.А. Влияние условий выращивания на хи-

мический состав и хозяйственные признаки некоторых видов лука // Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции, 1959. Т. 32, вып. 3. С. 116-132.

9. Капитальчук М.В., Голубкина Н.А. Биоаккумуляция селена растениями на различных типах почв Молдовы // АГРО-XXI, 2008. № 4-6. С. 81-83.

10. (Кельгенбаев А.Н.) Стероидные сапонины и сапогенины *Allium* / А.Н. Кельгенбаев, М.Б. Горовиц, Т.Т. Горовиц и др. // Химия природных соединений, 1976. № 4. С. 480-486.

11. (Кинтя П.К.) Гликозиды *Tribulus terrestris* / П.К. Кинтя, Э.Д. Перепелица, В.Я. Чирва и др. // Химия природных соединений, 1972. № 4. С. 475-477.

12. (Кинтя П.К.) Строение и биологическая активность стероидных гликозидов ряда спиростана и фурустана / П.К. Кинтя, Г.В. Лазурьевский, И.Т. Балашова и др. Кишинев: Штиинца, 1987. 144 с.

13. Кокорева В.А., Титова И.В. Лук, чеснок и декоративные луки. М., 2007. 208 с.

14. Комарова Р.А. Биохимический состав луков в зависимости от условий их выращивания // Сборник трудов аспирантов и молодых научных сотрудников ВИР. Л., 1966. № 7 (11). С. 257-261.

15. (Кравец С.Д.) Стероиды ряда спиростана и фурустана из растений рода *Allium* / С.Д. Кравец, Ю.С. Воллернер, М.Б. Горовиц и др. // Химия природных соединений, 1990. № 4. С. 429-443.

16. Кудряшова Г.Л. Кариосистематические заметки о кавказских видах рода *Allium* (Alliaceae) // Бот. журн., 1990. Т. 75, № 6. С. 829-832.

17. Кудряшова Г.Л. Конспект видов рода *Allium* (Alliaceae) Кавказа // Бот. журн., 1992. Т. 77, № 4. С. 86-88.

18. (Ловкова М.Я.) Избирательное накопление элементов растениями, синтезирующими сапонины / М.Я. Ловкова, С.М. Соколова, Г.Н. Бузук и др. // Прикладная биохим. микробиол., 1997. Т. 33, № 6. С. 635-642.

19. Пасевниченко В.А., Гусева А.Р. Выделение и свойства сапонинов из корневищ *Dioscorea deltoidea* Wall. // Прикладная биохим. микробиол., 1975. Т. 11, вып. 1. С. 94-101.

20. Проблемы адаптации человека к экологическим и социальным условиям Севера / Отв. ред. Е.Р. Бойко. Сыктывкар–С.-Петербург, 2009. 264 с.

21. Пхеидзе Т.А. Стероидные сапогенины юкки, произрастающей на Черноморском побережье Кавказа // Изв. АН ГССР. Сер. Химическая, 1980. Т. 4, № 6. С. 309-311.

22. Селютин И.Ю. Биологически активные вещества видов рода *Allium* L. (Alliaceae) // Сиб. бот. вестн.,

2007. Т. 2, вып. 2. С. 79-86. – (электронный журнал).

23. (Скальный А.В.) Основы здорового питания: пособие по общей нутрициологии / А.В. Скальный, И.А. Рудаков, С.В. Нотова и др. Оренбург, 2005. 117 с.

24. Фармакопея СССР. М.: Медицина, 1968. С. 43-44.

25. Фризов Н.В. Луковые Сибири. Новосибирск: Наука, 1988. 118 с.

26. Черемушкина В.А. Биология луков Евразии. Новосибирск: Наука, 2004. 280 с.

27. (Черемушкина В.А.) Корневищные луки Северной Азии: биология, экология, интродукция / В.А. Черемушкина, Ю.М. Днепровский, В.П. Гранкина и др. Новосибирск: Наука, 1992. 159 с.

28. Черепанов С.К. Сосудистые растения России и сопредельных государств. СПб., 1995. 991 с.

29. Четверикова Л.С., Киченко В.И., Уткин Л.М. Обследование растений флоры СССР на содержание сапонинов // Труды ВИЛАР. М.: Медгиз, 1959. Вып. 11. С. 202-228.

30. Шабров А.В., Дадали В.А., Макаров В.Г. Биохимические основы действия микрокомпонентов пищи / Под ред. В.А. Дадали. М., 2003. 184 с.

31. Ширшова Т.И., Бешлей И.В., Груздев И.В. Липиды и высшие жирные кислоты в луке *Allium schoenoprasum* L. // Растительные ресурсы, 2008. Т. 44, вып. 1. С. 75-81.

32. Ширшова Т.И., Волкова Г.А. Содержание стероидных гликозидов и нейтральных липидов у некоторых видов рода *Allium* (Alliaceae) // Растительные ресурсы, 2006. Т. 42, № 3. С. 59-66.

33. Шифрина Х.Б. Биохимические особенности многолетнего лука // Биохимия плодов и овощей, 1955. Вып. 3. С. 133-144.

34. Эристави Л.И. Стероидные соединения представителей *Allium* L. и их хроматографическое изучение с целью хемосистематики рода // Хроматографические методы в фармации: Матер. симпози. Тбилиси: Мецниереба, 1977. С. 130-136.

35. Юровицкий Ю.Г., Сидоров В.С. Эколого-биологический мониторинг и эколого-биохимическое тестирование в районе экологического неблагополучия // Изв. РАН. Сер. биол., 1993. № 1. С. 74-81.

36. Aro A., Alfthan G. Effects of supplementation of fertilizers on human selenium status in Finland // Analyst, 1995. Vol. 120. P. 841-843.

37. (Clark L.C.) Effects of selenium supplementation for cancer prevention in patients with carcinoma of the skin: a randomized controlled trial / L.C. Clark, G.F. Combs, B.W. Turnbull et al. // J. Amer. Med. Ass., 1996. Vol. 276. P. 1957-1985.

38. Combs G., Combs S. The role of selenium in nutrition. N.-Y., 1986. P. 235-238.

39. Hanelt P., Fritsch R. Notes on some infragenetic taxa in Allium L. // Kew Bul., 1994. Vol. 49, № 3. P. 559-564.

40. Kawashima K., Mimaki Y., Sashida Y. Steroidal saponins from the bulbs of *Allium schubertii* // Phytochem., 1993. Vol. 32, № 5. P. 1267-1272.

41. Kim S.J., Kim G.H. Quantification of quercetin in different parts of onion and its DPPH radical scavenging and antibacterial activity // Food Sci. Biotechnol., 2006. Vol. 15. P. 39-43.

42. Lanzotti V. Bioactive saponins from Allium and Aster plants // Phyto-

chem. Rev., 2005. Vol. 4, № 3-4 P. 95-110.

43. (Ly T.N.) Antioxidative compounds from the outer scales of onion / T.N. Ly, C. Hazama, M. Shimoyamada et al. // J. Agric. Food Chem., 2005. Vol. 53. P. 8183-8189.

44. (Marker R.E.) Sterols. CLVII. Sapogenins. LXIX. Isolation and structures of thirteen new steroidal sapogenins. New sources for known sapogenins / R.E. Marker, R.B. Wagner, P.R. Ulshafer et al. // J. Amer. Chem. Soc., 1943. Vol. 65, № 3. P. 1196-1209.

45. (Nuutila A.M.) Comparison of antioxidant activities of onion and garlic

extracts by inhibition of lipid peroxidation and radical scavenging activity / A.M. Nuutila, R. Puupponen-Pimia, M. Aami, et al. // Food Chem., 2003. Vol. 81. P. 485-493.

46. (Stajner D.) Exploring Allium species as a source of potential medicinal agents / D. Stajner, N. Milic, J. Canada-novic-Brunet et al. // Phytotherapy Res., 2006. Vol. 20, № 7. P. 581-584

47. Stearn W.G. How many species of Allium are known? // Kew bot. magazine, 1992. Vol. 9, pt. 4. P. 180-182.

48. Yu B.P. Cellular defences against damage from reactive oxygen species // Physiol. Rev., 1994. Vol. 74. P. 139-162.

❖

КОНСОРТИВНЫЕ СВЯЗИ ЭКДИСТЕРОИДСОДЕРЖАЩИХ РАСТЕНИЙ РОДА *SERRATULA* (ASTERACEAE)

Род Серпуха (*Serratula*) является одним из наиболее перспективных продуцентов экдистероидов – растительных аналогов гормонов линьки и метаморфоза насекомых. Содержание 20-гидроксиэкдизона (20E) в надземной части растений *Serratula coronata* колеблется от 0.7 до 3.0 % [1]. В настоящее время ведутся работы по интродукции указанного вида в качестве кормовой культуры и источника биологически активных веществ [3, 5, 9]. В природе любой организм взаимодействует со своим абиотическим и биотическим окружением. Помимо климатических и эдафических факторов, обычно учитываемых при интродукции, важным является выявление консортивных связей между видами. В практическом плане большой интерес представляет определение роли насекомых двух групп – фитофагов и опылителей. Значение насекомых-фитофагов для растения неоднозначно. С одной стороны, можно говорить об отрицательном воздействии фитофагов на растения, поскольку они отчуждают часть фитомассы. С другой стороны, биоповреждения могут приводить к индукции биосинтеза вторичных метаболитов, что имеет важное практическое значение. Например, поражение растений паслена дольчатого *Solanum laciniatum* (Ait.) тлей приводит к увеличению содержания соласодина в листьях [10], а повреждение личинками комарика *Bradysia impatiens* Joh. корней шпината (*Spinacia oleracea* L.) вызывает многократное увеличение концентрации 20E в растениях [12].

На примере смолевки татарской (*Silene tatarica* (L.) Pers.) было показано, что для популяций растений характерен высокий уровень полиморфизма по содержанию 20E, что препятствует адаптации насекомых к постоянной концентрации экзогенных гормонов линьки в пище [1]. В эксперименте [11]



К. Уфимцев



С. Пестов

из шести особей тли *Myzus persicae* Sulzer в результате ряда партеногенетических генераций было получено шесть групп тлей, каждая из которых состояла из 15 генетически идентичных особей. Была изучена реакция тлей разных групп на экдистероидсодержащую диету. Высокая концентрация 20E приводила к значительному уменьшению числа полученных нимф у двух групп, в то время как низкие концентрации приводили как к уменьшению, так и увеличению количества потомства. Представители двух групп практически отвергали пищу, содержащую 20E, в то время как особи другой группы предпочитали ее. Таким образом, биохимическая изменчивость растений и разделение насекомых на устойчивых и чувствительных по отношению к 20E особей является стратегией выживания растений и насекомых на видовом и популяционном уровнях. В литературе имеются и другие данные о разнообразном влиянии экзогенных экдистероидов на рост и развитие насекомых-фитофагов [6-8].

Цель настоящего исследования заключается в описании консортивных связей растений р. *Serratula* в условиях интродукции в подзоне средней тайги Республики Коми.

Исследования выполняли в июне-августе 2006-2010 гг. на опытных участках *Serratula coronata*, *S. inermis* и *S. quinquefolia* лаборатории биохимии и биотехнологии. Насекомых собирали кошением энтомологическим сачком по растениям и вручную при их осмотре. Учет опылителей производили в течение 10-минутного интервала. Препараты тлей в 10%-ном растворе формалина были переданы с.н.с., к.б.н. А.В. Стекольникову (ЗИН РАН, Санкт-Петербург) и определены им как *Uroleucon jaceae* (L.). Оценивали долю (%) растений и листьев, поврежденных тлей и членистоногими фитофагами со-

Уфимцев Кирилл Геннадьевич – к.б.н., н.с. лаборатории биохимии и биотехнологии. E-mail: ufimtsev@ib.komisc.ru. Область научных интересов: энтомология, экология, влияние биологически активных соединений на насекомых-фитофагов.

Пестов Сергей Васильевич – к.б.н., н.с. лаборатории экологии наземных и почвенных беспозвоночных. E-mail: pestov@ib.komisc.ru. Область научных интересов: биоразнообразие, экология двукрылых насекомых.

Таблица 1
Доля (%) поврежденных листьев растений рода *Serratula* на опытных площадках (июль 2010 г.)

Группа повреждений	<i>S. quinquefolia</i>	<i>S. inermis</i>	<i>S. coronata</i>
Минирование	4.0	2.0	2.7
Погрыз			
дырчатый	18.0	12.0	1.3
краевой	12.0	2.0	1.0
Скелетирование	8.0	1.0	–

Примечание: прочерк – не отмечено.

ответственно. Выборка включала в себя по 100 листьев с каждого вида растений в трехкратной повторности. Сбор пади производили с помощью предварительно взвешенных прозрачных пластиковых дисков (диаметр 9 см), укрепленных на генеративных побегах ниже участков, пораженных тлями, с 15 растений ежедневно. Диски с пастью взвешивали. Пасть с дисков смывали дистиллированной водой, воду отгоняли в вакууме на роторном испарителе, массу пади определяли гравиметрическим методом. Для определения динамики численности тли ежедневно производили их подсчет на каждом из 15 экспериментальных растений.

По нашим наблюдениям, растения *Serratula coronata* в фазе цветения при интродукции в таежной зоне Республики Коми сильно поражаются тлей *Uroleucon jaceae*. На видах *Serratula quinquefolia* и *S. inermis* встречаются только единичные экземп-

ляры тли указанного вида. В фазе цветения в листьях и апикальной части побегов *Serratula coronata* содержится чрезвычайно высокая концентрация (до 3 %) экидистероидов [8]. Замечено, что тли поражали именно те части побегов, в которых содержание экидистероидов было максимальным. На основании наших наблюдений можно было предположить, что данный вид тлей является нечувствительным к высоким концентрациям фитоэкидистероидов благодаря особенностям пищеварительной и выделительной систем. Известно, что тли, питающиеся флоэмным соком растений, избавляются от избытка сахаров, выделяя их в неизменном виде в окружающую среду в составе пади [2]. Возможно, по такому же механизму могут выводиться и экзогенные экидистероиды – полигидроксилированные циклические спирты, которые имеют заметное структурное сходство с сахарами [13]. Следует подчеркнуть, что судьба экзогенных экидистероидов, выделяемых совместно с сахарами в составе пади, является абсолютно неизученной в ближних и дальних пищевых цепях и представляет несомненный научный и практический интерес.

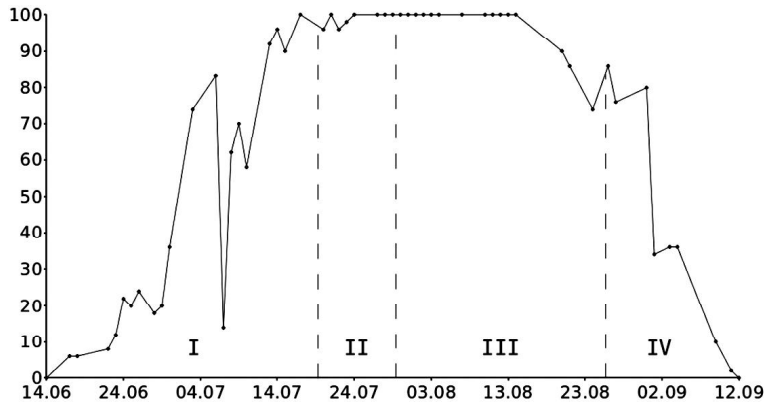
В этих целях нами проведено описание консортивного комплекса *Serratula coronata*. Установлено, что кроме основного фитофага *Uroleucon jaceae*, другими фитофагами указанного вида являются долгоносики *Chlorophanus viridis* (L.) и *Phylobius* sp., щитоноска пижмовая *Cassida vibex* L. и личинки мух-пестрокрылок (Thephritidae). Среди прочих листогрызущих насекомых найдены также личинки пилильщиков (Tenthredinidae) и гусеницы совок (Noctuidae), которые делают на листьях дырчатые и краевые погрызы соответственно. Личинки жесткокрылых скелетируют листья, а личинки мух-пестрокрылок образуют на листьях змеевидные мины. Отмечены значительные различия между видами р. *Serratula* в степени повреждения листьев насекомыми-фитофагами. Максимальная поврежденность по всем группам отмечена у *Serratula quinquefolia* (табл. 1). Краевые погрызы чаще встречаются у *Serratula quinquefolia*, дырчатые – у *S. quinquefolia* и *S. inermis*. Наиболее вероятно, что степень повреждения листьев исследованных растений фитофагами зависит от соотношения и уровня содержания различных экидистероидов, таких как 20E и инокостерон.

К опылителям растения *Serratula coronata* в условиях средней тайги Республики Коми относится 25 видов насекомых (табл. 2), которые составляют следующие эколого-функциональные группы: медоносные пчелы и шмели (Apidae), мухи-журчалки (Syrphidae) [4]. Наиболее обильными видами – посетителями цветков серпухи являются шмель *Bombus pratorum* (L.) и медоносная пчела *Apis mellifera* L. Консорты второго порядка – хищники и паразиты. Тлей *Uroleucon jaceae* питаются личинки и имаго божьих коровок (Coccinellidae): *Adalia bipunctata* (L.), *A. septempunctata* L., *Hippodamia tredecimpunctata* (L.), *Anisosticta novemdecimpunctata* (L.) и златоглазок (Chrysopidae): *Chrysopa perla* (L.), личинки мух-журчалок (Syrphidae) из родов *Sphaerophoria* и *Syrphus*. Последние являются хозяевами наездников-ихневмонид (Ichneumonidae) и круглых червей (Mermitidae). Кроме того, в сборах отмечены

Таблица 2
Видовой состав опылителей (Insecta: Diptera, Hymenoptera) серпухи венценосной

Название вида	Доля, %
Diptera: Syrphidae	
<i>Eristalis arbustorum</i> (L.)	10.0
<i>Helophilus hybridus</i> (Lw.)	+
<i>H. pendulus</i> (L.)	2.5
<i>Melanostoma mellinum</i> (L.)	+
<i>Metasyrphus nitidicollis</i> (Mg)	+
<i>Parasyrphus nigritarsis</i> (Ztt.)	7.5
<i>Platycheirus immarginatus</i> (Ztt.)	5.0
<i>P. clypeatus</i> (Mg.)	+
<i>P. peltatus</i> (Mg.)	+
<i>Sericomyia silentis</i> (Harris)	5.0
<i>Sphaerophoria rueppelli</i> (Wd.)	+
<i>S. scripta</i> (L.)	+
<i>S. taeneata</i> (Mg.)	+
<i>Syritta pipiens</i> (L.)	2.5
<i>Syrphus ribesi</i> (L.)	2.5
<i>S. vitripennis</i> Mg.	+
<i>Volucella pellucens</i> (L.)	+
Hymenoptera: Apidae	
<i>Bombus distinguendus</i> Morawitz	2.5
<i>B. hypnorum</i> (L.)	2.5
<i>B. lucorum</i> (L.)	12.5
<i>B. patagiatus</i> Nylander	2.5
<i>B. hortorum</i> (Klug)	17.5
<i>B. rupestris</i> (F.)	2.5
<i>B. semenoviellus</i> Skorikov	2.5
<i>Apis mellifera</i>	22.5

Примечание: отмечены (+) виды с обилием менее 1 %.



Доля (%) растений *Serratula coronata*, поврежденных тлей *Uroleucon jaceae*, в фазы отрастания (I), бутонизации (II), цветения (III) и плодоношения (IV). По горизонтали – дата учета.

хищные клопы (Nabidae), мушки-зеленушки (Dolichopodidae), которых относят к неспециализированным хищникам, и мухи-шаровки (Argosceridae): *Ogcodes gibbosus* (L.) – паразиты пауков.

Анализ динамики повреждаемости растения серпухи венценосной и численности тли *Uroleucon jaceae* в течение вегетационного периода показал, что к концу фазы отрастания все растения были заселены колониями тлей (средняя их численность превышала 100 ± 11 особей), размер которых достигал максимума (627 особей) при переходе растений из фазы бутонизации в фазу цветения. Тогда же отмечали и максимальную повреждаемость растений (см. рисунок). Масса пади, продуцируемая тлями, в фазы бутонизации, цветения и плодоношения растений составляла 5.96 ± 1.16 , 7.79 ± 1.57 и 1.78 ± 0.54 мг соответственно.

Полученные данные свидетельствуют о формировании трофических взаимосвязей между интродуцированными растениями и местными насекомыми-фитофагами. Ведущей группой опылителей всех исследованных видов р. *Serratula* являются медоносные пчелы и шмели. Основным фитофагом *Serratula coronata* являются тли *Uroleucon jaceae*, которые наиболее интенсивно повреждают побеги в фазе цветения. На *Serratula quinquefolia* и *S. inermis* тли были единичны. В отличие от *Serratula coronata* указанные виды заметно сильнее повреждались листогрызущими насекомыми. Вероятно, степень повреждения разных видов серпухи фитофагами зависит от содержания и соотношения различных экидистероидов.

ЛИТЕРАТУРА

1. (Володин В.В.) Экидистероидсодержащие растения: ресурсы и биотехнологическое использование / В.В. Володин, С.О. Володина, И.Ф. Чадин, В.А. Мартыненко. Екатеринбург, 2007. 125 с.
2. Курсанов А.Л. Транспорт ассимилятов в растении. М.: Наука, 1976. С. 310-312.
3. Мишуров В.П., Портнягина Н.В., Рубан Г.А. Интродукция серпухи венценосной на Севере // Интродукция растений на европейском Северо-Востоке. Сыктывкар, 1995. С. 91-100. – (Тр. Коми НЦ УрО РАН № 140).
4. Пестов С.В., Володин В.В. Насекомые консортивного комплекса *Serratula coronata* L. в условиях интродукции (средняя тайга Республики Коми) // Проблемы региональной экологии в условиях устойчивого развития: Матер. всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием. Киров, 2007. Вып. V, ч. 2. С. 261-264.
5. Саад М.Л. Серпуха венценосная (*Serratula coronata* L.) как перспективный источник фитоэкидистероидов: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Киев, 1993. 25 с.
6. Уфимцев К.Г., Ширшова Т.И., Володин В.В. Фитоэкидистероиды – детерrentы насекомых-фитофагов. Екатеринбург, 2009. 89 с.
7. Уфимцев К.Г., Ширшова Т.И., Володин В.В. Фитоэкидистероиды как детерrentы насекомых-фитофагов: действие растения серпухи венценосной *Serratula coronata* L. – продуцента экидистероидов, на египетскую хлопковую совку *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae) // Усп. совр. биол., 2009. Т. 129, № 3. С. 1-15.
8. Фитоэкидистероиды / Под ред. В.В. Володина. СПб.: Наука, 2003. 293 с.
9. Харина Т.Г. Эколого-биологические особенности серпухи венценосной в связи с интродукцией в Западной Сибири: Автореф. ... канд. биол. наук, 1990. 16 с.
10. Шаин С.С. Биорегуляция продуктивности растений. М., 2005. 218 с.
11. (Malaua T.) Within-species variability of the response to 20-hydroxyecdysone in peach-potato aphid (*Myzus persicae* Sulzer) / T. Malaua, M. Salles, V. Marquet et al. // J. Insect Physiol., 2006. Vol. 52 (5). P. 480-486.
12. (Schmelz E.A.) Interaction between *Spinacia oleraceae* and *Bradysia impatiens*: A role for phytoecdysteroids / E.A. Schmelz, R.J. Grebenok, T.E. Ohnmeiss, W.S. Bowers // Arch. Insect Biochem. Physiol., 2002. Vol. 51. P. 204-221.
13. Slama K. Ecdysteroids: insect hormones, plant defensive factors, or human medicine // Phytoparasitica, 1993. Vol 21, № 1. P. 3-8. ❖

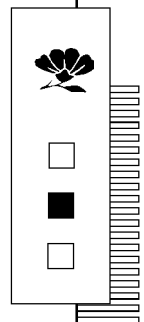
ЮБИЛЕЙ

Нине Андреевне Мальковой, нашему дорогому ветерану, исполнилось 70 лет. Коллектив экоаналитической лаборатории сердечно поздравляет Вас, Нина Андреевна, с юбилейной датой! Желаем Вам крепкого здоровья, прекрасного настроения, душевной гармонии, благополучия и успехов на долгие годы.

Пусть будет этот юбилей
Незабываемым из дней –
Улыбок полон и цветов
И благодарных теплых слов!

Пусть в радости идут года,
Чтоб в жизни были навсегда
Здоровье, счастье и успех,
Удача в начинаньях всех!

Коллеги



ДЕЙСТВИЕ ЭКДИСТЕРОИДСОДЕРЖАЩЕЙ СУБСТАНЦИИ СЕРПИСТЕН НА ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА МЕМБРАНЫ ЭРИТРОЦИТОВ И СОСТОЯНИЕ СИМПАТО-АДРЕНАЛОВОЙ СИСТЕМЫ КРЫС

Повышение адаптивных возможностей человека к различным повреждающим факторам среды способствует его выживанию и сохранению работоспособности в экстремальных климатических, а также вредных условиях труда, и является важнейшим моментом в профилактике различных заболеваний. Качество адаптации в значительной степени определяется динамикой развития стресс-реакции, доминированием стресс-лимитирующих (часто гомеостатических) или стресс-реализующих систем, эффективно используемых резервных клеточно-тканевых и молекулярных механизмов приспособления. Новой стратегией коррекции дизадаптивных состояний, профилактики заболеваний и сохранения здоровья человека может быть активное применение препаратов природного происхождения – адаптогенов, которые могут повысить неспецифическую сопротивляемость организма. Перспективны в этом плане фитозкдистероиды (ФЭС), которые не оказывают собственного гормонального воздействия, но в значительной степени могут облегчить адаптацию к истощающей физической и умственной нагрузке, а также к различным факторам патологической и токсической природы [2, 12, 15, 33, 34, 46]. Показано, что перспективным растительным сырьем для выделения ФЭС может служить успешно интродуцированный в условия среднетаежной зоны Республики Коми вид серпуха венценосная (*Serratula coronata* L.).

Было установлено, что в надземных органах растений данного вида содержание 20-гидроксиэкдизона на порядок выше, чем в подземных органах фармакопейного вида – левзея сафлоровидная *Rhaponticum carthamoides* (Willd.) Iljin. В Институте биологии Коми НЦ УрО РАН разработана технология получения экдистероидсодержащей субстанции Серпистен из надземной части серпухи венценосной [6], которая представляет собой смесь экдистероидов: 20-гидроксиэкдизона (80 %), 25S-инокостерона (11 %), экдизона (5 %) и других минорных компонентов, находящихся в следовых количествах.



Н. Петрова



В. Володин



С. Володина



М. Стрелкова

Ранее проведенные испытания физиологической активности субстанции Серпистен показали высокое эротропное и ЦНС-тонизирующее действие на фоне незначительного анаболического эффекта [36, 46]. Отмечено [33, 34], что экдистероидсодержащие растения, в том числе и серпуха венценосная, в силу мембраностабилизирующего действия ФЭС могут служить перспективными источниками для разработки эффективных гемореологических средств. В опытах *in vitro* и *in vivo* на моделях патологических состояний, сопровождающихся синдромом повышенной вязкости крови (ишемия головного мозга, инфаркт миокарда, артериальная гипертензия), и сахарном диабете выявлена способность экстрактов экдистероидсодержащих растений проявлять свойства эффективных корректоров нарушений гемореологического статуса [5, 34]. По современным представлениям, многие из позитивных эффектов адаптогенов реализуются через центральные структуры управления формированием стресс-реакции с обязательным участием гормонов адреномедулярной и адренокортикальной систем [27, 52]. Однако работ, посвященных изучению действия ФЭС на системы неспецифической адаптации, чрезвычайно мало, хотя актуальность таких исследований очевидна.

Целью настоящей работы является изучение действия экдистероидсодержащей субстанции Серпистен на физико-химические свойства мембраны эритроцитов (Эр) и состояние симпат-адреналовой системы (САС) крыс в норме и условиях стресса.

Материал и методы исследования

Проверку действия ЭС субстанции Серпистен на физико-химические

свойства (Эр) (кислотная резистентность и агглютинабельность) и функциональную активность САС крыс проводили на кафедре физиологии человека и животных Сыктывкарского государственного университета. Эксперименты выполнены на трех-четырёхмесячных белых беспородных крысах обоего пола (количество животных – 190, масса 166 ± 10 г; эксперименты: введение препарата на 2 и 24 ч в течение пяти дней при стрессе), беспородных самцов крыс в возрасте 1 год (количество – 18, масса 336 ± 12 г; стресс 2008 г.), трех-четырёхмесячных самцах линии Wistar (количество – 36, масса 170 ± 9 г; введение препарата на 12 ч). Готовили 0.3%-ный раствор Серпистена в 0.9%-ном растворе NaCl. В качестве контроля использовали 0.9%-ный NaCl (плацебо). Серпистен и изотонический раствор вводили внутримышечно. Кровь брали методом тотального обескровливания путем декапитации животных после легкого хлороформного наркоза и стабилизировали гепарином. Имобилизационный стресс производили жесткой фиксацией крысы в положении лежа на спине на 15 и 30 мин. (эксперименты 2006-2008 гг.), что соответствовало начальной фазе стресс-реакции [1]. Проведено несколько серий экспериментов: однократное введение Серпистена в дозе 20 мг/кг с забором крови через 2, 12 и 24 ч; многократное введение Серпистена в дозе 5 мг/кг ежедневно в течение пяти дней в суммарной дозе 25 мг/кг, однократное введение Серпистена в дозе 20 мг/кг за 24 ч до иммобилизационного стресса. Крыс делили на интактные, опытные (вводили Серпистен) и контрольные (вводили соответствующий объем 0.9%-ного раствора NaCl) группы.

Петрова Наталья Борисовна – к.б.н., доц. каф. биологии Сыктывкарского государственного университета. E-mail: nbp1959@yandex.ru. Область научных интересов: *физиологические механизмы адаптаций*.

Стрелкова Марина Владимировна – студентка V курса Сыктывкарского государственного университета в период выполнения работы. Область научных интересов: *физиология человека и животных*.

Для исследования кислотной резистентности Эр (КРЭ) использовали метод кислотных эритрограмм, основанный на фотоэлектрической регистрации кинетики гемолиза Эр [7, 8] в модификации [9]. Анализировали основные параметры гемолиза Эр: длительность гемолиза, время достижения максимума гемолиза и количественный показатель – максимум гемолиза. Дополнительно строили эритрограмму, которая представляла собой парциальный график доли разрушающихся Эр во времени [9].

Агрегационную способность эритроцитов оценивали с помощью метода фитогемагглютинации с использованием лектинов – фитогемагглютининов (ФГА). Растворы ФГА получали путем экстрагирования их из размолотых семян гороха посевного (*Pisum sativum*) 0.9%-ным раствором NaCl в течение двух суток в бытовом холодильнике при температуре +4 °С (периодически перемешивая). Соотношение массы сухой навески и объема раствора NaCl составляло 1:5. Полученные вытяжки фильтровали. Количественное измерение реакции агглютинации проводили в камере Горяева на 10-, 20-, 30- и 40-й мин. наблюдения [20]. ФГА обладают свойством избирательно связываться с олигосахаридными участками интегральных гликопротеидов мембраны Эр. Результатом развивающегося взаимодействия являлось склеивание Эр друг с другом – реакция агглютинации Эр (РАЭ).

Последняя может характеризовать иммунобиологическую специфичность [17], структуру и качественный состав популяции Эр [20], состояние рецепторов, например, адренорецепторов на мембране Эр [30]. РАЭ изменяется под действием различных факторов гормональной и негормональной природы. Так, при беременности, гипертиреозе, холодом и иммобилизационном стрессе, физической нагрузке (пробе Летунова у человека и плавании у крыс) РАЭ повышалась [28, 31, 32]. Адреналин *in vitro* повышал РАЭ у крыс. Пропранолол (ПП) – неселективный блокатор бета-адренорецепторов, наоборот, снижал РАЭ, оказывая мембраностабилизирующий эффект [30].

Оценку состояния САС и адренореактивности организма осуществляли с помощью метода фитогемагглютинации в сочетании с ПП-тестом. Прямые методы определения функционального состояния САС достаточно сложны в математической обработке и/или требуют специального оборудования и дорогостоящих реактивов (радиоиммунологические методы, флуоресценция, ЯМР). Поскольку Эр содержат функционально активные бета-адренорецепторы и известна однонаправленность изменений адренореактивных свойств различных тканей организма и Эр [11, 18, 39], нами был предложен косвенный способ оценки состояния САС с использованием ме-

тода фитогемагглютинации в сочетании с ПП-тестом [32].

Оценку состояния САС и адренореактивности Эр проводили следующим образом: кровь делили на контрольную (ФГА + Эр) и опытную (ФГА + Эр + ПП) пробы, где ПП (коммерческое название Обзидан, производства Германии) использовали в концентрации 10⁻³ г/мл. Поскольку ПП взаимодействует только со свободными от катехоламинов бета-адренорецепторами, по выраженности реакции на ПП можно судить о состоянии САС. Если реакция Эр на ПП большая (более 15-20 %) по отношению к контрольной пробе на 10-й мин. наблюдения, то свободных адренорецепторов на мембране Эр много, САС неактивирована. Если реакция на ПП слабая (менее 10 %) или отсутствует, то свободных адренорецепторов мало, САС активирована.

Результаты исследований были статистически обработаны с вычислением средней арифметической, среднеквадратического отклонения, ошибки средней. Достоверность различий определяли с использованием t-критерия Стьюдента и критерия знаков [16].

Результаты и их обсуждение

Ранее было показано, что независимо от видовой или половой принадлежности, возраста, функционального состояния организма человека и животных, РАЭ на ФГА с течением времени (с 10-й по 40-ю мин. наблюдения)

НАШИ ПОЗДРАВЛЕНИЯ

Весь коллектив Института биологии сердечно поздравляет **Наталью Гелиевну Юшкову** со знаменательной датой!

В октябре исполнилось ровно 30 лет с тех пор, как Наталья Гелиевна пришла работать в Институт биологии Коми филиала АН СССР, ныне – Коми научный центр УрО РАН в должности лаборанта. Ее трудовая деятельность связана с разведением лабораторных животных, являющихся материалом для исследований не только отдела радиоэкологии Института биологии, но и других сыктывкарских научных и учебных учреждений. За годы работы Наталья Гелиевна стала высококвалифицированным специалистом в области зоотехнии и ветеринарии. В настоящее время она исполняет обязанности заведующего питомником экспериментальных животных.

Наталья Гелиевна детально знает все тонкости работы в сфере лабораторного животноводства. Благодаря ее многолетнему опыту, профессионализму из года в год поддерживается и пополняется коллекционный фонд экспериментальных животных. Безусловно, успех в этом нелегком деле и его процветание невозможен без трудолюбия, аккуратности, ответственности, преданности своей работе, а самое главное, любви к животным, что является неотъемлемыми чертами характера Натальи Гелиевны. Кроме того, немаловажное значение имеют хорошие отношения с коллегами по работе, ценящими ее обаяние, порядочность, доброжелательность, отзывчивость.

Дорогая Наталья Гелиевна! Искренне поздравляем со знаменательной датой и желаем Вам доброго здоровья и всего самого наилучшего!

Радиоэкологи



Влияние Серпистена и 0.9%-ного раствора NaCl на агреггируемость и адренореактивность мембраны эритроцитов самцов (верхняя строка) и самок (нижняя строка) беспородных крыс

Тест	Время, мин.	Интактная группа	0.9 % NaCl 5 дней	Серпистен 5 дней	0.9 % NaCl 2 ч	Серпистен 2 ч
Контроль (Эр + ФГА)	10	30.3 ± 0.9	40.2 ± 1.1***	25.1 ± 2.0***	43.2 ± 2.0***	30.7 ± 1.2
		34.1 ± 0.9	41.1 ± 1.6**	29.2 ± 2.8	39.6 ± 1.7*	31.1 ± 1.5
	20	47.2 ± 0.7	51.1 ± 2.0*	39.2 ± 1.2***	54.3 ± 1.2***	43.3 ± 1.1*
		50.2 ± 1.2	53.3 ± 1.6	43.0 ± 0.9**	56.1 ± 0.9*	44.2 ± 1.2*
	30	54.0 ± 0.9	66.2 ± 2.2***	51.1 ± 1.3	60.0 ± 2.0*	52.4 ± 1.0
		59.0 ± 0.7	57.2 ± 1.1	52.1 ± 1.8**	62.0 ± 2.3	54.2 ± 1.1*
	40	66.3 ± 1.2	72.3 ± 1.9	62.5 ± 1.3	71.1 ± 2.2	67.1 ± 2.1
		67.4 ± 0.9	69.3 ± 2.2*	60.3 ± 1.1**	74.5 ± 1.1**	68.2 ± 2.0
Опыт (Эр + ФГА + ПП)	10	19.3 ± 1.1	36.2 ± 0.9***	15.1 ± 2.0	40.2 ± 1.1***	18.8 ± 1.1
		21.1 ± 1.8	38.2 ± 1.1***	18.2 ± 1.2	35.7 ± 1.2***	20.2 ± 1.1
	20	31.2 ± 0.9	48.4 ± 1.1***	21.3 ± 1.8***	49.6 ± 1.1***	23.5 ± 1.1***
		39.9 ± 1.1	46.8 ± 1.1**	30.1 ± 1.1***	51.1 ± 1.1***	30.4 ± 1.1***
	30	41.1 ± 1.4	59.1 ± 1.2***	34.1 ± 1.1**	57.4 ± 2.0***	46.2 ± 1.2*
		49.7 ± 2.4	49.3 ± 2.0	34.6 ± 1.1***	58.0 ± 2.1*	43.3 ± 1.2
	40	52.3 ± 1.1	64.7 ± 1.2***	48.4 ± 2.2*	64.2 ± 1.3***	56.1 ± 2.2
		58.2 ± 1.6	59.3 ± 1.4	42.2 ± 1.2***	68.2 ± 1.1***	54.2 ± 1.3

Примечания. Здесь и далее: Эр – эритроциты, ФГА – фитогемагглютинины, ПП – пропранолол. Различия достоверны между показателями интактной и другими группами животных $p < 0.05$ (*), $p < 0.01$ (**), $p < 0.001$ (***)

возрастает [30, 31]. Однако степень увеличения в значительной мере варьирует и зависит от состояния мембраны Эр и воздействий, оказываемых на нее. У беспородных интактных крыс доля агреггировавших Эр на 10- и 40-й мин. наблюдения составляла 32.2 ± 0.9 и 66.8 ± 1.1 % соответственно. Эр самок более подвержены агреггитации, чем Эр самцов (табл. 1). Достоверные различия ($p < 0.05$) по полу в РАЭ обнаружены на 10- и 30-й мин. наблюдения. Имеются различия по полу и в другом физико-химическом параметре – КРЭ. У самок этот показатель был снижен по сравнению с самцами. Достоверные различия найдены по длительности и скорости гемолиза (табл. 2). Эритрограмма самок смещена влево в сторону менее резистентных клеток по сравнению с самцами. Очевидно, это связано с различиями в мембранных структурах. Так, известно, что эритроцитарная мембрана самцов крыс более насыщена жирными кислотами, поэтому жесткость ее выше [23]. Кроме того, различия по полу могут быть связаны с окружением Эр, обусловленные гормональным фоном животных [1, 38], а также содержанием эндогенных агонистов и сенсibilизаторов адренорецепторов [47]. Вероятно, различия в структуре мембраны и гормональном фоне могут определять и особенности реагирования на стресс и введение Серпистена. У самцов линии Wistar на 10- и 40-й мин. наблюдения РАЭ составляла 38.5 ± 1.6 и 66.2 ± 2.1 % соответственно (табл. 3). Следует отме-

тить, что абсолютные значения РАЭ и вариабельность этого показателя были несколько выше, чем у беспородных крыс. КРЭ крыс линии Wistar была ниже, чем у беспородных животных: время окончания гемолиза и время полураспада Эр оказались меньше на 13.7 и 27.5 % соответственно ($p < 0.01$), что подтверждает закономерность о том, что линейные животные по многим физиологическим показателям уступают беспородным.

Под действием ПП у всех крыс независимо от поло-возрастных различий и гормонального фона РАЭ снижалась, а кислотный гемолиз ускорялся [29, 30]. Выраженность и дозо-зависимость эффекта ПП определяется как состоянием эффекторного звена – бета-адренорецепторов на мембранах клеток-мишеней, так и активностью центральных адренергических стресс-реализующих структур [18, 40, 44]. Выраженность эффекта ПП на РАЭ интактных крыс была высокой и составляла у беспородных животных 36-38 и 14-21, у Wistar – 33 и 18 % на 10- и 40-й мин. соответственно. Значительный эффект на ПП свидетельствовал о неактивированном состоянии САС у интактных животных. Наблюдали линейную зависимость эффекта ПП от времени его действия: с увеличением времени действия эффект адреноблокатора понижался. Мы полагаем, что подобная зависимость отражает высокую адренореактивность Эр и сохранение нормального функционального состояния адренорецепторов на мембране Эр.

Поскольку Серпистен вводили животным в 0.9%-ном растворе NaCl, необходимо было оценить влияние самих инъекций физиологического раствора на изучаемые параметры. Введенный за 2 ч до забоя раствор 0.9 % NaCl изменял физико-химические свойства мембраны Эр и состояние САС беспородных крыс. Наблюдали снижение КРЭ и повышение их агреггитируемости. У контрольных крыс отмечали сдвиг эритрограммы в сторону менее резистентных клеток. Длительность гемолиза Эр этих крыс (самцов и самок) на 10-12 %, время достижения максимума – на 14-18 % меньше, чем у интактных животных; максимум гемолиза увеличен на 14-19 % (табл. 2). РАЭ контрольных крыс повышалась несколько больше у самцов, чем у самок (табл. 1). Такие изменения, очевидно, были вызваны стресс-реакцией, активацией катоксических (стресс-реализующих) механизмов адаптации, повышением уровня катехоламинов крови и выбросом в циркулирующее русло депонированных Эр с нарушенными физико-химическими и сниженными ферментативными свойствами [19]. На активированную САС при введении 0.9%-ного раствора NaCl указывал значительно сниженный (7-10 %) ответ Эр на ПП. Кроме того, отмечалось нарушение линейной зависимости эффекта ПП от времени его действия.

Серпистен, введенный за 2 ч до забоя, в отличие от NaCl (своего растворителя) снижал агреггитируемость Эр. РАЭ крыс, получавших Сер-

пистен, вне зависимости от пола составляла 30.9 ± 1.3 и 67.4 ± 2.0 % на 10- и 40-й мин. наблюдения (табл. 1). Ответ Эр на ПП колебался в пределах 35-39 и 16-20 % на 10- и 40-й мин. Эти данные свидетельствуют в пользу неактивированного состояния САС у животных, получивших однократную инъекцию Серпистена за 2 ч до забоя. Полученные данные свидетельствуют о том, что на мембранах Эр этих крыс имеется большое количество адренорецепторов, свободных от катехоламинов, с ними и взаимодействовал ПП. Это означает, что в циркулирующей крови уровень гормонов мозгового слоя надпочечников снижен. На 10- и 20-й мин. у самцов, получивших Серпистен, а также на 30- и 40-й мин. – у самок эффект ПП на Эр превышал таковой для интактных крыс, что может быть обусловлено появлением в сосудистом русле молодых Эр. Имеются указания на быструю стимуляцию эритропоэза (2 ч) у крыс [21, 22]. Из литературы известно, что ретикулоциты крыс содержат больше бета-адренорецепторов, чем зрелые Эр [48, 53]. Кроме того, у самок, но не у самцов, сохранялась линейная зависимость ПП от времени его действия, что свидетельствовало о сохранении исходных адренореактивных свойств Эр, а следовательно и адренореактивности других органов и тканей.

Поскольку эффект Серпистена развивался достаточно быстро (в течение 1-2 ч), наиболее вероятным представляется механизм прямого мембранотропного действия препарата. Так как зрелые Эр – безъядерные клетки, очевидно, это влияние осуществляется внегеномно на структуры липидно-белкового комплекса мембраны, сопрягающие факторы бета-адренорецепторов и внутриклеточные механизмы трансдукции гормонального сигнала. В опытах *in vitro* на клетках крови [45, 50, 54], гепатоцитах [41], кератоцитах [50], миоцитах животных и человека [3, 33] показано прямое влияние ФЭС на функциональное состояние клеточной и внутриклеточных мембран, механизмы взаимодействия с рецепторами и ионный транспорт [3, 33]. Нами также было показано изменение некоторых физико-химических и функциональных свойств Эр под влиянием Серпистена *in vitro* [36], однако действие препарата *in vitro* и *in vivo* различаются, иногда даже противоположно направлены. Действие Серпистена *in vitro*, очевидно, видоспецифично и зависит от функционального состояния организма. Так, у интактных

Таблица 2
Параметры кислотного гемолиза эритроцитов беспородных крыс в контроле (верхняя строка) и при воздействии пропранолола (нижняя строка)

Группа животных (n)	Время, мин.		Максимум гемолиза, %
	Гемолиза	Достижения максимума	
Интактные			
самцы (6)	$10.2 \pm 0.1^*$	$6.2 \pm 0.1^{\blacklozenge}$	$25.1 \pm 0.8^{\blacklozenge}$
	8.6 ± 0.2	5.2 ± 0.2	30.1 ± 0.9
самки (6)	$9.3 \pm 0.1^*$	$5.6 \pm 0.2^*$	$28.4 \pm 1.3^*$
	8.6 ± 0.2	4.9 ± 0.2	32.4 ± 0.7
NaCl 5 дней			
самцы (6)	10.3 ± 0.1	$6.3 \pm 0.1^{\blacktriangle}$	23.7 ± 0.9
	8.7 ± 0.2	5.3 ± 0.3	27.3 ± 0.8
самки (5)	9.1 ± 0.2	5.5 ± 0.2	27.3 ± 1.1
	7.8 ± 0.3	4.6 ± 0.2	30.1 ± 1.0
Серпистен 5 дней			
самцы (6)	10.5 ± 0.2	$6.7 \pm 0.3^{\blacklozenge\blacktriangle}$	$22.6 \pm 0.7^{\blacklozenge}$
	8.9 ± 0.3	5.3 ± 0.2	27.4 ± 0.7
самки (5)	9.7 ± 0.3	5.8 ± 0.2	25.4 ± 0.7
	7.5 ± 0.2	4.6 ± 0.2	29.0 ± 1.0
NaCl 2 ч			
самцы (7)	$9.0 \pm 0.2^*$	$5.1 \pm 0.3^{\circ}$	$28.8 \pm 1.0^{\circ}$
	7.3 ± 0.2	4.1 ± 0.3	35.8 ± 1.4
самки (5)	$8.5 \pm 0.2^*$	$4.8 \pm 0.2^*$	$33.8 \pm 0.9^{\circ}$
	6.8 ± 0.1	4.0 ± 0.3	38.3 ± 1.2
Серпистен 2 ч			
самцы (7)	9.2 ± 0.3	$5.9 \pm 0.2^{\circ}$	$24.8 \pm 0.9^{\circ}$
	7.9 ± 0.1	4.8 ± 0.3	28.3 ± 0.8
самки (5)	8.5 ± 0.2	4.8 ± 0.1	$23.7 \pm 1.0^{\circ}$
	6.8 ± 0.1	3.9 ± 0.2	26.9 ± 0.7

Примечание: различия между интактными крысами и крысами, которым многократно вводили Серпистен (\blacklozenge); крысами, которым многократно вводили NaCl, и крысами, которым многократно вводили Серпистен (\blacktriangle); интактными крысами и крысами, которым вводили однократно NaCl ($*$); крысами, которым однократно вводили NaCl, и крысами, которым однократно вводили Серпистен (\circ) достоверны ($p < 0.05$).

беспородных мышей Серпистен, добавленный к крови *in vitro*, повышал КРЭ мембраны Эр, но не влиял на этот показатель у линейных мышей СВА. После экстремальной физической нагрузки – плавания до отказа у мышей, получавших Серпистен *per os* в течение 10 дней, обнаружено значительное снижение КРЭ, что связывают с жесткой стресс-реакцией – плавани-

ем до отказа. При этом время плавания у «серпистеновых» мышей в 1.6-2.0 раза выше, чем у контрольных, получавших воду [36]. Нами показано в экспериментах *in vivo* повышение КРЭ и снижение агрегативности Эр у крыс. Мы считаем, что изменение указанных физико-химических параметров Эр может быть не столько следствием мембранотропного действия

Таблица 3
Реакция агглютинации эритроцитов интактных самцов (А) крыс линии Wistar и при однократном введении физиологического раствора NaCl (Б) и Серпистена (В) за 12 ч до забоя

Тест	Время, мин.	Условия эксперимента		
		А	Б	В
Контроль (Эр + ФГА)	10	38.6 ± 1.6	39.6 ± 1.5	44.3 ± 1.6
	20	49.6 ± 1.9	53.8 ± 1.6	46.8 ± 1.6
	30	55.0 ± 1.9	60.8 ± 1.0	52.1 ± 1.0
	40	66.5 ± 2.1	63.6 ± 1.8	$56.3 \pm 1.2^{**}$
Опыт (Эр + ФГА + ПП)	10	26.0 ± 1.3	$33.2 \pm 1.6^*$	$33.4 \pm 1.3^*$
	20	36.7 ± 1.0	$44.2 \pm 1.4^*$	38.4 ± 1.35
	30	45.3 ± 1.4	53.2 ± 2.7	45.5 ± 1.68
	40	54.1 ± 1.2	56.2 ± 2.7	51.4 ± 1.3

Примечание: различия достоверны между показателями интактной и другими группами животных $p < 0.05$ ($*$) и $p < 0.01$ ($**$). Условные сокращения те же, что и в табл. 1.

нашего препарата, сколько опосредованным действием его через центральную нервную систему, в том числе и через структуры управления стресс-реакцией с вовлечением в процесс синтаксических механизмов. Показано [14], что максимум накопления ФЭС в тканях головного мозга наступает через 2 ч после введения его крысам.

При однократном введении 0.9%-ного NaCl за 12 и 24 ч до забоя крыс отрицательный эффект изотонического раствора на КРЭ и агглютинабельность их, а также состояние САС постепенно нивелировалось. Так, при сравнении РАЭ контрольной группы (0.9 % NaCl за 12 ч до забоя) с интактной достоверных различий не обнаружено. С течением времени КРЭ постепенно приближалась к норме, через 24 ч после инъекции NaCl оставался увеличенным лишь один количественный параметр – максимум гемолиза, характеризующий скорость кислотного гемолиза. Во временных параметрах кислотного гемолиза достоверных различий с интактной группой не обнаружено. Ответ Эр на ПП был в пределах 16-18 %, что свидетельствовало о слабой активированности САС контрольных крыс. Мембраностабилизирующее действие Серпистена, которое проявлялось в повышении КРЭ и снижении их агглютинабельности сохранялось на протяжении последующих 12-24 ч. САС оставалась стабильно неактивированной. Сохранялась четкая линейная зависимость эффекта адrenoблокатора от времени его действия, т.е. исходная адренореактивность Эр, а соответственно и других тканей сохранялась. При длительном (в течение пяти дней) введении 0.9 % NaCl КРЭ не отличалась от таковой у интактных крыс. Показатель РАЭ оказался более чувствительным. У самцов РАЭ оставалась повышенной на 10-30-й мин. наблюдения, у самок – лишь на 10-й мин. по сравнению с интактными крысами (табл. 1). Судя по реакции на ПП, состояние САС оставалось активированным, адренореактивность – нарушенной. Последнее, вероятно, связано с повторяющейся ежедневной процедурой введения NaCl путем инъекции.

Таким образом, действие NaCl сходно с действием стрессирующих факторов, таких как, например, кровопотеря и физическая нагрузка, приводящих к сильным «возмущениям» как в системе крови, так и во всем организме.

Серпистен при многократном введении не только устранял негативное влияние NaCl (своего растворителя), но и препятствовал активации САС, вероятно, активируя холинергические структуры гипоталамуса и запуская синтоксические системы адаптации. РАЭ оставалась сниженной у самцов и самок соответственно на 10-20- и 20-40-й мин. наблюдения по сравнению с интактными крысами и на всех минутах по сравнению с контрольными (табл. 1). Ответ на ПП колебался в пределах 38-40 и 23-30 % на 10- и 40-й мин. наблюдения соответственно. Эффект Эр на ПП «серпистеновых» крыс превышал таковой в группе интактных животных. Анализируя собственные результаты и данные литературы, мы пришли к выводу, что антистрессорный эффект Серпистена может реализоваться не только через снижение активности САС, но и путем оптимизации функции эндокринных желез, в частности, коры надпочечников. Показан [37] стимулирующий эффект Серпистена на кору надпочечников лабораторных мышей, который проявлялся в увеличении ширины коры в основном за счет пучковой, отчасти сетчатой зон.

Таким образом, действие Серпистена на физиологические функции организма млекопитающих может быть опосредовано гормонами коры надпочечников, однако не сводится к действию последних.

Наступление состояния адаптации характеризуется морфологическими, физиологическими и биохимическими сдвигами, возникающими на разных уровнях биологической системы – от молекулярного до организменного. На всех уровнях организации колебания функциональной активности и нормализация функций обеспечивается на основе единых, стереотипных структурных изменений и контролируются регуляторными механизмами центральной нервной и эндокринной систем. Проявлением адаптогенных свойств ФЭС, и Серпистена в частности, являются их гематопротекторные и стресс-лимитирующие эффекты. Есть указания на то, что ФЭС оказывают на мембрану различных клеток стабилизирующее [2, 24, 25] и протекторное действие [51, 54,]. Показан положительный эффект экстрактов эдистероидсодержащих растений на гемореологию при патологиях различного генеза. Экстракты левзеи сафроловидной и серпухи венценосной способны эффективно снижать выраженность гемореологических нарушений

при аллоксановом диабете у крыс [4], а также в условиях экспериментальных моделей патологических состояний, сопровождающихся синдромом повышенной вязкости крови: ишемии головного мозга, инфаркте миокарда, артериальной гипертензии, а также истощающих физических нагрузках [34]. При этом экстракты эдистероидсодержащих растений, в том числе и серпухи венценосной, обладали протекторным действием в различной степени, препятствуя патологической деформации формы Эр и тромбоцитов, снижая агрегацию Эр и вязкость крови [34, 35]. Эти изменения авторы связывают с повышением в мембранах сфингомиелина, фосфатидилсерина и/или фосфотидилхолина в зависимости от вида использованного растительного экстракта. Кроме того, экстракты левзеи сафроловидной и лихниса хальцедонского (*Lychnis chalcidonica* L.) препятствовали накоплению в мембранах лизофосфолипидов [34]. Как известно, содержание последних увеличивается при различных видах стресса [10, 42, 43]. Лизоформы фосфолипидов и их производные являются эффекторами протеинкиназы С: в низких концентрациях они активируют, а в высоких – ингибируют фермент [26, 43].

Таким образом, изменяя фосфолипидный состав, активируя мембраносвязанные ферменты, обеспечивающие ионный транспорт и чувствительность рецепторов, ФЭС поддерживают большую устойчивость мембран к повреждающим факторам (действию химических, физических стрессоров, окислительному стрессу и т.д.)

На протяжении 2006-2008 гг. нами исследовалось гематопротекторное действие Серпистена в условиях имобилизационного стресса у крыс. Стресс вызывали жесткой фиксацией крысы в положении лежа на спине на 15 (эксперимент 2007 г.) и 30 мин. (эксперименты 2006 и 2008 гг.). Использовали 3-4- (молодых) и 12-месячных (половозрелых) самцов. Показано, что стресс значительно дестабилизировал мембрану Эр. Агглютинабельность Эр увеличивалась на 39-134 % на 10-й мин. наблюдения (в зависимости от продолжительности стрессирования). На РАЭ 15-минутный стресс оказывал большее влияние, чем 30-минутный. Достоверное увеличение агглютинабельности Эр ($p < 0.05$) при 15-минутном стрессе обнаружено на всех минутах наблюдения. Серпистен, введенный за 24 ч до стресса, оказывал защитный эффект на мембрану

Эр. Агглютинабельность Эр у «серпистеновых» крыс не отличалась после стресса от этого показателя у интактных животных.

При любых видах стресса резко меняется соотношение син- и катоксических механизмов в сторону преобладания последних – стресс-реализующих. Нами показано, что активность САС – системы быстрого реагирования при иммобилизационном стрессе у крыс значительно возрастает. Выраженность реакции Эр на ПП в пределах 2-4 и 9-11 % у 3-4- и 12-месячных крыс соответственно, свидетельствует о значительной активации катоксических механизмов в первую очередь у молодых животных. Серпистен, введенный за 24 ч до стресса, снижал активность САС в основном у более зрелых крыс. Так, выраженность реакции Эр на ПП у 12-месячных «серпистеновых» крыс на 10- и 40-й мин. наблюдения возрастала до 32 и 18 % соответственно. У молодых животных Серпистен незначительно снижал активность САС. Выраженность эффекта ПП была в пределах 10-12 %. Очевидно, однократное введение препарата у молодых животных не устраняло чрезмерной активации САС, однако факт снижения агглютинабельности Эр в условиях стресса подтверждает позитивное гемореологическое влияние Серпистена. Мы полагаем, что основное влияние Серпистена в условиях стресса оказывает на центральные структуры реализации стресс-реакции, в результате чего снижается уровень медиаторов стресса (в том числе и катехоламинов), уменьшается выброс депонированной крови с Эр с нарушенными морфо-физиологическими характеристиками. Высказанное предположение находит подтверждение в данных литературы.

Ранее указывалось, что ФЭС оказывают тонизирующий эффект на функции центральной нервной системы [46]. Они улучшают процессы обучения, памяти, условно-рефлекторную деятельность, ускоряют процессы синоптической передачи, повышают работоспособность при умственном и физическом переутомлении [46]. Экдистен укорачивал время действия снотворных препаратов и время выработки условных рефлексов у крыс. При экспериментальном испытании экдистероидсодержащей фракции серпухи венценосной также обнаружено ускорение ориентировочно-исследовательской реакции и стимуляция памяти у животных, получавших субстанцию в течение 10 дней, что выража-

лось в активации поиска, запоминании маршрута и ускорении нахождения выхода из лабиринта [36]. На шести экспериментальных моделях повреждающих воздействий физической, химической и биологической природы, гипоксии, предельных мышечных нагрузках и стрессе исследовали эффективность фармакопейных препаратов адаптогенов, среди которых были и ФЭС. Экстракты левзеи и женьшеня, экдистен повышали переносимость предельных физических нагрузок, увеличивали сопротивляемость животных к стрессу, полностью предупреждали гибель мышей при чрезмерных радиальных нагрузках и эффективно снижали токсичность этанола. Показано [13], что введение фитоэкдистерона крысам в течение 14 дней в дозе 300 мкг/100 г массы тела активизировало холинергические структуры мозга, в результате чего в подбурье снижалась концентрация ацетилхолина и реципротно увеличивалась концентрация норадреналина. Одновременно возрастала концентрация гамма-аминомасляной кислоты, которая играет роль неспецифического тормозного механизма, ограничивающего стрессовую реакцию и предупреждающего стрессорные повреждения при действии на организм различных стрессорных ситуаций и повреждающих факторов [13]. Кроме того, авторы указывают на снижение в циркулирующей крови медиаторов стресса адреналина и норадреналина и повышение ацетилхолина и серотонина [13]. Серотонин оказывает фазные влияния на стрессорную реакцию. С одной стороны, активируя гипофизарно-надпочечниковый комплекс и секрецию пролактина, он выступает в качестве стресс-реализующего фактора; с другой – серотонин относят к стресс-лимитирующим факторам [1].

Заключение

Мы исследовали влияние ЭС субстанции Серпистен на физико-химические свойства Эр (кислотную резистентность и агглютинабельность) и активность САС крыс. Показано снижение агглютинабельности и повышение кислотной резистентности Эр уже через 2 ч после внутримышечного введения Серпистена животным. Эти позитивные эффекты сохранялись на протяжении последующих 12-24 ч. При этом САС крыс оставалась неактивированной. При многократном введении препарата в малой дозе позитивное действие его на физико-химические свойства мембраны Эр сохраня-

лось и в некоторых случаях усиливалось на фоне неактивированной САС. В экспериментах с кратковременным иммобилизационным стрессом показано стресс-лимитирующее действие Серпистена у взрослых годовалых животных, которое проявлялось в снижении активности САС. У молодых трехмесячных крыс действие тестируемой ЭС субстанции на активность САС было незначительно. Снижение агглютинабельности Эр при действии Серпистена на фоне стресса у крыс разного возраста мы считаем проявлением адаптогенных свойств этого препарата. Ранее отмечено [36], что по своим адаптогенным свойствам, в частности, повышению физической и умственной работоспособности, ЭС Серпистен не уступает известному препарату Экдистен из левзеи сафлоровидной. Наши исследования показали, что в основе мобилизации резервов организма при действии Серпистена лежат центральные механизмы регуляции стресс-реакции, в частности, действие на активность САС.

ЛИТЕРАТУРА

1. Анищенко Т.Г. Половые аспекты проблемы стресса и адаптации // Усп. совр. биол., 1991. Т. 3, вып. 3. С. 460-475.
2. Ахрем А.А., Ковганко Н.В. Экдистероиды: химия и биологическая активность. Минск, 1989. 327 с.
3. (Бабич Л.Г.) Влияние экдистерона на корбалоховую контрактуру гладкой мышцы мочеочника и Mg^{2+} , АТФ-зависимый транспорт Ca^{2+} через сарколемму / Л.Г. Бабич, Ф.В. Бурдыга, Ю.Д. Холодова и др. // Докл. АН СССР, 1990. Т. 324, № 3. С. 701-705.
4. (Васильев А.С.) Гемореологическая активность экстрактов из содержащих экдистероиды растений при сахарном диабете у крыс / А.С. Васильев, М.Б. Плотников, О.И. Алиев и др. // Химия и технология растительных веществ: Матер. IV всерос. науч. конф., Сыктывкар, 2006. С. 23.
5. (Васильев А.С.) Гемореологическая активность экстракта из надземной части *Serratula coronata* (Asteraceae) / А.С. Васильев, М.Б. Плотников, О.И. Алиев и др. // Растительные ресурсы, 2008. № 1. С. 104-109.
6. Патент № 2153346, Россия, МКИ³ А 61 К 35/78. Способ получения экдистероидов / Володин В.В., Володина С.О. Институт биологии Коми НЦ УрО РАН; № 99106351/14; заявл. 29.03.99; опублик. 27.07.2000. Бюл. № 21.
7. Гительзон И.И., Терсков И.А. Метод химических (кислотных) эритрограмм // Биофизика, 1957. Т. 2, вып. 2. С. 259-266.
8. Гительзон И.И., Терсков И.А. Эритрограммы как метод клиническо-

го исследования крови // Вопросы биофизики, биохимии. Красноярск, 1960. 247 с.

9. *Гладилов В.В.* Большой практикум по физиологии и биохимии системы крови. Пермь, 1982. 117 с.

10. *Грибанов Г.А.* Особенности структуры и биологическая роль лизофосфолипидов // *Вопр. мед. химии*, 1991. Т. 37, № 4. С. 2-16.

11. *Гусева Е.В., Дворянский С.А., Циркин В.И.* Адренореактивность эритроцитов женщин при воспалительных заболеваниях органов малого таза как отражение адаптационного процесса // *Эколого-физиологические проблемы адаптации: Матер. XI междунар. симпоз. М., 2003. С. 152-153.*

12. *Дармограй В.Н., Петрова В.К., Ухов Ю.И.* Растения-продуценты, пчело- и морепродукты как источники фармакологически активных экдистероидов // *Поиск, разработка и внедрение новых лекарственных средств и организационных форм фармацевтической деятельности: Матер. междунар. науч. конф. Томск, 2000. С. 143-144.*

13. (*Карасева Ю.В.*) Фитоэкдистерон и синтоксические программы адаптации / *Ю.В. Карасева, В.Н. Морозов, А.А. Хадарцев* и др. // *Эколого-физиологические проблемы адаптации: Матер. XI междунар. симпоз. М., 2003. С. 229-231.*

14. (*Коцюруба А.В.*) C_{27} -стероидні гормони екдистерон та кальцитриол активують фосфоінозитольний цикл у мембранній фазі дії / *А.В. Коцюруба, О.М. Буханевич, О.Ф. Мегадь* и др. // *Укр. биохим. журн.*, 1999. № 1. С. 27-32.

15. *Куракина И.О., Булаев В.М.* Экдистен – тонизирующее средство в таблетках по 0.005 г // *Новые лекарственные препараты. Экспресс-информация. М., 1990. Вып. 6. С. 16-18.*

16. *Лакин Г.Ф.* Биометрия М.: Высш. школа, 1990. 340 с.

17. *Луцик А.Д., Олешко П.С., Цегельский А.А.* Получение и частичная характеристика водорастворимых мембранных гликопротеинов – рецеп-

торов лектинов // *Биол. мембраны*. 1992. Т. 9, № 10-11. С. 1025-1027.

18. *Манухин Б.Н., Нестерова Л.А., Смурова Е.А.* Характеристика кинетики взаимодействия бета-адренорецепторов эритроцитов крыс со специфическим блокатором пропранололом // *Биол. мембраны*, 1994. Т. 11, № 5. С. 489-491.

19. *Маслова М.И.* Активность мембранных ферментов при различных стрессорных воздействиях // *Физиол. журн.*, 1994. Т. 80, № 7. С. 76-79.

20. *Мойсеенко Н.А., Иржак Л.И.* Агглютинация эритроцитов кролика при напряженном эритропоэзе // *Журн. общ. биол.*, 1972. Т. 33. № 6. С. 779-785.

21. (*Мойсеенко Н.А.*) Фитоэкдистероиды и кровь млекопитающих в норме и при патологии / *Н.А. Мойсеенко, Н.Б. Петрова, Ж.Е. Иванкова* и др. // *Экология и здоровье человека: Матер. IX всерос. конгресса с междунар. участием. Самара, 2004. С. 188-190.*

22. (*Мойсеенко Н.А.*) Действие фитоэкдистероидов на количественные и качественные показатели крови млекопитающих в норме и при экспериментальных воздействиях / *Н.А. Мойсеенко, Н.Б. Петрова, Ж.Е. Иванкова* и др. // *Вестн. СГУ. Сер. Физика. Химия. Биология*, 2006. Вып. 1. С. 122-137.

23. *Новгородцева Т.П., Эндакова Э.А., Иванова И.А.* Возрастные и половые особенности фосфолипидного состава эритроцитов крыс линии Вистар в процессе постнатального онтогенеза // *Рос. физиол. журн.*, 2002. № 1. С. 53-62.

24. О клинко-фармакологическом исследовании препаратов «Элтон», «Леветон», «Фитотон», «Адаптон» на физическую работоспособность спортсменов высокой квалификации: научный отчет по адаптогенам ВНИИ физкультуры и спорта. М., 2000. 70 с.

25. *Осинская Л.Ф., Саад Л.М., Холодова Ю.Д.* Антирадикальное действие и антиоксидантная активность экдистерона // *Укр. биохим. журн.*, 1992. № 64. С. 114-117.

26. (*Пальмина Е.Л.*) Модификация активности протеинкиназы С лигандами в сверхмалых концентрациях / *Е.Л. Пальмина, Е.Л. Мальцева, Е.И. Пынзаль* и др. // *Рос. хим. журн.*, 1999. Т. 43, № 5. С. 55-63.

27. (*Панасян А.*) Адаптогены модифицируют ответ на стресс в результате угнетения увеличения протеинкиназы (P-SARK), оксида азота и кортизона в крови кроликов / *А. Панасян, М. Амбарцумян, А. Ованиссян* др. // *Фитофарм-2006: Матер. X междунар. съезда. СПб., 2006. С. 505-506.*

28. *Петрова Н.Б.* Кислотная резистентность и агглютинабельность эритроцитов женщин с заболеваниями щитовидной железы, проживающих на Севере // *Физиолого-гигиенические проблемы экологии человека: Матер. всерос. науч. конф. с междунар. участием. Белгород, 2007. С. 88-90.*

29. *Петрова Н.Б., Канева А.М.* Исследование адренорецепторов в эритроцитах человека и кошки методом кислотного гемолиза // *Кислотно-основная и температурный гомеостаз: физиология, биохимия и клиника: Матер. III всерос. конф. Сыктывкар, 1997. С. 192-197.*

30. (*Петрова Н.Б.*) Адренореактивность эритроцитов человека и животных при различных воздействиях / *Н.Б. Петрова, А.М. Канева, И.В. Рау* и др. // *Физиологические механизмы природных адаптаций: Матер. докл. III междунар. симпоз. Иваново, 1999. С. 123-124.*

31. *Петрова Н.Б., Канева А.М., Изъюрова Е.В.* Методы кислотного гемолиза и фитоагглютинации эритроцитов в исследованиях возрастных особенностей состояния симпатoadренальной системы человека и животных // *Материалы всероссийской научной конференции, посвященной 150-летию И.П. Павлова. М., 1999. С. 254.*

32. Патент № 2310196, Россия, МПК G01N33/48(2006/01) RU 2310196 С2. Способ определения функциональной активности симпатoadренальной системы / *Н.Б. Петрова, Н.А.*

ЮБИЛЕЙ



В сентябре отметил свой юбилей **Сергей Николаевич Елисеев** – сторож радиобиологического комплекса. Сергей Николаевич работает в Институте биологии с 2001 г. За эти годы он показал себя ответственным работником, во время его дежурства всегда порядок. В общении с сотрудниками Института Сергея Николаевича отличают приветливость, вежливость, внимательность к просьбам и пожеланиям сотрудников.

Сергей Николаевич – хороший семьянин, воспитывает любящую дочь. Дорогой Сергей Николаевич, в день своего золотого юбилея примите самые искренние поздравления от всего коллектива Института биологии!

Поздравляя Вас, Сергей Николаевич, с знаменательной датой в Вашей жизни, мы выражаем Вам свое уважение, благодарность за Ваш добросовестный труд и желаем Вам крепкого здоровья, семейного благополучия, чтобы жизнелюбие, оптимизм, доброжелательность и дальше оставались неотъемлемыми чертами Вашего характера.

Мойсеенко, В.В. Володин; Институт биологии Коми НЦ УрО РАН; № 2005141125/15.28.122005; заявл. 10.07.2007; опубл. 10.11.2007. Бюл. № 31.

33. (Плотников М.Б.) Гемореологические эффекты экстрактов *Lychnis chalcidonica* L. / М.Б. Плотников, О.И. Алиев, А.С. Васильев и др. // Эксперим. клинич. фармакол., 2000. № 2. С. 54-56.

34. (Плотников М.Б.) Гемореологическая и церебропротекторная активность экстрактов экдистероидсодержащих растений и разработка на их основе новых препаратов / М.Б. Плотников, О.И. Алиев, А.С. Васильев и др. // Химия и технология растительных веществ: Матер. IV всерос. науч. конф., Сыктывкар, 2006. С. 269.

35. Плотникова Т.М., Федина О.А. Антитромбоцитарное и антикоагулянтное действие экстрактов левзеи сафлоровидной и лихниса хальцедонского в условиях различных моделей гиперкоагуляционного синдрома у крыс // Химия и технология растительных веществ: Матер. IV всерос. науч. конф. Сыктывкар, 2006. С. 270.

36. Пчеленко Л.Д., Метелкина Л.Г., Володина С.О. Адаптогенный эффект экдистероидсодержащей фракции *Serratula coronata* L. // Химия растительного сырья, 2002. № 1. С. 669-680.

37. (Раскоша О.В.) Состояние периферических эндокринных желез белых беспородных мышей после воздействия экдистероидов серпухи венценосной / О.В. Раскоша, О.В. Ермакова, А.В. Селезнева и др. // Вестн. Ин-та биологии Коми НЦ УрО РАН, 2007. № 2 (112). С. 33-35.

38. Розен В. Б. Основы эндокринологии. М.: Высш. школа, 1984. 344 с.

39. Соминский В.Н., Окунь К.В., Аншелевич Ю.В. Количественный анализ взаимодействия пропранолола с мембраной эритроцита по его антигемолизирующему эффекту // Космическая биология и авиакосмическая медицина, 1988. № 2. С. 67-69.

40. (Соминский В.Н.) Использование эритроцитов крови для прижизненной оценки функционального состояния адrenoцепторов / В.Н. Соминский, Л.В. Бердышева, Р.К. Блума и др. // Физиол. журн., 1989. № 2. С. 189-191.

41. (Сыров В.Н.) О гипополидемических и антиатеросклеротических свойствах фитозкдистероидов / В.Н. Сыров, З.А. Хушбакова, М.Х. Абзалова и др. // Докл. АН УзССР, 1983. № 9. С. 44-45.

42. (Швец В.И.) Миоинозит и фосфоинозитиды / В.И. Швец, А.И. Степанов, В.Н. Крылова и др. М., 1987. 248 с.

43. Шевченко О.Г. Фосфолипидная компонента мембраны эритроцитов в норме и при патологии // Вестн. Института биологии Коми НЦ УрО РАН, 2007. № 2 (112). С. 2-8.

44. Шишкина Г.Т., Дыгало Н.Н. Молекулярная физиология адренергических рецепторов // Усп. физиол. наук, 1997. Т. 28, № 1. С. 61-70.

45. Холодова Ю.Д. Фитозкдистероиды – биологически активные полигидроксилированные стеринны // Укр. биохим. журн., 1979. Т. 51, № 5. С. 560-575.

46. Фитозкдистероиды / Под ред. В.В. Володина. СПб., 2003. 293 с.

47. (Циркин В.И.) Эндогенный сенсибилизатор β-адренорецепторов / Циркин В.И., Ноздрачев А.Д., Дворянский С.А. и др. // Вестн. СПбГУ. Сер. 3, 1997. Вып. 1. С. 74-84.

48. Belezikian J.P. Dissociation of beta-adrenergic receptors from hormone responsiveness during maturation in the rat reticulocyte // Biochim. Biophys. Acta, 1978. Vol. 542. P. 263-273.

49. (Catalan R.E.) Alterations in rat lipid metabolism following ecdysterone treatment / R.E. Catalan, A.M. Martines, M.D. Aragones et al. // Comp. Biochem. Physiol., 1985. Vol. 81. P. 771-775.

50. (Detmar M.) Effects of ecdysterone on the differentiation of normal human keratinocytes in vitro / M. Detmar, M. Dumas, F. Bonte et al. // Eur. J. Dermatol. 1994. Vol. 4. P. 558-562.

51. Kurmukov A.G., Yermishina O.A. Effect of ecdysterone on experimental arrhythmias, changes in hemodynamics and contractility of the myocardium produced by a artery occlusion // Farm. Toksicol., 1991. Vol. 54. P. 27-29.

52. Panossian A., Wikman G., Wagner H. Plant adaptogens III. Earlier and more recent aspects and concepts on their mode of action // Phytomed., 1999. Vol. 6 (4). P. 287-300.

53. (Shane S.) Reticulocyte cytosol activator protein: effects on the stimulatory and inhibitory proteins of adenylate cyclase / S. Shane, M. Yeh, A. Feigin et al. // Endocrinol., 1985. Vol. 117. P. 264-270.

54. Tuganova A.V., Kotsyuruba A.V. The in vitro interaction of C₂₇-sterols with the erythrocyte membranes depends on the sterol structure and concentration // Cell. Mol. Biol. Lett., 1996. Vol. 1. P. 129-135. ❖

АНТИОКСИДАНТНЫЕ СВОЙСТВА ЛИГНИНОВ

Введение

Как известно, вместе с пищей в организм человека попадает значительное количество лигнинов различного происхождения как из культурных, так и дикорастущих пищевых растений. Согласно полученным ранее результатам [1-3], некоторые виды лигнинов могут подавлять процессы свободнорадикального окисления в организме, выступая в роли природных антиоксидантов. В соответствии с современными воззрениями, одной из основных причин возникновения и развития злокачественных опухолей и других патологий является неферментативное свободнорадикальное окисление живых клеток под действием различных окислителей [4]. Как известно, антиоксидантами (АО) называют вещества, способные тормозить или подавлять процесс неконтролируемого свободнорадикального окисления ор-



А. Карманов



Л. Кочева



М. Борисенков

ганических соединений, создавать оптимальные условия для метаболизма и обеспечения нормального роста клеток и тканей. Установлено, что макромолекулы лигнинов характеризуют наличие фенольных групп нескольких типов с различной величиной константы кислотности. Это придает лигнинам

Карманов Анатолий Петрович – д.х.н., проф., и.о. в.н.с. лаборатории биохимии и биотехнологии Института биологии Коми НЦ УрО РАН. E-mail: ark0948@yandex.ru. Область научных интересов: *структура и свойства биополимеров*.

Кочева Людмила Сергеевна – д.х.н., зав. кафедрой химии Сыктывкарского государственного университета. E-mail: karko07@yandex.ru. Область научных интересов: *химия лигнинов, сорбенты, физико-химия биополимеров*.

Борисенков Михаил Федорович – к.б.н., с.н.с. лаборатории молекулярной физиологии и иммунологии Института физиологии Коми НЦ УрО РАН. E-mail: borisenkov@physiol.komisc.ru. Область научных интересов: *геронтология и хронобиология*.

структурное сходство с низкомолекулярными АО растительного происхождения, некоторые из них также относятся к классу фенольных соединений. Уникальной особенностью лигнина является поливариантность его химической и топологической структуры, которую во многом определяет таксономическое положение и процессы динамической самоорганизации, протекающие при биосинтезе данного полимера в растениях. Таким образом, одной из актуальных задач науки о лигнинах является установление взаимосвязи между строением и физико-химическими, в том числе антиоксидантными, свойствами лигнинов.

Цель данной работы состоит в оценке величины антиоксидантной активности (АОА) в условиях *in vitro* и характеристике химической структуры лигнинов, выделенных из некоторых хвойных, лиственных и травянистых растений.

Материалы и методы

В качестве исходного лигнинсодержащего материала использовали зрелые стебли и оболочки зерен овса *Avena sativa* L., пшеницы *Triticum* sp., овсяницы луговой *Festuca pratensis* Huds. (Сысольская сортоиспытательная станция, с. Визинга, Республика Коми); капусту зимнюю *Brassica oleracea*; древесину рябины *Sorbus aucuparia*, лиственницы *Larix sibirica* и акации *Robinia pseudoacacia*; подземные органы родиолы розовой *Rhodiola rosea* L. и стебли серпухи венценосной *Serratula coronata* L. (Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, г. Сыктывкар, Республика Коми).

Препараты малоизмененных лигнинов выделяли диоксановым методом по ранее описанной методике [5], обрабатывая размолотое обессмоленное растительное сырье водным диоксаном (9:1) в присутствии HCl (0.7 %) при температуре кипения. Очистку препаратов проводили двукратным переосаждением из диоксана в диэтиловый эфир. Высушивали методом лиофильной сушки. Определенные функциональных групп проводили по стандартным методикам, принятым в химии лигнина [6]. Элементный анализ проводили на анализаторе фирмы Hewlett Packard (США). Спектры ЯМР-13С регистрировали в импульсном режиме на спектрометре Bruker AM-300 с рабочей частотой 75.5 МГц. Ширина спектров – 18000 Гц, длительность импульса – 2 мкс, интервал между импульсами – 5 с. Растворитель – ДМСО-d₆, содержащий 0.02 моль/л триацетилацетоната хрома (релаксант). Концентрация лигнина в растворе – 15 %. Число сканов – 20000-40000. Количественные расчеты по спектрам ЯМР-13С проводили в соответствии с описанными методиками [7]. Электронный парамагнитный резонанс соединений изучали на серийном радиоспектрометре SE/X-2547 (RadioPAN, Poland) в X-частотном диапазоне с ВЧ модуляцией 100 кГц при комнатной температуре образцов, мощность СВЧ поля – 2.2 мВт. Применяли прямоугольный резонатор RX 102 с модой TE 102. Оценку концентрации свободных радикалов производили с помощью эталонных образцов дифенилпикрилгидразила с количеством спинов $(7.0 \pm 0.7) \times 10^{16}$ и $(2.7 \pm 0.3) \times 10^{18}$ спин/г. Погрешность определения концентрации парамагнитных центров (ПМЦ) – 15 %. Оценку пока-

зателя АОА проводили методом кулонометрического титрования бромом, электрогенерируемым в гальваностатическом режиме (0.2 М KBr/0.1 М H₂₄) на платиновом электроде при постоянной силе тока 5.0 мА. Измерения проводили на анализаторе кулонометрическом «ЭКСПЕРТ-006» (ООО «Эконикс-Эксперт», Москва). Единицы измерения АОА – κКл/100 г. Концентрация водных растворов лигнинов – 2 %. Радикальные механизмы антиоксидантного действия препаратов лигнина изучали на модели взаимодействия со стабильным свободным радикалом α,α-дифенил-β-пикрилгидразила (ДФПГ) по изменению оптической плотности среды при 517 нм. Регистрацию оптической плотности проводили на спектрофотометре Power Wave 200 (США). Результаты определения рассчитывали в долях (%) активности тролокса.

Обсуждение результатов

Полученные препараты лигнина после лиофильной сушки представляют собой аморфные хорошо растворимые в полярных растворителях рыхлые порошки кремового цвета. Необходимым условием для эффективного проявления препаратами антиоксидантных свойств является их полная водорастворимость, тогда как изолированные лигнины в воде практически нерастворимы. В связи с этим нами был разработан метод получения лигнина [8], способного растворяться в воде при нейтральном значении pH. В результате проведенных исследований нами была показана возможность [9] создания препаратов высокомолекулярных водорастворимых лигнинов, обладающих антиоксидантными свойствами. Следующий этап работы – выявление видов растений, которые синтезируют лигнины с максимально высокой АОА.

Анализ полученных данных показывает, что наибольшей АОА обладает лигнин, выделенный из родиолы розовой, наименьшей – из стеблей (кочерыжек) капусты зимней (см. таблицу). Следует отметить, что результаты определения АОА двумя независимыми методами – кулонометрическим титрованием и спектроскопией с ДФПГ (рис. 1) – дают достаточно близкие результаты. Полученные данные свидетельствуют о том, что антиоксидантные свойства лигнина зависят от таксономического положения растений и определяются, очевидно, структурно-химическими особенностями его макромолекул. Поэтому следующий этап исследований посвящен изучению химического строения препаратов лигнина для выявления корреляций химической структуры с антиоксидантной активностью препаратов.

Тот или иной класс лигнинов определяет относительное содержание гваяцильных (G), синрингильных (S) и *n*-кумаровых (H) единиц, которые различаются степенью метоксилированности. Исследуемые препараты существенно различаются элементарным составом и количеством метоксильных групп (см. таблицу). Оказалось, что наименьшее содержание углерода обнаружено для препарата лигнина родиолы розовой с максимальной АОА, тогда как препарат лигнина лиственницы с максимальным содержанием углерода характеризуется весьма невысоким АОА лигнина.

Антиоксидантная активность и химическая характеристика лигнинов, выделенных из растений различных видов

Вид	Показатель												
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII
Родиола розовая <i>Rhodiola rosea</i>	117.0	4.9	2.2	56.2	4.90	C ₉ H _{7,4} O _{4,3} (OCH ₃) _{1,0}	25	50	25	2.0039	0.43	0.07	13
Овес <i>Avena sativa</i> оболочки зерен	69.4	4.3	2.7	60.5	5.30	C ₉ H _{7,39} O _{3,21} (OCH ₃) _{1,05}	28	39	33	2.0044	0.78	0.22	12
Серпуха венценосная <i>Serratula coronata</i>	81.8	6.6	4.3	59.0	6.30	C ₉ H _{9,1} O _{3,0} (OCH ₃) _{1,4}	8	42	50	–	–	–	–
Пшеница <i>Triticum</i> sp.	71.8	1.9	2.3	59.2	5.30	C ₉ H _{9,72} O _{3,52} (OCH ₃) _{1,09}	23	47	30	2.0043	0.63	1.00	–
Рябина <i>Sorbus aucuparia</i>	61.3	2.6	4.2	60.3	5.66	C ₉ H _{10,23} O _{3,52} (OCH ₃) _{0,95}	28	39	33	2.0042	0.81	0.12	11
Лиственница <i>Larix sibirica</i>	50.6	2.4	3.3	57.7	5.90	C ₉ H _{11,4} O _{3,5} (OCH ₃) _{1,6}	10	46	44	–	–	–	–
Овсяница луговая <i>Festuca pratensis</i>	45.8	3.4	1.5	63.3	6.40	C ₉ H _{9,23} O _{2,6} (OCH ₃) _{0,94}	0	100	0	–	–	–	–
Акация <i>Robinia pseudoacacia</i>	41.5	4.9	4.3	60.8	5.60	C ₉ H _{10,0} O _{3,2} (OCH ₃) _{0,91}	20	45	35	2.0042	0.63	0.09	18
Капуста <i>Brassica oleracea</i>	37.0	3.9	2.7	58.4	6.40	C ₉ H _{9,16} O _{3,16} (OCH ₃) _{1,35}	2	60	38	–	–	–	–
	24.1	3.6	3.0	59.6	6.60	C ₉ H _{9,60} O _{2,52} (OCH ₃) _{1,38}	23	45	32	–	–	–	–

Примечание: I – антиоксидантная активность, кКл/100 г, II – фенольная и III – карбоксильная группы, IV – углерод и V – водород, %, VI – C₉-формула, VII-IX – соответственно гваяцильные, сирингильные и *l*-кумаровые единицы в макромолекулах лигнинов, X – g-фактор, XI – ширина спектральной линии, XII – концентрация парамагнитных центров (×10¹⁸), спин/г, XIII – длина сопряженных C–C цепей. Прочерк – не определяли.

Наблюдается значительный разброс точек, означающий наличие сложной зависимости АОА препаратов от содержания атомов кислорода и водорода. Для решения задачи о выявлении взаимосвязи между различными величинами применяется математический анализ данных, который позволяет установить количественные характеристики тесноты корреляционной связи. В первую очередь нами проверялась статистическая гипотеза линейности связи между «случайными» переменными, имеющими нормальное распределение. Методом наименьших квадратов находили параметры прямой линии регрессии (уравнения регрессии), стандартные отклонения этих параметров, ошибку аппроксимации и рассчитывали выборочный коэффициент корреляции. В результате математического анализа было установлено, что взаимосвязь между содержанием атомов водорода и антиоксидантной активностью препаратов лигнинов можно представить в виде уравнения прямой $y = 274.7 - 36.8x$, где y – АОА, x – содержание водорода, % масс. Параметры уравнения регрессии $y = ax + b$, коэффициент корреляции R и стандартная погрешность S_D позволяют сделать вывод о наличии корреляционной взаимосвязи параметров. В частности, можно утверждать, что повышение содержания атомов кислорода в препаратах положительно влияет на их антиоксидантную активность:

Соотношение	a	Δa	b	Δb	R	S_D
АОА/водород	274.7	58.5	-36.8	9.9	-0.80	17.2
АОА/кислород	-195.9	116.3	7.4	3.4	0.62	22.3

Одним из наиболее информативных методов оценки особенностей химической структуры лигнинов является метод ЯМР-13С-спектроскопии. В интервале от 5 до 45 миллионных долей (м.д.) регистрируются сигналы алифатических атомов углерода в СН, СН₂ и СН₃ группах, не связанных с атомами кислорода. В этой области спектра для препаратов злаковых лигнинов наблюдается значительное количество сигналов (рис. 2), что указывает на поливариантность химической структуры боковых алифатических цепочек; количество сигналов и их по-

ложение для этой группы лигнинов практически совпадают.

Резонансные сигналы, хотя и довольно слабые, с химическим сдвигом (ХС) вблизи 54 м.д. свидетельствуют о присутствии одних из наиболее характерных для лигнинных полимеров кумарановых и пинорезинольных структур. Атомам углерода метоксильных групп соответствует ХС = 56.0 м.д., в этой области присутствует наиболее интенсивный сигнал ЯМР-спектров лигнинов. Сигналы в области 100-160 м.д. обусловлены наличием ароматических структурных единиц. Эту область можно подразделить на четыре интервала: 100-117 м.д. – сигналы третичных ароматических атомов углерода, которые содержат в орто-положении С-атомы с кислородной функцией (С-2 и С-5 в неконденсированных G-единицах или С-2 и С-6 в S-единицах); 117-125 м.д. – сигналы третичных ароматических атомов углерода С-2 и С-6 в H-единицах и С-6 в G-единицах; 125-142 м.д. – сигналы ароматических четвертичных углеродных атомов, в основном С-1 и С-5; 142-160 м.д. – сигналы этерифицированных атомов углерода ароматического кольца.

Результаты расчета количества основных структурных единиц с использованием интегральной интенсивности сигналов ароматических атомов С_{ар} в области 100-160 м.д., а также результаты количественного определения содержания ОСН₃ групп (табл. 2) указывают на то, что исследуемые препараты относятся к композиционно неоднородным биополимерам, состоящим из мономерных единиц G-, S- и H-типов. Соотношение H-, G- и S-структур для лигнина серпухи венценосной и родиолы розовой можно оценить как 0.2:1.0:1.2 и 0.5:1.0:0.5 соответственно. Для сравнения: лигнин лиственницы является композиционно однородным, поскольку построен исключительно из G-единиц (H:G:S = 0:1:0). В лигнине акации доля H-единиц невелика (H:G:S = 0.03:1.0:0.63). Лигнины злаковых также относятся к GSH-лигнинам (соотношение H:G:S для пшеницы – 0.71:1.0:0.85, овса – 0.72:1.0:0.85 и оболочки его зерен – 0.48:1.0:0.65). Количественные соотношения H-, G- и S-структур для всех исследованных

препаратов лигнина (см. таблицу) позволяют предположить, что неоднородность полимеров по композиционному набору структурных единиц не может не оказывать существенное влияние на антиоксидантные свойства лигнинов. Однако взаимосвязь между количеством синрингильных единиц и АОА отсутствует ($R = -0.01$). Вместе с тем, количество Н-единиц положительным образом ($R = 0.41$) влияет на величину АОА препаратов.

Важной особенностью лигнина как природного полимера является наличие парамагнитных свойств, обусловленных присутствием в макромолекуле стабильных свободных радикалов. Как показали исследования, сигналы ЭПР лигнинов представляют собой практически изотропные синглеты с g -фактором 2.0042-2.0045 (см. таблицу). Спектры электронного парамагнитного резонанса могут быть охарактеризованы также интенсивностью сигнала, формой и шириной спектральной линии ДН.

Наличие свободных стабильных феноксильных радикалов в лигнине обусловлено особенностями его биосинтеза в условиях дегидрогенационной радикальной полимеризации и, возможно, придает антиоксидантную функцию лигнинам, выполняемую ими в растении. Стабильности феноксильного радикала могут способствовать заместители бензольного кольца, вызывающие пространственные затруднения, а также цепочки сопряжения двойных углерод-углеродных связей. Для уточнения механизма действия лигнина как антиоксиданта необходимо учесть, что природный лигнин содержит неспаренные электроны, преимущественно локализованные на феноксильном кислороде. Эти электроны участвуют во взаимодействии макромолекулы лигнина и некоторого свободного радикала, индуцирующего процессы окисления тех или иных органических соединений. Лигнин отдает электрон и тем самым восстанавливает свободный радикал до стабильно-

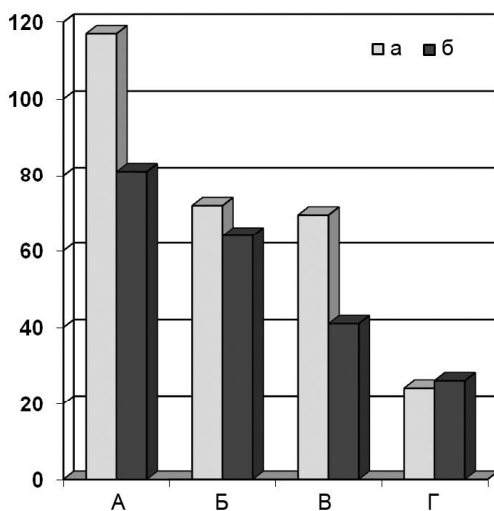


Рис. 1. Антиоксидантная активность лигнинов родиолы розовой (А), серпухи венценосной (Б), овса (В) и капусты зимней (Г), определенная методами кулонометрии, кКл/100 г (а) и спектроскопии, доля (%) активности тролокса (б).

го неактивного продукта. В связи с этим возникает вопрос о существовании взаимосвязи между количеством парамагнитных центров (ПМЦ) и АОА лигнина. Как показали расчеты, сколько-нибудь существенная зависимость между АОА и количеством ПМЦ в лигнинах не наблюдается.

Сравнивая лигнины с известными веществами-антиоксидантами, можно отметить, что АОА лигнина пшеницы (61.3), овса (69.4) и оболочек его зерен (81.8 кКл/100 г) выше, чем рутина (61), а АОА лигнина родиолы розовой (117.0) превосходит митофен (92.6) и аскорбиновую кислоту (109.6). Наиболее высокое значение АОА характерно для кварцетина (127.7 кКл/100 г), который, как известно, относится к наиболее эффективным антиоксидантам и находит широкое применение в медицинской практике.

В отличие от него и других признанных антиоксидантов, препараты на основе лигнинов являются высокомолекулярными соединениями. Не исключено, что полимерные антиоксиданты найдут свою область применения, а с учетом того, что АОА некоторых препаратов (например, лигнин, выделенный из родиолы розовой) практически не уступает лучшим известным антиоксидантам, можно говорить и о перспективности разработок новых фармакологических препаратов-антиоксидантов на основе природных лигнинов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Adlercreutz H., Hockerstedt K., Bannwart C. Effect of dietary components, including lignans and phytoestrogens, on enterohepatic circulation and liver metabolism of estrogens and on sex hormone binding globulin (SHBG) // J. Steroid Biochem., 1987. Vol. 27, № 4-6. P. 1135-1144.
2. Адсорбция половых стероидных гормонов на лигнине / М.А. Вайкшнорайте, А.М. Канева, А.П. Карманов и др. // Нетрадиционные природные ре-

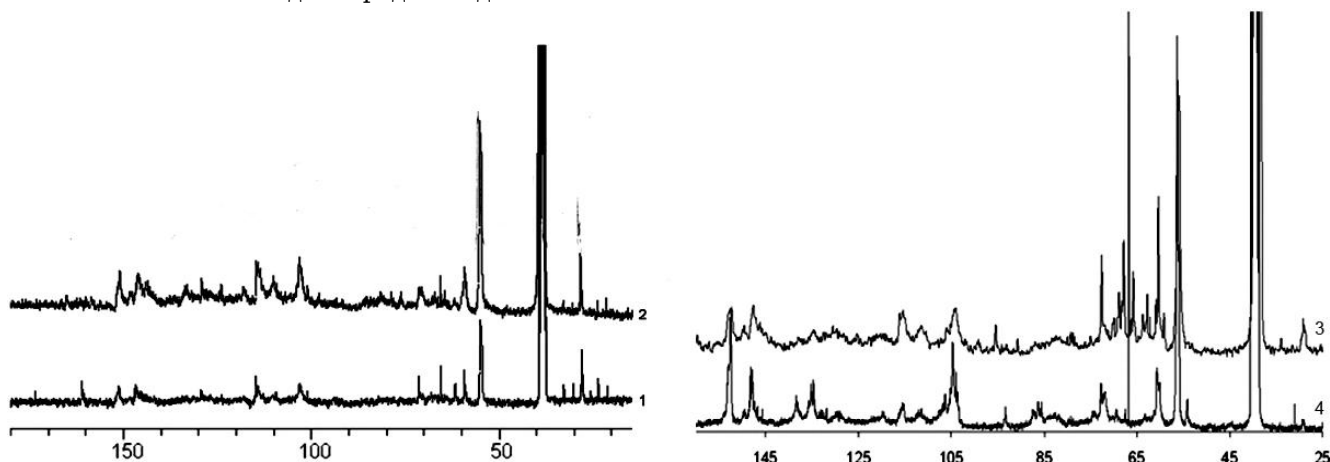


Рис. 2. Спектры ЯМР-13С препаратов лигнина овса (1), пшеницы (2), родиолы розовой (3) и серпухи венценосной (4). По горизонтали – шкала химических сдвигов, ppm.

сурсы, инновационные технологии и продукты. М., 2002. № 6. С. 176-180.

3. *Борисенков М.Ф., Карманов А.П., Кочева Л.С.* Физиологическая роль лигнинов // Усп. геронтол., 2005. № 17. С. 34-41.

4. *Rose D.P., Boyar A.P., Wynder E.L.* International comparison of mortality rates for cancer of the breast, ovary, prostate, and colon, and per capita fat consumption // Cancer, 1986. Vol. 58, P. 2363-2371.

5. *Pepper J.M., Baylis P.E., Adler E.* The isolation and properties of lignin obtained by the acidolysis of spruce and aspen woods in dioxane-water // Can. J. Chem., 1959. Vol. 37, № 8. P. 1241-1245.

6. *Закус Г.Ф.* Функциональный анализ лигнинов и их производных. Рига: Зинатне, 1987. 230 с.

7. *Калабин Г.А., Каницкая Л.В., Кушнарев Д.Ф.* Количественная спектроскопия ЯМР природного органического сырья и продуктов его переработки. М.: Химия, 2000. 408 с.

8. Патент 2277099, Российская Федерация, С 07 G 1/100. Способ получения водорастворимого лигнина / *А.П. Карманов, Л.С. Кочева, М.Ф. Борисенков, С.В. Загирова*; № 2005103892/04; заяв. 14.02.2005; опубл. 27.05.2006. Бюл. № 15.

9. Патент № 2292896, Российская Федерация, МПК А61К 36/00, А61К 31/717, А61Р 39/06. Средство на основе лигнина, обладающее антиоксидантной активностью / *А.П. Карманов, Л.С. Кочева, М.Ф. Борисенков, С.В. Загирова*; № 2005107839(009397); заявл. 21.03.2005; опубл. 10.02.2007. Бюл. № 4.



АКТИВАЦИЯ ПЕКТИНОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ В ПРОЦЕССЕ ОЧИСТКИ. ЭФФЕКТ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ СИЛЬНЫХ ИОНИТОВ

Пектины являются комплексными полисахаридами, которые содержат 1,4-связанные остатки α -D-галактозилурононовой кислоты. Из клеточных стенок растений были выделены три пектиновых полисахарида: гомогалактуронан, рамногалактуронан I и рамногалактуронан II [9, 16, 17]. Пектины – природные биополимеры, проявляющие иммуномодулирующие и иммуностимулирующие свойства [2]. Физиологическая активность пектинов обусловлена особенностями их структуры [1]. Важным направлением исследований современной биохимии является установление взаимосвязи между структурой природных биополимеров и их физиологической активностью. Направленный ферментативный гидролиз растительных пектинов позволяет не только установить их состав, строение, но и получить новые физиологически активные фрагменты [3]. Пектиназы составляют уникальную группу ферментов, которые катализируют деградацию пектиновых полимеров, присутствующих в растительных клеточных стенках. В природе деструкцию пектиновых веществ проводят ферменты с различным механизмом действия: полигалактуроназы, пектинэстеразы, пектат- и пектинлиазы, а также, по мнению некоторых авторов, олиго- и рамногалактуроназы [5]. Важной группой пектинолитических ферментов являются полигалактуроназы, которые катализируют гидролитическое расщепление α -(1,4)-связей между неэтерифицированными остатками галактопиранозилурононовых кислот D-галактуронанов. Эндополигалактуроназы разрушают D-галактуронаны неупорядоченным образом

с предпочтительным гидролизом внутренних связей полимера, тогда как экзополигалактуроназы отщепляют концевые остатки D-галактуронановой кислоты [4]. Пектинолитические ферменты используют для получения углеводсодержащих соединений, обладающих иммуномодулирующей активностью, для получения протопластов в клеточной инженерии, селекции растений, для осветления соков и вин. Пектиназы (полигалактуроназы) применяют также при структурно-химических исследованиях пектиновых полисахаридов, необходимых для установления взаимосвязи между структурой и физиологической активностью пектинов [6, 7, 18]. Направленный ферментативный гидролиз пектинов возможен только при использовании очищенных и высокоактивных препаратов пектиназы.

Для очистки и выделения полигалактуроназ используются различные комбинации физико-химических методов, таких как осаждение солями и органическими растворителями, ультрафильтрация, адсорбция, ионный обмен, а также методы адсорбционной, ионообменной, гидрофобной и эксклюзионной колоночной хроматографии [8, 10, 14]. Метод ионного обмена широко применяют для фракционирования ферментов, а также для удаления ионогенных примесей из ферментных растворов. Для ионообменной очистки полигалактуроназ используют главным образом слабые ионообменники на основе целлюлозы, агарозы и декстрана [8, 10, 11, 15].



А. Донцов

Слабые ионообменники позволяют проводить очистку ферментов в «мягких» условиях, но имеют низкую обменную емкость. Считается, что сильнокислотные и сильноосновные иониты могут приводить к существенной инактивации и даже денатурации ферментов вследствие высокой разницы значе-

ний pH в объеме раствора и вблизи поверхности ионитов (эффект Доннана). Тем не менее, такие их характеристики, как высокая обменная емкость и широкий рабочий диапазон значений pH среды, могут оказаться полезными для очистки и препаративного получения ферментных препаратов.

Целью настоящего исследования являлся поиск физико-химических методов воздействия на ферментные растворы, приводящих одновременно и к очистке, и к активации ферментов гидролаза. В данном сообщении приведены результаты применения сильных ионитов для препаративной очистки и активации полигалактуроназ.

Материалы и методы

В работе использовали сильнокислотные катионообменные смолы Amberlite CG-120 (США) и КУ-2 (Россия), сильноосновную анионообменную смолу Amberlite CG-400 (США), а также слабый катионит КБ-4 (Россия), полигалактуроновую и α -D-галактуроновую кислоты (ICN, США). Все другие использованные реактивы имели аналитическую чистоту. Для унификации гранулометрического состава смолы просеивали и отбирали фракции с

размерам частиц от 100 до 250 мкм. Смолы КУ-2 и КБ-4 перед просеиванием размалывали после высушивания при 105 °С. Источником полигалактуроноз являлся коммерческий ферментный препарат Пектофоетидин ГЗх, полученный при глубинном культивировании гриба *Aspergillus foetidus*.

Все обработки при очистке ферментов выполняли при комнатной температуре путем добавления 80-100 г смолы к 1000 см³ ферментного раствора с последующим перемешиванием в течение 30 мин. и фильтрованием. Концентрация ферментных растворов составляла 10 г/дм³. Сорбцию полигалактуроноз на катионообменниках проводили после концентрирования и обессоливания ферментных растворов с помощью диафильтрации против 0.1 М ацетатного буфера с рН 4.5 на установке «Миллипор» со спиральным модулем TFF-6 с пределом пропускания 30 кДа. Десорбцию пектиназ со смол проводили с помощью 0.25 М фосфатного буфера с рН 6.0. Полигалактуронозную активность оценивали по образованию восстанавливающих сахаров по методу Шомоди-Нельсона [13], используя D-галактуроновою кислоту в качестве стандарта. Полигалактуроновою кислоту (ПГК) использовали как субстрат. Анализ проводили путем инкубации 0.1 см³ ферментного раствора с 0.1 мл 1.0%-ного раствора ПГК в 0.1 М Na-ацетатном буфере (рН 5.0) при 50 °С в течение 10 мин. Единица активности соответствовала количеству ферментов, необходимому для образования 1 мкмоль восстанавливающих сахаров в пересчете на D-галактуроновою кислоту за минуту при рН 5.0 и оптимальной температуре 50 °С. Удельную активность рассчитывали как соотношение активности раствора (ед./см³) и общего содержания белка (мг/см³). Общее содержание

белка в растворе определяли по методу Лоури [12]. Цветность ферментных растворов оценивали путем определения их оптической плотности при $\lambda = 340$ нм на фотоколориметре КФК 3-01 (Россия).

Результаты и обсуждение

При разработке комбинированных способов очистки ферментных растворов очень важно учитывать избирательность отдельных методов при удалении неактивных примесей в целях сохранения исходной активности ферментов в процессе очистки. Для оценки избирательности очистки с помощью сильных ионов мы использовали показатель избирательности очистки (S_p), равный соотношению степени очистки и величины потерь общей активности исходного ферментного раствора при заданном значении рН. Учет избирательности отдельных методов очистки помогает правильно определить их последовательность в комбинированных способах очистки.

Несмотря на то, что сильные ионы применяют главным образом для обессоливания воды при водоподготовке, выделения и концентрирования ценных элементов и очистки сточных вод, они весьма эффективно снижают цветность ферментных растворов, обусловленную присутствием ионных органических примесей. Степень обесцвечивания ферментных растворов сильно зависит от значений рН среды. Увеличение значения рН растворов приводит к снижению эффекта очистки для катионообменной смолы и, наоборот, к увеличению степени очистки для анионообменной смолы. Показано, что степень очистки по цветности для катионита составляет от 30 до 50, а для анионита – от 68 до 83 % (рис. 1А). Более высокая степень очистки для анионообмени-

ка связана, по-видимому, с преобладанием в ферментном растворе анионных примесей. Снижение общей активности ферментных растворов в ходе ионообменной очистки также определяется значением рН среды (рис. 1Б). Анализ данных (рис. 1А, Б) показывает, что при максимальной степени очистки по цветности наблюдаются и наибольшие потери ферментативной активности исходного раствора. Результатом влияния значений рН на цветность и активность ферментных растворов при ионообменных обработках является изменение показателя S_p , максимальные значения которого отмечены для анионита при значениях рН от 3.0 до 4.0, а для катионита в диапазоне рН от 6.0 до 7.0 (рис. 1В). Поэтому при использовании сильных ионов в комбинированных схемах очистки для увеличения выхода ферментов, целесообразно применять сильные аниониты в слабокислой, а сильные катиониты – в нейтральной среде.

Потери активности ферментных растворов при обработках сильными ионами могут быть связаны либо с инактивацией ферментов, либо с их сорбцией. Если сорбция ферментов смолами является обратимым процессом, то они могут использоваться не только для очистки, но и для выделения ферментов. Так как максимум рН-стабильности большинства пектинолитических ферментов находится в слабокислой среде, то наибольший интерес для их выделения из растворов представляют сильные катиониты.

Показано, что при обработке катионитами максимальное снижение общей активности растворов наблюдается при значениях рН от 3.5 до 4.0 (рис. 2). Увеличение рН раствора приводит к меньшим потерям активности ферментов, а обработка при рН выше

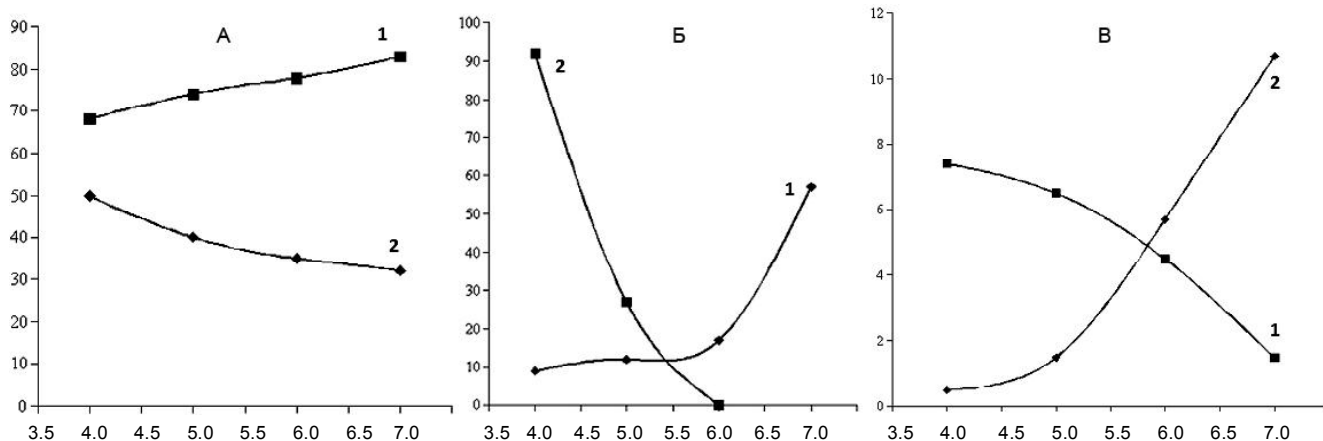


Рис. 1. Влияние рН среды (по оси абсцисс) при обработке растворов Пектофоетидина ГЗх анионитом Amberlite CG-400 (1) и катионитом Amberlite CG-120 (2) на: А – степень очистки по цветности S_p (%; по оси ординат), Б – активность растворов (доля исходной активности, %; по оси ординат), В – изменение показателя избирательности очистки растворов (по оси ординат).

6.0 способствует некоторой активации полигалактуроназ: общая активность растворов после обработки смолами КУ-2 и Amberlite CG-120 увеличивается по сравнению с исходной на 20-50 %. Это можно объяснить удалением некоторых ингибиторов, таких как ионы металлов, многие из которых, например, Cu^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} , Hg^{2+} , Pb^{2+} , Mn^{2+} снижают активность полигалактуроназ на 40-50 % при концентрациях 0.5-1.0 мМ [8, 11, 15]. Следует отметить, что для слабого катионита КБ-4 подобный эффект не наблюдался.

Для установления обратимости процесса сорбции полигалактуроназ и оценки степени их инактивации было проведено выделение ферментов с помощью катионообменных смол при различных значениях pH растворов. Обработки проводили после концентрирования и обессоливания растворов Пектофоеидина ГЗх с помощью ультра- и диализа. Степень инактивации полигалактуроназ оценивали по выходу активности после их десорбции со смол 0.25 М фосфатным буфером с pH 6.0. Заметной инактивации полигалактуроназ при обработке сильными катионитами не происходит (рис. 3А). Напротив, при сорбции в диапазоне pH от 4.0 до 5.0 наблюдается некоторая активация ферментов после их десорбции: выход ферментативной активности увеличивается в 1.25-1.50 раза от количества адсорбированной активности. По-видимому, это можно объяснить тем, что многие полигалактуроназы являются гликопротеинами и содержат в своей структуре углеводные компоненты, которые могут действовать как аллостерические эффекторы. Углеводная часть может состоять из ковалентно связанных фрагментов и пектиновых остатков, связанных ионными связями. Вероятно, в результате образования более прочных ионных связей между ферментами и смолами происходит вытеснение нековалентно связанных углеводных фрагментов, снижающих активность ферментов. Также, возможно, что после десорбции ферментов устраняется действие ингибиторов, присутствующих в исходном растворе. Анализ изменения удельной активности полигалактуроназ после их десорбции со смол показывает (рис. 3Б), что высокая из-

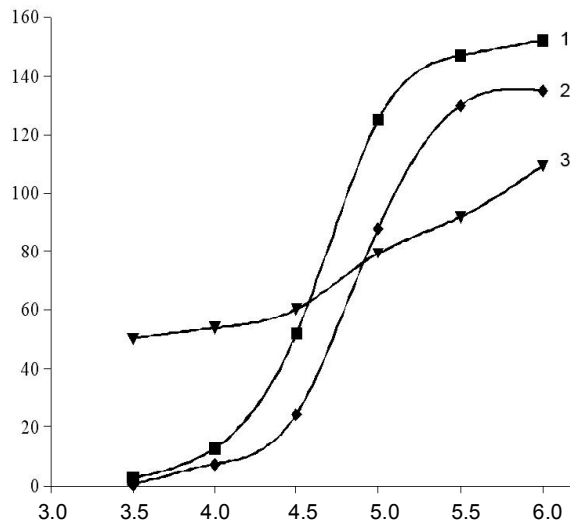


Рис. 2. Изменение активности (% исходной величины; по оси ординат) раствора Пектофоеидина ГЗх при обработке катионообменными смолами: КУ-2 (1), Amberlite CG-120 (2) и КБ-4 (3).

бирательность сорбции с помощью катионообменников наблюдается при значениях pH от 4.0 до 5.0. Наибольшую избирательность проявляют смолы КУ-2 и КБ-4. Однако смола КБ-4 является слабым катионообменником и имеет низкую обменную емкость, что может создать трудности при ее использовании в препаративных процессах очистки. Таким образом, полученные результаты показывают, что сильноокислотные катиониты можно использовать с высокой эффективностью не только для очистки, но также для активации и выделения полигалактуроназ из ферментных растворов. При строгом соблюдении оптимальных условий обработки удается избежать существенной инактивации ферментов.

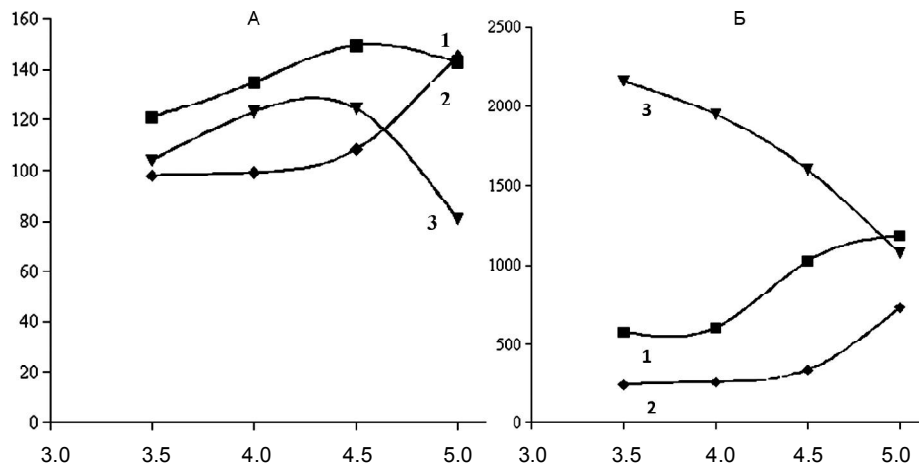


Рис. 3. Выход (А) ферментативной активности (%; по оси ординат) и изменение (Б) удельной активности пектиназ (ед./мг белка; по оси ординат) после десорбции с катионообменных смол: КУ-2 (1), Amberlite CG-120 (2) и КБ-4 (3) в рабочем диапазоне pH среды (по оси абсцисс).

ЛИТЕРАТУРА

1. (Полов С.В.) Anti-inflammatory activity of the pectic polysaccharide from *Comarum palustre* / S.V. Popov, G.Yu. Popova, R.G. Ovodova et al. // *Fitoterapia*, 2005. Vol. 76. P. 281-287.
2. (Полов С.В.) Characterization of the oral adjuvant effect of lemnan, a pectic polysaccharide of *Lemna minor* L. / S.V. Popov, V.V. Golovchenko, R.G. Ovodova et al. // *Vaccine*, 2006. Vol. 24. P. 5413-5419.
3. (Полов С.В.) Inhibition of neutrophil adhesion by pectic galacturonans / S.V. Popov, R.G. Ovodova, G.Yu. Popova et al. // *Rus. J. Bioorg. Chem.*, 2007. Vol. 33. P. 187-192.
4. Родионова Н.А., Безбородов А.М. О локализации систем ферментов, катализирующих расщепление полисахаридов растительных клеточных стенок у высших растений. Пектиназы (Обзор) // *Прикл. биохим. микробиол.*, 1997. Т. 33. № 5. С. 467-487.
5. Сапунова Л.И., Михайлова Р.В., Лобанок А.Г. Разделение и анализ полигалактуроназ, продуцируемых *Aspergillus alliaceus* на среде с глюкозой // *Прикладная биохим. микробиол.*, 1996. Т. 32, № 5. С. 506-509.
6. (Alkorta I.) Industrial applications of pectic enzymes: a review / I. Alkorta, C. Garbisu, M.J. Llama et al. // *Process Biochem.*, 1998. Vol. 33. P. 21-28.
7. (Demir N.) The use of commercial pectinase in fruit juice industry. Part 3. Immobilized pectinase for mash treatment / N. Demir, J. Acar, K. Sarioglu et al. // *J. Food Eng.*, 2001. Vol. 47. P. 275-280.
8. Devi N.A., Appu Rao G.A. Fractionation, purification, and preliminary characterization of polygalacturonases produced by *Aspergillus carbonarius* // *Enzyme Microb. Technol.*, 1996. Vol. 18, № 1. P. 59-65.

9. *Ishii T., Matsunaga T.* Pectic polysaccharide rhamnogalacturonan II is covalently linked to homogalacturonan // *Phytochem.*, 2001. Vol. 57. P. 969-974.

10. (*Kashyap D.R.*) Production, purification and characterization of pectinase from a *Bacillus* sp. DT7 / *D.R. Kashyap, S. Chandra, A. Kaul* et al. // *World J. Microbiol. Biotechnol.*, 2000. Vol. 16. P. 277-282.

11. (*Kobayashi T.*) Purification and properties of a galacturonic acid-releasing exopolysaccharidase from a strain *Bacillus* / *T. Kobayashi, N. Higaki, N. Yajima* et al. // *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 2001. Vol. 65, № 4. P. 842-847.

12. (*Lowry O.H.*) Protein measurement with the Folin phenol reagent / *O.H. Lowry, N.J. Rosenbrough, A.L. Farr* et al. // *J. Biol. Chem.*, 1951. Vol. 193. P. 265-275.

13. *Nelson N.A.* photometric adaptation of the Somogyi method for the determination of glucose // *J. Biol. Chem.*, 1944. Vol. 163. P. 375-380.

14. (*Oliva C.*) Purification and characterization of an endopolysaccharidase produced by *Sclerotinia sclerotiorum* / *C. Oliva, M. Regente, M. Feldman* et al. // *Biologia plantarum*, 1999. Vol. 42, № 4. P. 609–614.

15. *Pathak N., Sanwal G.G.* Multiple forms of polygalacturonase from banana

fruits // *Phytochem.*, 1998. Vol. 48. P. 249-255.

16. *Ridley B.L., O'Neill M.A., Mohnen D.* Pectins: structure, biosynthesis and oligogalacturonide-related signaling // *Phytochem.*, 2001. Vol. 57. P. 929-968.

17. *Willats W.G.T., Mc Cartney L., Mackie W.* Pectin: cell biology and prospects for functional analysis // *Plant Mol. Biol.*, 2001. Vol. 47. P. 9-27.

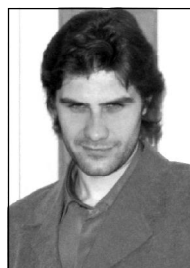
18. (*Williams M.A.K.*) Simulation of endo-PG digest patterns and implications for the determination of pectin fine structure / *M.A.K. Williams, G.M.C. Buffet, T.J. Foster* et al. // *Carbohydr. Res.*, 2001. Vol. 334. P. 243-250. ❖

МУЛЬТИЭНЗИМНЫЕ КОМПОЗИЦИИ ДЛЯ ОБРАБОТКИ ТРУДНОУСВОЯЕМЫХ КОМПОНЕНТОВ КОРМОВ ДЛЯ ПТИЦ И МОНОГАСТРИЧНЫХ ЖИВОТНЫХ

Для повышения усвояемости кормов и, как следствие, для увеличения продуктивности в животноводческих хозяйствах широко применяются бактериальные и грибные ферментные препараты. В России разрешен к применению в животноводстве целый ряд препаратов, содержащих амило-, протео-, пектино-, цито- и целлюлолитические ферменты. Ферменты в отличие от гормонов и биостимуляторов действуют не на организм животных, а на компоненты корма в желудочно-кишечном тракте, не накапливаются в организме и продуктах птицеводства и животноводства. Особенно актуально применение биокатализаторов для молодняка животных и птиц, чья собственная ферментативная система еще до конца не сформировалась. Основная проблема использования ферментных препаратов заключается в том, что нет универсальной стандартной характеристики ферментных препаратов, поэтому при довольно большом ассортименте ферментных препаратов на рынке России их сложно сравнивать между собой. В конечном итоге, практически невозможно прогнозировать ожидаемый эффект от применения ферментных препаратов в условиях конкретного хозяйства. Одним из способов решения данной проблемы является обработка компонентов кормов в модельных условиях с учетом физиологических особенностей живого организма. Такая обработка позволит получать данные об эффективности конкретного ферментного препарата, а также необходимости балансировки по какой-либо активности при действующем рационе животного или птицы.

В задачи работы входили: 1) оценка влияния фермент-субстратных взаимодействий природных полимеров, их смесей на активность протеиназ, амилаз, целлюлаз и гемицеллюлаз, 2) изучение специфики ферментативного гидролиза природных биополимеров, в частности белка, целлюлозы и крахмала при совместном присутствии, 3) подбор оптимального состава мультиэнзимной композиции.

В качестве субстрата для амилаз использовался крахмал марки ЧДА, для протеиназ – казеин (по



Д. Тарабукин

Граммерстену). Субстратом для целлюлаз служила хлопковая микрокристаллическая целлюлоза (МКЦ) (АО «Полиэкс», г. Бийск), для гемицеллюлаз использовали ксилан (Sigma) и полигалактуроновую кислоту (ПГК) (Sigma). В качестве компонентов комбикормов были использованы пшеница 5-го класса, фуражный овес, пшеничные отруби, соевый и подсолнечный шроты. Макрокомпонентный состав модельных кормосмесей был принят с учетом используемых рационов на птицефабрике «Зеленая» и свиномкомплексе при этом же предприятии. В качестве источника целлюлаз был использован Целлолюкс-Ф – отечественный ферментный препарат (Сиббиофарм), амилаз – препарат Глюкаваморин ГЗх, протеиназ – Протосубтилин ГЗх и ячменный солод (Острогужский завод). Из-за отсутствия на российском рынке отечественных препаратов с пектинолитической активностью использовали импортный препарат Ронозим VP (Швейцария). В качестве образцов сравнения – полиферментные препараты Экозим (Нидерланды) и Натузим (Австралия). Ферментативный гидролиз проводили в колбах вместимостью 250 см³ при температуре 40 °С на водяной качалке при 150 об./мин. Объем реакционной смеси составил 50 см³. Эффективность воздействия протеиназ оценивали по накоплению в реакционной среде не осаждаемых 0.3 М трихлоруксусной кислотой низкомолекулярных продуктов, модифицированных методом Лоури [1]. Накопление продуктов гидролиза крахмала, целлюлозы и других полисахаридных компонентов кормов оценивали по накоплению восстанавливающих сахаров в реакционной среде, определяемых по методу Шомоди-Нельсона [2].

При оценке влияния фермент-субстратных взаимодействий на активность протеиназ, амилаз, целлюлаз и гемицеллюлаз установлено (рис. 1), что в присутствии основных полисахаридов кормов (крахмал, МКЦ, ксилан) уровень воздействия протеаз препарата Протосубтилин ГЗх на модельный субстрат казеин сохраняется и даже несколько выше (для ксилана, МКЦ). С другой стороны, в присут-

Тарабукин Дмитрий Валерьянович – к.б.н., н.с. лаборатории биохимии и биотехнологии. E-mail: DVTarabukin@ib.komisc.ru. Область научных интересов: энзимология, биоконверсия растительных субстратов.

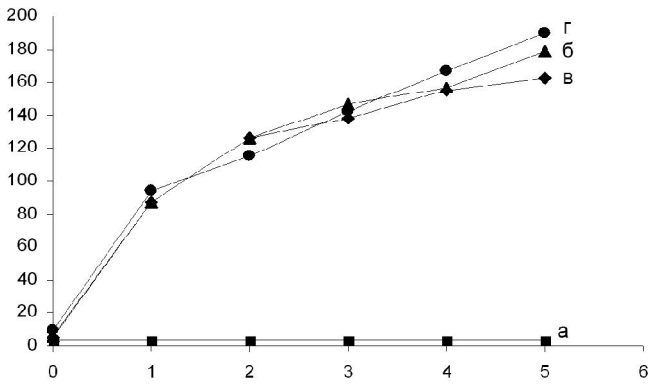


Рис. 1. Гидролиз 1 г казеина в присутствии полигалактуроновой кислоты (а), крахмала (б), ксилана и микрокристаллической целлюлозы (г) и в контроле (в).

По оси абсцисс – время, ч.

По оси ординат – накопление продуктов гидролиза, мг/объем реактора.

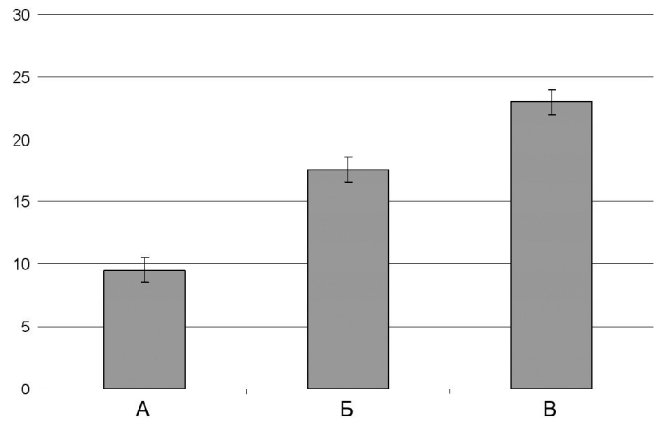


Рис. 2. Выход продуктов (мг) при ферментативном гидролизе 1 г микрокристаллической целлюлозы с использованием препаратов Целлолюкс-Ф (А), Целлолюкс-Ф + Казеин (Б) и Целлолюкс-Ф + Казеин + Протосубтилин Г3х (В).

ствии структурной основы пектина – ПГК – происходит практически полное ингибирование протеолиза казеина. МКЦ и ксилан выступают как ингибиторы ферментативной деструкции крахмала, в то время как наличие казеина в реакционной среде не влияет на активность амилаз. Для целлюлаз препарата Целлолюкс-Ф отмечено существенное увеличение выхода продуктов гидролиза при воздействии на МКЦ в присутствии казеина (рис. 2).

Переход к ферментативному гидролизу компонентов комбикормов выявил, что препарат Целлолюкс-Ф при оптимальном рН 4.7 в условиях, оптимальных для действия препарата Протосубтилин Г3х (рН 6.0), сохраняет достаточную активность по отношению ко всем углеводсодержащим субстратам. Наоборот, препарат Протосубтилин Г3х в условиях, оптимальных для препарата Целлолюкс-Ф, в значительной мере теряет активность по отношению к белковым субстратам – соевому и подсолнечному шроту. Дальнейшие эксперименты показали, что препарат Протосубтилин Г3х (источник нейтральных и щелочных протеаз) малоэффективен по отношению к перечисленным выше компонентам комбикормов в условиях, близких к физиологическим параметрам животных, что требует поиска и применения более кислых протеаз для усиления воздействия собственных протеаз животного.

Установлено, что ячменный солод достаточно эффективен при ферментативной обработке комбикормов с большим содержанием пшеницы, однако требует добавки ферментов с целлюлазной и гемицеллюлазной активностями в рационах с высоким содержанием некрахмалистых полисахаридов. В результате предложено использовать ячменный солод (в количестве 1 % массы комбикорма) и как источник гидролитических ферментов, и как источник микроэлементов и готовых аминокислот в рационах со значительным содержанием пшеницы. Недостаточную активность солода по некрахмалистым полисахаридам рекомендуется компенсировать за счет целлюлазно-гемицеллюлазного комплекса препарата Целлолюкс-Ф и препарата пектиназа Ронозим VP, а усиление амилазной активности – за счет препарата Глюкаваморин Г3х. Следует отметить значительно больший выход продуктов гидролиза полисахаридов при ферментативной обработке пшеницы и овса в присутствии соевого шрота по сравнению с суммарным выходом продуктов гидролиза данных компонентов, гидролизующихся по отдельности. Данный факт согласуется с положительным эффектом присутствия нефункциональных белков на глубину гидролиза некрахмалистых полисахаридов, полученных на модельных субстратах.

С учетом полученных данных о воздействии ферментных препаратов на компоненты комбикормов

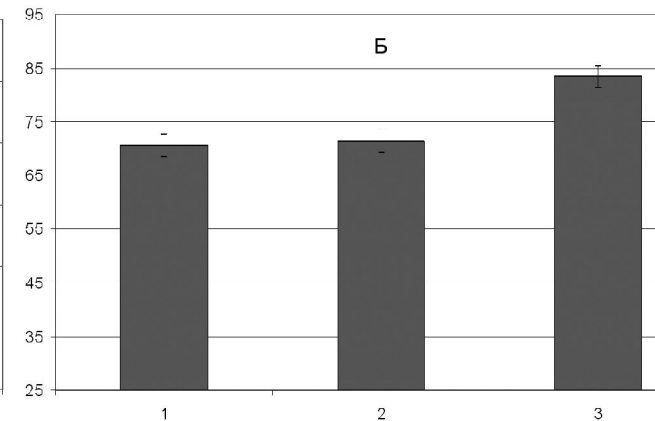
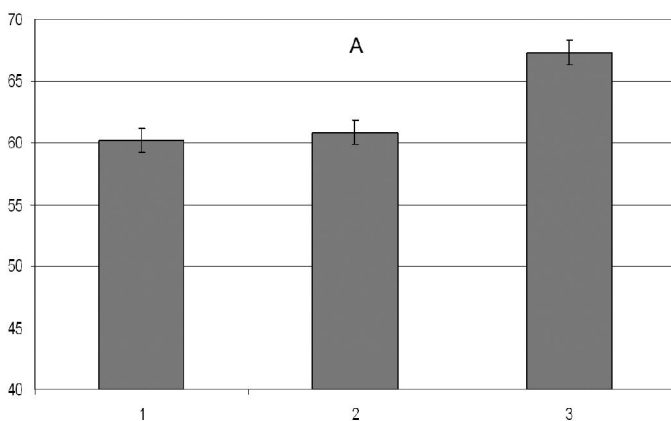


Рис. 3. Выход продуктов (мг) гидролиза 1 г модельных кормосмесей для кур (А): пшеница + соевый шрот (60 и 40% соответственно) с использованием препаратов Экозим + Ронозим VP (1), Натузим + Ронозим VP (2) и ПФП-К (3) и свиней (Б): овес + пшеница + отруби + подсолнечный шрот (30, 25, 30 и 15 % соответственно) с использованием препаратов Экозим (1), Натузим (2) и ПФП-С (3).

нами разработаны два полиферментных препарата (ПФП): для кур – ПФП-К, свиней – ПФП-С. Состав ПФП-К, вводимого на единицу массы модельной кормосмеси: ячменный солод – 1.0, Целлолюкс-F – 0.025, Глокаваморин ГЗх – 0.05 и Ронозим VP – 0.02 %. Состав ПФП-С, вводимого на единицу массы модельной кормосмеси: ячменный солод – 1.0, Целлолюкс-F – 0.02 и Ронозим VP – 0.02 %. По сравнению с препаратами Экозим и Натюзим (рис. 3), разработанные нами композиции позволяют повысить ценность трудноусвояемых кормов моногастрических животных на основе пшеницы, овса, пшеничных отрубей, соевого шрота подсолнечного шрота за счет более интенсивного ферментативного воздействия на полисахаридную часть при сопоставимой цене препаратов.

Таким образом, для кур и свиней разработаны ПФП, большую часть которых составляют отече-

ственные ферментные препараты. В модельных условиях данные ПФП выявили больший выход продуктов гидролиза по сравнению с импортными аналогами. Предварительный анализ ферментных препаратов может быть рекомендован для оценки и прогнозирования эффективности биокатализаторов с учетом действующего рациона птиц или сельскохозяйственных животных.

ЛИТЕРАТУРА

1. Донцов А.Г., Тарабукин Д.В., Ванчикова Е.В. Оптимизация условий определения белка в ферментных растворах по методу Лоури // Заводская лаборатория. Диагностика материалов, 2009. Т. 75, № 2. С. 18-20.

2. Польшгаллина Г.В., Чердиченко В.С., Римарева Л.В. Определение активности ферментов. Справочник. М., 2003. С. 321. ❖

ЛИПАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ В КАЧЕСТВЕ ДИАГНОСТИЧЕСКОГО КРИТЕРИЯ ОЦЕНКИ НЕФТЕЗАГРЯЗНЕНИЙ ПОЧВ

Почвенные липазы в отличие от других ферментов исследованы в значительно меньшей степени, но в последнее время к ним возрос интерес в связи с перспективами их применения в качестве индикатора загрязнений почв. Мы провели сравнительный анализ изменения липолитической активности нефтезагрязненных и рекультивируемых почв на территории Республики Башкортостан (РБ) и Республики Коми (РК).

Липазная активность в различных типах почв РБ (серая, темно-серая лесная, выщелоченный чернозем) в полевых условиях при воздействии низких концентраций загрязнителя повышается с 3.9 до 6.6 мл 0.1 н КОН/г почвы и через год превосходит значения контрольного варианта опыта [1, 3], что в первую очередь связано с улетучиванием наиболее токсичных фракций. Аналогичные изменения происходят в нефтезагрязненной торфяно-глеевой почве РК. При низких и средних концентрациях нефти (2-10 г/100 г почвы) активность липазы спустя два года повышается (с 0.9 до 1.31 мл 0.1 н КОН/г почвы) и превосходит значения фонового варианта в 1.1-1.5 раза. Показано [7], что в деградации липидов участвуют ферментные системы, очень схожие с системами биodeградации нефти, что объясняет повышение липолитической активности при низких и средних концентрациях нефти. Кроме того, ее повышение со временем связано с накоплением неразлагающихся и малоактивных биологических веществ, которые возникают в процессе

биodeградации [6]. Высокие дозы загрязнителя (11 г/100 г почвы) ингибируют активность фермента в течение длительного периода. Через два-три года липазная активность повышается, превосходя контрольный вариант, стабилизируется и сохраняется длительное время на достаточно высоком уровне [4]. Такой интенсивный липолиз коррелирует с увеличением численности углеводородокисляющих микроорганизмов (УОН) и уменьшением содержания остаточных компонентов в почве [3]. Высокие концентрации загрязнителя ингибируют активность фермента и тормозят процессы липолиза, вероятно, из-за токсичного действия нефти на границе раздела фазы «вода-липид».

При биоремедиации нефтезагрязненных почв с использованием как биопрепаратов, так и других рекультивантов происходит ускорение деструкции нефтяных углеводородов, что способствует накоплению в почве продуктов деградации. Это усиливает липолитическую активность, которая сохраняется на высоком уровне в течение нескольких лет. Например, при ремедиации нефтезагрязненных почв РБ с использованием биопрепарата Белвитамил и фитомелиоранта (люцерна посевная *Medicago sativa* L.) происходит усиление липолитической активности почв в течение трех месяцев, высокая активность которой наблюдается в последующие два года



Т. Щемелинина

[1]. Использование биопрепарата Бациспектин увеличивает численность УОН и ускоряет в два раза деструкцию остаточных компонентов нефти в почве как в полевых, так и лабораторных условиях; усиливается липолитическая активность серой лесной почвы (см. таблицу), загрязненной раз-

личными дозами нефти. Самая высокая скорость липолиза отмечена через два года в полевых и через год в лабораторных условиях. Вероятно, в результате биodeградации нефти в почве образуются сложные эфиры карбоновых кислот, которые являются субстратом для липаз [4]. Посев люцерны в полевом опыте на нефтезагрязненной серой лесной почве способствует увеличению липолитической активности, которая стабилизируется и сохраняется на высоком уровне в течение двух лет независимо от дозы нефти (см. таблицу). Такие же закономерности выявлены и в лабораторных условиях. Между активностью липазы и содержанием остаточной нефти в рекультивируемой почве обнаружена обратная зависимость ($r = -0.85 \dots -0.98; p \leq 0.05$), а между активностью липазы и численностью УОН – прямая ($r = 0.82-0.96; p \leq 0.05$). Ускорение деструкции нефти при использовании фитомелиоранта способствует накоплению в почве продуктов деградации, что в свою очередь повышает липолитическую активность почв. В качестве ремедианта загрязненных

нефтью почв на территории РБ используют также кору и опад сосны. Внесение опада способствует интенсификации процессов липолиза в почве, загрязненной нефтью в концентрациях до 5 % включительно и через год в почве, загрязненной нефтью в концентрациях 10-15 % [5]. При внесении в торфяно-глеевую нефтезагрязненную почву на территории РК биопрепарата МУС (микрофлора Усинского месторождения), представляющего комплекс психрофильных УОМ – продуцентов поверхностно-активных веществ (см. таблицу), процессы липолиза усиливаются [2].

На основании изложенного выше в качестве диагностического критерия нефтезагрязненности почв рекомендуется использовать показатель липолитической активности. Во-первых, изменение этой активности зависит напрямую от дозы нефти в почве и она достаточно долго сохраняется на высоком уровне. Во-вторых, методы определения липазной активности не требуют больших затрат, доступны, просты и имеют высокую точность.

ЛИТЕРАТУРА

1. Киреева Н.А., Новоселова Е.И., Валиуллина А.А. Использование липазной активности для биомониторинга деградации нефти и нефтепродук-

Липазная активность и содержание остаточной нефти в нефтезагрязненной почве через 24 месяца после начала опыта

Вариант опыта	Липазная активность*	Содержание нефти, мг/г
Торфяно-глеевая почва, начальная концентрация нефти и 50.0 мг/г почвы		
Контроль	3.70 (3.40)	2.20
Нефтезагрязненная почва	0.04 (0.01)	37.00
+ МУС + минеральные удобрения	2.70 (1.40)	0.68
Серая лесная почва, начальная концентрация нефти 9.5 мг/г почвы [4]		
Контроль	10.76 (9.68)	–
Нефтезагрязненная почва	13.25 (7.22)	2.63
+ Бациспектин	15.56 (7.18)	0.84
+ Фитомелиорант	16.21 (–)	1.02

* В скобках указана липазная активность (мл 0.1 н КОН/г почвы) через трое суток. Прочерк – не измеряли.

тов в почве // Актуальные экологические проблемы Республики Татарстан: Матер. V респ. науч. конф. Казань, 2003. С. 630.

2. (Киреева Н.А.) Биологическая активность загрязненных нефтью и рекультивируемых торфяно-глеевых почв Республики Коми / Н.А. Киреева, ..., Т.Н. Щемелинина, М.Ю. Маркарова // *Агрехимия*, 2008. № 8. С. 68-75.

3. (Киреева Н.А.) Влияние загрязнения почв нефтью и нефтепродуктами на активность липазы / Н.А. Киреева, Е.М. Тарасенко, А.А. Шамаева и др. // *Почвоведение*, 2006. № 8. С. 1005-1011.

4. Новоселова Е.И. Экологические аспекты трансформации ферментно-

го пула почвы при нефтяном загрязнении и рекультивации: Автореф. дис. ... докт. биол. наук. Воронеж, 2008. 36 с.

5. Шамаева А.А. Исследование процессов биоремедиации почв и объектов, загрязненных нефтяными углеводородами: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Уфа, 2007. 23 с.

6. Allard A.S., Neilson A.N. Bioremediation of organic waste sites: a critical review of microbiological aspects // *Intrn. Biodeterioration Biodegradation*, 1997. Vol. 39. P. 253-285.

7. Margesin R., Zimmerbauer A., Schinner F. Soil lipase – a useful indicator of oil bioremediation // *Biotechnol. Techniques*, 1999. Vol. 13. P. 859-863. ❖

ПРИМЕНЕНИЕ АЭРОФОТОСЪЕМКИ ДЛЯ РЕШЕНИЯ ЗАДАЧ БОТАНИЧЕСКОГО РЕСУРСОВЕДЕНИЯ

Фотоснимки местности, выполненные с высоты от нескольких тысяч метров (аэроснимки), нашли широкое применение для сбора пространственных данных при проведении геодезических, геологических исследований, инженерных изысканиях, в сельском и лесном хозяйстве, археологии. С появлением спутниковых систем, оснащенных различными типами сенсоров, аэрофотосъемка не утратила своего значения и вошла в общий арсенал методов дистанционного зондирования Земли. Стремительный прогресс в создании компактных цифровых фотоаппаратов, развитие систем глобального позиционирования (GPS, ГЛОНАС) открыл возможность получения аэроснимков с помощью беспилотных (БПЛА) или дистанционно-пилотируемых (ДПЛА) летательных аппаратов. В научной литературе последнего десятилетия стали появляться работы, посвященные изучению возможности применения аэросним-



И. Чадин



В. Володин

ков, полученных обычными (не специализированными для аэрофотосъемки) цифровыми фотоаппаратами, установленными на небольшие БПЛА (взлетная масса до 5 кг). Особое место среди этих БПЛА занимают воздушные змеи, широко использовать которых для подъема фотооборудования массой до 1-2 кг на высоту 100-150 м позволяют низкая их стоимость, большая грузоподъемность и простота управления. Полученные таким образом аэроснимки высокого пространственного разрешения (от 1 до 5 см/пиксел) успешно применяют в геодезических и экологических исследованиях [3, 5]. Поиск по базе данных издательства Elsevier (www.sciencedirect.com) на запрос «kite aerial photography» выдает около 100 ссылок на работы в различных научных журналах.

В ботаническом ресурсоведении задача определения биологического и эксплуатационного запасов растительного сырья связана со сбором и обработ-

Чадин Иван Федорович – к.б.н., зам. директора по научной работе. E-mail: chadin@ib.komisc.ru. Область научных интересов: растительные ресурсы, биохимическая систематика и экология.

кой пространственных данных, а результаты такой обработки отображаются в виде тематических карт различного масштаба, отражающих распределение растительных ресурсов той или иной местности, прогнозных картах. В настоящей работе мы рассмотрим порядок получения и обработки аэрофотоснимков, снятых с помощью компактной цифровой фотокамеры, установленной на воздушном змее, и выполнения измерений площади, занятой ценопопуляциями лекарственных растений на примере борца северного *Aconitum lycoctonum* L., 1753 (синонимы: *A. septentrionale* Koelle, 1786; *A. excelsum* Reincheb, 1825 – цит. по [2]). Работа выполнена на территории национального парка «Югыд ва» в бассейне р. Балбан-ю.

Для подъема камеры на высоту использовали воздушный змей бескаркасного типа – «параfoil» (торговое наименование «IK0051», изготовитель www.kiteman.ru) размером 1×2 м (рис. 1). Леер – нейлоновый крученный шнур (диаметр 2 мм, длина 200 м). Съемку вели на фотокамеру Canon Power Shot 480 (число эффективных пикселей – 10 млн, размер матрицы 2.54×5.84 мм, минимальное фокусное расстояние – 6.6 мм, масса с элементами питания – 190 г). Съемку вели в автоматическом интервальном режиме: после нажатия на спуск затвора выдерживали паузу, затем камера снимала один кадр каждые пять секунд до исчерпания свободного места на карте памяти. Для программирования режима съемки использовали резидентную программу CHDK (Canon Hacker's Development Kit) для фотоаппаратов фирмы Canon, позволяющую создавать программы для управления камерой и добавляющую недокументированные возможности, включая запись фотографий в RAW-формат (<http://chdk.wikia.com/wiki/CHDK>). Для обеспечения стабильного положения камеры относительно отвесной линии надир–зенит камеру помещали в корзину, прикрепленную к лееру подвесом типа Picavet (http://en.wikipedia.org/wiki/Kite_aerial_photography#Picavet_suspension). Вычисление координат реперных точек для ориентации и определения масштаба



Рис. 1. Змей типа «параfoil», использованный для подъема фотооборудования на высоту.

ба фотоснимков выполняли с помощью GPS-навигатора Garmin «Colorado 300».

Участок для проведения аэрофотосъемки определяли после обнаружения и описания ценопопуляций борца северного в результате маршрутных исследований. Для каждой ценопопуляции методом модельных экземпляров определяли урожайность надземной и подземной частей. С помощью GPS-навигатора находили координаты центра и границ зарослей. Запуск змея осуществляли с наветренной по отношению к снимаемому участку стороны при скорости ветра не менее 4-5 м/с. Подняв змея на высоту около 30 м и убедившись в стабильности полета, к лееру прикрепляли подвес с корзиной, в которую помещали фотокамеру, настроенную на съемку через заданный интервал. Змея отпускали на длину леера – 150-180 м. При этом в зависимости от угла наклона корзина с камерой поднималась на высоту 80-100 м. Выставив змея над заданным участком, перемещались вместе с ним в направлении, перпендикулярном направлению ветра. Общая продолжительность съемки была ограничена объемом карты памяти (2 Гб), которой хватало на 430 фотографий, и составляла около 30 мин. Для упрощения последующих процедур определения масштаба и дешифровки снимков на снимаемом участке определяли координаты реперных точек, в качестве которых выбирали хорошо различимые сверху предметы (поваленные деревья, большие камни, пересечения дорог).

Полученные таким образом снимки содержат ряд искажений, которые не позволяют проводить точные измерения расстояний и площадей объектов. Эти искажения поддаются вычислению и полному исправлению с помощью алгоритмов фотограмметрии [1, 4]. Искажения возникают из-за отклонения оптической оси объектива от отвесной линии, поворота фотоаппарата относительно сторон горизонта, перепада высот рельефа, дисторсии линз объектива. Результатом полного устранения всех указанных искажений является ортофотоплан, измерения на котором можно проводить с точностью, ограничиваемой только пространственным разрешением изображения. До появления цифровой фотографии и мощных персональных компьютеров для устранения искажений использовали громоздкие аппараты – ортотрасформаторы, в которых с помощью подвижной системы линз получали снимки с устраненными искажениями, вызванными положением фотоаппарата относительно земной поверхности. В настоящее время трансформацию фотографий проводят с помощью специализированных программ для ЭВМ, таких как Leica Photogrammetry Suite, ERDAS Imagine, GRASS.

В настоящей работе мы не ставили задачу получить ортофотоснимки, учитывающие перепады высот рельефа. На снимках были устранены искажения дисторсии в программе GIMP. Параметры дисторсии определяли с помощью калибровочного изображения. Часть искажений, связанных с различной ориентацией отдельных снимков в пространстве, устраняли путем объединения серии снимков в программе Hugin. Полученное таким образом мозаичное изображение было привязано к географическим координатам реперных точек с помощью мо-

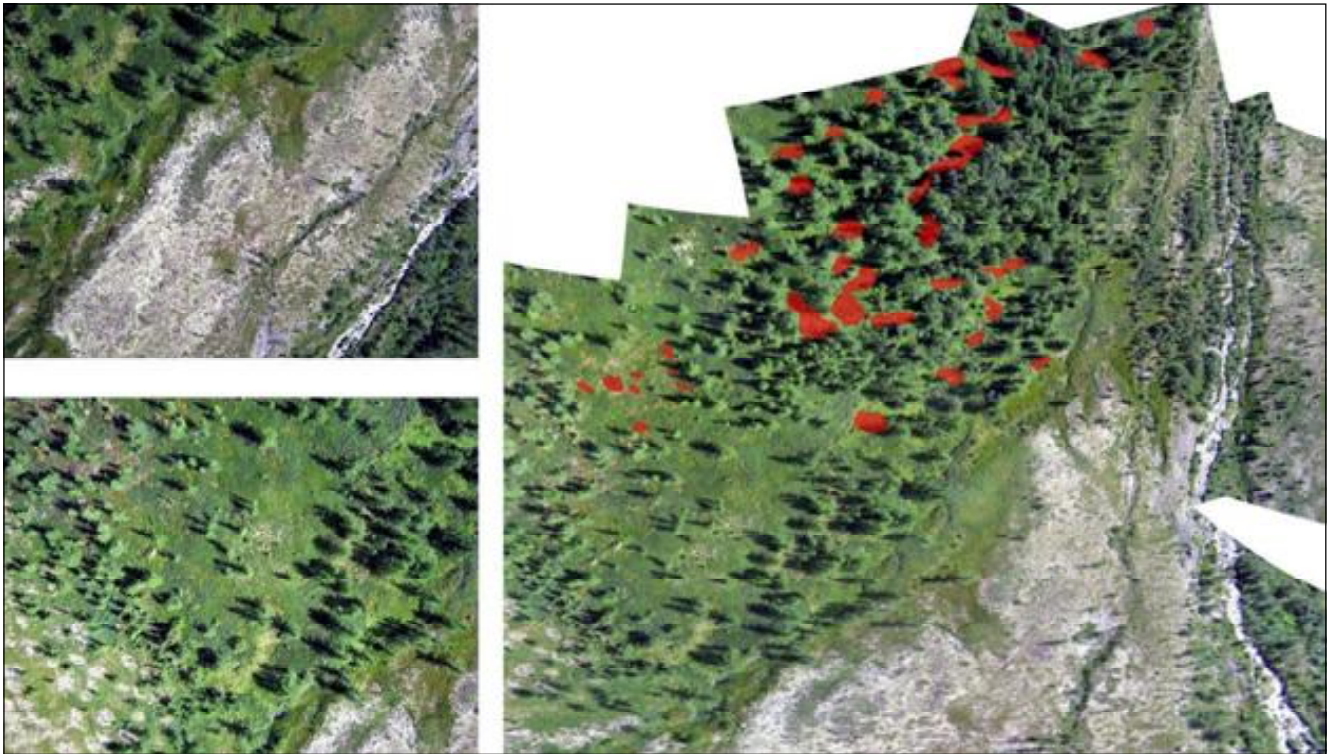


Рис. 2. Аэрофотоснимки: *слева* – одиночные снимки, полученные напрямую с фотокамеры, *справа* – составленное из 30 отдельных снимков с указанием участков (красный цвет), занятых зарослями *Aconitum lycoctonum L.*

дуля «привязка растров» программы Quantum GIS. Пространственное разрешение объединенного изображения составило 4 см/пиксел (исходные изображения имели разрешение 2 см/пиксел).

На площади примерно в 26 га по определенным заранее координатам выделили участки, занятые зарослями борца северного. Затем сходные с ними по цвету и структуре другие участки снимка определяли как занятые указанным видом. В результате была построена схема распределения участков с зарослями борца (рис. 2). Подсчет числа пикселей, приходящихся на эти участки, позволил определить занятую аконитом площадь – 0,5 га. Таким образом, при средней урожайности сухой надземной и подземной массы 311 и 153 кг/га соответственно, измеренной методом модельных экземпляров, биологический запас борца северного на изученной территории составил 156 и 76 кг соответственно. Для того, чтобы получить данные о площади, занятой зарослями аконита на пересеченной местности в 26 га методом маршрутных учетов с использованием GPS-навигатора для точного оцифрования границ зарослей, потребовалось бы один-два рабочих дня. Для сбора аналогичных данных с помощью аэрофотосъемки потребовалось до двух часов работы в полевых условиях и столько же времени для камеральной обработки полученных снимков. Результаты дешифровки и измерений на аэрофотоснимках служат дополнительными входными данными для пространственного анализа распространения растительных ресурсов на больших территориях. В сочетании с анализом спутниковых снимков, цифровой модели местности, данных о гидрологии, солнечной и ветровой экспозиции могут быть построены карты прогноза распределения плотности запасов ресурсного вида растений.

Рассмотрев пример использования моноснимков для определения двумерных координат и размеров зарослей борца северного, мы показали возможности этого метода для повышения качества и производительности полевых ресурсоведческих работ. Можно полагать, что применение стереофотосъемки высокого разрешения позволит не только значительно повысить точность двумерных измерений за счет учета перепада высот макро- и микрорельефа, но и определять высоту растений в зарослях изучаемого вида растений. Такие измерения позволят оценить пространственное распределение плотности запаса надземной и подземной частей этого вида. Для увеличения производительности дешифровки снимков необходимо применять программное обеспечение, специализированное для классификации элементов изображения и распознавания объектов (например, продукты компании Definiens). Значительного повышения скорости проведения работ можно добиться при применении в качестве ДПЛА самолетов и мультикоптеров (<http://www.multicopter.ru/microcopter>), оснащенных обратной связью по радиоканалу с оператором.

ЛИТЕРАТУРА

1. Назаров А.С. Фотограмметрия. Минск, 2006. 368 с.
2. Флора Восточной Европы / Отв. ред. Н.Н. Цвелев. СПб., 2001. 670 с.
3. Aber J.S., Aber S.W., Leffler B. Challenge of infrared kite aerial photography // Kansas Acad. Sci. Trans., 2001. № 104 (1/2) P. 18-27.
4. Linder W. Digital photogrammetry. A practical course. Berlin: Springer, 2009. 220 p.
5. Smith M.J., Chandler J., Rose J. High spatial resolution data acquisition for the geosciences: kite aerial photography // Earth surface processes and landforms, 2009. Vol. 34 P. 155-161. ❖



НАШИ ПОЗДРАВЛЕНИЯ

В октябре исполнилось 40 лет с момента начала работы в нашем Институте профессора, доктора биологических наук **Тамары Константиновны Головки**.

После окончания в 1971 г. с отличием Донецкого государственного университета Тамара Константиновна поступила на работу в Институт биологии Коми филиала АН СССР. За период работы в лаборатории она прошла все ступени профессиональной карьеры: от старшего лаборанта до заведующей подразделением. В 1973-1977 гг. обучалась в аспирантуре Коми филиала АН СССР. В 1978 г. защитила кандидатскую (в БИН РАН, г. Санкт-Петербург), а в 1993 г. — докторскую диссертацию (в ИФР РАН, г. Москва) по специальности «физиология и биохимия растений». Звание профессора получила в 2000 г. С 1985 г. возглавляет лабораторию экологической физиологии растений. В период с 1994 по 2005 г. работала в должности заместителя директора Института биологии Коми НЦ УрО РАН по научной работе и внесла существенный вклад в координацию эколого-биологических исследований, интеграцию высшего образования и академической науки.

Т.К. Головки — известный специалист в области физиологии растений, автор и соавтор свыше 230 опубликованных работ, в том числе семи монографий, более 80 статей в рецензируемых отечественных и зарубежных изданиях, девяти учебно-методических пособий и четырех научных рекомендаций для народного хозяйства.

Основными направлениями исследований Т.К. Головки являются процессы фотосинтеза и дыхания, их значение в жизнедеятельности и продуктивности растений. Т.К. Головки внесен большой вклад в разработку фундаментальных вопросов физиологии дыхания растений. Предложена концепция роли дыхания в донорно-акцепторной системе, получены принципиально важные количественные данные о взаимосвязи дыхания с фотосинтезом, ростом и включением углерода в биомассу. Рассмотрена роль дыхания в продукционном процессе и реализации экологической стратегии видов. Совместно с кафедрой ботаники Коми государственного педагогического института (проф. А.М. Маркаров) выполнен цикл исследований по морфофизиологии подземного метамерного комплекса многолетних травянистых растений. Т.К. Головки внесен существенный вклад в раскрытие закономерностей функционирования растений природной флоры и основных сельскохозяйственных культур в холодном климате. Предложена и экспериментально обоснована концепция о повышении роли пигментного комплекса и устойчивости и продуктивности растений. Исследованы механизмы адаптации фотосинтетического аппарата на разных уровнях организации к внешним факторам. Полученные Т.К. Головки результаты создают теоретическую основу для решения проблем интродукции и акклиматизации, оптимизации продукционного процесса, прогнозирования динамики растительности в условиях меняющейся среды и при стрессовых воздействиях. В результате обобщения данных многолетних исследований разработаны физиологически обоснованные модели культурных растений, оптимизированных для выращивания на Севере, и предложены производственные методические разработки для оптимизации агротехнологии возделывания основных сельскохозяйственных культур.

Т.К. Головки уделяет большое внимание подготовке научных кадров, ведет преподавательскую деятельность. Под ее руководством защищены 10 кандидатских и одна докторская диссертация, более 20 дипломных проектов студентов. Успешно сочетает научную работу с преподаванием в вузах. В период с 2003 по 2009 г. заведовала кафедрой ботаники Сыктывкарского государственного университета. Ее ученики удостоивались именных стипендий, государственной научной стипендии для выдающихся молодых ученых, медали и премии РАН для молодых ученых.

На протяжении ряда лет Т.К. Головки активно ведет научно-организационную работу. Она является председателем диссертационного совета Д.004.007.01 при Институте биологии Коми НЦ УрО РАН, членом Научного совета РАН по физиологии растений и фотосинтезу, членом Центрального совета общества физиологов растений России (ОФР), председателем Коми отделения Общества физиологов растений России, членом Президиума Коми НЦ УрО РАН и ученого совета Института биологии, организатором и членом оргкомитета ряда международных, российских и региональных конференций. Т.К. Головки награждена Почетными грамотами Республики Коми, РАН. Ее заслуги отмечены Государственной стипендией для выдающихся ученых, присвоением звания «Заслуженный работник Республики Коми». В 2010 г. Т.К. Головки присвоено звание «Заслуженный деятель науки Российской Федерации». Мы знаем Тамару Константиновну как талантливого, исключительно трудолюбивого и полного идей исследователя и руководителя, как человека, преданного своему делу и науке физиологии растений.

Дорогая Тамара Константиновна!

Примите наши самые искренние и добрые пожелания крепкого здоровья, неиссякаемой энергии, жизнерадостности, творческого поиска, научных открытий, счастливых дней в окружении родных и близких Вам людей!

Коллектив Института биологии
и сотрудники лаборатории экологической физиологии растений



**ВТОРОЕ МЕЖДУНАРОДНОЕ СОВЕЩАНИЕ ПО ФИТОЭКДИСТЕРОИДАМ
(г. Сыктывкар, Россия, 4-7 июля 2010 г.)**

д.б.н. В. Володин

Растения синтезируют биологически активные соединения разнообразной химической природы, например, алкалоиды, сапонины, цианогенные гликозиды и кумарины, относящиеся к специализированному обмену, функции большинства из которых до настоящего времени еще до конца не изучены. Большой научный и практический интерес представляет изучение фитоэкдистероидов – структурно идентичных или близких гормонам линьки членистоногих. Предполагается, что в растениях фитоэкдистероиды выполняют экологическую функцию, участвуя во взаимоотношениях между растениями и растительноядными беспозвоночными. Первое международное совещание по фитоэкдистероидам, в котором приняли участие ведущие специалисты в этой области из России, СНГ и Западной Европы (1996 г.), было проведено в Сыктывкаре на базе Института биологии Коми НЦ УрО РАН.

За прошедшие годы были выявлены новые экдистероиды и получены знания о закономерностях распространения фитоэкдистероидов в царстве растений, получены высокопродуктивные линии культур клеток экдистероидсодержащих растений и разработаны научные основы получения фитоэкдистероидов из растительного сырья и клеточных культур. Углубление знаний о фитоэкдистероидах и расширение сотрудничества между научными группами в России и странами ближнего и дальнего зарубежья, открытие новых перспектив использования фитоэкдистероидов в медицине обусловили необходимость прове-

дения Второго международного совещания по фитоэкдистероидам, которое по инициативе Института биологии Коми НЦ УрО РАН и состоялось 4-7 июля 2010 г. в Сыктывкаре. Организаторами совещания выступили также Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева (Москва) и Научный центр профилактического и лечебного питания Тюменского НЦ СО РАМН при поддержке Научного совета по биохимии РАН, Биохимического общества при РАН, Общества биотехнологов России им. Ю.А. Овчинникова. Спонсорами совещания выступили ООО «Комибиофарм» (г. Сыктывкар) и ООО «Биокор» (г. Пенза). В состав международного программного комитета вошли д.б.н., проф. А.А. Болдырев (Москва, Россия), д.б.н., проф. В.В. Володин (г. Сыктывкар, Россия), докт. Л. Дайнан (г. Веймут, Великобритания), проф. Р. Лафон (Париж, Франция), д.м.н., проф. С.И. Матаев (г. Тюмень, Россия), докт. И. Мартинуссен (г. Тромсе, Норвегия), д.б.н., проф. А.М. Носов (Москва, Россия), д.фарм.н., проф. В.Н. Сыров (г. Ташкент, Узбекистан).

В совещании приняли участие 49 человек из Бразилии, Великобритании, Венгрии, Норвегии, Республики Беларусь, Республики Узбекистан, России, Франции и Чехии. С устными докладами выступили 19 человек, со стендовыми – 12.

В ходе совещания планировалось: 1) обсудить состояние изученности фитоэкдистероидов в аспектах их распространения в мировой флоре, их структурного многообразия, биосинтеза в растениях и культурах растительных клеток, химической модификации;

2) ознакомиться с фармакологическими данными по действию фитоэкдистероидов на теплокровных животных и человека. Оценить перспективы использования фитоэкдистероидов в медицине; 3) определить возможные направления международного сотрудничества.

На первой научной сессии с докладами выступили д.б.н. В.А. Мартыненко (ИБ Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар), которая ознакомила участников совещания с ботаническими и географическими характеристиками территории Республики Коми, проф. Р. Лафон из Университета Пьера и Марии Кюри (Париж, Франция) «Современные данные о механизме действия фитоэкдистероидов на млекопитающих» и докт. Л. Дайнан (Великобритания) «Экдистероиды: экологические функции».

На второй сессии были заслушаны доклады, посвященные фармакологическим эффектам фитоэкдистероидов. Большую группу докладов представили участники из Института биологии Коми НЦ УрО РАН по результатам исследований, проведенных под руководством проф. В.В. Володина совместно с Институтом физиологии Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкарским государственным университетом и межрегиональным центром «Адаптоген». Докладчики д.б.н. А.Г. Кудяшева, д.б.н. В.И. Прошева, доц. Н.А. Мойсенко и другие продемонстрировали противолучевое, гематопротекторное, стресс-протекторное, нейротропное, противодиабетическое и гиполлипидемическое действие экдистероидсодержащей субстанции Серпистен, раз-



Сопредседатели совещания проф. Р. Лафон (слева) и проф. В. Володин.



Начало научной сессии.



Участники Второго международного совещания по фитозкдистероидам.

работанной коллективом лаборатории биохимии и биотехнологии Института биологии Коми НЦ УрО РАН. Д.б.н. Л.И. Андреевой (Военно-медицинская академия, Санкт-Петербург) впервые показана возможность использования белков теплового шока в качестве биохимических маркеров для оценки адаптогенного действия фитозкдистероидов. Большой интерес вызвали доклады проф. В.Н. Сырова, одного из создателей первого экдистероидсодержащего препарата Экдистен, д.б.н. З.А. Хушбаковой (оба из Института химии растительных веществ АН РУз, г. Ташкент) и д.м.н. С.О. Осиповой (НИИ эпидемиологии, микробиологии и инфекционных заболеваний МЗ РУз). С обзором фармакологических эффектов выступил один из старейших исследователей фитозкдистероидов проф. К. Слама (Института энтомологии, Чехия). Привлек внимание стендовый доклад А. Хуняди (Университет Шегеда, Венгрия) «Производные экдистероидов как новые модуляторы устойчивости опухолевых клеток к лекарствам».

Третья научная сессия была посвящена биологии и экологии экди-

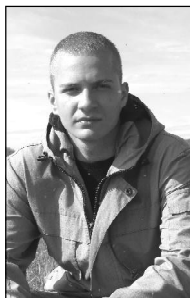
стероидсодержащих растений. К.б.н. С.Н. Пестов (Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар) выступил с докладом «Консортивные связи серпухи венценосной». Доктор Р. Пьедаж (Институт по изучению Амазонки, Бразилия) сделал доклад «Экдистероиды растений Амазонии». Вопросам биосинтеза экдистероидов в культурах растительных клеток был посвящен доклад проф. А.М. Носова (Институт физиологии растений, Москва). Химической модификации фитозкдистероидов были посвящены доклады к.х.н. Р. Савченко (Институт нефтехимии и катализа РАН, г. Уфа) «Синтез и антиоксидантная активность бис-аддукта 20-гидроксизекдизона с аналогом витамина Е» и аспирантки Г. Жилицкой (Институт биоорганической химии НАН Республики Беларусь, г. Минск) «Синтез и трансформации изоксазолиновых производных экдистероидов». Большой интерес вызвала лекция проф. Ж.-П. Жиро (Университет Рене Декарта, Франция) о возможностях метода ядерного магнитного резонанса в исследовании структуры фитозкдистероидов и их взаимодействии с рецепторами.

В заключительной дискуссии совещания была отмечена необходимость поиска новых экдистероидсодержащих видов растений в ранее не исследованных флорах, определена перспектива дальнейшего исследования регуляции биосинтеза экдистероидов в клеточных культурах растений в качестве альтернативного подхода к получению этих соединений биотехнологическим путем. Выявленные фармакологические эффекты фитозкдистероидов указывают на перспективу их использования в восстановительной и спортивной медицине в качестве новых адаптогенных средств, а также средств для регуляции прежде всего липидного и углеводного обмена. Разработка и внедрение экдистероидсодержащих биологически активных добавок к пище, как отметили проф. С.И. Матаев и проф. В.В. Володин, имеют неплохую перспективу для коррекции адаптивных реакций человека в условиях проживания и трудовой деятельности на Севере. В то же время обращено внимание на проведение дополнительных исследований фитозкдистероидов на предмет их безвредности для человека.

НАШИ ПОЗДРАВЛЕНИЯ

Николаю Вячеславовичу Матистову с присуждением премии Правительства Республики Коми для аспирантов и докторантов в области научных исследований в 2011 г. за серию научных работ «Биологически активные вещества и микронутриенты в представителях рода Лук (*Allium*), произрастающих на территории Республики Коми!»

Распоряжение Правительства Республики Коми от 18 ноября 2011 года № 474-р



**МЕЖДУНАРОДНЫЙ СЕМИНАР УЧЕНЫХ РОССИИ И СТРАН АСЕАН
«ПРИМЕНЕНИЕ СОВРЕМЕННЫХ БИОТЕХНОЛОГИЙ В ПИЩЕВОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ»
(г. Ханой, Вьетнам)**

д.б.н. В. Володин

В рамках расширения диалогового партнерства Россия–АСЕАН (Ассоциация государств Юго-Восточной Азии) министерство образования и науки России 15-17 ноября 2010 г. организовало в г. Ханой (Вьетнам) на базе российско-вьетнамского Тропического научно-исследовательского технологического центра международный семинар «Применение современных биотехнологий в пищевой промышленности». Инициаторами международного семинара также являлись Федеральное агентство по науке и инновациям, подкомитет АСЕАН по биотехнологии секретариата АСЕАН при поддержке нескольких российских министерств (иностраннных дел, финансов, экономического развития и торговли, здравоохранения и социального развития) и Роспотребнадзора.

В ходе семинара были обсуждены следующие вопросы: состояние проводимых в России исследований в сфере разработки и применения современных биотехнологий в пищевой промышленности; развитие кооперации между российскими учеными и учеными государств – членов АСЕАН; организация научно-технологического партнерства.

Открыл семинар А.Г. Ковтун, посол России во Вьетнаме. С приветственной речью перед участниками семинара выступили генерал-майор, докт. Trinh Quoc Khanh, директор Тропического центра, а также руководители делегаций России и стран АСЕАН. На совещании выступили 24 участника из России и стран АСЕАН.

Наибольший интерес представили следующие доклады: «Современный российско-вьетнамский Тропический научно-исследовательский и технологический центр: история и современность» (Чинь Куок Кхань, А.Н. Кузнецов), «Применение естественного антиоксиданта дигидрокверцетина в пищевой промышленности» (А.Б. Гаврилов, Е.А. Пермяков), «Вопросы оценки безопасности и анализа содержания инженерных наночастиц в пище» (К.И. Попов, И.В. Гмошинский, О.В. Краснаярова и др.), «Пробиотики, иммобилизованные на биотрансформированном фитоносителе – перспективное направ-

ление для получения продуктов здорового питания» (Н.А. Ушакова, Д.С. Павлов). Результаты исследований, представленные В.В. Володиным в докладе «Экдистероидсодержащие растения – источники новых адаптогенных биологически активных пищевых добавок», вызвали интерес участников, особенно с вьетнамской и индонезийской сторон.

По итогам семинара принята резолюция, в которой было отмечено, что применение современных биотехнологий в пищевой промышленности является актуальным и перспективным направлением в решении проблем обеспечения качественным питанием населения Земного шара и рациональным использованием имеющегося на Земле потенциала пищевого сырья животного и растительного происхождения с использованием новых ферментных препаратов, продуктов микробиотехнологического синтеза, новых видов биологически активных веществ, разработки более рентабельных и экологически безопасных технологических процессов, позволяющих создавать не только высококачественную традиционную пищевую продукцию, но и инновационные продукты функционального и лечебного питания для целевых групп населения. В резолюции была признана необходимость расширения сотрудничества между Россией и АСЕАН в области пищевой биотехнологии, выработки согласованных предложений по стратегическим проектам сотрудничества, информационного и организационного взаимодействия при разработке национальных и межнациональных программ, проведения ряда согласованных действий по привлечению бюджетных и внебюджетных источников финансирования программ и проектов в области создания социально значимых пищевых продуктов нового поколения. На ближайшие годы было предложено рассмотреть целесообразность проведения семинаров и конференций по направлениям нанобиотехнологии и промышленной биотехнологии, применению биотехнологий в сельском хозяйстве и проблемам биобезопасности.



Здание российско-вьетнамского Тропического научно-исследовательского технологического центра в Ханое.



На одном из заседаний международного семинара.



ВЫСТАВКИ



ПЯТАЯ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКАЯ ВЫСТАВКА-ЯРМАРКА «РОСБИОТЕХ-2011»

Ю. Хозяинова,

ведущий инженер по патентно-лицензионной работе президиума Коми НЦ УрО РАН

В период с 31 октября по 2 ноября 2011 г. в Москве в ЦВК «Экспоцентр» состоялась юбилейная биотехнологическая выставка-ярмарка «РосБиоТех-2011». Организаторами выставки и ее деловой программы были Ассоциация «Росмедпром», Международный фонд биотехнологий им. И.Н. Блохиной, Некоммерческое партнерство Консорциум «Биомак», Международный экологический фонд, МГУ им. М.В. Ломоносова и Некоммерческое партнерство «Инноватика». Цель выставки – установление научного, инновационного и делового партнерства, направленного на продвижение на рынок биотехнологической продукции нового поколения, а также выявление лучших инновационных проектов в области биотехнологии и поиск инвесторов.

В рамках выставки были проведены научно-технические конференции по вопросам геронтологии и развития фармацевтической отрасли, несколько круглых столов и семинаров по проблемам и задачам современной биотехнологии. На открытии Ю.Т. Калинин, председатель оргкомитета выставки-ярмарки «РосБиоТех-2011», отметил, что мероприятие проходит на фоне широкого обсуждения концепции развития страны до 2020 г., в реализации которой биологическим наукам отводится большая роль. Имен-

но с биотехнологиями сегодня специалисты связывают успехи, достигнутые в решении проблем здравоохранения, питания, экологии и энергетики.

В выставке приняли участие более 65 организаций, в том числе Академия наук Республики Саха, Алтайский государственный университет, Ассоциация российских фармацевтических производителей, биологический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова, Дальневосточный федеральный университет, Сибирское отделение РАН, Казанский государственный технологический университет, Московская ассоциация предпринимателей, Томский государственный университет, Коми НЦ УрО РАН и др.

Впервые на выставке «РосБиоТех» была представлена коллективная экспозиция инновационных разработок в области биотехнологии Институт биологии и физиологии Коми НЦ УрО РАН. В рамках деловой программы на научно-практическом семинаре «Инновационные биотехнологии в экологии, сельском хозяйстве и медицине» были представлены устные доклады:

– Перспективы использования экдистероидсодержащих растений в составе новых адаптогенных средств и биологически активных добавок к пище (С.О. Володина, В.В. Володин);

– Восстановление загрязненных нефтью земель на Крайнем Севере. Теоретические основы и практические приемы (М.Ю. Маркарова, Т.Н. Щемелинина);

– Генетика долголетия (А.А. Москалев, М.В. Шапошников, И.О. Вележанинов, Е.Н. Плюснина).

По итогам конкурсной программы инновационных разработок пять разработок Коми НЦ УрО РАН были награждены золотыми и серебряными медалями оргкомитета выставки:

– Восстановление загрязненных нефтью земель на Крайнем Севере. Теоретические основы и практические приемы (Институт биологии Коми НЦ УрО РАН) – золотая медаль и диплом;

– Биотехнология пектиназ (Институт физиологии Коми НЦ УрО РАН) – золотая медаль и диплом;

– Фитоэкдистероиды – новые растительные адаптогены (Институт биологии Коми НЦ УрО РАН) – серебряная медаль и диплом;

– Способ получения из растительного сырья галактуронанов, обладающих противовоспалительным действием (Институт физиологии Коми НЦ УрО РАН) – серебряная медаль и диплом;

– Биологически активная добавка «Витабаланс-Мультивит» (Институт физиологии Коми НЦ УрО РАН) – серебряная медаль и диплом.

НАШИ ПОЗДРАВЛЕНИЯ

Лаборатории биохимии и биотехнологии с награждением золотой и серебряной медалями Пятой биотехнологической выставки-ярмарки РосБиоТех-2011!

Золотой медалью награждена разработка «Восстановление загрязненных нефтью земель на Крайнем Севере. Теоретические основы и практические приемы». Руководитель группы разработчиков – к.б.н., с.н.с. **Мария Юрьевна Маркарова**.

Серебряной медалью награждена разработка «Фитоэкдистероиды – новые растительные адаптогены». Руководитель группы разработчиков – д.б.н., заведующий лабораторией биохимии и биотехнологии, проф. **Владимир Витальевич Володин**.

Желаем дальнейших творческих успехов!

