МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«ВСЕРОССИЙСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
ЛЕКАРСТВЕННЫХ И АРОМАТИЧЕСКИХ РАСТЕНИЙ»
(ФГБНУ ВИЛАР)

СБОРНИК МАТЕРИАЛОВ

ЮБИЛЕЙНОЙ МЕЖДУНАРОДНОЙ НАУЧНОЙ КОНФЕРЕНЦИИ

«90 ЛЕТ – ОТ РАСТЕНИЯ ДО ЛЕКАРСТВЕННОГО ПРЕПАРАТА: ДОСТИЖЕНИЯ И ПЕРСПЕКТИВЫ»

10 – 11 июня 2021 г.

Москва, 2021

ISBN 978-5-87019-100-3
УДК: 633.82: 615.2: 615.4: 615.07
ББК: 42: 52.8: 24.2: 24.4

Запись конференции

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Сидельников Николай Иванович – директор ФГБНУ ВИЛАР, академик РАН.
Мизина Прасковья Георгиевна – заместитель директора ФГБНУ ВИЛАР по научной работе, доктор фармацевтических наук, профессор.
Морозов Александр Иванович – заместитель директора ФГБНУ ВИЛАР, доктор сельскохозяйственных наук.
Краснов Виталий Викторович – руководитель Научно-исследовательского и учебно-методического центра биомедицинских технологий, доктор биологических наук
Сайбель Ольга Леонидовна – руководитель Центра химии и фармацевтической технологии, кандидат фармацевтических наук.
Лупанова Ирина Александровна – руководитель Центра доклинических исследований, кандидат биологических наук.
Цицилин Андрей Николаевич – заведующий лабораторией Ботанический сад, кандидат биологических наук.
Крепкова Любовь Вениаминовна – заведующий отделом токсикологии, кандидат биологических наук.
Семкина Ольга Александровна – заведующий научно-организационным отделом, Ученый секретарь, кандидат фармацевтических наук
Балеев Дмитрий Николаевич – заведующий лабораторией атомарно – молекулярной биорегуляции и селекции, кандидат сельскохозяйственных наук.
Савин Павел Сергеевич – заведующий лаборатории биотехнологии, кандидат биологических наук.
Фатеева Татьяна Владимировна – заведующий лабораторией микробиологических исследований.

Ответственные секретари
Гуленков Александр Сергеевич – и.о. председателя совета молодых учёных ФГБНУ ВИЛАР, старший научный сотрудник отдела химии природных соединений, кандидат фармацевтических наук.
Борисенко Елена Валерьевна – ведущий научный сотрудник научно-организационного отдела, кандидат ветеринарных наук.

Верстка сборника
Гуленков Александр Сергеевич – и.о. председателя совета молодых учёных ФГБНУ ВИЛАР, старший научный сотрудник отдела химии природных соединений, кандидат фармацевтических наук.

Юбилейная Международная научная конференция «90 лет – от растения до лекарственного препарата: достижения и перспективы»

Сборник научных трудов, М., ФГБНУ ВИЛАР, 2021 г.

Материалы публикуются в авторской редакции

ISBN 978-5-87019-100-3

© Коллектив авторов, 2021

ЭФФЕКТИВНО ИЗБАВЛЯЕМСЯ ОТ КАШЛЯ

В линейке лекарственных сиропов, выпускаемых ЗАО «Вифитех», очередное пополнение. Наш ассортимент дополнил еще один эффективный и хорошо известный препарат – ПЛЮЩА сироп.

Густой экстракт листьев растения *плющ обыкновенный (Hedera helix L., семейства аралиевые)* содержит сложный комплекс биологически активных веществ, в частности сапониновые гликозиды, которые придают ему ярко выраженные отхаркивающие и антибактериальные свойства.

Сироп плюща в комплексной терапии острых и хронических воспалительных заболеваний дыхательных путей оказывает отхаркивающее, муколитическое и бронхоспазмолитическое действие, стимулируя бронхиальную перистальтику и способствуя разжижению и продуктивному отхождению мокроты.

Препарат с доказанной эффективностью и безопасностью назначают даже грудным детям в возрасте до 1 года в разбавленном небольшим количеством воды виде.

Наряду со стандартным стеклянным флаконом 100 мл разработана и внедрена принципиально новая форма выпуска препарата – одноразовые фольгированные стики объемом 2,5 мл № 30 и 5 мл № 30.

Благодаря новой удобной упаковке, теперь легко можно отмерить необходимую разовую дозу приема сиропа: для детей до 10 лет - 2,5 мл, для взрослых и детей старше 10 лет - 5 мл.

ВИФИТЕХ

Более подробная информация о препарате на сайте https://vifiteh.ru/, а также по телефонам +7 (495) 716 15 90 или +7 (495) 716 15 81

АЛЛАФОРТЕ®

таблетки

новая пролонгированная форма лаппаконитина гидробромида с уменьшенным количеством побочных неврологических действий

ПОКАЗАНИЯ:

- наджелудочковая и желудочковая экстрасистолия;
- пароксизмы мерцания и трепетания предсердий;
- пароксизмальная наджелудочковая тахикардия, в том числе и при синдроме Вольфа-Паркинсона-Уайта;
- пароксизмальная желудочковая тахикардия.

АО «Фармцентр ВИЛАР»

123458, г. Москва, ул. Маршала Прошлякова, д.30

+7 (499) 519-30-88; www.allaforte.ru; www.vilar.su

Здоровье в гармонии с природой®

Биоцевтика

НАТУРАЛЬНЫЕ РАСТИТЕЛЬНЫЕ ИНГРЕДИЕНТЫ
CO2 - ЭКСТРАКТЫ ЛРС

www.biozevtika.ru

50%
Доля рынка CO2 - экстрактов в России

75%
Доля рынка CO2 - экстрактов в России по технологии "Холодной" экстракции

Эвалар · Russo Chemie · Индивидуальные правила · Очаково · Aznar · Свято-Троицкая Сергиева Лавра · Siberian Wellness · Nefis cosmetics · Дека

Половинкин Дмитрий Валентинович
Учредитель

Голубев Александр Олегович
Генеральный директор

Вьюков Александр Александрович
Руководитель R&D

УНИКАЛЬНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ - ВО БЛАГО ЛЮДЕЙ!

Фармацевтическая Производственная Компания

ФАРМВИЛАР

Тел.: +7 (499) 372-13-23
www.pharmvilar.ru www.prostanorm.ru

ПростаНорм®

Экстракт жидкий 100 мл, таблетки 0,2 г № 30 и № 60

РУ № Р 002282/01
РУ № Р 002282/02

Лекарственное средство растительного происхождения для лечения и профилактики хронического простатита с выраженным противовоспалительным, анальгетическим, бактериостатическим, простатотропным и нормализующим диурез действием.

Показания к применению: хронический простатит, бесплодие (патозооспермия) вследствие хронического простатита; противовоспалительное и нормализующее мочеиспускание средство.

Состав: трава зверобоя, трава золотарника, корни солодки, корневища с корнями эхинацеи.

Фито Ново-Сед®

Экстракт жидкий 100 мл

РУ № ЛС 000030

Успокаивающее лекарственное средство растительного происхождения. Избавляет от тревоги, беспокойства, раздражительности и страха. Улучшает мозговое кровообращение и работу сердечно-сосудистой системы. Повышает устойчивость организма к физическим нагрузкам. Не вызывает сонливости и привыкания, способствует концентрации внимания, не нарушает координацию движений. Улучшает вхождение в сон после трудовых будней, нормализует структуру сна.

Показания к применению: невротические реакции, сопровождающиеся раздражительностью, бессонницей, тревогой, страхом, головной болью.

Состав: трава эхинацеи, трава мелиссы, плоды шиповника, плоды боярышника, трава пустырника.

Фитофрон®

таблетки, покрытые оболочкой, № 60

РУ ЛП-005333

Диуретическое средство растительного происхождения

Показания к применению: применяется в комплексной терапии при лечении хронических инфекций мочевого пузыря (цистита) и почек (пиелонефрита), при неинфекционных хронических воспалениях почек (гломерулонефрит, интерстициальный нефрит), в качестве средства, препятствующего образованию мочевых камней (также после удаления мочевых камней).

Состав: активный компонент: Фитофрон®, сбор-порошок из лекарственного растительного сырья: золототысячника травы, любистока лекарственного корней, розмарина лекарственного листьев (1:1:1), с содержанием суммы полифенолов в пересчете на пирогаллол не менее 0,74 % – 54,00 мг.

Триалгин®

Таблетки, № 20

РУ ЛП-002856

Мощное болеутоляющее средство.

Показания к применению: болевой синдром неясного генеза: головная, зубная боль, боли в мышцах и суставах, невралгия, при болезненных менструациях, при радикулите. В качестве симптоматического средства для снижения повышенной температуры тела и ослабления симптомов "недомогания" (головная боль, ломота) при "простудных" заболеваниях.

Состав: кофеин, метамизол натрия, фенобарбитал.

ЭКО-ТЕРБИН

ЭКОлаб

ПРОТИВОГРИБКОВОЕ СРЕДСТВО ШИРОКОГО СПЕКТРА ДЕЙСТВИЯ

- ПРИМЕНЯЕТСЯ БЕСКОНТАКТНО ОДИН РАЗ В СУТКИ
- ОДНА УПАКОВКА НА КУРС ЛЕЧЕНИЯ
- БЕСЦВЕТНЫЙ, НЕ ОСТАВЛЯЕТ ПЯТЕН И СЛЕДОВ НА ОДЕЖДЕ
- ПОДХОДИТ ДЛЯ ПРОФИЛАКТИЧЕСКОЙ ОБРАБОТКИ ОБУВИ
- ИСПОЛЬЗУЕТСЯ ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ ПОСЛЕ ПОСЕЩЕНИЯ БАССЕЙНОВ, БАНЬ, SPA-КОМПЛЕКСОВ

СПРАШИВАЙТЕ В АПТЕКАХ ГОРОДА И НА САЙТЕ АРТЕКА.RU

ИМЕЮТСЯ ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ.
ПЕРЕД ПРИМЕНЕНИЕМ ПРОКОНСУЛЬТИРУЙТЕСЬ СО СПЕЦИАЛИСТОМ.

Оглавление

ЛЕКАРСТВЕННОЕ РАСТЕНИЕВЕДЕНИЕ 13

ОХРАНЯЕМЫЕ РАСТЕНИЯ МОСКВЫ И МОСКОВСКОЙ ОБЛАСТИ НА УЧАСТКЕ ФЛОРЫ ЕВРОПЕЙСКОЙ ЧАСТИ СНГ БОТАНИЧЕСКОГО САДА ВИЛАР
Бабаева Е. Ю. 13

OCIMUM BASILICUM L. В МИРОВОЙ КУЛЬТУРЕ (КРАТКИЙ ОБЗОР)
Величко К. А., Попов И. В. 20

НЕКОТОРЫЕ ВОПРОСЫ ВОСПРОИЗВОДСТВА КОЛЛЕКЦИИ СОРТОВ *OENOTHERA BIENNIS* L. И СОХРАНЕНИЯ ПОСЕВНЫХ КАЧЕСТВ ИХ СЕМЯН
Тоцкая С. А., Грязнов М. Ю. 29

ВИДЫ РОДА *CITRUS* В КОЛЛЕКЦИИ ТРОПИЧЕСКИХ И СУБТРОПИЧЕСКИХ РАСТЕНИЙ БОТАНИЧЕСКОГО САДА ВИЛАР
Запова И. О., Меркулова Н. Б. 34

КОЛЛЕКЦИЯ ДУРМАНА ОБЫКНОВЕННОГО (*DATURA STRAMONIUM* L.) ФГБНУ ВИЛАР И ПЕРСПЕКТИВЫ ЕЁ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В СЕЛЕКЦИИ
Тоцкая С. А., Грязнов М. Ю. 38

ФИТОМАССА *FILIPENDULA ULMARIA* (L.) MAXIM. В РАСТИТЕЛЬНЫХ СООБЩЕСТВАХ ЮЖНОЙ ТАЙГИ КИРОВСКОЙ ОБЛАСТИ
Егорова Н. Ю., Сулейманова В. Н., Ярославцев А. В. 45

ПЕРВЫЙ ОТЕЧЕСТВЕННЫЙ СОРТ *ACHILLEA FILIPENDULINA* LAM. ЗЛАТОСЛАВ
Грязнов М. Ю., Тоцкая С. А., Савченко О. М. 51

AFRAMOMUM MELEGUETA – ПЕРСПЕКТИВНАЯ КУЛЬТУРА В ГВИНЕЕ
Силла А., Маланкина Е. Л. 56

ФОНАРИК - НОВЫЙ СОРТ *OENOTHERA* L.
Грязнов М. Ю., Тоцкая С. А., Савченко О. М. 63

СОРТОВАЯ СПЕЦИФИКА ЭКЗОГЕННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ НА НОГОТКИ ЛЕКАРСТВЕННЫЕ (*CALENDULA OFFICINALIS* L.)
Хазиева Ф. М., Басалаева И. В., Ковалев Н. И. 68

ОСОБЕННОСТИ СОВРЕМЕННЫХ СИСТЕМ ЗАЩИТЫ ЛЕКАРСТВЕННЫХ КУЛЬТУР (ОБЗОР)
Ковалев Н. И. 74

ФИТОПАТОЛОГИЯ (МИКОЗЫ) ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ В МНОГОЛЕТНИХ КОЛЛЕКЦИОННЫХ ПОСАДКАХ
Ларина Г. Е., Серая Л. Г., Голимбовская С. А., Петровнина Т. А., Калембет И.Н., Полякова Н. Н., Гудкова Н. Ю., Быкова О. А. 83

ПРОИЗВОДСТВО ОРГАНИЧЕСКОЙ ПРОДУКЦИИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ: ПЕРСПЕКТИВЫ И ПРОБЛЕМЫ
Маланкина Е. Л. 93

ОПЫТ ОПРЕДЕЛЕНИЯ БИОМАССЫ И СОДЕРЖАНИЯ ВТОРИЧНЫХ МЕТАБОЛИТОВ В РАСТИТЕЛЬНОМ СЫРЬЕ *EVERNIA PRUNASTRI*
Малахова К. В. 98

ОЛЬХА ВОЛОСИСТАЯ НА ДАЛЬНЕМ ВОСТОКЕ – ЛЕКАРСТВЕННОЕ ЗНАЧЕНИЕ, ПРОДУКТИВНОСТЬ, ЗАПАСЫ СЫРЬЯ
Нечаев А.А. 105

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ПРЕПАРАТЫ В ЛЕКАРСТВЕННОМ РАСТЕНИЕВОДСТВЕ
Жаркова Е. К., Ванькова А. А., Дренова Н. В. 112

ИЗУЧЕНИЕ АНАТОМИЧЕСКОГО СТРОЕНИЯ НЕКОТОРЫХ ВИДОВ ПОЛЫНЕЙ ЦЕНТРАЛЬНОГО КАЗАХСТАНА
Ермеккызы А., Габдуллин Е. М., Шаймерденова Ж. Р., Адекенов С. М. 119

ВЛИЯНИЕ МЕТЕОУСЛОВИЙ НА НАКОПЛЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ В ТРАВЕ МАНЖЕТКИ МЯГКОЙ (*ALCHEMILLA MOLLIS*)
Бояршинов В. Д., Зорина Е. В. 126

РАЗРАБОТКА МЕТОДОВ КРИОКОНСЕРВАЦИИ СЕМЕННОГО МАТЕРИАЛА ПОДОРОЖНИКА СРЕДНЕГО
Ишмуратова М. Ю., Тлеукенова С.У. 131

СОСТОЯНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ СЕЛЕКЦИИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ НА ДАЛЬНЕМ ВОСТОКЕ
Живчикова Р. И., Живчиков А. И., Волошина Т. А. 136

ORTHOSIPHON ARISTATUS (BLUME) MIQ. В КОЛЛЕКЦИИ НИКИТСКОГО БОТАНИЧЕСКОГО САДА
Коростылев А. А., Логвиненко Л. А., Шевчук О. М. 146

ЛЕКАРСТВЕННЫЕ РАСТЕНИЯ В КАЧЕСТВЕ ИСТОЧНИКОВ ГЕРОПРОТЕКТОРОВ
Кухарева Л. В., Попов Е. Г., Гиль Т. В., Кот А. А. 152

ВЛИЯНИЕ ЭКОЛОГИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА МОРФОЛОГИЧЕСКУЮ ИЗМЕНЧИВОСТЬ И БИОРИТМЫ *CICHORIUM INTYBUS* L. В ЛУГОВЫХ АССОЦИАЦИЯХ НИЖЕГОРОДСКОГО МЕГАПОЛИСА
Невидомов А. М., Невидомова Е. В., Невидомова М. А. 161

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ГЕРБИЦИДА ГАМБИТ (ПРОМЕТРИН) В ПОСЕВАХ РАСТОРОПШИ ПЯТНИСТОЙ (*SILYBUM MARIANUM* (L.) GAERTN.)
Якимович Е. А., Шкляревская О. А. 172

ИЗУЧЕНИЕ БЕЛКОВ И УГЛЕВОДОВ БУТОНОВ И НЕЗРЕЛЫХ ПЛОДОВ КАПЕРСА КОЛЮЧЕГО, ПРОИЗРАСТАЮЩЕГО В УЗБЕКИСТАНЕ И ИХ БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ
Рахимова Ш.Х., Саноев З.И., Жауынбаева К.С. Межлумян Л.Г., Рахманбердыева Р.К., Садиков А.З., Сагдуллаев Ш.Ш. 178

ФЕНОЛОГИЧЕСКИЕ НАБЛЮДЕНИЯ И СРОКИ СОЗРЕВАНИЯ ШИШЕК, ШИШКОЯГОД ХВОЙНЫХ ПОРОД ПАРКА “ДЕНДРАРИЙ”, Г. СОЧИ
Пастухова И. С. 185

МЕТАБОЛОМИКА БИООБЪЕКТОВ 190

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ СОСТАВА ЭКСТРАКТОВ ЦВЕТКОВ БЕССМЕРТНИКА ПЕСЧАНОГО В РАЗЛИЧНЫЕ ФЕНОЛОГИЧЕСКИЕ ФАЗЫ
Адамцевич Н. Ю., Феськова Е. В., Титок В. В. 190

ИЗУЧЕНИЕ ФЛАВОНОИДОВ ЦВЕТКОВ КАШТАНА КОНСКОГО ОБЫКНОВЕННОГО
Дунилин А. Д., Чистякова А. С. 196

СРАВНИТЕЛЬНАЯ УСТОЙЧИВОСТЬ АНТОЦИАНОВ ИЗ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ С РАЗНОЙ ОКРАСКОЙ
Колдаев В. М. 201

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ СУММЫ АМИНОКИСЛОТ В *APIS MELLIFICA* НАСТОЙКЕ ГОМЕОПАТИЧЕСКОЙ МАТРИЧНОЙ
Копытько Я. Ф. 207

ТСХ АНАЛИЗ ГОРЦА ЩАВЕЛЕЛИСТНОГО ТРАВЫ
Матвеева М. В., Волкова П. С., Чистякова А. С., Гудкова А. А. 213

ИССЛЕДОВАНИЕ КОЛИЧЕСТВЕННОГО СОДЕРЖАНИЯ ДУБИЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ В ЛИСТЬЯХ РЯБИНЫ ЧЕРНОПЛОДНОЙ РАЗНЫХ СОРТОВ
Пугачева О. В., Саурина Н. Н., Брежнева Т. А., Сливкин А. И. 218

ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ СУШКИ НА СОДЕРЖАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ В НЕКОТОРЫХ ВИДАХ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ
Скляревская Н. В., Генералова Ю. Э., Бескостая М. Д. 222

БЫСТРЫЙ ЯМР-СКРИНИНГ СОДЕРЖАНИЯ ФЛАВОНОИДОВ В РАСТИТЕЛЬНОМ СЫРЬЕ
Шеремета А. В., Васильев В.Г., Ивлев В. А., Калабин Г. А. 229

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА НАДЗЕМНЫХ ОРГАНОВ СИРЕНИ ОБЫКНОВЕННОЙ (*SYRINGA VULGARIS* L.)
Куркин В. А., Рязанова Т. К., Серебрякова А. Д. 237

КОНЦЕПТУАЛЬНЫЕ АСПЕКТЫ СТАНДАРТИЗАЦИИ КОРНЕВИЩ И КОРНЕЙ РОДИОЛЫ РОЗОВОЙ (*RHODIOLA ROSEA* L.)
Куркин В. А., Рязанова Т. К. 245

ПРИМЕНЕНИЕ КИСЛОТНОГО ГИДРОЛИЗА ПРИ ИДЕНТИФИКАЦИИ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ МЕТОДОМ СВЭЖХ-УФ НА ПРИМЕРЕ СВИДИНЫ ШЕЛКОВИСТОЙ (*CORNUS SERICEA* L.)
Аксенов А. А., Адамов Г. В., Кроль Т. А. 250

БИОТЕХНОЛОГИЯ В РАСТЕНИЕВОДСТВЕ, ФАРМАЦИИ И МЕДИЦИНЕ 257

КРАТКОВРЕМЕННОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ ВЫСОКОЙ ТЕМПЕРАТУРЫ НА *INVITRO* КУЛЬТУРУ ЧАЙНОГО РАСТЕНИЯ (*CAMELLIASINENSIS*)
Аксенова М. А., Нечаева Т. Л., Живухина Е. А., Загоскина Н. В. 257

КЛОНАЛЬНОЕ МИКРОРАЗМНОЖЕНИЕ БЕССМЕРТНИКА ПЕСЧАНОГО *HELICHRYSUM ARENARIUM* (L.) MOENCH
Мартиросян Ю. Ц., Коновалова М. А., Мартиросян В. В., Овчинникова В. Н. 263

ПРИОРИТЕТНЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ ИССЛЕДОВАНИЙ РАДИАЦИОННО-ХИМИЧЕСКИХ ВОЗДЕЙСТВИЙ НА БИОТКАНИ ДЛЯ МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИХ ПРИЛОЖЕНИЙ
Матвейчук И. В., Розанов В. В., Панин В. П. 273

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ *SPIRAEA BETULIFOLIA* SUBSP. *AEMILIANA* (ROSACEAE) *IN VIVO* И *IN VITRO*
Костикова В. А., Мурасева Д. С. 283

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КОЛЛАГЕНОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ГРИБОВ, ОТНОСЯЩИХСЯ К РАЗЛИЧНЫМ РОДАМ
Никитина З. К., Гордонова И. К., Насибов Э. М. 293

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ВИТАМИННО-МИНЕРАЛЬНОГО КОМПЛЕКСА И БИОПРЕПАРАТОВ ПРИ КУЛЬТИВИРОВАНИИ КНЯЖЕНИКИ АРКТИЧЕСКОЙ (*RUBUS ARCTICUS* L.)
Макаров С. С., Чудецкий А. И. 301

ПОЛУЧЕНИЕ БОРОДАТЫХ КОРНЕЙ У *ARTEMISIA ANNUA* L
Тимина О. О., Тимин О. Ю., Степанова А. Ю., Щука Т. В. 307

ВЛИЯНИЕ ГЕНОТИПА, СОСТАВА ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ И ТИПА ЭКСПЛАНТА НА ИНДУКЦИЮ КАЛЛУСО- И МОРФОГЕНЕЗА У *MELISSA OFFICINALIS* L.
Якимова О. В., Егорова Н. А., Коваленко М. С. 314

ПОИСК НОВЫХ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ И РАЗРАБОТКА НА ИХ ОСНОВЕ НОВЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ 322

СПЕКТР ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ И БАД ПРЕДСТАВЛЕННЫХ КОМПАНИЕЙ ЗАО «ЭКОлаб» НА ОТЕЧЕСТВЕННОМ РЫНКЕ
Рогожникова Е. П. 322

АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ КЛАССИФИКАЦИИ И ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОГО АНАЛИЗА ТАНИНОВ В ЛЕКАРСТВЕННОМ РАСТИТЕЛЬНОМ СЫРЬЕ
Чуб С. К., Дайронас Ж. В., Зилфикаров И. Н. 328

СОДЕРЖАНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ПЫЛЬЦЕ *PINUS SYLVESTRIS, PINUS SIBIRICA, PINUS PUMILA*
Эрдынеева.С. А., Ширеторова В. Г., Раднаева Л. Д. 335

МЕЖПОПУЛЯЦИОННЫЕ РАЗЛИЧИЯ СОДЕРЖАНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ ПЛОДОВ МОРОШКИ ПРИЗЕМИСТОЙ (*RUBUS CHAMAEMORUS* L.)
Страх Я. Л., Игнатовец О. С., Леонтьев В. Н. 341

ACETYLCHOLINESTERASE INHIBITORY ACTIVITY OF ARTSAKH TRADITIONAL ANTIDIABETIC REMEDY
Sukiasyan L. M., Danielyan M. H., Hovhannisyan L.E., BabakhanyanM. A., Simonyan K. V.:, Isoyan A. S., Avetisyan L. G., Lorikyan A. G., Chavushyan V. A. 346

ОБОСНОВАНИЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ СЫРЬЯ *SESBANIA SESBAN* (L.) В КАЧЕСТВЕ ПЕРСПЕКТИВНОГО ИСТОЧНИКА БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ
Ал Зангилиги М. М. А., Мусса Рамадан, Александрова Е. Ю., Суслина С.Н. 354

АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ ЭКСТРАКТОВ GNAPHALIUM ULIGINOSUM L. (ASTERACEAE) В ОТНОШЕНИИ ЧЕЛОВЕЧЕСКИХ ПАТОГЕНОВ И ФИТОПАТОГЕНОВ
Белов Т. Г., Теренжев Д. А., Никитин Е. Н., Рахмаева А. М., Синяшин К. О. 361

СРАВНИТЕЛЬНОЕ МОРФОЛОГО-АНАТОМИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ЦИКОРИЯ ОБЫКНОВЕННОГО (*CICHORIUM INTYBUS* L.) И ВОЗМОЖНЫХ ПРИМЕСНЫХ ВИДОВ
Сайбель О. Л., Коняева Е. А., Даргаева Т. Д. 367

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ И БИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ МИНЕРАЛЬНОГО СОРБЕНТА
Бондарев А. В., Гамаюнова Т. С., Новикова Н. Б. 374

ИЗУЧЕНИЕ СТРУКТУРЫ КОМПЛЕКСА РУТИНА С ЦИНКОМ МЕТОДАМИ ЯМР И СПЕКТРОФОТОМЕТРИИ
Тернинко И. И., Вишняков Е. В., Топоркова В. И., Уэйли А. К. 379

РАЗРАБОТКА МЕТОДОВ АНАЛИЗА СОКА ПЛОДОВ БОЯРЫШНИКА МЯГКОВАТОГО
Волкова Н. А., Шайхутдинов И. Х., Куркин В. А., Правдивцева О. Е. 385

ОПРЕДЕЛЕНИЕ *IN VITRO* АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ ЖИРНОГО МАСЛА ЧЕРНОГО ТМИНА
Мубинов А. Р., Авдеева Е. В., Куркин В. А., Латыпова Г. М., Фархутдинов Р. Р., Катаев В. А., Рязанова Т. К. 392

РАЗРАБОТКА ФИТОСУБСТАНЦИИ КЛЕВЕРА ЛУГОВОГО ТРАВЫ И ТАБЛЕТОК НА ЕЕ ОСНОВЕ
Голубев А. Н.; Сорокин В. В., Каухова И. Е., Александрова Л. Ю. 399

НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕТАБОЛИТЫ *ARTEMISIA JACUTICA* DROB.
Дыленова Е. П., Жигжитжапова С. В., Рандалова Т. Э., Раднаева Л. Д. 407

ОСОБЕННОСТИ ИДЕНТИФИКАЦИИ ЛЕКАРСТВЕННОГО РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ ВИДОВ РОДА ОРЕХ (*JUGLANS* L.)
Зименкина Н. И., Куркин В. А. 413

ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ЭКСТРАКТОВ *LESPEDEZA BICOLOR*
Колтыго Е. И., Шестопалова Н. Б., Фомина Ю. А. 423

ХРОМАТОГРАФИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ SALVIAAETHIOPISL.
Крымова А. А., Голубева Д. В. 427

РАЗРАБОТКА СТОМАТОЛОГИЧЕСКОГО ГЕЛЯ НА ОСНОВЕ ЦИТРАТА РАЗВЕТВЛЕННОГО ОЛИГОГЕКСАМЕТИЛЕНГУАНИДИНА
Курносова П. И., Айдакова А. В., Шаталов Д. О. 432

АНАЛИЗ ОТЕЧЕСТВЕННОГО ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО РЫНКА ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ТЕРАПИИ ВУЛЬВИТОВ
Молдаванова А. Ю., Фадеева Д. А., Малютина А. Ю. 435

ИЗУЧЕНИЕ ЧИСЛОВЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ И СОСТАВА СЫРЬЯ *ORIGANUM SYRIACUM* (L.).
Мохамад Раним, Мусса Рамадан, Суслина С. Н. 440

СРАВНИТЕЛЬНОЕ СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВОДНО-СПИРТОВЫХ ИЗВЛЕЧЕНИЙ ЛИСТЬЕВ НЕКОТОРЫХ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА *QUERCUS*
Рябов Н. А., Рыжов В. М., Куркин В. А., Тарасенко Л. В., Жавкина Т. М. 448

СТАНДАРТИЗАЦИЯ ЦВЕТКОВ БАРХАТЦЕВ ОТКЛОНЕННЫХ
Савельева А. Е., Куркина А. В., Куркин В. А. 454

ВЛИЯНИЕ ЭФИРНЫХ МАСЕЛ *ARTEMISIA ABSINTHIUM* И *HUMULUS LUPULUS* НА ДИНАМИКУ МИТОХОНДРИАЛЬНОГО МЕМБРАННОГО ПОТЕНЦИАЛА КЛЕТОК *S. CEREVISIAE*
Семитко И. С., Anastasiia Bekhter, Чещевик В. Т., Krzysztof Śmigielski 465

СТАНДАРТИЗАЦИЯ СУХОГО ЭКСТРАКТА ЛИСТЬЕВ ПЛЮЩА ОБЫКНОВЕННОГО
Солодухина А. А., Брежнева Т. А., Сливкин А. И. 474

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА КОЛИЧЕСТВЕННОГО СОДЕРЖАНИЯ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ *APIUM GRAVEOLENS* L., СПОСОБСТВУЮЩИХ СНИЖЕНИЮ МАССЫ ТЕЛА
Сурбеева Е. С. 479

ИЗУЧЕНИЕ ОТДЕЛЬНЫХ КЛАССОВ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ТРАВЕ *ORTHILIA SECUNDA L.*
Тернинко И. И., Лёзина А. В., Романова М. А. 486

ФЕНОЛЬНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ *GLEDITSIA TRIACANTOS* L., ПРОИЗРАСТАЮЩЕЙ НА ТЕРРИТОРИИ САРАТОВСКОЙ ОБЛАСТИ
Шестопалова Н. Б., Фомина Ю. А. 493

ИССЛЕДОВАНИЕ СОДЕРЖАНИЯ САПОНИНОВ В РАЗЛИЧНЫХ ВИДАХ РОДА *CRATAEGUS* L.
Шубина Т. В., Павлова А. А., Хисматуллина А. А., Гусакова В. А., Хасанова С. Р., Кудашкина Н. В. 499

ФЕРОЦИНИН – ХЕМОТАКСОНОМИЧЕСКИЙ МАРКЕР ВИДОВ *FERULA* L.
Адекенов С. М., Мантлер С. Н., Жаканов М. М., Адекенова Айгерим С. 502

ПОИСК НОВЫХ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ И ТЕХНОЛОГИЙ ИХ СИНТЕЗА
Ахмедова Д. А., Айдакова А. В., Иванов И. С., Шаталов Д. О., Королева Ю. А., Азарова Ю. А. 509

СРЕДСТВА С ПРОПОЛИСОМ И ЭКСТРАКТОМ МЕЛОНЕЛЛЫ ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ СЕЗОННЫХ ВСПЫШЕК ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ ГРИППА И ОРВИ
Емшина А. Р., Петрова В. В., Шикова Ю. В. 512

ОБОСНОВАНИЕ ВЫБОРА СОСТАВА КОМБИНИРОВАННОГО РАСТИТЕЛЬНОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА СЕДАТИВНОГО ДЕЙСТВИЯ
Хажжар. Ф., Потанина О. Г. 515

ИССЛЕДОВАНИЕ ЭКСТРАКТА БЕССМЕРТНИКА ТЯНЬ-ШАНЬСКОГО (*HELICHRYSUM THIANSCHANICUM* REGEL.) МЕТОДОМ ЭНЕРГОДИСПЕРСИОННОЙ РЕНТГЕНОВСКОЙ СПЕКТРОСКОПИИ
Шарофова М. У., Трумпе Т. Е., Нуъмонов С. Р., Рахмонов Р.У., Миршохи М. 521

ИССЛЕДОВАНИЕ ПО ВЫБОРУ ОСНОВЫ ФИТОТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО ГЕЛЯ С АЛЬГИНАТОМ НАТРИЯ
Архангельская А. А., Шестопалова Н. Б., Фомина Ю. А. 528

АНАЛИЗ АССОРТИМЕНТА ПРОДУКЦИИ РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ БЕЛОРУССКИХ ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ
Гурина Н. С., Курс И. Л., Тоцкая П. Д. 534

БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ МЕТОКСИЛИРОВАННЫЕ ФЛАВОНОИДЫ ИЗ *AJANIA FRUTICULOSA* (LEDEB.) POLJAK
Байсаров Г. М., Сыздыкова Д. М., Нуркадыров Д. К., Маслова О. В., Адекенов С. М. 540

ИССЛЕДОВАНИЯ ПО РАЗРАБОТКЕ СУППОЗИТОРИЕВ ГИПОРАМИНА
Качалина Т. В., Малышева Н. А., Куляк О. Ю. 547

ДОКЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ НОВЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ 554

ВЛИЯНИЕ СУХОГО ЭКСТРАКТА PADUS GRAYANAE MAXIM НА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ВНУТРЕННИХ ОРГАНОВ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ
Исмаилов И. З., Зурдинов А. З., Сабирова Т. С. 554

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ СВОЙСТВ ЭКСТРАКТА ТРАВЫ ДИКОРАСТУЩЕГО ЦИКОРИЯ ОБЫКНОВЕННОГО (*CICHORIUM INTYBUS* L.) *IN VIVO*
Лупанова И.А., Ферубко Е.В., Курманова Е.Н., Сайбель О.Л., Николаев С.М. 563

ВЛИЯНИЕ ЦИКОРИЯ ОБЫКНОВЕННОГО (*CICHORIUM INTYBUS* L.) ЭКСТРАКТА СУХОГО НА ПОСТНАТАЛЬНОЕ РАЗВИТИЕ ПОТОМСТВА КРЫС
Бабенко А. Н., Крепкова Л. В., Лемясева С. В., Кузина О. С. 568

ИССЛЕДОВАНИЕ ГИПОЛИПИДЕМИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ВИНОГРАДА КУЛЬТУРНОГО (*VITIS VINIFERA* L.) ЛИСТЬЕВ КРАСНЫХ ЭКСТРАКТА СУХОГО
Лемясева С. В., Крепкова Л. В., Бортникова В. В., Бабенко А. Н., Кузина О. С., Дул В. Н. 574

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ НА СОСТОЯНИЕ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ПОЛОСТИ РТА
Руда О. Р. 579

ТОКСИЧНОСТЬ ЦИКОРИЯ ОБЫКНОВЕННОГО (*CICHORIUM INTYBUS* L.) КУЛЬТИВИРУЕМОГО ТРАВЫ ЭКСТРАКТА СУХОГО НА ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ РАЗНОГО ВОЗРАСТА
Кузина О. С., Боровкова М. В., Бабенко А. Н., Сайбель О. Л., Крепкова Л. В. 585

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ИММУНОТОКСИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ТИРЕОТРОПНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ ИЗ РАСТЕНИЙ
Боровкова М. В., Бортникова В. В., Кузина О. С., Бабенко А. Н. 591

ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКОГО ИММОБИЛИЗАЦИОННОГО СТРЕССА И 1-О-АЛКИЛ-ГЛИЦЕРОЛОВ НА ЖИРНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ СЕЛЕЗЕНКИ КРЫС
Перевозников И.Е., Полещук Т. С., Веланский П. В. 596

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ВОДНОГО ЭКСТРАКТА ЯРУТКИ ПОЛЕВОЙ НА ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ И БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ САМЦОВ КРЫС
Фархутдинов Р. Г., Федорова А. М., Никифорова М. Д., Ахмадиев П. А. 601

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЖЕЛТОГО ТЕТРАЗОЛИЯ В ИССЛЕДОВАНИИ ЦИТОТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ РАСТЕНИЙ
Кабанов Д. С., Китаева М. П., Федотчева Т. А. 607

ЛЕКАРСТВЕННОЕ РАСТЕНИЕВЕДЕНИЕ

УДК 581.6:502.172:502.211 (470-25): 502.172 (470.311) DOI: 10.52101/9785870191003_2021_13

ОХРАНЯЕМЫЕ РАСТЕНИЯ МОСКВЫ И МОСКОВСКОЙ ОБЛАСТИ НА УЧАСТКЕ ФЛОРЫ ЕВРОПЕЙСКОЙ ЧАСТИ СНГ БОТАНИЧЕСКОГО САДА ВИЛАР

доцент, к.б.н. Бабаева Е. Ю.

ФГБНУ "Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений" РФ, г. Москва, ул. Грина, д.7, 117216

babaeva@vilarnii.ru

Аннотация. Цель работы – выявить и изучить виды участка флоры Европейской части СНГ ботанического сада ФГБНУ ВИЛАР, включенные в Красные книги Москвы и Московской области. Виды рассмотрены в границах после подписания «Соглашения об изменении границы между субъектами Российской Федерации городом Москвой и Московской областью» 2011 г. Элементарной единицей являлся коллекционный образец вида. Выявлено количество охраняемых видов, их таксономическая характеристика, категории редкости видов, лимитирующие факторы, меры охраны. Выявлено, что для редких и исчезающих видов растений Москвы и области, имеющихся на участке флоры Европейской части СНГ, ситуация в природе представляется весьма тяжелой. Это виды, находящиеся под угрозой исчезновения, либо сокращающиеся в численности, либо уязвимые. Показаны самые действенные средства охраны популяций редких видов растений.

Ключевые слова: редкие растения, ботанический сад, Красная книга Москвы, Красная книга Московской области, охрана.

ВВЕДЕНИЕ

Изучение биоразнообразия и тенденции его развития в определённых условиях среды, сопряженные с изменениями климата, сейчас является особенно актуальным. Требует уточнения реальный состав видов в региональных флорах, потенциал их изменчивости и распространения [1]. Одна из важнейших задач ботанических садов – сохранение растений *ex situ* (в составе коллекций и экспозиций) [2]. Многие растения, которые находятся в ботанических садах, в природе имеют сниженную численность и занесены в региональные Красные книги. Обзор редких растений в коллекциях европейских ботанических садов показал приблизительно 54% видов, находящихся под угрозой исчезновения [3].

Согласно природно-территориальному делению РФ, предложенному ботаническим институтом им. В.Л. Комарова, ботанический сад ФГБНУ ВИЛАР, находящийся в г. Москва, относится к Нечерноземью Европейской части России [4]. В Москве и Московской области (МО) изданы и регулярно переиздаются региональные Красные книги и равные им по юридической силе постановления, содержащие сведения о состоянии, численности, особенностях биологии, мерах охраны редких и находящихся под угрозой исчезновения объектах растительного и животного мира. Они подлежат особой охране [5-7]. Хотя эти два региона соседствуют, мегаполис обладает своей спецификой с точки зрения сохранения видов растений. Природа часто оказывается беззащитной перед антропогенным давлением, интенсификацией городской застройки.

Цель работы – выявить и изучить виды участка флоры Европейской части СНГ ботанического сада ФГБНУ ВИЛАР, включенные в Красные книги Москвы и МО.

Задачи: проанализировать виды участка флоры Европейской части СНГ ботанического сада, входящие в Красные книги Москвы и МО, по показателям: таксономическая

принадлежность, статус охраны, лимитирующие факторы и меры охраны. Сравнить результаты по Красным книгам Москвы и МО.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Номер темы из Плана НИР ФГБНУ ВИЛАР, по которой проводились исследования, FNSZ -2019-0007. Материалы: элементарной единицей являлся коллекционный образец вида растения, находящегося на участке флоры Европейской части СНГ ботанического сада ФГБНУ ВИЛАР, и включенного в Красную книгу Москвы или МО [5-7]. Растения получены из природных местообитаний в виде посевного или посадочного материала, а также присланы по делектусам из ботанических садов.

Рассмотрены два субъекта федерации в границах после подписания «Соглашения об изменении границы между субъектами Российской Федерации городом Москвой и Московской областью» от 29 ноября 2011 г. [8].

Методы: для характеристики таксонов в работе использованы общепринятые категории редкости видов, также приведенные в Красных книгах Москвы и МО и представленные в Таблице 1. Основным методом исследования являлся аналитический [9].

Таблица 1 - Категории редкости видов согласно Красным книгам Москвы и МО

Категории	Характеристика
0	По-видимому, исчезнувшие виды
1	Виды, находящиеся под угрозой исчезновения
2	Редкие виды, сокращающиеся в численности
3	Уязвимые виды
4	Виды неопределенного статуса
5	Виды, восстановившие численность

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Всего на территории Москвы около 1000 видов высших растений [5]. В Красной книге Москвы 122 вида высших растений из 42 семейств и 86 родов, из них на участке флоры Европейской части СНГ 17 видов (*Aconitum septenrionale* Koelle, *Anthyllis vulneraria* L., *Campanula latifolia* L., *Dactylorhiza incarnata* (L.) Soó, *Daphne mezereum* L., *Epipactis palustris* (L.) Crantz., *Eupatorium cannabinum* L., *Hypopitys monotropa* Crantz., *Iris pseudacorus* L., *Lathyrus vernus* (L.) Bernh., *Matteuccia struthiopteris* (L.) Tod., *Polygonatum multiflorum* (L.) All., *Primula veris* L., *Pulmonaria obscura* Dum., *Thymus marschallianus* Willd., *Trollius europaeus* L., *Viscaria vulgaris* Bernh.). Корневища с корнями аконита северного являются официнальным лекарственным растительным сырьем.

В Красной книге МО 206 видов сосудистых растений из 48 семейств и 137 родов из всей региональной флоры (2000 видов), нуждающихся в охране на территории МО [7]. На участке флоры Европейской части СНГ есть 8 видов из Красной книги МО (*Alyssum gmelinii* Jord., *Clematis recta* L., *Epipactis palustris* (L.) Crantz., *Iris aphylla* L., *Lilium martagon* L., *Orchis ustulata* L., *Salvia glutinosa* L., *Stipa pennata* L.). Единственным таксоном, который встречается в обеих Красных книгах, оказался вид растения семейства Orchidaceae *Epipactis palustris.* Таким образом, виды, входящие в Красные книги МО и Москвы, составляют примерно 4-14% от флоры города и области.

При изучении таксономической принадлежности видов участка флоры Европейской части СНГ, включенных в Красную книгу Москвы, выявлено, что семейства Ranunculaceae, Fabaceae и Orchidaceae представлены двумя видами, остальные – по одному виду, как представлено на Рисунке 1.

Для видов участка, входящих в Красную книгу МО, распределение видов по семействам таково: растения семейства Orchidaceae встречаются два раза, растения других семейств – единожды, как видно из Рисунка 2.

Анализ распределения видов по категориям редкости позволил установить, что из видов участка в Красной книге Москвы наиболее часто встречается 3 категория, что составило около половины всех видов, как показано на Рисунке 3. В 6 случаях виду присваивалась 2 категория, т.е. данные виды растений сокращаются в численности. И катастрофично выглядят три вида 1 категории: в Москве они находятся под угрозой исчезновения (*Aconitum septenrionale* Koelle, *Epipactis palustris* (L.) Crantz. и *Thymus marschallianus* Willd.).

Как видно из Рисунка 4, половина охраняемых видов участка, входящих в Красную книгу МО – это виды растений, сокращающиеся в численности (2 категория). Два вида находятся под угрозой исчезновения (*Orchis ustulata* и *Lilium martagon*). Вид *Orchis ustulata* включен в Красную книгу РФ, т.е. признан редким и исчезающим на всей территории России.

Рисунок 1 - Таксономическая принадлежность видов участка флоры Европейской части СНГ в Красной книге Москвы

Рисунок 2 - Таксономическая принадлежность растений участка флоры Европейской части СНГ в Красной книге МО

Рисунок 3 - Статус охраны видов участка флоры Европейской части СНГ согласно Красной книге Москвы

Рисунок - 4. Статус охраны видов участка флоры Европейской части СНГ согласно Красной книге МО

В итоге, следует признать, что для охраняемых видов растений Москвы и МО, имеющихся на участке флоры Европейской части СНГ, ситуация в природе представляется весьма тяжелой (1-3 категория). Тем важнее сохранять их в коллекции участка.

Изучение отрицательных факторов, влияющих на уничтожение популяций редких растений в Москве согласно «Красной книге г. Москвы», позволило установить, что наиболее вредны для них, как показано в Таблице 2, сбор на букеты и вытаптывание [5].

Таблица 2 - Отрицательные факторы – причина уничтожения популяций редких видов растений в Москве

Лимитирующий фактор	Количество упоминаний в Красной книге, шт.
Осушение заболоченных лугов, речных долин	4
Закустаривание и зарастание деревьями лугов и склонов	2
Зарастание болот	1
Избыточная рекреационная нагрузка; вытаптывание, сбор на букеты	15
Сокращение площади из-за строительства	3
Сокращение численности шмелей-опылителей	2
Ограниченная площадь суходольных лугов	3
Реконструкция лугов в газоны	2
Реконструкция лесов в парковые насаждения	2

Для редких и исчезающих растений МО, присутствующих на участке, так же, как и в Москве, основным лимитирующим фактором является, согласно «Красной книге Московской области», избыточная рекреационная нагрузка [7]. Кроме того, как видно из Таблицы 3, в МО сильно влияние на растения выпаса и прогона скота, сокращение пригодных для произрастания популяций мест из-за строительства и распашка земель.

Таблица 3 - Отрицательные факторы – причина уничтожения популяций редких видов растений в МО

Лимитирующий фактор	Количество упоминаний в Красной книге,, шт.
Осушение и коренное улучшение заболоченных лугов, речных долин	1
Избыточная рекреационная нагрузка, вытаптывание, сбор растений на букеты	7
Сокращение площади из-за строительства	4
Рубка лесов	1
Распашка	3
Выпас и прогон скота	5

Контроль состояния популяций, запрещение сбора и торговли растениями, выявление новых мест произрастания и организация особо охраняемых природных территорий (ООПТ) признаются Красными книгами Москвы и МО самыми действенными средствами охраны популяций редких видов растений, как показано в Таблице 4.

Таблица 4 - Меры охраны популяций редких видов в Москве и МО

Меры охраны	Количество упоминаний, шт.
Контроль состояния популяций	12
Предотвращение изменения гидрологического режима	1
Запрещение сбора и торговли	12
Организация ООПТ	10
Выявление новых мест произрастания	12
Запрет посадки кустарников и широколиственных деревьев на лугах	1
Запрет выпаса и прогона скота на территории	1

Действительно, наиболее оптимальный путь охраны редких видов – это сохранение их в естественных экосистемах [10].

ВЫВОДЫ

1. Необходимо тщательно сохранять и размножать вышеназванные виды на участке флоры Европейской части СНГ ботанического сада ФГБНУ ВИЛАР, т.к. их существование на территориях Москвы и МО находится под угрозой.
2. Следует обеспечить пополнение коллекции участка популяциями этих видов из разных мест произрастания в целях увеличения биоразнообразия и последующей возможной реинтродукции в природу.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Харченко, В.Е. Проблема анализа региональных флор в ботанических садах / В.Е. Харченко // Hortus botanicus. – 2015. - № 10. - С. 86-89.
2. Анищенко, Л.В., Шишлова, Ж.Н. Аннотированный список лекарственных и ароматических растений открытого грунта Ботанического сада Южного федерального

университета // Л.В. Анищенко, Ж.Н. Шишлова // Hortus botanicus. – 2017. - № 12. - С. 296-316.

3. Келлехер, К.Т. Образцы в ботанических садах как генетические ресурсы для сохранения видов – пилотное исследование с использованием *Magnolia delavayi* в садах Ирландии / К.Т. Келлехер, Э. Дискин // Hortus botanicus. – 2017. - № 12. - С. 125-132.

4. Природно-территориальное деление Российской Федерации / База данных ЭК отдела библиотеки Академии наук при БИН. URL: https://www.binran.ru/files/bin_library/BIN_Library_Catalog_Russia_Division.pdf (дата обращения 04.03. 2020).

5. Красная книга города Москвы. 2-е изд., перераб. и доп. / М.: Правительство Москвы, - 2010. - 926 с.

6. Постановление Правительства Москвы от 2 июля 2019 г. N 745-ПП «О внесении изменений в постановление Правительства Москвы "О Красной книге города Москвы" от 19 февраля 2013 г. N 79-ПП». Приложение 2. URL: http://docs.cntd.ru/document/560517948 (дата обращения 03.01.2021).

7. Красная книга Московской области. 3-е изд., перераб. и доп. / Отв. ред.: Т.И. Варлыгина, В.А. Зубакин, Н.Б. Никитский, А.В. Свиридов. - Министерство экологии и природопользования Московской области; Комиссия по редким и находящимся под угрозой исчезновения видам животных, растений и грибов Московской области. – М.: ПФ «Верховье». - 2018. – 810 с.

8. Соглашение об изменении границы между субъектами Российской Федерации городом Москвой и Московской областью: сайт. - URL http://base.garant.ru/397416/ (дата обращения 03.01.2021).

9. Философия. Философия и методология науки (понятия, категории, проблемы, школы, направления): терминологический словарь-справочник / Составитель: Степанович В.А., Климович А.В. – Москва / Берлин: Директ-Медиа, 2017. – 276 с.

10. Муковнина З.П. Анализ интродукционной устойчивости охраняемых растений природной флоры Центрального Черноземья // Вестник ВГУ, серия: география, геоэкология – 2010; 2: 66-69

PROTECTED PLANTS OF MOSCOW AND MOSCOW REGION AT THE PLOT OF FLORA OF THE EUROPEAN PART OF THE UIS OF THE BOTANICAL GARDEN ALL-RUSSIAN SCIENTIFIC RESEARCH INSTITUTE OF MEDICINAL AND AROMATIC PLANTS

Associate professor, Ph.D. in Biology Babaeva E.Yu.
All-Russian Scientific Research Institute Of Medicinal And Aromatic Plants Russian Federation, Moscow, Grina Street, 7
babaevaelena@mail.ru

Abstract. The purpose of the work is to identify and study the species of the plot flora of the European part of the CIS of the botanical garden of the All-Russian Scientific Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants included in the Red Data Books of Moscow and the Moscow Region. Species considered within the borders after the signing of the "Agreement on Border Change between the subjects of the Russian Federation by the city of Moscow and the Moscow Region" 2011 year. The elemental unit was a collector's sample of the species, The number of protected species, their taxonomic characteristics, categories of rarity of species, limiting factors, protection measures have been noted. It has been revealed that for rare and endangered species of plants in Moscow and the region, which are available on the site of the flora of the European part of the CIS, the situation in nature seems very severe. These are endangered species either shrinking in numbers or vulnerable. The most effective means of protecting populations of rare plant species are shown.
Keywords**:** *rare plants, botanical garden, Red Book of Moscow, Red Book of the Moscow region, protection.*

УДК 582.929.4:39 DOI: 10.52101/9785870191003_2021_20

OCIMUM BASILICUM L. В МИРОВОЙ КУЛЬТУРЕ (КРАТКИЙ ОБЗОР)

Величко К. А., доцент, к.фарм.н. Попов И. В.[a)]

Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал Федерального государственного бюджетного учреждения высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Пятигорск, пр. Калинина 11, 357532

а) автор для переписки – beegeeslover@mail.ru

Аннотация. Базилик обыкновенный (*Ocimum basilicum* L.) семейства яснотковых (*Lamiaceae*) – широко культивируемое в России и в других странах растение. История базилика в культуре насчитывает несколько тысяч лет. Целью работы явился обзор и анализ литературных данных, касающиеся сортов базилика обыкновенного, а также использование базилика в культурах народов Мира. Результаты проведенных исследований показали, что все сорта *Ocimum basilicum* классифицированы на несколько сортовых форм. В работе представлены описания некоторых вариаций *Ocimum basilicum*. Приведено использование базилика обыкновенного в традиционной медицине разных стран, различные упоминания о базилике в фольклоре, включая фольклор древних народов, а также верования, связанные с базиликом. В работе также приведены примеры использования базилика обыкновенного в кулинарии с описанием некоторых популярных рецептов.

Ключевые слова: *базилик благородный, сортовая форма, история, фольклор, традиционная медицина, кулинария.*

ВВЕДЕНИЕ

В Российской Федерации на сегодняшний день актуальной является Государственная Фармакопея XIV (четырнадцатого) издания, вышедшая осенью 2018 года. Государственная Фармакопея (ГФ) XIV издания состоит из 4 томов. В последний том включен раздел «Лекарственное растительное сырье», насчитывающий 107 фармакопейных статей. С учетом того, что некоторые лекарственные растения могут иметь более 1 фармакопейной статьи на лекарственное растительное сырье (ЛРС) – общее количество лекарственных растений, сырье которых включено в ГФ XIV, составляет 101 [1].

В то же время на фармацевтическом рынке России присутствуют многие виды ЛРС, в том числе и в составе сборов, которые считаются нефармакопейными. Такие виды ЛРС часто входят в состав биологически активных добавок к пище (БАД), также известных под коммерческим термином «Фиточай».

Изучение, а также внедрение в медицинскую практику ранее неизученных растений имеет непрерывный процесс на протяжении всего существования фармакогнозии, и оно не угасло, а наоборот даже возросло в последние несколько десятилетий. Однако акценты в изучении растений с определенными группами биологически активных соединений (БАС) изменились.

Если в 30-е, а затем в 50-е – 60-е годы прошлого столетия наибольший интерес для изучения представляли растения, содержащие алкалоиды, то в наши дни интерес для изучения представляют растения, содержащие другие группы БАС: фенольные соединения (флавоноиды, дубильные вещества, фенокарбоновые кислоты, фенилпропаноиды), эфирные масла, иридоиды [2].

В последние десятилетия мы наблюдаем сокращение популяции многих видов растений, в том числе потенциально лекарственных, что связано с антропогенными факторами, а также с урбанизацией.

С другой стороны с развитием агропромышленных комплексов (АПК) культивирование лекарственных растений, как включенных в ГФ, так и не включенных, приобретает популярность. Это связано с появлением новых агротехнологий, позволяющих выращивать определенные растения в регионах, климат которых не всегда подходит для естественного произрастания этих растений.

Говоря об эфиромасличных растениях, особое внимание следует уделить представителям семейства яснотковые (*Lamiaceae*).

Растения данного семейства, за редким исключением, не накапливают каких-либо токсичных веществ, а благодаря особому аромату и жгучему вкусу с давних времен применяются в кухнях разных народов мира: либо в качестве пряностей, либо даже как съедобная зелень в свежем виде, например в составе вегетарианских блюд [3].Случалось так, что на протяжении многих столетий растение широко использовалось в кулинарии в качестве пряности либо приправы (различные виды тимьяна, розмарин) и лишь в 19-м веке с развитием фармакогнозии его начали изучать и вводить в медицинскую практику.

Интерес для изучения представляет известный представитель семейства яснотковые – *Ocimum basilicum* L.– базилик обыкновенный. В русском языке распространены и другие синонимы: базилик благородный, базилик душистый [4].

Это растение, как и некоторые вышеуказанные, на протяжении долгого времени использовалось в кулинарии многих народов мира. Кроме того базилик как культурное растение известен уже несколько тысячелетий. Согласно данным литературы в Европу базилик обыкновенный попал благодаря завоеваниям Александра Македонского [5]. Целью нашей работы явилось изучение истории базилика обыкновенного от древнего периода и до наших дней.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обзор мировой литературы из открытых источников информации, отражающей сведения о базилике обыкновенном в различных культурах. Использованы поисковые системы Google, Yandex, электронная научная база Elibrary.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Род Ocimum был впервые описан Карлом Линнеем в 1753 г., который под этим родом перечислил пять видов [6].

Plant List приводит 66 признанных представителей Ocimum [7].

По данным Plant List (2013) *Ocimum basilicum* L. включает 8 вариаций – "*Ocimum basilicum var. …*", причем эти вариации приводятся как синонимы *Ocimum basilicum* [7].

Сайт Kew Science приводит 13 наименований вариаций [8].

Хелен Дарра (1980) классифицировала сорта *Ocimum basilicum* на семь сортовых типов (вариаций) [9, 10]:

– высокие стройные типы: «сладкий базилик» (Sweet Basil) – *Ocimum basilicum*;

– крупнолистные типы: «латуколистный базилик» (Lettuce leaf Basil), также известные как «итальянский базилик» – *Ocimum basilicum var. crispum*;

– карликовые типы, включая короткие и мелколистные: «кустовой базилик» или «греческий базилик» (Bush or Greek Basil) – *Ocimum basilicum var. minimum*;

– компактные типы: «тайский базилик» (Thai Basil) – *Ocimum basilicum var. thyrsiflorum*;

– базилики пурпурного цвета с традиционным ароматом базилика: «пурпурный базилик» (Purple Basil) – *Ocimum basilicum var. purpurascens*;

– пурпурные типы с лопастными листьями, плюс гвоздичный аромат: «Темный опал» ("Dark Opal"), возможный гибрид между *Ocimum basilicum* и *Ocimum forskolei* [11];

– лимонные базилики (Lemon Basil) – *Ocimum basilicum var. citriodorum*.

Раджни Рават с соавторами изучили шесть вариаций базилика обыкновенного [12]:

1. *Ocimum basilicum var. basilicum*: цвет стебля фиолетово-зеленый, опушение стебля среднее, форма листовой пластинки яйцевидно-ланцетная, цвет листовой пластинки фиолетово-зеленый, опушение листовой пластинки среднее, цветки розовато-белые.

2. *Ocimum basilicum var. difforme*: цвет стебля светло-зеленый, опушение стебля густое, форма листовой пластинки яйцевидно-ланцетная, цвет листовой пластинки темно-зеленый, опушение листовой пластинки среднее, цветки белые.

3. *Ocimum basilicum var. glabratum*: цвет стебля светло-зеленый, опушение стебля среднее, форма листовой пластинки яйцевидная, цвет листовой пластинки темно-зеленый, опушение листовой пластинки отсутствует, цветки розовато-белые.

4. *Ocimum basilicum var. purpurascens*: цвет стебля фиолетовый, опушение стебля густое, форма листовой пластинки яйцевидно-ланцетная, цвет листовой пластинки фиолетовый, опушение листовой пластинки густое, цветки фиолетовые, чашечка и венчик могут быть разных оттенков фиолетового.

5. *Ocimum basilicum var. thyrsiflorum*: цвет стебля светло-зеленый, опушение стебля густое, форма листовой пластинки яйцевидная, цвет листовой пластинки темно-зеленый, опушение листовой пластинки среднее, цветки белые.

6. *Ocimum basilicum var. pilosum*: цвет стебля фиолетово-зеленый, опушение стебля среднее, форма листовой пластинки яйцевидно-ланцетная, цвет листовой пластинки фиолетово-зеленый, опушение листовой пластинки среднее, цветки светло-фиолетовые.

Следует отметить, что вариация *Ocimum basilicum var. pilosum* на сайте Plant List приводится как синоним базилика африканского (*Ocimum ×africanum*), который в свою очередь является гибридом базилика обыкновенного и базилика американского [13].

Базилик обыкновенный упоминается во многих классических травниках, ему посвящены работы таких деятелей науки как Диоскорид (ок. 40 до н.э. – 90 н.э.) – древнегреческий военный врач, фармаколог и натуралист; Джон Джерард (1545 – 1612) – английский ботаник, травник, натуралист (естествоиспытатель), врач, хирург; Джон Паркинсон (1567 – 1650) – английский ботаник; Николас Калпепер (1616 – 1654) – английский фармацевт, ботаник и врач [14, 15].

Из-за популярности базилик часто называют «королем трав». Несколько производных имен и верований связаны с базиликом. Имя собственное Василий и базилик, вероятно, происходит от греческих слов basileus, означающее «царь», или basilikon, означающее «царский» [15]. В английском языке это фактически одно слово: Basil (пишется с большой буквы) – Василий, и basil (с маленькой буквы) – базилик.

Латинское слово basiliscus относится к василиску – мифическому огнедышащему дракону, способному убить одним только взглядом. Согласно римской легенде, базилик был противоядием от яда василиска [14].

Ботаническое название *Ocimum* происходит от греческого слова «благоухать» [15].

Генри Бестон в книге «Травы земли» (1935 г.) предполагает, что базилик был назван так из-за царственного «тирского» пурпурного цвета его цветков (тирский пурпур – краситель различных оттенков от чёрного до тёмно-фиолетового цвета, извлекавшийся из морских брюхоногих моллюсков – иглянок. Получил свое название от финикийского города Тир, основного центра по добыче моллюсков во времена расцвета Финикии) [14].

Хелен Нойз Уэбстер в своей статье, опубликованной в 1936 году, приводит первое упоминание о базилике древнегреческого философа Хрисиппа (279–206 г. до н. э.): «Базилик существует только для того, чтобы сводить людей с ума» [14].

Базилик имеет большую историю в древних медицинах, таких как Аюрведа, традиционная медицинская система древней Индии [16, 17].

История использования базилика в качестве лекарства восходит к эпохе Диоскорида, поскольку он упомянул его в одной из самых ранних книг о лекарственных растениях, De Materia medica (50 – 70 н.э.), как мощное противоядие от укуса скорпиона[16].

В своей травяной книге XVII века Паркинсон утверждал, что базилик может быть использован «для получения бодрости и веселья в сердце». По словам Паркинсона, запах базилика был «пригоден для королевского дома».Джерард хвалил базилик как средство от меланхолии, но также был солидарен с утверждением Диоскорида, что слишком большое употребление базилика«притупляет зрение и затрудняет пищеварение» [14].

Калпепер и Джерард утверждали, что базилик вылечит пчелиные укусы и укусы скорпиона. Джерард также упоминал, что базилик может спонтанно генерировать червей, если его пожевать и оставить на солнце. По словам Калпепера базилик считался причиной спонтанного зарождения скорпионов [14].

Самым диковинным из связанных со скорпионом суеверий, как утверждал французский доктор Хилариус, было то, что запах базилика породит скорпиона в мозгу [15].

Эта связь со скорпионами сохраняется и по сей день в ассоциации базилика с астрологическим знаком Скорпиона [15].

Считалось, что скорпионы ищут горшки с базиликом, чтобы отдохнуть под ними, и суеверия учили, что веточка базилика, оставленная сама по себе под горшком, в конце концов превратится в скорпиона [14].

В Древнем Египте базилик, вероятно, использовался в качестве бальзамирующей и консервирующей травы, поскольку он был найден в гробницах и мумиях. Вследствие того, что базилик мог применяться при бальзамировании, он был также символом траура в Греции, где он был известен как basilikon phuton «базиликон футон», что означает великолепную, царственную траву [15].

Врачи древности были совершенно не в состоянии прийти к единому мнению относительно лекарственной ценности базилика, хотя некоторые заявляли, что растение было ядом, а другие говорили, что растение было драгоценным образцом лекарства. Калпепер, подводя итог разногласиям между древними мудрецами, считает базилик «травой, о которой все авторы дружно говорят и ругают друг друга, как адвокаты» [14].

Традиционно базилик использовался для лечения головных болей, кашля, диареи и нарушений функции почек. Также при лечении укусов насекомых, укусов змей и кожных инфекций наружно [18].

В народной медицине Турции и в традиционной уйгурской медицине базилик обыкновенный используется для профилактики и лечения диабета и сердечно-сосудистых заболеваний [19].

В индийской медицине Сиддха, используется для лечения прыщей на лице [20].

В Болгарии используется как народное лекарство для лечения болей различного происхождения, в том числе головных болей [19].

В Испании его используют как седативное средство [16].

В Бразилии базилик используется при проблемах с почками и ревматизме [21].

В Судане и Индии – при кожных паразитах и малярии [22].

В Африке листья и корни базилика используются для лечения простуды и желудочных заболеваний [21].

В традиционной китайской медицине базилик обыкновенный используется при проблемах с почками, язвах десен и в качестве кровоостанавливающего средства при родах, а также при таких разнообразных проблемах, как ушная боль, ревматоидный артрит, анорексия, кожные заболевания, нарушения менструального цикла [23].

По данным J. Duke базилик обыкновенный обладает более чем пятьюдесятью лекарственными свойствами, от обезболивающего до глистогонного, и, как сообщается, используется для лечения более 100 состояний, включая акне, лихорадку, головные боли и грибковые инфекции. Многие из этих применений являются народными и не подтверждены научными исследованиями [15].

Базилик обладает репеллентными свойствами, иногда используется в качестве репеллента (отпугивателя) от комаров в качестве живых насаждений. Эфирные масла базилика используются в коммерческих репеллентах [24, 25].

Фольклор базилика так же сложен, как его вкус и аромат. С точки зрения легенд и символизма, базилик любили и боялись. Его ассоциации включают такие полярные противоположности, как любовь и ненависть, опасность и защита, жизнь и смерть. Базилик является частью религиозных традиций во всем мире, от христианства до индуизма [14].

Древние индийцы верили, что лист базилика, похороненный вместе с усопшим, послужит ему пропуском на небеса. Базилик был посвящен богам Индии, Кришне и Вишну [14]. Греческая легенда гласит, что базилик всегда считался растением, которое исцеляет каждую рану, как он исцелял рану дракона вовремя боя [16].

В Библии упоминание о базилике отсутствует, однако есть предание, что это растение выросло на месте распятия Христа. У христиан базилик ассоциируется со Святым Василием, чей праздник отмечается в Греции 1 января благословением базилика в церкви[14].

В православном религиозном богослужении освящение базилика используется на праздник Богоявления. С пучком базилика, который для приготовления святой воды погружается в воду, святая вода распространяет святость на места или предметы и делится «Божьим благословением».Также в официальных заявлениях Христианства вода благословляется пучком базилика и металлическими или деревянными крестами.В данном случае базилик символизирует благоухание мира милостивых вещей свыше, где сила Святого Креста и Святого Духа изгоняют все тревожащее нисхождение, страдание, беспомощность, непонимание, страх, отчаяние и т.д. [26].

Возможно, с этим связано одно из названий *Ocimum basilicum* в русском я зыке – базилик благородный.

В некоторых произведениях народного фольклора базилик считается талисманом удачи. Сообщается, что он используется в экзорцизмах, для защиты и привлечения богатства. Символизм базилика в «Викторианском языке цветов» также отражает его двойственную природу. Он означает как ненависть, так и наилучшие пожелания [14].

У африканских народов базилик считают афродизиаком и используют в любовных заклинаниях, связывая его с языческой богиней любви Эрзули, культ которой известен в африканских традиционных верованиях [15].

В Италии базилик обыкновенный называют «бачиа-никола» (поцелуй меня Николай), считается, что он привлекает мужей к женам. Горшок с базиликом, поставленный на балкон, означал, что женщина готова к приходу своего поклонника. В свою очередь, если бы он принес веточку базилика, то дал бы ей понять о своих серьезных намерениях. Согласно итальянским поверьям женщины носили базилик в волосах, а юноши, отправляясь на ухаживания, втыкали его за ухо [14].

В молдавском фольклоре, если мужчина примет веточку базилика от женщины, он влюбится в нее [26].

В Португалии базилик является частью подарка возлюбленной или возлюбленному, его дарят близким в маленьком декоративном горшочке в дни Святого Антония и Святого Иоанна [14].

Будучи связанным с любовью и влечением, базилик также связан с целомудрием. В сицилийском фольклоре базилик ассоциируется как с любовью, так и со смертью, когда базилик прорастает из головы убитого любовника Изабеллы Мессинской [15].

В еврейском фольклоре считается, что базилик придает силы во время поста [14].

В Древней Греции базилик символизировал ненависть и несчастье. Олицетворением бедности у древних греков было изображение оборванной женщины с рядом базиликом. Древние греки считали, что базилик не будет расти, если во время посева не будут изливаться брань и оскорбления. Римляне точно так же считали, что чем больше ругают базилик, тем лучше растение будет процветать [14].

В XVII веке англичане развешивали базилик в дверных проемах, чтобы отогнать непрошеных вредителей, таких как мухи, а также злых духов [5, 15].

Базилик обыкновенный – популярная кулинарная трава, используемая во многих кухнях, включая итальянскую, французскую, английскую, тайскую и др. Он используется как в свежем, так и в сушеном виде, однако преобладающие ароматы уменьшаются при сушке [27].

Листья базилика можно сочетать с различными другими пищевыми растениями и травами, включая чеснок, болгарский перец, петрушку, горчицу, черный перец, душицу, шалфей, тимьян, розмарин, и даже можжевельник. Его используют в супах, рагу, начинках и рисовых крупах, а также с рыбой, курицей, овощами и мясом. Листья базилика могут быть ключевым ингредиентом в сырах, уксусных приправах, маслах, желе, чае, спиртных напитках, а семена можно использовать в прохладительных напитках [28]. Неодревесневшие стебли и ветви можно замачивать в жидкостях (сироп, бульон и т.п.) для вареных фруктов, напитков, супов и тушеного мяса, птицы и морепродуктов. Цветки базилика также съедобны и могут быть засахарены или добавлены в салаты и другие блюда. Помимо того, базилик как ароматическая трава часто используется в различных фруктово-овощных смесях. Для оптимального вкуса базилик рекомендуется добавлять в последние несколько минут приготовления блюда [28, 29].

Эфирное масло базилика широко используется во Франции для ароматизации супов, особенно супа из черепахи. Французы также используют базилик в рагу и соусах. В кулинарных целях Англии базилик используется не так широко, как в странах южной Европы. В прошлом он был любимой травой в горшочках и дал начало отличительному вкусу, который сделал знаменитыми колбасы Феттер-Лейн [29].

Мишель Мейерс с соавторами в своей книге «Basil An Herb Society of America Guide» приводит рецепты приготовления национальных блюд, в состав которых входит трава базилика обыкновенного [14]:

«Средиземноморская травяная смесь» – листья и стебли базилика, а также чеснок, петрушка, шалфей, тимьян, розмарин, душица плюс оливковое масло.

Брускетты (запеченный хлеб) с помидорами черри, маринованными базиликом, зеленым луком и бальзамическим уксусом.

«Выигрышная летняя комбинация» – базилик, зеленый лук и помидоры на поджаренном чесночном хлебе.

Песто в итальянском стиле – листья базилика, чеснок, кедровые орехи (используют пинию), сыр Пармезан и оливковое масло.

Юго-восточное азиатское песто – чеснок, имбирь, лимонная трава, зеленый лук, базилик, петрушка, листья кориандра (кинза), перец чили, поджаренный миндаль, арахисовое масло, а также кунжутное масло.

Известный британский шеф-повар Гордон Рэмзи также приводит несколько рецептов, в состав которых входит базилик обыкновенный [30]:

Равиоли из омаров – звездное блюдо, которое остается в меню лондонского ресторана шеф-повара Рэмзи по сей день. Базилик мягко ароматизирует начинку из омаров, а свежий томатный чатни (индийский соус) обеспечивает «идеальную постель» для этих маленьких «подушек» совершенства (равиоли).

Песто из базилика – классический соус, состоящий из базилика, кедровых орехов, пармезана, оливкового масла, чеснока, соли и перца.

Соус «Помодоро» – идеальный соус для пасты, приготовленный из свежих помидоров, чеснока, оливкового масла, шампанского уксуса и листьев базилика.

Паста с курицей и песто – паста Феттучини, покрытая соусом из песто и жирных сливок, жареная и нарезанная ломтиками курица и половинки помидоров черри.

Салат из эскароле, базилика и пармезана – легкий салат с основой из эскароле (цикорий салатный) и листьев базилика, увенчанный оливковым маслом с уксусом, пармезаном, свежими помидорами и поджаренными орехами.

Огуречно-базиликовый коктейль – освежающий летний коктейль, приготовленный из джина, свежего базилика, простого сиропа, огурца и лимонного сока.

ВЫВОДЫ

На основании анализа литературы приведено использование базилика обыкновенного в различных сферах жизни.

Представлена классификация сортовых форм вида *Ocimum basilicum* L., с описанием некоторых наиболее известных сортовых форм.

Описано использование данного растения в культуре разных стран и разных эпох от Древнего Египта до настоящего времени. Особое внимание уделено роли базилика в различных верованиях и фольклоре, включая Древнеиндийские культы, Древнюю Грецию и Древний Рим, Средневековую Европу, а также фольклор Африки. Отмечено применение базилика в народной медицине у разных народов Мира.

Также в работе приведены примеры применения базилика обыкновенного в кулинарии, как в былые времена, таки в наше время у различных народов мира. Даны популярные рецепты блюд с базиликом от ведущих кулинаров.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Государственная Фармакопея Российской Федерации XIV издания. URL: http://femb.ru/femb/pharmacopea.php (дата обращения 8.04.2021)
2. Куркин, В.А. Фармакогнозия как наука в формировании модели специалиста-провизора / В.А. Куркин // III Гаммермановские чтения: сборник научных трудов. Санкт-Петербург. – 2017. – С. 75-78.
3. Чумакова, В.В. Коллекция интродуцированных видов Lamiaceae как исходный материал для селекции / В.В. Чумакова, В.Ф. Чумаков, О.И. Попова, В.В.мл. Чумакова // Бюллетень Ставропольского научно-исследовательского института сельского хозяйства. – 2016. – №8. – С. 300-310.
4. Новиков, О.О. Исследование Ocimum basilicum L. в рамках научного направления «Фармацевтический ремейк» / О.О. Новиков, Д.И. Писарев, И.А. Севрук, А.Ю. Малютина, А.А. Зинченко, И.В. Гурьев // Научный результат. Серия «Медицина и фармация». – 2016. – Т.2. – №2. – С. 54-61. DOI: 10.18413/2313-8955-2016-2-2-54-61
5. Marki, O. Ocimum sp. (Basil): Botany, Cultivation, Pharmaceutical Properties, and Biotechnology / O. Marki, S. Kintzios // Journal of Herbs Spices & Medicinal Plants. – 2008. – Vol. 13. – Issue 3. – P. 123-150. DOI: 10.1300/J044v13n03_10
6. Yaldiz, G. Agro-morphological and phenotypic variability of sweet basil (Ocimum basilicum L.) genotypes for breeding purposes / G. Yaldiz, M. Camlica // Crop Science. – 2020. – Vol. 61. – Issue 3. – P. 621-642.
7. Plant List. URL: http://www.theplantlist.org/tpl1.1/record/kew-136820 (дата обращения 8.04.2021)
8. KewScience URL: https://wcsp.science.kew.org/synonomy.do?name_id=136820 (дата обращения 8.04.2021)
9. Simon, J.E. Basil: A Source of Aroma Compounds and a Popular Culinary and Ornamental Herb / J.E. Simon, M.R. Morales, W.B. Phippen, R.F. Vieira, Zh. Hao // Perspectives on new crops and new uses. ASHS Press, Alexandria, VA. In: J. Janick (ed.). – 1999. – P. 499-505.
10. Nurzyńska-Wierdak, R. Comparing the growth and flowering of selected basil (Ocimumbasilicum L.) varieties / R. Nurzyńska-Wierdak // Acta Agrobotanica. – 2012. –Vol. 60. – Issue 2. – P. 127-131. DOI: 10.5586/aa.2007.040

11. Carović-Stanko, K. Efficiency of morphological trait descriptors in discrimination of Ocimum basilicum L. accessions / K. Carović-Stanko, A. Šalinović, M. Grdiša, Z. Liber, L. Kolak, Z. Satovic // Plant Biosystems. – 2011. – Vol. 145. – Issue 2. –P. 298-305. DOI:10.1080/11263504.2011.558677
12. Rawat, R. Study of Six Varieties of Sweet Basil (Ocimum basilicum L.) and their Morphological Variations / R. Rawat, K.S. Negi, P.S. Mehta, V. Tiwari, S.K. Verma, I.S. Bisht // Journal of Non-Timber Forest Products. – 2016. – Vol. 23. – Issue1. – P. 1-4.
13. Nurzyńska-Wierdak, R. Morphological and Chemical Variability of Ocimum Basilicum L. (Lamiaceae) / R. Nurzyńska-Wierdak // Modern Phytomorphology. – 2013. – Isue 3. – P. 115–118. DOI: 10.5281/zenodo.161999
14. Meyers, M. Basil an Herb Society of America Guide / Text by: Michele Meyers, HSA Director of Education. The Herb Society of America. – 2003. – 45 p.
15. Sullivan, C. Basil (Ocimum basilicum) / Entry prepared by Christopher Sullivan ‟09 in College Seminar 235 – Food For Thought: The Science, Culture, & Politics of Food in Spring. – 2009. – P. 1-2.
16. Alia, B. Phytochemical and pharmacological studies on Ocimum basilicum / B. Alia, J. Nasreen, A. Ajij, N.B. Saima, H. Shahida, H. Syeda // International Journal of Current Research and Review. – 2012. – Vol. 04. – Issue 23. – P. 73-83.
17. Lal, R.K. Traditional Plant Breeding in Ocimum / R.K. Lal, P. Gupta, C.S. Chanotiya, S. Sarkar // The Ocimum Genome. – 2018. –P. 89-98. DOI: 10.1007/978-3-319-97430-9_7
18. Ch, M.A. Biological and Pharmacological Properties of the Sweet Basil (Ocimum basilicum) / M.A. Ch, S.B. Naz, A. Sharif, M. Akram, M.A. Saeed // British Journal of Pharmaceutical Research. – 2015. – Vol. 7. – Issue 5. – P. 330-339. DOI:10.9734/BJPR/2015/16505
19. Purushothaman, B. A Comprehensive Review on Ocimum basilicum / B. Purushothaman, R.P. Srinivasan, P. Suganthi, B. Ranganathan, J. Gimbun, K. Shanmugam // Journal of Natural Remedies. – 2018. – Vol. 18. – Issue 3. –P. 71-85. DOI:10.18311/jnr/2018/21324
20. Khair-ul-Bariyah, S. Ocimum Basilicum: A Review on Phytochemical and Pharmacological Studies / S. Khair-ul-Bariyah, D. Ahmed, M. Ikram // Pakistan Journal of Chemistry. – 2012. – Vol. 2. – Issue 2. – P. 78-85. DOI:10.15228/2012.v02.i02.p05
21. Pereira, M.M.A. Transatlantic and Ancestral Routes and the Pharmacological and Biological Potential of Ocimumbasilicum L. / M.M.A. Pereira, L.C. Morais, J.M.Q. Luz, M. Pasqual, J. Dória // A Review European Journal of Medicinal Plants. – 2020. –Vol. 31. – Issue 11 – P. 38-48. DOI: 10.9734/ejmp/2020/v31i1130297
22. Rubab, S. Biomedical Description of Ocimum basilicum L. / S. Rubab, H. Hussain, B.A. Khan, A.A. Unar, K.A. Abbas, Z.H. Khichi, M. Khan, S. Khanum, K.U. Rehman, H. Khan // Journal of Islamic International Medical College. – 2017. – Vol. 12. – Issue 1. – P. 59-67.
23. Shahrajabian, M.H. Chemical components and pharmacological benefits of Basil (Ocimum Basilicum): a review / M.H. Shahrajabian, W.Sun, Q. Cheng // International Journal of Food Properties. – 2020. – Vol. 23. – Issue 1. – P. 1961-1970. DOI:10.1080/10942912.2020.1828456
24. Bączek, K. Sweet Basil (Ocimumbasilicum L.) Productivity and Raw Material Quality from Organic Cultivation / K. Bączek, O. Kosakowska, M.Gniewosz, I. Gientka, Z. Węglarz // Agronomy. – 2019. – Vol. 9. – Issue 6. –P. 279. DOI:10.3390/agronomy9060279
25. Avetisyan, A. Chemical composition and some biological activities of the essential oils from basil Ocimum different cultivars / A. Avetisyan, A. Markosian, M. Petrosyan, N. Sahakyan, A. Babayan, S. Aloyan, A. Trchounian // BMC Complementary and Alternative Medicine. – 2017. – Vol. 17. – Issue 1. – P. 60. DOI 10.1186/s12906-017-1587-5
26. Onofrei, V. Ocimum basilicum L.: Presence, influence and evolution in human concern ever / V. Onofrei, G.C. Teliban, R.A. Clinciu-Radu, I.V. Teliban, F.M. Galea, T. Robu // Lucrări Stiinţifice – seria Agronomie. – 2015. – Vol. 58. – Issue 1. – P. 161-166.

27. Kalamartzis, I. The Use of Appropriate Cultivar of Basil (Ocimum basilicum) Can Increase Water Use Efficiency under Water Stress / I. Kalamartzis, C. Dordas, P. Georgiou, G. Menexes // Agronomy. – 2020. – Vol. 10. – Issue 1. – P. 70. DOI:10.3390/agronomy10010070
28. Srivastava, R.K. Ocimum as a Promising Commercial Crop / R.K. Srivastava, S. Kumar, R.S. Sharma // The Ocimum Genome. – 2018. – P. 1-7. DOI:10.1007/978-3-319-97430-9_1
29. Filip S. Basil (Ocimum basilicum L.) a Source of Valuable Phytonutrients / S. Filip // International Journal of Clinical Nutrition & Dietetics. – 2017. – Vol. 3. – P. 118. DOI:10.15344/2456-8171/2017/118
30. URL: https://www.masterclass.com/articles/culinary-guide-to-basil-benefits-and-uses#what-is-basil (дата обращения 8.04.2021)

OCIMUM BASILICUM L. IN WORLD CULTURE (A BRIEF OVERVIEW)

Velichko K.A., associate professor, PhD in Pharmacy Popov I.V.[a)]

Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – the branch of Volgograd State Medicinal University, Pyatigorsk, Kalinin ave. 11, 357532

a) corresponding author –beegeeslover@mail.ru

Abstract. Sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) of the family *Lamiaceae* is a plant widely cultivated in Russia and other countries. The history of basil in culture dates back several thousand years. The aim of the work was to review and analyze the literature data concerning the varieties of sweet basil, as well as the use of basil in the cultures of the peoples of the world. The results of the conducted studies have shown that all varieties of *Ocimum basilicum* are classified into several varietal forms. The paper presents descriptions of some variations of *Ocimum basilicum*. The use of sweet basil in traditional medicine in different countries, various references to basil in folklore, including the folklore of ancient peoples, as well as beliefs related to basil are given. The paper also provides examples of the use of sweet basil in culinary with a description of some popular recipes.

Keywords: *sweet basil, varietal form, history, folklore, traditional medicine, culinary.*

УДК: 633.85:631.52 DOI: 10.52101/9785870191003_2021_29

НЕКОТОРЫЕ ВОПРОСЫ ВОСПРОИЗВОДСТВА КОЛЛЕКЦИИ СОРТОВ *OENOTHERA BIENNIS* L. И СОХРАНЕНИЯ ПОСЕВНЫХ КАЧЕСТВ ИХ СЕМЯН

к.б.н. Тоцкая С. А., к.б.н. Грязнов М. Ю.[a)]

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений (ФГБНУ ВИЛАР), Россия, Москва, ул. Грина, 7, 117216

а) автор для переписки – selectionvilar@yandex.ru.

Аннотация. Для исследования использовали семена сортов ослинника Генотэрос, Тверской и Светлячок, которые хранились в холодильнике (при t=4 °С) и лабораторных условиях (при t=20 °С). Изучали всхожесть семян урожая 2011-2017 гг. Изучена динамика всхожести семенного материала сортов ослинника селекции ФГБНУ ВИЛАР при разных условиях хранения и выявлен оптимальный срок пересева для обеспечения сохранности коллекции сортов. Морфологическая характеристика новых сортов *Oenothera biennis* L. селекции ФГБНУ ВИЛАР дана по методике, созданной на основе международной (UPOV-Международный союз по охране новых сортов растений) для *Oenothera* L. Семенной материал сортов ослинника при пониженных температурах хранения способен сохранять посевные качества на уровне, предъявляемом к семенам элиты, в течение 4-5 лет, а в лабораторных условиях – 3-4-х лет и зависит от сорта. Биологическая долговечность семян у ослинника сохраняется до 7-8 лет и связана с метеорологическими условиями вегетационного периода года формирования семян. В 2014 году ГТК составил 0,9, а всхожесть (энергия прорастания семян) была на уровне 80 % после 4-х лет хранения, тогда как у семян урожая 2015 и 2016 гг. всхожесть в относительном выражении была на 11-12 % ниже. Для поддержания коллекции сортов *Oenothera biennis* L. необходимо производить пересев после трех лет хранения семян.

Ключевые слова: *Oenothera biennis* L.*, всхожесть, сорт, коллекция, долговечность семян*

ВВЕДЕНИЕ

Ослинник двулетний (*Oenothera biennis* L.*)* – травянистое растение рода *Oenothera* семейства Кипрейные (*Onagraceae*). Род *Oenothera* в соответствии с современной классификацией разделяют на 4 секции. Растения этого рода - преимущественно травянистые, как правило, многолетние с крупными желтыми цветками из 4-х лепестков. В России произрастает около 20 разновидностей *Oenothera biennis* L. В первый год жизни растение образует розетку листьев, простой прямостоячий стебель (до 2 м высотой) развивается во второй год жизни. Цветков на растении очень много, до нескольких сотен. Диплоидное число хромосом 2n=14[1-3].

Проверка посевных качеств имеет исключительно важное значение при отборе на посев семенных партий с наилучшими показателями. В условиях единообразия проведения анализов и выражения их результатов в нашей стране установлены обязательные государственные стандарты (ГОСТ) на методы определения качества семян сельскохозяйственных культур, утвержденные, как и стандарты на сортовые и посевные качества семян, Росстандартом. В их основу положены достижения отечественной и зарубежной науки и мирового опыта по семенному контролю.

ФГБНУ ВИЛАР разработан новый ГОСТ 34221-2017 «Семена лекарственных и ароматических культур. Сортовые и посевные качества. Общие технические условия», взамен действующего с 1998 года, в который были включены новые интродуцированные культуры [4]. Необходимость принятия нового стандарта возникла в связи с тем, что ГОСТ Р 51096-97 был рассчитан на постепенное расширение видов лекарственных культур и внедрение их в сельскохозяйственное производство. В настоящее время некоторые виды исключены из

стандарта на семена лекарственных культур, так как они считаются овощными или кормовыми растениями, нормы качества на которые предусмотрены соответствующими ГОСТ. Вместе с тем появились новые виды растений, перспективные для использования в производстве фитопрепаратов на их основе и введения в культуру. К таким растениям относится и ослинник двулетний (или энотера двулетняя).

ФГБНУ ВИЛАР поддерживается биологическая коллекция оригинальных сортов лекарственных и ароматических растений, которая включает сорта селекции института. Коллекция насчитывает 66 сортов растений 27 видов, из них 3 сорта *Oenothera biennis* L.

Цель исследования - изучение лабораторной всхожести семян у сортов ослинника двулетнего для выявления срока пересева и сохранения коллекции сортов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы

Для исследования использовали семена сортов ослинника Генотэрос, Тверской и Светлячок, которые хранились в холодильнике (при t=4°С) и лабораторных условиях (при t=20 °С).

Методы

Изучали всхожесть семян урожая 2011-2017 гг. Влажность семян не превышала 7 %. Всхожесть определяли по ГОСТ 12038-84 [5]. Условия проращивания: на фильтровальной бумаге; резко переменная температура – (+10) – (+30) °С. Энергию определяли на 14-е сутки проращивания, всхожесть – на 20-е [6].

Морфологическое описание новых сортов ослинника двулетнего выполнено по методике RTG 144/3/1 Госкомиссии РФ по испытанию и охране селекционных достижений для сортов *Oenothera* L.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В процессе селекционной работы в ФГБНУ ВИЛАР были выведены сорта ослинника двулетнего Генотэрос, Тверской и Светлячок, обладающие рядом ценных свойств для фармацевтического производства.

Сорт ослинника двулетнего Генотэрос получен методом индивидуального отбора из коллекционного образца популяции № 03-89. Средняя урожайность семян до 1,8 т/га, масса 1000 штук семян 0,34-0,36 г. Сорт обладает самым высоким из сортов содержанием в масле из семян γ-линоленовой кислоты (до 9 % и более), растения высокие (до 200 см), семена созревают в III декаде сентября [7].

Сорт Тверской получен методом индивидуального отбора из популяции № 04-99. Урожайность семян до 1,7 т/га, стабильна по годам. Масса 1000 штук семян 0,40 г. Сорт низкорослый (высота растений до 150 см). Семена созревают в III декаде августа – I декаде сентября. Содержание в масле из семян γ-линоленовой кислоты – 8%. Сорт в большей степени поражается мучнистой росой по сравнению с сортом Генотэрос, на 12-18 дней раньше созревает, лучше пригоден к механизированной уборке [8].

Сорт Светлячок получен методом индивидуального отбора из популяции № 01-09. Урожайность семян до 1,6 т/га, стабильна по годам. Масса 1000 штук семян 0,36-0,38 г. Сорт низкорослый (высота растений до 130 см). Семена созревают в III декаде августа – I декаде сентября. Содержание в масле из семян γ-линоленовой кислоты – 8%. Важное значение при оценке хозяйственной полезности сортов *Oenothera biennis* L. имеет степень их повреждаемости земляной блошкой (*Haltica oleracea*), так как этот вредитель при благоприятных для его развития условиях способен причинять значительный вред посевам. Сорт Светлячок повреждается блошкой значительно меньше, чем другие сорта [9].

Сорта ослинника различаются по высоте, срокам созревания, составу жирного масла, а также внешним морфологическим признакам (табл. 1).

Таблица 1 - Степень выраженности морфологических признаков у сортов ослинника

Признак	Генотэрос	Тверской	Светлячок
Растение: высота	высокое	средняя	средняя
Стебель: плотность коробочек	средняя	средняя	плотные
Стебель: интенсивность антоциановой окраски	очень слабая	сильная	очень слабая
Стебель: антоциановая окраска у основания волосков	имеется	имеется	имеется
Стебель: интенсивность антоциановой окраски у основания волосков	слабая	сильная	слабая
Лист: размер	средний	средний	большой
Лист: ширина	средний	средний	широкий
Лист: интенсивность зеленой окраски	средняя	средняя	средняя
Лист: волнистость	слабая	слабая	сильная
Лист: пузырчатость	средняя	средняя	сильная
Бутон: размер	маленький	маленький	средний
Бутон: антоциановая окраска	отсутствует	отсутствует	имеется
Цветок: размер	маленький	средний	большой
Цветок: лепестки	имеются	имеются	имеются
Цветок: положение пыльника по отношению к рыльцу	выше	на том же уровне	выше
Цветок: окраска венчика	желтый	желтый	желтый
Коробочка: длина	средняя	средняя	средняя
Коробочка: антоциановая окраска	отсутствует	имеется	имеется
Стеблевание	среднее	среднее	позднее
Начало цветения	позднее	среднее	среднее

Семенной материал сортов ослинника при пониженных температурах способен сохранять посевные качества на уровне, предъявляемом к семенам элиты, в течение 4-5 лет, а в лабораторных условиях – 3-4-х лет и зависит от сорта (табл. 2).

Биологическая долговечность семян у ослинника сохраняется до 7-8 лет и связана с метеорологическими условиями вегетационного периода года формирования семян. В 2014 году ГТК составил 0,9, а всхожесть (энергия прорастания семян) была на уровне 80 % после 4-х лет хранения, тогда как у семян урожая 2015 и 2016 гг. всхожесть в относительном выражении была на 11-12 % ниже.

Таблица 2 - Всхожесть семян у сортов ослинника в зависимости от температурных условий и продолжительности хранения, %

год хранения	год урожая	температура хранения	сорт		
			Генотэрос	Тверской	Светлячок
1	2017	t=4°C	-	-	-
		t=20°C	92±0,7	95±0,8	65±0,4
2	2016	t=4°C	-	-	-
		t=20°C	72±0,5	91±0,6	73±0,5
3	2015	t=4°C	85±0,6	75±0,5	79±0,6
		t=20°C	50±0,4	97±0,7	73±0,5
4	2014	t=4°C	76±0,5	98±0,8	65±0,4
		t=20°C	37±0,3	87±0,5	51±0,3
5	2013	t=4°C	67±0,4	75±0,4	59±04
		t=20°C	25±0,3	89±0,6	42±0,3
6	2012	t=4°C	54±0,4	73±0,3	-

		t=20°C	14±0,3	60±0,4	-
7	2011	t=4°C	30±0,3	55±0,3	-
		t=20°C	15±0,3	43±0,3	-

В процессе многолетних наблюдений было установлено, что в условиях Московской области растения ослинника двулетнего на втором году жизни вступают в фазу цветения на 40-50-й день от начала отрастания. Продолжительность цветения составляет около двух месяцев, однако во влажную погоду оно может возобновляться и продолжаться до заморозков, как, например, в 2011 и в 2016 годах. Массовое цветение отмечено во II-III декаде июня, созревание плодов - в III декаде августа - III декаде сентября. Для соцветий ослинника характерна разновозрастность цветков и неравномерное созревание плодов. В пределах растения цветение акропетальное, начинается снизу от основания центрального побега и распространяется вверх. На втором году жизни с целью сохранения соответствия морфологических признаков сорта его описанию проводят выбраковку нетипичных растений.

При воспроизводстве коллекции сортов необходимо проводить выбраковку растений, которые по морфологическим признакам отклоняются от описания или не соответствуют ему. Схема посева должна обеспечивать возможность проведения наблюдений и выбраковки. Мы рекомендуем широкорядный посев с междурядьями 70 см. Срок посева: подзимний или весенний (при подзимнем посеве поверхностно, без заделки, при весеннем – на глубину 0,5 см). Норма высева семян – 7 кг/га. Однако нужно учитывать, что весенний срок посева провоцирует вступление довольно значительного числа растений ослинника в генеративную фазу развития на первом году жизни. Семена не успевают вызреть, а во второй год жизни посевы изреживаются.

При воспроизводстве коллекции ослинника двулетнего необходимо проведение обработок посевов инсектицидами против *Haltica oleracea* не менее двух раз на первом году вегетации и одного – на втором.

ВЫВОДЫ

Для поддержания коллекции сортов *Oenothera biennis* L. необходимо производить пересев после трех лет хранения семян.

При посеве ослинника предпочтительнее подзимний срок посев с междурядьями 70 см и уменьшенная (на 20 %) норма высева по сравнению с производственными посевами.

Работа выполнена в рамках темы НИР АААА-А17-117809101280 (0576-2019-0008) «Научное формирование, сохранение, изучение биоколлекций».

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Палкина, Т.А. Ослинник двулетний (*Oenothera biennis* L.*)* как объект интродукции и культивирования / Т.А. Палкина // Состояние и перспективы развития современного пчеловодства и апитерапии: сборник научно-исследовательских работ по пчеловодству и апитерапии (Рыбное, 29-30 сентября 2016 года). – Рыбное, 2017. – С. 77-80.
2. Савин, А.П. Ослинник двулетний – перспективная медоносная и кормовая культура / А.П. Савин // Пчеловодство. – 2016. – № 10. – С.28-30.
3. Савин, А.П. Медоносно-кормовое использование ослинника двулетнего из разных эколого-географических зон / А.П. Савин // Современные проблемы пчеловодства и пути их решения (Москва, ФГБОУ ВО РГАУ – МСХА им. К.А.Тимирязева, 10-12 марта). – Москва, 2016. – С.290-296.
4. ГОСТ 34221-2017. Семена лекарственных и ароматических культур. Сортовые и посевные качества. Общие технические условия. – М.: Стандартинформ. – 2017. – 27 с.
5. ГОСТ 12038-84. Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения всхожести. – М.: Стандартинформ. – 2011. – 63 с.

6. Мельникова, Т.М. Морфобиологические особенности семян ослинника двулетнего / Т.М. Мельникова // Генетические ресурсы лекарственных и ароматических растений (Москва, ВИЛАР, 12-14 июля 2004 г.). – Москва, 2004. – Т.1. – С. 110-113.
7. Климахин, Г.И. *Oenotera biennis* L. Сорт Генотэрос. Российская Федерация / Г.И. Климахин, В.В. Семикин, Н.И. Сидельников, С.А. Тоцкая, В.С. Фонин, Ф.М. Хазиева // Патент на селекционное достижение, № 7291, 2014.
8. Грязнов, М.Ю. *Oenotera biennis* L. Сорт Тверской. Российская Федерация / М.Ю. Грязнов, Г.И. Климахин, В.Ю. Масляков, М.Е. Пименова, В.В. Семикин, С.А. Тоцкая, В.С. Фонин // Патент на селекционное достижение, № 7931, 2015.
9. Грязнов, М.Ю. *Oenotera* L. Сорт Светлячок. Российская Федерация / М.Ю. Грязнов, Н.В. Макарова, С.И. Ромашкина, С.А. Тоцкая // Патент на селекционное достижение, № 9255, 2017.

SOME QUESTIONS OF REPRODUCTION OF THE VARIETIES COLLECTION *OENOTHERA BIENNIS* L. AND THE PRESERVATION OF THE SOWING QUALITIES OF THEIR SEEDS

Ph.D. in Biology Totskaya S., Ph.D. in Biology Grjaznov M.[a)]
All-Russian research Institute of medicinal and aromatic plants, Moscow, Russia, Grina, 7, 117216
a) corresponding author – selectionvilar@yandex.ru

Abstract. Seeds of the Genoteros, Tverskoy and Svetlyachok varieties were used for the study, which were stored in the refrigerator (at t=4°C) and in the laboratory (at t=20°C). The germination of seeds of the 2011-2017 harvest was studied. The dynamics of germination of seed material of donkey varieties selected by the VILAR Federal State Budgetary Institution under different storage conditions was studied and the optimal time of re-sowing to ensure the safety of the collection of varieties was revealed. The morphological characteristics of new varieties of Oenothera biennis L. selected by the VILAR State Research University are given according to the methodology created on the basis of the international (UPOV-International Union for the Protection of New Plant Varieties) for Oenothera L. Seed material of donkey varieties at low storage temperatures is able to maintain sowing qualities at the level required for elite seeds for 4-5 years, and in laboratory conditions-3-4 years and depends on the variety. The biological longevity of seeds in the donkey is preserved up to 7-8 years and is associated with the meteorological conditions of the growing season.
Keywords: *Oenothera biennis* L., *germination, variety, collection, seed durability*

УДК: 58.006; 634.31/.34. DOI: 10.52101/9785870191003_2021_34

ВИДЫ РОДА *CITRUS* В КОЛЛЕКЦИИ ТРОПИЧЕСКИХ И СУБТРОПИЧЕСКИХ РАСТЕНИЙ БОТАНИЧЕСКОГО САДА ВИЛАР

Запова И. О.[а], Меркулова Н. Б.

ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений, Россия, г. Москва, ул. Грина, д. 7, 117216

а) автор для переписки – bot.gard.vilar@yandex.ru

Аннотация. Представители рода *Citrus* широко применяются в пищевой, фармацевтической, парфюмерной промышленности, а также являются ценными декоративными культурами в странах с субтропическим климатом. Виды этого рода находят применение в народной медицине многих стран, что дало основание включить его в коллекцию ботанического сада ВИЛАР. В статье приведено описание биологических особенностей некоторых представителей рода *Citrus* в условиях оранжерейно-тепличного комплекса ФГБНУ ВИЛАР. В частности, рассмотрена полнота прохождения фенологических фаз, ежегодный прирост побегов, побегообразовательная способность. Изучаемые виды проходят все фенологические фазы, имеют среднюю побегообразовательную способность, образуют ежегодный прирост: *Citrus limon* (L.) Osbeck – (12,8±4,3) см; *Citrus sinensis* (L.) Osbeck – (28,3±4,9) см. По результатам полученных данных можно сделать вывод, что выращивание данных видов проходит успешно.

Ключевые слова: *Citrus, фенологические фазы, ежегодный прирост, побегообразовательная способность, коллекция ФГБНУ ВИЛАР.*

ВВЕДЕНИЕ

Представители рода Citrus широко применяются в пищевой, фармацевтической, парфюмерной промышленности, а также являются ценными декоративными культурами в странах с субтропическим климатом. Наиболее важно, что виды этого рода находят применение в медицине, например, при сердечно-сосудистых и желудочно-кишечных заболеваниях. Фитохимические исследования показали, что в состав этих растений входят флавоноиды, лимоноиды и каротиноиды. Есть много сообщений о широком спектре действий, таких как противовоспалительное, антиоксидантное, иммуномодулирующее, метаболическое, сердечно-сосудистое и нейрозащитное действие [1]. Поэтому виды цитрусовых являются ценными представителями коллекции тропических и субтропических растений Ботанического сада ФГБНУ ВИЛАР.

В данной коллекции произрастает 660 видов растений, относящихся к 100 семействам. Семейство Rutaceae представлено 5 родами и 12 видами. Видовой состав растений ботанического сада не является постоянным, он всегда динамичен [2]. Среди всех имеющихся представителей рода *Citrus*, особый интерес для изучения представляют виды: *Citrus limon* (L.) Osbeck и *Citrus sinensis* (L.) Osbeck. Это связано с тем, что растения уже вступили в генеративный период развития и находятся в нем продолжительное время. На данный момент мы располагаем данными, полученными в период с 2015 по 2020 год.

Citrus limon представляет собой небольшое дерево или кустарник. В высоту достигает 2-5 м. Листья очередные вечнозеленые удлинено ланцетные со слегка зазубренными краями, в длину достигают 8-12 см. Зачастую в пазухах листьев имеются острые шипы. Цветки обоеполые, белые с пурпурным оттенком по краям лепестков, 2-4 см в диаметре. Цветки располагаются одиночно или небольшими группами в пазухах листьев. Плод - удлиненный, овальный, заостренный зеленый гесперидий, который при созревании желтеет [3].

Citrus sinensis (L.) Osbeck. Дерево до 10 м в высоту. Листья ароматные 7,5-11 см, от продолговато-яйцевидных до яйцевидных, цельнокрайние или зубчатые, от острых до тупых.

Черешок узкокрылый, крылья ланцетные. Цветки пазушные, в 1-6-цветковых кистях. Плод от уплощенной до слегка овальной формы, 6-9 см в диаметре [4].

Для всех представителей рода *Citrus* генеративное развитие растений сильно зависит от условий окружающей среды и внутреннего гормонального регулирования. В частности, повышение температуры воздуха после покоя вызывает рост вегетативных побегов и раскрытие бутонов. На продолжительность и обильность цветения влияет продолжительность периода с низкими положительными температурами. Чем более длительный этот период, тем больше бутонов образуется на растении. В период с низкими положительными температурами вегетативные почки преобразуются в смешанные или генеративные. Действие высоких температур в этот период вызывает увеличение облиственности будущих побегов и ингибируют образование цветов. На цветение оказывает ингибирующий эффект и наличие плодов в верхней части побега. Причем этот эффект проявляется в пределах одной ветки, т.е. наличие плодов не оказывает влияния на образование бутонов на соседних ветках [5].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы

C. sinensis в коллекции представлен тремя образцами, которые формируются в виде небольших деревьев. В высоту достигают 2-4 м. Все экземпляры данного вида высажены в грунте. Возраст самого старого экземпляра составляет более 30 – 35 лет.

C. limon также представлен тремя экземплярами, сформированными в виде деревьев. В высоту достигают 0,7-1,7 м, данные растения культивируются в контейнерах объемом 50-70 л. Возраст всех имеющихся экземпляров составляет более 20 – 25 лет.

Все имеющиеся экземпляры рассматриваемых видов являются привитыми.

Методы

Фенологические наблюдения проводили в соответствии со стандартной методикой [6]. Для статистической обработки даты наступления фенологических фаз переводили в непрерывный ряд [7].

Оба изучаемых вида содержатся в субтропической секции оранжереи. Здесь поддерживается сезонное понижение температуры в осенне-зимний период до +5…15 ºС. Данный период при нормальных погодных условиях составляет 5 месяцев.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

C. limon. В условиях оранжереи данный вид проходит все фенологические фазы развития. В среднем длина годичного прироста составляет (12,8±4,3) см. Побегообразовательная способность средняя (ежегодно образуется 3-5 побегов на одном двухлетнем побеге).

Сильных поражений вредителями и болезными на растениях не наблюдалось.

Цветет один или два раза в год в основном в весенне-зимний сезон. Повторное цветение происходит в летний сезон. В условиях оранжереи отмечается низкий синхронизм цветения, т.е. цветение происходит не в определенном временном интервале (декада, месяц), а меняется из года в год. Так массовое цветение в 2017 году отмечали в конце третьей декады марта, в 2018 – во второй декаде июня и во второй декаде декабря, в 2020 - в первой декаде апреля. Продолжительность цветения сильно варьирует в зависимости от года и составляет (54±18) дней.

Плодоношение наблюдается не каждый год. Ввиду отсутствия насекомых – опылителей, доля плодов составляет менее 1% от количества отцветших цветов. Первые завязи образуются через 41- 55 дней после начала цветения. Период от массового цветения до массового плодоношения составляет 308 дней.

C. sinensis полностью проходит все фенологические фазы развития. Длина годичного прироста составляет (28,3±4,9) см. Побегообразовательная способность средняя.

Данный вид поражается мучнистым червецом и сажистым грибком. Для поддержания оптимального фитосанитарного состояния проводятся регулярные обработки, включающие применение инсектицидов, регуляторов роста и микроудобрений.

В условиях оранжереи массовое цветение приходится в основном на 3-ю декаду марта. Однако в отдельные годы наблюдали цветение в 1-ой декаде апреля, 3-ей декаде января. Продолжительность цветения в среднем составляет (53±6) дней. В условиях оранжереи цветение чаще всего наблюдается один раз в год, однако с периодичностью в 2-3 года отмечали повторное цветение. Первые завязи образуются через 22-31 день после начала цветения. Период с начала созревания до массового созревания плодов составляет 69 дней. Период от массового цветения до массового плодоношения составляет 252 дня.

ВЫВОДЫ

Показатели побегообразовательной способности и длины ежегодного прироста побегов позволяют сделать вывод, что в условиях оранжереи *C. limon* и *C. sinensis* способны сохранять присущую им жизненную форму и габитус. Также оба вида хорошо развиваются, о чем говорит характер прохождения фенологических фаз. Подводя итог, можно сказать, что в условиях оранжерейно-тепличного комплекса ФГБНУ ВИЛАР выращивание *C. limon* и *C. sinensis* проходит успешно.

Работа выполнена в рамках темы НИР «Научное формирование, сохранение и изучение биоколлекций генофонда различного направления с целью создания новых лекарственных средств и оздоровления среды обитания человека» (№ FNSZ -2019-0008) с использованием биоколлекции тропических и субтропических растений Ботанического сада ФГБНУ ВИЛАР.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Zibaee, E. Citrus species: A Review of Traditional Uses, Phytochemistry and Pharmacology/ S. Kamalian, M. Tajvar, M.S. Amiri, M. Ramezani, A.T. Moghadam, S.A. Emami, A. Sahebkar // Curr. Pharm. Des. – 2020. – Vol.26, Iss. 1 – P.44-97.
2. Цицилин, А.Н. Особенности пополнения биоколлекций ботанического сада лекарственных растений ВИЛАР за последние 20 лет/А.Н. Цицилин // Перспективы лекарственного растениеведения. (1-2 ноября 2018, ВИЛАР, Москва). – Москва, 2018. – С. 75-80.
3. India Biodiversity Portal . – URL: https://indiabiodiversity.org/species/show/281230 (дата обращения: 10.04.2021). – Яз. англ. – Режим доступа: свободный. – Текст: электронный
4. Flora of Pakistan. – URL: http://www.efloras.org/florataxon.aspx?flora_id=5&taxon_id=200012435 (дата обращения: 10.04.2021). – Яз. англ. – Режим доступа: свободный. – Текст: электронный
5. Iglesias, D. J. Physiology of citrus fruiting/ D.J. Iglesias, M. Cercos, J.M. Colmenero-Flores, M.A. Naranjo, G. Rios, E. Carrera, O. Ruiz-Rivero, I. Lliso, R. Morillon, F.R. Tadeo, M. Talon // Braz. J. Plant Physiol. – 2007. – 19(4). – P. – 333-362.
6. Методика фенологических наблюдений в ботанических садах СССР / Совет ботан. садов СССР. – М. : ГБС АН СССР, 1975. – 27 с.
7. Зайцев, Т.Н. Математическая статистика в экспериментальной ботанике / Г.Н. Зайцев - М.: Наука, 1984. - 424 с.

SPECIES OF THE GENUS CITRUS IN THE ALL-RUSSIAN SCIENTIFIC RESEARCH INSTITUTE OF MEDICINAL AND AROMATIC PLANTS BOTANICAL GARDEN COLLECTION OF TROPICAL AND SUBTROPICAL PLANTS

Zapova I. O.[a], Merkulova N. B.

FGBSI All-Russian Scientific Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants, Russia, Moscow, Grina strite, 7, 117216

a) corresponding author – bot.gard.vilar@yandex.ru

Abstract. *Citrus* has an influence of economic, society and culture all over the world. Species of this genus are used in traditional medicine in many countries, which gave reason to include it in the collection of the All-Russian Scientific Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants botanical garden. The article provides a description of the biological representatives of some species of the genus citrus in the greenhouse complex conditions. Namely considered are the phenological phases, the annual growth of shoots, and the shoot-forming ability. The studied species go through all phenological phases, have an average shoot-forming ability, and form an annual growth: *Citrus limon* (L.) Osbeck - (12.8 ± 4.3) cm; *Citrus sinensis* (L.) Osbeck - (28.3 ± 4.9) cm. Based on the data obtained, it can be concluded that the cultivation is successfully. The work was performed in accordance with the research topic

Keywords: *Citrus, phenological phases, annual growth, shoot-forming ability, collection of FGBSI All-Russian Scientific Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants.*

УДК: 633.88 DOI: 10.52101/9785870191003_2021_38

КОЛЛЕКЦИЯ ДУРМАНА ОБЫКНОВЕННОГО (*DATURA STRAMONIUM* L.) ФГБНУ ВИЛАР И ПЕРСПЕКТИВЫ ЕЁ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В СЕЛЕКЦИИ

к.б.н. Тоцкая С. А., к.б.н. Грязнов М. Ю.[a)]

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений (ФГБНУ ВИЛАР), Россия, Москва, ул. Грина, 7, 117216

а) автор для переписки – selectionvilar@yandex.ru

Аннотация. Цель исследования - изучить по хозяйственно-полезным и описать по морфологическим признакам биоколлекцию дурмана обыкновенного - *Datura stramonium* L. - для дальнейшей селекционной работы с целью создания сорта. В коллекционном и селекционном питомнике первого года применяли двустрочную схему посева с междурядьями 120 см и расстоянием между строками 60 см. Коллекция *Datura stramonium* L. ВИЛАР включает три разновидности: *D. stramonium var. godronii* (Danert) hort., *D. stramonium var. stramonium* Geras. и *D. stramonium var. inermis* (Jacq.) Lund. По результатам испытания лучшими по продуктивности листьев оказались селекционные номера разновидности *D. stramonium var. godronii* (Danert) hort. из группы № 1-13, сочетающие раннее созревание и высокую облиственность. Необходимо вовлечение в селекционный процесс в том числе коллекционных образцов разновидности *D. stramonium var. stramonium* Geras., имеющих шипы на плодах и содержание алкалоидов в листьях, соответствующее ГФ XIV.

Ключевые слова: *Datura stramonium* L., *биоколлекция, признак, селекция, продуктивность*

ВВЕДЕНИЕ

Дурман обыкновенный (*Datura stramonium* L.) - однолетнее травянистое растение семейства Паслёновые (*Solanaceae*) до 1,5 м высотой. Ареал дурмана охватывает почти всю Европу, Западную, Центральную и Среднюю Азию. Листья дурмана содержат аминокислоты, фенолкарбоновые кислоты и дубильные вещества [1-2]. Во всех частях растения содержатся алкалоиды: в листьях и семенах - 0,2-0,6 %, основные из них - гиосциамин (50-88%) и скополамин. В медицине используют листья дурмана обыкновенного, которые входят в состав противоастматического сбора [3-4]. Качество сырья регламентируется ГФ XIV издания ФС.2.5.0072.18 «Дурмана обыкновенного листья» и предусматривает содержание суммы алкалоидов в пересчете на гиосциамин не менее 0,20 и не более 0,25 % [5]. Растение культивировалось в Краснодарском крае, средняя урожайность сухого листа достигает 12 ц/га.

Ранее был изучен устьичный аппарат листа разновидности *D. stramonium var. godronii* (Danert) hort. биоколлекции ВИЛАР - клетки эпидермиса листьев на верхней стороне имеют слабо выраженную извилистость клеточных стенок, на нижней стороне сильнее. Устьица у *Datura stramonium* L. расположены на обеих сторонах листа (на нижней их больше в 1,5-2 раза) [6].

Цель настоящего исследования - изучить по хозяйственно-полезным и описать по морфологическим признакам биоколлекцию дурмана обыкновенного для дальнейшей селекционной работы с целью создания сорта.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы

Полевые опыты проводили в 2018-2019 гг. на полях отдела агробиотехнологии ВИЛАР.

Почва участка тяжёлая суглинистая: гумус (по Тюрину) – 2,23 %, массовая доля азота нитратов – <2,80 млн-1, массовая доля соединений фосфора (по Кирсанову) P_2O_5 – 386,28

мг/кг, K_2O – 87,7 мг/кг (по Масловой), сумма поглощенных оснований (по Каппену) – 6,3 ммоль/100г, pH солевой – 5,15. Предшественник: чистый пар.

Материалом послужила коллекция ВИЛАР дурмана обыкновенного *Datura stramonium* L., состоящая из 10 образцов 3-х разновидностей.

В 2018 году в коллекционном питомнике было высеяно 10 номеров. Площадь делянки 10 $м^2$, без повторностей. Для посева были использованы семена дурмана коллекции ФГБНУ ВИЛАР урожая 2013 года. Селекционный питомник первого года, состоящий из 14 бесшипных образцов, был заложен в 2019 году семенами урожая 2018 года. Площадь делянки 10 $м^2$, без повторностей.

В коллекционном и селекционном питомнике первого года применяли двустрочную схему посева с междурядьями 120 см и расстоянием между строками 60 см. Посев: весенний, ручным способом. Глубина заделки семян 2 см. Норма высева семян 5 кг/га.

Содержание алкалоидов в воздушно-сухом сырье (листья) определяли в соответствии с методикой, прописанной в ГФ XIV издания ФС.2.5.0072.18. «Дурмана обыкновенного листья».

Методы

Прорастание семян дурмана начинается при 15 °С, вегетация продолжается до заморозков. В фазу всходов проводили букетировку с вырезами 35 см и размером букета 10 см, а в фазу 3-4 листьев прореживание букетов с оставлением 2-х растений. Уборку листьев проводили по мере созревания, при появлении плодов на первой развилке, 3-4 раза за сезон.

Полевые опыты и статистическую обработку опытных данных проводили по общепринятым методикам [7].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В 2018 году весенний посев был проведён 8 мая. Всходы появились на 16-й день - 24 мая, начало бутонизации отмечено 24-25 июня. Созревание плодов наступило 13 сентября – у раннеспелых; 24 сентября – у позднеспелых форм.

По результатам наблюдений и учётов, а также содержанию в сухом сырье (траве) алкалоидов были отобраны растения для дальнейшей селекционной работы, семенами которых был заложен селекционный питомник (СП-1) в 2019 году.

С целью разработки методики на отличимость было проведено описание коллекции по морфологическим признакам (табл. 1, 2). Типичные признаки были выбраны из «Общих положений методики по испытанию селекционных достижений на отличимость, однородность и стабильность» [8].

Таблица 1 - Степень выраженности признаков и содержание алкалоидов коллекции дурмана обыкновенного (№№ 1-13 - 5-13)

Признак	№ 1-13	№ 2-13	№ 3-13	№ 4-13	№ 5-13
Растение: высота	высокое	ниже среднего	ниже среднего	высокое	среднее
Растение: габитус	среднее	раскидистое	раскидистое	от компактного до среднего	среднее
Стебель: плотность листьев	плотные	редкие	средние	плотные	средние
Стебель: интенсивность антоциановой окраски	средняя	нет	нет	сильная	нет
Стебель: опушение	слабое	нет	нет	слабое	нет
Лист: интенсивность зелёной окраски	тёмная	средняя	средняя	тёмная	средняя

Лист: волнистость	сильная	средняя	средняя	сильная	сильная
Бутон: наличие антоциановой окраски	есть	нет	нет	есть	нет
Цветок: окраска венчика	светло-фиолетовый	белый	белый	светло-фиолетовый	белый
Цветок: окраска пыльников	синий	бежевый	бежевый	синий	бежевый
Коробочка: наличие шипов	нет	есть	есть	нет	есть
Срок созревания семян	поздний	поздний	средний	средний	поздний
Высота, см	120±11,3	85±7,6	75±7,1	130±11,9	100±9,8
Сумма алкалоидов в воздушно-сухом сырье в пересчете на гиосциамин, %	0,33±0,016	0,36±0,019	0,37±0,018	0,80±0,031	0,32±0,028

У различных образцов биоколлекции были отмечены некоторые особенности в окраске венчика:

- № 1-13 внутри имеются фиолетовые продольные полосы до ½ высоты венчика; по краям – бледно-сиреневый, однородный; снаружи – бледно-фиолетовый;
- № 2-13 – венчик снаружи кремового цвета, при распускании становится белым;
- № 4-13 - внутри венчик фиолетовый, по краям – бледно-сиреневый, с более темными точками;
- №10-13 - внутри венчик фиолетовый, по краям – бледно-сиреневый, однородный.

Таблица 2- Степень выраженности признаков и содержание алкалоидов коллекции дурмана обыкновенного (№№ 6-13 - 10-13)

Признак	№ 6-13	№ 7-13	№ 8-13	№ 9-13	№ 10-13
Растение: высота	высокое	высокое	выше среднего	среднее	низкое
Растение: габитус	среднее	раскидистое	от среднего до раскидистого	от среднего до раскидистого	компактное
Стебель: плотность листьев	ниже среднего	средние	выше среднего	ниже среднего	плотные
Стебель: интенсивность антоциановой окраски	нет	нет	нет	нет	средняя
Стебель: опушение	слабое	нет	нет	нет	слабое
Лист: интенсивность зелёной окраски	средняя	средняя	средняя	светлая	тёмная
Лист: волнистость	выше средней	сильная	средняя	ниже средней	средняя
Бутон: наличие антоциановой окраски	нет	нет	нет	нет	есть
Цветок: окраска венчика	белый	белый	белый	белый	светло-фиолетовый
Цветок: окраска пыльников	бежевый	бежевый	бежевый	бежевый	синий

Коробочка: наличие шипов	есть	есть	есть	есть	нет
Срок созревания семян	средний	ранний	средний	ранний	средний
Высота, см	105±10,5	110±12,1	110±11,4	90±9,7	90±9,3
Сумма алкалоидов в воздушно-сухом сырье в пересчете на гиосциамин, %	0,84± ±0,081	0,48±0,060	0,49±0,048	1,15±0,092	0,44±0,043

В процессе наблюдений и изучения коллекции было выявлено, что №№ 2-13; 3-13; 6-13; 7-13; 8-13; 9-13 коллекции относятся к разновидности *D. stramonium var.stramonium* Geras. Растения этих образцов отличаются белой окраской венчика, зелеными стеблями и наличием на плодах шипов. Образцы под №№ 1-13, 4-13 и 10-13 были отнесены нами к разновидности *D. stramonium var. godronii* (Danert) hort. – их растения имели фиолетовую окраску венчика, фиолетовые стебли, шипы на плодах отсутствовали.

В коллекционном питомнике 2018 года были проведены индивидуальные отборы по хозяйственно-ценным признакам: высоте, облиственности, срокам созревания.

Дурман обыкновенный как самоопылитель не требует пространственной изоляции при селекционно-семеноводческой работе с ним.

В 2018 году у № 10-13 наблюдалось выщепление бесшипных особей с белыми цветками и зелеными стеблями (разновидность *D. stramonium var.inermis* (Jacq.) Lund.).

В коллекционном питомнике был проведен индивидуальный отбор растений из коллекционных номеров, имеющих бесшипные коробочки (№№ 1-13, 4-13 и 10-13). По результатам наблюдений и учётов, а также содержанию в сухом сырье (траве) алкалоидов были отобраны растения для дальнейшей селекционной работы, семенами которых в 2019 году заложен селекционный питомник первого года (СП-1). Индивидуальный отбор проводили по следующим признакам: облиственность, тип (форма) куста, срок начала цветения и созревания семян, продуктивность листьев и семян. В 2018 году у №10-13 наблюдалось выщепление растений с белыми цветками (разновидность *D. stramonium var.inermis* (Jacq.) Lund). Растения с фиолетовым венчиком относят к разновидности *D. stramonium var. godronii* (Danert) hort. Семена с растений бесшипной формы дурмана с венчиком белого цвета также были высеяны в селекционном питомнике (СП-1) 2019 года.

В 2019 году селекционный питомник дурмана обыкновенного был заложен семенами урожая 2018 года. Всего высеяно 14 селекционных номеров бесшипных образцов, разделенных на несколько групп по внешним морфологическим признакам в соответствии с коллекционным номером, из которого был произведен индивидуальный отбор (табл. 3).

Таблица 3 - Степень выраженности признаков и содержание алкалоидов селекционных номеров в селекционном питомнике дурмана обыкновенного по группам

Признак	Группы коллекционных образцов		
	№ 1	№ 4	№ 10
Растение: высота	высокое	высокое	низкое
Растение: габитус	среднее	от компактного до среднего	компактное
Стебель: плотность листьев	плотные	плотные	плотные
Стебель: интенсивность антоциановой окраски	средняя	сильная	средняя
Стебель: опушение	слабое	слабое	слабое

Лист: интенсивность зелёной окраски	тёмная	тёмная	тёмная
Лист: волнистость	сильная	сильная	средняя
Бутон: наличие антоциановой окраски	есть	есть	есть
Цветок: окраска венчика	внутри фиолетовые продольные полосы до ½ высоты; по краям – бледно-сиреневый, однородный, снаружи – бледно-фиолетовый	внутри фиолетовый, по краям – бледно-сиреневый, с более темными точками	внутри фиолетовый, по краям – бледно-сиреневый, однородный
Цветок: окраска пыльников	синий	синий	синий
Коробочка: наличие шипов	нет	нет	нет
Срок созревания семян	поздний	средний	средний
Высота, см	60±5,4	65±5,8	45±4,2
Сумма алкалоидов в воздушно-сухом сырье в пересчете на гиосциамин, %	0,33±0,016	0,80±0,031	0,44±0,043

В 2019 году весенний посев был проведён 8 мая. Начало фазы всходов отмечено на 18-й день - 26 мая, полные всходы – 29 мая; начало бутонизации отмечено в I-II декаде июля, на 10-20 суток позднее, чем в 2018 году. В фазу цветения растения опытных вариантов вступили в III декаде июля – I декаде августа. Всходы в текущем году были очень неравномерными, так у растений из группы №10-13 делянки были значительно изрежены. Кроме того, массового созревания семян ко II декаде октября не наблюдалось. Созревание плодов наступило 10 октября – у раннеспелых форм (селекционные номера 1-1-18, 1-2-18, 1-3-18; у позднеспелых форм (селекционные номера 4-1-18, 4-2-18 и 4-3-18) – к 20 октября ещё не наступило.

В 2019 году в селекционном питомнике были проведены учеты по некоторым хозяйственно-ценным признакам, результаты представлены в таблице 4.

Таблица 4 - Характеристика селекционных образцов дурмана обыкновенного по хозяйственно-ценным признакам

№№	высота, см	число ветвей 2-го и последующих порядков	облиственность %	срок созревания семян	продуктивность воздушно-сухих листьев, г
1-1-18	60±5,0	12±2,3	73±2,2	ранний	41,2±2,08
1-2-18	61±4,2	10±1,8	70±2,3	ранний	39,1±1,70
1-3-18	59±4,2	11±2,0	71±2,0	ранний	42,5±2,30
1-общ	60±5,5	11±1,9	72±2,2	средний	35,9±1,91
4-1-18	70±5,0	7±1,5	65±2,1	поздний	29,6±3,10
4-2-18	72±5,0	8±2,0	63±2,0	поздний	31,3±3,11
4-3-18	71±4,9	9±1,9	64±1,3	поздний	30,5±2,90
4-общ	65±5,0	8±1,8	64±2,0	поздний	33,1±2,51
10-ф-1	49±3,9	14±0,9	68±2,2	средний	35,0±1,91
10-ф-2	48±3,8	14±1,5	67±2,0	средний	29,8±2,05
10-ф-3	45±3,5	12±1,8	68±1,9	средний	31,6±1,72
10-фобщ	45±3,5	12±2,0	65±2,3	средний	30,1±1,65
10-б-1	40±3,0	7±1,5	60±1,9	поздний	29,0±1,50
10-б-2	45±3,0	8±1,2	65±2,4	средний	31,5±1,29

Размер листьев у селекционного номера 1-общ в фазу массового цветения и начала формирования плодов составил (180±15х130±18) мм, у №4-общ – (185±10х180±8) мм, № 10-б-1 – (145±15х120±10) мм и № 10-б-2 – (170±15х160±11) мм. Высота растений изученных селекционных образцов в 2019 году была практически в два раза ниже, чем в 2018 году, что вероятно, объясняется острым дефицитом влаги в период роста и формирования боковых побегов второго и последующих порядков ветвления.

ВЫВОДЫ

По результатам испытания лучшими по продуктивности воздушно-сухих листьев оказались селекционные номера из группы №1-13, сочетающие раннее созревание и высокую облиственность.

В ФС.2.5.0072.18 «Дурмана обыкновенного листья» (ГФ XIV издания) были изменены требования в сравнении с XI изданием, в связи с чем необходим пересмотр селекционных номеров, находящихся в испытании, корректировка и вовлечение в селекционный процесс в том числе коллекционных образцов под №№2-13; 3-13; (5-13)-(9-13) разновидности *D. stramonium var. stramonium* Geras., имеющих шипы на плодах и содержание алкалоидов в листьях, соответствующее ГФ XIV.

Работа выполнена в рамках темы НИР АААА-А18-118092590053-7 (0576-2019-0007) «Мониторинг биоразнообразия».

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Крайнюк, Е.С. Дурман обыкновенный (*Datura stramonium* L.) / Е.С. Крайнюк // Растения Крыма: прелестные соседи. Серия «Природная кладовая Крыма». – Симферополь, 2016. – С. 408-409.
2. Крайнюк, Е.С. Дурман обыкновенный / Е.С. Крайнюк // Растения Крыма: коварные друзья. Серия «Природная кладовая Крыма». – Ялта, 2011. – С. 93-94.
3. Хасанова Д.А. Лекарственное растение дурман // Биология и интегративная медицина. – 2016. – № 2. – С. 154-161.
4. Пряхина, Н.И. К фитохимическому изучению дурмана обыкновенного / Н.И. Пряхина, М.И. Блинова, Е.П. Илларионова // III Гаммермановские чтения (Санкт-Петербург, 31 января – 3 февраля 2017 г.). – Санкт-Петербург, 2017. – С.108-110.
5. Государственная Фармакопея РФ XIV ФС.2.5.0072.18 «Дурмана обыкновенного листья». –Москва, 2018. – Т. IV. – С. 6034-6039.
6. Савченко, О.М. Особенности строения эпидермы листьев бесшипных разновидностей дурмана обыкновенного биоколлекции ВИЛАР / О.М. Савченко, С.А. Тоцкая // Вестник КрасГАУ. – 2020. – № 9. – С. 101-107.
7. Проведение полевых опытов с лекарственными культурами. Лекарственное растениеводство: Обзорная информация. Под редакцией Хотина А.А. – М.: ЦБНТИмедпром. – 1981. – № 1. – 55 с.
8. «Общие положения методики по испытанию селекционных достижений на отличимость, однородность и стабильность» // Официальный бюллетень ГК РФ по испытанию и охране селекционных достижений. – 1994. – №12. – С.192-220.

A COLLECTION OF DATURA STRAMONIUM L. FROM ALL-RUSSIAN RESEARCH INSTITUTE OF MEDICINAL AND AROMATIC PLANTS AND PROSPECTS OF ITS USE IN BREEDING

Ph.D. in Biology Totskaya S., Ph.D. in Biology Grjaznov M. [a)]
All-Russian research Institute of medicinal and aromatic plants, Moscow, Russia, Grina, 7, 117216
a) corresponding author – selectionvilar@yandex.ru

Abstract. The aim of the study was to study the bio-collection of *Datura stramonium* L. for further breeding work in order to create a variety based on its economic and useful properties and morphological characteristics. In the collection and breeding nursery of the first year, a two-line sowing scheme was used with row spacing of 120 cm and a distance between rows of 60 cm. The *Datura stramonium* L. VILAR collection includes three varieties: *D. stramonium var. godronii* (Danert) hort., *D. stramonium var. stramonium* Geras. and *D. stramonium var. inermis* (Jacq.) Lund. According to the results of the test, the best in terms of leaf productivity were the selection numbers of the variety *D. stramonium var. godronii* (Danert) hort. from group № 1-13, combining early maturation and high leafiness. It is necessary to involve in the breeding process, including collection samples of the variety *D. stramonium var. stramonium* Geras., which have thorns on the fruits and the content of alkaloids in the leaves corresponding to The State Pharmacopoeia of the Russian Federation (14th edition).GF XIV.

Keywords: *Datura stramonium L., bio-collection, features, selection, productivity*

УДК 581.41 DOI: 10.52101/9785870191003_2021_45

ФИТОМАССА *FILIPENDULA ULMARIA* (L.) MAXIM. В РАСТИТЕЛЬНЫХ СООБЩЕСТВАХ ЮЖНОЙ ТАЙГИ КИРОВСКОЙ ОБЛАСТИ

к.б.н. Егорова Н. Ю.[1, 2, a)], к.б.н. Сулейманова В. Н.[1, 2], Ярославцев А. В.[1]

1 - Всероссийский научно-исследовательский институт охотничьего хозяйства и звероводства им. Б. М. Житкова, Россия, г. Киров, ул. Преображенская, 79, 610000

2 - Вятский государственный агротехнологический университет, Россия, г. Киров, Октябрьский проспект, 133, 610017

а) автор для переписки – n_chirkova@mail.ru

Аннотация. *Filipendula ulmaria* обладает широким спектром фармакологической активности, используется в народной медицине для лечения различных заболеваний. Целью настоящей работы является изучение урожайности надземной фитомассы лабазника вязолистного (*Filipendula ulmaria* (L.) Maxim.) и выявление перспективных для заготовки и использования в качестве сырьевого источника фитоценозов. Исследования проводились в 2020 г. в 4 фитоценозах с доминированием *F. ulmaria* в травяном покрове: на двух пойменных лугах (пойма р. Вятка), на зарастающей разнотравьем вырубке, в березняке пойменно-травяном. Флористический состав живого напочвенного покрова изученных местообитаний *F. ulmaria* отличается не высокой видовой насыщенностью (17-28 видов). Рассматриваемые биоморфопараметры *F. ulmaria* характеризуются уровнем изменчивости от низкого до высокого. Наиболее высокорослые побеги изучены в условиях таволгово-вейникового пойменного луга (ПП 1). Длина соцветия сильно изменяется от 3,0 до 26,0 см. Максимальные показатели сырой надземной фитомассы установлены для разнотравно-таволгово-злакового пойменного луга (ПП 2) – 1020,5 г/ м^2, минимальные – на зарастающей вырубке из-под сосняка травяного вейниково-снытево-разнотравная (ПП 4).

Ключевые слова: *фитомасса, урожайность, фитоценоз, Filipendula ulmaria, Кировская область*

ВВЕДЕНИЕ

Обеспечение населения России эффективными и безопасными лекарственными препаратами является одной из приоритетных задач в сфере фармации, что определено и в Стратегии лекарственного обеспечения населения РФ до 2025 года и Стратегии развития фармацевтической промышленности Российской Федерации до 2030 года. При этом особо отмечается актуальность применения и разработки лекарственных препаратов на основе растительного сырья, как имеющих относительно низкий риск развития аллергии, более мягкий терапевтический эффект и безопасность [1-2].

Перспективной группой видов, обладающих широким спектром фармакологической активности, являются представители рода *Filipendula*, который включает более 20 таксонов. На территории России встречаются одиннадцать таксонов этого рода [3]. В Европейской части России наиболее широко распространен лабазник вязолистный (*Filipendula ulmaria* (L.) Maxim.).

Filipendula ulmaria (L.) Maxim. – короткокорневищный травянистый поликарпик из сем. *Rosaceae*. Вид распространен в Европе, Малой и Средней Азии, в Западной и Восточной Сибири, Северной Монголии по берегам водоемов, на низинных лугах и травяных болотах, во влажных лесах, на суходольных лугах, в березовых колках, по опушкам лесов, на вырубках [4].

Filipendula ulmaria широко используется в народной медицине. Как наружное средство отвар травы и корневищ употребляются для лечения различных кожных заболеваний [5].

Достаточно высока трофическая роль *F. ulmaria*. Этот вид является кормовым объектом для многих диких животных [6].

К настоящему времени в литературе представлены результаты, касающиеся изучения химического состава и биологически активных веществ *F. ulmaria*, применения в медицине [7-11], культивирования [12]. Значительно менее многочисленны исследования ресурсных параметров данного вида на территории России.

Целью настоящей работы является изучение урожайности общей надземной фитомассы и соцветий лабазника вязолистного (*Filipendula ulmaria* (L.) Maxim.) и выявление перспективных для заготовки и использования в качестве сырьевого источника фитоценозов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы

Исследования проводились в 2020 г. в 4 фитоценозах с доминированием *F. ulmaria* в травяном покрове (подзона южной тайги в пределах Кировской области): на двух пойменных лугах (пойма р. Вятка), на зарастающей разнотравьем вырубке, в березняке пойменно-травяном. Далее приводится фитоценотическая характеристика исследуемых местообитаний *F. ulmaria.*

Фитоценоз № 1 (ПП 1) — таволгово-вейниковый пойменный луг, расположен в центральной части поймы р. Вятка. В травяном покрове с общим проективным покрытием 75% преобладают *Calamagrostis epigeios* (L.) Roth, *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim., значительно участие в травостое и других корневищных злаков (*Phleum pratense* L., *Alopecurus pratensis* L., *Bromopsis inermis* (Leyss.) Holub, *Dactylis glomerata* L., *Agrostis tenuis* Sibth.). Доля участия видов разнотравья составляет 3-5% (*Achillea millefolium* L., *Plantago major* L., *Rumex crispus* L.).

Фитоценоз № 2 (ПП 2) — разнотравно-таволгово-злаковый пойменный луг, расположен в нижней части поймы р. Вятка. Доминантами травяного яруса (проективное покрытие 90%) являются *Festuca pratensis* Huds., *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim., *Thalictrum flavum* L., *Equisetum arvense* L., *Galium mollugo* L., *Geranium pratense* L., *Veronica longifolia* L.

Фитоценоз № 3 (ПП 3) — березняк пойменно-травяный, расположен в центральной части поймы р. Быстрица. В травяно-кустарничковом ярусе доминируют *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim., *Vaccinium myrtillus* L., *Rubus saxatilis* L., *Rubus arcticus* L., *Thelypteris palustris* Schott, *Vaccinium vitis-idaea* L. В подлеске присутствуют *Sorbus aucuparia* L., *Salix cinerea* L., *Rosa acicularis* Lindl., *Frangula alnus* Mill., *Rubus idaeus* L. Общее проективное покрытие травяно-кустарничкового яруса – 60%.

Фитоценоз № 4 (ПП 4) — зарастающая вырубка из-под сосняка травяного вейниково-снытево-разнотравная. В травяном покрове с общим проективным покрытием 80% преобладают следующие виды – *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim., *Aegopodium podagraria* L., *Trifolium pratense* L., *Vicia cracca*L., *Dactylis glomerata* L., *Fragaria vesca* L., *Bromopsis inermis* (Leyss.) Holub., *Campanula patula* L. В подлеске отмечены *Chamaecytisus ruthenicus* (Fisch. ex Woloszcz.) Klásk. и *Rosa majalis* Herrm.

Методы

Геоботанические описания исследованных фитоценозов выполняли согласно общепринятым геоботаническим методам. Латинские названия растений приведены согласно базе данных Plants of the World Online [3]. Экологические параметры растительных сообществ определяли с использованием фитоиндикационных экологических шкал Г. Элленберга [13]. При ресурсных исследованиях использовали общепринятые рекомендации, терминологию и методики определения продукционных характеристик травянистых растений. Оценку биомассы проводили методом учетных площадок в период массового цветения вида. Для этого на наиболее типичном участке исследуемого фитоценоза закладывали по 20 учетных площадок размером 1 м^2. Затем все растения в пределах учетной площадки срезали на уровне почвы, полученную массу взвешивали. На каждой учетной площади определялись и

некоторые морфометрические параметры генеративных особей: длина надземного побега (см), длина соцветия (см), масса соцветия (г). Статистическая обработка полученных данных и построение графиков выполнены в программе StatSoft STATISTICA for Windows 6.0. Оценку изменчивости изучаемых признаков проводили по значению коэффициента вариации [14]: C_v<7% - очень низкий, C_v=7-15% - низкий, C_v=16-25% – средний, C_v=26-35% – повышенный, C_v=36-50% – высокий, C_v>50% – очень высокий уровень.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Флористический состав живого напочвенного покрова изученных местообитаний *F. ulmaria* изменяется от 17 до 28 видов. Пойменные луговые ассоциации (ПП 1, 2) характеризуются более низким видовым разнообразием – 18-20 видов. Условия увлажнения в исследуемых растительных сообществах с *F. ulmaria* колеблются от средне влажных (ПП 1, 4) до влажных (ПП 2, 3) (6-я ступень шкалы Элленберга). Местообитания вида по шкале кислотности почв характеризуются как умеренно кислые (ПП 3), слабокислые (ПП 1, 4) и нейтральные (ПП 2) (6-я ступень шкалы Элленберга). По общему запасу питательных веществ (N, K, P, Mg) в почве все рассматриваемые биотопы отличает умеренная обеспеченность биогенными элементами (5-я ступень шкалы Элленберга).

В результате исследования морфометрических параметров *F. ulmaria* в различных условиях обитания (рисунок 1) установлено, что такой признак как длина репродуктивного побега изменяется в пределах от 22 до 166 см в зависимости от фитоценоза.

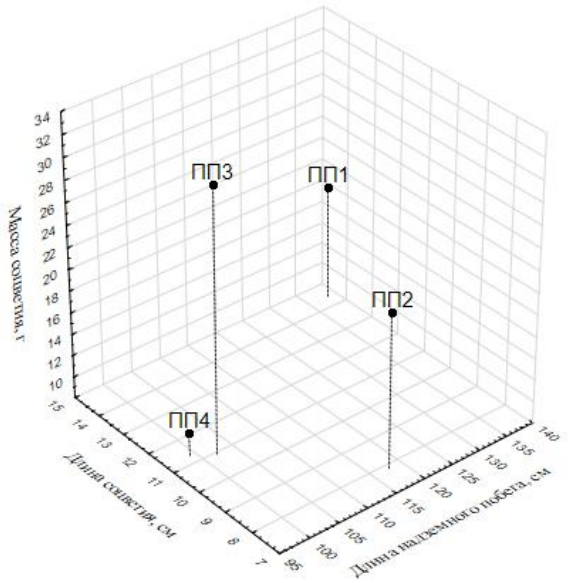


Рисунок 1 – Распределение исследуемых фитоценозов с участием *Filipendula ulmaria* по морфометрическим параметрам

**Примечание: здесь и далее на рис. 2, 3 приняты следующие обозначения – ПП 1 – таволгово-вейниковый пойменный луг, ПП 2 – разнотравно-таволгово-злаковый пойменный луг, ПП 3 – березняк пойменно-травяный, ПП 4 – зарастающая вырубка из-под сосняка травяного вейниково-снытево-разнотравная.*

Наиболее высокорослые побеги изучены в условиях таволгово-вейникового пойменного луга (ПП 1) – 138,4 см, несколько ниже среднее значение этого признака установлено в ПП 2 – 117,8 см. Минимальные параметры длины зафиксированы в ПП 3 и 4 – 102,5 и 99,3 см. Данный признак в ПП 1, 3 имеет низкий уровень изменчивости (CV-14,7-15,2 %), в ПП 2, 4 длина генеративного побега отличается средней изменчивостью (CV-17,8-20,9 %). Длина соцветия характеризуется также достаточно широким диапазоном изменчивости: от 3,0 до 26,0 см. Наиболее крупные соцветия формируются у особей в ПП 1 – 14,4 см. В ПП 3 среднее значение длины соцветия составляет 10,9 см, в ПП 4 – 11,3 см. Минимальные

размеры соцветия зафиксированы в ПП 2 – 7,8 см. Длину соцветия отличает высокая изменчивость (CV-36,2-40,1 %).

Для оценки ресурсного потенциала рассматриваемых фитоценозов с *F. ulmaria* определялись урожайность надземной биомассы растений (сырой вес) (рисунок 2) и урожайность соцветий (сырой вес) (рисунок 3).

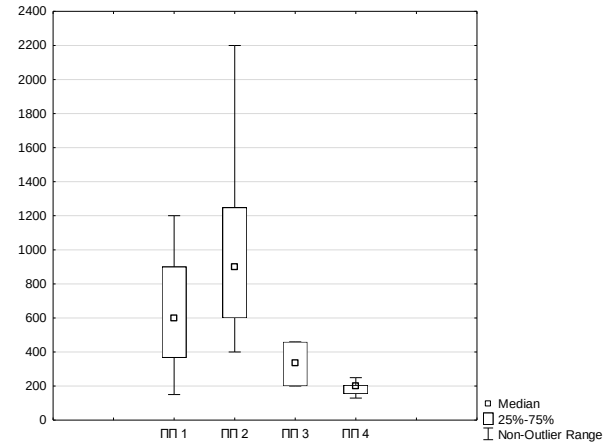


Рисунок 2 – Урожайность надземной фитомассы *Filipendula ulmaria* в исследуемых фитоценозах (сырой вес, г/м^2)

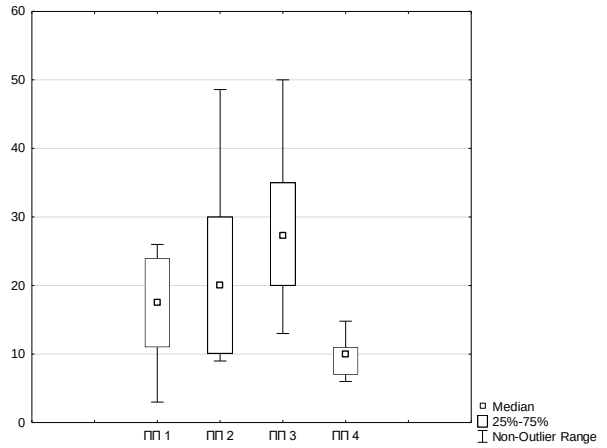


Рисунок 3 – Урожайность соцветий *Filipendula ulmaria* в исследуемых фитоценозах (сырой вес, г/м^2)

Максимальные показатели урожайности сырой надземной фитомассы установлены для разнотравно-таволгово-злакового пойменного луга (ПП 2) – 1020,5 г/м^2. В условиях таволгово-вейникового пойменного луга (ПП 1) этот показатель составляет 636,4 г/м^2, в березняке пойменно-травяном (ПП 3) – 470,0 г/м^2. По данным Л. В. Рыжовой, И. В. Ибраева [15] в пойменных лугах р. Большая Кокшага урожайность *F. ulmaria* (надземная биомасса) достигает менее высоких значений – 226-237 г/м^2. Минимальными показателями фитомассы характеризуется зарастающая вырубка из-под сосняка травяного вейниково-снытево-разнотравная (ПП 4) – 186,7 г/м^2.

Урожайность соцветий *F. ulmaria* в исследуемых растительных сообществах колеблется от 3 до 90 г/м^2 (рисунок 3), что несколько ниже приводимых Н. Б. Фадеевым [16] данных – 80-250 г/м^2. Наиболее высокие значения данного показателя зафиксированы в березняке пойменно-травяном (ПП 3) – 32,3 г/м^2, несколько ниже масса соцветий в разнотравно-таволгово-злаковом пойменном луге (ПП 2) – 22,4 г/м^2 и таволгово-вейниковом пойменном луге (ПП 1) – 18,6 г/м^2. Наименее высокие показатели урожайности сырья зарегистрированы во вторичном сообществе (вырубка из-под сосняка травяного вейниково-снытево-разнотравная) – 10,2 г/м^2.

ВЫВОДЫ

Таким образом, флористический состав живого напочвенного покрова изученных местообитаний *F. ulmaria* отличается не высокой видовой насыщенностью (от 17 до 28 видов). Рассматриваемые биоморфопараметры *F. ulmaria* характеризуются уровнем изменчивости от низкого до высокого. Максимальные показатели сырой надземной фитомассы установлены для разнотравно-таволгово-злакового пойменного луга (ПП 2) – 1020,5 г/ м^2. Самые низкие параметры урожайности надземной фитомассы и соцветий выявлены на зарастающей вырубке из-под сосняка травяного вейниково-снытево-разнотравной (ПП 4).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Башилов, А. В. Салицилаты *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim. / А. В. Башилов // Весці БДПУ. Серыя 3. –2020. – № 1. – С. 20–26.
2. Немерешина, О. Н. Анализ содержания антиоксидантов в надземной части *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim. степной зоны Оренбургской области / О. Н. Немерешина, Н. Ф. Гусев, Т. Н. Суровяткина, А. В. Филиппова // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2020. – № 6 (86). – С. 70-76.
3. Plants of the World Online (http://www.plantsoftheworldonline.org/).
4. Выдрина, С. Н. *Filipendula* Miller – Лабазник // Флора Сибири. *Rosaceae. /* С. Н. Выдрина. – Новосибирск: Наука, 1988. – Т. 8. – С. 97-100.
5. Высочина, Г. И. Биологически активные вещества *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim., произрастающего на Среднем Урале / Г. И. Высочина, Т. А. Кукушкина, Е. С. Васфилова // Химия в интересах устойчивого развития. – 2013. – № 21. – С. 387-393.
6. Леонтьев, Д. Ф. Растительные корма сибирской косули (Capreolus pygargus Pall., 1771) в бассейне р. Голоустной (Южное Предбайкалье) / Д. Ф. Леонтьев, О. П. Виньковская // Известия Иркутского государственного университета. Серия Биология. Экология. 2018. Т. 26. С. 94–101. https://doi.org/10.26516/2073- 3372.2018.26.94
7. Зыкова, И. Д. К вопросу перспективности эфирного масла *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim. как источника метилсалицилата / И. Д. Зыкова, А. А. Ефремов // Сибирский медицинский журнал. – 2012. – №2. – С. 101-102.
8.Зыкова, И. Д. Компонентный состав эфирного масла стеблей, листьев и соцветий *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim. / И. Д. Зыкова, А. А. Ефремов // Химия растительного сырья. – 2011. – №4. – С. 99-102.
9. Мовсумов, И. С. Химические компонентные цветков *Filipendula ulmaria* и *F. vulgaris* из флоры Азербайджана / И. С. Мовсумов, Э. А. Гараев, Д. Ю. Юсифова // Химия растительного сырья. – 2011. – №3. – С. 159-162.
10. Дубашинская, Н. В. Лабазник вязолистный: химический состав и фармакологическая активность **/** Н. В. Дубашинская, А. А. Юркевич **//** Вестник фармации. – №4 (78). – 2017. – С. 55-58.
11.Сазанова, К. Н. Определение антимикробной активности водных и водно-спиртовых извлечений из травы лабазника вязолистного и лабазника шестилепестного / К. Н. Сазанова, С. Х. Шарипова, А. В. Лямин // Аспирантский вестник Поволжья. – 2018. – Т. 18. – №5-6. – С. 22-26. doi: 10.17816/2072-2354.2018.18.3.22-26
12. Гудкова, Н. Ю. О перспективах интродукции представителей рода лабазник (*Filipendula* Mill.*)* в качестве источников лекарственного сырья / Н. Ю. Гудкова // Сельскохозяйственная биология. – 2012. – №2. – С. 73-79.
13. Ellenberg, H. Zeigerwerte der Gefasspflanzen Mitteleuropas / Ellenberg H. Gottingen. – 1974. – 97 s.
14.Мамаев, С. А. Индивидуальная изменчивость признаков листьев у дикорастущих видов костяники / С. А. Мамаев, Н. М. Чуйко // Индивидуальная эколого-географическая изменчивость растений. – Свердловск, 1975. – С. 114-118.
15. Рыжова, Л. В. Состав и биомасса некоторых пойменных лугов заповедника «Большая Кокшага» / Л. В. Рыжова, И. В. Ибраев // Современные проблемы естественных наук и медицины: сборник статей Всероссийской научной конференции, Йошкар-Ола, 18–22 мая 2020 г. – Йошкар-Ола: Марийский гос. ун-т, 2020. — Вып. 9. – С. 207-210.
16. Фадеев, Н. Б. Эколого-фитоценотическая приуроченность и продуктивность лабазника вязолистного (*Filipendula ulmaria* (L.) Maxim.) / Н. Б. Фадеев // Генетические ресурсы лекарственных и ароматических растений. Сборник научных трудов. – Издательство: Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений. – 2004. – С. 70-71.

PHYTOMASS *FILIPENDULA ULMARIA* (L.) MAXIM.) IN PLANT COMMUNITIES OF THE SOUTHERN TAIGA OF THE KIROV REGION

Ph.D. in Biology Egorova N. [1, 2, a)], Ph.D. in Biology Suleymanova V.[1, 2], Yaroslavtsev A.[1]
1 - Professor Zhitkov Russian Research Institute of Game Management and Fur Farming, Russia, Kirov, Preobrazhenskaya str., 79, 610000.
2 - Vyatka State Agrotechnological University, Russia, Kirov, Oktyabrsky Prospekt, 133, 610017
a) corresponding author – n_chirkova@mail.ru

Abstract. *Filipendula ulmaria* has a wide spectrum of pharmacological activity and is used in folk medicine for the treatment of various diseases. The purpose of this work is to study the yield of the aboveground phytomass of the elmberry (*Filipendula ulmaria* (L.) Maxim.) and to identify promising phytocenoses for harvesting and use as a raw source. The research was conducted in 2020 in 4 phytocenoses with the dominance of *F. ulmaria* in the grass cover: on two floodplain meadows (the floodplain of the Vyatka River), on a clearing overgrown with various grasses, in a birch forest of floodplain-grass. The floristic composition of the living ground cover of the studied habitats of *F. ulmaria* is characterized by a low species saturation (17-28 species). The considered biomorphoparameters of *F. ulmaria* are characterized by a level of variability from low to high. The tallest shoots were studied in the conditions of the tavolgovo-veynik floodplain meadow (PP 1). The inflorescence length varies greatly from 3,0 to 26,0 cm. The maximum values of raw phytomass were set for a mixed-grass-meadowsweet-grass floodplain meadow (PP 2) – 1020,5 g / m2, the minimum - on an overgrown clearing from under the grass pine weinikovo-snytevo-raznotravnaya (PP 4).
Keywords: *phytomass, yield, phytocenos, Filipendula ulmaria, Kirov region*

УДК: 633.88 DOI: 10.52101/9785870191003_2021_51

ПЕРВЫЙ ОТЕЧЕСТВЕННЫЙ СОРТ *ACHILLEA FILIPENDULINA* LAM. ЗЛАТОСЛАВ

к.б.н. Грязнов М. Ю. [a)], к.б.н. Тоцкая С. А., к.с-х.н. Савченко О. М.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений (ФГБНУ ВИЛАР), Москва, Россия, Москва, ул. Грина, 7, 117216

а) автор для переписки – selectionvilar@yandex.ru

Аннотация. Статья посвящена первому отечественному сорту тысячелистника таволгового (*Achillea filipendulina* Lam.). Тысячелистник таволговый (*Achillea filipendulina* Lam.) – многолетнее травянистое растение семейства Астровые (*Asteraceae*). Является перспективным для внедрения в культуру в качестве декоративного и лекарственного растения. В 2021 году получен патент № 11357 на сорт тысячелистника таволгового (*Achillea filipendulina* Lam.) «Златослав» декоративного направления использования. Оригинатор сорта – Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений (ФГБНУ ВИЛАР). Испытания нового сорта *Achillea filipendulina* Lam. на отличимость, однородность и стабильность проводились по методике, созданной на основе международной методики УПОВ (Международный союз по охране новых сортов растений). В статье представлены: характеристика основных признаков сорта; описание сорта, сделанное согласно методике ООС для тысячелистника (*Achillea* L.) RTG/146/1, требования сорта к агротехнике возделывания.

***Ключевые слова*:** *тысячелистник таволговый, лекарственное растение, сорт, биологические особенности*

ВВЕДЕНИЕ

Тысячелистник таволговый (*Achillea filipendulina* Lam.). Синонимы: *Achillea eupatorium* M.Bieb., *Achillea filicifolia* M.Bieb., *Tanacetum angulatum* Willd. Тысячелистник таволговый (*Achillea filipendulina* Lam.) является лекарственным, эфирномасличным и декоративным видом рода *Achillea* L. (тысячелистник) трибы *Anthemideae* Cass. семейства *Asteraceae* Dumort. флоры Российской Федерации. В диком виде тысячелистник таволговый распространен на Кавказе: от низменности до среднего горного пояса, редко в верхнем горном поясе. Встречается среди полупустынной растительности у дорог в предгорьях, на галечниках, по краям посевов, на горных лугах [1].

Это многолетнее травянистое растение – гемикриптофит, ксеромезофит, относится к пустынному географическому типу и туранскому классу. Соцветия *Achillea filipendulina* Lam., сложно-щитковидной формы и плоских очертаний (диаметр 10-12 см), состоящие из корзинок диаметром 4-6 мм. Корзинки сформированы краевыми цветками с внешней стороны и трубчатыми посредине.

Согласно литературным данным, в растении *Achillea filipendulina* Lam. обнаружено эфирное масло, терпеноиды, кумарины, сесквитерпеноиды, флавоноиды и каротиноиды. Надземная часть его используется при заболеваниях сердца, желудка, при геморрое. Эфирное масло, а также сумма сесквитерпеноидов проявляют антибактериальную и антифунгальную активность. Настой из листьев и соцветий оказывает диуретическое действие, отвар из соцветий – болеутоляющее. Эфирное масло может быть использовано в качестве ароматизатора пищевых и парфюмерно-косметических изделий [2–3].

Селекция *Achillea filipendulina* Lam. на декоративные свойства активно проводится в странах Западной Европы и США. Сорта отличаются яркой окраской соцветий преимущественно в золотисто-желтой гамме. Наиболее часто в культуре используются

следующие сорта тысячелистника таволгового: Gold Plate, Cloth of Gold, Coronation Gold, Moonshine, Hella Glashoff, Schwellenburg, Feuerland [4–6].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы

Исследования проводились в полевых условиях ФГБНУ ВИЛАР в 2018-2019 гг. Почва опытного участка ВИЛАР дерново-подзолистая тяжелосуглинистая, имеет следующие агрохимические показатели: гумус 2,9 % (по Тюрину); подвижный фосфор (по Кирсанову) 24 мг/кг и обменный калий 72 мг/кг почвы. Реакция среды слабокислая pH KCl =5,3; Hг =2,9 мг-экв/ 100 г почвы; V=76,8 %.

Методы

Испытания на отличимость, однородность и стабильность сорта тысячелистника таволгового Златослав проводили по методике ООС для тысячелистника (Achillea L.) RTG/146/1, в соответствии с которой испытание включало 60 растений, разделенных на три повторения. В качестве сорта-эталона был высеян сорт Achillea millefolium L. Васюринский селекции ФГБНУ ВИЛАР. Все наблюдения на листе, стебле, цветке, растении проводили в фазу массового цветения.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В 2021 году получен патент № 11357 на первый отечественный сорт тысячелистника таволгового (*Achillea filipendulina* Lam.) «Златослав» декоративного направления использования [7]. Оригинатор сорта – ФГБНУ ВИЛАР. Сорт выведен методом индивидуального отбора из коллекционного образца № 8-12, характеризуется продолжительным обильным цветением с июня по сентябрь (таблица 1). Рекомендуется к выращиванию повсеместно. В таблице 1 представлена характеристика основных признаков сорта тысячелистника таволгового Златослав.

Таблица 1 - Характеристика сорта тысячелистника таволгового Златослав

№ п/п	Показатели	Сорт Златослав
1.	Высота растений в период массового цветения, см	85±15,0
2.	Тип куста (прямостоячий, сомкнутый, полураскидистый, средний, рыхлый)	прямостоячий
3.	Облиственность (сильная, средняя, слабая)	сильная
4.	Окраска листьев (темно-зеленая, зеленая, светло-зеленая)	зеленая
5.	Опушение листьев (опушенные, неопушенные, гладкие)	опушенные
6.	Энергия стеблеобразования (быстро-, средне-, медленно разрастающийся куст)	быстро разрастающийся куст
7.	Среднее число соцветий на одно растение в возрасте, шт 1 года / 2 лет	- / до 25
8.	Расположение соцветий (на поверхности куста, полузакрытое листьями, в одной плоскости)	на поверхности куста
9.	Прочность цветоносов (очень прочный, прочный, средний, слабый)	очень прочный
10.	Форма соцветия (пирамидальная, шаровидная, цилиндрическая, щитковидная, метельчатая)	щитковидная
11.	Высота (длина) соцветия, см	4±1,0
12.	Наибольшая ширина (диаметр) соцветия, см	до 13
13.	Плотность соцветия (плотное, среднее, рыхлое)	плотное
14.	Форма цветка	плоская, ворончатая
15.	Окраска цветка (соцветия)	желтая
16.	Размер цветка (ширина / высота), см	0,2-0,4 / до 0,3

№ п/п	Показатели	Сорт Златослав
17.	Махровость цветка (немахровый, среднемахровый, сильномахровый)	немахровый
18.	Аромат (сильный, средний, слабый, специфичный)	специфичный
19.	Календарные даты цветения, даты: а) начало б) массовое в) конец	III декада июня I декада июля- II декада августа III декада августа-I декада сентября
20.	Период от начала вегетации до начала цветения, дни	50-60
21.	Период цветения от начала цветения до потери декоративности, дни	40-50
22.	Устойчивость цветков в грунте: а) осыпаемость (сильная, средняя, слабая) б) сохранение окраски (выгорает, слабо выгорает, не выгорает) в) устойчивость цветков к неблагоприятным погодным условиям – дождь, град и т.п. (хорошая, средняя, слабая)	слабая не выгорает хорошая
23.	Зимостойкость (хорошая, средняя, слабая)	хорошая
24.	Засухоустойчивость (сильная, средняя, слабая)	сильная
25.	Жаровыносливость (сильная, средняя, слабая)	сильная
26.	Оценка декоративности сорта по 100 балльной системе, балл	75-85

На рисунке 1 представлен сорт тысячелистника Златослав: растение в фазу цветения.

Рисунок 1 - Сорт тысячелистника Златослав: растение в фазу цветения

Описание сорта Златослав (в соответствии с проведенными испытаниями):
- растение высокое;
- облиственность средняя;
- большое количество стеблей;
- стебель прямостоячий, без антоциановой окраски;
- стеблевой лист зеленый, широкий, средней длины, с рыхлой плотностью перистости;
- длина зоны цветения короткая;
- окраска лепестков желтая (по цветовой шкале RHS Colour Chart - № 003B);
- время начала цветения раннее

Особенности культивирования сорта Златослав представлены в таблице 2.

Таблица 2 - Особенности сортовой агротехники *Achillea filipendulina* Lam. сорта Златослав

Основные агротехнические аспекты (вопросы)	Требования сорта к агротехнике
1. Рекомендуемые способы и сроки размножения. Сортовые особенности размножения сорта.	Семенной способ размножения. Хорошо размножается вегетативно – делением корневищ. Весна.
2. Рекомендуемые расстояния при посадке в грунт	Широкорядный способ. Междурядья 60 см, расстояние между растениями - 40 см.
3. Особенности формирования и прищипки	Без особенностей.
4. Отношение к весенним заморозкам	Устойчив к весенним заморозкам.
5. На каких почвах лучше произрастает сорт	Растет на почвах разных типов
6. Требования к удобрениям, поливу	Весна и первая половина лета – азотные удобрения, вторая половина лета – фосфорно-калийные удобрения. Полив необходим при засухе длительностью более 10 дней
7. Требование к освещенности участка	Предпочитает хорошо освещенные участки.
8. Другие агротехнические требования сорта	Участки должны быть свободны от сорной растительности

ВЫВОДЫ

Сорт *Achillea filipendulina* Lam. Златослав с 2021 года допущен к использованию на территории Российской Федерации и включен в Государственный Реестр охраняемых селекционных достижений.

Работа выполнена в рамках темы НИР АААА-А18-118092590053-7 (0576-2019-0007) «Мониторинг биоразнообразия».

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бялт, В. В. Культурная флора г. Санкт-Петербурга (Россия) и её анализ / В. В. Бялт, Г. А. Фирсов, А. В. Бялт и др.// Вестник Оренбургского государственного университета. – 2019. – №2 (30). – С. 11-103.
2. Гладышева, О. В. Особенности онтоморфогенеза и семенная продуктивность *Achillea filipendulina (Asteraceae)* при интродукции в условиях ЦЧР / О. В. Гладышева, Е.М. Олейникова // Труды Кубанского государственного аграрного университета. – 2015. – №56. – С. 96-100.
3. Турбина, И.Н. Некоторые аспекты интродукции представителей травянистых многолетников из коллекции ботанического сада Сургутского университета / И. Н. Турбина, И. В. Кравченко // Самарский научный вестник. – 2020. – Т. 9. –№ 3 (32). – С. 148-151.

4. Курченко, В. П., Сушинская Н. В., Чубарова А. С., Тарун Е. И. Биологически активные вещества различных видов тысячелистника (*Achillea*) Аборигенной флоры Беларуси и Казахстана / В. П. Курченко, Н. В. Сушинская, А. С. Чубарова и др. // Экобиотех 2019. Материалы VI конференции с международным участием (Уфа, 1–4 октября 2019 г.). – 2019. – С. 218-221.
5. Курченко, В. П. Состав биологически активных веществ экстрактов цветов тысячелистников аборигенной флоры Беларуси, Казахстана и России, их антиоксидантные свойства и токсичность / В. П. Курченко, Н. В. Сушинская, А. С. Чубарова // Экобиотех 2019. Материалы VI конференции с международным участием (Уфа, 1–4 октября 2019 г.). – 2019. – Т. 2. –№ 3. – С. 286-292.
6. Серкеров, С. В. Новые стероидные компоненты *Achillea filipendulina* и *Eupatorium cannabinum (Asteraceae)* / С. В. Серкеров, Н. П. Мехтиева, С. Д. Мустафаева // Растительные ресурсы. – 2010. – Т.46. – №2. – С. 99-104.
7. Грязнов, М. Ю. *Achillea filipendulina* Lam. Сорт Златослав. Российская Федерация. / М. Ю. Грязнов, О. М. Савченко, С. А. Тоцкая // Патент на селекционное достижение, № 11357, 2021 г.

THE ‘ZLATOSLAV’ IS *ACHILLEA FILIPENDULINA* LAM. FIRST NATIONAL VARIETY

Ph.D. in Biology Grjaznov M.[a)], Ph.D. in Biology Totskaya S., Ph.D. in Agriculture Savchenko O.
All-Russian research Institute of medicinal and aromatic plants, Moscow, Russia, Grina, 7, 117216
a) corresponding author – selectionvilar@yandex.ru

Abstract. The article is devoted to the first national variety of *Achillea filipendulina* Lam. *Achillea filipendulina* Lam. is a perennial plant family *Asteraceae*. Is a perspective for introduction in culture as ornamental and medicinal use. In 2021 patent № 11357 was obtained for the variety of *Achillea filipendulina* Lam. "Zlatoslav" for decorative use. All-Russian research Institute of medicinal and aromatic plants is the originator of the variety "Zlatoslav". Testing of the new variety *Achillea filipendulina* Lam. for distinctness, homogeneity and stability were performed according to the procedure established on the basis of international methods UPOV (International Union for the Protection of New Varieties of Plants). The article presents: description of the main characteristics of the variety; a description of the variety are made according to the guidelines for the conduct of tests for distinctness, homogeneity and stability for Achillea L. RTG/146/1; requirements for grade cultivation technique.

Keywords: *Achillea filipendulina* Lam., *medicinal plant, variety, biological feature*

УДК 612.393.3: 634.8.032 DOI: 10.52101/9785870191003_2021_56

AFRAMOMUM MELEGUETA – ПЕРСПЕКТИВНАЯ КУЛЬТУРА В ГВИНЕЕ

Силла А., профессор, д.с.-х.н. Маланкина Е. Л.[a)]

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А.Тимирязева» (ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева), 127550, Российская Федерация, г. Москва, ул. Тимирязевская, 49

а) автор для переписки – gandurina@mail.ru

Аннотация. В связи с тем, что в Гвинее существует проблема занятости населения, необходимо развивать выращивание высоко маржинальных культур, таких как тропические пряности. К перспективным и традиционно выращиваемым в этой стране относится *Aframomum melegueta* K. Schum. из семейства Имбирные. Цель работы – Анализ современного состояния, выявление проблем и поиск путей по их решению при производстве плодов в Гвинее. В результате анализа выявлено, что существует проблема подмены сырья другими видами, в настоящее время отсутствуют сорта, производители в большинстве случаев не имеют для выращивания сорта или высокопродуктивные формы. Нет промышленной технологии выращивания культуры, в том числе получения сортового посевного и посадочного материала, с использованием средств механизации и современных технологий защиты растений. Достаточно трудно определить экономические показатели выращивания этого вида в связи с тем, что она выращивается на небольших участках и как сопутствующая культура среди других сельскохозяйственных культур. Вместе с тем, в Гвинее есть опыт выращивания Афрамомума и он может быть перспективной и доходной культурой как пряность на экспорт и сырьё для разработки БАД различной направленности действия, прежде всего от ожирения и нарушения обмена веществ.

Ключевые слова: *Aframomum melegueta, Имбирные, пряности, Гвинея*

ВВЕДЕНИЕ

Афрамомум – род растений из семейства Имбирные, представители которого произрастают в тропических районах земного шара. Наибольшее хозяйственное значение имеет вид *Aframomum melegueta* K. Schum., который называют райским семенем (Grains of Paradise), гвинейским перцем (или гвинейскими зернами), аллигаторовым перцем и перцем Мелегуэта (мелегвет). Его культура распространена в странах Западной Африки. Его традиционно используют при урогенитальных заболеваниях. В настоящее время подтверждена активность его эфирного масла и экстрактов против *Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, Enterococcus faecalis, Staphylococcus saprophyticus, Proteus mirabilis, Salmonella* spp., *Shigella* spp., а также против *Staphylococcus aureus*, устойчивого к метицилину. Исследования подтвердили эффективность в борьбе с жировыми отложениями, причём в дозах, которые могут потребляться с пищей или в БАД [1]. Однако в настоящее время существует проблема подмены данного вида сырьём других, менее ценных или обладающих другими лечебными свойствами видов из семейства Имбирные, а также, связанное с обширным ареалом, большое морфологическое и биохимическое разнообразие внутри вида и отсутствие высокопродуктивных форм и сортов.

Цель работы – Анализ современного состояния, выявление проблем и поиск путей по их решению при производстве плодов в Гвинее.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве материалов для проведения анализа использовали статьи из научных изданий, справочных баз (в частности The Plant list).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Ботаническая характеристика Род *Aframomum* включает около 55 видов, из которых наибольшее хозяйственное значение имеет *Aframomum melegueta* K.Schum. Синонимами являются такие названия как *Aframomum grana-paradisi* (L.) K.Schum., *Alpinia grana-paradisi* (L.) Moon, *Amomum grandiflorum* Sm., *Cardamomum grana-paradisi* (L.) Kuntze и другие [2], что говорит о том, что его ассоциируют с кардамоном, но со временем Афрамомум был выделен в отдельный ботанический род. Местные названия также очень разнообразны - райские зерна, атаре (на языке йоруба), читта (хауса) или морской перец. Его иногда путают с другими видами пряных растений из семейства Имбирные [2].

Aframomum melegueta - многолетнее травянистое растение высотой около 1,5 м, произрастающее в болотистых местах вдоль западноафриканского побережья Нигерии. Кора стебля короткая и покрыта рубцами от мертвых листьев. Листья около 30 см в длину, 12 см в ширину [3], с хорошо выраженными жилками. Его пурпурные трубчатые цветки превращаются в коробочки длиной от 5 до 7 см, содержащие множество мелких красновато-коричневых семян с резким запахом имбиря и кайенского перца. Довольно сложно чётко очертить границы ареала вида и даже культуры как таковой, что связано с большим числом форм и близких видов, которые часто позиционируют на рынке как афрамомум. По данным литературы в диком или одичавшем виде чаще всего встречается в Гане, Либерии, Кот-д'Ивуаре, Того и Нигерии [4] Там же и выращивается для коммерческих целей. К сожалению, ни в научной литературе, ни на сайте министерства сельского хозяйства Гвинеи сведений о сортах нами не обнаружено. В связи с этим возникает проблема идентификации сырья и контроля его качества, что является важной составляющей при получение лекарственного сырья и сырья для БАД.

Использование в районах выращивания: Как пряное растение, распространенное в Западной Африке, Нигерии, использовалось в качестве приправы для мяса, соусов и супов. Это частый ингредиент перечного супа, острого лакомства в большинстве регионов Западной Африки. Экстракты его семян используются в качестве противоядия, а также от дизентерии и диареи. Это эффективное средство от укусов змей [5]. Традиционно в Западной Африке, Нигерии *Aframomum melegueta* смешивали с другими травами для лечения таких распространенных симптомов, как ломота в теле, диарея, боль в горле, катар, заложенность носа и ревматизм [6]. Семена *A. melegueta* также оказывают стимулирующее действие на пищеварительную систему, укрепляя и согревая желудок. Они используются для облегчения расстройства желудка, газов и вздутия живота, а также для устранения дискомфорта в животе из-за колик или рычания. Водный экстракт *A. melegueta* обладает обезболивающим действием и может использоваться для облегчения боли в суставах, зубной боли, боли в желудке, дискомфорте приобменном и ревматоидном артрите. Экстракт стебля *A. melegueta* можно использовать для приготовления средства для лечения инфекционных заболеваний, таких как корь, ветряная оспа и оспа. *A. melegueta*, благодаря его стимулирующим свойствам и острому перечному вкусу, обычно разжевывают в качестве стимулятора для повышения тонуса. Листья используются для профилактики и лечения малярии. Это многолетнее растение, которое культивируется из-за его лечебной ценности и фармакологических эффектов, таких как противомикробные, гепатопротекторные, противораковые и антидиабетические эффекты [7,8,9]. Мякоть плодов, окружающую семена, едят или разжевывают в качестве стимулятора. Корень - острый на вкус, способствует пищеварению и снимает спазмы [10].

Химический состав: По данным последних исследований, *A. melegueta* содержит 6-гингерол, 8-гингерол и метил-6-гингерол, 6-шогаол, 6- и Rac-6-дигидропарадол, 6-гингердион, 2-(5-бутилфуран-2- ил) этил-2-метоксифенол, а также 6-парадол, который считается активным ингредиентом в суммарном экстракте из семян этого растения.

Фитохимическое исследование экстракта *A. melegueta* выявило присутствие (-)-буплерола, (-)-арктигенина, (E)-14-гидрокси-15-норлабда 8, 12-диен-16-ал, лабда-8,12-диен15,16-диал, (E)-лабдадиен-15-овая кислота, 5-гидрокси-7-метоксифлавон и апигенин.

Среди перечисленных соединений (-)-арктигенин и (-)-буплерол продемонстрировали способность запускать апоптоз в клетках рака поджелудочной железы [11].

Флавоноиды, обладающие антиоксидантным действием и проявляющие противораковую активность были обнаружены в корнях [12]. Обычно сообщается, что флавоноиды обладают антиканцерогенным и антимутагенным действием [13], при котором они препятствуют развитию злокачественных опухолей, подавляя экспрессию мутантных генов, инактивируя канцерогены и ферменты, участвующие в активации проканцерогенов, а также активируют ферментные системы, участвующие в детоксикации ксенобиотиков. Флавоноиды также подавляют возникновение, рост и метастазирование опухолей [14]. Кверцетин, флавоноид, который может замедлять развитие опухолей, также был обнаружен в экстракте *A. melegueta* [15].

Okoli, C. O. с соавт. (2007) [16] указывает, что метанольные извлечения из афрамомум содержат алкалоиды, гликозиды, дубильные вещества, флавоноиды, стеролы и смолы, причем алкалоиды и дубильные вещества позиционируются в качестве активного ингредиента.

Фармакологическая активность: Современные исследования показали высокую фармакологическую активность соединений, содержащихся в семенах афрамомума. Обнаружена противораковая активность *A. melegueta,* которая не может быть приписана только флавоноидам. Было выявлено, что 6-парадол оказывает противораковое действие, вызывая апоптоз в клетках промиелоцитарного лейкоза человека (HL-60). Эффект обусловлен присутствием в соединении ванилиновой и кетонной функциональных групп. Кроме того, 6-парадол также может подавлять развитие опухоли кожи *in vitro* [17]. Исследования показали, что экстракты *A. melegueta* эффективны против рака поджелудочной железы. [11] Дополнительные исследования Kuete et al. (2011) [18] выявили, что экстракт *A. melegueta* оказывает значительное ингибирующее действие на линии клеток рака поджелудочной железы и лейкемии человека.

Было обнаружено, что семена способствуют снижению веса за счет ускорения метаболизма в организме. В дополнение к внушительному перечню терапевтических эффектов, *A. melegueta* может иметь ценность в борьбе с метаболическими нарушениями, такими как диабет 1 и 2 типа [19]. Множество соединений, обнаруженных в *A. melegueta*, таких как 6-парадол, 6-шагаол, 6-гингерол, олеаноловая кислота и акарбоза, оказывают антидиабетический эффект, ингибируя ферменты, такие как α-амилаза и α-глюкозидаза. Эти ферменты отвечают за пищеварение и расщепляют углеводы и полисахариды из пищи на простые сахара для повышения уровня глюкозы в крови. Среди соединений 6-гингерол и олеаноловая кислота наиболее активны [9]. *A. melegueta* подходит для употребления пациентами с диабетом [20]. Известно, что экстракт *A. melegueta* уменьшает жировые отложения и даже снимает болезненный артрит при использовании в качестве массажного масла [10]. Этанольный экстракт семян и кора стебля *A. melegueta* содержат дубильные вещества, сапонины, флавоноиды, стероиды, терпноиды, сердечные гликозиды и алкалоиды, которые обладают антимикробным и противовоспалительным действием [12,14]. Семена *A. melegueta* содержат терпеноиды, алкалоиды, флавоноиды, дубильные вещества, сердечные гликозиды, сапонин и фенольные природные антиоксиданты. Они удаляют свободные радикалы и обеспечивают защиту от вирусов, аллергенов, микробов, агрегации тромбоцитов, опухолей, язв и гепатотоксинов (химическое повреждение печени) в организме. Противовоспалительные свойства *A. melegueta* подтвердили исследования Ilic et al. (2014) [3], показавшие, что этанольный афрамомума ингибировал циклооксигеназу-2. (COX-2). Соединения, которые ингибируют активность COX-2, способны уменьшать воспалительные реакции. Наиболее активным ингибитором COX-2 в экстракте *A. melegueta* был 6-парадол, в то время как 6-шогаол, как было обнаружено, подавлял экспрессию провоспалительного гена, интерлейкина-1 бета (IL-1β), а в сумме эти соединения значительно снижали воспаление у крыс [21]. В другом исследовании водный экстракт *A. melegueta* семян подавлял субхроническое воспаление и отёк, вызванные формальдегидом или нистатином, и

хроническое воспаление, вызванное каррагинаном. Кроме того, он уменьшал экссудат, вызванный каррагинаном [22]. При ежедневном приеме *A. melegueta* было отмечено, что более высокая доза способна предотвратить увеличение веса печени и полностью устранить перекисное окисление липидов, экстракт *A. melegueta* не оказал сильного влияния на печеночную супероксиддисмутазу (СОД).

Другое менее известное открытие – *A. melegueta* в отношении выработки клеток крови. Когда метанольный экстракт семян и листьев *A. melegueta* вводили крысам с анемией, вызванной 2,4-динитрофенилгидразином, лечение увеличивало количество гемоглобина и тромбоцитов, что указывает на его эритропоэтический потенциал при лечении анемии [23].

Побочные действия: *A. melegueta* по мнению большинства источников не имеет побочных эффектов или имеет очень минимальные побочные эффекты. По данным Управления по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (FDA), *A. melegueta* включен в список трав, которые считаются безопасными. Но вместе с тем встречаются предостережения по его применению. Людям с гиперчувствительностью к имбирю или кардамону следует принимать или использовать его с осторожностью. Нигерийский журнал физиологических наук в 2009 году исследователи сообщили, что большие дозы *A. melegueta* могут представлять потенциальный риск для здоровья беременных женщин, находящихся на первом триместре беременности. Кроме того, пока нет сообщений о взаимодействии лекарств с травами. Доза экстракта *A. melegueta* зависит от нескольких факторов, таких как возраст, состояние здоровья и ряд других состояний пользователя. В настоящее время пока недостаточно информации для определения подходящего диапазона доз. Другими словами, более высокие дозы экстракта ранее считались гематотоксичными [24], поэтому вводимую дозу следует выбирать с осторожностью из-за ее токсичности.

Проблемы выращивания: Этот вид широко культивируется от Гвинеи до центральной части Демократической Республики Конго; местное распространение и происхождение этого вида в настоящее время неясны [2]. Этот вид был завезен в другие районы за пределами этого ареала, где он натурализовался, например, в Восточной Африке (Бурунди и Уганда), Карибском бассейне (Мартиника и Тринидад и Тобаго) и в Латинской Америке (Французская Гвиана и Гайана). Он выращивается как важная товарная культура в районе Баскето на юге Эфиопии, Либерии, Того, а главным экспортёром является Гана. Поскольку неясно, какая часть обширного ареала этого вида является его истинным ареалом, а какие растения являются настоящей дикой популяцией, идентификация вида на этапе выращивания не всегда возможна. В Гвинее в настоящее время *A. melegueta* выращивают в частных небольших хозяйствах и в основном для местного потребления. Указания на наличия сортов и разработанной технологии промышленного выращивания в литературе и на соответствующих специализированных сайтах нами не обнаружено. Серьёзной проблемой является получение достаточного количество посадочного материала, что связано со сложной предпосевной подготовкой семян [25].

Достаточно трудно определить рентабельность выращивания этого вила в связи с тем, что она выращивается на небольших участках и как сопутствующая культура среди других сельскохозяйственных культур. Вместе с тем, в Гвинее есть опыт выращивания Афрамомума и он может быть перспективной и доходной культурой как пряность на экспорт и сырьё для разработки БАД различной направленности действия, прежде всего от ожирения и нарушения обмена веществ.

Выводы

В результате анализа выявлено, что существует проблема подмены сырья другими видами, в настоящее время отсутствуют сорта, производители в большинстве случаев не имеют для выращивания сорта или высокопродуктивные формы. Нет промышленной технологии выращивания культуры, в том числе получения сортового посевного и посадочного материала, с использованием средств механизации и современных технологий защиты растений. Достаточно трудно определить экономические показатели выращивания

этого вида в связи с тем, что она выращивается на небольших участках и как сопутствующая культура среди других сельскохозяйственных культур. Вместе с тем, в Гвинее есть опыт выращивания Аframomума и он может быть перспективной и доходной культурой как пряность на экспорт и сырьё для разработки БАД различной направленности действия, прежде всего от ожирения и нарушения обмена веществ.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Moret, Erica S. Trans-Atlantic Diaspora Ethnobotany: Legacies of West African and Iberian Mediterranean Migration in Central Cuba. African Ethnobotany in the Americas. / Moret, Erica S. - Springer, 2013. - P. 217–245.
2. Harris, D.J. Monograph of *Aframomum* (Zingiberaceae)./ D.J. Harris and A.H. Wortley //Systematic Botany Monographs.- 2018.-104.- P.1-204.
3. Ilic, N. M. Antiinflammatory activity of grains of paradise (*Aframomum melegueta* Schum) extract./ N. M. Ilic, M. Dey, A. A. Poulev, S. Logendra, P. E. Kuhn, & I. Raskin //Journal of Agricultural and Food Chemistry.- 2014.- 62(43).- P. 10452-10457.
4. Inegbenebor, U. Effect of aqueous extract of alligator pepper (Zingiberaceae: *Aframomum melegueta*) on gestational weight gain./ U. Inegbenebor, D. C. Cargill //Niger J Physiol Sci. - 2009.-№6.- P.290-294ю
5. Villarreal, J. C. A synthesis of hornwort diversity: Patterns, causes and future work. / J. C.Villarreal, D. C. Cargill, A. Hagborg, L. Söderstrom, & K. S. Renzaglia //Phytotaxa.- 2010.- 9(1).- P.150- 166.
6. Ajaiyeoba, E. O. Essential oil constituents of *Aframomum melegueta* (Roscoe) K. Schum. seeds (alligator pepper) from Nigeria. / E. O. Ajaiyeoba & O. Ekundayo //Flavour and Fragrance Journal.-1999.- 14(2).- P. 109-111.
7. El-Halawany, A. M. Protective effect of *Aframomum melegueta* phenolics against CCl_4- induced rat hepatocytes damage: Role of apoptosis and pro-inflammatory cytokines inhibition./ A. M. El-Halawany, R. S. El Dine, N. S. El Sayed, & M. Hattori //Scientific Reports.- 2014.- 4.- P. 5880.
8. Ngwoke, K. G. *In vitro* bactericidal activity of diterpenoids isolated from *Aframomum melegueta* K.Schum against strains of *Escherichia coli, Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus*. / K. G. Ngwoke, O. Chevallier, V. K. Wirkom, P. Stevenson, C. T. Elliott, & C. Situ, //Journal of Ethnopharmacology.-2014.- 151(3).- P. 1147- 1154.
9. Mohammed, A. Inhibition of key enzymes linked to type 2 diabetes by compounds isolated from *Aframomum melegueta* fruit. / A. Mohammed, V. A. Gbonjubola, N. A. Koorbanally, & M. S. Islam //Pharmaceutical Biology .- 2017.- 55(1).- P. 1010-1016.
10. Odetunde, S. K. Antimicrobial effect and phytochemical analysis of *Aframomum melegueta* on some selected bacteria and fungi. / S. K. Odetunde, I. T. Adekola, M. O Avungbeto, & A. K. Lawal //European Journal of Biotechnology and Bioscience.- 2015.- 3(4).- P. 15-19.
11. Dibwe, D. F. Anti-austeritic constituents of the Congolese medicinal plant *Aframomum melegueta*./ D. F. Dibwe, S. Awale, H. Morita, & Y. Tezuka, //Natural Product Communications.- 2015.- 10(6).- P. 997-999.
12. Doherty, V. F. Antimicrobial activities of *Aframomum melegueta* (alligator pepper)./ V. F. Doherty, O. Olaniran, & U. C. Kanife //International Journal of Biology.-2010.- 2(2).- P. 126-131.
13. Aranganathan, S. Antiproliferative efficacy of hesperetin (citrus flavanoid) in 1,2-dimethylhydrazine-induced colon cancer. / S., Aranganathan & N. Nalini //Phytotherapy Research.-2013.- 27(7).- P. 999-1005.
14. Okwu, D. E. Phytochemicals, vitamins and mineral contents of two Nigerian medicinal plants. / D. E. Okwu // International Journal of Molecular Medicine and Advance Sciences.-2005-. 1(4)- P.375-381.

15. Adefegha, S. A. Acetylcholinesterase (AChE) inhibitory activity, antioxidant properties and phenolic composition of two *Aframomum* species./ S. A. Adefegha, & G. Oboh //Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology.-2012.- 23(4).- P. 153-161.
16. Okoli, C. O. Anti-inflammatory activity of seed extracts of Aframomum melegueta./ C. O. Okoli, P. A. Akah, S. V. Nwafor, U. U. Ihemelandu, & C. Amadife //Journal of Herbs, Spices and Medicinal Plants.-2007.- 13(1).- P. 11-21.
17. Chung, W. Y. Antioxidative and antitumor promoting effects of [6]-paradol and its homologs./ W. Y. Chung, Y. J. Jung, Y. J. Surh, S. S. Lee, & K. K. Park //Mutation Research.-2001.- 496(1-2).- P. 199-206.
18. Kuete, V. Cytotoxicity of some Cameroonian spices and selected medicinal plant extracts. /V. Kuete, B. Krusche, M. Youns, I. Voukeng, A. G. Fankam, S. Tankeo, T. Efferth, //Journal of Ethnopharmacology.-2011.- 134(3).-P. 803- 812.
19. Gastaldelli, A. Role of beta-cell dysfunction, ectopic fat accumulation and insulin resistance in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. / A. Gastaldelli //Diabetes Research and Clinical Practice.- 2011.- 93(Suppl 1).-P.60-65.
20. Venugopal, R.Phytochemicals in diets for breast cancer prevention: The importance of resveratrol and ursolic acid. / R Venugopal, & R. H.Liu // Food Science and Human Wellness.- 2012.-1(1).- P. 1-13.
21. Osuntokun, A.O.Assessment of Nephro toxicity, Anti-inflammatory and Antioxidant properties of Epigallocatechin, Epicatechin and Stigmasterol phytosterol (synergy) Derived from ethyl acetate stem bark extract of Spondias mombin on Wister Rats Using Molecular method of analysis/ AO Osuntokun, HT Oluduro, TO Idowu, AO Omotuyi // Journal of Molecular Microbiology.- 2017.- Vol.1.- No.1:103.- P. 1-11.
22. Umukoro, S. Further evaluation of the anti-inflammatory activity of *Aframomum melegueta* seed extract and its possible mechanism of action./ S. Umukoro, R. B. Ashorobi //Nigerian Journal of Health and Biomedical Sciences. – 2005.- 4(1).-P. 35-39.
23. Omoboyowa, D. A. Effects of methanol seed extract of *Aframomum melegueta* (alligator pepper) on Wistar rats with 2,4 dinitr ophenylhyd razine-induced hemolytic anemia. / D. A. Omoboyowa, A. O. Aja, F. Eluu, K. C. Ngobidi //Recent Advances in Biology and Medicine. -2017.- 3.- P. 11-17.
24. Akpanabiatu, M. I. Acute toxicity, biochemical and haematological study of *Aframomum melegueta* seed oil in male Wistar albino rats. / M. I. Akpanabiatu, N. D. Ekpo, U. F. Ufot, N. M. Udoh, E. J., Akpan, E. U. Etuk //Journal of Ethnopharmacology. – 2013.-150(2). - P.590-594.
25. Fariyike, T.A. Effect of seed treatment and growth media on the propagation of seeds of alligator pepper (*Aframomum melegueta* K. Schum.)/ T.A. Fariyike, O.S. Adebayo, O.M. Adewale, B.A. Adelaja, et al. // Acta horticulturae. -2014.- Issue 1007 -P. 803-806.

AFRAMOMUM MELEGUETA - PERSPECTIVE CROP FOR GUINEA

PhD student Silla A., Professor, D.Sc. in Agriculture Malankina E. L.[a)]
Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Russian State Agrarian University-Moscow Timiryazev Agricultural Academy" -Timiryazevskaya street, 49 Moscow 127550 Russian Federaton
a) corresponding author –gandurina@mail.ru

Due to the employment problem in Guinea, it is necessary to develop the cultivation of highly marginal crops such as tropical spices. *Aframomum melegueta* K. Schum from the Ginger family is one of the most promising and traditionally grown in this country. The purpose of the work is to analyze the current prospects of use and state of Aframomum fruits production in Guinea, identify problems and find ways to solve them in the. As a result of the analysis, it was revealed that there is a problem of replacing raw materials with other botanical species, currently there are no varieties, producers in most cases do not have varieties or highly productive forms for growing. There is not industrial technology for growing crops, including obtaining varietal seed and planting material, using mechanization and modern technologies for plant protection. It is rather difficult to determine the economic indicators of this species cultivation. It is grown in small areas and as a companion for other crops. At the same time, Guinea has experience in growing Aframomum and it can be a promising and profitable crop as a spice for export and a raw material for the development of dietary supplements of various directions of action, primarily from obesity and metabolic disorders.

Ключевые слова: *Aframomum melegueta, Zingibiraceae, spices, Guinea*

УДК: 633.88 DOI: 10.52101/9785870191003_2021_63

ФОНАРИК - НОВЫЙ СОРТ *OENOTHERA* L.

к.б.н. Грязнов М. Ю. [a)], к.б.н. Тоцкая С. А., к.с-х.н. Савченко О. М.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений (ФГБНУ ВИЛАР), Москва, Россия, Москва, ул. Грина, 7, 117216

а) автор для переписки – selectionvilar@yandex.ru

Аннотация. Статья посвящена новому отечественному сорту энотеры двулетней (*Oenothera* L.). Энотера двулетняя (Ослинник, *Oenothera biennis* L.) – многолетнее (3-4 года) растение семейства Кипрейные (*Onagraceae*). Является перспективным для внедрения в культуру в качестве кормового (силосного), медоносного, масличного и лекарственного растения. В 2021 году получен патент № 11334 на сорт энотеры (*Oenothera* L.) Фонарик декоративного направления использования. Оригинатор сорта – ФГБНУ ВИЛАР. Испытания нового сорта *Oenothera biennis* L. на отличимость, однородность и стабильность проводились по методике, созданной на основе международной методики УПОВ (Международный союз по охране новых сортов растений). В статье представлены: характеристика основных признаков сорта; описание сорта согласно методике ООС для энотеры (*Oenothera* L.) RTG/144/3/1; требования сорта к агротехнике возделывания.

***Ключевые слова*:** *энотера, лекарственное растение, сорт, биологические особенности*

ВВЕДЕНИЕ

Ослинник двулетний (*Oenothera biennis* L.*)* – травянистое растение рода *Oenothera* семейства Кипрейных (*Onagraceae*). Род *Oenothera* в соответствии с современной классификацией разделяют на 4 секции. Растения этого рода являются преимущественно травянистыми, как правило, многолетними, реже кустарниками, которые имеют большие цветы с желтыми, оранжевыми, красными и белыми лепестками.

В России произрастает около 20 разновидностей ослинника двулетнего. В первый год жизни растение образует розетку листьев. Стебель простой прямостоячий, ветвистый в верхней части, до 2 м высотой, развивается во второй год жизни, прикорневые листья продолговато-яйцевидные или эллиптические, слабо выемчато зубчатые, 10-20 см длиной и 2-6 см шириной. Стеблевые листья очередные почти сидячие. Соцветие – длинная кисть, цветки в пазухах мелких прицветных листьев, крупные, желтые, доли чашечки отвороченные, ланцетные, с длинными остроконечиями, лепестки широко яйцевидно треугольные, слегка выемчатые, краями налегающие друг на друга, до 20 мм, рыльце 4-х раздельное. Коробочка длиной 2-4 см, толще в нижней части. Цветков на растении очень много – их количество может достигать нескольких сотен [1]. Диплоидное число хромосом 2n=14.

Ослинник двулетний – перспективная лекарственная культура, входящая в фармакопеи многих зарубежных стран. Для медицины представляет интерес жирное масло ослинника с высоким содержанием в нём жирной полиненасыщенной γ-линоленовой кислоты (предшественника гормона простагладина Е1) [2]. Масло ослинника двулетнего применяют в дерматологии, а также используют при производстве косметических средств. Различные части растения применяют в народной медицине и ветеринарии. Трава содержит стероиды, терпеноиды, флавоноиды, таннины, углеводы и используется в гомеопатии. Корень ослинника съедобен, а растение является хорошим медоносом [3-4]. Различные виды ослинника выращиваются и как декоративные растения (*O. biennis* L., *O. fruticosa* L., *O. macrocarpa* Nutt., *O. missouriensis* Sims, *O. rosea* L`Her. Ex Aiton, *O. speciosa* Nutt.*)*.

Ослинник двулетний можно выращивать как масличную культуру в Центральном регионе России [5]. В Австралии, США, Новой Зеландии, Канаде, Франции, Германии, Великобритании, Голландии, Венгрии, Польше энотера введена в культуру и имеет около 50

сортов различного направления использования, основными мировыми производителями семян являются США и Канада [6].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы

Исследования проводились в полевых условиях ФГБНУ ВИЛАР в 2018-2019 гг. Почва опытного участка ВИЛАР дерново-подзолистая тяжелосуглинистая, имеет следующие агрохимические показатели: гумус 2,9 % (по Тюрину); подвижный фосфор (по Кирсанову) 24 мг/кг и обменный калий 72 мг/кг почвы. Реакция среды слабокислая pH_{KCl} =5,3; $H_г$ =2,9 мг-экв/ 100 г почвы; V=76,8 %.

Методы

В 2019 году проведены испытания на отличимость, однородность и стабильность нового сорта ослинника двулетнего Фонарик по методике ООС для Энотеры (*Oenothera* L.) RTG/144/3/1, в соответствии с которой испытание включало 40 растений, разделенных на два повторения. В качестве сортов-эталонов были высеяны сорта селекции ФГБНУ ВИЛАР: Тверской, Генотэрос и Светлячок [7]. Наблюдения на листе проводили на стадии розетки, остальные – на взрослом растении в фазу цветения (на посевах второго года жизни).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В 2021 году получен патент № 11334 на новый сорт энотеры (*Oenothera* L.) «Фонарик» декоративного направления использования [8]. Оригинатор сорта – ФГБНУ ВИЛАР. Сорт выведен методом индивидуального отбора из коллекционного образца № 07-09, характеризуется продолжительным обильным цветением с июня по сентябрь (таблица 1). Рекомендуется к выращиванию повсеместно. В таблице 1 представлена характеристика основных признаков сорта энотеры Фонарик.

Таблица 1 - Характеристика сорта энотеры Фонарик

№ п/п	Показатели	сорт Фонарик
1.	Высота растений в период массового цветения, см	80-120
2.	Тип куста (прямостоячий, сомкнутый, полураскидистый, средний, рыхлый)	прямостоячий
3.	Облиственность (сильная, средняя, слабая)	средняя
4.	Окраска листьев (темно-зеленая, зеленая, светло-зеленая)	светло-зеленая
5.	Опушение листьев (опушенные, неопушенные, гладкие)	опушенные
6.	Энергия стеблеобразования (быстро-, средне-, медленно разрастающийся куст)	быстро разрастающийся куст
7.	Среднее число соцветий на одно растение в возрасте 1 года 2 лет	 - до 30
8.	Расположение соцветий (на поверхности куста, полузакрытое листьями, в одной плоскости)	на поверхности куста
9.	Прочность цветоносов (очень прочный, прочный, средний, слабый)	средний
10.	Форма соцветия (пирамидальная, шаровидная, цилиндрическая, канделябровидная, метельчатая)	канделябровидная
11.	Высота (длина) соцветия, см	до 70
12.	Наибольшая ширина (диаметр) соцветия, см	до 50
13.	Плотность соцветия (плотное, среднее, рыхлое)	среднее
14.	Форма цветка	плоская, ворончатая
15.	Окраска цветка (соцветия) основная	желтая

№ п/п	Показатели	сорт Фонарик
16.	Размер цветка, см ширина высота	 до 12,5; до 6,0
17.	Махровость цветка (немахровый, среднемахровый, сильномахровый)	немахровый
18.	Аромат (сильный, средний, слабый, специфичный)	слабый
19.	Число цветков на цветоносе	не менее 50
20.	Календарные даты цветения а) начало б) массовое в) конец	II декада июня III декада июня- II декада августа III декада августа- I декада сентября
21.	Период от начала вегетации до начала цветения, дни	45-50 дней
22.	Период цветения от начала цветения до потери декоративности, дни	40-50 дней
23.	Устойчивость цветков в грунте: а) осыпаемость (сильная, средняя, слабая) б) сохранение окраски (выгорает, слабо выгорает, не выгорает) в) устойчивость цветков к неблагоприятным погодным условиям – дождь, град и т.п. (хорошая, средняя, слабая)	 сильная выгорает средняя
24.	Устойчивость к земляной блошке (хорошая, средняя, слабая)	хорошая
25.	Зимостойкость (хорошая, средняя, слабая)	хорошая
26.	Засухоустойчивость (сильная, средняя, слабая)	сильная
27.	Жаровыносливость (сильная, средняя, слабая)	средняя
32.	Оценка декоративности сорта, балл (из 100)	70-80

На рисунке 1 представлен сорт энотеры Фонарик: растение в фазу цветения.

Рисунок 1 - Сорт энотеры Фонарик: растение в фазу цветения.

Описание сорта Фонарик (в соответствии с проведенными испытаниями):
- растение средней высоты;
- плотность коробочек средняя;

- интенсивность антоциановой окраски стебля средняя;
- интенсивность антоциановой окраски у основания волосков слабая;
- лист среднего размера и ширины;
- интенсивность зелёной окраски листа светлая;
- волнистость листа средняя, пузырчатость сильная;
- бутон большого размера, с антоциановой окраской;
- цветок большого размера, лепестки имеются, окраска венчика жёлтая, положение пыльника ниже рыльца;
- коробочка средней длины, с антоциановой окраской;
- стеблевание среднее;
- начало цветения позднее

Таблица 2 – Особенности сортовой агротехники *Oenothera* L. сорта Фонарик

Основные агротехнические аспекты (вопросы)	Требования сорта к агротехнике
1. Рекомендуемые способы и сроки размножения. Сортовые особенности размножения сорта.	Семенной способ размножения. Подзимний посев. При весенней закладке плантаций рекомендуется рассадный способ выращивания
2. Рекомендуемые расстояния при посадке в грунт	Широкорядный способ. Междурядья 60 см, расстояние между растениями – 30-40 см.
3. Особенности формирования и прищипки	Без особенностей
4. Отношение к весенним заморозкам	Устойчив к весенним заморозкам
5. На каких почвах лучше произрастает сорт	Растет на почвах разных типов
6. Требования к удобрениям, поливу	Весна и первая половина лета – азотные удобрения, вторая половина лета – фосфорно-калийные удобрения. Полив необходим при засухе длительностью более 10 дней
7. Требование к освещенности участка	Предпочитает хорошо освещенные участки
8. Другие агротехнические требования сорта	Участки должны быть свободны от сорной растительности

ВЫВОДЫ

Сорт *Oenothera* L. Фонарик с 2021 года допущен к использованию на территории Российской Федерации и включен в Государственный Реестр охраняемых селекционных достижений.

Работа выполнена в рамках темы НИР АААА-А18-118092590053-7 (0576-2019-0007) «Мониторинг биоразнообразия».

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Палкина, Т.А. Ослинник двулетний (*Oenothera biennis* L.*)* как объект интродукции и культивирования / Т.А. Палкина // Состояние и перспективы развития современного пчеловодства и апитерапии: сборник научно-исследовательских работ по пчеловодству и апитерапии (Рыбное, 29-30 сентября 2016 года). – Рыбное, 2017. – С. 77-80.
2. Багирова, В.Л. Временный список лекарственных растений, разрешенных для применения в гомеопатии и не вошедших в Государственный реестр / В.Л. Багирова, Т.А. Сокольская, Л.Н. Взорова и др. // Ведомости Фармакопейного комитета. – 1998. – №1. – С.17.
3. Савин, А.П. Медоносно-кормовое использование ослинника двулетнего из разных эколого-географических зон / А.П. Савин // Современные проблемы пчеловодства и пути их решения: сборник научных трудов Международной научно-практической

конференции (ФГБОУ ВО РГАУ – МСХА им. К.А.Тимирязева, 10-12 марта). – Москва, 2016. – С.290-296.
4. Савин, А.П. Ослинник двулетний – перспективная медоносная и кормовая культура / А.П. Савин // Пчеловодство. – 2016. – № 10. – С.28-30.
5. Писарев, Д.И. Жирнокислотный состав семян *Oenothera biennis* L. флоры Белгородской области / Д.И. Писарев, Е.Т. Жилякова, Н.Н. Нетребенко и др.// Химия растительного сырья. – 2010. – № 1. – С.195.
6. Тоцкая, С.А. Новая масличная культура - ослинник двулений / С.А. Тоцкая, Г.И. Климахин, Ф.М. Хазиева, В.В. Семикин, В.С. Фонин // Перспективные направления инновационного развития сельского хозяйства: сборник научных трудов Всероссийской научно-практической конференции, посвященной 170-летию К.А. Тимирязева (пос. Тимирязевский Ульяновской области, 27-28 июня 2013 года). – Ульяновск, 2013. – С. 275-277
7. Грязнов, М.Ю. Энотера *Oenothera* L. Сорт «Светлячок». / М.Ю. Грязнов, Н.В. Макарова, С.И. Ромашкина, С.А. Тоцкая // Патент на селекционное достижение № 9255 от 18.09.2017 г. Энотера *Oenothera* L. Сорт «Светлячок».
8. Грязнов, М.Ю. Энотера *Oenothera* L. Сорт «Фонарик». / М.Ю. Грязнов, Н.В. Макарова, О.М. Савченко, С.А. Тоцкая // Патент на селекционное достижение № 11334 от 12.01.2021 г. Энотера *Oenothera* L. Сорт «Фонарик».

FONARIK IS A NEW VARIETY OF *OENOTHERA* L.

Ph.D. in Biology Grjaznov M.[a)], Ph.D. in Biology Totskaya S., Ph.D. in Agriculture Savchenko O.
All-Russian research Institute of medicinal and aromatic plants, Moscow, Russia, Grina, 7, 117216
a) corresponding author – selectionvilar@yandex.ru

Abstract

The article is devoted to the first domestic variety of *Oenothera* L. Evening primrose biennial (*Oenothera biennis* L.) is a perennial (3-4 years) plant family *Onagraceae*. Is a perspective for introduction in culture as fodder (silage), honey, oilseeds and medicinal use. In 2021 patent № 11334 was obtained for the variety of *Oenothera* L. "Fonarik" for decorative use. Originator of the variety – FGBNU VILAR. Testing of the new variety *Oenothera biennis* L. for distinctness, homogeneity and stability were performed according to the procedure established on the basis of international methods UPOV (International Union for the Protection of New Varieties of Plants). The article presents: description of the main characteristics of the variety; a description of the variety are made according to the method of OOS for *Oenothera* L. RTG/144/3/1; requirements for grade cultivation technique.

Key words: *Oenothera* L., *medicinal plant, variety, biological feature.*

УДК: 631.8:633.8 DOI: 10.52101/9785870191003_2021_68

СОРТОВАЯ СПЕЦИФИКА ЭКЗОГЕННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ НА НОГОТКИ ЛЕКАРСТВЕННЫЕ (*CALENDULA OFFICINALIS* L.)

к.б.н. Хазиева Ф. М., к.с-х.н. Басалаева И. В.[a)], к.с-х.н. Ковалев Н. И.

ФГБНУ "Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений, г. Москва, ул. Грина, д. 7, 117216

а) автор для переписки – basalaeva@vilarnii.ru

Аннотация. При разработке рекомендаций по применению росторегуляторов и микроудобрений необходимо учитывать не только видовые особенности культуры, но и реакцию сортов на проводимые обработки. В нашем исследовании изучалось влияние биологического ретарданта Харди и кремниевого микроудобрения Силиплант на продуктивность ноготков лекарственных двух сортов селекции ФГБНУ ВИЛАР: Золотое море и Райский сад. Полученные данные свидетельствуют о положительном влиянии препаратов на урожайность сорта Золотое море за счет возрастания массы одного соцветия и увеличения их общего количества, прибавка составила 0,15 и 0,16 т/га воздушно-сухих соцветий. Аналогичным оказалось и применение ретарданта Харди на сорте Райский сад, урожайность соцветий повышалась по сравнению с контролем на 0,25 т/га, при этом эффективность микроудобрения Силиплант была слабо выражена.

***Ключевые слова*:** *ноготки лекарственные, Calendula officinalis, сорт, Харди, Силиплант, урожайность соцветий.*

ВВЕДЕНИЕ

Ноготки лекарственные (*син.* календула лекарственная) (*Calendula officinalis* L.) являются одним из наиболее важных видов лекарственных растений, возделываемых во многих странах мира, таких как Германия, Великобритания, Нидерланды, США, Испания, Индия, Румыния, Франция, Россия.

Наиболее распространенными препаратами на основе лекарственного растительного сырья ноготков лекарственных являются: настойка (Tinctura Calendulae); настой цветков (Infusum florum Calendulae); мазь «Календула» (Unguentum Calendulae); Калефлон (Caleflonum), комплексний жидкий экстракт «Ротокан», Аркален и другие. Также сырье ноготков широко применяется в косметической и пищевой индустрии [1; 2; 3].

В современных технологиях возделывания лекарственных культур особое значение имеет применение регуляторов роста растений, органо-минеральных и микроудобрений, которые могут направленно регулировать отдельные этапы онтогенеза растений с целью максимальной мобилизации потенциала их биопродуктивности. Это соответствует общему направлению развития практики сельского хозяйства - все большее внимание уделяется использованию препаратов росторегулирующего и иммуномодулирующего действия, которые, оказывая положительное влияние на рост и развитие растений, активизируя физиологические и биохимические процессы, стимулируют защитные свойства растений, способствуют повышению урожайности сырья и улучшению его качества [4; 5; 6]. Ноготки лекарственные не являются исключением – на эффективность применения росторегуляторов и микроудобрений на данной культуре указывается в ряде работ [7; 8; 9].

На урожайность и качество сырья ноготков лекарственных при их производственном возделывании большое влияние оказывает сорт. Во Всероссийском научно-исследовательском институте лекарственных и ароматических растений (ВИЛАР, Москва) были созданы два новых сорта календулы лекарственной: Золотое море и Райский сад [10; 11; 12].

Ранее в наших опытах исследован элементный химический состав сортов календулы лекарственной Золотое море и Райский сад, которые были выращены в условиях

агроэкосистем, подверженных техногенной эмиссии мегаполиса. Было установлено, что сырье изучаемых сортов соответствует требованиям нормативной документации по критерию экологической безопасности по таким элементам, как As, Pb, Cd, Hg. Отмечены сортовые различия по элементному химическому составу изучаемых растений. У сорта Золотое море, по сравнению с сортом Райский сад выявлено более высокое содержание макро- и микроэлементов в сырье: натрия в 1,5 раза, калия - в 1,1 раза, алюминия - в 2,3 раза, бора - 1,9 раза, железа - 1,4 раза. В сырье сорта Райский сад наблюдалось более высокое содержание таких элементов, как магний, кремний, стронций [13].

На ряде лекарственных культур, таких как расторопша пятнистая, мята перечная, амми большая, ромашка аптечная и др. была показана возможность повышения урожайности сырья и его качества под влиянием некорневых подкормок кремниевым микроудобрением Силиплант, а также ретардантом Харди [14; 15; 16; 17]. Однако, исследований по сортовой реакции лекарственных растений на применение данных препаратов в доступной авторам литературе не имеется.

Цель данного исследования состояла в изучении специфики сортовой реакции ноготков лекарственных на экзогенное воздействие ретардантом Харди и микроудобрением Силиплант.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы

Объектом исследования служили сорта ноготков лекарственных Райский сад и Золотое море селекции ФГБНУ ВИЛАР. Испытывалась эффективность микроудобрения Силиплант (в норме расхода 0,4 л/га) и ретарданта Харди (в норме расхода 0,2 л/га) (производитель АНО «НЭСТ М»). Действующим веществом биологического ретарданта Харди является смесь о-дифенолов и 24-эпибрассинолида. Силиплант – жидкое хелатное кремнийсодержащее микроудобрение с высоким содержанием доступного кремния (не менее 7 %), а также калия (1 %) и микроэлементов в хелатной форме (г/л): железо – 0,30, магний – 0,10, медь – 0,70; цинк – 0,08; марганец – 0,30; молибден – 0,06; кобальт – 0,015, бор – 0,090.

Методы

Исследования проводились в 2018-19 годах на опытных полях лекарственного севооборота отдела агробиотехнологии ФГБНУ ВИЛАР. Опытный участок расположен на окультуренных дерново-подзолистых почвах. Пахотный горизонт мощностью 22–23 см, буровато-серой окраски, мелкокомковатый или комковатый. По гранулометрическому составу почва пахотного слоя среднесуглинистая. Содержание агрономически ценных водопрочных агрегатов (>0,5 мм) составляет 40–50 %. Агрохимические показатели почвы: содержание гумуса – 2,1 %, pH (по KCl) – 5,5; содержание подвижного фосфора (по Кирсанову) P_2O_5 – 52 мг/кг; обменного калия K_2O – 87 мг/кг. Посев ноготков осуществлялся в первой декаде мая, глубина заделки семян 2-3 см, норма высева – 8-10 кг/га, междурядье – 60 см [18]. Исследования осуществляли в соответствии с методиками: «Проведения полевых опытов с лекарственными культурами» (1981) и «Требования к оформлению полевых опытов во Всероссийском научно-исследовательском институте лекарственных и ароматических растений (ВИЛАР)» (2006). Площадь опытной делянки 5,4 $м^2$, повторность трехкратная, размещение делянок рендомизированное. Первая обработка Силиплантом проводилась по вегетирующим растениям в III декаде июня; вторая обработка - в фазу начала бутонизации культуры (через 14 суток после первой), ретардантом Харди – однократно в фазу начала бутонизации культуры. Контрольные растения опрыскивали водой. Норма расхода рабочей жидкости 300 л/га. Сбор соцветий проводили вручную в фазу цветения, при раскрытии не менее половины язычковых цветков. За вегетационный период проводилось 7 сборов соцветий ноготков. Биометрические измерения производились с 1 погонного метра каждой повторности в фазу массового цветения. Статистическую обработку экспериментальных данных

выполняли методом дисперсионного анализа по Б. А. Доспехову (1985) с использованием программного обеспечения MS Excel 19.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Критерием оценки эффективности изучаемых некорневых подкормок служили биометрические показатели – высота растений, диаметр соцветий, число рядов язычковых цветков, количество соцветий, а также хозяйственно-полезные признаки – масса 1 соцветия и урожайность сырья.

Изучаемые препараты не оказали значительного влияния на высоту растений, которая в опытных вариантах была практически на уровне контроля, диаметр соцветий также значительно не изменялся. В то же время, обработка «Золотого моря» ретардантом Харди привела к увеличению количества соцветий на 29 % и числа рядов язычковых цветков на 40 %. На сорте Райский сад эти показатели составили 29,7 % и 49 % соответственно. Микроудобрение Силиплант показало меньшую эффективность - на сорте Райский сад количество соцветий по сравнению с контролем увеличилось на 16 %, а число рядов язычковых цветков - на 19 %, данные показатели на сорте Золотое море были на уровне контроля (табл. 1).

Таблица 1 - Влияние микроудобрения Силиплант и ретарданта Харди на биометрические показатели сортов ноготков лекарственных (средние данные за 2018-19 гг.)

Варианты опыта	«Золотое море»			
	Высота растения, см	Диаметр соцветия, см	Число рядов язычковых цветков, шт.	Количество соцветий, шт./п.м.
Контроль (обработка водой)	54,9±4,12	6,43±0,306	5,1±0,51	19,4±2,60
Силиплант (0,4 л/га)	55,8±3,72	6,45±0,277	4,9±0,38	21,0±1,57
Харди (0,2 л/га)	55,5±4,04	6,54±0,335	7,1±0,44	25,0±1,94
«Райский сад»				
Контроль (обработка водой)	55,8±4,16	6,51±0,312	4,7±0,37	21,2±1,46
Силиплант (0,4 л/га)	56,7±3,74	6,52±295	5,6±0,27	24,6±1,64
Харди (0,2 л/га)	56,5±4,24	6,77±0,310	6,1±0,31	31,6±2,50

Как видно из данных таблицы 2, на обоих сортах ноготков максимальное воздействие произвела обработка ретардантом Харди. В этом варианте опыта по всем сборам у сорта Золотое море масса 1 соцветия превышала контроль на 15-80 %. У Райского сада прибавка массы была ниже и колебалась в зависимости от сбора от 10 до 50 %.

Необходимо отметить, что применение Силипланта положительно отразилось на массе 1 соцветия только у сорта Золотое море, прибавка в зависимости от сбора составила 29-88 %, у сорта Райский сад заметных различий по отношению к контролю не наблюдалось.

Таблица 2 - Влияние микроудобрения Силиплант и ретарданта Харди на сырую массу 1 соцветия сортов ноготков лекарственных (средние данные 2018-19 гг.)

Варианты опыта	«Золотое море»						
	1 сбор	2 сбор	3 сбор	4 сбор	5 сбор	6 сбор	7 сбор
Контроль (обработка водой)	1,7±0,15	2,0±0,12	1,3±0,11	1,3±0,10	1,2±0,15	0,9±0,19	1,0±0,14
Силиплант (0,4 л/га)	2,2±0,08	1,7±0,13	1,2±0,10	1,2±0,15	0,7±0,09	0,8±0,12	0,9±0,13

Харди (0,2 л/га)	2,4±0,08	2,3±0,10	1,9±0,06	1,7±0,13	1,8±0,10	1,7±0,07	1,4±0,13
Варианты опыта	«Райский сад»						
	1 сбор	2 сбор	3 сбор	4 сбор	5 сбор	6 сбор	7 сбор
Контроль (обработка водой)	2,2±0,18	2,0±0,69	1,6±0,12	1,3±0,10	1,2±0,14	1,2±0,10	1,0±0,09
Силиплант (0,4 л/га)	2,2±0,14	2,1±0,62	1,6±0,08	1,4±0,19	1,1±0,16	1,1±0,16	1,1±0.22
Харди (0,2 л/га)	2,8±0,27	2,2±0,09	2,0±0,12	1,6±0,17	1,7±0,07	1,6±0,10	1,5±0,11

Важным хозяйственно-полезным признаком является урожайность воздушно-сухого сырья. Ноготки лекарственные положительно отозвались на экзогенное воздействие и показали высокую урожайность при обработке ретардантом Харди за счет увеличения как количества соцветий, так и их массы. Как видно из данных диаграммы, в опытном варианте урожайность превышала контроль на 15 % у сорта Золотое море и 27 % у сорта Райский сад (рис.1).

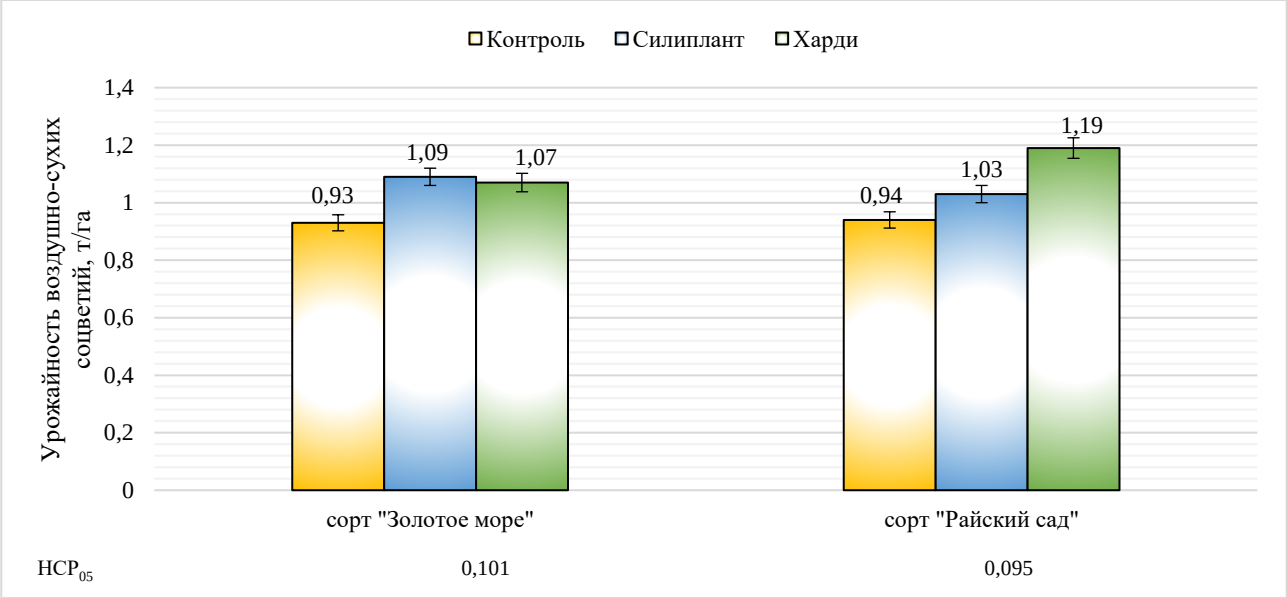


Рисунок 1 - Влияние микроудобрения Силиплант и ретарданта Харди на урожайность сырья сортов ноготков лекарственных (средние данные за 2018-19 гг.)

Обработка микроудобрением Силиплант показала максимальную эффективность на сорте Золотое море, прибавка урожайности сырья превосходила контроль за счет увеличения количества соцветий и составила 17 %. У «Райского сада» – увеличение урожайности происходило благодаря большему количеству соцветий и их массе, прибавка составила 10 %.

ВЫВОДЫ

Изучена сортовая специфика экзогенного влияния ретарданта Харди и микроудобрения Силиплант на биометрические показатели и урожайность сырья сортов ноготков лекарственных. Показано, что сорт Райский сад более отзывчив на обработку ретардантом Харди, влияние микроудобрения Силиплант было выражено слабее, урожайность соцветий повышалась на 0,25 и 0,09 т/га соответственно. На сорте Золотое море от обоих препаратов

был получен сопоставимый эффект: прибавка урожайности составила при обработке Харди 0,15 т/га, при обработке Силиплантом – 0,16 т/га.

Таким образом, полученные экспериментальные данные показывают эффективность применения ретарданта Харди на ноготках в целях повышения продуктивности сортов Райский сад и Золотое море, и микроудобрения Силиплант на сорте Золотое море.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена в рамках НИР ФГБНУ ВИЛАР № 0576-2019-0007. Авторы благодарят всех сотрудников отдела агробиологии и селекции Всероссийского научно-исследовательского института лекарственных и ароматических растений, которые участвовали в сборе соцветий ноготков лекарственных.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Фитопрепараты ВИЛАР: научно-справочное издание. – М.: Борус-Пресс, 2009. – 256 с.
2. Arora, D. A review on phytochemistry and ethnopharmacological aspects of genus *Calendula* / D. Arora, A. Rani, A. Sharma // Pharmacological Reviews. – 2013. – № 7(14) – P. 179-187. – DOI: 10.4103/0973-7847.120520.
3. Титова, Н. Г. Технология получения лекарственных препаратов на основе календулы лекарственной (*Calendula officinalis*) / Н. Г. Титова // Фармацевтический бюллетень. – 2016. – № 1-2. – С. 120-131.
4. Пушкина, Г. П. Адаптация лекарственных культур к абиотическим и биотическим стрессам / Г. П. Пушкина, Л. М. Бушковская, Н. И. Сидельников и др. // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2012. – № 7. – С. 14-17.
5. Бобрешова, И. Ю. Биопрепараты на основе растительных биологически активных веществ / И. Ю. Бобрешова, Т. В. Зимина // Защита и карантин растений. – 2016. – № 8. – С. 30-32.
6. Мельникова, Г. В. Применение регуляторов роста и микроудобрений на расторопше пятнистой (*Silibum marianum* L.) / Г. В. Мельникова, Л. М. Бушковская, Г. П. Пушкина // Биологические особенности лекарственных и ароматических растений и их роль в медицине (Москва, 23-25 июня 2016 г.). – Москва, 2016. – С. 265-268.
7. Ковалев, Н. И. Изучение влияния различных форм удобрений на продуктивность ноготков лекарственных / Н. И. Ковалев // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2013. – № 5. – С. 36.
8. Сидельников, Н. И. Влияние органоминеральных удобрений на рост и развитие *Calendula officinalis* L. / Н. И. Сидельников, Ф. М. Хазиева, М. Ю. Грязнов и др. // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2013. – № 11. – С. 26-30.
9. Царегородцева, Е. Ж. Агротехнические приёмы формирования урожая лекарственного сырья календулы (*Calendula officinalis* L.) в низкогорной зоне горного Алтая: автореферат диссертации кандидата сельскохозяйственных наук: специальность 06.01.01 / Царегородцева Елена Жумашевна; Горно-Алтайский государственный университет. – Горно-Алтайск, 2018. – 20 с.
10. Басалаева, И. В. *Calendula officinalis* L. Сорт Золотое море. Российская Федерация / И. В. Басалаева, А. Н. Бознякова, А. Е. Бурова и др. // Патент на селекционное достижение, № 7532, 2014.
11. Грязнов, М. Ю. *Calendula officinalis* L. Сорт Райский сад. Российская Федерация / М. Ю. Грязнов, Т. Е. Саматадзе, Н. Ю. Свистунова [и др.]. // Патент на селекционное достижение, № 8651, 2016.
12. Хазиева, Ф. М. Влияние химических мутагенов на *Calendula officinalis* L. / Ф. М. Хазиева, И. В. Басалаева, С. А. Тоцкая, М. Ю. Грязнов, Н. И. Сидельников, А. Е. Бурова // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2014. – № 4. – С. 66.

13. Хазиева, Ф. М. Сортовая специфика накопления макро- и микроэлементов в цветках *Calendula officinalis* L. и их цитогенетическая изменчивость / Ф. М. Хазиева, С. И. Цыганок, Т. Е. Саматадзе [и др.]. // Агрохимический вестник. – 2019. – № 2. – С. 58-61.
14. Пушкина, Г. П. Испытания нового природного ретарданта Харди на лекарственных культурах / Г. П. Пушкина, Н. С. Тропина, В. И. Осипов, Г. В. Мельникова // Перспективы использования инновационных форм удобрений, средств защиты и регуляторов роста растений в агротехнологиях сельскохозяйственных культур (Анапа, 19–23 сентября 2016 г.). – Анапа, 2016. – С. 120-123.
15. Тропина, Н. С. Эффективность природного ретарданта Харди на эфиромасличных растениях в условиях Краснодарского края / Н. С. Тропина, А. Ю. Аникина // Новые и нетрадиционные растения и перспективы их использования. – 2018. – № 13. – С. 527-531.
16. Тропина, Н. С. Применение ретарданта Харди на ромашке аптечной / Н. С. Тропина, А. Ю. Аникина, Р. Н. Тхаганов // Сборник научных трудов Государственного Никитского ботанического сада. – 2018. – Т. 146. – С. 117-120.
17. Маланкина, Е. Л. Влияние ретарданта Харди на продуктивность и биохимический состав сырья змееголовника молдавского / Е. Л. Маланкина, Т. И. Шатилова, Н. Г. Романова, Е. Н. Ткачева // Плодородие. – 2020. – № 5 (116). – С. 38-41.
18. Аникина, А. Ю. Лекарственные и эфирномасличные культуры: особенности возделывания на территории Российской Федерации / А. Ю. Аникина, И. В. Басалаева, Л. М. Бушковская [и др.]. – Москва: Изд-во «Наука», 2021. – 255 с.

RESPONSIVENESS OF DIFFERENT POT MARIGOLD VARIETIES ON EXOGENOUS TREATMENT OF PLANTS

Ph.D. in Biology Khazieva F. M., Ph.D. in Agriculture Basalaeva I. V. [a)], Ph.D. in Agriculture Kovalev N. I.

FSBSI All-Russian Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants, Moscow, Grina str., 7, 117216

a) corresponding author – basalaeva@vilarnii.ru

Abstract. Pot marigold (*Calendula officinalis* L.) is one of the most popular medicinal plant, widely use in the pharmaceutical, medical, food industry and in cosmetology. In this paper the results of different marigold varieties (Zolotoe more and Rajskij sad) treatment by the biological retardant Hardy and the silicon microfertilizer Siliplant are presented. The obtained data indicate a positive effect of treatment on the yield of the Zolotoe more variety due to an increase in the mass of one inflorescence and their total number increase (on 0.15 and 0.16 t/ha of air-dry inflorescences more than in control). The use of retardant Hardy on the Rajskij sad variety turned out to be similar, the yield of inflorescences increased by 0.25 t/ha compared to the control, but effectiveness of Siliplant microfertilizer on it was expressed poorly. These results can be used in develop of pot marigold agricultural technology.

Keywords: *common marigold, Calendula officinalis, variety, Hardy, Siliplant, yield of inflorescences.*

УДК 632.9: 633.8 DOI: 10.52101/9785870191003_2021_74

ОСОБЕННОСТИ СОВРЕМЕННЫХ СИСТЕМ ЗАЩИТЫ ЛЕКАРСТВЕННЫХ КУЛЬТУР (ОБЗОР)

к.с-х. н Ковалев Н. И.

ФГБНУ "Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений, г. Москва, ул. Грина, д. 7, 117216

kovalevteam@mail.ru

Аннотация. Специфика использования растительного лекарственного сырья накладывает ограничения на применение пестицидов при возделывании лекарственных культур. В современных технологиях защиты лекарственных растений от вредных организмов акцент делается на получение экологически чистого лекарственного сырья, остаточные количества пестицидов в котором не допускается. Для минимизации последствий применения пестицидов в комплексные экологизированные системы защиты включают препараты небиоцидного действия (регуляторы роста растений, органоминеральные и микроудобрения). Использование данных препаратов способствует усилению ростовых процессов культуры, компенсированию потерь урожая от вредителей, болезней и сорняков, а также повышению устойчивости к ним растений. Подобный подход отвечает современным требованиям безопасности и обеспечивает эффективность производства в лекарственном растениеводстве при сохранении высокого качества получаемой продукции.

***Ключевые слова*:** *лекарственные растения, защита растений, регуляторы роста, гербициды, микроудобрения*

Червь бьет всего прожорливей ростки,
Когда на них еще не вскрылись почки,
И ранним утром жизни, по росе,
Особенно прилипчивы болезни.
У. Шекспир

ВВЕДЕНИЕ

Основное внимание в системе защиты растений от вредных организмов, начиная с 70-х годов XX века было уделено химическому методу. Однако широкое его использование в интенсивных системах земледелия привело к загрязнению биосферы вредными веществами и обострению проблемы охраны окружающей среды. Важной задачей растениеводства XXI века стала перестройка стратегии защиты растений, направленная не на тотальное уничтожение вредных организмов, а регулирование их численности на безопасном уровне, ниже экономического порога вредоносности. Реализация этой концепции позволит изменить экологобиоценотическую обстановку в сторону ухудшения условий развития вредных организмов, способствовать снижению их численности и вредоносности, а также уменьшению пестицидного прессинга на окружающую среду [1].

Возрастающие требования к экологической чистоте продукции растениеводства и сохранению окружающей среды в целом требуют разработки новых подходов к защите, которые заключаются в минимизации применения химических средств за счет повышения адаптации самих растений к неблагоприятным воздействиям широкого круга вредных организмов. С этой целью в последние годы в практике сельского хозяйства большое внимание уделяется использованию биопрепаратов ростостимулирующего и иммуномодулирующего действия, которые, оказывая положительное влияние на рост и развитие растений, активизируя физиологические и биохимические процессы, стимулируют

защитные свойства растений, способствуют повышению урожайности сырья и улучшению его качества [2-4].

Учитывая сравнительно небольшие посевные площади лекарственных растений, при подборе пестицидов для их защиты производители ориентируются на препараты, ранее доказавшие свою эффективность и безопасность применения на овощных, плодово-ягодных культурах, винограде, цитрусовых и чае. Однако ассортимент и объем разрешенных к применению в сельскохозяйственном производстве пестицидов за последние 25 лет неуклонно сокращается [5]. Касается это и лекарственных культур - если в 1986 г. Минздравом было допущено применение на лекарственных культурах 45 пестицидов: 16 гербицидов, 17 инсектицидов, 9 фунгицидов, 3 протравителя семян и почвы, то в 2021 году зарегистрировано всего 6 препаратов: 4 гербицида и 2 фунгицида [6]. Эффективным решением данной проблемы становится введение в практику лекарственного растениеводства препаратов с небиоцидной активностью (регуляторов роста, микроудобрений). Это очень важно в связи с тем, что лекарственные культуры - особая группа растений, на которой ограничено применение пестицидов (гербицидов, инсектицидов, фунгицидов). Кроме того, характерной особенностью лекарственных растений является низкая энергия прорастания и всхожесть семян, длительность периода от посева до появления всходов, медленный рост в начальные периоды вегетации, что приводит к снижению устойчивости растений к вредителям, болезням и конкурентноспособности к сорнякам, а применение биорегуляторов, органоминеральных- и микроудобрений, обеспечивает повышение стрессоустойчивости лекарственных культур к подобным биотическим факторам [7].

В данной статье проведен анализ основных тенденций в современных технологиях защиты лекарственных культур от вредных организмов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Предлагаемый обзор составлен на основе анализа материалов научной литературы по теме защиты лекарственных растений от вредных организмов (монографии и научные статьи, в том числе из баз данных платформ РИНЦ (E-library), Google Scholar, Researchgate).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Использование химического метода защиты растений ставит ряд вопросов, связанных с качеством продукции. Лекарственные культуры – это особая группа растений, на которой ограничено применение пестицидов (гербицидов, инсектицидов, фунгицидов). С учетом специфики использования продукции лекарственного растениеводства, безопасное применение пестицидов на лекарственных культурах базируется на двух исходных положениях. Первое – обработка растений химическими препаратами безвредна при глубокой химической переработке растительного лекарственного сырья до получения индивидуальных веществ или их суммы (паслен дольчатый, мачок желтый, дурман, наперстянка и др.). Второе положение – применение пестицидов на культурах, сырье которых используется в виде настоев, отваров, галеновых препаратах должно строго регламентироваться, остаточные количества пестицидов в них не допускаются из-за риска перехода остаточных количеств препаратов в готовые лекарственные формы. Большая работа по изучению действия пестицидов и подбору наиболее эффективных из них для ряда важнейших лекарственных культур, проведенная в ВИЛАР, показала, что в большинстве случаев, при правильном их подборе и применении не происходит отрицательного влияния на качество лекарственной продукции. Как правило, накопление остатков пестицидов в лекарственной продукции связано с несоблюдением регламентов применения препаратов. К таким случаям относится завышение нормы расхода пестицидов, увеличенная кратность обработок или несоблюдение

сроков внесения препаратов. Необходимо ответить, что наличие остаточных количеств пестицидов может зависеть от ряда факторов. В некоторых случаях сушка лекарственного растительного сырья может способствовать разложению препаратов, в то время как при их определении в сырых образцах они имеются. Иногда и воздушно-сухое лекарственное сырье может содержать остатки препарата, однако после нескольких месяцев хранения они не обнаруживаются. При такой ситуации решением вопроса может быть определенная выдержка сырья до его реализации. Но для ряда культур необходимо определение остаточных веществ в невысушенном сырье. К таким культурам относятся подорожник большой и блошный, эхинацея пурпурная, лопух большой, сырье которых используется для переработки в сыром виде для получения соков. Загрязнение лекарственной продукции пестицидами, в частности гербицидами, может происходить в результате их поглощения корнями растений, что может иметь значение для культур, у которых сырьем является подземная часть растений (примером может служить накопление остатков трефлана в корнях валерианы и девясила до 0,005 мг/кг). Влиять на разложение пестицидов может и видовая принадлежность растений, их морфологические особенности: так, ворсистость мяты замедляет процесс дектоксикации триадимефона и трифлуралина [8; 9; 10].

В целях избегания загрязнения остаточными количествами пестицидов лекарственного растительного сырья, особенно идущего на производство галеновых препаратов, необходимо по возможности переносить использование средств химических защиты в паровое поле или проводить обработки после уборки предшественника. При таком подходе борьба с сорной растительностью непосредственно в посевах лекарственных культур проводится главным образом агротехническими методами. Для борьбы с сорняками на предшественнике используют гербициды сплошного действия (д.в. *глифосат* (*изопропиламинная соль*)), которые эффективны против большого числа видов многолетних двудольных и злаковых, а также всех однолетних сорняков. Глифосат абсорбируется листьями и в течение нескольких часов распространяется по всему растению и приостанавливает его рост. Обработка парового поля осуществляется двукратно гербицидами Торнадо, ВР (360 г/л), Напалм, ВР (360 г/л), Раундап Макс (450 г/л) и др. по вегетирующим сорнякам с нормой расхода препарата 1,6-3,2 л/га. Двукратная обработка связана с механизмом действия данных гербицидов, которые нарушают обмен веществ у вегетирующих растений. В случае однократного опрыскивания убирается только первая «волна» сорной растительности, но обработка никак не воздействует на покоящиеся семена сорняков [11].

Однако на культурах с низкой энергией прорастания применения гербицидов только в паровом поле недостаточно для полного освобождения плантаций от сорняков, и возникает необходимость химических прополок непосредственно в посевах. Это обусловлено тем, что длительное совместное произрастание медленно растущих всходов лекарственных культур с сорняками определяет их низкую продуктивность: общее отставание в росте, слабое развитие корневой системы, малое число генеративных побегов и прогрессивно нарастающий выпад растений. Применение гербицидов в предшествующем периоде и при посеве обеспечивают «стартовое» преимущество лекарственных растений перед сорняками в начале вегетации, отодвигают сроки и облегчают проведение первой прополки [12]. Для минимизации применения пестицидов в экологизированных системах защиты лекарственных растений рекомендуется применять регуляторы роста и микроудобрения, которые способны повышать устойчивость растений к вредителям, болезням и их конкурентоспособность по отношению к сорнякам. К примеру, комплексная система борьбы с сорняками на посевах ноготков лекарственных, включающая двукратное применение гербицида Раундап в норме расхода 2,5–3 л/га в паровом поле и обработка семян и вегетирующих растений ноготков росторегулятором Циркон (0,15 мл/кг + 35 мл/га), позволяет исключить применение гербицидов на ее товарных

плантациях. Под влиянием Циркона наблюдалось ускорение прохождения фенофаз и усиление роста растений, что позволило самой лекарственной культуре активно подавлять рост сорняков при этом прибавка урожая сырья по сравнению с контролем составила 24–26 %, содержание каротиноидов в сырье увеличилось на 24–28 % [13].

Применение препаратов с ростостимулирующей и иммуномодулирующей активностью в современных технологиях защиты лекарственных культур становится одним из ее неотъемлемых элементов. Связанно это с биологическими особенностями лекарственных растений, которые в большинстве своем еще недавно являлись дикорастущими представителями естественной флоры. Для них характерны низкая энергия прорастания и всхожесть семян, обуславливающие недружность всходов, а также замедленный рост на начальных этапах онтогенеза. Все это способствует большей повреждаемости растений вредителями и болезнями и снижению их конкурентоспособности к сорнякам. В то же время препараты защитно-стимулирующего действия позволяют активизировать ростовые процессы растений и способствуют повышению их устойчивости растений к вредителям и болезням [7; 14; 15]. Хорошие результаты были получены при обработке семян различных лекарственных культур (эхинацеи пурпурной, наперстянки шерстистой, копеечника альпийского и женьшеня) росторегуляторами Циркон (в норме расхода 0,1–1 мл/кг) и Эпин-экстра (0,3–0,5 мл/кг). В опытных вариантах предпосевная обработка способствовала появлению более ранних (на 2–4 дня), чем в контроле, всходов и повышению на 12–28 % густоты стояния растений. После обработки Цирконом семян наперстянки шерстистой, копеечника альпийского и женьшеня, изреженность посевов которых из-за поражения корневыми гнилями может достигать 50 %, наблюдалось не только повышение энергии прорастания и всхожести семян, но и сдерживание развития семенной инфекции. Однако необходимо учитывать, что в случае сильной заспоренности семян применение только регуляторов роста не позволяет в полной мере защитить растения от болезней. В то же время свою эффективность показала предпосевная обработка семян различных лекарственных культур биологическим фунгицидом Бактофит. Применение Бактофита на стратифицированных семенах женьшеня повышает их всхожесть на 8-13% при одновременном снижении на 16-18 % поражаемости всходов корневыми гнилями. При системной обработке Бактофитом семян и вегетирующих растений женьшеня до конца вегетации не отмечались поражения растений корневыми гнилями, выход здоровой рассады увеличивался на 10-12 %. На эхинацее пурпурной обработка семян Бактофитом также показало высокую действенность, сопоставимую с эффективностью химического протравителя Фундазол - уровень инфекции снижался на 15,8-20,3 %, что обеспечило хорошую сохранность всходов. Это способствовало повышению густоты стояния растений на 25-30 % и активизации ростовых процессов, хорошее развитие растений на первом году вегетации обеспечило снижение их гибели при перезимовке, повышение урожайности травы на 25 % и сбора оксикоричных кислот с 1 га на 12 % [7].

Использование микроудобрений и росторегуляторов позволяет в отдельных случаях полностью избежать ситуаций, при которых применение пестицидов становится необходимым. Для ряда лекарственных культур, таких как мята перечная, шалфей лекарственный, серпуха венценосная, значительную опасность представляют мучнистые росы, снижение урожайности данных культур достигает в зависимости от степени развития заболевания от 10 до 65 %. В то же время применение росторегуляторов и микроудобрений обеспечивает ранние сроки их уборки на сырье. На мяте перечной и шалфее лекарственном двукратная обработка росторегулятором Циркон вегетирующих растений оказывала стимулирующее действие на ростовые процессы, способствовала ускорению прохождения

фенофаз – цветение наступало на 4-6 дней раньше, чем в контроле, что позволило приступить к уборке сырья до поражения растений мучнистой росой. Кроме того, урожайность листа повышалась на 15-20 %, а сбор эфирного масла с гектара на 24-28 %. Аналогичное действие оказало комплексное применение препарата Циркон с микроудобрением Феровит на серпухе венценосной: интенсивный рост и развитие растений позволил провести уборку на сырье раньше, в опытном варианте не отмечалось поражение растений мучнистой росой. При этом наблюдалось повышение урожайности сырья серпухи на 16-20 % и содержания в нем биологически активных веществ (фитоэкдистероидов) на 6-8 % [16].

Определенный интерес представляют работы, связанные с изучением биологически активных веществ растений как источника получения биопестицидов [17]. Так, эффективным и экологически безопасным оказалось использование медицинского препарата Сангвиритрин, представляющего собой сумму алкалоидов сангвинарина и хелеритрина, получаемых из травы маклеи сердцевидной. Обработка семян копеечника альпийского и эхинацеи пурпурной раствором Сангвиритрина (0,05 %) позволила снизить их пораженность семенными инфекциями (*Alternaria* spp., *Aspergillius, Penicillium*) на 57-63 % и оказала стимулирующее действие на процессы прорастания семян: энергия прорастания повышалась на 7,5-13,9 %, всхожесть - на 16,7–22,9 %. Опрыскивание вегетирующих растений мяты и серпухи венценосной, проведенное при первых признаках заболевания, показало высокую биологическая эффективность (69-78 %) данного приема против мучнистой росы (*Erysiphe cichoracearum*). Снижение развития заболевания привело к повышению урожайности лекарственного сырья: мяты перечной на 16 %, серпухи венценосной – на 18 %, при улучшении качества сырья – содержание эфирного масла мяты перечной возрастало на 10 %, а фитоэкдистероидов серпухи венценосной на 12 % [18].

При подборе приемов защиты лекарственных культур от вредителей желательно ориентироваться не на тотальную борьбу с вредными организмами, а на степень повреждения ими растений, учитывать их экономический порог вредоносности. При средней и слабой степени повреждаемости на лекарственных культурах комплексное применение росторегуляторов, органоминеральных и микроудобрений компенсирует причиняемый вредителями ущерб [19]. На мяте перечной при засушливых погодных условиях наблюдается увеличение вредоносности мятной блошки (*Longitarsus lycopi* Foudras), что приводит к потере до 15-18 % урожая листа. Применение микроудобрения Феровит способствует увеличению количества побегов и облиственности растений, повышает их выносливость к повреждению вредителем, что позволяет не только компенсировать потери урожая, но в ряде случаев обеспечивает его прибавку на 18-21 % [20]. Лимитирующим фактором получения стабильных урожаев лекарственных культур является биотический стресс, который усиливается при аномальных погодных условиях. Высокую эффективность показывает применение кременесодержащих препаратов, которые влияют на ауксиновый обмен, способствуют увеличению биомассы корней, повышают адаптацию растений к засушливым погодным условиям. В ряде работ было показано, что использование кремниевого микроудобрения Силиплант способствует устранению биотического стресса растений, т.к. проявляются профилактические и фунгицидные свойства - обработка препаратом повышает толщину листовой пластинки и механическую прочность растительных тканей, что затрудняет питание колюще-сосущих вредителей и проникновению патогенов [21; 14; 22]. Особенно актуальным использование небиоцидных препаратов становится в последние годы, так как к настоящему моменту возможность проведения истребительных мероприятий с помощью инсектицидов на лекарственных культурах ограничена - разрешенные к применению на них препараты практически отсутствуют. Даже биологические препараты Битоксибациллин и Лепидоцид,

обладающие высокой эффективностью, экологической безопасностью и ранее использовавшиеся для защиты лекарственных культур, в настоящий момент на них не перерегистрированы [6].

Использование разрешенных к применению на лекарственных культурах пестицидов (главным образом гербицидов и фунгицидов) в сочетании с препаратами, обладающей небиоцидной активностью (росторегуляторами и микроудобрениями), позволяет обеспечивать высокую эффективность технологии их возделывания. Так, разработанная технология защиты мяты перечной (сорт Кубанская 6) от сорняков, основанная на применении бинарной смеси гербицида Корсар в сниженной норме расхода (2,5 л/га) с микроудобрением Силиплант (0,5 л/га), позволяет уменьшать засоренность плантаций до 76 % и обеспечивает повышение урожайности сырья на 12 % (первого укоса). Последующая обработка отрастающих после укоса растений мяты органоминеральным удобрением Абсолют или микроудобрением Цитовит способствовала повышению урожайности сырья второго укоса на 10–14 %. При использовании системы двукратных обработок прибавка урожая по сумме двух укосов составила 12–13 %, выхода эфирного масла – на 19–20 % [23].

На лапчатке белой II года вегетации двукратное использование баковой смеси фунгицида Абига-Пик с росторегулятором Циркон снижало степень развития заболевания до 4-5%, что значительно ниже порога вредоносности (15%). Учитывая тот факт, что сырье лапчатки в основном используется в качестве галеновых препаратов, в год уборки урожая желательно исключить применение фунгицидов. Эффективным приемом для повышения устойчивости растений к ржавчине и увеличения их продуктивности оказалось проведение некорневой подкормки баковой смесью росторегулятора Циркон с микроудобрением Силиплант. Наблюдения за развитием ржавчины показали, что первые признаки заболевания на растениях, обработанных Цирконом, появились на 10-15 дней позднее, чем на контрольных делянках и делянках с Абига-Пик. Степень развития заболевания на момент уборки урожая в варианте двукратной обработки Цирконом и Циркон с Силиплантом не превышала 13 %, в контрольном варианте она составляла 38-39,2 %, при этом некорневая подкормка обеспечила достоверную прибавку урожайности: по сравнению с контролем она составила 10 ц/га (27 %) и с одним Абига-Пик на 6,0 ц/га (12%) [7; 24].

Учитывая возрастающие требования к экологизации земледелия и необходимость снижения пестицидной нагрузки на агроценозы, сокращение числа разрешенных к применению пестицидов, повышается значение интегрированной системы защиты растений с преобладанием агротехнических, организационно-хозяйственных и биологических методов. Сюда относится подбор оптимальной зоны для возделывания культуры, в которой наряду с благоприятными почвенно-климатическими условиями отсутствовали бы доминирующие вредители или потенциально опасные заболевания; обоснованное составление севооборотов, использование устойчивых сортов, разработка новых приемов агротехники, использование природных факторов (энтомофагов и полезной микрофлоры) и биотехнических средств (клеевые и феромонные ловушки) и др. Новые адаптивные технологии возделывания сельскохозяйственных культур, в том числе и лекарственных, не могут обойтись без применения препаратов небиоцидного действия, грамотное использование которых позволяет обеспечить экономичность производства, сохранность урожая и его высокое качество.

ВЫВОДЫ

В современных комплексных системах защиты лекарственных культур от вредных организмов имеется выраженная тенденция к минимизации применения химических средств защиты. Включение в систему защиты лекарственных культур препаратов с небиоцидной

активностью (росторегуляторов и микроудобрений) положительно влияет на их рост и развитие, повышает защитные свойства растений, улучшает фитосанитарное состояние агроценозов и способствует снижению пестицидной нагрузки при одновременном повышении урожайности сырья и его качества, а в ряде случаев использование данных препаратов позволяет исключить применение химических средств защиты за счет «ухода» растений от заболеваний при их активном росте и ускоренном прохождении фенологических фаз.

БЛАГОДАРНОСТИ

Автор выражает признательность к.б.н. Г. П. Пушкиной и к.б.н. Л. М. Бушковской за ценные замечания, высказанные при подготовке данной статьи.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Жученко, А. А. Адаптивное растениеводство (эколого-генетические основы). Теория и практика. В трех томах / А. А. Жученко. – М.: Изд-во Агрорус, 2008. – Т. I. – 816 с.
2. Захаренко, В. А. Биопестициды и средства защиты растений с небиоцидной активностью в интегрированном управлении фитосанитарным состоянием зерновых агроэкосистем / В.А. Захаренко // Агрохимия. 2017. – № 6. – С. 64-76.
3. Бобрешова, И. Ю. Биопрепараты на основе растительных биологически активных веществ / И.Ю. Бобрешова, Т.В. Зимина // Защита и карантин растений. – 2016. – № 8. – С.30-32.
4. Санин, С. С. Адаптивная защита растений - важное звено современного растениеводства / С. С. Санин // Защита и карантин растений. – 2019. – №2. – С.3-11.
5. Захаренко, В. А. Анализ рисков химического загрязнения, связанных с химизацией защитных мероприятий при интегрированном управлении фитосанитарным состоянием агроэкосистем / В.А. Захаренко // Агрохимия. – 2017. – № 9. – С. 3-24.
6. Список пестицидов и агрохимикатов разрешенных к применению на территории Российской Федерации: справочное издание. М.: Защита и карантин растений, 2020. – 832 с.
7. Бушковская, Л. М. Биотический фактор в агроценозах лекарственных культур как основа экологизированной защиты от вредных организмов / Л.М. Бушковская, Г.П. Пушкина, В.Ю. Масляков. – М.: «ИП Скороходов», 2015. – 135 с.
8. Носырев, В. И. Некоторые аспекты качества лекарственного сырья в связи с применением пестицидов / В.И. Носырев, Г.П. Пушкина / Защита лекарственных культур от вредителей, болезней и сорняков. – М.: ВИЛАР, 1986. – 168 с.
9. Zuin, V. G. Pesticide residues in medicinal plants andphytomedicines // V.G. Zuin, J.H.Y. Vilegas. – Phytotherapy Research. – 2000. – №14. – P.73–88. – DOI: 10.1002/(SICI)1099-1573(200003)14:2.
10. Florea, A. M. Transfer rate of pesticide residues from medicinal plants in different types of extractive solutions / A.M. Florea, V. Drumea, R.A. Nita *et al.* // Toxicological & Environmental Chemistry. – 2020. – №102. – 1-4. – P.37-61. – DOI: 10.1080/02772248.2020.1773466.
11. Лекарственные и эфирномасличные культуры: особенности возделывания на территории Российской Федерации / А.Ю. Аникина, И.В. Басалаева, Л.М. Бушковская и др. М.: ВИЛАР, 2021. – 256 с.
12. Загуменников, В. Б. Постсорняковая депрессия в переходящих посевах эхинацеи пурпурной / В.Б. Загуменников // Новые и нетрадиционные растения и перспективы их использования (Пущино, 9-14 июня 2003 г.). – Москва, 2003. – Т. 3. – С. 223-225.
13. Сидельников, Н. И. Особенности защиты лекарственных культур от вредных организмов / Н. И. Сидельников, Л.М. Бушковская, Г.П. Пушкина // Защита и карантин растений. – 2014. –№ 11. – С. 20-22.

14. Дорожкина, Л. А. Защита растений в питомнике и саду. Справочник / Л.А. Дорожкина, О.О. Белошапкина, И.М. Митюшев, А.Н. Неженец // Казань: ОАО «Идел-Пресс», 2018. – 228 с.
15. Шаповал, О. А. Регуляторы роста растений в сельском хозяйстве / О.А. Шаповал, И.П. Можарова // Защита и карантин растений. – 2019. – № 4. – С. 9-14.
16. Бушковская, Л. М. Роль препаратов небиоцидной природы в регулировании вредоносности мучнистой росы на лекарственных культурах / Л.М. Бушковская, Г.П. Пушкина // Современные проблемы иммунитета растений к вредным организмам (Санкт-Петербург, 11–13 октября 2016 г.). – Спб., 2016. – С.87.
17. Жемчужин, С.Г. Биопестициды: современное состояние проблемы (дайджест публикаций за 2012–2017 гг.) // С.Г. Жемчужин, Ю.Я. Спиридонов, Г.С. Босак // Агрохимия. – 2019. – № 11. – С.77-85.
18. Быкова, О. А. Эффективность применения алкалоидов *Macleaya cordata* для защиты лекарственных культур от болезней / О.А. Быкова, Н.И. Сидельников, С.И. Ромашкина, Р.Р. Тхаганов // Биологическая защита растений - основа стабилизации агроэкосистем (Краснодар, 11–13 сентября 2018 г.). – Краснодар, 2018. – С. 173-176.
19. Ковалев, Н.И. Фитофаги интродуцируемых лекарственных растений / Н.И. Ковалев, С.И. Ромашкина, Л.М. Бушковская // Молодые ученые и фармация XXI века (Москва, 15 декабря 2015 г.) – Москва, 2015. – С. 60-63.
20. Пушкина Г. П. Роль регуляторов роста и микроудобрений в адаптации лекарственных культур к абиотическим и биотическим стрессам / Г.П. Пушкина, Л.М. Бушковская, Н.И. Сидельников // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2012. – № 7. – С.14-18.
21. Пушкина, Г. П. Роль кремния в повышении биопродуктивности и адаптации лекарственных культур к засушливым погодным условиям / Г.П. Пушкина, Н.И. Сидельников // Новые и нетрадиционные растения и перспективы их использования. – 2016. – № 12. – С. 249-252.
22. Дорожкина, Л. А. Ягоды без пестицидов / Л.А. Дорожкина // Методы и технологии в селекции растений и растениеводстве (Киров, 01-05 апреля 2019 г.). – Киров, 2019. – С. 235-237.
23. Тропина, Н. С. Микроудобрения и регуляторы роста в технологии защиты мяты перечной от сорной растительности в условиях западного Предкавказья / Н.С. Тропина, Н.И. Сидельников, О.А. Быкова // Масличные культуры. Научно-технический бюллетень Всероссийского научно-исследовательского института масличных культур. – 2018. – № 4 (176). – С. 132-136.
24. Сидельников, А. Н. Биологические основы технологии возделывания лапчатки белой (*Potentilla alba* L.) / А.Н. Сидельников, Ф.М. Хазиева, Г.П. Пушкина, Л.М. Бушковская. –М.: Филинъ, 2017. – 126 с.

FEATURES OF MODERN PLANT PROTECTION SYSTEMS ON MEDICINAL CROPS (REVIEW)

Ph.D. in Agriculture Kovalev N. I.
FGBNU All-Russian Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants,
Moscow, Grina str., 7, 117216
kovalevteam@mail.ru

Abstract. The use of pesticides provides optimization of the phytosanitary condition of medicinal plants agrocenosis. However, taking into account the specifics of the medicinal plant products uses, applying of pesticides on this group of plants is limited. In modern technologies of medicinal plants protection from harmful organisms, the emphasis is on obtaining environmentally safe medicinal raw materials, residual amounts of pesticides are not allowed in it. To minimize the use of pesticides, complex ecologized protection systems include remedy of a non-biocidal nature (plant growth regulators, organomineral and microfertilizers). The use of these remedies helps to strengthen the growth processes of the medicinal plants, compensate for crop losses from pests, diseases and weeds, as well as increase the resistance of plants organisms to them. Such protection technologies, combining the use of pesticides and remedies of non-biocidal nature, meet modern safety requirements and ensure efficiency of agriculture production with high product quality.
Keywords: *medicinal plants, plant protection, growth regulators, herbicides, microfertilizers*

УДК 633.8 : 632.4 : 632.911 DOI: 10.52101/9785870191003_2021_83

ФИТОПАТОЛОГИЯ (МИКОЗЫ) ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ В МНОГОЛЕТНИХ КОЛЛЕКЦИОННЫХ ПОСАДКАХ

профессор, д.б.н. Ларина Г. Е.[1,a)], к.б.н. Серая Л. Г.[1], Голимбовская С. А.[1], Петровнина Т. А.[1], Калембет И.Н.[1], Полякова Н. Н.[1], к.б.н. Гудкова Н. Ю.[2], к.с.-х.н. Быкова О. А. [3]

1 - ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт фитопатологии, Россия, Московская область, Одинцовский район, р.п. Большие Вяземы, ул. Институт, владение 5, 143050

2 - ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений, Россия, г. Москва, ул. Грина, д. 7, 117216

3 - Северо-Кавказский филиал ФГБНУ Всероссийского научно-исследовательского института лекарственных и ароматических растений, Россия Краснодарский край, Динской р-н, ст. Васюринская, 353225

а) автор для переписки – gala.larina@mail.ru

Аннотация

В статье представлены данные фитомониторинга коллекционных посадок лекарственных растений (ЛР) на территории Всероссийского научно-исследовательского института лекарственных и ароматических растений (ВИЛАР) (г. Москва) и Северо-Кавказском филиале ВИЛАР (Краснодарский край). Обследовано 308 видов из 56 семейств. Наиболее широко представлены представители семейства Яснотковых, Сложноцветных и Розовоцветных. Инструментальные исследования пятнистей на листьях ЛР позволили определить причины поражения неинфекционного и инфекционного характера. Основная причина потерь качества лекарственного сырья (листья, корни) – микозы или грибные болезни. Выделены основные возбудители инфекционных болезней, представители рода *Alternaria, Chaetomium, Botrytis, Cladosporium, Fusarium, Peronospora, Phoma, Pullularia, Septoria, Heterosporium, Stemphulia, Stemphylium, Verticillium*. Географические условия места расположения коллекций лекарственных растений влияли на степень поражения болезнями. По степени сходства и различия сообщества микромицетов в разных точках наблюдений, установлено их значимое отличие (P_{α}=95%), они представляют разные ассоциации (индекс разнообразия выше 50%). Сезонность роста микромицетов на побегах и листьях ЛР отличалась: в осенние учеты частота встречаемости микозов увеличивалась в 2-14 раз, по сравнению с весенне-летними обследованиями. Наблюдали рост активности фитопатогенных грибов рода *Fusarium* (возбудитель фузариоза), *Puccinia* (ржавчина), *Phoma* (фомоз), *Rhizoctonia* (парша), *Verticillium* (трахеомикозное или сосудистое увядание). Установлены виды лекарственных растений со средней степенью поражения листовыми пятнистостями (2-3 балла): *Eleutherococcus senticosus* Maxim (элеутерококк колючий), *Leonurus cardiaca* L. (пустырник пятилопастной), *Melissa officinalis* L. (мелисса лекарственная), *Valeriana alliariifolia* Adams (валерьяна чесночниколистная), *Origanum vulgare* L. (душица обыкновенная), *Mentha piperita* L. (мята перечная), *Hyssopus officinalis* L. (иссоп лекарственный), *Stachys byzantina* K. Koch (чистец византийский), *Cichorium intybus* L. (цикорий обыкновенный), *Scutellaria baicalensis* Georgi (шлемник байкальский).

Ключевые слова: лекарственные растения, фитопатология, микозы, болезнь, биоразнообразие.

ВВЕДЕНИЕ

Расширение площадей и набора видов ЛР для культивирования в местах, отличных от мест их естественного обитания, может быть удачным при условии правильной интродукции с учетом экологии растения и условий акклиматизации, в т.ч. на основе знаний о консорции растений и компонентов агро(фито)ценоза (пространственные (топические) и пищевые

(трофические) связи) [1]. Глобальные изменения климата, возрастающие потребности в натуральном (природном) сырье, активное развитие здорового образа жизни, интеграция природных объектов в городскую среду – это немногие современные тенденции изменений в жизни общества [2, 3]. Решение перечисленных вопросов включает базу знаний по экологии лекарственных растений и географических условиях их произрастания, влияние погодных условий и агротехнологии выращивания, структурно-видового состава грибного комплекса как потенциального источника инфекционных болезней и пр. [4].

Цель работы – изучение фитопатологии (микозы) лекарственных растений в многолетних коллекционных посадках в разных почвенно-климатических зонах.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы. Фитомониторинг состояния коллекционных посадок лекарственных растений (ЛР) проводили в 2019-2020 гг. на территории ботанического сада ФГБНУ Всероссийского научно-исследовательского института лекарственных и ароматических растений (ВИЛАР) (Центральный Нечерноземный регион, г. Москва) - ВИЛАР_М (55°33'54.45"С 37°35'41.82"В) и в Северо-Кавказском филиале ФГБНУ ВИЛАР (Краснодарский край) - ВИЛАР_К (45° 8'27.95"С 39°25'23.65"В). Маршрутные обследования были сезонными – весной (до проведения работ – ручная прополка, пересадка) и осенью в двух природно-климатических зонах: (1) лесная - подзона смешанных и широколиственных лесов, (2) степная – южностепная подзона. Был составлен список из 308 видов, относящихся к 56 семействам.

Климат в точке ВИЛАР_М умеренно континентальный, лето тёплое, зима умеренно холодная с устойчивым снежным покровом, но имеет место влияние городской среды (участок расположен в границах мегаполиса). Вторая точка – ВИЛАР_К расположена в районе с умеренно-континентальным климатом без резких перепадов температур. Погодные условия вегетационного периода 2019-2020 гг. были благоприятны для жизнеспособности ЛР из разных семейств. По средней температуре воздуха за период вегетации в годы наблюдений (2019/2020 гг.) различия не существенны: ВИЛАР М - 12,4/12,0ºС, ВИЛАР К – 18,2/17,6ºС. Географические контрастные отличия определены для суммы осадков за период вегетации среднее по годам наблюдений (зона 1/зона 2): ВИЛАР М - 434/375 мм и ВИЛАР К – 443/210 мм.

Методы. Маршрутные обследования были проведены сплошным методом для всех участков коллекционных ЛР. При проведении мониторинга осматривали надземные части растения: побеги, листья, цветы и соцветия. Учитывали степень поражения и распространения болезни. Для оценки степени проявления болезни применяли глазомерные условные шкалы, с соответствующим количеством баллов (или по проценту поверхности пораженной ткани (органа) учетного растения). Оценку степени поражения листовой поверхности пятнистостями проводили по шкале учета болезней: 0 – растение здоровое; 1 – слабое поражение (1-10%) органа или растения; 2 – поражение среднее (10-25%), сильно пораженные органы не встречаются; 3 – поражение среднее (25-50%), некоторые органы или растения поражены сильно; 4 – гибель (более 50%) [5].

Для инструментального анализа (микробиологические, физико-химические исследования) отбирали образцы почвы и растений весной и осенью с соблюдением стерильности. Для анализов использовали смешанные образцы, получаемые из 5 точечных (индивидуальных) проб с каждого коллекционного участка. Повторность - трехкратная.

Определение физико-химических показателей почв проводили стандартными методами, принятыми в агрохимии и почвоведении (ГОСТ 28168-89, ГОСТ 17.4.3.01-83, ГОСТ 29269-91) с использованием сертифицированного оборудования: анализатор серии АМТ 03 (сертификация №705869), спектрофотометр КФК-3-01, ионометр «Эксперт-001» (рег.№ 21068-01, поверка КТЖГ.414318.001 РЭ). Анализ содержания органического углерода ($С_{орг}$) в почве выполняли по методу Тюрина в модификации Никитина, азота методом Кьельдаля, подвижных форм фосфора и калия по методу Кирсанова.

Микологические исследования проводили традиционными методами, принятыми в микробиологии (влажная камера, посев на питательные среды) и почвоведении. Видовую принадлежность выделенных изолятов устанавливали на основании культурально-морфологических признаков по определителям для соответствующих таксономических групп [6-9]. Терминология приведена в соответствии с Index Fungorum (http://www.indexfungorum.org).

Из растительных образцов со специфическими (отличительными) симптомами болезни были выделены штаммы грибов - возбудителей грибных болезней, для которых провели серию испытаний (скрининг) эффективности биологических фунгицидов по сдерживанию их роста. Изучили следующие препараты: бинорам в рекомендованной дозе 7,5 мг/л (действующее вещество (д.в.) штамм *Pseudomonas fluorescens*); фитоспорин в дозе 30 мг/л (д.в. *Bacillus subtilis* 26 Д); фитолавин в дозе 2,0 мг/л (д.в. фитобактериомицин, производимый *Streptomyces griseus*) и в качестве эталона сравнения химический фунгицид - максим в дозе 0,1 мг/л (д.в. флудиоксонил). Схема опыта включала варианты: К – контроль (фильтр, смоченный в дистиллированной воде), Х – рекомендуемая доза препарата; ½-кратная доза (0,5Х) – минимальная концентрация; двухкратная доза (2Х) – максимальная концентрация препарата.

Математические расчеты. Полученные экспериментальные данные анализировали в программе Microsoft Excel (2013). Структуру выделенных микробных комплексов характеризовали на основе относительного обилия в % (выше 0,1 %) и частоты встречаемости видов (случайные виды с частотой встречаемости 1–25 %, редкие – 26–50 %, частые – 56–75 % и доминирующие – 76–100 %) [10, 11]. Для обработки данных использовали двухфакторный дисперсионный анализ при 95%-ом уровне вероятности (Pα).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Формирование почвенного покрова на участках с коллекционными растениями происходит под влиянием агротехнических работ и природных факторов почвообразования. Почва отличается комковато-пылеватой структурой, по механическому составу – суглинистая. Обследование коллекционных посадок ЛР проведено в двух почвенно-климатических зонах:

- зона 1. дерново-подзолистые почвы таежной зоны - территория Ботанического сада ВИЛАР_М;
- зона 2. чернозем типичный степной (предгорной) зоны - ВИЛАР_К.

Кислотность почвы с коллекционных участков отличалась нейтральной и слабощелочной реакцией: в зоне 1 показатель $pH_{вод}$ равнялся 7,10-7,45, в зоне 2 – выше 7,65. В образцах почвы содержание органического углерода равнялось 0,93-1,46 % (зона 1) и 2,30±0,6% (зона 2); содержание азота соответствовало среднему и низкому уровню обеспеченности, фосфора - повышенному и высокому уровню, калия - высокому и очень высокому.

Коллекционные посадки лекарственных растений отличаются разнообразием представителей разных семейств (Рисунок 1). В точке 1 доминировали Сложноцветные (14 % от всей выборки), Бобовые (9 %), Лютиковые (5 %), Розоцветные (5 %), Сельдерейные (5-6 %), Яснотковые (9-10 %); в точке 2 – Сложноцветные (16 %), Бобовые (8 %), Пасленовые (5-6 %), Розоцветные (7 %), Яснотковые (15-16 %). Представители следующих семейств составляют менее 5% в коллекции ЛР: Аирные, Амарантовые, Амариллисовые, Аралиевые, Барбарисовые, Бузиновые, Бурачниковые, Валериановые, Вахтовые, Вербеновые, Вересковые, Гвоздичные, Гиацинтовые, Гинкговые, Горечавковые, Гречишные, Датисковые, Диоскорейные, Жимолостные, Жостеровые, Зверобойные, Ирисовые, Калиновые, Камнеломковые, Капустные, Кизиловые, Колокольчиковые, Коммелиновые, Крыжовниковые, Кутровые, Лаконосовые, Ландышевые, Ластовневые, Лимонниковые, Лоховые, Луковые, Льновые, Маковые, Мальвовые, Мареновые, Мелантиевые, Молочайные, Мятликовые, Норичниковые, Осоковые, Парнолистниковые, Первоцветные, Пионовые, Подорожниковые, Рутовые,

Синюховые, Спаржевые, Толстянковые, Тыквенные, Фиалковые, Хвощовые, Щитовниковые, Эвкомиевые.

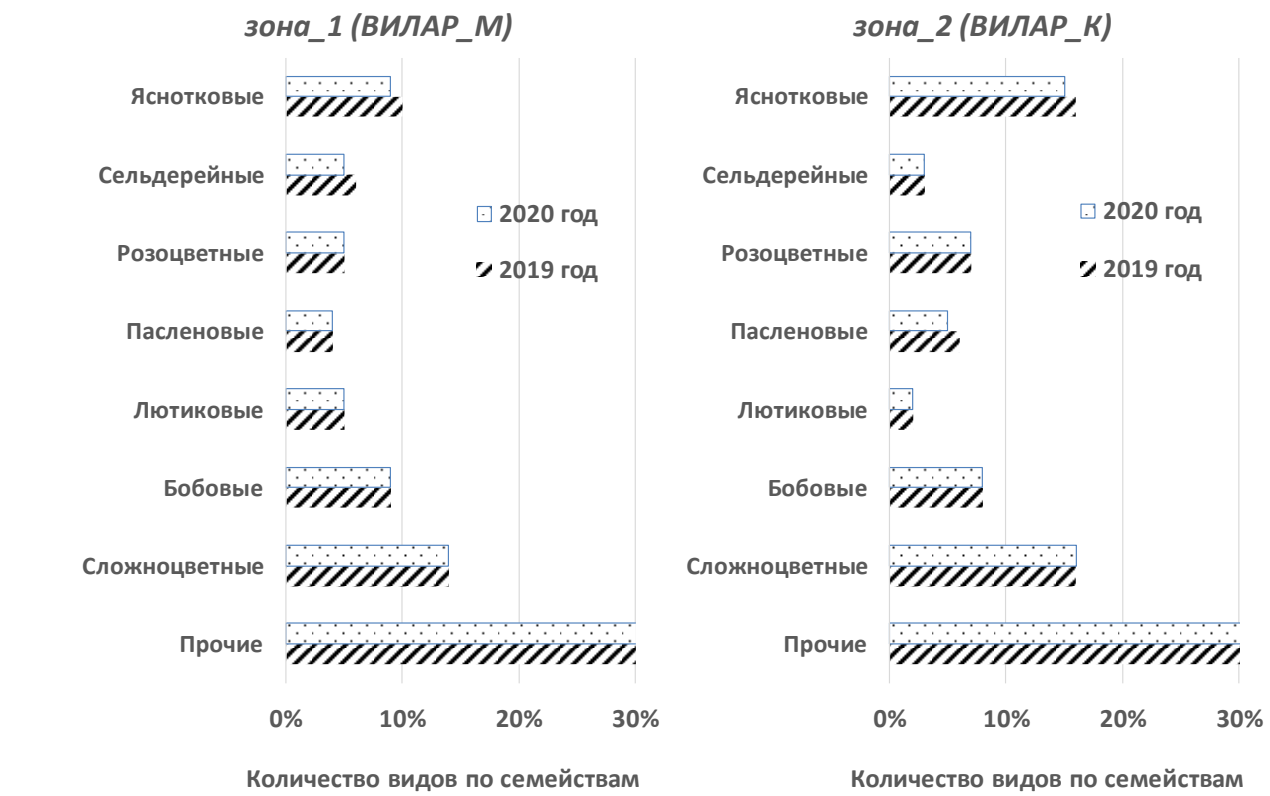


Рисунок 1 - Структура фитоценозов коллекционных посадок по семействам

В точках наблюдений установлены симптомы поражения в коллекционных посадках ЛР: некротические пятна на листьях, хлороз и краевые некрозы, изменение окраски листьев и побегов, усыхание и увядание отдельных листьев и побегов и др. Проявление пятнистостей на листьях может иметь неинфекционный и инфекционный характер. В разных точках наблюдений в структурно-видовом составе грибного комплекса ризосферы (почвы, на которую воздействуют корни растений) и ризопланы (поверхности корней растений) ЛР определены микромицеты (по родам):

- *зона* 1 - *Acremonium, Alternaria, Aspergillus, Cladosporium, Clonostachys, Colletotrichum, Cunninghamella, Fusarium, Mucor, Penicillium, Phoma, Pythium, Rhizoctonia, Rhizopus, Trichoderma*; *единично* встречаются – *Cephalotrichum, Coniothyrium, Eupenicillium, Phyllosticta, Protomyces, Septoria, Simplicillium*;

- *зона 2* - *Absidia, Acremonium, Actinomucor, Alternaria, Aspergillus, Bipolaris, Cladosporium, Clonostachys, Colletotrrichum, Cunninghamella, Curvularia, Fusarium, Gongronella, Mucor, Penicillium, Phoma, Phomopsis, Phytophthora, Pythium, Rhizoctonia, Rhizopus, Sclerotinia, Sordaria, Trichoderma, Verticillium.*

Структура комплекса грибов на листьях ЛР, отобранных в коллекциях (в т.ч. без симптомов поражения болезнями) включала следующие рода:

- *зона 1* - *Alternaria, Botrytis, Colletotrichum, Cladosporium, Fusarium* (в т.ч. *F. avenaceum*), *Phoma, Phomopsis, Phyllosticta, Puccinia, Septoria*;

- *зона 2* - *Alternaria, Botrytis, Colletotrrichum, Erysiphe, Fusarium* (в т.ч. *F. solani*), *Heterosporium, Monilia, Penicillium, Phoma, Phomopsis, Phytophthora, Pythium, Rhizopus, Sordaria, Ulocladium, Xylomyces*.

Из листовых пятнистостей были инструментально выделены возбудители болезней грибного происхождения (с ЧВ выше 10%), которые подтвердили визуальные симптомы,

установленные при фитомониторинге посадок ЛР. Определены микозы на следующих видах в обеих точках наблюдений:

- антракноз (*Colletotrichum* sp.) - мелисса лекарственная, ландыш майский, элеутерококк колючий, мята перечная, щавель конский, шиповник собачий, клопогон кистевидный, эхинацея пурпурная, душица обыкновенная;
- септориоз (*Septoria* sp.) - ландыш майский;
- филлостиктоз или бурая пятнистость (*Phyllosticta* sp.) – эхинацея пурпурная;
- фитофтороз (*Phytophthora* sp.) – щавель конский, мята перечная;
- ржавчина (*Puccinia* sp.) – диоскорея ниппонская, любисток лекарственный, иссоп лекарственный, мята перечная;
- мучнистая роса (*Erysiphe* sp.) – мелисса лекарственная;
- серая гниль (*Botrytis* sp.) – базилик обыкновенный, иссоп лекарственный, мята перечная, золотарник канадский;
- фомоз (*Phoma* sp.) – душица обыкновенная, иссоп лекарственный, котовник лимонный, леспедеца двуцветная, многоколосник фенхельный, мелисса лекарственная, морозник кавказский, мята перечная, наперстянка шерстистая, облепиха крушиновидная, щавель конский;
- фомопсис (*Phomopsis* sp.) – мята перечная, кровохлебка лекарственная;
- фузариоз (*Fusarium* sp.) – душица обыкновенная.

Установлена сезонность проявления грибов разных родов на коллекционных ЛР: весной (апрель-май) в зоне 1 выделены с ЧВ выше 40% - *Acremonium, Alternaria, Ascochyta, Aspergillus, Clonostachys, Colletotrrichum, Cunninghamella, Mucor, Penicillium, Phytium, Phytophthora, Pythium, Rhizoctonia, Rhizopus, Talaromyces, Trichoderma, Verticillium*; в зоне 2 (ЧВ > 40%) - *Acremonium, Actinomucor, Alternaria, Aspergillus, Colletotrrichum, Cunninghamella, Curvularia, Fusarium, Mucor, Phomopsis, Pythium, Rhizoctonia, Rhizopus*. Осенью (август-сентябрь) грибной комплекс включал микромицеты следующих родов в зоне 1 и 2: *Alternaria, Aspergillus, Clonostachys, Cunninghamella, Fusarium, Humicola, Mucor, Paecilomyces, Penicillium, Rhizoctonia, Rhizopus, Talaromyces, Trichoderma.*

Провели сравнительный анализ изменения видового состава и структуры грибов рода *Fusarium,* которые были выделены у ЛР в разных точках наблюдений. Отмечена максимальная ЧВ выше 40% для *F. avenaceum, F. solani; F. fujikuroi*; *F. graminearum, F. oxysporum, F. chlamydosporum, F. equiseti, F. incarnatum* с ЧВ равной 21-35 %, *F. sporotrichioides, F. anguioides, F. scirpi, F. nivale, Fusarium* sp. - менее 15%. В таблице 1 представлены различия по частоте встречаемости и обилию грибов рода *Fusarium* с учетом почвенно-климатических условий. Продемонстрированы различия в составе грибного комплекса микромицетов, которые, как мы считаем, связаны с региональными особенностями выращивания ЛР в данной точке наблюдений. Например, только в зоне 1 определены грибы *F. avenaceum, F. chlamydosporum* и отсутствуют в зоне 2, и наоборот только в зоне 2 зафиксированы микромицеты - *F. equiseti, F. fujikuroi.*

Системный анализ данных фитомониторинга для многочисленных семейств (по количеству видов) в точках обследований позволил выделить поражаемые (после видового названия указан знак «минус») и устойчивые (после видового названия указан знак «плюс») виды растений в коллекционных посадках (Таблица 2). В зоне 1 отмечены поражаемые, не зависимо от погодных условий, душица обыкновенная, эхинацея пурпурная; устойчивое - копеечник альпийский; в зоне 2, выделены поражаемые - девясил высокий, душица обыкновенная, мелисса лекарственная, шиповник собачий и устойчивое - лаванда лекарственная.

Таблица 1. Состав грибного комплекса микромицетов рода *Fusarium* в точках наблюдений (2019-2020 гг.)

Среда	Параметр	*Fusarium* sp.	*F. acuminatum*	*F. anguioides*	*F. avenaceum*	*F. chlamydosporum*	*F. equiseti*	*F. fujikuroi*	*F. incarnatum*	*F. graminearum*	*F. oxysporum*	*F. solani*	*F. sporotrichioides*
зона 1 (коллекционный участок ВИЛАР_М)													
почва	А	19								35	20	55,6	20
	Б	14,3								5,7	7,1	71,4	4,3
ризоплана (корень)	А	20			33	40			27		60	33	
	Б	28,6			8,6	5,7			8,6		2,9	48,6	
филлоплана (лист)	А	10	10	10	10	10						10	
	Б	33,3	25	16,7	16,7	25						25	
зона 2 (коллекционный участок ВИЛАР_К)													
почва	А	35	44									65	
	Б	37	18,5									51,9	
ризоплана (корень)	А	30	24				25	40	20	34	10	42	10
	Б	14	7,4				2,9	1,5	2,2	5,1	1,5	51,5	1,5
филлоплана (лист)	А												
	Б	28,6	19	14,3			23,8	9,5				19	9,5

Примечание: А – частота встречаемости, %; Б - обилие, % [10].

Таблица 2. Группировка коллекционных ЛР по резистентности к фитопатогенам в разные годы наблюдений

Точка наблюдений	Название вида	Название семейства	2019 год	2020 год
Зона 1 (ВИЛАР, г. Москва)	Анис обыкновенный	Сельдерейные	+	0
	Душица обыкновенная	Яснотковые	-	-
	Золотарник канадский	Сложноцветные	-	0
	Копеечник альпийский	Бобовые	+	+
	Любисток лекарственный	Сельдерейные	-	0
	Многоколосник фенхельный	Яснотковые	+	0
	Монарда дудчатая	Яснотковые	+	0
	Пажитник сенной	Бобовые	-	+
	Пастернак посевной	Сельдерейные	-	0
	Ромашка лекарственная	Сложноцветные	+	0
	Фенхель обыкновенный	Сельдерейные	+	0
	Шалфей лекарственный	Яснотковые	-	0
	Эхинацея пурпурная	Сложноцветные	-	-
	Арника горная	Сложноцветные	0	-
	Арника Шамиссо	Сложноцветные	0	-
	Арония черноплодная	Розовые	0	-
	Астрагал серпоплодный	Бобовые	0	-

Точка наблюдений	Название вида	Название семейства	2019 год	2020 год
	Дурнишник обыкновенный	Сложноцветные	0	+
	Лабазник вязолистный	Розовые	0	+
	Лапчатка белая	Розовые	0	-
	Лапчатка прямостоячая	Розовые	0	-
	Мята перечная	Яснотковые	0	-
	Солодка уральская	Бобовые	0	-
	Цикорий обыкновенный	Сложноцветные	0	-
	Череда трехраздельная	Сложноцветные	0	+
	Шлемник байкальский	Яснотковые	0	+
Зона 2 (филиал ВИЛАР, г. Краснодар)	Астрагал серполодный	Бобовые	+	+
	Бессмертник армянский	Сложноцветные	+	0
	Вишня войлочная	Розовые	+	0
	Девясил высокий	Сложноцветные	-	-
	Десмодиум канадский	Бобовые	+	0
	Душица обыкновенная	Яснотковые	-	-
	Календула лекарственная	Сложноцветные	-	0
	Клевер красный	Бобовые	-	0
	Лаванда лекарственная	Яснотковые	+	+
	Левзея сафлоровидная	Сложноцветные	+	0
	Мелисса лекарственная	Яснотковые	-	-
	Пиретрум щитковидный	Сложноцветные	+	0
	Розмарин лекарственный	Яснотковые	+	0
	Шиповник собачий	Розовые	-	-
	Баптизия красильная	Бобовые	0	-
	Дрок красильный	Бобовые	0	+
	Зюзник высокий	Яснотковые	0	+
	Лапчатка прямостоячая	Розовые	0	-
	Мордовник шароголовый	Сложноцветные	0	-
	Полынь таврическая	Сложноцветные	0	+
	Сенна александрийская	Бобовые	0	+
	Лабазник вязолистный	Розовые	0	+
	Тысячелистник обыкновенный	Сложноцветные	0	+
	Шалфей мускатный	Яснотковые	0	+
	Эхинацея пурпурная	Сложноцветные	0	-

Примечание: виды растений поражаемые - знак «минус», устойчивые - знак «плюс», промежуточное состояние – знак «0»

По результатам микологического анализа показано, что грибной комплекс на поражаемых растениях отличается разнообразием, например, на душице обыкновенной были выделены микромицеты родов: *Acremonium* (менее 20%), *Alternaria* (10-20 %), *Aspergillus* (20-40%), *Cladosporium* (10-40 %), *Colletotrichum* (менее 10%), *Cunninghamella* (10-20%), *Fusarium* (20-80%), *Mucor* (менее 10%), *Penicillium* (10-20%), *Rhizoctonia* (менее 10%), *Rhizopus* (20-40%). Поэтому были выделены некоторые штаммы фитопатогенов и испытаны биологические фунгициды в качестве приема контроля возбудителей грибных болезней. На рисунке 2 приведена реакция фитопатогена на прием экологизированной защиты растений.

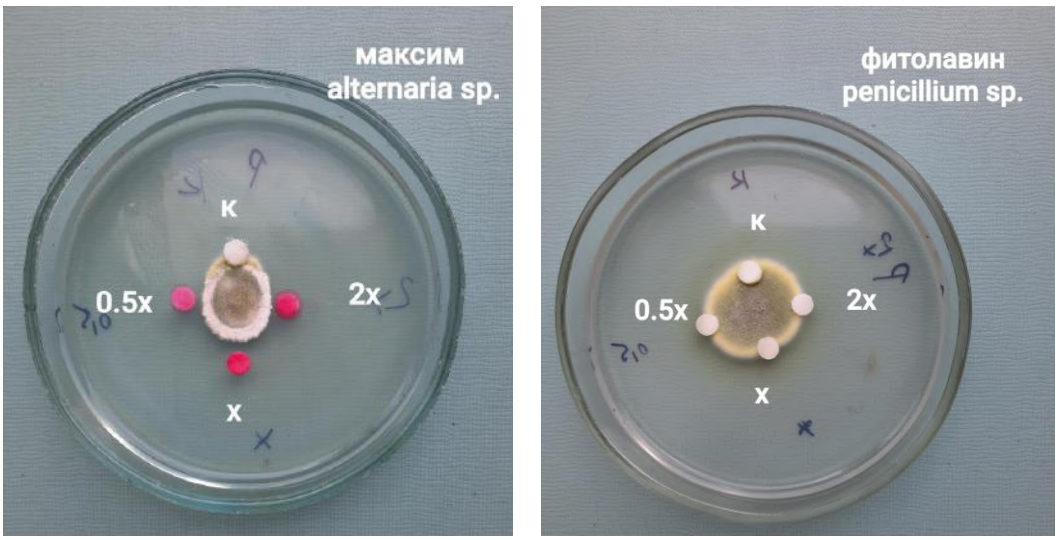


Рисунок 2 - Примеры реакции фитопатогенов на биопрепараты в разных дозах: эталон сравнения - максим 0,2 мл/л; 0,1мл/л и 0,05 мл/л фитолавин 4 мл/л; 2 мл/л; 1 мл/л

В итоге по сдерживанию (лимитированию) роста фитопатогенов фунгицидами разной природы показали следующее: высокая эффективность фунгицида Максим во всех испытываемых дозах для всех фитопатогенов; фитолавин и бинорам – против *Alternaria* sp. и *Pythium* sp., фитоспорин – не показал эффективность. Отметим, что плесневый гриб *Penicillium* sp. (сапротроф, биодиструктор) показал, себя как устойчивый вид против испытываемых биопрепаратов.

ВЫВОДЫ

Фитомониторинг современных коллекционных посадок лекарственных растений (ЛР) в двух природно-климатических зонах с разными типами почвы - дерново-подзолистая (зона 1) и чернозем типичный (зона 2). Обследовано 308 видов лекарственных растений из 56 семейств.

Проведено инструментальное исследование пятнистей на листьях ЛР и установлены причины поражения неинфекционного и инфекционного характера. Установлены различия в структуре микробного ценоза на листьях ЛР, отобранных в разных коллекциях, в том числе, и с позиции географии точек обследования:

Предложен метод лимитирования роста фитопатогенов биологическими фунгицидами и показана эффективность препаратов фитолавин и бинорам – против *Alternaria* sp. и *Pythium* sp. Препарат фитоспорин – не показал эффективность. Отметим, что плесневый гриб *Penicillium* sp. (сапротроф, биодиструктор) показал, себя как устойчивый вид против испытываемых биопрепаратов.

БЛАГОДАРНОСТИ

Исследования выполнены в рамках тем НИР государственного задания №0598-2019-0004 и №0598-2012-0001.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1) Терехин А.А., Вандышев В.В. Технология возделывания лекарственных растений: Учеб. пособие. М.: РУДН, 2008. 201 с.

2) L G Seraya, G E Larina, O G Griboedova, A V Petrov and F F Zhukov Phytomonitoring of woody plants in the urban agglomeration // Earth and Environmental Science (EES), vol. 350, iss. 1, no. 38 (article number 3501038) DOI:10.1088/1755-1315/350/1/012038

3) Seraya L.G., Larina G.E., Kalembet I.N., Polyakova N.N., Petrov A.V. Mycological effects as a sign of a phytopathological situation in green landscape // IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science 579 (2020) 012069. DOI:10.1088/1755-1315/579/1/012069
4) Лекарственная сырьевая база [Электронный ресурс]. Режим доступа URL: http://referat911.ru/Biologiya/lekarstvennaya-syrevaya-baza-rf/273387-2593927-place1.html
5) Серая Л.Г., Ларина Г.Е., Жуков Ф.Ф., Иванова И.О., Грибоедова О.Г., Петров А.В., Крашенинников С.В. Методические материалы: Комплекс действий по уходу за декоративными, садовыми и лекарственными растениями. ФГБНУ ВНИИФ, Большие Вяземы. 2018. 28 с.
6) Звягинцев Д.Г. Методы почвенной микробиологии и биохимии. Издательство: МГУ, 1991 г. 304 с.
7) Саттон Д., Фотергилл А., Ринальди М. Определитель патогенных и условно - патогенных грибов. М.: Мир. 2001. 468 с.
8) Ainsworth G. C., Kirk P. M., Bisby G. R. Ainsworth & Bisby's Dictionary of the Fungi / Ed. by P. M. Kirk, P. F. Cannon, G. David, J. A. Stalpers. CAB International, 2001. 655 p.
9) Seifert K., Morgan-Jones G., Gams W., Kendrick B. The genera of Hyphomycetes. CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre. Utrecht, The Netherlands. 2011. 997 p.
10) Мирчинк Т.Г., Озерская С.М., Марфенина О.Е. Способы выявления типичных для определённых условий комплексов микроскопических грибов на основе характеристики их структуры // Биологические науки. 1982. Вып. 20. С. 198–226.
11) Кураков А.В. Методы выделения и характеристики комплексов микроскопических грибов наземных экосистем: Учебно-методическое пособие. М.: МАКС Пресс, 2001. 92 с.

PHYTOPATHOLOGY (MYCOSIS) OF MEDICINAL PLANTS IN PERMANENT COLLECTION PLANTS

Larina G.E.[a)], Seraya L.G., Golimbovskaya S.A., Petrovnina T.A., Kalembet I.N., Polyakova N.N., Gudkova N.Yu., Bykova O.A.

1 - Federal State Budgetary Scientific Institution All-Russian Research Institute of Phytopathology, Russia, Moscow Region, Odintsovo District, r. Bolshie Vyazemy, st. Institute, 5, 143050

2 - FGBNU All-Russian Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants, Russia, Moscow, st. Green, 7, 117216

3 - North Caucasian branch of the All-Russian Scientific Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants, Russia Krasnodar Territory, Dinskaya district, st. Vasyurinskaya, 353225

a) corresponding author –gala.larina@mail.ru

Abstract. The article presents the data of phytomonitoring of collection plantings of medicinal plants (MP) on the territory of the All-Russian Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants (VILAR) (Moscow) and the North Caucasian branch of VILAR (Krasnodar Territory). 308 species from 56 families were examined. The most widely represented are representatives of the family of *Lamiaceae*, *Compositae* and *Rosaceae*. Instrumental studies of spots on the leaves of the MP made it possible to determine the causes of the lesion of a non-infectious and infectious nature. The main reason for the loss of quality of medicinal raw materials (leaves, roots) is mycoses or fungal diseases. The main causative agents of infectious diseases, representatives of the genus *Alternaria, Chaetomium, Botrytis, Cladosporium, Fusarium, Peronospora, Phoma, Pullularia, Septoria, Heterosporium, Stemphulia, Stemphylium, Verticillium* have been identified. The geographic conditions of the location of the collections of medicinal plants influenced the degree of disease damage. According to the degree of similarity and difference of the micromycete community at different observation points, their significant difference was established (Pα = 95%), they represent different associations (the diversity index is above 50%). The seasonality of growth of micromycetes on shoots and leaves of MP was different: in autumn counts, the frequency of occurrence of mycoses increased by 2-14 times, compared with spring-summer surveys. An increase in the activity of phytopathogenic fungi of the genus *Fusarium, Puccinia, Phoma, Rhizoctonia, Verticillium* was observed. The types of medicinal plants with an average degree of damage by leaf spots (2-3 points) were established: *Eleutherococcus senticosus* Maxim, *Leonurus cardiaca* L., *Melissa officinalis* L., *Valeriana alliariifolia* Adams, *Origanum vulgare* L., *Mentha piperita* L., *Hyssopus officinalis* L., *Stachys byzantina* K. Koch, *Cichorium intybus* L., *Scutellaria baicalensis* Georgi.

Keywords: *medicinal plants, phytopathology, mycoses, disease, biodiversity.*

УДК 631:147 DOI: 10.52101/9785870191003_2021_93

ПРОИЗВОДСТВО ОРГАНИЧЕСКОЙ ПРОДУКЦИИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ: ПЕРСПЕКТИВЫ И ПРОБЛЕМЫ

профессор, д.с.-х.н. Маланкина Е. Л.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А.Тимирязева» (ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева), 127550, Российская Федерация, г. Москва, ул. Тимирязевская, 49

gandurina@mail.ru

Аннотация. Важнейшая проблема получения органической продукции лекарственного растениеводства отсутствие надлежащих практик и рекомендаций по технологиям возделывания отдельных лекарственных культур. Практически нет отечественных научно обоснованных рекомендаций по агротехнологиям, борьбе с вредителями, болезнями и сорняками, применению удобрений в системе органического выращивания. Кроме того, очень мало работ по оценке органических технологий с точки зрения качества конечной продукции и содержания действующих веществ, микробиологического загрязнения и присутствия микотоксинов в сырье. Все эти вопросы требуют неотложного решения и исследований. В противном случае говорить о массовом распространении среди производителей ЛРС практик органического земледелия не представляется возможным. Важной проблемой также является подготовка и повышение квалификации кадров, работающих в этом направлении. Органическое земледелие – философия и искусство. Необходимо прекрасно знать биологию как с/х культуры, так и вредителей, болезней сорняков. Часто, особенно на лекарственных растениях нет стандартных решений.

Ключевые слова: *органическое земледелие, лекарственное растениеводство, лекарственное растительное сырьё*

ВВЕДЕНИЕ

Озабоченность развитых стран проблемами экологии и изменения климата стимулирует развитие производства органической сельскохозяйственной продукции. В целом рынок органической продукции оценивается более, чем в 100 млрд. евро. Заняты в этом направлении около 2,8 млн хозяйств на территории более 71,5 млн.га по всему земному шару. Самые крупные рынки органической продукции – США (40,6 млрд евро), Германия (10,9 млрд евро) и Франция (9,1 млрд евро) [1]. В Люксембурге на 57% от общей площади хозяйств под овощными культурами выращивают органическую продукцию. В Австрии 53 % земель под плодовыми культурами также обрабатываются по принципам органического земледелия. [2].

В последние годы в числе приоритетов и перспектив научно – технологического развития Российской Федерации в ближайшие 10-15 лет назван переход к – высокопродуктивному и экологически чистому агрохозяйству [3].

В настоящее время производство органической продукции регламентируется законодательно Основные требования к производителям, переработчикам и поставщикам органических продуктов изложены в национальных регламентах, например: Совета Европы (Директивы №№ 834/2007, 889/2008), Министерства сельского хозяйства США (NOP – Национальная органическая программа), Министерства сельского хозяйства Японии (JAS – Японский сельскохозяйственный стандарт). В Российской федерации сравнительно недавно принят Федеральный закон «Об органической продукции и о внесении изменений в отдельные законодательные акты Российской Федерации» от 03.08.2018 No280-ФЗ [4].

По данным Союза органического земледелия России необеспеченный спрос на органическую продукцию российского производства со стороны потребителей ЕС превышает 100 тыс. тонн зерновых, зерно-бобовых и технических культур. [5] Вместе с тем несмотря на

то, что именно в лекарственном растениеводстве как нигде необходима органическая продукция, работ по анализу и внедрению практик органического сельского хозяйства в лекарственное растениеводство в нашей стране почти не ведётся. Хотя производство органического ЛРС и продуктов его переработки могло бы стать значительной статьёй экспортного дохода и сыграть важную роль в развитии сельских территорий.

Законодательно закреплённая мировая практика выращивания органического лекарственного растительного сырья насчитывает несколько десятилетий. Европейскими лидерами как по производству, так и потреблению этого сегмента рынка являются Германия, Австрия, Швейцария. В других странах, в частности в Италии и Франции больше внимания уделяется эфирномасличным культурам. Опыт этих стран и его применимость в Российской Федерации может представлять интерес для фермеров и небольших хозяйств, заинтересованных развивать это направление.

Целью исследования является анализ ситуации на рынке органической продукции лекарственного растениеводства, выявление проблем и поиск возможных путей их решения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы

Для анализа ситуации в сегменте производства органической продукции лекарственного растениеводства использовали сайты профильных организаций, законы и подзаконные акты РФ и зарубежных стран, рекомендации, разработанные для органических хозяйств в области лекарственного растениеводства, ссылки на которые представлены в списке литературы.

Методы

Вертикальный анализ - изучение структуры конкретного явления, а также структурных сдвигов, что позволяет определить роль отдельных элементов в формировании конечного результата. Были использованы такие приемы анализа как детализация и сравнение.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате анализа проблем, возникающих у зарубежных коллег и российских фермеров, занимающихся производством органической продукции овощных и зерновых культур, можно выделить экономические, социальные и технологические аспекты органического земледелия, которые затрудняют его внедрение в повседневную сельскохозяйственную практику. Сразу следует сказать, что эти три составляющих очень тесно взаимосвязаны и, например, необходимость увеличения затрат ручного труда приводит к необходимости привлечение дополнительной сезонной рабочей силы, которая не всегда присутствует в малонаселённых и быстро стареющих сельских поселениях, а отказ от химических средств защиты растений и минеральных удобрений приводит к существенному снижению урожая и соответственно снижению экономической эффективности производства в первые годы, зачатую переводя ряд культур из доходных в убыточные.

Попробуем выделить основные проблемы органического лекарственного растениеводства и проанализировать возможные пути их решения с учётом имеющегося опыта, представленного в профильных изданиях.

Начать всё же следует с технологических проблем. Органическое земледелие – это, своего рода, философия и игра «вдолгую», то есть экономический эффект может наступить через несколько лет и лекарственное растениеводство здесь не исключение. Кроме того,производство лекарственного растительного сырья существует не само по себе, а в комплексе с другими отраслями растениеводства (полеводством, кормопроизводством, овощеводством).

Первая проблема это питание растений и сохранение плодородия почвы. При переходе на производство органической продукции больше не вносятся минеральные удобрения и количество доступного азота в почве в первый период резко снижается, что не может не

сказываться на урожайности. Вносить можно только органические удобрения и то не все. Но внесение даже перепревшего навозного компоста приводит к увеличению засорённости сорняками. Соответственно необходимо искать решения, формы и виды органических удобрений, не приводящие к этой проблеме. Например, вермикомпост при более высокой себестоимости позволяет сэкономить на борьбе с сорняками. Должно пройти определённое время, за которое произойдёт изменение микрофлоры на способную разлагать органику, а ускорить этот процесс могут появившиеся в последнее время микробиологические удобрения, которые при грамотном и своевременном применении позволяют существенно влиять не только на урожай и его качество (в нашем случае накопление фармакологически значимых вторичных метаболитов), но и на фитосанитарное состояние посевов. Для поддержания естественного плодородия в странах Евросоюза обязательным требованием является то, что 20 % севооборота отводится бобовым культурам.

Вторая очень большая проблема это - сорняки. Вредители и болезни на большинстве лекарственных культур вполне возможно удерживать ниже порога вредоносности обычными агротехническими мерами: севообороты, здоровый посадочных материал, устойчивые сорта, микробиологические препараты. С сорняками всё гораздо сложнее. В настоящее время основной способ борьбы с ними – применение гербицидов. На лекарственных растениях практически нет разрешенных препаратов, поэтому поневоле накапливается определённый опыт сдерживания их численности агротехническими методами. В настоящее время существуют экологически безопасные и технологичные способы борьбы с сорняками – от включения в севооборот растений, подавляющих сорняки (рожь, горчица белая) и банального мульчирования до термического выжигания сорняков в междурядьях или до всходов на долго прорастающих культурах. Используемые методики и средства защиты растений должны соответствовать принципам органического сельского хозяйства и быть разрешенными соответствующими документами. В частности, при работе на экспорт в страны Европейского Союза надо свериться с Директивой № 834/2007 от 28 июня 2007 г. Эффективным решением проблемы сорняков является переход на рассадную культуру для многолетников и непродолжительное использование плантаций.

Третей важной составляющей развития органического производства лекарственных культур является финансовая и организационная поддержка государства и опыт стран Евросоюза это подтверждает. При переходе на органическую систему земледелия, фермер только через 3-5 лет сможет продать продукцию по соответствующим брендом и по соответствующей цене. И эта перестройка с дополнительными затратами и потерей в урожайности проходит при поддержке погектарных компенсационных платежей, которые зависят от особенностей культуры. С шестого года сумма уменьшается и сохраняется только при сохранении органической формы хозяйствования. Лекарственные культуры по компенсационным выплатам обычно приравнивают к овощным культурам и дотации составляют 590 евро на 1 га в первый период и 360 евро на 1 га во второй период. [6]

Для минимализации рисков и потерь в переходный период можно рекомендовать частичную сертификацию хозяйства, то есть только части площадей. Есть примеры успешных хозяйств в Германии, производящих семенной и посадочный материал лекарственных культур как по органической, так и по конвенциальной технологии, в частности фирма Pharmassat [7].

В этой же области лежит четвёртая проблема – отсутствие выстроенных от посева до уборки и переработки технологий наиболее крупнотоннажных и востребованных лекарственных и эфирномасличных культур для органического производства. Её можно упомянуть как возможную, но очень неприятную, которая может перечеркнуть усилия целого сезона. Без последовательно выстроенной и апробированной технологии с выявлением контрольных критических точек на тех этапах производства, где может пострадать качество сырья, нельзя с уверенностью утверждать, что в сырье будут отсутствовать контаминации (микотоксины, тяжёлые металлы, споры микроорганизмов и плесневых грибов). Использование системы HACCP (Hazard Analysis and Critical Control Point) актуальная

составляющая производства органической продукции. В связи с отсутствием применения фунгицидов, протравливания семян, обработок вегетирующих растений фунгицидами может в отдельные годы и при нарушении некоторых технологических процессов возникнуть микробиологическая контаминация и появление в сырье микотоксинов. Так двухфазная уборка сырья с сушкой в валках, длительная сушка на воздухе без сушилок с регулируемой температурой может привести к указанным выше несоответствиям нормативным документам. Для некоторых многолетних культур встаёт вопрос производства саженцев, которые тоже должны быть получены без применения синтетических соединений, в частности корнеобразователей. А без них укореняемость черенков, например шиповника или облепихи очень сильно снижается, что опять же ударяет по экономической эффективности. И таких примеров по технологическому процессу при производстве возникает достаточно много.

И последнее - важная составляющая любого производства – подготовка квалифицированных кадров. Функцию переподготовки и получения дополнительной квалификации в области органического сельского хозяйства в настоящее время взял на себя Союз органического земледелия, предлагающий разнообразные по продолжительности и глубине подготовки программы. [5] Однако, лекарственная отрасль достаточно специфична и качество её продукции регламентируется фармацевтическими документами. Кроме того, существенно отличаются параметры качества и безопасности сырья, которые прописаны в нормативных документах. Поэтому необходимы дополнительные знания по особенностям агротехники и контролю качества готового сырья. В данном случае большой опыт накоплен специалистами РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева и Всероссийского института лекарственных и ароматических растений. Здесь был бы интересен опыт немецких коллег. Под эгидой различных общественных организаций проводятся обучающие семинары, дни поля с выездом в специализированные хозяйства, издаются специальный журнал Ökologie & Landbau [8]. Кроме того, результаты научных исследований освещаются в отчётах ведущих университетов и профильном журнале Zeitschrift für Arznei- & Gewürzpflanzen [9]

ВЫВОДЫ

Таким образом, важнейшая проблема получения органической продукции отсутствие надлежащих практик и рекомендаций по технологиям возделывания отдельных лекарственных культур. Практически нет отечественных научно обоснованных рекомендаций по агротехнологиям, борьбе с вредителями, болезнями и сорняками, применению удобрений в системе органического выращивания. Кроме того, очень мало работ по оценке органических технологий с точки зрения качества конечной продукции и содержания действующих веществ, микробиологического загрязнения и присутствия микотоксинов в сырье. Все эти вопросы требуют неотложного решения и исследований. В противном случае говорить о массовом распространении среди производителей ЛРС практик органического земледелия не представляется возможным.

Органическое земледелие – философия и искусство. Необходимо прекрасно знать биологию как с/х культуры, так и вредителей, болезней сорняков. Часто, особенно на лекарственных растениях нет стандартных решений.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Коршунов, С. История органического сельского хозяйства//Аграрник. 2021.- №1-2. – Т. 117-118. – С. 50-55
2. Коршунов, С. Российская органика: от еды для золотого миллиарда до поставок в школы//АГРОЭКСПЕРТ 4 / 2020. – С. 4-7-
3. Стратегия научно – технологического развития Российской Федерации (утв. Указом Президента Российской Федерации от 1 декабря 2016 г. No 642) [Электронный ресурс]. URL: http://base.garant.ru/71551998/ (дата обращения : 20.06.2019).

4. Федеральный закон «Об органической продукции и о внесении изменений в отдельные законодательные акты Российской Федерации» от 03.08.2018 No280-ФЗ [Электронный ресурс]. URL: https://fzrf.su/zakon/2018-08-03-n-280-fz/ (дата обращения: 20.06.2019).
5. Союз органического земледелия [Электронный ресурс]. URL: https://soz.bio/organizaciya-organicheskogo-selskohozyajstvennogo-proizvodstva-v-rossii/ (дата обращения 02.04.2021).
6. Органическое сельское хозяйство : инновационные технологии опыт, перспективы: науч. аналит. обзор. – М.: ФГБНУ«Росинформагротех», 2019. – 92 с.
7. Сайт фирмы Pharmasaat Германии/ [Электронный ресурс]. URL: https://www.pharmasaat.de/vertragsanbau.html (дата обращения 02.04.2021)
8. Фонд экологии и сельского хозяйства (SÖL) - некоммерческий фонд [Электронный ресурс]. URL: https://www.soel.de/ (дата обращения 02.04.2021)
9. Zeitschrift für Arznei- & Gewürzpflanzen [Электронный ресурс]. URL http://www.zag-info.com/(дата обращения 02.04.2021)

PRODUCTION OF MEDICINAL PLANTS ORGANIC PRODUCTS: PROSPECTS AND PROBLEMS

Professor, D.Sc. in Agriculture Malankina E. L.
Department of Vegetable growing, Russian State Agricultural University – MAA named after K.A. Timiryazev, Moscow
gandurina@mail.ru

Abstract. The most important problem of obtaining organic products of medicinal plant growing is the lack of good practices and recommendations on technologies for the cultivation of certain medicinal crops. There are practically no domestic scientifically grounded recommendations on agricultural technologies, pest, disease and weed control, the use of fertilizers in the organic growing system. In addition, there is very little works on the assessment of organic technologies in terms of the final product quality and the content of active substances, microbiological contamination and the mycotoxins presence in raw materials. All of these issues require urgent solutions and research. Otherwise, it is not possible to talk about the mass distribution of organic farming practices among producers of medicinal plant products. An important problem is also the training and professional development of personnel working in this branch. Organic farming is the philosophy and art. It is necessary to know perfectly the biology of both agricultural crops, and pests, and weed, and diseases. Often, especially on medicinal plants, there are no standard solutions.
Keywords: *organic farming, medicinal plant growing, medicinal plant raw materials*

УДК 581.52:582.29(577.121) DOI: 10.52101/9785870191003_2021_98

ОПЫТ ОПРЕДЕЛЕНИЯ БИОМАССЫ И СОДЕРЖАНИЯ ВТОРИЧНЫХ МЕТАБОЛИТОВ В РАСТИТЕЛЬНОМ СЫРЬЕ *EVERNIA PRUNASTRI*

Малахова К. В.

ФГБОУ ВО «Костромской государственный университет», РФ, г. Кострома, ул. Дзержинского, 17, 156005

malakhova.kv1@gmail.com

Аннотация. *Everniaprunastri* (L.) Ach. является ценным растительным ресурсом, растительное сырье которого содержит ценные вторичные метаболиты (усниновая кислота, атранорин, эверновая кислота, орцинол и др.), находящие применение в медицине и парфюмерии. Получены данные об особенностях биомассы талломов на единицу площади поверхности ствола на форофитах хвойных (*Pinus sylvestris* L.) и лиственных (*Betula pendula* Roth.) пород в условиях сосняка-зеленомошника на примере Костромской области. Биомасса воздушно-сухого сырья *E. prunastri* на стволах *B. pendula* составила (10,5446–15,6179) г/м^2, на стволах и ветвях *P. sylvestris* (0,9564–8,9134) г/м^2. Исследовано содержание вторичных метаболитов *E. prunastri* с известной биомассы воздушного-сухого сырья. С 48,9814 г талломов получен 1,2510 г экстракта, содержащего ацетонорастворимые вторичные метаболиты. Выявлена корреляция между концентрацией вторичных метаболитов в талломах и онтогенетической структурой субпопуляций *E. prunastri*. Наибольшее количество экстракта получено с нормальных и регрессивных субпопуляций, где преобладали талломы генеративного периода.
Ключевые слова: *Evernia prunastri, биомасса, эпифитные лишайники, вторичные метаболиты, усниновая кислота, Костромская область.*

ВВЕДЕНИЕ

Evernia prunastri (L.) Ach. является ценным растительным ресурсом: талломы данного вида содержат комплекс вторичных метаболитов (атранорин, эверновая кислота, усниновая кислота, орселлиновая кислота, орцинол и др.), активных в отношении ряда патогенов и обладающих противоопухолевым действием [1]. Экстракт, полученный из сырья *E. prunastri*, используют также в парфюмерии для фиксации ароматических композиций. Широким фармацевтическим потенциалом обладает усниновая кислота, наиболее полно изученная в лекарственной медицине; проявляет антибактериальное, антивирусное, антимикобактериальное, фунгицидное и антипротозойное действие [2].

Рассмотрение лихенизированных грибов в качестве лекарственного сырья требует детального изучения особенностей накопления биомассы талломами, а также взаимосвязь этого процесса с условиями произрастания, так как лишайники отличаются медленным ростом, что затрудняет процесс воспроизведения их природных популяций.

На современном этапе большая часть исследований в отношении *E. prunastri* посвящена рассмотрению состава вторичных метаболитов и биохимическому анализу талломов и их воздействию на различные уровни живых организмов [3, 4, 5], а также возрастно-виталитетному состоянию субпопуляций вида [6]. В то время как особенностям накопления биомассы лекарственного сырья *E. prunastri* в аспекте приуроченности к субстрату и природно-климатических условий, а также продуктивности вторичных метаболитов в талломах, внимания в достаточной степени не уделялось.

Исследования в отношении биомассы данного вида фактически ограничивается несколькими работами, где затрагивается вопрос распределения биомассы эпифитных лишайников, в том числе и *E. prunastri*, на хвойных породах в условиях подзоны южной тайги (Нижнее Приангарье), а также влияние краевого эффекта на распределение талломов эпифитной лихенофлоры в бореальных лесах [7, 8, 9].

В соответствии с выше обозначенным целью данного исследования мы ставим: определение биомассы и особенностей накопления вторичных метаболитов в растительном сырье субпопуляций *E. prunastri* в контексте субстратной приуроченности.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы

Эверния сливовая – *Evernia prunastri* (L.) Ach. – вид кустистых лишайников семейства Parmeliaceae порядка Lecanorales класса Lecanoromycetes отдела Ascomycota. Встречается на стволах и ветвях хвойных и лиственных пород, опаде, реже на камнях [10].

Исследование биомассы эпифитного лишайника *E. prunastri* проводили в летний сезон 2020 года в сосняке-зеленомошнике с включением березы повислой (Красносельский район, Костромская область). Древесный ярус места исследования характеризуется доминированием средневозрастных генеративных *Pinus sylvestris* L. с разреженным расположением и редкими включениями *Betula pendula* Roth., преимущественно старовозрастных сенильных и отмирающих форм. Сомкнутость крон до 60%, что обеспечивает условия разреженного освещения для нижерасположенной флоры. Величина интенсивности солнечного света в месте исследования в ясный безоблачный день находилась в пределах 4500–6500 люкс. Травяно-кустарничковый ярус представлен доминированием рода *Pleurozium* Mitt. и *Dicranum* Hedw., а также редкими включениями *Lycopodium* и синузиями эпигейных лишайников *Cladonia arbuscula* (Wallr.) Flot. и *Cetraria islandica* (L.) Ach.

Доминирующим видом в эпифитном покрове лихенизированных грибов являлся *E. prunastri*, наствольное покрытие которого на части форофитов доходило до 95%. Субпопуляции данного вида были исследованы на количество биомассы (г/м^2), онтогенетическую структуру субпопуляций, а также содержание вторичных метаболитов. Под субпопуляциями в данном исследовании понимаем совокупность талломов вида, произрастающих на отдельном стволе (форофите) [11].

Образцы *E. prunastri* были взяты с пяти модельных форофитов видов *P. sylvestris* и *B. pendula* на высоте до 1,5 м. При этом учитывались следующие параметры форофита: диаметр ствола, онтогенетическое состояние, витальность.

Методы

Собранные талломы *E. prunastri* очищали от субстрата и подвергали дальнейшей камеральной обработке в условиях лаборатории биотехнологий Костромского государственного университета. Определение онтогенетических состояний талломов осуществляли по маркерным признакам, выделенным Суетиной Ю.Г., в частности размеру таллома, степени ветвления, наличию и плотности соралей на слоевище. Оценке онтогенетического состояния подвергали талломы, видимые невооруженным глазом (начиная с виргинильного 1 (v1) состояния) [6]. Генеративные состояния оценивали по количеству и расположению соралей на талломе. После сбора материала талломы высушивали до воздушно-сухого состояния в сухожаровом шкафу при температуре 80 °С в течение 12 часов. Массу собранных со ствола и высушенных талломов измеряли при помощи аналитических весов Ohaus PA-64C с точностью до 0,0001 г. Определение биомассы растительного сырья *E. prunastri* осуществляли на единицу поверхности форофита, которую определяли по высоте и диаметру ствола (площадь боковой поверхности цилиндра).

Количественное содержание вторичных метаболитов определяли следующим образом. Воздушно-сухое сырье *E. prunastri* известной массы измельчали до фрагментов длиной 5-7 мм, заливали ацетоном (ГОСТ 2768-84 99,5%) и проводили экстракцию при помощи аппарата Сокслета в течение 30 минут. Полученный раствор фильтровали, фильтрат упаривали до объема 10 мл, помещали в холодильную камеру на 48 часов при температуре 2 °С. Полученный мутно-кристаллический осадок лимонного цвета высушивали на дисках фильтровальной бумаги в сухожаровом шкафу при температуре 80 °С. Высушенный осадок,

представляющий собой мелкодисперсный кристаллический порошок, взвешивали на обозначенных выше аналитических весах с точностью до 0,0001 г.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Фитоценотическая приуроченность *E. prunastri* характеризуется произрастанием преимущественно на стволах лиственных пород (*B. pendula*) в субсенильном поврежденном состоянии, где биомасса данного эпифитного лишайника достигает 15,6179 г/м^2 (Таблица 1). На стволах *P. sylvestris* были обнаружены единично расположенные талломы.

Таблица 1 – Биомасса субпопуляций *E. prunastri* в сосновом бору Костромской области

Форофит	Онтогенетическое состояние форофита	Витальность форофита	Локализация талломов *E. prunastri*	Биомасса *E. prunastri*, г/м^2
B. pendula (1)	ss	поврежденное, лиственная масса расположена на 1/4 части кроны	Ствол, бо̲льшая часть биомассы сосредоточена на высоте 1,0-1,5 м, юго-восточная сторона ствола	15,6179
B. pendula (2)	c	сильно поврежденное, лиственная масса отсутствует	Ствол, бо̲льшая часть биомассы на высоте 1,0-1,5 м, южная и юго-восточная стороны ствола	10,5446
P. sylvestris (3)	v	слегка поврежденное, хвоя присутствует на 2/3 частях побегов	Ближняя к стволу часть ветви, на высоте 1,0 м, юго-западная сторона кроны	8,9134
P. sylvestris (4)	g2	нормальное, хвоя присутствует равномерно на всей поверхности кроны	Ствол, на высоте 1,5 м, юго-западная сторона ствола	4,7809
P. sylvestris (5)	g2	Слегка поврежденное, хвоя присутствует на 2/3 части кроны	Ствол, на высоте 1,0-1,5 м, южная сторона ствола	0,9564

Расположение талломов *E. prunastri* большей частью отмечено на стволе форофита; только в одном случае с *P. sylvestris* слоевища находились на ветвях, ближе к стволу. Такое распределение талломов на ветви согласуется с данными Ковалевой Н.М. с соавт. [7]. Тем самым подтверждается гипотеза о наиболее благоприятных условиях для произрастания лишайников внутри кроны форофита, где погодно-климатические условия (ветер, инсоляция, перепады температур и влажности) выражены в меньшей степени.

В среднем значения биомассы *E. prunastri* для хвойных лесов центра Европейской России (на примере Костромской области) коррелируют с данными по фитомассе эпифитного покрова лишайников бруснично-лишайникового сосняка подзоны южной тайги, где масса талломов данного вида на 10 модельных форофитах составила 57,92 г [12]. Однако в условиях Костромской области основная биомасса *E. prunastri* приурочена к стволам лиственных пород.

Значения биомассы *E. prunastri* (на примере Костромской области) оказались меньшими, чем для бореальных лесов Финляндии, где биомасса эпифитного покрова лишайников составила в среднем 163 г/м^2 (без учета видовой принадлежности лихенофлоры) [9]. По-видимому, это объясняется климатическими особенностями, которые определяют условия относительной влажности воздуха в период активной вегетации.

Согласно полученным данным, наибольшая биомасса талломов *E. prunastri* наблюдалась на старовозрастных поврежденных стволах *B. pendula* (15,6179 г/м^2 и 10,5446 г/м^2). Во многом это поясняется временем заселения фрагмента таллома или вегетативной пропагулы на поверхности ствола и дальнейшим увеличением субпопуляции. Это можно проследить и при рассмотрении онтогенетической структуры субпопуляций, представленной в Таблице 2.

Таблица 2 – Онтогенетическая структура субпопуляций *E. prunastri* в сосновому бору Костромской области

Форофит	Онтогенетическое состояние форофита	Количество талломов прегенеративного периода, %	Количество талломов начального генеративного периода, %	Количество талломов среднего генеративного периода, %
B. pendula (1)	ss	16	9	75
B. pendula (2)	c	7	7	86
P. sylvestris (3)	v	22	25	53
P. sylvestris (4)	g2	41	35	24
P. sylvestris (5)	g2	57	36	7

При анализе полученных результатов можно увидеть тенденцию к тому, что на стволах сосны располагаются преимущественно молодые инвазионные и нормальные субпопуляции *E. prunastri*, сравнительно недавно колонизировавшие ствол и ветви *P. sylvestris*: об этом свидетельствует подавляющее количество талломов прегенеративного и раннего генеративного периодов. На поврежденных стволах *B. pendula* отмечены регрессивные субпопуляции среднего и позднего генеративного периодов: в них преобладают талломы, где видны плотно расположенные на поверхности слоевища и его ребрах пятнистые сорали; на части талломов отмечено начало некротических процессов.

Перспективу использования *E. prunastri* в качестве лекарственного сырья определяет содержание в талломе вторичных метаболитов, обладающих широким фармацевтическим действием. Одним из наиболее изученных и перспективных соединений является усниновая кислота, составляющая основную часть ацетонового экстракта слоевищ данного вида [5]. Количество вторичных метаболитов в талломах может находиться в зависимости от ряда факторов: освещенность, влажность, температура, возрастное состояние таллома. Выявление данных корреляций позволит оптимизировать условия культивирования *E. prunastri* для дальнейшего получения биологически активных веществ, находящих применение в медицине, что минимизирует воздействие на природные популяции.

Обратимся к количественному анализу содержания экстракта вторичных метаболитов в талломах в соответствии с их биомассой, представленному в Таблице 3.

Таким образом, с 48,9814 г воздушно-сухого сырья *E. prunastri*, произрастающей в условиях соснового бора-зеленомошника Костромской области, нам удалось получить 1,2510 г экстракта, содержащего ацетонорастворимые вторичные метаболиты данного вида лишайника.

Таблица 3 – Содержание вторичных метаболитов в суммарной биомассе растительного сырья *E. prunastri*

Форофит	Суммарная биомасса талломов *E. prunastri* со ствола от земли до высоты 1,5 м, г	Масса экстракта вторичных метаболитов с суммарной биомассы, г	Концентрация вторичных метаболитов, мг/г
B. pendula (1)	22,0681	0,5889	26,69
B. pendula (2)	17,3828	0,4074	23,44
P. sylvestris (3)	2,0991	0,0544	25,92
P. sylvestris (4)	5,6296	0,1880	33,39
P. sylvestris (5)	1,8018	0,0123	6,83

Концентрация вторичных метаболитов в талломах *E. prunastri* составила от 6,83 мг/г до 33,39 мг/г воздушно-сухого сырья и находилось в корреляции с онтогенетической структурой субпопуляций. Так, с биомассы талломов на *P. sylvestris*, где субпопуляция насчитывала 57% талломов прегенеративного периода, концентрация вторичных метаболитов составила 6,83 мг/г, в то время как субпопуляция, состоящая преимущественно из слоевищ среднего и позднего генеративного периодов (75 % и 86 %), содержала 23,44 мг/г –33,39 мг/г экстракта вторичных метаболитов. Полученные результаты согласуются с данными Храмченковой О. М. с соавт., согласно которым содержание усниновой кислоты было наибольшим в соредиях *E. prunastri* [13].

ВЫВОДЫ

Представлен опыт определения биомассы растительного сырья *E. prunastri*. В условиях сосняка-зеленомошника с включением *B. pendula* на территории центральной части Европейской России (на примере Костромской области) биомасса на субсенильных и мертвых стволах мелколиственных пород была наибольшей (10,5446 г/м^2–15,6179 г/м^2); на стволах *P. sylvestris* биомасса находилась в пределах 0,9564 г/м^2–8,9134 г/м^2. Полученные данные в целом сопоставимы с результатами по фитомассе талломов вида для сосняка брусничнo-лишайникового подзоны южной тайги.

Определена возрастная структура субпопуляций *E. prunastri*: бо̲льшая часть талломов на стволах *B. pendula* находится в среднегенеративном онтогенетическом периоде (75%–86%) и соответствуют регрессивным субпопуляциям. Молодые инвазионные и нормальные субпопуляции *E. prunastri* произрастают на стволах *P. sylvestris* (количество талломов прегенеративного периода 22%–57%).

С 48,9814 г воздушно-сухого сырья *E. prunastri*, произрастающей в условиях соснового бора-зеленомошника Костромской области, при помощи описанной методики получено 1,2510 г экстракта, содержащего ацетонорастворимые вторичные метаболиты данного вида лишайника.

Выявлена тенденция к взаимосвязи количества вторичных метаболитов с онтогенетическим состоянием талломов: субпопуляции с преимуществом талломов в среднем и позднем генеративном состояниях содержали большее количество ацетонорастворимых вторичных метаболитов (23,44 мг/г –33,39 мг/г), что предположительно может быть связано с числом структур вегетативного размножения (соралей).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Shukla V. Lichens as a potential natural source of bioactive compounds: A review / V. Shukla, G. Joshi, M.s.M. Rawat // Phytochemistry Reviews. – 2010. – V. 9. – pp. 303-314. DOI: 10.1007/s11101-010-9189-6.

2. Luzina, O. Biological activity of usnic acid and its derivatives: Part 1. Activity against unicellular organisms / O. Luzina, N. Salakhutdinov // Russian Journal of Bioorganic Chemistry. – 2016. – V. 42. – pp. 115-132. DOI: 10.1134/S1068162016020084.
3. Staples, R. Structure and Chemical Analysis of Major Specialized Metabolites Produced by the Lichen Evernia prunastri / R. Staples, R. LaDuca, L. Roze, M. Laivenieks, J. Linz, R. Beaudry, A. Fryday, B. Smith, A. Schilmiller, A. Koptina, F. Trail // Chemistry & Biodiversity. – 2019. – V. 17. DOI: 10.1002/cbdv.201900465.
4. Дубин, М.В. Влияние экстракта эвернии сливовой (Evernia prunastri (L.) Ach.) на проницаемость мембран митохондрий печени крыс / М.В. Дубин, А.И. Щербакова, В.С. Старинец, К.С. Теньков, К.Н. Белослудцев // Материалы всероссийской научной конференции «Современные проблемы медицины и естественных наук». – Йошкар-Ола: Марийский государственный университет, 2018. – С. 231–234.
5. Храмченкова, О.М. Лишайники Hypogymniaphysodes, Everniaprunastri, Cladoniaarbuscula и Xanthoriaparietina как источники веществ с антибактериальной активностью / О.М. Храмченкова // Бюллетень Брянского отделения Русского ботанического общества. – 2017. – № 1(9). – С. 50–58.
6. Суетина, Ю.Г. Онтогенез и возрастно-виталитетная структура популяции лишайника *Everniaprunastri* (L.) Ach. / Ю.Г. Суетина, Е.И. Ямбердова // Вестник Удмуртского университета. – 2010. – Вып. 3. – С. 44–53.
7. Ковалева, Н.М. Особенности распределения биомассы эпифитных лишайников на сосне обыкновенной (Нижнее Приангарье) / Н.М. Ковалева, Г.А. Иванова // Сибирский экологический журнал. – 2012. – №3. – С. 429-433.
8. Boudreault, C. Edge effects on epiphytic lichens in remnant stands of managed landscapes in eastern boreal forest of Canada / C. Boudreault, Y. Bergeron, P. Drapeau, L. López // Forest Ecology and Management. – 2008. – 255. – P. 1461–1471. DOI: 10.1016/j.foreco.2007.11.002.
9. Liu, C. Biomass of Arboreal Lichens and its Vertical Distribution in a Boreal Coniferous Forest in Central Finland / C. Liu, H. Ilvesniemi, C. Westman // The Lichenologist. – 2000. – 32. – P. 495–504. DOI: 10.1006/lich.2000.0288.
10. Khramchankova, V. Cytotoxic activity of extracts from the four lichen species against human cancer cells lines / V. Khramchankova, M. Matveenkov // ЖурналБелорусскогогосударственногоуниверситета. Экология. – 2018. – № 2. – С. 88–98.
11. Михайлова, И.Н. Анализ субпопуляционных структур эпифитных лишайников (на примере *Lobaria pulmonaria* (L.) Hoffm.) / И.Н. Михайлова // Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского. Серия: Биология. – 2015. – № 1. – С. 124–134.
12. Ковалева, Н.М. Распределение фитомассы эпифитных лишайников на стволах и ветвях сосны обыкновенной (Pinus sylvestris L.) / Н.М. Ковалева // Вестник Красноярского государственного аграрного университета. – 2012. – № 3(66). – С. 90–95.
13. Храмченкова, О.М. Содержание усниновой кислоты в различных частях талломов *Everniaprunastri* (L.) Ach., *Ramalinapollinaria* (Westr.) Ach. и *Cladonia arbuscul*a (Wallr.) Flot / О.М. Храмченкова, Р.И. Новиков // Бюллетень Брянского отделения Русского ботанического общества. – 2018. – 3(15). – С. 49-53. DOI: 10.22281/2307-4353-2018-3-49-53.

EXPERIENCE IN THE DETERMINATION OF BIOMASS AND THE CONTENT OF SECONDARY METABOLITES IN VEGETABLE RAW *EVERNIA PRUNASTRI*

K. V. Malakhova
malakhova.kv1@gmail.com

Abstract. *Evernia prunastri* (L.) Ach. is a valuable plant resource, the plant raw material of which contains valuable secondary metabolites (usnic acid, atranorin, evernic acid, orcinol, etc.), which are used in medicine and perfumery. Data on the peculiarities of thallus biomass per unit surface area of the trunk on forophytes of coniferous (*Pinus sylvestris* L.) and deciduous (*Betula pendula* Roth.) Breeds under the conditions of a green moss pine forest were obtained using the example of the Kostroma region. The biomass of the air-dry raw material *E. prunastri* on the trunks of *B. pendula* was 10.5446–15.6179 g/m^2, on the trunks and branches of *P. sylvestris* 0.9564–8.9134 g/m^2. The content of secondary metabolites of E. prunastri from the known biomass of air-dry raw materials was investigated. With 48.9814 g of thalli, 1.2510 g of an extract containing acetone-soluble secondary metabolites was obtained. A correlation was found between the concentration of secondary metabolites in thalli and the ontogenetic structure of *E. prunastri* subpopulations. The largest amount of the extract was obtained from normal and regressive subpopulations, where thalli of the generative period predominated.

Keywords: *Evernia prunastri, biomass, epiphytic lichens, secondary metabolites, usnic acid, Kostroma region.*

УДК: 633.88 (572.6) DOI: 10.52101/9785870191003_2021_105

ОЛЬХА ВОЛОСИСТАЯ НА ДАЛЬНЕМ ВОСТОКЕ – ЛЕКАРСТВЕННОЕ ЗНАЧЕНИЕ, ПРОДУКТИВНОСТЬ, ЗАПАСЫ СЫРЬЯ

к.б.н. Нечаев А.А.

Федеральное бюджетное учреждение «Дальневосточный научно-исследовательский институт лесного хозяйства», Россия, г. Хабаровск, ул. Волочаевская, 71, 680020

dvniilh@gmail.com

Аннотация. Приведены данные по фитохимическому составу, фармакологическому действию, полезным свойствам, распространению, местам произрастания, соплодиевой продуктивности, биологическим запасам сырья и освоению ольхи волосистой *Alnus hirsuta* (Spach) Turcz. ex Rupr. на Дальнем Востоке России. Среднемноголетние показатели соплодиевой продуктивности одного дерева ольхи волосистой, по данным автора, составляют от 1 до 8 кг сырой массы (в среднем 4 кг) или от 0,6 до 4,0 кг воздушно-сухой (в среднем 2 кг). Выход воздушно-сухого сырья составляет в среднем 50 %. Среднегодовой биологический запас соплодий ольхи волосистой на Дальнем Востоке оценивается, как минимум, в 60 тыс. т (сырой массы) или 30 тыс. т воздушно-сухой; в угодьях производственного (экономически доступного) фонда он составляет 3 тыс. т воздушно-сухой массы, а среднегодовой возможный сбор – 0,3 тыс. т. Из общего биологического запаса воздушно-сухих соплодий ольхи 10,5 тыс. т сосредоточено на территории Хабаровского края, 9 тыс. т – Приморского края, 4,5 тыс. т – Амурской области, 3 тыс. т – Камчатского края, 2,25 тыс. т – Сахалинской области и 0,75 тыс. т – Еврейской автономной области.

Ключевые слова: *Дальний Восток России, ольха волосистая Alnus hirsuta* (Spach) Turcz. ex Rupr.*, фитохимический состав, фармакологическое действие, полезные свойства, распространение, места произрастания, соплодиевая продуктивность, биологический запас сырья, освоение.*

ВВЕДЕНИЕ

Род ольха *Alnus* Mill. относится к семейству березовые *Betulaceae* S.F. Gray. и включает около 30-35 видов, распространенных в Евразии и Северной Америке. В Европейской части России и Западной Сибири произрастают **ольха серая** *Alnus incana* (L.) Moench и **ольха клейкая** (о. черная) *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn. В Восточной Сибири и на Дальнем Востоке России распространена **ольха волосистая** (о. пушистая, о. сибирская) *Alnus hirsuta* (Spach) Turcz. ex Rupr. (*A. sibirica* (Spach) Tursz. ex Kom.), а на крайнем юге Дальнего Востока – **ольха японская** *Alnus japonica* (Thunb.) Steud.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы. Для выполнения ресурсных полевых работ использовались мерная вилка, высотомер, общая тетрадь, карандаши, ручка, бланки для геоботанических описаний, гербарная папка, тряпочные мешочки для образцов соплодий (ольховых шишек), секатор; для выполнения камеральных работ – сушильный шкаф, весы электронные.

Методы. Для выполнения полевых работ использовались общепринятые **методы геоботанических маршрутных исследований** – класс методов, которые проводятся путем однократных учетов по ходу маршрута или более подробные исследования. Маршрутные исследования могут охватывать небольшие типичные (ключевые) участки растительности и могут быть разными по степени точности – опираться как на чисто визуальные оценки, так и на точные методы учета роли видов в растительных сообществах.

С целью изучения ресурсных характеристик и соплодиевой продуктивности ольхи волосистой автором статьи поздней осенью (в ноябре) проведены полевые исследования.

Подбор наиболее типичных и продуктивных фитоценозов с преобладанием ольхи и последующий сбор полевого материала проведены в окрестностях г. Хабаровска в отрогах хребта Большой Хехцир на территории Лесопаркового участкового лесничества Хехцирского лесничества. На каждом участке проведены таксационные и геоботанические описания, подбор модельных деревьев ольхи (по 10-15 шт.) с последующим измерением диаметра и высоты деревьев и сбор трех опытных образцов (по 50-100 соплодий в каждом) и с измерением в камеральных условиях средней массы соплодий в сыром и воздушно-сухом состояниях. Наиболее типичные и продуктивные фитоценозы с преобладанием ольхи встречаются по берегам водоемов и озер, в прирусловых и долинных лесах. Преобладают ольховники кустарниковые разнотравные. В древостое, помимо ольхи волосистой, присутствуют такие виды как: ясень маньчжурский *Fraxinus mandshurica* Rupr., ильм японский (и. долинный) *Ulmus japonica* (Rehd.) Sarg., ива козья *Salix caprea* L., ива Пьеро *Salix pierotii* Miq., тополь дрожащий (осина) *Populus tremula* L., тополь душистый *Populus suaveolens* Fisch., трескун амурский (сирень амурская) *Ligustrina amurensis* Rupr., черемуха обыкновенная *Padus avium* Mill., береза плосколистная *Betula platyphylla* Sukacz. и др. В подлеске (проективное покрытие 40-50 %) рассеянно или группами произрастают: рябинник рябинолистный *Sorbaria sorbifolia* (L.) A. Br., лещина маньчжурская *Corylus mandshurica* Maxim., чубушник тонколистный *Philadelphus tenuifolius* Rupr. et Maxim., бересклет малоцветковый *Euonymus pauciflora* Maxim., шиповник тупоушковый *Rosa amblyotis* C. A. Mey., свидина белая *Swida alba* (L.) Opiz, таволга иволистная *Spiraea salicifolia* L., смородина печальная *Ribes triste* Pall., жимолость золотистая *Lonicera chrysantha* Turcz. ex Ledeb., элеутерококк колючий *Eleutherococcus senticosus* (Rupr. et Maxim.) Maxim. и др. В травяном покрове (проективное покрытие 40-50 %) встречаются: кочедыжник китайский *Athyrium sinense* Rupr., страусник обыкновенный *Matteuccia struthiopteris* (L.) Todaro, лесной мак весенний *Hylomecon vernalis* Maxim., хвощ зимующий *Equisetum hyemale* L., лютик Франше *Ranunculus franchetii* Boiss., ветровочник амурский (ветреница амурская) *Anemonoides amurensis* (Korsh.) Holub, щитовник толстокорневищный *Dryopteris crassirhizoma* Nakai, дудник окаймленный *Angelica cincta* Boissieu, борщевик рассеченный *Heracleum dissectum* Ledeb., чемерица даурская *Veratrum dahuricum* (Turcz.) Loes. fil., сердечник белоцветковый *Cardamine leucantha* (Tausch) O. E. Schulz и др.

Ольха волосистая *Alnus hirsuta* (Spach) Turcz. ex Rupr. – ценное лекарственное, пыльценосное, декоративное, почвозащитное, кормовое, водоохранное, дубильное и техническое растение; широко распространена на Дальнем Востоке. Представляет большой интерес для промысловых заготовок лекарственного и технического сырья.

Фитохимический состав и фармакологическое действие. С лекарственными целями используют соплодия (ольховые шишки), почки, листья, кору молодых побегов ольхи волосистой. В различных частях растения найдены гликозиды, фосфорная кислота, органические кислоты, алкалоиды, флавоноиды. Соплодия содержат дубильные вещества (до 15-30 %), в числе которых около 2,5 % танина и 3,7 % галловой кислоты. В листьях обнаружены эфирное масло до 0,4 %, витамин С (до 34 мг %), тритерпеноиды, флавоновые гликозиды – гиперозид и кверцитрин, кофейная, хлорогеновая и пирокатехиновая кислоты; в коре – дубильные вещества (до 5-9 %), тритерпеноиды, флавоноиды, фенольные гликозиды; в почках – тритерпеноиды, флавоноиды; в пыльце – органические кислоты: муравьиная, уксусная, янтарная, молочная, яблочная [1-2].

В качестве лекарственного сырья используют зрелые соплодия ольхи (ольховые шишки), которые собирают поздней осенью и зимой (до марта). Настой или настойку ольховых соплодий применяют как вяжущее средство при заболеваниях желудочно-кишечного тракта, а также в качестве кровоостанавливающего средства. Наружно их используют при ожогах и воспалении кожи, для полоскания горла, полости рта, для укрепления десен. Соплодия ольхи входят в состав желудочного сбора. Известно о применении препаратов, получаемых из ольхи, в качестве дезинфицирующих,

противовоспалительных, противомикробных, противоглистных, противоожоговых, потогонных, желчегонных, жаропонижающих и репаративных средств [1-2].

Собранные поздней осенью и зимой, высушенные соплодия ольхи серой *Alnus incana* (L.) Moench и ольхи клейкой *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn. включены в очередную Государственную фармакопею РФ XIV издания, т. IV, «Ольхи соплодия» ФС.2.5.0087.18 в качестве вяжущего средства [3]. На данное сырье составлена Фармакопейная статья (ФС 42-850-74). Ольха волосистая заменяет на Дальнем Востоке ольху серую.

Полезные свойства. Ольха волосистая пригодна для облесения пустырей, закрепления берегов и оврагов в антропогенных нарушенных ландшафтах, а также для озеленения населенных пунктов. На корнях ольхи образуются клубеньковые бактерии, фиксирующих атмосферный азот. Листья, богатые азотом, опадая, улучшают почву. Листья пригодны на корм скоту, семена служат осенне-зимним кормом зерноядных птиц, а соплодия с семенами – рябчиков. Ранней весной пыльцой ольхи, смешанной с сахаром и медом, подкармливают пчел. Пчелы собирают пыльцу ольхи и смолистые вещества на почках и листьях, превращаемые ими в пчелиный клей (прополис). Кору ольхи используют для крашения тканей и дубления кож. Древесину ольхи используют для хозяйственных нужд.

Распространение. Ольха волосистая произрастает в Приморье, Приамурье, Западном Приохотье, на Камчатке, Южном Сахалине и Южных Курильских о-вах (Итуруп, Кунашир, Шикотан, Юрий); общее распространение – Якутия, Забайкалье, Северо-Восточный Китай, Корея, Япония. **Ольха японская** *A. japonica* (Thunb.) Steud. распространена в Южном Приморье, на Южном Сахалине и Южных Курильских о-вах (Кунашир); общее распространение – Северо-Восточный Китай, Корея, Япония [4-6].

Сравнительно недавно по ряду признаков из рода ольха *Alnus* Mill. выделен самостоятельный род – ольховник или душекия *Duschekia* Opiz (*Alnaster* Spach), представленный двумя видами: **ольховником кустарниковым** *Duschekia fruticosa* (Rupr.) Pouzar (*Alnus fruticosa* Rupr., *Alnaster fruticosus* (Rupr.) Ledeb., *Duschekia kamtschatica* (Regel) Pouzar, *D. manshurica* (Call.) Pouzar) (распространен во всех регионах Дальнего Востока; общее распространение – Европейская часть России, Сибирь, север Монголии, Северо-Восточный Китай, Корея) и **ольховником Максимовича** *D. maximowiczii* (Call. ex C.K. Schneid.) Pouzar (*Alnus maximowiczii* Call. ex C.K. Schneid., *Alnaster maximowiczii* (Call. ex C.K. Schneid.) Czer.) (произрастает в Приморье – по морскому побережью, низовьях Амура, на Сахалине, Курильских о-вах; общее распространение – Япония) [5]. От древовидных видов рода *Alnus* Mill. ольховники *Duschekia* Opiz отличаются сидячими почками с 3-6 клейкими чешуями, цветением одновременно с распусканием листьев, железистыми, очень клейкими листьями и другими признаками. Ольховник кустарниковый и ольховник Максимовича – крупные кустарники или небольшие деревца до 5-6 (8) м высоты, высоко в горах до 1,5-2 (3) м, принимают часто стелющуюся форму. Образуют чистые ольховники или смешанные с кедровым стлаником, березой Миддендорфа и рододендроном золотистым густые заросли от морских побережий до подгольцового и гольцового поясов, встречаются в подлеске горных и долинных лиственничников, сосняков, каменноберезняков, темнохвойных лесов. Наилучшего развития достигает по берегам рек и ручьев, на болотах, луговых склонах, на каменистых, хорошо увлажненных, но достаточно дренированных субстратах, на вырубках, гарях. Заросли ольховников имеют большое водоохранное и почвозащитное значение. Ольховники рекомендуются для использования в декоративных насаждениях, а также для закрепления берегов и оврагов.

Фитохимический состав соплодий ольховников, ольхи серой и ольхи волосистой весьма близок. Настой или настойку соплодий ольховника можно применять, как и соплодий ольхи, в качестве вяжущего средства при заболеваниях желудочно-кишечного тракта, а также в качестве кровоостанавливающего средства. Наружно отвары соплодий ольховника можно использовать при ожогах и воспалении кожи, для полоскания горла, полости рта, для укрепления десен [2].

Ольха волосистая – однодомное листопадное дерево до 16-20 м высоты и до 50-60 см в диаметре или крупный кустарник; ветви серо-бурые, почти голые; почки на ножках с 2-3 опушенными чешуями, обратнояйцевидные, темно-коричневые, волосистые; листья 8-15 см длины и 8-11 см ширины, почти округлые, коротколопастные, закругленные или тупые, рассеянно-волосистые, но не железистые и не клейкие; цветки раздельнополые, собраны в сережки; пыльниковые (мужские) сережки висячие, собраны в кисть по 3-5, цилиндрические, темно-бурые, 10-15 см длины в момент цветения; пестичные (женские) сережки короткие, 0,7-1 см длины, овальные, в момент цветения красноватые, собраны в пучки по 3-7 на общем безлистном цветоносе; при созревании прицветные чешуи одревесневают и образуют соплодия (ольховые шишки) длиной до 2 см; плоды – односемянные двукрылые орешки, 3-4 мм длины, овальные, крылья узкие, утолщенные [5].

Места произрастания и экология. Ольха волосистая растет одиночно или группами по берегам проточных водоемов и озер, в приречных и приозерных зарослях, в прирусловых и долинных лесах, в смешанных лесах на сырых песчано-илистых и галечниково-илистых отложениях, на сырых лугах, по окраинам болот, в придорожных кюветах, иногда образует чистые ольховые леса, встречается в антропогенных местообитаниях. Влаголюбива, светолюбива, зимостойка, к плодородию почвы сравнительно нетребовательна. Начинает плодоносить с 8-10 лет, порослевые особи – с 5-7 лет. Растет быстро, особенно до 20 лет, доживает до 80-90, редко 150 лет. Возобновляется семенами, обладает хорошей порослевой способностью.

Цветение в конце марта – начале апреля, до распускания листьев; цветки опыляются ветром и частично пчелами, собирающими пыльцу. После опыления пестичных цветков из женских сережек развиваются соплодия, которые называют ольховыми шишками. Созревание семян в соплодиях происходит в конце сентября – октябре. Раскрывание соплодий и лёт семян начинается поздней осенью и продолжается до конца марта. Их распространение происходит ветром и весенними водами. Одревесневшее соплодие длительное время сохраняется на веточках после выпадения плодов (орешков).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Продуктивность и ресурсы. Согласно ресурсно-производственной классификации природных лекарственных растений, природные запасы сырья (соплодий) ольхи волосистой на Дальнем Востоке отнесены к ресурсу промышленного уровня во многих районах, концентрированные запасы его имеются на достаточно больших площадях.

Плодоношение ольхи волосистой обильное, ежегодное и зависит от диаметра и возраста дерева и полноты древостоя. В течение 10 лет отмечается 7-8 лет с промысловыми урожаями соплодий (ольховых шишек). Ольху волосистую по величине и устойчивости плодоношения можно отнести к группе растений с очень устойчивым плодоношением и очень частыми хорошими и обильными урожаями соплодий.

Среднемноголетние показатели соплодиевой продуктивности одного дерева ольхи волосистой, по нашим данным, составляют от 1 до 8 кг сырой массы (в среднем 4 кг) или от 0,6 до 4,0 кг воздушно-сухой (в среднем 2 кг). Выход воздушно-сухого сырья составляет в среднем 50 %. Соплодиевая продуктивность ольхи волосистой в составе насаждений с ее участием, принятом в среднем 10 %, составляет 60-75 кг/га.

По нашим экспертным данным, среднегодовой биологический запас соплодий ольхи волосистой на Дальнем Востоке (в составе насаждений с ее участием от 10 % и выше и на площади с ее преобладанием в 400 тыс. га) оценивается, как минимум, в 60 тыс. т сырой массы или 30 тыс. т воздушно-сухой (50 % от сырой); в угодьях производственного (экономически доступного) фонда (на 1/10 относительно доступной для освоения ее части) он составляет 3 тыс. т воздушно-сухой массы, а среднегодовой максимально возможный сбор – 0,3 тыс. т (10 % от биологического запаса в производственном фонде). Из общего биологического запаса воздушно-сухих соплодий ольхи 10,5 тыс. т сосредоточено на территории Хабаровского края,

9 тыс. т – Приморского края, 4,5 тыс. т – Амурской области, 3 тыс. т – Камчатского края, 2,25 тыс. т – Сахалинской области и 0,75 тыс. т – Еврейской автономной области.

Нормативы учета и заготовки соплодий ольхи волосистой. С использованием «Справочников» для таксации лесов Дальнего Востока [7, 8] нами составлена нормативная таблица для определения продуктивности и возможного сбора соплодий одного дерева ольхи волосистой в зависимости от ее диаметра. Таблица включает следующие показатели: ступень толщины (диаметр дерева), массу соплодий (в воздушно-сухом состоянии) и максимально возможный сбор (20 % от массы соплодий), а также сроки и периодичность заготовки сырья (Таблица 1).

Таблица 1 - Масса соплодий одного дерева ольхи волосистой в зависимости от ее диаметра на Дальнем Востоке (в воздушно-сухом состоянии)

Ступень толщины, см	Масса соплодий, кг	Возможный (расчетный) сбор, кг	Сроки и периодичность заготовки сырья
12	0,6±0,05	0,12±0,01	Сроки заготовки соплодий: с 20 ноября по 28 февраля. Урожай почти ежегодный. В течение 10 лет отмечается 7-8 лет с промысловыми урожаями соплодий. Реальный возможный сбор соплодий с одного дерева составляет не более 20 % урожая. Повторные заготовки на одних и тех же деревьях могут быть ежегодными или через 1 год.
16	1,0±0,06	0,20±0,01	
20	1,3±0,07	0,26±0,02	
24	1,7±0,08	0,34±0,02	
28	2,2±0,09	0,44±0,03	
32	2,6±0,10	0,52±0,04	
36	3,0±0,15	0,60±0,05	
40	3,5±0,20	0,70±0,06	
44	3,8±0,30	0,76±0,07	

Правила сбора, заготовки и хранения соплодий ольхи волосистой. Лекарственным сырьем являются соплодия (ольховые шишки). Их собирают поздней осенью или зимой, когда они хорошо заметны на утративших листву деревьях. Соплодия содержат мало влаги и быстро высыхают в любом достаточно теплом помещении. Секатором или ножом срезают концы тонких веток, с которых затем обрывают соплодия. Собранное сырье складывают в мешки и доставляют к месту сушки [9].

Сушат на чердаках или под навесами, а также в воздушных сушилках с искусственным обогревом при температуре 50-60 ^{0}С, разложив тонким слоем (4-5 см), время от времени перемешивая; срок сушки сырья – 5-7 дней. В благоприятную погоду можно сушить соплодия ольхи на открытом воздухе. Готовое сырье упаковывают в тканевые или в бумажные мешки.

Согласно требованиям Фармакопейной статьи (ФС 42-850-74) и Государственной фармакопеи РФ XIV издания, т. IV, «Ольхи соплодия» ФС.2.5.0087.18, готовое сырье состоит из яйцевидных или продолговатых соплодий (шишек) расположенных по нескольку штук на одной веточке или одиночных, с плодоножками или без них; в небольшом количестве в сырье встречаются отдельные чешуйки и плоды [3]. На твердой оси соплодия расположены многочисленные веерообразные чешуйки с утолщенным, слегка лопастным наружным краем. В пазухах чешуек часто находятся односемянные двукрылые сплюснутые плоды – орешки. Цвет соплодий и веточек темно-бурый или темно-коричневый. Длина веточек (от плодоножки нижнего соплодия) до 15 мм, длина соплодий до 20 мм, их диаметр до 13 мм. Запах слабый, вкус вяжущий. Числовые показатели: дубильных веществ в пересчете на абсолютно сухое сырье не менее 10 %, влаги не более 12 %, золы общей не более 3,5 %, золы, не растворимой в 10 % растворе соляной кислоты, не более 1 %, веточек и отделившихся плодоножек не более 1 %, соплодий с длиной веточки свыше 20 мм (от места прикрепления плодоножки нижнего соплодия) не более 3 %, измельченных частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями

диаметром 1 мм не более 3 %, органической примеси (частиц других неядовитых растений) не более 0,5 %, минеральной (земля, песок, камешки, пыль) не более 1 %.

Готовое сырье упаковывают в мешки по 20 кг. Хранят в сухом, хорошо проветриваемом помещении. Срок годности сырья 3 года. Соплодия ольхи используют как вяжущее средство при хронических колитах и энтероколитах.

ВЫВОДЫ

1. На Дальнем Востоке России распространены два вида рода ольха *Alnus* Mill.: **ольха волосистая** *Alnus hirsuta* (Spach) Turcz. ex Rupr. и **ольха японская** *Alnus japonica* (Thunb.) Steud. Близкий к ним род ольховник или душекия *Duschekia* Opiz (*Alnaster* Spach) представлен на Дальнем Востоке двумя видами: **ольховником кустарниковым** *Duschekia fruticosa* (Rupr.) Pouzar (*Alnaster fruticosus* (Rupr.) Ledeb.) и **ольховником Максимовича** *Duschekia maximowiczii* (Call. ex C.K. Schneid.) Pouzar (*Alnaster maximowiczii* (Call. ex C.K. Schneid.) Czer.).

2. С лекарственными целями используют соплодия (ольховые шишки), почки, листья, кору молодых побегов ольхи и ольховника. Собранные поздней осенью и зимой, высушенные соплодия ольхи серой *Alnus incana* (L.) Moench и ольхи клейкой *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn. включены в очередную Государственную фармакопею РФ XIV издания (2018 г.) в качестве вяжущего средства. Ольха волосистая заменяет на Дальнем Востоке ольху серую.

3. Среднемноголетние показатели соплодиевой продуктивности одного дерева ольхи волосистой, по данным автора, составляют от 1 до 8 кг сырой массы (в среднем 4 кг) или от 0,6 до 4,0 кг воздушно-сухой (в среднем 2 кг). Выход воздушно-сухого сырья составляет в среднем 50 %.

4. Среднегодовой биологический запас соплодий ольхи волосистой на Дальнем Востоке (в составе насаждений с ее участием от 10 % и выше и на площади с ее преобладанием в 400 тыс. га) оценивается автором, как минимум, в 60 тыс. т сырой массы или 30 тыс. т воздушно-сухой (50 % от сырой); в угодьях производственного (экономически доступного) фонда (на 1/10 относительно доступной для освоения ее части) он составляет 3 тыс. т воздушно-сухой массы, а среднегодовой максимально возможный сбор – 0,3 тыс. т (10 % от биологического запаса в производственном фонде). Из общего биологического запаса воздушно-сухих соплодий ольхи 10,5 тыс. т сосредоточено на территории Хабаровского края, 9 тыс. т – Приморского края, 4,5 тыс. т – Амурской области, 3 тыс. т – Камчатского края, 2,25 тыс. т – Сахалинской области и 0,75 тыс. т – Еврейской автономной области.

5. Для лесоучетных целей составлена нормативная таблица по определению средней продуктивности и возможного сбора соплодий одного дерева ольхи волосистой в зависимости от ее диаметра, а также сроки и периодичность заготовки сырья.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Шретер, А.И. Лекарственная флора советского Дальнего Востока / А.И. Шретер. – М.: Медицина, 1975. – 328 с.

2. Растительные ресурсы России: Дикорастущие цветковые растения, их химический состав и биологическая активность. Т. 1. Семейства Magnoliaceae – Juglandaceae, Ulmaceae, Moraceae, Cannabaceae, Urticaceae / отв. ред. А.Л. Буданцев. – СПб.; М.: Товарищество научных изданий КМК, 2008. – 421 с.

3. Государственная фармакопея РФ. XIV изд. – М.: Медицина, 2018. – Т. IV. – 1833 с.

4. Ареалы деревьев и кустарников СССР: в 3-х т. / С.Я. Соколов [и др.]. – Л.: Наука, 1977. – Т. 1. – Тисовые – Кирказоновые. – 164 с.

5. Сосудистые растения советского Дальнего Востока: В 8 т. / отв. ред. С.С. Харкевич. – СПб.: Наука, 1996. – Т. 8. – 383 с.

6. Конспект флоры Азиатской России: Сосудистые растения / Л. И. Малышев [и др.]; под ред. К.С. Байкова. Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2012. – 640 с.

7. Справочник для учета лесных ресурсов Дальнего Востока / отв. сост., ред. В.Н. Корякин. – Хабаровск: ФГУ «ДальНИИЛХ», 2010. – 527 с.

8. Таксационный справочник по лесным ресурсам России (за исключением древесины) / Л.Е. Курлович, В.Н. Косицын. – Пушкино: ВНИИЛМ, 2018 – 282 с.

9 Правила сбора и сушки лекарственных растений (сборник инструкций). М.: Медицина, 1985. 328 с.

ALNUS HIRSUTA IN THE FAR EAST – MEDICAL SIGNIFICANCE, PRODUCTIVITY, BIOLOGICAL STOCK OF THE SOPLODS

PhD in Biology, Nechaev A.A.
Far Eastern Forestry Research Institute, Russia, Khabarovsk, Volochaevskaya str. 71, 680020
dvniilh@gmail.com

Abstract. Data on the phytochemical composition, pharmacological action, useful properties, distribution, places of growth, soplods productivity, biological stock of the soplods of hairy alder Alnus hirsuta (Spach) Turcz. ex Rupr. are presented in the Russian Far East. According to the author, the average long-term yield indicators of the soplods of one alder tree are from 1 to 8 kg of raw weight (on average 4 kg) or from 0.6 to 4.0 kg of air-dry weight (on average 2 kg). The yield of air-dry raw materials is on average 50 %. The average annual biological stock of hairy alder soplods in the Far East is estimated at least 60 thousand tons (raw weight) or 30 thousand tons of air-dry; in the lands of the production (economically accessible) fund, it is 3 thousand tons of air-dry mass, and the average annual possible collection is 0.3 thousand tons. Of the total biological stock of air-dry alder soplods, 10.5 thousand tons are concentrated in the territory of the Khabarovsk Territory, 9 thousand tons in the Primorsky Territory, 4.5 thousand tons in the Amur region, 3 thousand tons in the Kamchatka Territory, 2.25 thousand tons in the Sakhalin Region and 0.75 thousand tons in the Jewish Autonomous Region.

Keywords: *Russian Far East, hairy alder Alnus hirsuta (Spach) Turcz. ex Rupr., phytochemical composition, pharmacological action, useful properties, distribution, growing sites, soplodium productivity, biological stock of the soplods.*

УДК 579.64; 579.26; 632.9; 633.8 DOI: 10.52101/9785870191003_2021_112

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ПРЕПАРАТЫ В ЛЕКАРСТВЕННОМ РАСТЕНИЕВОДСТВЕ

Жаркова Е. К. [1, a)], к. б. н., доцент Ванькова А. А.[1], с.н.с., Дренова Н. В.[2]

1 - ФГБОУ – ВО РГАУ-МСХА им. К.А.Тимирязева, Российская Федерация, Москва, ул. Тимирязевская, 49, 127550

2 – ФГБУ ВНИИКР, Российская Федерация, п. Быково, ул. Пограничная, 32, 140150

а) автор для переписки – ekzharkova.tsha@yandex.ru

Аннотация. При возделывании лекарственных растений используются пестициды и агрохимикаты, которые могут стать причиной накопления нитратов, росторегуляторов и химических средств защиты в растительном сырье. Внесение некачественных органических удобрений может привести к загрязнению лекарственного растительного сырья бактериями из семейства *Enterobacteriaceae.* Предотвратить химическое и биологическое загрязнение продукции лекарственного растениеводства можно, применяя микробиологические препараты для получения, хранения и переработки растительного сырья. При использовании биопестицидов важно учитывать не только биологические особенности микроорганизмов, входящих в препарат, но и структурно-функциональные особенности микробных сообществ, ассоциированных с культивируемым лекарственным растением, а также микробное население почв. Изучение ассоциативных микроорганизмов тимьяна обыкновенного *(Thymus vulgaris* L.*)* показало, что для испытаний в качестве компонентов биопрепарата с защитным и росторегулирующим действием могут быть рекомендованы такие виды, как *Bacillus licheniformis, Ensifer adhaerens, Bosea vaviloviae, Sphingomonas sp., Pseudomonas fluorescens, Paenibacillus sp., Metarhizium anisopliae.* Несмотря на содержание фенольных соединений, обладающих антимикробным действием, тимьян обыкновенный является привлекательной средой обитания для большого числа бактерий и грибов, часть из которых, при внесении в виде биопрепарата, может способствовать увеличению зимостойкости, устойчивости к болезням и вредителям и продуктивности этого ценного эфирномасличного растения.

Ключевые слова: *микробиологические препараты, микробные сообщества, тимьян обыкновенный* (*Thymus vulgaris* L.)

ВВЕДЕНИЕ

В лекарственном растениеводстве наряду с удобрениями используются различные химические соединения, применяемые в качестве средств защиты растений от сорняков, болезней и вредителей [1, 2, 3, 4, 5]. Основная причина накопления остаточных количеств пестицидов в растительном сырье – нарушение правил и регламентов применения препаратов: завышение рекомендуемых доз, нарушение сроков обработки, неправильный выбор формы и способа применения препарата [6]. Даже при соблюдении правил применения пестицидов и агрохимикатов в почве, корнях и надземных частях растений содержатся остаточные количества удобрений, регуляторов роста и других соединений, снижающих качество лекарственного сырья [6, 7]. Устранить их накопление можно с помощью включения в технологическую карту микробиологических препаратов [8, 9, 10]. Кроме содержания пестицидов, для лекарственного растениеводства важны показатели микробиологической чистоты сырья [11, 12]. В соответствии с ОФС.1.2.4.0002 «Микробиологическая чистота», лекарственное растительное сырье, применяемое в виде настоев и отваров, должно содержать не более 10^2 КОЕ/г *E. coli* [12]. Превышение допустимого числа микроорганизмов на лекарственном растительном сырье и обилие бактерий из группы кишечной палочки (БГКП) зачастую обусловлены внесением некачественных органических удобрений [6, 10]. Микробиологические препараты способны предотвратить избыточное накопление нитратов в растительной продукции, снизить число БГКП в навозе и компостах, вносимых на поля [8, 9].

Для получения качественного лекарственного сырья необходимо предотвратить накопление синтетических регуляторов роста [6]. Регуляторы роста – химические соединения с высокой биологической активностью, применяемые в небольших количествах для воздействия на рост, развитие и жизнедеятельность растений, для облегчения уборки урожая и улучшения его качества и сохранности [1, 2, 4]. Несмотря на малую стабильность (период полураспада около 1 месяца), они способны накапливаться в человеческом организме [6]. С помощью газовой и тонкослойной хроматографии низкие концентрации таких веществ обычно не обнаруживаются, в то время как более чувствительный иммуноферментный анализ позволяет установить наличие регуляторов роста и выявить изменения в процессах синтеза белка, приводящих к появлению дефектных белков [6]. Полагают, что регуляторы могут приводить к нарушению внутриклеточного обмена, при значительных концентрациях способствовать образованию токсичных соединений в организме, а также могут проявлять токсичные свойства сами по себе [6]. Микроорганизмы, ассоциированные с лекарственными растениями, способны снабжать их природными регуляторами роста [13, 14, 15, 16].

Вредители и болезни способны не только снижать продуктивность лекарственных растений, но и существенно ухудшать качество урожая, изменяя химический состав, вкусовые качества сырья, выделяя токсичные вещества [6, 17, 18, 19]. К прямому ущербу, причиняемому вредителями, относят потери массы продукции, ухудшение ее качества, снижение посевных качеств семенного материала, загрязнение продуктами жизнедеятельности [6]. Косвенные повреждения связаны с тем, что вредители могут вызывать самосогревание сырья, распространять возбудителей заболеваний, служить причиной аллергических реакций [6]. Биопрепараты на основе микробов-антогонистов фитопатогенов способны предотвращать развитие плесневых грибов как в поле, так и при хранении, а биологические инсектициды позволяют удерживать численность вредителей на уровне, не превышающем экономический порог вредоносности (ЭПВ) [6, 8, 13, 14].

Еще одним требованием, касающимся агротехники лекарственных культур, является высокое качество пашни [17]. Почва должна быть рыхлой, мелкокомковатой, не содержать растительных остатков предшествующих видов, так как семена большинства лекарственных растений имеют маленький размер и прорастают дольше, чем сорные растения. В корнеобитаемом слое должны отсутствовать химические поллютанты, и другие вещества, действие которых может сказаться на компонентном составе получаемого сырья [6, 20]. При интродукции растений важно стабилизировать микробные сообщества, ассоциированные с культивируемым видом, так как при смене условий произрастания, при предпосевной обработке семян с использованием методов химической или термической скарификации растение может лишиться свойственных ему микробных симбионтов [3, 6, 13]. Так же ассоциативные микроорганизмы могут испытывать негативное влияние со стороны физико-химических факторов почвы и микробных сообществ, присущих зоне интродукции [20]. Для стабилизации растения в непривычных для него агроклиматических условиях корректировка ассоциативных микробных сообществ с помощью микробиологических препаратов особенно актуальна [6, 21].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы

Объектами исследования служили подземные (корни), надземные (стебли, листья, цветки) и ризосфера шестилетних растений тимьяна обыкновенного (*Thymus vulgaris* L.), культивируемых на делянках коллекционного участка УНПЦ «Овощная опытная станция им. В. И. Эдельштейна» РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева [22]. Тимьян обыкновенный - небольшой полукустарник, относящийся к семейству Яснотковые (*Lamiaceae*). В диком виде произрастает в северо-западном Средиземноморье [21]. Культивируется как лекарственное и эфиромасличное растение благодаря накоплению в надземной части, в основном, в листьях, эфирного масла, обладающего высокой антимикробной активностью по отношению к

микроорганизмам из различных систематических групп [21, 23]. Во время массового цветения тимьяна обыкновенного 5 растений без признаков повреждений или угнетения выкапывали с почвенными монолитами, используя стерильный инвентарь и медицинские перчатки, помещали в стерильные герметичные полиэтиленовые пакеты, и, не допуская изменения температуры и влажности, в течение часа доставляли в лабораторию. В качестве контроля при анализе ризосферы использовали почву, отобранную на глубине 5-10 см на поле чистого пара.

Методы

Численность микроорганизмов, ассоциированных с различными частями тимьяна обыкновенного, оценивали методом питательных пластин на глюкозо-пептоном агаре (ГПА) [24]. Для достижения селективного эффекта использовали нистатин для ингибирования роста грибов и левомицетин – для ингибирования бактерий [24]. Выросшие колонии разделяли на морфотипы, типичные для каждого морфотипа колонии выделяли в чистую культуру. Единичные колонии, полученные методом истощающего штриха, идентифицировали методом секвенирования по Сэнгеру [25]. Выделение ДНК из чистых культур проводили при помощи набора «МетаГен» (Синтол, РФ) по методике, рекомендуемой производителем. Функциональные особенности микробных сообществ оценивали на основе литературных источников, статистическую обработку данных проводили в программе MS Exel.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Общее число микроорганизмов в различных частях растений было не одинаково. На гистограммах А и Б (Рисунок 1) видно, что наибольшее число бактерий в пересчете на 1 г абсолютно сухого вещества приходится на долю цветков, а грибы, в основном, ассоциированы с листьями и стеблями.

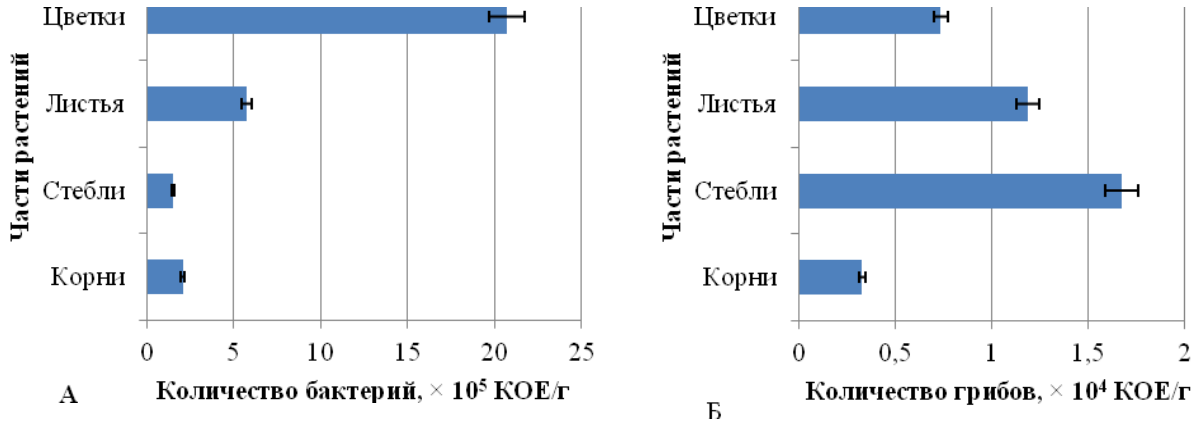


Рисунок 1 - Количество бактерий (А) и грибов (Б), ассоциированных с различными частями растений, КОЕ/г абсолютно сухой биомассы

Известно, что для хорошего роста и развития растений особенно важна сбалансированность микробных сообществ в корнеобитаемом слое почвы [8, 11, 12]. Большинство микроорганизмов, выделенных из ризосферы, относилось к отделам *Proteobacteria, Actinobacteria, Firmicutes*. Значительное количество микроорганизмов в зоне активного роста корней тимьяна обыкновенного свидетельствует о благоприятности этой экологической ниши для развития микроорганизмов, несмотря на обилие фенольных соединений, попадающих в почву с корневыми выделениями и корневым и листовым опадом [6, 21] (Рисунок 2).

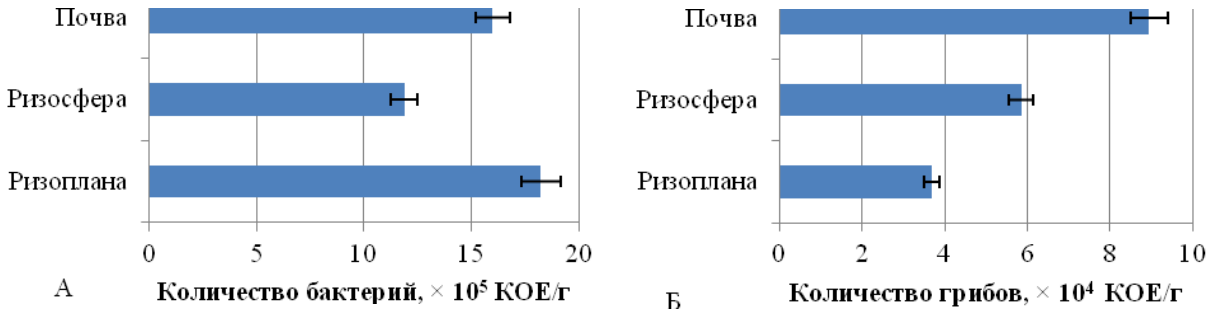


Рисунок 2 - Количество бактерий (А) и грибов (Б), присутствующих в ризосфере и ризоплане тимьяна обыкновенного (*T. vulgaris* L.), по сравнению с контролем (почвой), КОЕ/г абсолютно сухого вещества

Идентификация типичных колоний из ризосферы тимьяна обыкновенного с помощью секвенирования по Сэнгеру позволило выявить потенциальных микробных симбионтов, обладающих следующими полезными свойствами:

- способность к азотфиксации (*Ensifer adhaerens, Bosea vaviloviae*);
- способность к синтезу росторегулирующих и антимикробных веществ (*Pseudomonas fluorescens, Bacillus licheniformis*);
- способность конкурировать с фитопатогенами (*Paenibacillus sp., Bacillus sp.*);
- способность регулировать численность насекомых-вредителей (*Metarhizium anisopliae*);
- способность к разложению ароматических, в частности, фенольных соединений (*Sphingomonas sp., Pseudomonas sp.*) [6, 10].

Таким образом, не менее девяти микроорганизмов могут быть рекомендованы в качестве компонентов биопрепарата с защитным и росторегулирующим действием для возделывания тимьяна обыкновенного. Наличие симбиотических микроорганизмов может способствовать увеличению зимостойкости тимьяна в Нечерноземной зоне благодаря подавлению возбудителей корневых гнилей, активно развивающихся при выпревании, оттепелях, повышенной влажности. Для разработки такого препарата необходимы дальнейшие исследования микробных сообществ, ассоциированных с тимьяном обыкновенным, изучение взаимодействия потенциальных компонентов биопрепарата и опыты по его применению *in vivo*.

ВЫВОДЫ

Несмотря на содержание фенольных соединений, обладающих антимикробным действием, тимьян обыкновенный (*T. vulgaris* L.) является привлекательной средой обитания для большого числа микроорганизмов. Количество бактерий и грибов в различных частях растения не одинаково. В корнеобитаемой зоне тимьяна обыкновенного отчетливо проявлялся ризосферный эффект. Некоторые микроорганизмы, ассоциированные с ризосферой тимьяна обыкновенного, могут стать основой биопрепарата, обладающего росторегулирующими и защитными свойствами, а также способного улучшить азотное питание и зимостойкость растений.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Маланкина, Е.Л. Использование ауксиновых регуляторов роста для повышения продуктивности кориандра посевного (*Coriandrum sativum* L.) в условиях Нечерноземной зоны РФ / Е.Л.Маланкина, Н.М.Пржевальский, Н.И.Кузнецов, П.Д.Денисов, А.П.Грязнов // Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии. – Москва, 2013. - № 3. - С. 146-150.

2. Пушкина, Г.П. Эффективность применения регуляторов роста и микроудобрений на эфирномасличных культурах / Г.П.Пушкина, Е.Л.Маланкина, Р.Р.Тхаганов, А.И.Морозов // Достижения науки и техники АПК. Москва, 2010. - № 7. - С. 17-19.

3. Цицилин, А.Н. Влияние сроков хранения и регуляторов роста на посевные качества семян вербены лекарственной (*Verbena officinalis* L.) / А.Н. Цицилин, Т.Н. Кондратьева // Труды Кубанского государственного аграрного университета. - Краснодар, 2020. - № 85. - С. 279-283.

4. Савченко, О.М. Влияние регуляторов роста на прорастание семян лука победного (*Allium victorialis* L.) и лука медвежьего (Allium ursinum L.) / О.М.Савченко, Е.Л.Маланкина, Л.Н.Козловская // Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии. – Москва, 2010. - № 6. - С. 61-66.

5. Жаркова, Е.К. Влияние адаптационных обработок Чабера садового (*Satureja hortensis* L.) на антимикробную активность получаемого эфирного масла / Е.К.Жаркова, А.А.Ванькова // Агроэкологические и экономические аспекты применения средств химизации в условиях биологизации и экологизации сельскохозяйственного производства. Материалы 52-й Международной научной конференции молодых ученых,специалистов-агрохимиков и экологов, посвященной 200-летию со дня рождения профессора Ярослава Альбертовича Линовского. – Москва, 2018. - С. 247-249.

6. Черников, В.А. Агроэкология / В. А. Черников, Р. М. Алексахин, А. В. Голубев - Москва: Колос, 2000. - 536с.

7. Abdelaal, H.K. Nitrogen fertilization effect on grain yield and quality of spring triticale varieties / H. K. Abdelaal, P. D. Bugaev, T. N. Fomina // Indian Journal of Agricultural Research. – 2019. - T.53, N 5. – P. 578 – 583.

8. Селицкая О.В. Перспективность использования микробиологического удобрения "Биовел-рост" (марка А), "Биовел-рост" (марка Б) для современных агротехнологий в условиях разных агроклиматических зон / О.В.Селицкая, Д.В.Снегирев, С.С.Масленников // Глобальный научный потенциал. – Москва, 2018. - № 1 (82). - С. 64-67.

9. Петров, В. Б. Микробиологические препараты - базовый элемент современных интенсивных агротехнологий растениеводства / В. Б. Петров, В. К. Чеботарь // Достижения науки и техники АПК. – Москва, 2011. - №8. - С.11-14.

10. Кузнецов, А.Е. Прикладная экобиотехнология. Москва: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2010. - 629 с.

11. Цицилин, А.Н. Биологические особенности и фитонцидная активность декоративных растений в совместных композициях / А.Н. Цицилин, Т.В. Фатеева // Субтропическое и декоративное садоводство. - Сочи, 2019. - № 70. - С. 230-238.

12. Государственная фармакопея Российской Федерации - XIV издание. - Том I. Москва, 2018. - 1814 с.

13. Блинков, Е.А. Образование ауксина штаммом *Klebsiella planticola* ТСХА-91 и его влияние на развитие семян огурца посевного (*Cucumis sativus* L.) / Е.А.Блинков, Е.А.Цавкелова, О.В.Селицкая // Микробиология. – Москва, 2014. - Т. 83. № 5. - С. 543.

14. Ванькова, А.А. Поведение интродуцированной популяции *Acholepasma laidlawii* в почве // А.А. Ванькова, Л.А.Свиридова, Л.В.Васильева // Ученые записки Орловского государственного университета. Серия: Естественные, технические и медицинские науки. - Орел, 2010. - № 4. - С. 63-70.

15. Селицкая, О.В. Особенности колонизации растений интродуцированной популяцией *Klebsiella planticola* при воздействии стрессовых факторов / О.В.Селицкая, В.Т.Емцев, А.Я.Соколова, О.В.Колесников //Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии. – Москва, 2013. - № 1. - С. 48-56.

16. Фунг, Т.М. Биологическая активность ассоциативных бактерий, выделенных из ризопланы овощных растений вьетнама *Ipomoea aquatica* L. и *Brassica integrifolia* L. /

Т.М.Фунг, В.Т.Емцев, Л.А.Поздняков, О.В.Селицкая // Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии. – Москва, 2014. - № 5. - С. 24-35.

17. Цицилин, А.Н. Лекарственное растениеводство России в XXI веке (вызовы и перспективы развития) / А.Н. Цицилин, Н.И.Ковалев // Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии. – Москва, 2021. - № 1. - С. 42-54.

18. Sushkova, O.L. Chemical composition of *Mentha piperita* L. essential oil / O. L. Sushkova, T. N. Fomina, S. L. Belopukhov., L. B. Dmitriev // Сборник материалов конференции молодых ученых и специалистов, посвященной созданию объединенного аграрного вуза в Москве. – Москва, 2015. - С. 120-122.

19. Eremeeva, E.N. Comparative efficiency *Hyssopus officinalis* L. populations of different origin / E. N. Eremeeva, T. N. Fomina, E. L. Malankina // Материалы 67 Международной студенческой научно-практической конференции. – Москва, 2014. - С. 92-93.

20. Емцев, В.Т. Биология почв на новом этапе развития / В.Т.Емцев, А.А.Ванькова // Почвоведение. –Москва, 2007. - № 9. - С. 1147-1148.

21. Malankina, E.L. Productivity of different thyme varieties (*Thymys vulgaris* L.) in the condition of Non Chernozem-zone of Russian federation / E. L. Malankina, E. Eremeeva., H. Al Karavi . Quedlinburger, 2016 P.115-116.

22. Жаркова, Е.К. Особенности микробных сообществ, ассоциированных с филлосферой лекарственных растений семейства Яснотковые (*Lamiaceae*) // Материалы международной научной конференции молодых учёных и специалистов, посвящённой 150-летию А.В. Леонтовича: Сборник статей. - Москва, 2019. - С. 144-146.

23. Ваньков, А.А. Оценка антимикробной активности эфирных масел различных видов растений семейства Яснотковые (*Lamiaceae*) / А. А. Ванькова, Е. Л. Маланкина, Е. К. Жаркова // Перспективы лекарственного растениеведения. Материалы Международной научной конференции, посвященной 100-летию со дня рождения профессора Алексея Ивановича Шретера. – Москва, 2018. - С. 286-288.

24. Теппер, Е.З. Практикум по микробиологии / Е. З. Теппер, В. К. Шильникова, Г. И. Переверзева. - Москва: Дрофа, 2004. 238 с.

25. Drenova N.V., Mountain-Ash (*Sorbus* spp.) as a Potential Host Plant of Fire Blight (*Erwinia amylovora*) in the Russian Federation // Plant health and Quarantine. – 2020. - № 4 – P. 46-64.

MICROBIAL PESTICIDES IN MEDICINAL CROP PRODUCTION

Zharkova E. K.[1], Ph.D. (Biol.), associate professor Vankova A. A.[1], Drenova N. V.[2]
1 - Russian State Agrarian University - Moscow Agricultural Academy named after K. A. Timiryazev (RSAU-MTAA), Russian Federation, Moscow, Timiryazevskaya st., 49, 127550
2 – Science and Methodological Department of Virology and Bacteriology, Federal State Budgetary Institution «All-Russian Plant Quarantine Center » (FSBI «VNIIKR»), Russian Federation, Bykovo, Pogranichnaya st., 32, 140150
a) corresponding author – ekzharkova.tsha@yandex.ru

Abstract. Being used in medicinal plant production pesticides and agrochemicals can cause the accumulation of nitrates, growth regulators and another chemical agents in raw plant material. Application of improper manure may result in bacterial content increase and contamination of medicinal plants with *Enterobacteriaceae* family bacteria. To prevent chemical and biological pollution of medicinal plant products during their cultivation, handling and processing microbiological pesticides are proposed to be used. Biological features of bio-pesticide, structure and functions of microbial communities associated with cultivated medicinal plant in question, as well as soil microbial population should be considered. Association microorganisms have been studied in case of Garden thyme (*Thymus vulgaris* L.). The plant is an attractive habitat for a large number of bacteria and fungi despite of high content of antimicrobial agents such as phenolic compounds. Some of thyme-associated microorganisms such as *Bacillus licheniformis, Ensifer adhaerens, Bosea vaviloviae, Sphingomonas sp., Pseudomonas fluorescens, Paenibacillus sp., Metarhizium anisopliae* have been recommended as biologically-based product components with protective and growth-regulating effects.

Keywords: *microbial pesticides, microbial communities, garden thyme (Thymus vulgaris* L.*)*

УДК 581.84+581.4: 582.998: 547.913 DOI: 10.52101/9785870191003_2021_119

ИЗУЧЕНИЕ АНАТОМИЧЕСКОГО СТРОЕНИЯ НЕКОТОРЫХ ВИДОВ ПОЛЫНЕЙ ЦЕНТРАЛЬНОГО КАЗАХСТАНА

Ермеккызы А., Габдуллин Е. М., Шаймерденова Ж. Р.[a)],
академик НАН РК, д.х.н., профессор Адекенов С. М.

Акционерное общество «Международный научно-производственный холдинг «Фитохимия»
Республика Казахстан, г. Караганда, ул. М. Газалиева, 4, 100009
а) автор для переписки – info@phyto.kz

Аннотация. Целью работы является изучение анатомического строения вегетативных органов восьми видов рода *Artemisia* L. (*Artemisia absinthium* L., *Artemisia austriaca* Jacq., *Artemisia dracunculus* L., *Artemisia frigida* Willd., *Artemisia sieversiana* Willd., *Artemisia procera* Willd., *Artemisia pontica* L., *Artemisia marschalliana* Spreng.). В результате сравнительного микроскопического анализа определены диагностические признаки анатомического строения стеблей и листьев каждого из исследуемых видов, которые отличаются по форме поперечных срезов и типу проводящих пучков. Изучаемые виды полыни схожи по анатомическим признакам стебля, а именно по наличию в нем механических склеренхимных структур. Отличительным анатомическим признаком листьев 8 видов рода *Artemisia* L. является тип строения мезофила. Полученные данные по анатомо-диагностическим признакам 8 видов рода *Artemisia* L. могут быть использованы в качестве дополнительных характеристик при определении видов и стандартизации сырья.

Ключевые слова: *Artemisia* L., *анатомия, отличительные признаки, срезы, проводящий пучок, механические структуры.*

ВВЕДЕНИЕ

Род полынь один из обширных многовидовых родов семейства Сложноцветных (Астровых) во флоре Казахстана [1]. Чрезвычайно разнообразный внутривидовой полиморфизм, разнообразие морфологических признаков и широта занимаемых родом территорий затрудняют систематику рода. До настоящего времени систематика рода полыней во «Флора Казахстана» [1] определение видов строились, главным образом, на признаках вегетативных органов и признаках генеративных органов.

В диагностике полыней преимущественно используются следующие признаки вегетативных органов:

- степень опушенности всего растения в целом и отдельных его частей: стебель, лист, обертки, цветоложа;
- размер и характер листовой пластинки, степень ее рассеченности;
- характер жизненной формы и некоторых других признаков;
- анатомо-морфологическое строение вегетативных органов.

Знание внутренней структуры растения имеет большое значение. Анатомия определяет типы структуры, свойственные большим систематическим группам растений. Классификация растений основывается не только на признаках внешнего строения (габитуса), но и на особенностях внутренней структуры. Значение анатомии для систематики растений давно признано, многие спорные вопросы систематики решаются с использованием анатомических особенностей [2-5].

Цель работы: анатомическое изучение вегетативных органов растений рода *Artemisia* L. (*Artemisia absinthium* L., *Artemisia austriaca* Jacq., *Artemisia dracunculus* L., *Artemisia frigida* Willd., *Artemisia sieversiana* Willd., *Artemisia procera* Willd., *Artemisia pontica* L., *Artemisia marschalliana* Spreng.) для выявления диагностически значимых признаков при определении видов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы

Объекты исследования – надземная часть видов растений рода полынь: (*Artemisia absinthium* L., *Artemisia austriaca* Jacq., *Artemisia dracunculus* L., *Artemisia frigida* Willd., *Artemisia sieversiana* Willd., *Artemisia procera* Willd., *Artemisia pontica* L., *Artemisia marschalliana* Spreng.).

Исследование проводились на свежих материалах исследуемых видов, собранных в 2020 году в окрестности города Караганды.

Artemisia absinthium L., *Artemisia austriaca* Jacq., *Artemisia dracunculus* L., *Artemisia frigida* Willd., *Artemisia sieversiana* Willd., *Artemisia procera* Willd., *Artemisia pontica* L. – собраны 27.08.2020 г. в фазе бутонизации (Республика Казахстан, Карагандинская область, Абайский район, окрестности села Спасск).

Artemisia marschalliana Spreng. – собрано 27.08.2020 г. в фазе бутонизации (Республика Казахстан, Карагандинская область, в окрестности города Караганды).

Методы

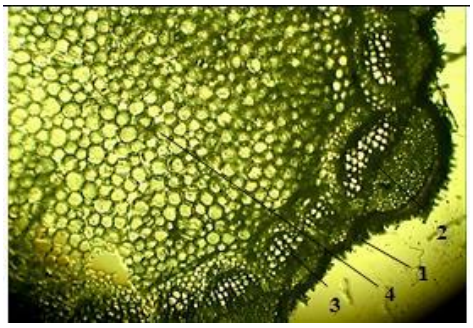
Анатомическое исследование видов полыней проводили согласно методическим указаниям **[6]**.

Сырье размачивали в смеси глицерин: вода: спирт 96% (1:1:1) [6]. Поперечные срезы органов растений подготовлены вручную при помощи микротома на замораживающем устройстве ТОС-2 («Инмедпром», Россия). Толщина анатомических срезов составляла 10-15 мкм. Для просмотра временных препаратов использовали микроскоп Micros Austria с дополнением «microscopy vision», увеличением х200 (на факультете биологии и биотехнологии, в кафедре биоразнообразия и биоресурсов, КазНУ им. Аль-Фараби, г. Алматы). При описании анатомического строения растений пользовались общепринятой терминологией.

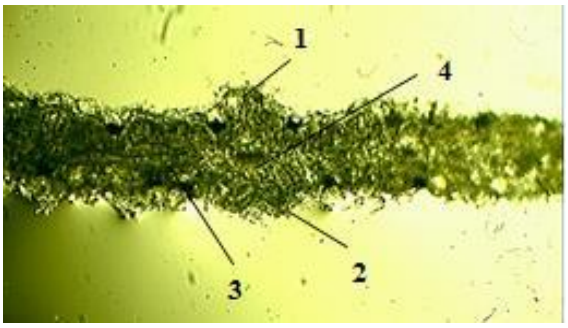
Временные препараты подготовлены по общепринятым методикам ботанических исследований [6].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При микроскопическом исследовании *Artemisia absinthium* L., *Artemisia austriaca* Jacq., *Artemisia dracunculus* L., *Artemisia frigida* Willd., *Artemisia sieversiana* Willd., *Artemisia procera* Willd., *Artemisia pontica* L., *Artemisia marschalliana* Spreng. выявлен ряд отличительных черт анатомического строения, которые представлены на рисунках 1-8.



а

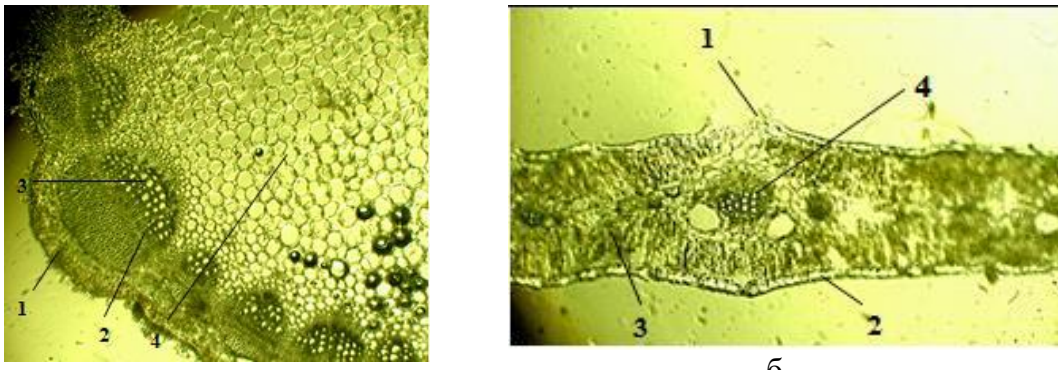


б

Рисунок 1 – Поперечные срезы стебля (а) и листа (б) *Artemisia absinthium* L.
а) стебель: 1 – эпидермис, 2 – флоэма, 3 – ксилема, 4 – сердцевина паренхимы
б) лист: 1 – верхний эпидермис, 2 – нижний эпидермис, 3 – мезофилл, 4 – проводящий пучок

При рассмотрении на поперечном срезе листа *Artemisia absinthium* L. слабо выражены нижние и верхние эпидермисы, по центру один закрытый коллатеральный проводящий пучок, столбчатые мезофиллы. Стебель на поперечном срезе ребристой формы, имеет Т-образные

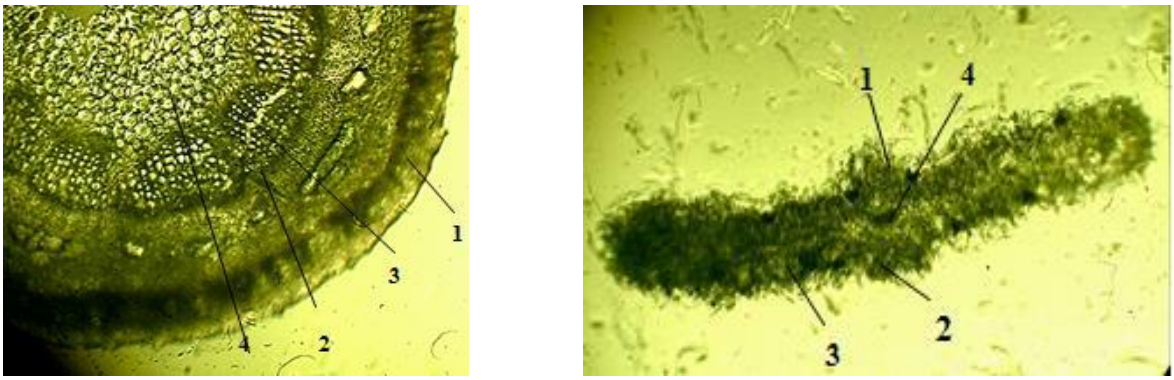
трихомы, которые полностью покрывают эпидермис. Проводящие пучки закрытые коллатеральные, ксилема и флоэма хорошо выражена, вдоль них имеются механические склеренхимные структуры.



а б

Рисунок 2 – Поперечные срезы стебля (а) и листа (б) *Artemisia dracunculus* L.
а) стебель: 1 – эпидермис, 2 – флоэма, 3 – ксилема, 4 – сердцевина паренхимы
б) лист: 1 – верхний эпидермис, 2 – нижний эпидермис, 3 – мезофилл, 4 – проводящий пучок

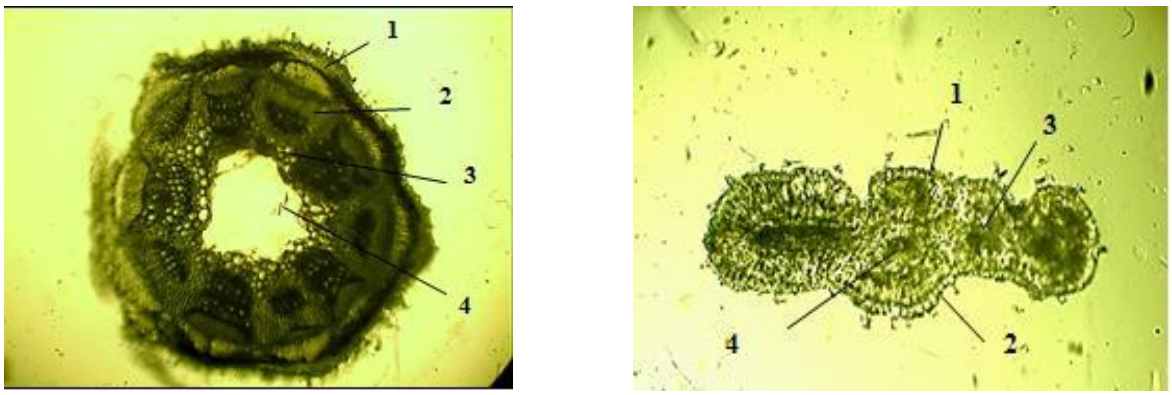
На поперечном срезе листа *Artemisia dracunculus* L. четко выражены нижние и верхние эпидермисы, по всей поверхности листа есть 3 проводящих пучка. Тип строения пучковый, в котором хорошо выражены ксилемные и флоэмные частички, относится к закрытому коллатеральному типу строения. Мезофилл состоит из нескольких рядов палисадных и губчатой паренхимой, тип строения изолатреально-палисадный. Форма поперечного среза стебля ребристая, на внешней стороне эпидермиса имеются немногочисленные волоски. Тип строения пучковый, хорошо выражена ксилема и флоэма, относится к закрытому коллатеральному типу строения.



а б

Рисунок 3 – Поперечные срезы стебля (а) и листа (б) *Artemisia procera* Willd.
а) стебель: 1 – эпидермис, 2 – флоэма, 3 – ксилема, 4 – сердцевина паренхимы
б) лист: 1 – верхний эпидермис, 2 – нижний эпидермис, 3 – мезофилл, 4 – проводящий пучок

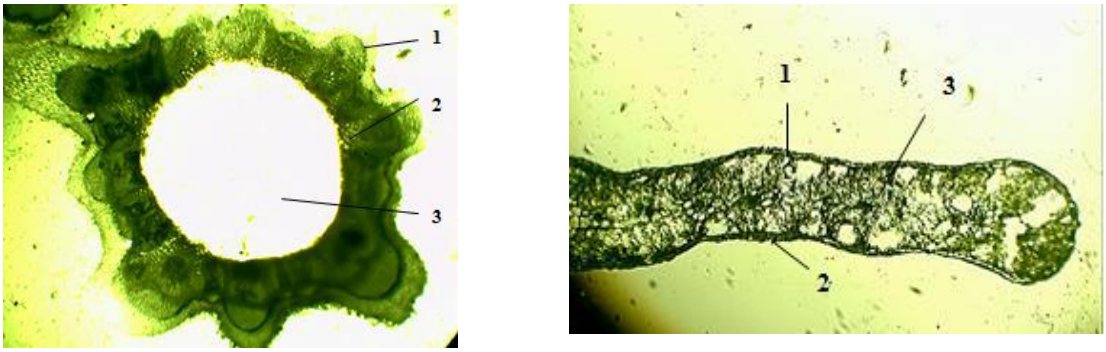
При рассмотрении поперечного среза листа *Artemisia procera* Willd. на поверхности эпидермиса видно сильное опушение. Тип строения мезофилла изогубчатый. Тип строения пучковый. Форма стебля на поперечном срезе округлая. Тип строения пучковый, хорошо выражены цепочные ксилемы и флоэма, относится к закрытому коллатеральному типу строения. Имеются механические структуры.



а б

Рисунок 4 – Поперечные срезы стебля (а) и листа (б) *Artemisia frigida* Willd.
а) стебель: 1 – эпидермис, 2 – флоэма, 3 – ксилема, 4 – полая сердцевина
б) лист: 1 – верхний эпидермис, 2 – нижний эпидермис, 3 – мезофилл, 4 – проводящий пучок

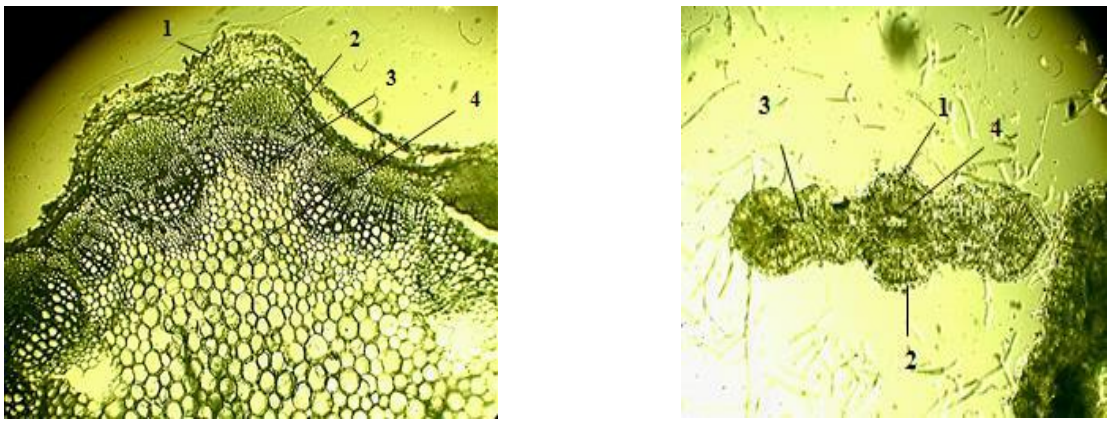
На поперечном срезе листа *Artemisia frigida* Willd. на поверхности эпидермиса видны Т-образные трихомы. Мезофилл состоит из одного или нескольких рядов палисадных клеток, расположенных с обеих сторон губчатой паренхимы. Тип строения изолатерально-палисадный. Проводящий пучок расположен по центру. Форма стебля в поперечном разрезе ребристая. На поверхности стебля имеются Т-образные трихомы. Тип строения пучковый, хорошо выражены ксилема и флоэма, относится к закрытому коллатеральному типу строения. Имеются механические склеренхимные структуры.



а б

Рисунок 5 – Поперечные срезы стебля (а) и листа (б) *Artemisia sieversiana* Willd.
а) стебель: 1 – эпидермис, 2 – ксилема, 3 – полая сердцевина
б) лист: 1 – верхний эпидермис, 2 – нижний эпидермис, 3 – мезофилл

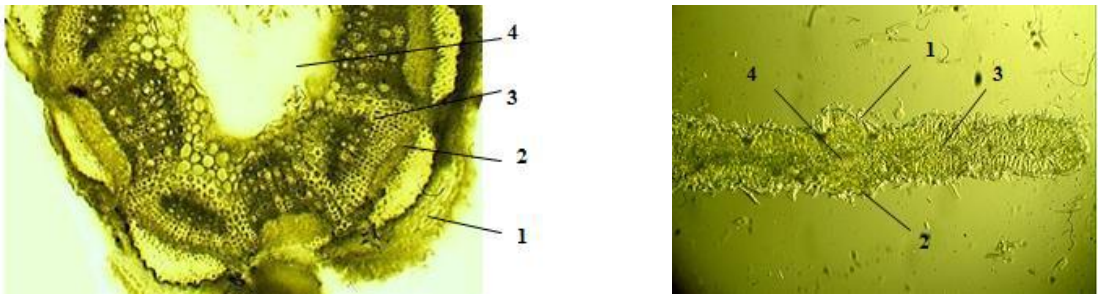
Отличительные признаки поперечного среза листа *Artemisia sieversiana* Willd. – это нижний и верхний эпидермис, который хорошо выражен. Тип строения мезофилла изогубчатый. Тип строения пучковый. Форма поперечного сечения стебля ребристая. На эпидермисе имеются колленхимные механические структуры. Тип строения пучковый, имеются ксилема и флоэма, относится к закрытому коллатеральному типу строения. Сердцевина полая.



а б

Рисунок 6 – Поперечные срезы стебля (а) и листа (б) *Artemisia austriaca* Jacq.
а) стебель: 1 – эпидермис, 2 – флоэма, 3 – ксилема, 4 – сердцевина паренхимы
б) лист: 1 – верхний эпидермис, 2 – нижний эпидермис, 3 – мезофилл, 4 – проводящий пучок

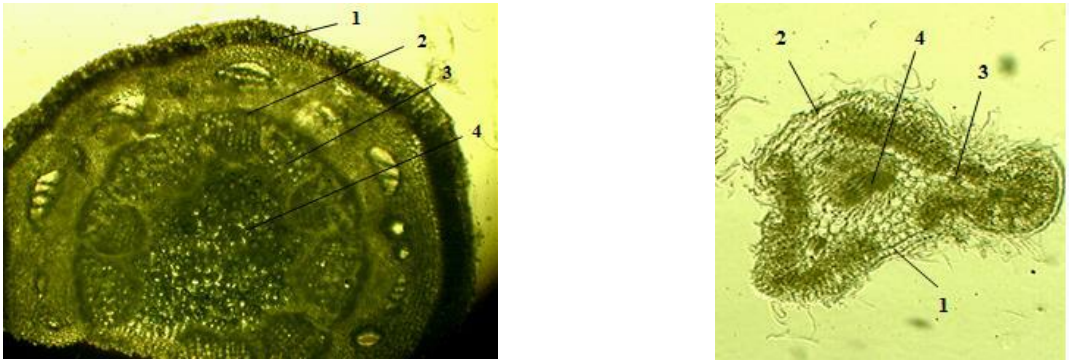
На поверхности эпидермиса поперечного среза листа *Artemisia austriaca* Jacq. видны трихомы. Мезофилл образован только палисадными клетками. Тип строения изопалисадный. Проводящий пучок расположен по центру. Форма в поперечном срезе стебля ребристая. На поверхности стебля имеются трихомы. Тип строения пучковый, имеются ксилема и флоэма, относится к закрытому коллатеральному типу строения. Имеются колленхимные и склеренхимные механические ткани. Сердцевина паренхимы многоклеточная.



а б

Рисунок 7 – Поперечные срезы стебля (а) и листа (б) *Artemisia pontica* L.
а) стебель: 1 – эпидермис, 2 – флоэма, 3 – ксилема, 4 – полая сердцевина
б) лист: 1 – верхний эпидермис, 2 – нижний эпидермис, 3 – мезофилл, 4 – проводящий пучок

На поверхности эпидермиса поперечного среза листа *Artemisia pontica* L. видны Т-образные трихомы. Мезофилл образован только палисадными клетками. Тип строения изопалисадный. Проводящий пучок расположен по центру. В поперечном разрезе стебель ребристой формы. Тип строения пучковый, хорошо выражены ксилема и флоэма, относится к закрытому коллатеральному типу строения. Имеются механические склеренхимные структуры. Сердцевина полая.



а б

Рисунок 8 – Поперечные срезы стебля (а) и листа (б) *Artemisia marschalliana* Spreng.
а) стебель: 1 – эпидермис, 2 – флоэма, 3 – ксилема, 4 – сердцевина
б) лист: 1 – верхний эпидермис, 2 – нижний эпидермис, 3 – мезофилл, 4 – проводящий пучок

При рассмотрении на поперечном срезе листа *Artemisia marschalliana* Spreng. на поверхности эпидермиса видны волоски. Палисадная паренхима одно- или многорядная и расположена на верхней стороне листа, а губчатая – на нижней стороне. Тип строения дорсовентральный. Проводящий пучок расположен по центру. В поперечном сечении стебель округлой формы. Тип строения пучковый, хорошо выражены ксилема и флоэма, относится к закрытому коллатеральному типу строения.

ВЫВОДЫ

Определены анатомические характеристики восьми видов растений подрода *Artemisia* L. При этом установлено, что по анатомическим признакам из-за наличия механических склеренхимных структур в стеблях изучаемые виды схожи. У *Artemisia frigida* Willd., *Artemisia pontica* L., *Artemisia sieversiana* Willd сердцевина полая, тогда как у *Artemisia absinthium* L., *Artemisia dracunculus* L., *Artemisia procera* Willd., *Artemisia austriaca* Jacq., *Artemisia marschalliana* Spreng. сердцевина рыхлая и паренхимная. В изучаемых видах полыни хорошо развитая цепочная ксилема.

Таким образом, определены диагностически значимые признаки внутреннего строения вегетативных органов растений рода *Artemisia* L. (*Artemisia absinthium* L., *Artemisia austriaca* Jacq., *Artemisia dracunculus* L., *Artemisia frigida* Willd., *Artemisia sieversiana* Willd., *Artemisia procera* Willd., *Artemisia pontica* L., *Artemisia marschalliana* Spreng.), которые могут быть применены в качестве характеристик для идентификации данных видов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Павлов, Н. В. Флора Казахстана. Алма-Ата: Наука, 1966. – Т. 9. – С. 76–140.

2. Janackovic, P. Comparative anatomical investigation of five *Artemisia* L. (*Anthemideae, Asteraceae*) species in view of taxonomy / M. Gavrilovic, D. Rancic, Z. Dajic-Stevanovic, Z. Giweli, P. D. Marin // *Braz. J. Bot* . – 2019. – Vol.42. – P**.** 135–147.

3. Сеняк, Е. Н. Изучение анатомических структур некоторых видов полыней Казахстана / М. А. Яговдик, А. И. Ахметжанова // Вестник КарГУ. - 2010. – С. 17-22.

4. Hussain, A. Unveiling the Foliar Epidermal Anatomical Characteristics of Genus *Artemisia* (*Asteraceae*) from Northeast (Gilgit-Baltistan), Pakistan/ M. Q. Hayat, S. Sahreen, S. A. I. Bokhari // International Journal of Agriculture and Biology. – 2019. – Vol.21. – P. 630–638.

5. Hussain, A. The genus *Artemisia* (*Asteraceae*): A review on its ethnomedicinal prominence and taxonomy with emphasis on foliar anatomy, morphology, and molecular phylogeny// Proceedings of the Pakistan Academy of Sciences: B. Life and Environmental Sciences - 2020. - Vol.57. № 1 - P. 1–28.

6. Фурст, Г. Г. Методы анатомо-гистохимического исследования растительных тканей.– Москва: Наука. - 1979. – 154 с.

STUDY OF THE ANATOMICAL STRUCTURES OF SOME SPECIES OF *ARTEMISIA* OF CENTRAL KAZAKHSTAN

Ermekkyzy A., Gabdullin E.M., Shaimerdenova Zh.R.[a], Academician of NAS RK, Doctor of Chemical Sciences, Professor Adekenov S.M.

Joint Stock Company "International Research and Production Holding "Phytochemistry", Republic of Kazakhstan, Karaganda, M. Gazaliev str. 4, 100009

a) corresponding author – info@phyto.kz

Abstract. The aim of this work is to study the anatomical structure of the vegetative organs of eight species of the genus *Artemisia* L. (*Artemisia absinthium* L., *Artemisia austriaca* Jacq., *Artemisia dracunculus* L., *Artemisia frigida* Willd., *Artemisia sieversiana* Willd., *Artemisia procera* Willd., *Artemisia pontica* L., *Artemisia marschalliana* Spreng.). As a result of a comparative microscopic analysis, diagnostic features of the anatomical structure of the stems and leaves of each of the studied species were determined, which differ in the shape of the cross sections and the type of conducting bundles. The studied species of *Artemisia* are similar in terms of the anatomical features of the stem, namely, in the presence of mechanical sclerenchymal structures in it. A distinctive anatomical feature of the leaves of eight species of the genus *Artemisia* L. is the type of structure of the mesophile. The data obtained on the anatomical and diagnostic features of eight species of the genus *Artemisia* L. can be used as additional characteristics in determining the species and standardization of raw materials.
Keywords: *Artemisia* L., *anatomy, distinctive features, sections, conducting bundle, mechanical structures.*

УДК 615.322 DOI: 10.52101/9785870191003_2021_126

ВЛИЯНИЕ МЕТЕОУСЛОВИЙ НА НАКОПЛЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ В ТРАВЕ МАНЖЕТКИ МЯГКОЙ (*ALCHEMILLA MOLLIS*)

Бояршинов В. Д.[a)], к.фарм.н. Зорина Е. В.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Пермь, ул. Екатерининская, д. 101, 614990.

а) автор для переписки – vitaly.boyarschinov@yandex.ru

Аннотация. Субстанции получаемые из травы манжетки оказывают различные фармакологические эффекты и перспективны для внедрения в медицинскую практику. Использование декоративного микровида манжетка мягкая (*Alchemilla mollis* (Buser) Rothm.) позволит решить задачи обеспечения сырьевой базы. Погодные условия оказывают влияние на накопление биологически активных веществ в лекарственном растительном сырье. Настоящее исследование посвящено изучению влияния метеоусловий на содержание основных групп биологически активных веществ в траве манжетки мягкой. Проведён корреляционный анализ содержания основных групп биологически активных веществ в течении пяти лет вегетации и погодных условий. Полученные данные свидетельствуют о влиянии среднего значения минимальных температур на накопление дубильных веществ, флавоноидов, аскорбиновой кислоты и количества выпавших осадков на накопление полисахаридов, флавоноидов, аскорбиновой кислоты. Выявленные закономерности могут быть использованы при создании оптимальных условий культивирования манжетки мягкой.

Ключевые слова: *Манжетка мягкая, Alchemilla mollis, интродукция, погодные условия, биологически активные вещества, химический состав.*

ВВЕДЕНИЕ

Культивирование лекарственных растений является важным аспектом в решении задач обеспечения сырьевой базы. Перспективность использования культивируемого лекарственного растительного сырья подтверждается тем фактом, что фармацевтические компании, специализирующиеся на производстве лекарственных растительных препаратов, успешно развивают выращивание лекарственных растений для нужд своего производства [1]. Это обеспечивает гарантированное качество сырья и выпускаемых препаратов. Для достижения этих потребностей необходимо стандартизовать условия выращивания растений, обеспечивающих оптимальное накопление суммы биологически активных веществ (БАВ).

В связи с этим представляет интерес изучение декоративного вида манжетка мягкая, который акклиматизирован к условиям центральной части России и используется в ландшафтном дизайне. Манжетка мягкая (*Alchemilla mollis* (Buser) Rothm.) – европейский вид из растений рода Манжетка, применяемых в традиционной медицине для лечения гинекологических заболеваний благодаря наличию регенеративных, противовоспалительных и кровоостанавливающих свойств, подтвержденных в исследованиях [2, 3], кроме того, выявлены антибактериальные, противоопухолевые [4] и гепатопротекторные [5] свойства.

Ранее нами показана возможность выращивания манжетки мягкой в условиях Среднего Урала, где она успешно прошла полный сезонный цикл развития вплоть до созревания семян, что является показателем успешной адаптации к новым условиям [6]. Важным этапом в культивировании данного вида было изучить влияние климатических факторов на накопление биологически активных соединений. В исследованиях по интродукции видов манжеток (*A. achtarowii, A. jumrukczalica, A. mollis*), проведённом в Болгарии показано, что климатические факторы (влажность воздуха, температура воздуха) оказывают значительное влияние на развитие растения и накопление БАВ (флавоноиды, дубильные вещества) [7].

Цель настоящей работы изучить взаимосвязь между метеоусловиями и содержанием основных групп БАВ в траве манжетки мягкой (*Alchemilla mollis*)

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы: в качестве объекта исследования использовали образцы травы манжетки мягкой. Манжетку мягкую культивировали в условиях Пермского края, посадочный материал высаживали в дерново-средне-подзолистую тяжелосуглинистую почву в 2013 году, заготовку сырья проводили в фазу массового цветения ежегодно в течение пяти лет. Сырье, заготовленное с одного метра квадратного, принимали за один образец. Ежегодно заготавливали по три образца, содержание БАВ в каждом определяли в двукратной повторности.

Для изучения влияния климатических факторов использовали общедоступные показатели: температура воздуха (минимальная, максимальная, средняя), относительная влажность воздуха, атмосферное давление, количество осадков, средняя скорость ветра [8], для анализа использовали данные погоды за месяцы вегетации до заготовки сырья (май и июнь), рассчитывали средние значения показателей погоды за месяц.

***Методы*:** количественное содержание биологически активных веществ определяли по методикам, предложенным для манжетки обыкновенной [9]: дубильные вещества, определяли методом перманганатометрии, в пересчёте на таннин; органические кислоты методом алкалиметрического титрования; аскорбиновую кислоту титрованием 2,6-дихлорфенолиндофенолятом натрия; полисахариды гравиметрическим методом, флавоноидов определяли методом дифференциальной спектрофотомерии по реакции с раствором алюминия хлорида.

Результаты исследований обрабатывали статистически: оценку нормальности распределения проводили с помощью критерия Шапиро-Уилка, для каждой группы рассчитывали среднее значение и среднеквадратическое отклонение признака, сравнение групп проводили с помощью критерия Манна-Уитни, рассчитывали коэффициент корреляции Спирмана.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Характер накопления БАВ в траве *A. mollis* изучали в течение пяти лет культивирования. Средние значения результатов ежегодного количественного определения основных групп соединений в образцах представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Динамика содержания БАВ в траве манжетки мягкой (*A. mollis*)

Группа БАВ	Год наблюдения				
	2013	2014	2015	2016	2017
Дубильные вещества, %	17,3 ± 2,3	19,4 ± 2,3*	14,9 ± 1,6*	15,5 ± 1,5*	17,6 ± 0,7*
Органические кислоты, %	21 ± 2	22 ± 2	18 ± 2*	19 ± 1	20 ± 2
Аскорбиновая кислота, %	0,09 ± 0,02	0,12 ± 0,01*	0,11 ± 0,01*	0,14 ± 0,02*	0,13 ± 0,03
Полисахариды, %	9,0 ± 1,1	8,2 ± 2,5	7,7 ± 0,7	6,8 ± 2,0	6,4 ± 0,4
Флавоноиды, %	2,9 ± 0,6	4,0 ± 0,5*	3,4 ± 0,4*	4,2 ± 0,8*	3,8 ± 0,2*

*Примечания: * – $p < 0,05$ уровень различий в сравнении с предыдущим годом.*

Ежегодное исследование динамики накопления БАВ показало, что в образцах разных лет заготовки содержание групп веществ достоверно различалось. Наибольшее содержание дубильных веществ и органических кислот наблюдали в образцах 2014 года, в то время как полисахаридов – в 2013, а аскорбиновой кислоты и флавоноидов – в 2016-2017 годах.

Различая в накоплении БАВ между годами, вероятно, связано с возрастными особенностями развития растений и их реакцией на погодные условия. Корреляционный анализ между различными показателями погоды (таблица 2) и содержанием БАВ в образцах различных лет вегетации (таблица 3) показал, что существует взаимосвязь между средней скоростью ветра (м/с) в мае, июне и накоплением дубильных веществ ($k_{май}$ = 0,9 и $k_{июнь}$ = - 0,9) и органических кислот ($k_{май}$ = 0,9 и $k_{июнь}$ = - 0,8); минимальной температурой (ºС) в июне и накоплением дубильных веществ ($k_{июнь}$ = - 0,9); количеством выпавших осадков (мм) в июне и накоплением аскорбиновой кислоты ($k_{июнь}$ = 0,9) и полисахаридов ($k_{июнь}$ = 0,9).

Таблица 2 – Данные метеорологических условий, в периоды наблюдений за манжеткой мягкой (*A. mollis*)

Год	Месяц	Средняя скорость ветра, м/с	Минимальная температура, ºС	Количество выпавших осадков, мм
2013	Май	2,59	4,7	1,2
	Июнь	2,35	12,4	1,4
2014	Май	2,89	7,2	0,6
	Июнь	2,48	10,0	2,7
2015	Май	2,46	6,9	1,7
	Июнь	2,32	13,8	2,0
2016	Май	2,26	5,9	0,3
	Июнь	1,97	10,2	3,1
2017	Май	2,59	2,7	1,4
	Июнь	2,43	10,2	4,5

Таблица 3 – Коэффициенты корреляции между метеорологическими условиями и содержанием БАВ в траве манжетки мягкой (*A. mollis*). Корреляционная матрица.

Группа БАВ	Скорость ветра		Минимальная температура		Количество выпавших осадков	
	Май	Июнь	Май	Июнь	Май	Июнь
Дубильные вещества	**0,9**	**-0,9**	0,0	**-0,9**	-0,3	0,3
Органические кислоты	**0,9**	**-0,8**	0,1	-0,7	-0,4	-0,1
Аскорбиновая кислота	-0,4	-0,2	-0,1	-0,5	-0,5	**0,9**
Полисахариды	0,4	0,2	0,4	0,2	-0,1	**-0,9**
Флавоноиды	-0,2	-0,1	0,3	-0,6	-0,7	0,7

Взаимосвязь в накоплении дубильных веществ и органических кислот (k = 1), обосновываем погрешностью определения, связанной с кислотными свойствами дубильных веществ и определением их в сумме органических кислот. Поэтому особенности накопления дубильных веществ и органических кислот в манжетке мягкой требуют дополнительного исследования.

Высокая корреляция между аскорбиновой кислотой и флавоноидами (k = 0,8) может быть объяснена тем, что данные вещества, являясь частью антиоксидантной системы в растениях [10] совместно накапливаются при адаптации к изменениям климатических факторов. Данное

предположение подтверждается выявленной зависимостью их накопления от среднего значения температур и количества осадков в период вегетации.

Обратную взаимосвязь в накоплении аскорбиновой кислоты и полисахаридов (k = -0,8) можно обосновать возрастными особенностями биохимических процессов в растении, что подтверждается установленным влиянием года вегетации на накопление аскорбиновой кислоты и полисахаридов k = 0,8 и k = -1 соответственно.

ВЫВОДЫ

Накопление БАВ в траве манжетки мягкой (*A. mollis)* достоверно взаимосвязано с метеорологическими условиями места произрастания. Повышение средней скорости ветра в мае и снижение в июне коррелирует с повышением накопления дубильных веществ и органических кислот. Повышение минимальных температур в июне имеет отрицательную взаимосвязь с накоплением дубильных веществ. Повышение суммы выпавших осадков в июне связано с повышенным накоплением аскорбиновой кислоты и сниженным – полисахаридов. Не выявлено взаимосвязи между метеорологическими условиями и накоплением флавоноидов. Выявленные закономерности могут быть использованы при создании оптимальных условий культивирования манжетки мягкой.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ончул, Л. Современные подходы к назначению фитопрепаратов. // Здоровье ребенка. – 2016. – 3 (71). 117-120.
2. Akkol, E. K. Phytochemical analyses and effects of Alchemilla mollis (buser) rothm. and Alchemilla persica rothm. in rat endometriosis model. / E. K. Akkol, M. A. Demirel, O. B. Acıkara, I. Süntar, B. Ergene, M. Ilhan, S. Ozbilgin, G. Saltan, H. Keles, M. Tekin // Archives of Gynecology and Obstetrics – 2015. – 292(3). – 619-628.
3. Öz B. E. Effects of Alchemilla mollis and Alchemilla persica on the wound healing process. / B. E. Öz, M. Ilhan, S. Özbilgin, E. K. Akkol, Ö. B. Acıkara, G. Saltan, H. Keleş, Sentar I. // Bangladesh J. Pharmacol. – 2016. – 11. – 577-584.
4. Мурин, И. И. Оценка влияния препаратов растительного происхождения на процесс рецидивирования злокачественных опухолей / И.И. Мурин, В.М. Баева, Козлов А.М. // Изыскание и создание природных лекарственных средств: Межвузовский сборник научных трудов с международным участием, посвященный 25-летию кафедры фармакогнозии и ботаники Ярос.гос.мед.академии. – Ярославль, 2009. – 210-213.
5. Ozbeka, H. Evaluation of hepatoprotective and antidiabetic activity of Alchemilla mollis / H. Ozbeka, O B. Acikarab., I. Keskinc, N. I. Kirmizid, S. Ozbilginb, B. E. Ozb, E. Kurtulb, B. C. Ozrenkd, M. Tekine, G. Saltan // Biomedicine & Pharmacotherapy. – 2017 – 86. – 172–176.
6. Зорина, Е. В. Первичная интродукция Манжетки мягкой *Alchemilla mollis* / Е. В. Зорина, В. Д. Бояршинов // Вестник ПГФА. – 2018. – №22. – 143-144.
7. Vitkova, A. Cultivation of high antioxidant activity Alchemilla spp. (Rosaceae) for sustainable use / A. Vitkova, A. Gavrilova, M. Delcheva, A. Trendafilova, M Todorova // Journal of Applied Horticulture. – 2013. – 15(3). – 166-172.
8. Сайт Погода и Климат – on-line справочник, раздел архивы погоды: [Электронный ресурс] //. URL: http://www.pogodaiklimat.ru (Дата обращения: 02.04.2021).
9. Зорина, Е. В. «Фармакогностическое изучение видов рода Alchemella L. Пермского края», 15.00.02. – фармацевтическая химия, фармакогнозия. Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук. Пермь – 2009. – 21 с.
10. Загоскина, Н. В. Активные формы кислорода и антиоксидантная система растений / Н. В. Загоскина, Л. В. Назаренко // Вестник московского городского педагогического университета. Серия: естественные науки. – 2016. – № 2 (22). – 9-23.

INFLUENCE OF WEATHER CONDITIONS ON THE ACCUMULATION OF BIOLOGICALLY ACTIVE COMPOUNDS IN THE HERB OF *ALCHEMILLA MOLLIS*

Boiarshinov V. D.[a], Ph.D. in Parmacy Zorina E. V.
Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Perm State Pharmaceutical Academy" of the Ministry of Health of the Russian Federation, Perm, Ekaterininskaia st., 101, 614990
a) corresponding author – vitaly.boyarschinov@yandex.ru

Abstract. Substances obtained from herb of Alchemilla have various pharmacological effects and are promising for introduction into medical practice. The use of a decorative micro-type *Alchemilla mollis* will solve the problem of providing a raw material base. Weather conditions affect the accumulation of biologically active substances in medicinal plant materials. This study is devoted to the study of the influence of meteorological conditions on the content of the main groups of biologically active substances in the herb of *Alchemilla mollis*. Correlation analysis of the content of the main groups of biologically active substances during five years of vegetation and weather conditions has been carried out. The data obtained indicate the influence of the average value of the minimum temperatures on the accumulation of tannins, flavonoids, ascorbic acid and the amount of precipitation on the accumulation of polysaccharides, flavonoids, ascorbic acid. The revealed patterns can be used to create optimal conditions for the cultivation of *Alchemilla mollis*.
Keywords: *Alchemilla mollis, lady's-mantle, introduction, biologically active substances environmental factors, chemical composition*
.

УДК: 633.88 DOI: 10.52101/9785870191003_2021_131

РАЗРАБОТКА МЕТОДОВ КРИОКОНСЕРВАЦИИ СЕМЕННОГО МАТЕРИАЛА ПОДОРОЖНИКА СРЕДНЕГО

ассоциированный профессор, к.б.н. Ишмуратова М. Ю.[а],
доцент, к.б.н. Тлеукенова С.У.

НАО «Карагандинский университет имени академика Е.А. Букетова», Казахстан, г. Караганда, ул. Университетская, 28, корпус 3, 100028
а) автор для переписки – margarita.ishmur@mail.ru

Аннотация. В статье приведены итоги исследования условий криоконсервации семян подорожника среднего. Результаты показали, что семенной материал в процессе хранения теряет всхожесть, после 3-х лет хранения показатели падают с 54,2 до 18,6 %. Лучшим вариантом 2-ступенчатое замораживание семян в жидком азоте является применение пластиковых криопробирок, влажность семян – 5%, размораживание проводить при комнатной температуре. Применение криопротекторов позволяет повысить жизнеспособность семян подорожника среднего, лучшим вариантом является применение ДМСО в концентрации 10%. Таким образом, итоги экспериментов показали, что хранение семян в жидком азоте позволяет сохранить показатели всхожести и энергии прорастания семян подорожника среднего. Полученные данные использованы для введения семян данного вида в криобанк лекарственных растений.

Ключевые слова: *Plantago media*, лекарственное растение, семенной материал, криоконсервация, криопротектор, всхожесть, энергия прорастания

ВВЕДЕНИЕ

Сохранение генетических ресурсов хозяйственно-ценных видов растений имеет важное практическое значение в свете выполнения положений Конвенции о биологическом разнообразии (1992). Многие виды лекарственных растений сокращают свое распространение в природе, что связано с усилением антропогенного фактора. Поэтому возникает необходимость создания криобанка семенного материала, позволяющего сохранить ценный материал для потенциального использования [1].

Растения из семейства *Plantaginaceae* отличаются широким ареалом распространения, широкой экологической амплитудой и ценными лекарственными свойствами [2]. В Государственную Фармакопею Республики Казахстан [3] включен подорожник большой (*Plantago major* L.), тогда как наиболее распространенным видом в природных условиях является подорожник средний (*Plantago media* L.).

Данный вид содержит в своих надземных органах полисахариды, липиды, клетчатку, флавоноиды, органические кислоты, гликозиды и минеральные вещества [4, 5]. Листья и плоды подорожника среднего проявляют антиоксидантную, антивирусную, противовоспалительную, гепатопротекторную, ранозаживляющую и другие виды активности [6, 7].

Исходя из вышесказанного, целью нашей работы являлось – оптимизировать методы криоконсервации семян подорожника среднего.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы

Объектами исследования являлся семенной материал подорожника среднего (*Plantago media* L., *Plantaginaceae*), собранный на территории Государственного национального природного парка «Буйратау», филиал Белодымовский (Осакаровский район Карагандинской области). Место отбора образцов – остепненный луг в окрестностях ущелья Караагаш

(51.00528 с.ш., 73,29327 в.д., 420 м над уровнем моря). Дата отбора – 3 декада августа 2019 г., фаза – массового плодоношения.

Методы

Семенной материал делили на партии, оценивали всхожесть свежесобранных семян и после высушивания. Определение влажности семян осуществляли при помощи влагомера OHAUS (Япония). В эксперименте использовали семена с влажностью 5, 8 и 12%. Семена замораживали в 3-х видах тары: пластиковые криопробирки, металлические контейнеры и пакетики из фольги.

Без применения криопротекторов семена замораживали в жидком азоте в 2-х вариантах: 1) шоковая; 2) 2-ступенчатая [8, 9]. В качестве криопротекторов использовали различные концентрации глюкозы, глицерина, сахароза и ДМСО. Исследование всхожести и энергии прорастания семян осуществляли по методическим указаниям [10]. Проращивание осуществляли на чашках Петри на 2-слойной фильтровальной бумаге; при температуре +24ºС при 12-часовом освещении в климатической камере.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Семена подорожника в процессе хранения в холодильнике (+5ºС) в бумажной таре постепенно теряют свою всхожесть. Так, через год всхожесть составила – 38,8 %, через 2 – 22,0 %; 3 года - 18,6 % (таблица 1).

Таблица 1 - Всхожесть и энергия прорастания семян подорожника среднего в зависимости от времени хранения

№	Срок хранения	Всхожесть, %	Энергия прорастания, %
1	Свежесобранные семена	54,2±2,2	50,5±1,6
2	1 месяц	54,0±2,0	44,7±2,1
3	2 месяца	46,5±2,4	45,1±1,0
4	6 месяцев	40,5±1,0	31,4±0,6
5	12 месяцев	38,8±1,0	36,6±0,8
6	18 месяцев	31,4±0,3	30,4±0,8
7	24 месяца	22,0±0,5	13,7±0,2
8	36 месяцев	18,6±0,04	13,4±0,02

Как мы видим, хранение в холодильнике оказалось не эффективным, поэтому нами проведена оценка замораживания семян в жидком азоте. На первом этапе мы производили замораживание без криопротекторов с использованием 3-х видов тары – пластиковые пробирки, мешочки из фольги и железные контейнеры. Контролем служили семена с годичным сроком хранения (таблица 2).

Таблица 2 - Всхожесть и энергия прорастания семян подорожника среднего в зависимости от вида используемой тары при криоконсервации

Вариант опыта	Всхожесть, %	Энергия прорастания, %
Контроль	38,1±1,0	36,6±0,8
Заморозка в пластиковой таре	81,3±1,8	70,0±1,6
Заморозка в таре из фольги	68,8±1,5	41,6±0,9
Заморозка в железной таре	35,4±0,6	30,1±0,4

Семена без криоконсервации имели всхожесть 38,1 % и энергию прорастания 36,6 %, при применении пластиковой тары всхожесть повысилась в 2,5 раза, энергия прорастания в 1,9 раза. В таре из фольги данные показатели были значительно ниже – 68,8 и 41,6 %. Самые

низкие показатели всхожести и энергии прорастания были получены при применении железной тары – 35,4 и 30,1 % соответственно, что ниже контрольных значений.

Наши результаты показали, что 2 тары (фольга и пластик) показали результаты всхожести и энергии прорастания на 43 и 30 % выше контроля, то есть их использование эффективно. Железная тара дала результаты всхожести ниже контроля. Таким образом, лучшей тарой для криоконсервации семян подорожника среднего является пластиковая.

Для оценки необходимой влажности для криоконсервации семян подорожника среднего нами были проанализированы 3 варианта семян с разной влажностью – 12; 8 и 5% (таблица 3).

Таблица 3 - Влияние влажности семян подорожника среднего на всхожесть и энергию прорастания после криоконсервации

Влажность, %	Всхожесть, %	Энергия прорастания, %
12	55,4±1,2	45,0±1,0
8	68,9±2,2	55,4±2,1
5	81,3±1,8	70,0±1,6

Таким образом, при криоконсервации семенного материала подорожника семена необходимо высушивать до 5 % влажности.

Мы провели сравнительную оценку 2-х способов заморозки – шоковая путем погружения в жидкий азот и 2-ступенчатая – с предварительным охлаждением в морозильной камере (таблица 4).

Таблица 4 - Всхожесть и энергия прорастания семенного материала подорожника среднего после разных способах замораживания в жидком азоте

Вариант опыта	Всхожесть, %	Энергия прорастания, %
Шоковая заморозка	81,3±2,8	75,4±1,9
2-ступенчатая заморозка	85,5±3,0	80,0±2,6

Лучшие показатели получены в варианте с 2-ступенчатой заморозкой – 85,5 %, тогда как шоковая дала - 81,3 %. Поскольку условия разморозки также играют большую роль, мы проанализировали 2 способа – быстрое размораживание на водяной бане и медленное – при комнатной температуре (таблица 5).

Таблица 5 - Всхожесть и энергия прорастания семян подорожника среднего при различных способах размораживания после заморозки в жидком азоте

Вариант опыта	Способ размораживания	Всхожесть, %	Энергия прорастания %
Контроль (без заморозки)	-	38,1±1,0	36,6±0,8
Заморозка в пластиковой таре	Быстрое	55,1±1,6	40,0±1,4
	Медленное	81,3±1,8	70,0±1,6
Заморозка в таре из фольги	Быстрое	58,5±2,2	40,8±1,2
	Медленное	68,8±1,5	41,6±0,9

На последнем этапе экспериментов нами проведена оценка влияния криопротекторов. Полученные результаты свидетельствуют, что всхожесть семенного материала подорожника среднего была разной на фоне криопротекторов (таблица 6).

Таблица 6 - Влияние криопротекторов на всхожесть и энергию прорастания семян подорожника среднего после криоконсервации

Вид и концентрация криопротектора	Всхожесть, %	Энергия прорастания, %
Контроль (без криопротекторов)	81,3±1,8	70,0±1,6
Глюкоза 10 %	80,2±3,4	65,8±1,7
Глюкоза 20 %	74,6±2,4	66,4±1,8
Глюкоза 40 %	50,8±2,0	48,6±0,9
Сахароза 10 %	82,0±3,0	70,4±2,4
Сахароза 20 %	84,2±3,5	75,0±1,5
Сахароза 40 %	65,8±2,2	54,0±1,5
Глицерин 10 %	75,2±2,4	70,0±2,0
Глицерин 20 %	78,6±2,4	75,4±1,5
Глицерин 40 %	60,3±2,1	58,4±2,2
ДМСО 10 %	86,0±2,3	75,4±2,1
ДМСО 20 %	77,0±2,1	68,5±1,5
ДМСО 40 %	48,6±2,2	40,1±0,4

ВЫВОДЫ

По результатам работы можно сделать следующие выводы:

1 При хранении семян подорожника среднего отмечено постепенное снижение всхожести.

2 Замораживание семян подорожника среднего в жидком азоте позволило сохранить жизнеспособность семенного материала. Наилучшим вариантом заморозки является замораживание в пластиковой таре.

3 Лучшие результаты выживаемости семян отмечены при 2-ступенчатой заморозка и медленном размораживании при комнатной температуре.

4 Лучшим вариантом является замораживание семенного материала подорожника среднего с влажностью не выше 5%.

5 Использование отдельных смесей криопротекторов позволило повысить результаты всхожести и энергии прорастания семян подорожника среднего при криозамораживании. Наилучшие результаты получены в варианте применения ДМСО в концентрации 10 %.

Результаты экспериментов использованы для введения семенного материала в крио коллекцию лекарственных растений.

БЛАГОДАРНОСТИ

Исследования выполнены при финансовой поддержке грантового проекта Комитета науки Министерства образования и науки Республики Казахстан – AP09259548.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1 Chen, S.-L. Conservation and sustainable use of medicinal plants: problems, progress and prospects / S.-L. Chen, H.-M. Luo, Q. Wu, C.-F. Li, A. Steinmetz // Chinese Medicine. – 2016. – Vol. 11 (37). – P. 2-10. https://doi.org/10.1186/s13020-016-0108-7

2 Грудзинская, Л.М. Аннотированный список лекарственных растений Казахстана: Справочное издание / Л.М. Грудзинская, Н.Г. Гемеджиева, Н.В. Нелина, Ж.Ж. Каржаубекова. – Алматы, 2014. – 200 с.

3 Государственная Фармакопея Республики Казахстан. ТТ. 1-3. – Астана, 2008-2014.

4 Гребенкина, Т.М. Липиды листьев *Plantago media* (L.) / Т.М. Гребенкина, В.Н. Нестерова, О.А. Розенцвет, Е.С. Богданова // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2011. – Т. 13, № 5. – С. 130-133.

5 Fierascu, R.C. *Plantago media* L. – explored and potential application of an underutilized plant / R.C. Fierascu, I. Fierascu, A. Ortan, A. Paunescu // Plants. – 2021. – Vol. 265, Issue 10 (2). https://doi.org/10.3390/plants10020265

6 Khortetska, T.V. Mycostatic activity of extracts from leaves of *Plantago media* L. and *Plantago altissima* L. / T.V. Khortetska, H.P. Smoilovska, O.K. Yerenko, O.O. Maliuhina, O.V. Mazulin // Химия растительного сырья. – 2020. - № 3. – С. 299-303.

7 Соснина, С.А. Фитохимический и микробиологический анализ настоев листьев различных видов рода *Plantago* L. / С.А. Соснина, В.Ф. Левинова, Т.Ф. Одегова, В.Д. Бояршинов, А.В. Шаров // Современные проблемы науки и образования. – 2013. - № 3. – С. 359-365.

8 Додонова, А.Ш. Рекомендации по криоконсервации семенного материала лекарственных и эндемичных видов растений (справочное издание) / А.Ш. Додонова, Е.А. Гаврилькова, М.Ю. Ишмуратова, С.У. Тлеукенова. - Караганда: ТОО Полиграфист, 2017. - 76 с.

9 Sakai, A. Development of cryopreservation techniques / A. Sakai // Cryopreservation of tropical plant germplasm. Current research progress and application. – Rome, 2000. – 215 p.

10 Зорина М.С. Определение семенной продуктивности и качества семян интродуцентов / М.С. Зорина, С.П. Кабанов // Методики интродукционных исследований в Казахстане. - Алма-Ата: Наука, 1986. - С. 75-85.

DEVELOPMENT OF METHODS OF CRYIPRESERVATION OF SEED MATERIALS OF *PLANTAGO MEDIA*

associated professor, PhD in Biology Ishmuratova M. Yu.[a],
docent, PhD in Biology Tleukenova S.U.
Non-Commercial JSC «E.A. Buketov Karaganda University», Kazakhstan, Karaganda city, Universitetskaya street, 28, campus 3, 100028
a) corresponding author – margarita.ishmur@mail.ru

Abstract. The article presents the results of study cryopreservation of seed materials of *Plantago media*. The results showed that seed material lost germination during storage, so, after 3 years of storage, the indicators fell from 54.2 to 18.6%. The best option was the following: 2-stage freezing of seeds in liquid nitrogen, use of plastic cryotubes, the humidity of the seeds 5%, defrosting at the room temperature. The use of cryoprotectors increased the viability of *Plantago media*'s seeds, the best option is the use of DMSO in a concentration of 10%. Thus, the results of the experiments showed that the storage of seeds in liquid nitrogen allowed maintaining the germination and energy of germination of *Plantago media*'s seeds. Obtained data are used for introduction of seeds of this species into cryobank of medicinal plants.

Key words: *Plantago media*, medicinal plant, seed material, cryopreservation cryoprotector, germination, energy of germination

УДК 633.88:631.52(571.6) DOI: 10.52101/9785870191003_2021_136

СОСТОЯНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ СЕЛЕКЦИИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ НА ДАЛЬНЕМ ВОСТОКЕ

к. с.-х. н. Живчикова Р. И[1], к. с.-х. н. Живчиков А. И.[2], Волошина Т. А.[1,a)]

1 – Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный научный центр агробиотехнологий Дальнего Востока им. А.К. Чайки», Россия, г. Уссурийск, п. Тимирязевский, ул. Воложенина, 30, 692539

2 – Краеведческий научно-исследовательский институт Учебно-научного музея Школы гуманитарных наук Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Дальневосточный федеральный университет», Россия, г. Владивосток, Океанский пр., 37, 690091

а) автор для переписки – miss.voloshina@mail.ru

Аннотация. Кратко излагается история изучения лекарственных растений, современное состояние и перспективы лекарственного растениеводства на Дальнем Востоке России. Рассмотрены результаты собственных исследований по интродукции и селекции отдельных видов местной флоры, заносных широко известных и новых, предлагаемых к использованию. Указаны методы селекции, используемые при создании сортов. Дается авторское описание новых сортов: эхинацеи Приморская пурпурная, мыльнянки лекарственной Зорька и перспективного сорта девясила высокого Маяк. Приводится характеристика сортов по основным хозяйственно ценным показателям: продуктивность лекарственного сырья, содержание в нем основных биологически активных веществ, репродукционная способность девясила высокого, устойчивость к абиотическим стрессам и др. Даны библиографические ссылки на разработанные авторами практические рекомендации по сортовой агротехнике выращивания эхинацеи и девясила. Новые сорта пригодны для промышленного возделывания и представляют интерес для развития фармацевтического растениеводства.

Ключевые слова: *лекарственные растения, интродукция, селекция, культивирование, сорта, эхинацея «Приморская пурпурная», мыльнянка «Зорька», девясил «Маяк».*

ВВЕДЕНИЕ

Основной сырьевой базой лекарственных растений на Дальнем Востоке остаются природные популяции, произрастающие в динамических экосистемах. Здесь, по современным данным, из общего объема автохтонной флоры в 4400 видов и подвидов, насчитывается до 1100 растений, обладающих терапевтической ценностью [1]. Большинство таких видов находится под угрозой исчезновения. Нерациональная хозяйственная деятельность человека, а также бесконтрольная заготовка редких лекарственных растений (лимонника, женьшеня, элеутерококка, заманихи, аралии, бархата, диморфанта, отдельных видов пиона и др.), привели к тому, что ценнейшие виды дальневосточной флоры находятся в группе возможных потерь уже в недалекое время.

Истощение природных ресурсов ценных в фармакопейном отношении растений прогрессирует, особенно в южной части макрорегиона России, где большинство их и произрастает. Поэтому требуется принять меры по сохранению эндемиков, интродукции и введению в культуру как можно больше новых видов лекарственных растений, перевести их возделывание на промышленную основу. Возможность и важность такой работы предоставляет сама природа.

Важнейшим направлением нашей современной работы является формирование, на основе генофонда дикорастущих и культивируемых видов лекарственных растений, сырьевых и репродуктивных питомников с интродукционным изучением, а также отбор из популяций

селекционного материала для создания новых высокопродуктивных сортов, адаптированных к условиям Приморского края.

Интродукция лекарственных растений имеет свои особенности, так как в большинстве своем объектами являются дикорастущие растения, которые плохо поддаются окультуриванию. Поэтому важно, чтобы вводимые в культуру виды были всесторонне изучены, отобраны популяции и формы ценные по продуктивности, содержанию биологически активных веществ. Для них необходимо разработать индивидуальные приемы размножения и выращивания [2, 3]. Особенно трудно работать с эндемичными растениями узкого ареала, из-за чего их называют «неудобные в культуре». В этой связи исследования должны проводиться в родовых комплексах с целью поиска видов, имеющих такой же класс биологических активных соединений и, в то же время, неприхотливых в культуре и обладающих сходными показателями хозяйственно-ценных признаков.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы. По результатам предварительного изучения коллекционного материала лекарственных растений в условиях Приморского края выделен ряд ценных, способных дополнить видовой набор и сырьевую базу местной лекарственной флоры. В число объектов дальнейшей интродукционной и селекционной работы были включены эхинацея пурпурная, девясил высокий, мыльнянка лекарственная.

Питомники размещали в селекционном севообороте питомниководческого участка. Почвы буро-отбеленные суглинистые, содержание гумуса – 3,5 %, $N_{лг}$ – 76, P_2O_5 – 45, K_2O – 117 мг/кг, pH – 5,1. Посадка и посев проводились широкорядным способом (70 см) в ранневесенние и летние сроки.

Методы. В начале изучения внимание обращалось на изменение их реакции на био и абиострессоры при перемещении из одной экосистемы в другую, из биоценоза в агроценоз. Затем учитывались такие показатели, как продуктивность, содержание биологически активных веществ, возможность культивирования и реинтродукции, репродукционная способность. На всех этапах изучения отдельных видов (в коллекционном питомнике, репродукционном, агротехнологическом) проводились отборы: индивидуальный, семейно-групповой, массовый, негативный.

В качестве методического руководства в работе использовались рекомендации по проведению интродукционных исследований и полевых опытов с лекарственными растениями, разработанные во Всероссийском научно-исследовательском институте лекарственных и ароматических растений (ВИЛАР) [4].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Дальневосточная история научных исследований по окультуриванию заносных и аборигенных видов лекарственных растений насчитывает около 80 лет. Начиналась она в ДВ отделении АН СССР с изучения биологических особенностей, фармакологических свойств, сырьевых ресурсов особо ценных представителей семейства аралиевых. В то время стояла задача освоения природных богатств. Затем последовало создание опорного пункта и зональной опытной станции ВИЛАР, специализированного хозяйства «Женьшень» от Министерства медицинской промышленности, где проводились исследования с широким набором растений. В их числе были – кирказон ломоносовидный, воробейник краснокорневой, ландыш майский и ландыш Кейске, пион белоцветковый, аралия высокая, элеутерококк колючий, бархат амурский и, конечно, женьшень настоящий. Особое внимание отводилось селекции и семеноводству женьшеня, защите его от болезней, совершенствовались и внедрялись технологии его выращивания. Проводились НИР по введению в культуру мяты перечной, ромашки аптечной и других фармакопейных растений. Экспедиционными обследованиями оценивались запасы редких и исчезающих видов. В начале 90-х годов станция была преобразована в акционерное общество, которое постепенно свернуло работу, в

результате чего научные исследования прекратились и лекарственное растениеводство, как отрасль АПК на Дальнем Востоке, перестало существовать.

В настоящее время исследования по интродукции и разработке технологий возделывания лекарственных растений возобновились, но в гораздо меньших объемах. В основном они проводятся на Приморской плодово-ягодной опытной станции – филиале ФГБНУ «ФНЦ агробиотехнологий Дальнего Востока им. А.К. Чайки». Небольшой коллектив опытной станции совместно с сотрудниками Дальневосточного федерального университета создал коллекционный питомник, который постоянно возобновляется и пополняется новыми видами. Здесь находится около 100 видов однолетних и многолетних интродуцентов и представителей местной лекарственной флоры. Основное внимание уделяется изучению зимостойкости растений при перемещении из одной экосистемы в другую, из биоценоза в агроценоз. Также учитываются такие показатели, как продуктивность, репродукционная способность, содержание биологически активных веществ, устойчивость к болезням и вредителям, возможность культивирования и реинтродукции исчезающих видов с целью усиления природных популяций.

Многолетними наблюдениями (1993-2020 гг.) установлено, что перспективными для полевого возделывания в зоне Дальнего Востока признаны около 30 видов лекарственных растений. Это, прежде всего, растения местной флоры, в числе которых: элеутерококк колючий, бархат амурский, кодонопсис ланцетный, секуринега полукустарниковая, акантопанакс сидячецветковый, полынь Сиверса, воробейник краснокорневой, клопогон даурский, виды пиона, бадан тихоокеанский, родиола розовая (золотой корень). А также заносные виды такие как: девясил высокий, мыльнянка лекарственная, десмодиум канадский, пижма обыкновенная, пустырник сердечный и др.

За предварительным испытанием коллекционных образцов последовало интродукционное изучение выделившихся образцов, которое предполагало исследования по возможности введения их в культуру. Для своеобразных почвенно-климатический условий Дальневосточного региона потребовались многократные индивидуальные, семейно-групповые, массовые отборы, селектирование.

В результате целенаправленного искусственного отбора созданы селекционные популяции эхинацеи пурпурной, мыльнянки лекарственной, девясила высокого, адаптированные к условиям южной зоны Приморского края. На их основе созданы сорта, которые вошли в Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию.

***Эхинацея пурпурная* (*Echinacea purpurea* Moench.).** В Госреестр с 2013 г включен сорт эхинацеи Приморская пурпурная (авторское свидетельство № 60955 от 20.12.2013 г.) [5]. Эхинацея – мощнейший иммуностимулятор и адаптоген с комплексом других ценных свойств, она технологична при выращивании и продуктивна, имеет широкий спектр применения. Общий вид посева эхинацеи пурпурной в стадии массового цветения представлен на Рисунке 1.

Сорт выведен методом индивидуального и семейно-группового отбора из образца ВИЛАР, районирован во всех зонах РФ в качестве лекарственной, кормовой, медоносной, декоративной культуры. Характеризуется высокой семенной продуктивностью, зимостойкостью, устойчивостью к засухе, болезням и вредителям.

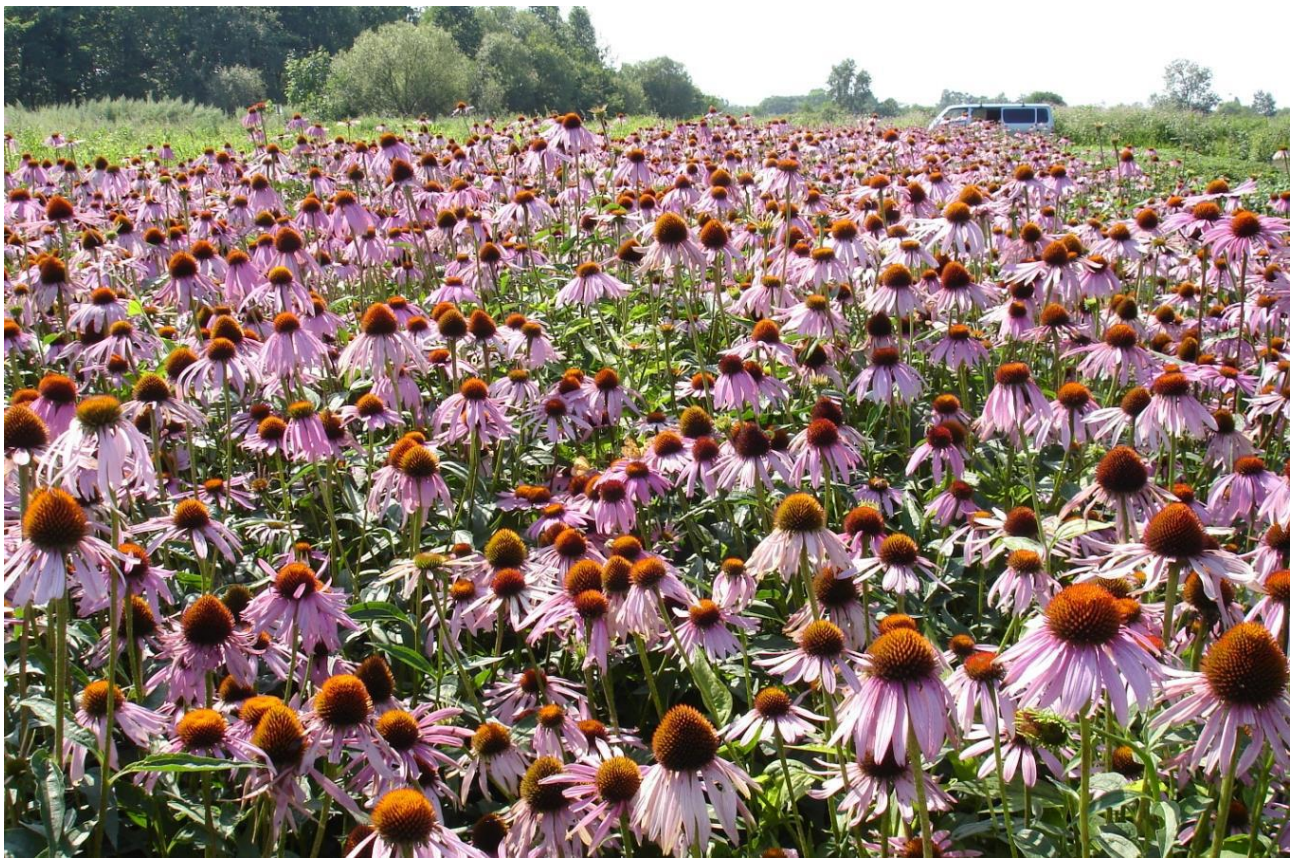


Рисунок 1 – Питомник сортосохранения эхинацеи сорта Приморская пурпурная

Растение высокорослое (80-150 см), стебли жесткие, прямостоячие, от 2 до 6 в кусте, антоциановые в нижней части, маловетвистые в верхней трети. Прикорневые листья темно-зеленые крупные (длиной 17-30 и шириной 8-15 см), черешковые с оттянутой верхушкой, стеблевые имеют меньший размер, редкие, почти сидячие. Соцветия крупные одиночные корзинки, от 4 до 8 см в диаметре. Краевые язычковые цветки пурпуровые, поникающие, срединные – трубчатые коричневые, на выпуклом цветоложе. Растение эхинацеи сорта Приморская пурпурная представлено на Рисунке 2.

По результатам испытания этого сорта в производственных условиях разработаны рекомендации по выращиванию и заготовке лекарственного сырья эхинацеи на промышленных плантациях и приусадебных участках [6].

Период вегетации от начала весеннего отрастания до созревания семян – 140-160 дней. Масса 1000 семян – 3,5-4,5 г. Содержание эфирных масел в цветках – до 0,5 %. Продуктивность растений эхинацеи данного сорта сохраняется в течение 3-4 лет. Урожайность семян двулетней плантации за сезон составляет 1,5-2,0 ц/га, средний выход сухого растительного сырья (травы с корнями) 2,5-3 т/га.

Рисунок 2 – Растение эхинацеи сорта Приморская пурпурная

Мыльнянка лекарственная **(*Saponaria officinalis* L.).** В связи с возрастающими требованиями к натурализации продукции, возник дефицит природных эмульгаторов для пищевой и косметической промышленности. В коллекционном питомнике была выделена и подробно изучена в Приморье мыльнянка лекарственная в качестве источника сапонинсодержащего сырья [7, 8].

В естественных местообитаниях были отобраны и испытаны две разновидности мыльнянки – дикорастущая с простой формой цветка и культивируемая с махровой. Сорт Зорька имеет простое строение цветка. Выведен методом многократного клонового отбора с последующим негативным отбором. Включен в Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию, с 2017 г.

Сорт характеризуется высокими адаптивными качествами, урожайностью, способностью к размножению семенным и вегетативным способами. Его корневая масса пригодна для получения поверхностно-активных веществ (сапонинов) в промышленном масштабе. Также можно использовать как декоративную и почвопокровную культуру. Общий вид поля мыльнянки лекарственной в фазе полного цветения представлен на Рисунке 3.

Рисунок 3 – Питомник сортосохранения мыльнянки лекарственной сорта Зорька

Растение многолетнее с длинными ползучими ветвистыми корневищами и тонкими корнями в узлах. Снаружи корневище красно-бурое, на изломе – желтовато-белое. Стебли многочисленные (15-25 шт.), прямостоячие высотой 60-80 см. Листья супротивные широколанцетные, имеют три продольные выступающие жилки. Цветки душистые розовые, простые, на верхушках стеблей образуют щитковидно-метельчатое соцветие. Семена мелкие, шаровидно-почковидные, черные, бородавчатые. Вегетационный период от начала отрастания весной до созревания семян – 120-125 дней. Полного развития достигает на 3 год жизни. В этот период содержание сапонинов в корнях – 25-30 %, урожайность сухих корней вместе с корневищами – 2,0-2,5 т/га. Однолетнее растение мыльнянки лекарственной сорта Зорька представлено на Рисунке 4.

Рисунок 4 – Однолетнее растение мыльнянки лекарственной сорта Зорька

***Девясил высокий* (*Inula helenium* L.).** Девясил высокий представлен в дальневосточной флоре как заносное растение, встречается одиночно или в одичавших микрозарослях. Многолетние наблюдения показали его инвазионную безопасность.

Девясил высокий – один из немногих многолетних интродуцентов, способных адаптироваться к экстремальным условиям, которые возникают в условиях дальневосточного региона. Перезимовка его растений варьирует от 95 до 100 %. Именно благодаря этому качеству он является надежной культурой, перспективной для введения в культуру. Практический опыт показал, что его можно успешно культивировать на специальных плантациях для размножения и получения сырья в промышленных объемах. Сезонный ритм

его развития полностью соответствует вегетационному периоду Приморья. Климатические условия региона способствуют интенсивному приросту и наступлению оптимальной сырьевой фазы уже на второй год после посадки однолетних сеянцев. Масса сырых корней одного растения в этот период составляет 340-570 г.

В настоящее время завершен сбор экспериментальных данных и в 2021 г. планируется оформление документов для передачи в Госкомиссию и включение в реестр нового сорта девясила высокого Маяк.

Сорт выведен методом многократного массового отбора из дикорастущего интродуцированного образца. Характеризуется высокой зимостойкостью, устойчивостью к вредителям и болезням. Растения мощные, высокорослые, 150-250 см. Общий вид посадки сорта Маяк представлен на Рисунке 5.

Рисунок 5 – Питомник сортосохранения девясила высокого сорта Маяк в фазе полного цветения

Используемая часть – мощное многоглавое корневище темно-бурое сверху и желтоватое на изломе с отходящими малочисленными, но толстыми мясистыми и длинными корнями. Корни своеобразно душистые.

Стебель прямостоячий, вверху маловетвистый, от 1 до 5 штук в кусте, в зависимости от возраста. Листья вверху морщинистые, прикорневые – черешковые, очень крупные (до 55 см в длину и 25 см в ширину). Стеблевые листья продолговато-эллиптические, сизо-зеленые, жестковолосистые сверху. Соцветия крупные корзинки диаметром 5-10 см на толстых цветоносах с лучистыми золотисто-желтыми язычковыми и трубчатыми срединными цветками. Соцветия образуют короткую редкую кисть. Плоды – гладкие четырехгранные семянки-летучки, мелкие, масса 1 тысячи – 1,0-1,5 г. Семенная продуктивность высокая: одно взрослое растение дает 3,0-4,5 тысячи семян.

Вегетационный период от начала отрастания до созревания семян 130-150 дней. Урожайность воздушно-сухого сырья (корневище с корнями) – 15-25 ц/га. Основные биологически активные вещества корней: инулин – 40 % и эфирное (алантовое) масло – 3%. Применяется в фармакологии, а также в качестве пищевых добавок.

По результатам испытания девясила высокого сорта Маяк в производственных условиях разработаны рекомендации по выращиванию и заготовке лекарственного сырья на промышленных плантациях и приусадебных участках [9].

ВЫВОДЫ

Почвенно-климатические условия Дальнего Востока со сравнительно благоприятной экологической обстановкой, позволяют выращивать лекарственные растения не только местной флоры, но и культивируемые в европейской части России и за рубежом. Наши многолетние исследования доказывают, что в данной зоне лекарственное растениеводство может успешно развиваться и стать основой местного современного фармацевтического производства не только на естественной сырьевой базе, но и на базе получения сырья с культивируемых плантаций аборигенных и интродуцируемых видов, снижая сырьевую нагрузку на заросли уникальных дикоросов. Это подтверждается успешной интродукцией и созданием сортов таких, как эхинацея «Приморская пурпурная», мыльнянка лекарственная «Зорька», девясил высокий «Маяк».

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Фруентов, Н. К. Лекарственные растения Дальнего Востока / Н.К.Фруентов. – 3-е изд., расшир. и доп. – Хабаровск : Кн. изд-во, 1987. – 352 с.
2. Лекарственные растения как объект исследований в научных организациях РФ / Л. Н. Зайко, В. Ю. Масляков, Н. И. Сидельников, С. Н. Бударин // Биологические особенности лекарственных и ароматических растений и их роль в медицине : сб. науч. тр. Междунар. науч.-практич. конф., посвящ. 85-летию ВИЛАР, Москва, 23-25 июня 2016 г. – М. : Щербинская типография, 2016. – С. 66-68.
3. Губанов, А.Г. Коллекционное изучение видов лекарственных растений в условиях Северного Зауралья, вопросы интродукции и акклиматизации // Успехи современного естествознания. – 2016. – № 12. – С. 74-78.
4. Методика исследований при интродукции лекарственных растений / Н.И. Майсурадзе, В.П. Киселев, О.А. Черкасов и др. : обзор. информ. – М. : ВИЛАР, 1984. – 34 с. – (Лекарственное растениеводство. Вып. 3).
5. Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию. Т. 1. – М., 2020. – 679 с.
6. Живчикова, Р.И. Эхинацея пурпурная: рекомендации по выращиванию и заготовке лекарственного сырья на промышленных плантациях и приусадебных участках Дальнего Востока / Р.И. Живчикова, А.И. Живчиков. – Владивосток : Изд-во Дальневост. ун-та, 2006. – 12 с.
7. Живчикова, Р.И. Интродукция мыльнянки лекарственной *Saponaria officinalis* L. в Приморском крае / Р.И. Живчикова, А.И. Живчиков. – Вестник ДВО РАН. – 2017. – № 3. – С. 15-21.
8. Клочкова, И.С. Исследование процессов получения сапонинов из корней *Saponaria officinalis* L. // Научные труды Дальневосточного государственного технического рыбохозяйственного университета. – Владивосток : Изд-во Дальневост. гос. технич. рыбохозяйств. ун-та, 2011. – № 24. – С. 141-145.
9. Живчиков, А.И. Девясил на Дальнем Востоке : рекомендации по выращиванию и заготовке лекарственного сырья на промышленных плантациях и приусадебных участках / А.И. Живчиков, Р.И. Живчикова. – Владивосток : Изд-во Дальневост. ун-та, 2010. – 28 с.

STATE AND PROSPECTS OF MEDICINAL PLANTS BREEDING IN THE FAR EAST

Zhivchikova R. I.[1], PhD (agr. sci.), Zhivchikov A. I[2], PhD (agr. sci.), Voloshina T. A.[a)]

1 – Federal State Budget Scientific Institution "Federal Scientific Center of Agricultural Biotechnology of the Far East named after A. K. Chaika", 692539, 30 Volozhenin Street, Timiryazevsky stl., Ussuriysk, Russia

2. – Local History Research Institute of the Educational and Scientific Museum of the School of Humanities of the Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education "Far Eastern Federal University", 37 Okeansky Prospekt, Vladivostok, Russia

a) corresponding author – miss.voloshina@mail.ru

Abstract. The article summarizes the history of the study of medicinal plants in the Russian Far East. The results of the author's research on the introduction and selection of certain species of local flora, widely known and new introduced for use, are presented. The article briefly describes new varieties of echinacea Primirskaya Purpurnaya, soapweed Zarya, and Mayak, a perspective variety of horse-heal, created at the Primorskaya Fruit and Berry Station - a branch of the Federal State Budgetary Scientific Institution "Federal Scientific Center of Agricultural Biotechnology of the Far East named after A. K. Chaika". The methods of breeding, biological characteristics and the content of the main biologically active substances in the raw material are indicated. The list of references contains bibliographic references to the recommendations developed by the authors on varietal agricultural techniques for growing echinacea and horse-heal.

Keywords: *medicinal plants, introduction, selection, cultivation, varieties,* echinacea *Primorskaya Purpurnaya*, soapweed Zarya, *horse-heal Mayak.*

УДК 582.929.4:631.529 (477.75) DOI: 10.52101/9785870191003_2021_146

ORTHOSIPHON ARISTATUS (BLUME) MIQ. В КОЛЛЕКЦИИ НИКИТСКОГО БОТАНИЧЕСКОГО САДА

Коростылев А. А., Логвиненко Л. А., д.б.н. Шевчук О. М.

Никитский ботанический сад – Национальный научный центр РАН, Республика Крым, г. Ялта, пгт. Никита, 298648

а) автор для переписки – andkor92@mail.ru

Аннотация. Приведены данные о первичном интродукционном изучении *Orthosiphon aristatus* (Blume) Miq. – ценного тропического лекарственного растения в условиях Южного берега Крыма с целью оценки адаптивного потенциала и перспективности культивирования. Установлено, что ортосифон тычиночный может возделываться в условиях ЮБК с начала мая до конца октября в качестве однолетней культуры на фоне обязательного искусственного полива. При переходе среднесуточных температур через отметку ниже +10ºС растения переносят в теплицу для сохранения в зимний период. Ортосифон тычиночный характеризуется высокой степенью укоренения черенков из различных частей побегов 1-го и 2-го порядка (84-96%). Вегетационный период (с момента высадки саженцев в открытый грунт до их выкопки и пересадки в теплицу) составляет 131-148 дней. За это время растения вступают в фазу массового цветения и достигают 50,6 см ± 5,1 см в высоту. Первичное интродукционное изучение ортосифона тычиночного в условиях ЮБК показало, что вид является перспективным лекарственным растением, в связи с чем, дальнейшие исследования, направленные на получение данных о специфике роста и развития растений, особенностях размножения, изменчивости химического состава и продуктивности надземной массы, как основных хозяйственно ценных признаков, предполагается продолжить.

Ключевые слова: *интродукция, Orthosiphon aristatus* (Blume) Miq.*, Южный берег Крыма, растительное лекарственное сырье*

ВВЕДЕНИЕ

Сухой субтропический климат средиземноморского типа Южного берега Крыма (ЮБК) позволяет привлекать и изучать разнообразие ароматических и лекарственных растений, в том числе субтропических и тропических видов. Интродукция и введение в культуру фармакопейных лекарственных растений является важнейшим направлением современного развития отрасли лекарственного растениеводства, позволяющая спрогнозировать выход и качество лекарственного сырья. Особую ценность представляют теплолюбивые виды, для выращивания которых климатические условия ограничены в нашей стране территориально.

Orthosiphon aristatus (Blume) Miq. – ортосифон тычиночный, или почечный чай – это многолетний травянистый полукустарник, ценное тропическое растение восточно-азиатской флоры. Ареалом вида является экваториальная зона Юго-Восточной Азии (Индонезия, Малайзия, Австралия). Данные о лечебных свойствах почечного чая были указаны в народной медицине малайцев, которые применяли отвар из листьев как диуретическое средство. В Европе ортосифон тычиночный начали использовать как лекарственное растение с начала 20-го века [1].

Лекарственным сырьем почечного чая являются собранные в течение вегетации и высушенные листья и верхушки побегов. Листья изломанные, реже цельные, частично скрученные, короткочерешковые. Пластинка листа ромбовидно-эллиптическая или продолговато-яйцевидная, на верхушке заостренная, у основания клиновидная, в верхней части крупнопильчатая, у основания цельнокрайняя, сверху голая, снизу по жилкам с редкими волосками. По всей пластинке листа встречаются точечные железки (под лупой). Стебли четырехгранные толщиной до 2,5 мм, длиной до 120 мм. Верхушки побегов с супротивными

листьями. Цвет листьев зеленый, серовато-зеленый или фиолетово-коричневый; стеблей – зеленовато-коричневый, фиолетово-коричневый, на изломе желтовато-белый. Запах слабый. Вкус водного извлечения слабо-горьковатый, слегка вяжущий [2].

Лекарственное сырье *Orthosiphon aristatus* обладает противовоспалительной, антиоксидантной, гепатопротекторной, противоопухолевой, антигипертензивной, нефропротекторной, жаропонижающей, антибактериальной, антидиабетической и мочегонной активностью. Настой из листьев ортосифона тычиночного применяют при заболеваниях почек, сопровождающихся отеками, альбуминурией и образованием почечных камней; при циститах, уретритах, подагре, сердечных заболеваниях с наличием отеков, диабете, а также холециститах и желчнокаменной болезни. Целебные свойства обусловлены наличием комплекса химических веществ. В листьях и побегах содержится большое количество тритерпеновых сапонинов, гликозид, который придает настоям горького вяжущего вкуса, под названием ортосифонин, органические кислоты (розмариновая, лимонная, винная, фенолкарбоновая). Кроме того, в состав входят алкалоиды, флавоноиды, дубильные вещества, липиды, эфирное масло, танин, минеральные соли калия, кальция, меди, магния, железа, цинка и других химических элементов [3].

На территории бывшего СССР *O. aristatus* был интродуцирован в субтропические районы Грузии в 1939 г. Но лишь в 1954 г. данный вид стал выращиваться в промышленных масштабах в условиях влажных субтропиков (Абхазия и Аджария). В настоящее время ортосифон тычиночный включен в Государственную фармакопею Российской Федерации, но сведений о введении данного вида в культуру в условия сухих субтропиков ЮБК нет.

Учитывая условия ЮБК, с его продолжительным безморозным периодом, и опыт выращивания данной культуры в республиках Закавказья, проводятся интродукционные исследования в Никитском ботаническом саду. На основании изучения особенностей роста и развития и оценки адаптивного потенциала целью наших исследований является определение перспективности возделывания данной культуры в условиях ЮБК.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы

Объект исследования – *Orthosiphon aristatus* (Blume) Miq., полученный по обмену из Пятигорского ботанического сада в 2014 г. Интродукционный номер: № 17915. В Никитском ботаническом саду (НБС) *Orthosiphon aristatus* изучается с 2015 г. Методом индивидуального отбора выделены высокопродуктивные маточные растения, которые были вегетативно размножены и высажены в условия открытого и закрытого грунта.

Методы

Особенности развития и фенологические наблюдения изучали согласно методикам, принятым в отделе новых ароматических и лекарственных растений НБС [4]. Исследования проводились в 2019-2020 гг. на базе лаборатории ароматических и лекарственных растений НБС, расположенного на ЮБК в зоне сухих субтропиков средиземноморского климата. Район характеризуется продолжительным безморозным периодом – 251 день. Среднегодовая температура составляет 12,4°С, среднее годовое количество осадков – 589 мм. При этом абсолютный минимум – -13…-15°С, абсолютный максимум – +39°С. Лето на ЮБК, в основном, засушливое. Осадки преобладают в осенний и зимний периоды [5].

Статистическая обработка данных проводилась согласно общепринятым методикам с использованием компьютерной программы Microsoft Excel 2010.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Культура *Orthosiphon aristatus* имеет ряд особенностей, связанных с происхождением вида. Условия естественного ареала отличаются высокой влажностью воздуха (свыше 4000 мм годовых осадков) и высокой среднегодовой температурой воздуха (24,3-25,3°С) при отсутствии морозного периода. В естественных условиях произрастания ортосифон

тычиночный – многолетний, сильноветвистый вечнозеленый полукустарник. В качестве лекарственного сырья используется верхушечная часть побегов – флеши, урожайность которых составляет около 1,5 т/га. В условиях влажных субтропиков Закавказья ортосифон культивировался по типу однолетнего растения с урожайностью облиственных побегов до 0,8 т/га. Кроме того, особенности генеративной сферы, определяющие нерегулярность плодоношения, позволяют размножать почечный чай, главным образом, вегетативно – путем черенкования зеленых побегов, что приводит в итоге к истощению наследственного потенциала растения. По данным Закавказской опытной станции ВИЛАР (1959 г.) в условиях интродукции систематический отбор наиболее продуктивных форм для размножения обеспечивает прибавку урожая сухого листа до 29% [6].

А Б

Рисунок 1 - А – Растения *Orthosiphon aristatus* в открытом грунте в период массового цветения; Б – Растения *Orthosiphon aristatus* в закрытом грунте в период массового цветения

При выращивании в культуре ЮБК *Orthosiphon aristatus* оптимальным сроком высадки саженцев в открытый грунт является 1-2 декада мая. Первые бутоны появляются в середине – конце июля, период массового цветения приходится на конец августа – начало сентября. Стебли четырехгранные, с фиолетово окрашенными узлами. Листья длиной до 10 см, шириной – 1,5-4 см, короткочерешковые, супротивные, эллиптической или ромбовидно-эллиптической и широколанцетовидной формы с оттянутой верхушкой и клиновидным основанием, неравномерно крупнозубчатые по краям, по жилкам короткоопушенные. Цветки двугубые, бледно-фиолетовые. Плод представляет собой ценобий.

Биология данной культуры такова, что даже в условиях естественного ареала почечный чай обильно цветет, но редко и мало плодоносит. Плоды опадают до фазы их созревания. Высота кустов достигает 150 см, тогда как в условиях интродукции открытого грунта ЮБК растения формируют надземную массу не выше 50,6 см ± 5,1 см, закрытого – 58,1 см ± 7,21 см. Внешний вид растений в период массового цветения в условиях открытого и закрытого грунта представлен на Рисунке 1 и Рисунке 2 соответственно. Данный вид лекарственного растения имеет огромное преимущество перед многими другими видами за счет способности к быстрому вегетативному размножению, позволяющему не только обеспечить гарантированный объем посадочного материала, но и сохранить все хозяйственно-ценные свойства растений.

В условиях ЮБК вегетативное потомство, полученное от высокопродуктивной формы, выделенной по признакам мощности развития и высокой продуктивности зеленой массы, по результатам наших исследований обладает высокой интенсивностью корнеобразования.

Тропические интродуценты очень требовательны к теплу, влаге, почвенному плодородию, освещенности и другим средообразующим условиям. Среди них основными нерегулируемыми лимитирующими факторами для *Orthosiphon aristatus* в условиях ЮБК являются теплообеспеченность и освещенность не менее 10 часов. При интродукции в условия ЮБК основным показателем интегрирования всех физиологических функций и взаимодействия растений с внешней средой является рост и развитие почечного чая.

По результатам интродукционной оценки почечный чай имеет относительно невысокую требовательность к условиям полевой культуры. Установлено, что в условиях закрытого грунта ЮБК растения не только активно растут и развиваются, но и в течение одного сезона вступают в фазу плодоношения.

По скорости увеличения линейных размеров растений была изучена активность ростовых процессов на протяжении всего периода вегетации. Результаты представлены на Рисунке 2.

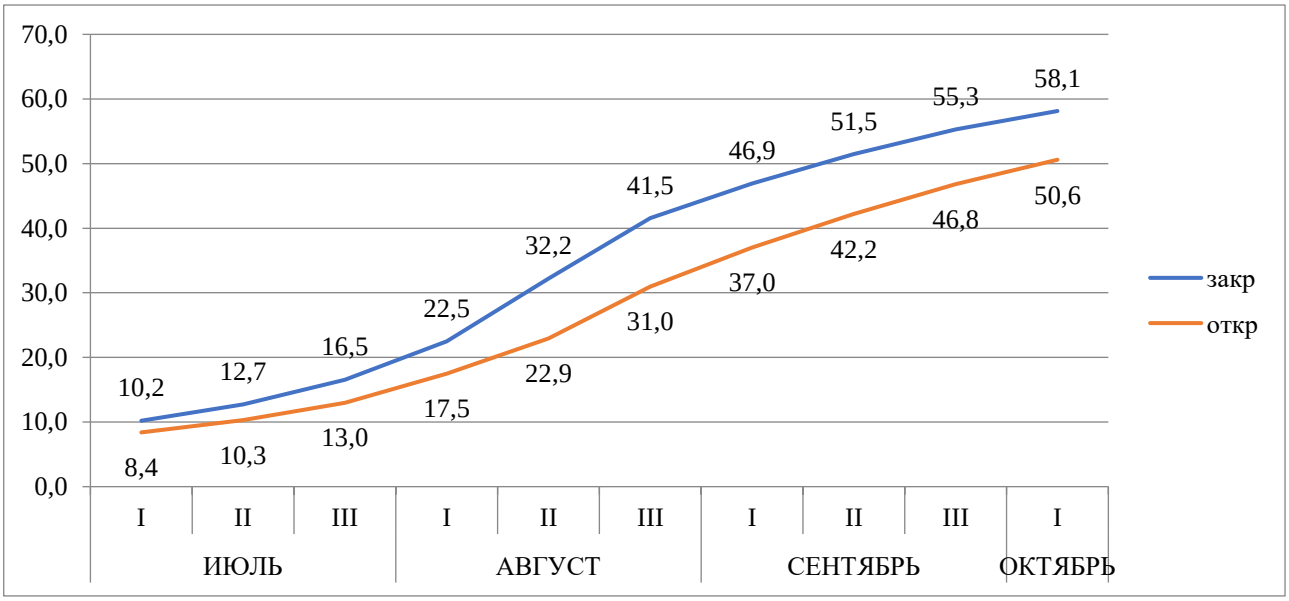


Рисунок 2 – Сезонный ритм развития *Orthosiphon aristatus* в условиях ЮБК открытого и закрытого грунта (2019-2020 гг.)

Индивидуальное развитие вегетативного потомства в условиях полевого опыта ЮБК и закрытого грунта характеризуется непрерывным линейным ростом, начиная с первой декады июля по третью декаду октября. Максимальные темпы развития почечного чая отмечены в закрытом грунте с начала и по конец августа, составляя 0,95 см/сутки, в открытом грунте – со второй по третью декады, составляя 0,81 см/сутки. С конца августа линейный рост растений снижается до 0,52-0,54 см/сутки и различий в интенсивности роста при разных условиях выращивания не наблюдалось. В начале ноября данный показатель составил всего 0,32-0,35 см/сутки. К этому периоду средняя высота растений достигает 58,1 см в условиях закрытого грунта и 50,6 см в условиях открытого. Влияние условий выращивания на основные биометрические показатели представлены в Таблице 1.

Таблица 1 – Биометрические параметры растений *Orthosiphon aristatus* в зависимости от условий культивирования (2019-2020 гг.)

№	Параметры	Условия выращивания	
		Закрытый грунт	Открытый грунт
1	Высота растений, см	58,1±7,2	50,6±5,1
2	Диаметр растений, см	77,0±14,2	70,6±12,2
3	Толщина корневой шейки, см	8,0±1,6	8,4±1,3

4	Количество побегов 1-го порядка, шт.	4,6±0,9	6,7±1,7
5	Длина побегов первого порядка, см	50,7±5,6	45,5±3,1
6	Выход свежесобранной надземной массы, г/растение	74,0±28,5	164,5±58,0

Установлено, что в условиях открытого грунта наблюдается тенденция к утолщению корневой шейки, обуславливающая адаптивный потенциал вида. Растения как в условиях полевого опыта ЮБК, так и закрытого грунта проходят основные фазы развития. За один вегетационный период почечный чай формирует надземную массу с хорошо развитыми побегами 1-го порядка, максимальная длина которых составила 50,7 см ± 5,6 см в закрытом грунте. В открытом грунте наблюдалось увеличение их количества, что в конечном итоге повлияло на урожайность. Несмотря на несущественные различия по биометрическим показателям растений, выход свежесобранной надземной массы в условиях открытого грунта составил 164,5 г ± 58,0 г с растения и был достоверно больше (P≤0,05), чем с закрытого грунта – 74,0 г ± 28,5 г. Вегетационный период *Orthosiphon aristatus* в условиях ЮБК составляет 131-148 дней. Ортосифон тычиночный характеризуется высокой способностью стеблевых черенков к ризогенезу. Так у маточных растений, выращенных в условиях ЮБК при ранневесенних сроках черенкования (март), укореняемость составила 84-96 %.

По результатам первичного интродукционного изучения установлено, что *Orthosiphon aristatus* в условиях полевой культуры ЮБК развивается по типу однолетней, а в условиях закрытого грунта сохраняет свою жизненную форму.

ВЫВОДЫ

1. Первичное интродукционное изучение *Orthosiphon aristatus* показало, что в условиях ЮБК период вегетации вида составляет 131-148 дней.
2. Максимальные темпы развития почечного чая отмечены в закрытом грунте с начала и по конец августа, составляя 0,95 см/сутки, и со второй по третью декады – в открытом, составляя 0,81 см/сутки.
3. К концу вегетационного периода растения в открытом грунте достигают 50,6 см ± 5,1 см в высоту и 70,6 см ± 12,2 см в диаметре. В закрытом грунте высота и диаметр растений составляют 58,1 см ± 7,2 см и 77,0 см ± 14,2 см соответственно.
4. Несмотря на несущественные различия по биометрическим показателям растений, выход свежесобранной надземной массы в условиях открытого грунта составил 164,5 г ± 58,0 г с растения и был достоверно выше (P≤0,05), чем с закрытого грунта – 74,0 г ± 28,5 г.
5. *O. aristatus* относится к легкоукоряемым растениям и характеризуется высокой способностью стеблевых черенков к ризогенезу – 84-96 %. Оптимальным сроком высадки саженцев в открытый грунт ЮБК является 1-2 декада мая.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Mukesh, K. Singh A Review of the Medicinal Plants of Genus Orthosiphon (Lamiaceae) / Mukesh K. Singh, Bina Gidwani, Anshita Gupta, Hemant Dhongade, Pranita P. Kashyap and D.K. Tripathi A // International Journal of Biological Chemistry 9(6): 318-331, 2015
DOI: 10.3923/ijbc.2015.318.331

2. ФС.2.5.0088.18 Ортосифона тычиночного (почечного чая) листья // Государственная фармакопея Российской Федерации XIV (4): 6305-6310, 2018

3. Zili Guo, Xianrui Liang Qualitative and quantitative analysis on the chemical constituents in Orthosiphon stamineus Benth. using ultra high-performance liquid chromatography coupled with electrospray ionization tandem mass spectrometry / Zili Guo, Xianrui Liang, Yuanyuan Xie // Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis (164): 135-147, 2019
DOI: 10.1016/j.jpba.2018.10.023

4. Исиков, В.П. Интродукция и селекция ароматических и лекарственных культур: методологические и методические аспекты / В.П. Исиков, В.Д. Работягов, Л.А. Хлыпенко, И.Е. Логвиненко, Л.А. Логвиненко, С.П. Кутько, Н.Н. Бакова, Н.В. Марко. – Ялта. НБС-ННЦ, 2009. – 110 с.

5. Плугатарь, Ю.В. Экологический мониторинг Южного берега Крым / Ю.В. Плугатарь, С.П. Корсакова, О.А. Ильницкий. – Симферополь: ИТ «АРИАЛ», 2015 – 164 с.

6. Самир, С.С. Биология почечного чая (Orthosiphon stamineus Benth.) в условиях Ташкентского оазиса: автореферат дис. ... кандидата биологических наук: 03.00.05. – Ташкент, 1995. – 27 с.

ORTHOSIPHONARISTATUS (BLUME) MIQ. IN THE COLLECTION OF THE NIKITSKY BOTANICAL GARDEN

Korostylev A.A., Logvinenko L.A., D. Sc. in Biology Shevchuk O.M.

Nikita Botanical Gardens – National Science Centerof the RAS, Republic of Crimea, Yalta, town of Nikita, 298648

a) corresponding author –andkor92@mail.ru

Abstract. The data on the primary introduction study of *Orthosiphon aristatus* (Blume) Miq. – a valuable tropical medicinal plant in the conditions of the Southern coast of the Crimea in order to assess the adaptive potential and prospects of cultivation are presented. It has been established that orthosiphon staminate can be cultivated in the conditions of the SCC from the beginning of May to the end of October as an annual crop against the background of mandatory artificial irrigation. When the average daily temperature passes through the mark below +10^{o}C, the plants are transferred to the greenhouse to preserve in winter. Orthosiphon staminate is characterized by a high degree of rooting of cuttings from various parts of shoots of the 1st and 2nd order (84-96%). The growing season (from the moment of planting seedlings in the open ground until they are dug up and transplanted into the greenhouse) is 131-148 days. During this time, the plants enter the phase of mass flowering and reach 50,6 cm ± 5,1 cm in height. The primary introduction study of the stamen orthosiphon in the conditions of the SCC showed that the species is a promising medicinal plant, and therefore, further research aimed at obtaining data on the specifics of plant growth and development, reproduction features, variability of the chemical composition and productivity of the aboveground mass, as the main economically valuable characteristics, is expected to continue.

Keywords: *introduction, Orthosiphon aristatus* (Blume) Miq., *Southern coast of Crimea, herbal medicinal raw materials*

УДК: 581.6:615.322:633.88 DOI: 10.52101/9785870191003_2021_152

ЛЕКАРСТВЕННЫЕ РАСТЕНИЯ В КАЧЕСТВЕ ИСТОЧНИКОВ ГЕРОПРОТЕКТОРОВ

к.б.н., Кухарева Л. В., к.б.н. Попов Е. Г., Гиль Т. В.[a)], Кот А. А.

Государственное научное учреждение «Центральный ботанический сад НАН Беларуси», Беларусь, г. Минск, ул. Сурганова 2В, 220012

а) автор для переписки – T.Gill@cbg.org.by

Аннотация. В Центральном ботаническом саду Национальной академии наук Беларуси коллекция лекарственных растений насчитывает более 500 видов, относящихся к 56 семействам. Скрининг их биохимического состава выявил у представителей *Lamiaceae* перспективные сорта с высоким содержанием биологически активных веществ различной терапевтической направленности. Методом высокоэффективной жидкостной хроматографии проведена их оценка на наличие компонентов геропротекторного действия, что позволило выделить особо ценные – иссоп лекарственный (*Hyssopus officinalis* L. сорт Лазурит) и многоколосник морщинистый (*Agastache rugosa* Fisch. et Mey., сорт Коралл) в которых идентифицированы значимые для профилактики старения соединения (маррубиин; флавоноиды; эмодин; олеаноловая, розмариновая, урсоловая, хлорогеновая кислоты и др.), что показывает перспективность их использования для создания неогаленовых препаратов, повышающих качество жизни в зрелом возрасте.

Ключевые слова: *лекарственные растения, иссоп лекарственный, многоколосник морщинистый, биологически активные вещества, геропротекторы*.

ВВЕДЕНИЕ

Лекарственные растения исторически явились основой для формирования одного из направлений фундаментальной (поисковой) научно-исследовательской работы над созданием терапевтических средств и медицинских препаратов.

В составе отечественной и зарубежных фармакопей насчитывается огромное число лекарственных средств из растений, препараты которых широко используются при различных заболеваниях. Употребляя их, человек получает комплекс веществ, влияющих на организм гораздо "мягче", чем синтетические. Вещества, извлеченные из лекарственных растений, лучше переносятся, значительно реже вызывают побочные аллергические реакции и, как правило, не обладают кумулятивными свойствами, что, с учётом роста средней продолжительности жизни человека, особенно важно для лиц пожилого возраста [1].

В этой связи нами была поставлена задача поиска растений с высоким содержанием биологически активных веществ (БАВ) среди интродуцированных Центральным ботаническим садом НАН Беларуси из других флористических областей. К настоящему времени наибольшее количество их выявлено в семействе Яснотковые (*Lamiaceae*). В качестве типичных представителей этого семейства отобраны для исследований иссоп лекарственный (*Hyssopus officinalis* L.) и многоколосник морщинистый (*Agastache rugosa* Fisch. et Mey.), поскольку оба продуцируют БАВ с геропротекторными свойствами [2, 3, 4].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводили на опытных участках коллекции «Лекарственные растения» в северо-западной части территории Центрального ботанического сада НАН Беларуси. Почва опытного участка дерново-подзолистая супесчаная на рыхлых пылевато-песчанистых супесях, pH – 5,27, содержание гумуса – 4,68 %, P_2O_5 – 272 мг/кг, K_2O – 56 мг/кг почвы.

Растительный материал. В биохимических исследованиях использовали лекарственное растительное сырьё (ЛРС) (верхняя треть цветущих побегов): иссопа лекарственного и многоколосника морщинистого. Отбор сырья осуществлялся в фазу

цветения. Согласно руководству по методам контроля качества и безопасности биологически активных добавок к пище Р 4.1.1672-03 ЛРС высушивали при 40°С, измельчали 6 мин при 25000 об/мин лабораторной мельницей IKA Tube Mill (IKA Werke, ФРГ) в порошок из которого этанольно-водным (70:30 об./об.) экстрагентом (при соотношении сырьё/экстрагент = 1:5) извлекали компоненты. Экстракцию осуществляли в ультразвуковой водяной бане RK103H (Bandelin Sonorex, Berlin, ФРГ [условия: 35 кГц, 60 мин, 50°С, I = 1 А; U = 140/560 Вт]), экстракт переносили в стеклянную тару и хранили в темноте при 0…4°С до использования в опыте.

Биохимические *исследования* проведены методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ-анализ) экстрактов надземной биомассы (ЛРС) изучаемых растений. Экстракты центрифугировали (15000 g, 3 мин, 20°С) и пропускали через фильтры PTFE (Agilent Technologies, Munich, ФРГ) с диаметром пор 0,2 мкм, вносили в Agilent-виалы, а из них отбор проб (10 мкл) в хроматограф проводился автосэмплером. Анализы экстрактов вели в изократическом режиме (30°С, 1 мл/мин, "метанол/вода/ацетонитрил" [соотношение 60/20/20]) хроматографом Agilent-1260 (Agilent Technologies Inc., Санта Клара, Калифорния, США) на колонке Zorbax Eclipse Plus C18 (4,6 мм×150 мм, 5 мкм) с регистрацией биохимических соединений UV/Vis-детектором DAD G4212B в milli Absorbance Units [mAU], обработкой данных программой Agilent OpenLAB CDS ChemStation, идентификацией по спектрам на PV 1251C (SOLAR, Минск, Беларусь), а также калибровочным внутренним и внешним стандартам (ООО "Кампилаб", Минск, Беларусь), согласно [5].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Исследования посвящены поиску лекарственных растений, терапевтическое действие которых связано с ярко выраженной геропротекторной активностью.

К настоящему времени в лаборатории биоразнообразия растительных ресурсов ЦБС НАНБ создана живая коллекция лекарственных растений, насчитывающая >500 видов и сортов, относящихся к 56 семействам среди которых Яснотковые (*Lamiaceae*), представлены 73 видами в том числе: чабер горный – *Satureja montana* L., душица обыкновенная – *Origanum vulgare* L., иссоп лекарственный – *H. officinalis* L., многоколосник морщинистый – *A. rugosa* Fisch. et Mey. мята перечная – *Mentha piperita* L., мелисса лекарственная – *Melissa officinalis* L., шалфей лекарственный – *Salvia officinalis* L., кадило сарматское – *Melittis sarmatica* Klock., котовник кошачий – *Nepeta cataria* L., монарда дудчатая – *Monada fistulosa* L. и другие.

Проработка литературы и скрининг биохимического состава лекарственных растений позволил выделить многолетние растения: иссоп лекарственный – *Hyssopus officinalis* L. (Рисунок 1) и многоколосник морщинистый – *Agastache rugosa* Fisch. et Mey. (Рисунок 2), в качестве источников группы биологически активных веществ, защищающих организм человека от преждевременного старения.

Рисунок 1 – Иссоп лекарственный сорт Лазурит в питомнике ЦБС НАН Беларуси

Рисунок 2 – Многоколосник морщинистый сорт Коралл в питомнике ЦБС НАН Беларуси

Иссоп лекарственный (*Hyssopus officinalis* L.) – многолетник, естественный ареал которого занимает территории от Юго-Восточной Азии до Южной и Средней Европы. Во многих странах культивируется как ароматическое и лекарственное растение. В Беларуси выращивается в отдельных хозяйствах и любителями. В естественных условиях республики не встречается. В ЦБС НАН Беларуси культивируется с 1957 года.

Морфологические и биологические особенности. Многолетний полукустарничек до 60 см высоты, с деревянистым корнем и прямостоячим стеблем, одревесневающим у основания. Листья ланцетные, короткочерешковые, цельнокрайние. Цветки двугубые, мелкие, тёмно-голубые, розовые или белые, расположены по 3-7 в пазухах листьев, в верхней части стебля в колосовидном соцветии (Рисунок 1). Плоды – черно-бурые продолговато-яйцевидные орешки. Масса 1000 семян – 0,9 г. Сохраняют всхожесть 3-4 года [6].

Многолетние экземпляры начинают отрастать в конце апреля - начале мая. Цветут в июле-августе. Продолжительность цветения до 60 дней. Семена созревают в августе - сентябре. Плодоносит регулярно. Урожай сухой надземной массы в зависимости от климатических и агротехнических условий колеблется в пределах 15÷20 ц/га.

Фармакологические свойства. В лечебных целях используют надземную массу иссопа, которая содержит вещества, обладающие антисептическим, противовоспалительным, обезболивающим, ранозаживляющим, "лёгким" возбуждающим, противокашлевым действиями. В народной медицине применяют при заболеваниях верхних дыхательных путей, бронхиальной астме.

Химический состав. В сухой траве иссопа содержится до 1,0 %, а в зелёных листьях и соцветиях до 2,0 % эфирного масла, максимальный выход которого отмечен в период массового цветения. Из ЛРС выделены терпеноиды, каротиноиды (≤3,6 г/кг), дубильные вещества, горечи, смолы, камедь, пигменты. Проведенные нами исследования подтвердили наличие в иссопе целого ряда ценных субстанций: кислот *олеаноловой* и *урсоловой* [≤60 г/кг ЛРС], обладающих геропротекторным и кардио-стимулирующим эффектами; флавоноидов: *диосмин* и его агликон *диосметин* [∑≤6,0 г/кг]), *гесперидин* и его агликон *гесперетин* [∑≤6,3 г/кг] и другие, оказывающие также иммуностимулирующее, антибактериальное, антиоксидантное, противоопухолевое, действия; ЛРС в меньшей концентрации содержит *иод* [14 мкг/кг], *миртенилацетат* [≤0,2%], *гермакрены* [≤0,1 %], *спатуленол* [≤1 %] (в эфирном масле: содержание *гермакренов* составляют 3,4 %, *спатуленола* – 2,1 %, а основной компонент – *миртенилацетат* [≤74,1 %]) [2, 11, 17, 18].

Многоколосник морщинистый (*Agastache rugosa* Fisch. et Mey.) – многолетнее травянистое растение, распространён по всей Юго-Восточной Азии (Центральный и Восточный Китай, Япония, Вьетнам и др.). Во флоре России встречается в Приморском и Хабаровском краях. В Беларуси его возделывают отдельные хозяйства и многие садоводы любители. В ЦБС НАН Беларуси культивируется с 1978 года.

Морфологические и биологические особенности. Многоколосник морщинистый – травянистый многолетник с плотным деревянистым корнем и с хорошо развитыми боковыми корнями. Стебли прямостоячие, четырехгранные, почти от основания разветвленные. Листовые пластинки – продолговато-яйцевидные (6,4 см длины, 3,5 см ширины), цельные, по краям пильчатые, к верху суженные заостренные, интенсивно-зелёные. Цветки от бледно-фиолетовой до синевато-лиловой окраски собраны в ложные мутовки, скученные на конце стебля и пазушных побегов в плотные цилиндрические соцветия, которые достигают 10 см длины (Рисунок 2). Плод – орешек. Орешки темно-бурые, 1,5÷1,7 мм длины и 0,7÷1,0 мм ширины, трёхгранные с тупой верхушкой, усаженной рыжеватыми торчащими волосками. Цветёт в июле-августе, плодоносит в августе-сентябре. Масса 1000 штук семян 1,2 г. Семена сохраняют всхожесть до 5 лет. Продолжительность жизненного цикла многоколосника морщинистого составляет 3-4 года, а затем растение стареет и за 1-2 года "выпадает". Растение светолюбивое (может расти при незначительном затенении), зимостойкое, засухоустойчивое,

неприхотливое к почвам. Высокие урожаи вегетативной массы (30÷35 ц/га сухого веса) можно получить на лёгких, хорошо удобренных, богатых гумусом почвах [7].

Фармакологические свойства. Многоколосник (лофант) популярен в китайской медицине при желудочно-кишечных заболеваниях, как улучшающее пищеварение средство, а также болезнях крови, как противораковое, седативное и болеутоляющее. В монгольской медицине надземную часть растения употребляют для регулирования обмена веществ, как общеукрепляющее и предупреждающее старение средство, а также при дрожании, парезе и параличе конечностей. В тибетской медицине настой из цветков этого растения используют при заболеваниях печени. Многоколосник-лофант считается мощным стимулятором тонуса и иммунной системы, соперничающим с женьшенем (его препараты укрепляют естественные защитные силы, усиливают работоспособность и выносливость; улучшают кровообращение, нормализуют давление; укрепляют и успокаивают нервную систему; выводят токсичные и радиоактивные вещества из организма; нормализуют обмен веществ, замедляют старение; повышают мужскую потенцию; оказывают бактерицидное воздействие, подавляют воспалительные процессы в органах и тканях). Лофант помогает при ОРЗ, пневмонии, бронхитах, бронхиальной астме, болезнях печени, гепатите, гастрите, функциональном расстройстве желудочно-кишечного тракта, простатите и других заболеваниях.

Химический состав. В ЛРС многоколосника содержатся: эфирное масло (≤2,5 %); каротиноиды ([мг/кг] β-каротин≤521,4; α-каротин≤4,9; виолаксантин ≤15,1; зеаксантин≤33,5; лютеин ≤338,3; антероксантин≤6,2); флавоноиды (≤7,7 %); дубильные вещества (≤8,5 %); терпены и другие компоненты. Среди биоактивных веществ многоколосника подлежащих оценке на уровень накопления – *β-кариофиллен* (антицептивный нейропротектор, антидепрессант); *астрагалин*, *пахиподол*, *хлорогеновую кислоту*, фенилпропен *эстрагол* (норма ~260 мг/кг), которые обладают бактерицидным действием, подавляют воспалительные процессы, стимулируют обмен веществ и активность иммунной системы организма [1-3, 7, 15, 17, 18].

Методом газожидкостной хроматографии с масс-спектрометрической детекцией (GC-MS techniques) в эфирном масле идентифицированы – у *A. rugosa*: *анисовый альдегид*; фенилпропаноиды (*эстрагол* [≤90 %], *транс-анетол*, *метил-эугенол*, *метоксикоричный альдегид*; монотерпены (α-, β-*пинены*, *гермакрены* [*B, D*], *лимонен*, α-*терпинен*; *терпинеолы*; *линалоол; ментоны, пиперитон, пулегон*); сесквитерпены (δ-*кадинол*, β-*кариофиллен*, *спатуленол*, *мууролены* [β-, γ-, τ-],); дитерпеноиды (*агастахинон*, *дегидроагастол*) и др. [3, 4, 18, 19]; у *H. officinalis*: *миртенилацетат*; *ка́мфора* [≤6,8 %]; *гермакрены*; *спатуленол*; *борнилацетат*; *изопинокамфон*; *линалоол* [≤49,6 %]*; лимонен* [≤5,8 %]; *цинеол* [≤13,3 %]; *пинокамфон* [≤19,6 %]*; пинены* (α- & β-) [∑≤5,8 %]; *туйон* и др. [8, 18].

Результаты проведенных методом ВЭЖХ собственных биохимических исследований и анализа информации представлены в Таблицах 1 и 2. Акцентируем внимание на некоторых из идентифицированных БАВ), оказывающих антисенильные эффекты.

Геропротекторный потенциал БАВ H. officinalis и A. rugosa

Разберём несколько подробнее известные данные о геропротекторной активности детектированных субстанций объектов исследования.

Маррубиин (или *Маррубин*, ***M***) [8]. Как показали фармакологические исследования, ***M*** в безопасных дозах (≤ 100 мг/кг веса тела), проявляет геронтопротекторную активность, в том числе, оказывает: антигенотоксический, антиоксидантный, антикоагулянтный, вазорелаксантный, гастропротективный, обезболивающий, противовоспалительный, гипогликемический, антиоксидантный, кардиопротекторный, антиспазматический, иммуномодулирующий, противоотёчный и антидиабетический эффекты.

Олеаноловая кислота (***OK***) [9] – относится к тритерпеноидам (пентациклическое соединение), которые структурно и по эффектам близки ряду важных гормонов. Олеаноловая кислота нетоксична, оказывает противораковое, гепатопротекторное, гипохолестеринемическое, а так же противовирусное действие. Кроме того, ***OK*** показала

выраженную эффективность против ВИЧ. Установлено, что при пиелонефритах и циститах ***ОК*** усиливает действие антибиотиков и сульфаниламидных препаратов.

Протокатехоевая кислота (***ПК***) [10, 18, 19] в организме человека оказывает антиоксидантный, противовоспалительный, антигипергликемический и нейропротекторный эффекты, а также ингибирует процессы канцерогенеза.

Розмариновая кислота (***РК***) [10, 11] проявляет антимикробное (в т. ч. антивирусное) действие; способствует оздоровлению кровеносных сосудов и клеток крови. В *per os* дозах 200÷300 мг ***РК*** препятствует эритроцитолизу (распаду красных кровеносных телец), ингибируя С3-конвертазу (белок в "*Комплемент*"-системе); подавляет синтез 5-гидрокси-эйкозатетраеновой кислоты (противоспалительный компонент в "метаболической цепи ω-6"): действует посредством ингибирования 5-липоксигеназы и переносчиков анионов SLC22A6 и SLC22A8, с показателями K_i в 0,35±0,06 мкМ и 0,55±0,25 мкМ, соответственно.

Таблица 1 – Выявляемые методом ВЭЖХ вещества *H. officinalis* (сорт Лазурит)

Идентифицированные вещества	Данные типичной хроматограммы★				Содержание, мг/кг ЛРС (*n* = 8)
	DAD1 A, Sig=203 nm Ref=560 nm				
	RT [min]	Width [min]	Area [mAU*s]	Area %	
Протокатеховая кислота	1.11	0.22	1.58e4	22.31	254,3±16,2
—★★	1.26	0.02	972.	1.36	—★★
Гентизиновая кислота	1.41	0.03	1405.	1.97	496,4±24,7
(+)-Катехин	1.43	0.03	879.	1.23	57,3±6,4
Ванилиновая кислота	1.45	0.03	725.	1.02	48,4±5,2
Хлорогеновая кислота	1.47	9.35e-3	103.	0.14	198,4±12,6
Кофейная кислота	1.49	0.02	96.	0.14	1745,1±95,8
—★★	1.57	0.02	104.	0.15	—★★
Сиреневая кислота	1.59	0.01	150.	0.21	30,1±4,9
Иссопин (Кверцетин 3-О-Глк# 7-О-Рам※)	1.67	0.07	3774.	5.30	328,4±20,9
Гесперидин	2.09	0.41	594.	0.83	251,0±47,2
Рутин (Кверцетин-3-О-Рут$^{\Psi}$)	2.17	0.11	2829.	3.97	356,42±127,6
p-Кумаровая кислота	2.26	0.03	626.	0.88	65,8±7,1
Гиперозид	2.31	0.12	671.	0.94	126,0±37,1
Изокверцитрин	2.36	0.06	364.	0.51	396,8±67,8
Феруловая кислота	3.39	0.03	997.	1.40	448,4±53,9
—★★	2.42	0.18	2514.	3.53	—★★
Розмариновая кислота	2.44	0.23	1.67e4	23.40	2697,2±171,8
Эллаговая кислота	2.51	0.10	711.	0.99	298,8±19,0
Коричная кислота	2.60	0.07	1138.	1.60	1270,8±81,1
Диосмин	4.65	0.14	5929.	8.32	5064,3±322,5
—★★	4.98	0.41	594.	0.83	—★★
Кверцетин	5.34	0.17	180.	0.25	86,0±26,9
Апигенин	6.64	0.19	798.	1.12	12,2±3,1
Диосметин	7.56	0.23	1708.	2.39	860,4±47,2
пре-Маррубиин	7.96	0.29	2503.	3.51	118,7±20,3

Гесперитин	8.60	0.32	2353.	3.30	4399,7±228,6
Хризин	8.94	0.32	613.	0.86	52,8±9,4
Бетулиновая кислота	9.43	0.17	299.	0.42	151,2±17,5
Олеаноловая кислота	9.90	0.23	479.	0.67	30,3±5,1
Урсоловая кислота	11.49	0.66	2787.	3.91	4902,5±287,2

⋆Заголовки аутентичны "Agilent-1260"; ⋆⋆— не определено; # глюкоза; ※ рамноза; Ψрутиноза

Урсоловая кислота (***УК***) [13, 14, 18] – тритерпеноид иссопа, обладает анаболическим действием и может быть включено в состав лекарственных препаратов для профилактики и лечения атрофии скелетных мышц сопутствующей старению человека. ***УК***, ***ОК*** и их сахар-коньюгаты проявляют геропротекторные (антисклеротическую, кардиостимулирующую, противовоспалительную) и другие активности, благотворно влияющие на здоровье человека.

Таблица 2 – Выявляемые методом ВЭЖХ вещества *A. rugosa* (сорт Коралл)

Идентифицированные вещества	Данные типичной хроматограммы⋆				Содержание, мг/кг ЛРС (*n* = 8)
	DAD1 A, Sig=203 nm Ref=560 nm				
	RT [min]	Width [min]	Area [mAU*s]	Area %	
—⋆⋆	0.52	0.14	1.46e4	7.99	—⋆⋆
Галловая кислота	0.87	0.08	1.25	6.78	6,8±1,4
—⋆⋆	0.93	0.05	5771.	3.14	—⋆⋆
Протокатеховая кислота	1.13	0.04	170.	0.09	3,2±0,7
Неохлорогеновая кислота	1.38	0.13	8086.	4.41	244,1±41,2
Гентизиновая кислота	1.41	0.02	1039.	0.57	9,6±1,8
Ванилиновая кислота	1.45	0.03	1079.	0.59	4,6±0,7
Хлорогеновая кислота	1.47	0.01	383.	0.21	198,4±12,6
Кофейная кислота	1.49	0.03	1071.	0.58	327,2±54,6
Линарин (Акацетин-7-О-Рут^{Ψ})	1.56	0.02	11.	5.89e-3	114,6±10,4
Сиреневая кислота	1.60	0.01	7.	3.87e-3	30,1±4,7
Изоагастахозид (2"-О-ацетил-Тилианин)	1.62	0.01	8.	4.14e-3	210,3±34,92
Генистеин	1.64	0.01	5.	3.01e-3	74,22±21,5
Тилианин (Акацетин-7-О-Глк$^{\#}$)	1.68	0.02	6.	3.48e-3	4,3±2,2
Агастенол	1.72	0.01	5.	2.81e-3	7,1±1,6
Агастинол	1.77	0.02	14.	7.74e-3	16,8±3,9
Агастахин	1.83	0.02	41.	0.02	19,0±4,3
—⋆⋆	1.85	0.01	103.	0.06	—⋆⋆
Акацетин-Рам$^{※}$-Глк$^{\#}$	1.87	0.09	1239.	0.68	285,0±14,22
Бензойная кислота	2.01	0.10	4741.	2.58	75,6±23,1
Рутин	2.19	0.06	3230.	1.76	380,9±47,6
p-Кумаровая кислота	2.26	0.01	77.	0.04	14,4±3,3
Феруловая кислота	2.39	0.01	103.	0.06	244,8±22,1
Розмариновая кислота	2.44	0.08	1759.	0.96	766,8±27,4
Коричная кислота	2.62	0.13	2.09e4	11.43	855,1±276,2
Эмодин-6-О-Глк$^{\#}$	3.17	0.19	111.	0.06	175,4±36,8
Гесперидин	3.46	0.19	7313.	3.98	185,8±28,3
Фраксирезинол-1-О-Глк$^{\#}$	3.77	0.21	3.30e4	17.99	759,1±61,4

Астрагалин (Кемпферол-3-О-Глк#)	4.55	0.22	1.94e4	10.58	143,2±27,0
Флоретин-2'-О-Глк#	4.76	0.14	1944.	1.06	107,3±61,1
α-Каликозин	5.03	0.12	7887.	4.29	928,1±70,5
Кверцетин	5.32	0.19	688.	0.37	1,4±0,3
Пахиподол (3,7,3'-метил-Кверцетин)	5.61	0.24	1528.	0.83	10,1±2,8
Апигенин	6.61	0.38	9328.	5.08	1300,7±160,4
β-Каликозин	6.96	0.13	506.	0.28	419,8±52,9
Генистеин	7.38	0.15	1264.	0.68	74,1±19,3
—**	7.65	0.29	5682.	3.09	—**
пре-Маррубиин	7.98	0.26	3605.	1.97	75,2±15,7
Гесперитин	8.61	0.27	3847.	2.09	1,5±0,2
Олеаноловая кислота	9.42	0.32	6545.	3.56	148,0±15,3
Урсоловая кислота	9.91	0.20	761.	0.41	138,1±11,4
γ-Каликозин	10.42	0.57	2891.	1.57	419,8 ±40,8
Эмодин	11.96	0.43	222.	0.12	43,2±8,1
… … … … … …					

**Заголовки аутентичны "Agilent-1260"; **— не определено; Ψрутиноза # глюкоза; ж рамноза*

Феруловая кислота (***ФК***) [11, 14] оказывает мощное антиоксидантное действие, при комбинации с витамином *С* и витамином *Е* усиливает защиту кожи от УФ-повреждений, также оказывает антибактериальное действие, тормозит старение кожи, проявляет кардиопротекторное действие при ишемическом, аритмогенном и стрессорном воздействии.

Хлорогеновая кислота (***ХК***) и её изомер неохлорогеновая кислота (***НК***) [11, 15] "мягко" снижают кровяное давление, улучшают перистальтику кишечника (профилактика запоров), оказывают противоопухолевый, гипохолестеринемический, гепатопротекторный, гипогликемический эффекты.

Флавоноиды и их производные (***Ф***) [1, 2, 10-16, 20] представлены широкой гаммой субстанций (несколько сотен к настоящему времени идентифицированных видов) и препараты на их основе всё интенсивнее входят в арсенал современной медицины. Суммарный их контент в лофанте и иссопе соответственно ≤24,5- и ≤79,6 мг/г (в пересчёте на эквиваленты галловой кислоты). Благодаря мощному антиоксидантному действию, ***Ф*** широко используют, как средство для профилактики процессов старения организма. Также в геропротекторном отношении представляет интерес их использование в профилактике тромбозов и канцерогенеза, в лечении ревматоидных заболеваний; ***Ф*** оказывают гепатопротекторное, иммуностимулирующее, антигистаминное (противовоспалительное), противоопухолевое действие; улучшают реологические свойства крови (уменьшают её вязкость, уменьшают агрегацию тромбоцитов и эритроцитов (повышают их эластичность), способствуют десорбции осажденного на стенках сосудов холестерина) – в итоге снижают артериальное давление (устраняют головную боль и шум в ушах). Пример – гесперидин: в медицине используется как венопротекторное, антиоксидантное средство, в лечебных целях в сочетании с диосмином применяется для лечения венозной недостаточности, геморроя, лимфидемы, ревматоидного артрита, снижает диастолическое кровяное давление, ингибирует распространение и рост раковых клеток при онкозаболеваниях.

Эмодины **(*Э*)** [17, 18, 21] эффективно понижают уровень сахара и инсулина в крови, повышают чувствительность тканей к инсулину, нормализуют липидный профиль, оказывают противоопухолевое, антимикробное, антивоспалительное действия; эффективны в профилактике развития и лечении фиброза печени. Препараты на основе ***Э*** применяются при сахарном диабете 2го типа (инсулин-независимом), для лечения метаболических нарушений, а также для снижения массы тела (за счёт жировой ткани). Один из механизмов действия ***Э*** включает нейтрализацию эффекта выработки глюкокортикоидов надпочечниками, которые снижают чувствительность тканей к инсулину и способствуют развитию диабета.

ВЫВОДЫ

Сравнительный ВЭЖХ анализ биохимического состава растений семейства Яснотковые в коллекции ЦБС НАН Беларуси позволил выявить видообразцы – иссоп лекарственный (*H. officinalis* L. сорт Лазурит) и многоколосник морщинистый (*A. rugosa* Fisch. et Mey. сорт Коралл) особо ценные как продуценты веществ, активных в отношении профилактики старения. Так, в них идентифицированы флавоноиды; маррубиин; эмодин; розмариновая, олеаноловая, урсоловая и другие органические кислоты, которые, по имеющимся данным, снижают у человека уровень холестерина в крови, нормализуют артериальное давление, проявляют иные позитивные эффекты – антиоксидантный, антибактериальный, противовоспалительный, противоопухолевый, обезболивающий, тонизирующий (стимулируют обмен веществ), активируют иммунную систему, что свидетельствует о перспективности отобранных растений для включения в исследования по разработке неогаленовых препаратов с геропротекторной активностью.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Азарова, О. В. Флавоноиды: механизм противовоспалительного действия / О. В. Азарова, Л. П. Галактионова // Химия растительного сырья. – 2012. – № 4. – С. 61–78.

2. Куркина, А. В. Актуальные аспекты стандартизации лекарственного растительного сырья, содержащего флавоноиды / А. В. Куркина // Бюллетень сибирской медицины. – 2011. – Т. 16, № 5. – С. 150–154.

3. Кузовкова, А. А. Многоколосник морщинистый: от А до Я / А. А. Кузовкова, Т. В. Мазур, В. Н. Решетников. – Минск : Издатель А. Н. Вараксин, 2014. – 153 с.

4. Screening of medicinal plant extracts for quercetin-rutinoside (Rutin) in Bosnia and Herzegovina / E. Sofic [et al.] // Medicinal Plants. – 2010. – Vol. 2, № 2. – P. 97–102.

5. Matei, A. O. Analysis of phenolic compounds in some medicinal herbs by LC-MS / A. O. Matei, F. Gatea, G. L. Radu // J. Chromatograph. Sci. – 2015. – Vol. 53, № 7. – P. 1147–1154.

6. Кухарева, Л. В. Технология возделывания лекарственных растений : метод. пособ. / подгот. : Л. В. Кухарева, Т. В. Гиль. – Мн. : Минсктиппроект, 2008. – 128 с.

7. Руденко, П. И. Соперник женьшеня – многоколосник морщинистый / П. И. Руденко. – [Электрон. ресурс] Режим доступа: http://honeygarden.ru/plants/art108.php. Дата доступа: 20.03.2021.

8. Popoola, O. K. Marrubiin / O. K. Popoola, A. M. Elbagory, F. Ameer, A. A. Hussein // Molecules. – 2013. – Vol. 18, № 6. – P. 9049–9060.

9. Pollier, J. A. Oleanolic acid / J. Pollier, A. Goossens // Phytochemistry. – 2012. –Vol. 77, № 1. –P. 10–15.

10. Production and applications of rosmarinic acid and structurally related compounds / G. D. Kim [et al.] // Appl. Microbiol. Biotechnol. –2015. – Vol. 99, № 5. – P. 2083–2092.

11. Analysis of phenolic acids in hyssop (*Hyssopus officinalis* L.) by HPLC-DAD with monolithic column Chromolith RP-18e / T. Baj [et al.] // Annals Univ. Marie Curie-Sklodowska (Lublin, Poland). – 2011. – Vol. 24, № 4/5. – P. 59–65.

12. Li, Y. Ursolic acid stimulates lipolysis in primary-cultured rat adipocytes / Y. Li, Z. Kang // Mol. Nutr. Food. Res. – 2010. – Vol. 54, № 11. – P. 1609–1617.

13. Kang, Y. S. Effects of ursolic acid on muscle mass and bone microstructure in rats with casting-induced muscle atrophy / Y. S. Kang, E. B. Noh, S.H. Kim // J. Exerc. Nutrition Biochem. – 2019. – Vol. 23, № 3. – P. 45–49.

14. Kumar, N. Potential applications of ferulic acid from natural sources / N. Kumar, V. Pruthi // Biotechnology Reports. – 2014. – Vol. 4, № 1. – P. 86–93.

15. The potential effects of chlorogenic acid, the main phenolic components in coffee, on health: a comprehensive review of the literature / N. Tajik [et al.] // Eur. J. Nutr. – 2017. – Vol. 56, № 7 – P. 2215–2244.

16. Тараховский, Ю. С. Флавоноиды: биохимия, биофизика, медицина / Ю. С. Тараховский [и др.] ; отв. ред. Е.И. Маевский. – Пущино : Synchrobook, 2013. – 310 с.

17. Emodin, a natural product, selectively inhibits 11β-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 and ameliorates metabolic disorder in diet-induced obese mice / Y. Feng [et al.] // British J. Pharmacol. – 2010. – Vol. 161, № 1. – P. 113–126.

18. Геронтопротекторные вещества иссопа лекарственного (*Hyssopus officinalis*) и многоколосника морщинистого (*Agastache rugosa*) / Л. В. Кухарева [и др.] // Вестник Фонда фундаментальных исследований. – 2016. – Т. 16, № 4. – С. 21–31.

19. Zielinska, S. Phytochemistry and bioactivity of aromatic and medicinal plants from the genus *Agastache* (*Lamiaceae*) / S. Zielinska, A. Matkowski // Phytochem. Rev. – 2014 – Vol. 13, № 2. – P. 391–416.

20. RP-HPLC method development and validation of chrysin in bulk and marketed formulation / K. Vajramma [et al.] // Int. J. Pharm. Biol. Sci. (IJPBSTM). – 2019 – Vol. 9, № 1 – P. 602–611.

21. Aloe-emodin: a review of its pharmacology, toxicity, and pharmacokinetics / X. Dong [et al.] // Phytotherapy Res. – 2019 – Vol. 34, № 2 – P. 270–281.

MEDICINAL PLANTS *HYSSOPUS OFFICINALIS* L. & *AGASTACHE RUGOSA* FISCH. ET MEY AND THEIR GEROPROTECTIVE PRINCIPLES

Ph.D. in Biology Kuhareva L.V., Ph.D. in Biochemistry Popoff E. H., Gill T. V., Kot A. A.
Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus, Belarus, Minsk, Surganova st. 2B, 220012

a) corresponding author – T.Gill@cbg.org.by

Abstract. The living collection of medicinal plants (> 500 species belonging to 40 families) was created in the Central botanical garden (Ac. Sci. of Belarus, Minsk). Screening of their biochemical composition revealed in representatives of *Lamiaceae* promising varieties synthesizing different bioactive molecules. This research presents some results of HPLC-studies on raw materials of *Hyssopus officinalis* L. (variety Lazurite) and *Agastache rugosa* Fisch. et Mey. (variety Coral): we detected in these plants spectra of valuable components that stimulate vitality of human organism, thus testifying them *for* commercial *cultivation. Also we briefly analyze the* geroprotective potential of appropriate principles (identified in these objects), that can *be used for production of new effective* senotherapeutics' *neogalenica preparations.*

Keywords: *medicinal plants, Agastache rugosa, Hyssopus officinalis, bioactive substances, geroprotectors, senotherapeutics.*

УДК 581.524.1 DOI: 10.52101/9785870191003_2021_161

ВЛИЯНИЕ ЭКОЛОГИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА МОРФОЛОГИЧЕСКУЮ ИЗМЕНЧИВОСТЬ И БИОРИТМЫ *CICHORIUM INTYBUS* L. В ЛУГОВЫХ АССОЦИАЦИЯХ НИЖЕГОРОДСКОГО МЕГАПОЛИСА

к.с-х.н. Невидомов А. М., к.б.н., доцент, Невидомова Е. В., Невидомова М. А.

Научно-проектный центр лесоустроительное предприятие ЦНИЛХИ, Россия, г. Нижний Новгород, улица Лесохимиков д.7, 603079

а) автор для переписки – elena.nevidomova@yandex.ru

Аннотация. Исследована морфологическая изменчивость ценопопуляций и биоритмы цикория обыкновенного (*Cichorium intybus L.*) в луговых ассоциациях Нижегородского мегаполиса. Это многолетние исследования, сбор и обработка материала проводились, начиная с 2010 года. Показано влияние экологических факторов (биотических и абиотических) на морфологическую изменчивость ценопопуляций и биоритмы цикория обыкновенного. Выявлена зависимость морфологической изменчивости ценопопуляций и биоритмов цикория обыкновенного в особенности от антропогенных факторов. В частности, на антропогенно нарушенных лугах с высокой степенью уплотнения почвы морфологические показатели и габитус цикория снижается в 5,5 раз по сравнению с точкой контроля. Ценопопуляции становятся неполно членными. По результатам проведённых исследований поставлена под сомнение строгая консервативность биоритмов цикория, которая на протяжении трёх веков, начиная с XVIII века, сравнивалась с «цветами-часами». Изменено представление о времени закрывания соцветий цикория. Выявлено смещение сроков его цветения. Так, во время аномально тёплой осени 2020 г. цикорий цвёл по ноябрь включительно, в противовес литературным данным, что цикорий цветёт в июне-сентябре. Соцветия цикория оставались открытыми на 50 % даже в тёмное время суток. Исследования применимы в учении о ценопопуляциях и биоритмах растений, в фенологии, ресурсоведении, растениеведении и геоботанике.

Ключевые слова: *морфология, ценопопуляции, биотические и абиотические факторы, биоритмы растений.*

ВВЕДЕНИЕ

Тема исследований посвящена влиянию экологических факторов на морфологическую изменчивость ценопопуляций и биоритмы цикория обыкновенного в рекреационно перегруженных условиях Нижегородского мегаполиса. Подобные исследования ранее не проводились. Это было связанно со стабильной обстановкой в природе не требующей «помощи». В настоящее время ситуация сильно изменилась, тем более что биоритмы являются ответной реакцией растений на изменения факторов внешней среды. Цикорий обыкновенный широко культивируемое лекарственное и пищевое растение, зачастую сорное [3,13,18]. Возрастает роль применения цикория как перспективного лекарственного растения в народной и в традиционной медицине [2,19,20]. Кроме того, согласно литературным источникам, со времён К. Линнея цикорий относят к «цветам-часам» [1,6,8**]**. Поэтому перед нами возник вопрос, как влияют экологические факторы биотические и абиотические на морфологическую изменчивость и биоритмы такого высоко пластичного растения, как цикорий обыкновенный и действительно ли он так консервативен, что по нему можно определять время суток, сравнивая его с часами? В соответствии с указанным предположением нами выбрана **цель** – исследования морфологической изменчивости и биоритмов ценопопуляций цикория обыкновенного в антропогенно нарушенных луговых ассоциациях Нижегородского мегаполиса. Влияние антропогенных факторов на ценопопуляции доминантов травяно-кустаричкового яруса ранее было исследовано авторами относительно лесных ассоциаций

[10,11,12,14,16]. Также были проведены исследования доминантов травяно-кустарничкового яруса луговых ассоциаций [15].

В соответствии с целью исследований были поставлены следующие задачи:

1.Описать ценопопуляции цикория обыкновенного в различных экологических условиях.

2. Проанализировать морфологическую изменчивость и биоритмы цикория обыкновенного в луговых ассоциациях Нижегородского мегаполиса и Нижегородской области под воздействием экологических факторов. Определить, почему цикорий обыкновенный перестал быть линнеевскими «цветами-часами».

3.Отнести цикорий обыкновенный к конкретной ценоморфной группе с использованием шкал Л. Г. Раменского по богатству и увлажнению почв.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы. Сбор материала по морфологической изменчивости и биоритмам Цикория обыкновенного провели на пробных площадях в антропогенно нарушенных луговых ассоциациях Нижегородского мегаполиса: на лугу вблизи детской спортивной площадки в окрестности улицы Берёзовская - (A); на лугу реки Левинки вблизи старообрядческой церкви в окрестности улицы Берёзовская- (B); на лугу за детской больницей «Айболит»- (C); на лугу в окрестности остановки «Красных зорь» – «Сормовский парк» вдоль трамвайной лини в окрестности улицы Берёзовская –(D) и контрольная пробная площадь на лугу реки Ветлуги вблизи села Дмитриевское и деревни Безглядово в Краснобаковском районе Нижегородской области–(E). Краснобаковский район Нижегородской области был выбран в качестве контроля, поскольку он является одним из перспективных районов флоры РФ по мобилизации биоразнообразия лекарственных растений с целью создания лекарственных средств [9]. Материалы диагностирующие морфологическую изменчивость и биоритмы ценопопуляций цикория обыкновенного мы собирали с середины июня по ноябрь начиная с 2010 по 2020 г. Выделен возрастной состав ценопопуляий цикория обыкновенного по общепринятой методике [20]. Нормальная полно членная ценопопуляция цикория обыкновенного в точке контроля имеет следующий возрастной состав: sm, pl, j, im, v, g1, g2, g3, ss, s, sc. Под воздействием антропогенного прессинга из ценопопуляций цикория обыкновенного выпадают некоторые возрастные состояния. В таком случае ценопопуляции становятся неполночленными. Особенно яркую динамику исследований пронаблюдали с 25 сентября по 19 октября 2020г. в аномально тёплую осень. В этот период мы наблюдали цветение цикория обыкновенного, и это позволило критически пересмотреть взгляды на его биоритмы, которые не состыковываются с классическими «цветами-часами». На пробных площадях исследованы возрастные состояния ценопопуляций цикория обыкновенного и показатели его обилия. Собран гербарий цикория обыкновенного с пробных площадей, которые испытывают разную степень антропогенного прессинга. Для выяснения морфологической изменчивости были проведены до 30 измерений по каждому морфологическому признаку цикория обыкновенного (высота растения, длина и ширина прикорневых листьев, диаметр соцветия, количество соцветий на стебле, отмечали время открытия и закрытия соцветия) по ранее разработанной нами методике [7].Общее количество измерений составило 2000. В сборе и обработке материала принимали участие магистранты и школьники во время летней полевой практики, что способствует формированию экологического воспитания молодёжи в образовательном процессе [13].

Методы. Геоботаническое исследование ценопопуляций цикория проводили методом пробных площадей [4,5]. На каждой пробной площади закладывали по 20 учетных площадок размером 1x1м^2. При описании пробных площадей отмечали наличие или отсутствие дорожно-тропиночной сети, измеряли мощность лугового войлока по ранее разработанной нами методике [7]. По разработанной и апробированной нами методике мы измеряли высоту травяного покрова, поскольку эти показатели свидетельствуют о степени нарушения ассоциаций под воздействием антропогенных факторов [6,10,11,13,14,15]. Во внимание

принимали следующие абиотические факторы, которые могут воздействовать на биоритмы цикория: количество пыли в атмосферном воздухе по методике полевых исследований предложенной нами [7]. Количество пыли в атмосферном воздухе определяли при помощи датчика концентрации частиц пыли в полевых условиях (марки НР), что представлено на Рисунке 1. Немаловажный абиотический фактор как pH почвенного раствора определяли при помощи датчика pH (марки НР). Согласно данным гидрометцентра РФ по Нижегородской области указывали температуру и влажность воздуха, освещённость, атмосферное давление и скорость ветра. На пробных площадях определяли богатство и увлажнение почв с использованием шкал Л. Г. Раменского [7,17,18].

Рисунок 1 - Датчики для экологического мониторинга в полевых условиях.

Обилие видов указывали по общепринятой геоботанической методике [4,5]. Субъективно считали количественные соотношения экземпляров в сообществе, пользуясь условными обозначениями по шкале О. Друде [4,5]:

Soc. (sociales)– растение встречается в очень большом количестве, сплошь или почти сплошь покрывает пробную площадь, смыкаясь своими надземными частями.

Cop.3 (copiosae) – растение встречается очень обильно, но не смыкается надземными частями.

Cop.2 (copiosae) - растение встречается обильно.

Cop. 1 (copiosae) - растение встречается довольно обильно.

Sp. (sparsae) – растение встречается рассеянно, в относительно небольшом количестве.

Sol. (solitaries)– растения единичны.

Кроме того, составлены названия ассоциаций из названий доминантов согласно общепринятой методике [4,5]. По критерию Стьюдента оценивали достоверность различий морфологических признаков и биоритмов Цикория в нарушенных ассоциациях по сравнению с данными на контрольной пробной площади [4,5].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Новизна исследований заключается в том, что впервые описана морфологическая изменчивость ценопопуляций и суточные биоритмы Цикория обыкновенного в антропогенно нарушенных ассоциациях Нижегородского мегаполиса по сравнению с точкой контроля в Краснобаковском районе Нижегородской области.

Результаты исследований с использованием шкал Л. Г. Раменского показали, что цикорий обыкновенный – мезо ксерофит. Цикорий растет на хорошо дренируемых почвах 60 – 65 ступень

увлажнения шкалы Л.Г. Раменского, неприхотлив к плодородию почв, однако предпочитает достаточно плодородные почвы 9 – 12 ступень по богатству почв шкалы Раменского. Цикорий обыкновенный предпочитает нейтральные почвы с pH от 7,0 до 7,5. Реакция почвенного раствора нейтральная. Увлажнение хорошо дренированных равнин степной зоны. Будучи луговым видом, не выдерживает затенение и лучше развивается в условиях хорошего освещения. Цикорий выносливк задернованной и сильно уплотненной почве.

Жизнедеятельность цикория подчинена биоритмам как оптимальным способам противодействия по отношению к неблагоприятным факторам внешней среды. На ярко – синих и крупных соцветиях цикория наиболее отчётливо проявляются суточные биоритмы. В наших исследованиях мы уделили подробное внимание соцветиям цикория. Довольно яркие и крупные соцветия цикория часто украшают наш городской пейзаж. Как выяснилось, морфологическая изменчивость у соцветий не так ярко выражена по сравнению с другими признаками, что представлено в Таблице 1. Хотя неблагоприятные факторы внешней среды достаточно сильно оказывают воздействие на его биоритмы. Во время дождя, или ливня соцветия цикория при воздействии всех вышеперечисленных факторов закрывались на 99,9 %±0,12 в течение получаса. При искусственном орошении соцветия слегка смыкались краевыми частями цветков.

Наиболее существенным во время эксперимента на наш взгляд оказалось изменение температурного режима, которое варьировало от t= +18° С до t= -1° С. В летнее время соцветия открывались и закрывались более постоянно, что представлено в Таблице 1. В тёплое время осени с сентября и до ноября 2020 г. при t=+18° С соцветия цикория открывались в 5:00 на 99,9% ±0,12. В этот же период соцветия цикория оставались в открытом состоянии в 10:00 на 99,9% ±0,12, аналогично в 14:00 на 99,9% ±0,12 и, в 16:00 на 99,9% ±0,12. Соцветия цикория закрывались практически на половину в 18:00 на 49,9% ±0,12, и 20:00 на 49,9% ±0,12, что представлено на Рисунке 2,3. Когда полностью стемнело, соцветия были приоткрыты на 49,9% ±0,12 .

Рисунок 2 - Соцветия цикория открытые на 50 % в тёмное время суток

При понижении температуры до 0° С в 5:00 соцветия были открыты полностью на 99,9% ±0,12 в 10:00 , в 13:00 соцветия были открыты наполовину на 49,9% ±0,12, а в 14:00 были закрыты полностью. При t= -1°С и наличии дождя в 5:00 и в 10:00 соцветия были полностью закрыты. После дождя в 14:30 соцветия слегка приоткрылись на 4,01%±0,16 и в 15:10 соцветия полностью

закрылись. Исходя из проведённых исследований, мы можем сделать вывод, что решающими факторами, влияющими на суточные биоритмы цикория, будут являться освещение, температура и влажность воздуха при нормальных условиях, а при экстремальных условиях накладывается воздействие антропогенного фактора, который вызывает глобальное потепление и изменение биоритмов растений и в том числе и у цикория.

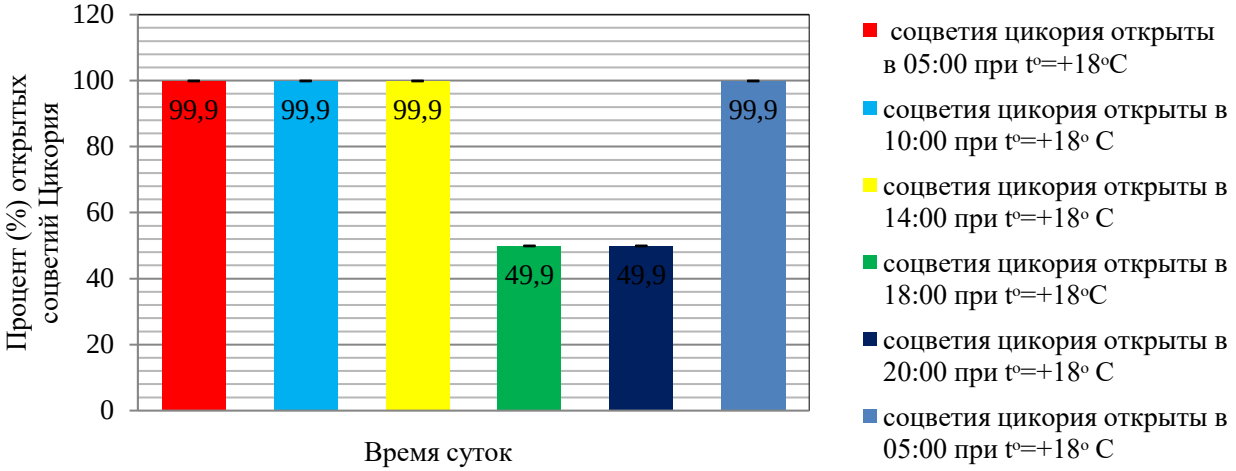


Рисунок 3 - Периодичность открытых соцветий цикория обыкновенного в разное время суток с Сентября по Ноябрь 2020 г. в процентах (%)

Средние показатели морфологической изменчивости признаков цикория обыкновенного представлены в Таблице 1. Кроме среднего значения была рассчитана ошибка отклонения от средней арифметической. Достоверность различия определялась по критерию Стьюдента.

Таблица 1 –Средние показатели морфологических признаков цикория обыкновенного в луговых ассоциациях Нижегородского мегаполиса за 2020 г.

Место обитания / Морфологические признаки	A	B	C	D	E
Высота стебля (см)	29,61±0,17	100,51±0,16	119,01±0,33	120,01±0,33	169,01±0,33
Длина прикор-невых листьев (см)	15,94±0,14	19,78±0,01	25,02±0,01	25,03±0,01	29,59±0,09
Ширина прикорневых листьев (см)	3,24±0,04	4,32±0,23	4,62±0,45	4,61±0,45	6,81±0,51
Количество веток на стебле	9,01±0,16	11,61±0,16	14,01±0,17	15,01±0.17	17,01±0,17
Количество соцветий на стебле	4,01±0,16	29,51±0,16	40,01±0,.16	41,01±0,16	59,01±0,16
Среднее значение диаметра соцветия	3,25±0,08	3,25±0,08	3,75±0,08	3,75±0,08	3,88±0,07

(см)					
Время открытия соцветий (час)	5,18±0.01	5,34±0,02	5,34±0,01	5,17±0,01	5,121±0,01
Время закрытия соцветий (час)	13,23±0,03	14,18±0,01	14,38±0,01	14,23±0,03	14,43±0,01

На пробной площади заложенной вблизи детской спортивной площадки достаточно высокий антропогенный прессинг, как в зимнее время года (катания на лыжах), так и летом (футбол, волейбол и игровые занятия), поэтому луговой войлок практически выбит, корни растений оголены, кроме того близость автострады создают загазованность, пыль, увеличение влажности воздуха. Согласно показаниям датчика концентрация частиц пыли 0,16 мг\м^3. По показаниям датчика pH от 7,0 ед. pH при t=+18^{o}C. У цикория обыкновенного самые низкие показатели морфологических признаков вблизи детской спортивной площадки. Они почти в 5,5 раз снижаются по сравнению с точкой контроля, что представлено на Рисунке 3. Обилие цикория снижается, Sol. (Solitaries) – растения единичны. Биоритмы цикория сбиваются. Растение позже распускает соцветия и раньше их закрывает по сравнению с точкой контроля. Ценопопуляция цикория обыкновенного на данной пробной площади имеет следующий возрастной состав: sm, pl, j, im, v, g1. Из- за вытаптывания и скашивания в конце лета под воздействием вышеперечисленных антропогенных факторов выпадают возрастные состояния, такие как g2, g3, ss, s, sc. Ценопопуляция цикория обыкновенного на этой пробной площади является неполно членной.

На пробной площади в окрестности старообрядческой церкви показатели габитуса цикория обыкновенного более чем в 3 раза выше по сравнению с пробной площадью на детской спортивной площадке, что представлено на Рисунке 4. Биоритмы цикория смещаются по сравнению с детской спортивной площадкой: соцветия открываются чуть позже, и закрываются на час позже по сравнению с детской спортивной площадкой, что свидетельствует об экологической нестабильности городской среды обитания. В окрестности Старообрядческой церкви, которая расположена на берегу реки Левинки мало посетителей, или полное отсутствие людей. Воздух менее загазованный. Согласно показаниям датчика концентрация частиц пыли 0,15 мг\м^3. По показаниям датчика pH от 7,1 ед. pH при t=+18^{o}C. На лугу отсутствует скашивание и вытаптывание. Мощность лугового войлока 5 см. В процессе исследований выявлен видовой состав, включающий 16 луговых видов. Таким образом, отсутствие антропогенного фактора повлияло на высокие показатели морфологических признаков и высокие показатели обилия у цикория обыкновенного: Cop. 1 (copiosae) - растение встречается довольно обильно. Ценопопуляция цикория обыкновенного на этой пробной площади имеет следующий возрастной состав: sm, pl, j, im, v, g1, g2, g3, ss, s, sc., поэтому является полно членной.

На пробной площади на пойменном лугу за детской больницей «Айболит» показатели габитуса цикория обыкновенного почти в 4 раза выше по сравнению с пробной площадью на детской спортивной площадке. Это связано с тем, что пробная площадь освобождена от различных развлекательных сооружений, что значительно снижает степень антропогенного воздействия. Воздух менее загазованный. Согласно показаниям датчика концентрация частиц пыли 0,15 мг\м^3. По показаниям датчика pH от 7,2 ед. pH при t=+18^{o}C. Некошеный и не истоптанный пойменный злаково- разнотравный луг вдоль реки Левинки изобилует разнообразием растительности, на нем и располагается наша пробная площадь. На лугу отсутствует дорожно-тропиночная сеть. Мощность лугового войлока 6 см. В процессе исследований выявлен видовой состав, включающий 26 видов.

Рисунок 4 - Гербарий одновозрастных экземпляров цикория обыкновенного собранный на А - детской спортивной площадке и Б -вблизи старообрядческой церкви

Биоритмы цикория смещаются по сравнению с детской спортивной площадкой: соцветия открываются незначительно позже и закрываются на час позже. Итак, отсутствие антропогенного фактора повлияло на высокие показатели морфологических признаков и обилия у цикория обыкновенного, а также стабилизацию биоритмов. Показатели обилия у цикория обыкновенного Cop.2 (copiosae) - растение встречается обильно. Ценопопуляция цикория обыкновенного на этой пробной площади имеет следующий возрастной состав: sm, pl, j, im, v, g1, g2, g3, ss, s, sc., поэтому является полно членной.

На пробной площади в окрестностях трамвайной линии на ул. Берёзовской между трамвайными остановками «Красных зорь» и «Сормовский парк» показатели габитуса цикория обыкновенного почти в 4 раза выше по сравнению с пробной площадью на школьной спортивной площадке Увеличение показателей морфологических признаков цикория связано с тем, что. антропогенный прессинг вдоль трамвайной линии значительно снижается, так как малое количество, или отсутствие людей, кроме того, отсутствует скашивание и вытаптывание. Вблизи пробной площади имеются заброшенные деревянные постройки, пустырь на пойменном разнотравно - злаковом лугу вдоль реки Левинки. Воздух менее загазованный. Согласно показаниям датчика концентрация частиц пыли 0,15 мг\м^3. По показаниям датчика pH от 7,3 ед. pH при t=+18^{o}C. Мощность лугового войлока 6 см. Биоритмы цикория отличаются по сравнению с детской спортивной площадкой. Соцветия открываются в то же время, что и на детской спортивной площадке, а закрываются на час позднее. В процессе исследований выявлен видовой состав, включающий 20 видов. Таким образом, отсутствие антропогенного фактора повлияло на высокие показатели морфологических признаков и обилия у цикория обыкновенного, а также стабилизацию биоритмов. Показатели обилия у цикория обыкновенного Cop.2 (copiosae) - растение встречается обильно. Ценопопуляция цикория обыкновенного на этой пробной площади имеет следующий возрастной состав: sm, pl, j, im, v, g1, g2, g3, ss, s, sc., поэтому является полно членной.

На контрольной пробной площади в окрестности с. Дмитриевское в пойме реки Ветлуги в Краснобаковском районе Нижегородской области показатели габитуса цикория обыкновенного почти в 5.5 раз выше по сравнению с пробной площадью на детской спортивной площадке. Биоритмы тоже стабилизируются: цикорий раньше открывает и позже закрывает свои соцветия. Довольно высокие показатели морфологических признаков цикория обыкновенного свидетельствуют, о высоких показателях богатства и достаточном количестве увлажнения почв,

что сказывается благоприятно на развитие цикория обыкновенного. В окрестности с. Дмитриевское малое количество, или отсутствие отдыхающих, а также отсутствие вытаптывания и выпаса, что исключает влияние антропогенного фактора. Воздух менее загазованный. Согласно показаниям датчика концентрация частиц пыли 0,05 мг\м^3. По показаниям датчика pH от 7,5 ед. pH при t=+18^{o}C. Мощность лугового войлока возрастает до 10 см. В процессе исследований выявлен видовой состав, включающий 26 видов. Показатели жизненности и обилия видов увеличиваются до 100 %. Цикорий обыкновенный почти сплошь закрывает пробную площадь, выступая доминантом травяно-кустарничкового яруса. Показатели обилия у цикория обыкновенного Soc. (sociales)– растение встречается в очень большом количестве, сплошь или почти сплошь покрывает пробную площадь, смыкаясь своими надземными частями.. Ценопопуляция цикория обыкновенного на этой пробной площади имеет следующий возрастной состав: sm, pl, j, im, v, g1, g2, g3, ss, s, sc., поэтому является полно членной. Высокие показатели обилия и в целом ресурсов цикория обыкновенного также наблюдаются в окрестности близ лежащих деревень: д. Кашниково, д.Здекино, д.Безглядово на сенокосах и заброшенных пашнях. Цикорий активно заготавливается местным населением в качестве лекарственного и пищевого сырья. Этому благоприятствует экологически чистая обстановка в Краснобаковском районе Нижегородской области.

Проанализировав всю совокупность показателей морфологических признаков и биоритмов цикория обыкновенного на всех пробных площадях исследования, мы определили самые высокие показатели морфологических признаков и биоритмов цикория обыкновенного в окрестности с. Дмитриевское Краснобаковского района Нижегородской области и близлежащих деревень. Самые низкие показатели морфологических признаков и биоритмов цикория в окрестности детской спортивной площадки на улице Берёзовская в г. Нижнем Новгороде. Это свидетельствует о более стабильной экологической обстановке в Краснобаковском районе Нижегородской области и более нестабильной экологической обстановке в городе Н. Новгороде.

В ходе исследований была изучена морфологическая изменчивость ценопопуляций и биоритмы цикория обыкновенного в рекреационно перегруженных условия Нижегородского мегаполиса. Поставленная цель и задачи в ходе исследования решены. Мы выдвинули предположение и обосновали, что в настоящее время цикорий обыкновенный подвержен большому антропогенному прессингу. Антропогенный прессинг в целом, вызывая глобальное потепление, повлиял на высокие температуры октября 2020 года и привел к изменению биоритмов растений, в том числе и у цикория обыкновенного, до такой степени, что он перестал быть линнеевскими «цветами-часами». То есть если в летний период соцветия цикория открывались в 5:00 и закрывались в 13:00-14:.30, то осенью 2020 года потепления климата привело к сбою биоритмов: цикорий открывался в 5:00 утра, а закрывался значительно позднее 18:00 и 20:00. Зачастую соцветия цикория оставались приоткрытыми в тёмное время суток на 50 % . Кроме изменения биоритмов антропогенное воздействие повлияло на морфологическую изменчивость цикория обыкновенного. В наиболее рекреационно нарушенных лугах, в окрестности детской спортивной площадки морфологические показатели и габитус цикория обыкновенного уменьшаются в 5,5 раз по сравнению с точкой контроля. Под воздействием антропогенного прессинга из ценопопуляций цикория обыкновенного выпадают такие возрастные состояния, как g2, g3, ss, s, sc. В таком случае ценопопуляции становятся неполно членными.

ВЫВОДЫ

1. Под воздействием антропогенного прессинга, вытаптывания и скашивания в конце лета из ценопопуляций цикория обыкновенного выпадают такие возрастные состояния, как g2, g3, ss, s, sc. В таком случае ценопопуляции становятся неполно членными. В точке контроля, где отсутствует антропогенный прессинг, ценопопуляция цикория обыкновенного имеет следующий возрастной состав: sm, pl, j, im, v, g1, g2, g3, ss, s, sc, поэтому является полно членной.

2. Наиболее высокая степень морфологической изменчивости и сбой биоритмов у цикория обыкновенного наблюдаются в экологически нестабильной обстановке г. Нижнего Новгорода. В рекреационно нарушенных лугах морфологические показатели и габитус цикория обыкновенного уменьшаются в 5,5 раз по сравнению с точкой контроля. Сбой биоритмов привёл к тому, что цикорий обыкновенный перестал быть линнеевскими «цветами-часами». Вследствие потепления климата соцветия цикория могут оставаться открытыми на 50 % даже в тёмное время суток. Сроки цветения цикория обыкновенного сместились, и теперь он цветёт с июня по ноябрь.

3. Результаты исследований с использованием шкал Л.Г. Раменского показали, что цикорий обыкновенный – мезо ксерофит. цикорий растет на хорошо дренируемых почвах 60 – 65 ступень увлажнения шкалы Л.Г. Раменского, неприхотлив к плодородию почв, однако предпочитает достаточно плодородные почвы 9 – 12 ступень по богатству почв шкалы Раменского. цикорий обыкновенный предпочитает нейтральные почвы с pH от 7,0 до 7,5. Реакция почвенного раствора нейтральная. Увлажнение хорошо дренированных равнин степной зоны. Будучи луговым видом, не выдерживает затенение и лучше развивается в условиях хорошего освещения. Цикорий вынослив к задернованной и сильно уплотненной почве.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1.Агаджанян, Н. А. Биоритмы, среда обитания, здоровье: монография / Н. А Агаджанян , И. В. Радыш.- М. : Российский ун-т дружбы народов, 2013. — 362 с.

2.Арыкбаева, Н.М. Интродуцированные лекарственные растения природной флоры Кыргызстана в коллекции ботанического сада им. Э.З. Гареева НАН КР / Н.М. Арыкбаева, Н.В. Кенжебаева// Перспективы лекарственного растениеведения: сборник трудов международной научной конференции посвящённой 100-летию со дня рождения профессора А. И. Шретера (ВИЛАР, 1-2 ноября).- М., 2018.- С. 158-164.

3. Быков, В. А. Атлас лекарственных растений России / В.А. Быков, Т. А. Сокольская, Л. Н. Зайко и др..- М.: ВИЛАР, 2006.- 351 с.

4. Василевич В.И. Статистические методы в геоботанике.- Ленинград: Наука, 1969.-232 с

5.Воронов А. Г. Геоботаника.- М.: Высшая школа, 1973.-384с.

6. Грунская, Л. В. Геофизика и биоритмы : учеб. пособие. В 2 ч. Ч. 1 / Л. В. Грунская ; Владим. гос. ун-т им. А. Г. и Н. Г. Столетовых. – Владимир : Изд-во ВлГУ, 2018. – 180 с.

7.Залесов, С. В. Ценопопуляции лесных и луговых видов растений в антропогенно нарушенных ассоциациях Нижегородского Поволжья и Поветлужья: монография/ С.В. Залесов, Е.В Невидомова, А.М. Невидомов, Н.В. Соболев.- Екатеринбург: Уральский государственный Лесотехнический университет, 2013. -204 с.

8. Либберт Э. Физиология растений. М. : Мир, 1975. 580 с.

9.Масляков, В. Ю. Полевые экспедиционные исследования лекарственных растений в ВИЛАРЕ (2008-2015) / В.Ю. Масляков, Л.Н. Зайко, Н.Ю. Гудкова, Н.А Кунакова. О.В Журба, Н. Б.Фадеев // Биологические особенности лекарственных и ароматических растений и их роль в медицине: сборник научных трудов международной научно-практической конференции посвященной 85-летию ВИЛАР (ВИЛАР,23-25 июня).-М.:Щербинская типография, 2016.- С. 119-125.

10.Невидомова Е.В. Морфологическая характеристика экологических ареалов дубрав природоохранной территории Нижегородского мегаполиса» Стригинский бор» / Е.В Невидомова // Современная фитоморфология: материалы 3-й международной конференции по морфологии растений (Львовский национальный университет им. Ивана Франко, 13-15 мая,).- Львов, 2014-Т. 6 - С. 181 – 188.

11. Невидомова, Е.В. Ценопопуляции некоторых видов растений из семейства вересковые (Ericaceae L.) в Павловском районе Нижегородской области / Е.В. Невидомова, АМ. Невидомов, А.А. Спорышева // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии.- 2014 г..- № 7.- С.16-21.

12. Невидомова, Е.В. Влияние антропогенных факторов на ценопопуляции Чистотела большого (Chelidonium majus L.) в антропогенно нарушенных ассоциациях памятника природы

Нижегородского мегаполиса «Стригинский бор» / Е.В. Невидомова, Г.А. Невидомов, А.В. Лесин // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии.- 2015 г..- № 4.- С.15-19.

13.Невидомова, Е.В. Лекарственные растения и фитотерапия. Элективный курс: учебное пособие / Е.В Невидомова, О.В. Журба, Т.Н. Загуменникова, В.Ю. Масляков, Н.Б. Фадеев. - М.: ФГБНУ ВИЛАР,2016.- 68 с.

14. Невидомова, Е.В. Влияние антропогенных факторов на экологию Aegopodium podagraria L. в сосняках памятника природы «Дмитриевское» Краснобаковского района Нижегородской области / Е.В. Невидомова, М.А. Невидомова, А.М. Невидомов И А. Полшкова, Г.Ш. Юрасова // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии.- 2017 г..- № 3.- Т 20.- С.44-48.

15.Невидомова, Е.В. Влияние антропогенных факторов на ценопопуляции Hypericum perforatum L. в луговых ассоциациях Нижегородского мегаполиса / Е.В. Невидомова, М.А. Невидомова, А.М. Невидомов, Т.И. Молгачёва // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии.- 2018 г..- № 6.- Т 21.- С.53-58.

16. Невидомова, Е.В. Ценопопуляции Convallaria majalis L. в антропогенно нарушенных ассоциациях Нижегородского мегаполиса / Е.В. Невидомова, А.М. Невидомов, С.В. Залесов // Роль метаболомики в совершенствовании биотехнологических средств производства. По направлению «Метаболомика и качество жизни»: сборник трудов второй международной научной конференции (ВИЛАР, 6-7 июня).- М., 2019.- С. 397-403.

17. Раменский, Л. Г. Экологическая оценка кормовых угодий по растительному покрову/ Л.Г Раменский, И.А. Цаценкин, О.Н. Чижиков, Н.А. Антипин..- М.: Сельхоз. лит., 1956.- 471 с.

18.Савченко, И. В. Разработка фитоиндикационных шкал дикорастущих лекарственных ароматических и сопутствующих растений центральной части русской равнины / И.В. Савченко, Л.Н. Зайко, В.Ю. Масляков, Н.А. Кунакова // Перспективы лекарственного растениеведения: сборник трудов международной научной конференции посвящённой 100-летию со дня рождения профессора А. И. Шретера (ВИЛАР, 1-2 ноября).- М., 2018.- С.93-100.

19.Сайбель, О.Л. Накопление цикориевой кислоты в надземной части дикорастущего цикория обыкновенного (Cichorium intybus L.) / О.Л. Сайбель, С.Л. Баслинов, Т.Д. Даргаева // Перспективы лекарственного растениеведения: сборник трудов международной научной конференции посвящённой 100-летию со дня рождения профессора А. И. Шретера (ВИЛАР, 1-2 ноября).- М., 2018.- С.533-538.

20. Уранов А.А. Возрастной состав фитоценопопуляций как функции времени и энергетических волновых процессов /А.А. Уранов//Биологические науки.- 1975.- №2.-Т 18.-С. 17-34.

21.Шафин Р. М. Результаты наблюдений за биологией развития и способами размножения культивируемых лекарственных растений/ Р.М. Шафин // Перспективы лекарственного растениеведения: сборник трудов международной научной конференции посвящённой 100-летию со дня рождения профессора А. И. Шретера (ВИЛАР, 1-2 ноября).- М., 2018.- С.264-269.

INFLUENCE OF ECOLOGICAL FACTORS ON MORPHOLOGICAL VARIABILITY AND BIORITHM OF CICHORIUM INTYBUS L. IN MEADOW ASSOCIATIONS OF THE NIZHNY NOVGOROD MEGAPOLIS

PhD in Agriculture Nevidomov A. M., PhD in Biology, Associate Professor Nevidomova E. V., Nevidomova M. A.
CEO forest management enterprise TsNILKhI, Russia, Nizhny Novgorod, Lesokhimikov street 7, 603079
a) corresponding author – elena.nevidomova@yandex.ru

Abstract. I n the course of the research, the morphological variability and biorhythms of common chicory were studied in the recreationally overloaded conditions of the Nizhny Novgorod metropolis. Currently, common chicory is subject to great anthropogenic pressure. Anthropogenic pressure, causing global warming, influenced the high temperatures of October 2020 and led to a change in the biorhythms of Chicory vulgaris, so it ceased to be a Linnaean "flower clock". That is, if in the summer period Chicory inflorescences opened at 5:00 and closed at 13: 00-14: 30. In the fall of 2020, as a result of climate warming, chicory opened at 5:00 am and closed much later, at 4:00 pm, sometimes at 6:00 pm. Often the inflorescences of Chicory remained 50% ajar in the dark. Anthropogenic impact influenced the morphological variability of common chicory. In recreationally disturbed meadows, in the vicinity of a children's playground, the morphological indicators of Chicory ordinary decrease 5.5 times compared to the control point.

Keywords*: morphology, cenopopulations, biotic and abiotic factors, biorhythms of plants.*

УДК: 633.88:632.954:632.51 DOI: 10.52101/9785870191003_2021_172

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ГЕРБИЦИДА ГАМБИТ (ПРОМЕТРИН) В ПОСЕВАХ РАСТОРОПШИ ПЯТНИСТОЙ (*SILYBUM MARIANUM* (L.) GAERTN.)

доцент, к. с.-х. н. Якимович Е. А.[a)], к. с.-х н. Шкляревская О. А.

Республиканское унитарное предприятие “Институт защиты растений”, Беларусь, Минский район, аг. Прилуки, ул. Мира, 2, 223011

а) автор для переписки – belizr@tut.by

Аннотация. Проведено изучение биологической и хозяйственной эффективности применения гербицида почвенного действия Гамбит, СК (прометрин, 500 г/л) в посевах расторопши пятнистой (*Silybum marianum* (L.) Gaertn.). При внесении после посева до появления всходов культуры в норме 1,5–2,0 л/га гербицид обладал высокой биологической эффективностью (80–95 %) против однолетних двудольных (марь белая (*Chenopodium album*), трехреберник непахучий (*Tripleurospermum inodora*), торица полевая (*Spergula arvensis*), пастушья сумка (*Capsella bursa-pastoris*), горец шероховатый (*Poligonum scabrum*), горец вьюнковый (*Fallopia convolvulus*), ярутка полевая (*Thlaspi arvense*), падалица рапса (*Brassica napus* L.)) сорных растений, а также против однолетнего злакового вида – проса куриного (*Echinochloa crusgalli*) (60–80 %). Гербицид снижал засоренность и способствовал сохранению 3,9–4,2 ц/га урожая плодов расторопши пятнистой. Остаточных количеств прометрина в урожае плодов расторопши пятнистой после применения гербицида (через 91 день после обработки) обнаружено не было.

Ключевые слова: *расторопша пятнистая, сорные растения, гербициды, сохраненный урожай, остаточные количества гербицида, прометрин.*

ВВЕДЕНИЕ

Расторопша пятнистая (*Silybum marianum* (L.) Gaertn.) – это однолетняя культура сем. Asteraceae (Астровые). В естественных фитоценозах в условиях Республики Беларусь не произрастает, ее культивируемые площади составляют 20–30 га.

Родиной расторопши считается Южная Атлантическая Европа; растение широко распространено в Центральной Европе, Центральной и Западной Азии, Северной Африке, Северной и Южной Америке и Южной Австралии [1]. Ее возделывают в России [2], Польше, Чехии, Словакии, Болгарии, а также Иране, Китае и Индии [3]. Расторопша распространена как сорное растение в Западной Европе [4, 5].

Лекарственным сырьем расторопши являются плоды. Плод — семянка, эллиптическая обратнояйцевидная от 5 до 8 мм длины, шириной 2–4 мм, толщиной 1–3 мм, поверхность гладкая, иногда продольно-морщинистая, блестящая или матовая. Цвет от черного до светло-коричневого, иногда плоды пятнистые [2].

Основным действующим веществом лекарственного растения являются флаволигнаны (2–3 %): силибинин, силидианин, силикристин; кверцетин, силандрин, конифериловый спирт; 15–17 % протеина, 26 % клетчатки, 25–32 % жирного масла, углеводы и родственные соединения [2]. Именно благодаря наличию флаволигнанов, плоды этого растения нашли широкое применение в фармацевтике, поскольку проявляют противовоспалительную и антиоксидантную активность. Плоды расторопши применяют при алкогольных, токсических и лекарственных заболеваниях печени, вирусных гепатититах, циррозе и др. [1].

Видовой состав сорных растений в посевах расторопши пятнистой представлен трехреберником непахучим, просом куриным, марью белой, пастушьей сумкой, горцем шероховатым, звездчаткой средней и другими сорными видами. Вследствие конкуренции с сорняками потери урожая плодов расторопши пятнистой могут достигать 50–60 % [6].

Большую актуальность стали приобретать исследования по защите культуры с помощью гербицидов. Высокую биологическую активность в посевах расторопши пятнистой в России показали гербициды на основе трифлуралина [2]; в Чехии – граминициды на основе хизалофоп-П-этила и галоксифоп-Р-метила [7]. Эффективными также были гербициды — линурон, метрибузин, метазахлор, трибенурон-метил+тифенсульфурон-метил, флуроксипир [8].

Вопросам изучения биологической и хозяйственной эффективности применения гербицида на основе прометрина (Гамбит, КС) в посевах расторопши пятнистой и накопления остаточных количеств препарата в продукции посвящены наши исследования.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы

Исследования по изучению эффективности гербицидов в борьбе с сорняками в посевах расторопши пятнистой проводили в соответствии с общепринятыми методиками [9]. Почва опытного участка – дерново-подзолистая легкосуглинистая с содержанием гумуса 1,9–2,2 %, P_2O_5 – 334–401 мг/кг, K_2O – 268–354 мг/кг почвы и pH – 5,2–6,1. Полевые опыты проводили в посевах расторопши сорта Золушка на опытном поле РУП «Институт защиты растений» (аг. Прилуки Минского района) в 2014–2015 гг. и 2019–2020 гг. Предшественники: 2014 г. – яровой ячмень, 2015, 2019–2020 гг. – озимые зерновые. Культуру высевали в конце апреля – начале мая с шириной междурядий 15 см. Норма высева – 25 кг/га. Глубина заделки семян – 3–4 см. Уборка урожая выполнялась методом прямого комбайнирования.

Площадь опытной делянки 20 м^2, повторность четырехкратная, расположение делянок последовательное однорядное. Гербициды вносили методом сплошного опрыскивания ручным опрыскивателем "Jacto XP 12" (Бразилия). Расход рабочего раствора — 300 л/га.

Были изучены гербициды на основе действующего вещества прометрин — Гезагард, КС (500 г/л) (производитель – Сингента Кроп Протекшн АГ, Швейцария) – эталонный вариант и Гамбит, СК (500 г/л) (производитель – АО Фирма «Август», Россия) в норме 1,5 и 2,0 л/га. Гербицид Гезагард, КС включен в «Государственный реестр средств защиты растений и удобрений, разрешенных к применению на территории Республики Беларусь». Гербициды вносили в период после посева до появления всходов сорных растений. С целью определения эффективности гербицидов через месяц после обработки проводили количественный (1-й учет), через два месяца — количественно–весовой учет засоренности (2-й учет).

Обработку результатов проводили с использованием пакета прикладных программ Microsoft Office Excel, 2007.

Опыты по оценке влияния гербицида Гамбит, СК на присутствие в сырье остаточных количеств препарата выполнялись в 2016 г. сотрудниками лаборатории динамики остаточных количеств пестицидов РУП «Институт защиты растений» в соответствии с методическими указаниями [10].

Методы

Биологическую эффективность гербицидов определяли по формуле:

$$Ск = 100 - \frac{Во}{Вк} \times 100,$$

где: $C_к$ – снижение численности или сырой массы сорных растений в % к контролю;

$B_о$ – численность или сырая масса сорных растений в опыте, шт./м^2, г/м^2;

$B_к$ – численность или сырая масса сорных растений в контроле, шт./м^2, г/м^2.

Анализ на присутствие в сырье остаточных количеств препарата проводился с использованием газового хроматографа Hewlett Packard 5890 (США) с насадочной колонкой апиезон L длиной 2 м, температура термостата колонки 230 ℃, испарительной камеры – 230 ℃, детектора – 300 ℃. Предел количественного определения метода – 0,05 мг/кг.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

За годы исследований при количественном учете при внесении гербицида Гезагард, КС (2,0 л/га) двудольные сорные растения погибали на 85,4–100,0 %, Гамбит, СК (1,5 л/га) – на уровне 81,4–95,2 %, в норме 2,0 л/га – 88,9–100,0 % (таблица 1).

Таблица 1 — Биологическая эффективность гербицидов в посевах расторопши пятнистой против двудольных сорных растений

Вариант	Численность сорняков, шт./м^2 (1-й учет)				
	2014 г.	2015 г.	2019 г.	2020 г.	среднее
Вариант без обработки	144,0±36,4	57,0±10,9	57,0±7,2	193,0±124,1	112,8±107,3
	Снижение численности сорняков, %				
Гезагард, КС (2,0 л/га)	99,1±1,7	85,4±14,9	100,0±0	89,0±5,6	93,4±11,6
Гамбит, СК (1,5 л/га)	86,2±10,6	81,4±27,5	95,2±1,7	86,2±9,9	87,3±9,2
Гамбит, СК (2,0 л/га)	96,1±6,0	89,6±19,9	100,0±0	88,9±6,9	93,7±8,5
	Численность сорняков, шт./м^2 (2-й учет) масса сорняков, г/м^2				
Вариант без обработки	249,0±51,8 2193,5±1057,6	31,0±19,7 3357,0±1446,9	56,0±10,8 1421,6±90,2	207,0±75,6 1502,0±566,7	135,8±172,4 2118,5±1424,8
	Снижение численности сорняков, % Снижение массы сорняков, %				
Гезагард, КС (2,0 л/га)	92,5±11,9 95,5±5,9	73,8±15,3 82,6±6,5	99,1±0,7 99,3±0,6	85,7±10,2 73,8±13,6	87,8±17,2 87,8±18,7
Гамбит, СК (1,5 л/га)	89,4±3,1 90,8±9,0	77,3±13,9 74,9±22,5	89,9±2,4 94,6±1,4	79,4±5,5 66,0±10,9	84,0±10,5 81,6±21,4
Гамбит, СК (2,0 л/га)	96,2±5,2 98,1±3,2	88,5±6,6 83,8±7,5	98,7±1,8 99,2±0,4	86,7±12,3 74,7±16,1	92,5±9,3 89,0±18,8

Получена высокая эффективность препаратов в отношении горца шероховатого, мари белой, трехреберника непахучего, торицы полевой, пастушьей сумки, звездчатки средней, галинсоги мелкоцветной, падалицы рапса.

При количественно-весовом учете (через 2 месяца после обработки) при опрыскивании Гезагардом, КС (2,0 л/га) она составляла 73,8–99,1 % по численности и 73,8–99,3 % по массе, в среднем – 87,8 и 87,8 %. Гамбит, СК (1,5 л/га) снижал численность сорняков на 77,3–89,9 %, их массу – на 66,0–94,6 % (в среднем на 84,0 и 81,6 %). В более высокой норме (2,0 л/га) его эффективность составила 86,7–98,7 % по численности и 74,7–99,2 % по массе (в среднем 92,5 и 89,0 %) (таблица 1).

Применение Гамбита, СК в норме 1,5 л/га показало, что падалица рапса, торица полевая, трехреберник непахучий, горец шероховатый, пастушья сумка, звездчатка средняя и марь белая погибали с эффективностью более 80 %. Гербицид был менее эффективен (70–80 %) против ярутки полевой и горца вьюнкового; в отношении проса куриного, галинсоги мелкоцветной и вероники полевой его эффективность была ниже 70 % (таблица 2).

Хотелось бы отметить недостаточную эффективность прометринсодержащих препаратов по отношению к просу куриному, поскольку его позднее появление практически не контролируется данными гербицидами. В наших исследованиях в 2015 и 2020 гг. потребовалась обработка посевов расторопши пятнистой граминицидами (противозлаковыми препаратами). В производственных условиях при внесении прометринов также часто возникает вопрос о применении противозлаковых гербицидов в период вегетации культуры.

Наиболее оптимальные показатели гибели сорняков были получены от применения гербицидов в норме 2,0 л/га. В засушливые периоды вегетации нормы расхода препаратов в 1,5 л/га не позволяли эффективно бороться с сорняками. В норме 2,0 л/га пастушья сумка, падалица рапса, звездчатка средняя, торица полевая и трехреберник непахучий погибали на 90–100 %; с эффективностью в 80–90 % угнетались виды горца, марь белая и ярутка полевая. Менее чувствительными оказались галинсога мелкоцветная, вероника полевая и просо куриное, снижавшие численность на 60–80 % в зависимости от нормы и погодных условий.

Таблица 2 — Влияние гербицидов на засоренность расторопши пятнистой через два месяца после обработки, %

Сорные виды	Гезагард, КС		Гамбит, СК			
	2,0 л/га		1,5 л/га	2,0 л/га	1,5 л/га	2,0 л/га
	по численности	по массе	по численности		по массе	
Вероника полевая *Veronica arvensis* L.	57,8±14,5	42,0±8,9	53,9±5,1	69,5±11,4	45,7±10,4	58,8±2,4
Галинсога мелкоцветная *Galinsoga parviflora* Cav.	71,4±5,2	78,9±3,2	57,1±3,9	71,4±3,0	52,6±3,1	73,7±4,2
Горец вьюнковый *Fallopia convolvulus* (L.) A. Love	84,6±8,5	92,7±9,1	76,9±3,0	84,6±6,5	57,8±3,3	85,3±5,9
Горец шероховатый *Polygonum scabrum* Moench	86,3±9,0	76,2±16,4	88,9±5,9	91,9±8,4	81,3±16,4	94,7±5,4
Звездчатка средняя *Stellaria media* (L.) Vill.	92,4±18,9	96,2±7,2	88,4±11,4	92,9±8,3	86,9±28,3	91,2±19,6
Марь белая *Chenopodium album* L.	88,6±14,9	89,1±19,2	83,4±16,4	89,0±23,5	85,9±22,3	90,9±18,5
Пастушья сумка *Capsella bursa-pastoris* (L.) Medic.	92,9±8,3	86,1±14,9	88,5±7,0	93,0±9,9	85,7±11,4	93,9±10,4
Просо куриное *Echinochloa crusgalli* (L.) Beauv.	68,0±15,0	68,5±8,7	63,6±5,6	73,2±10,9	75,4±7,6	81,5±7,1
Рапс (падалица) *Brassica napus* L.	100,0±0,0	100,0±0,0	100,0±0,0	100,0±0,0	100,0±0,0	100,0±0,0
Торица полевая *Spergula arvensis* L.	95,5±6,7	91,8±9,0	90,9±7,1	95,5±6,4	90,2±12,6	93,5±7,1
Трехреберник непахучий *Tripleurospermum inodorum* (L.) Sch. Bip.	97,2±3,6	99,9±0,3	89,6±11,4	100,0±0,0	93,1±7,0	100,0±0,0
Ярутка полевая *Thlaspi arvense* L.	87,5±10,3	79,2±10,3	79,2±16,6	87,5±16,6	77,8±10,3	82,0±5,7

В среднем за 4 года применение гербицида Гамбит, СК (1,5 л/га) позволило сохранить 3,9 ц/га плодов расторопши пятнистой, внесение Гезагарда, КС и Гамбита, СК в норме 2,0 л/га – 4,2 ц/га, при урожайности в варианте без обработки 6,1 ц/га (таблица 3).

Таблица 3 — Урожайность плодов расторопши пятнистой

Вариант	Урожайность, ц/га				Среднее	
	2014 г.	2015 г.	2019 г.	2020 г.	ц/га	сохраненный урожай, ц/га
Вариант без обработки	8,4±2,1	5,2±4,7	8,7±2,2	1,9±1,3	6,1±5,1	-
Гезагард, КС (2,0 л/га)	13,0±1,3	10,0±0,5	11,1±0,6	7,0±0,8	10,3±4,0	4,2

Гамбит, СК (1,5 л/га)	12,3±4,5	10,0±0,5	10,6±1,1	7,2±0,7	10,0±3,4	3,9
Гамбит, СК (2,0 л/га)	13,2±1,8	10,2±2,5	11,0±1,2	6,8±0,3	10,3±4,2	4,2
$НСР_{05}$	2,16±0,29	1,76±0,29	0,89±0,31	0,78±0,31		

Остаточных количеств прометрина в урожае плодов расторопши пятнистой через 91 день после обработки препаратом Гамбит, СК (2,0 л/га) обнаружено не было выше чувствительности метода.

ВЫВОДЫ

Таким образом, гербицид Гамбит, СК (1,5–2,0 л/га) при внесении после посева до появления всходов культуры обладал высокой биологической эффективностью (80–95 %) против однолетних двудольных (марь белая, трехреберник непахучий, торица полевая, пастушья сумка, горец шероховатый, горец вьюнковый, ярутка полевая, падалица рапса) сорных растений, а также проса куриного (60–80 %). Препарат, являясь экологически безопасным, снижал засоренность и способствовал сохранению от 3,9 до 4,2 ц/га урожая плодов расторопши пятнистой. Остаточных количеств прометрина в урожае плодов расторопши пятнистой после применения гербицида (через 91 день после обработки) обнаружено не было.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Qavami, N. A Review on Pharmacological, Cultivation and Biotechnology Aspects of Milk Thistle (*Silybum marianum* (L.) Gaertn.) / N. Qavami, H. Naghdi Badi, MR Labbafi, A. Mehrafarin // Journal of Medicinal Plants. – 2013. – Vol 12 (47). – P. 19–37.
2. Пименов, К. С. Физиологические основы промышленной технологии культивирования расторопши пятнистой в Среднем Поволжье (Монография) / К. С. Пименов. — М., 2002. — 111 с.
3. Martinelli, T. Phenological growth stages of *Silybum marianum* according to the extended BBCH scale / T. Martinelli, J. Andrzejewska, M. Salis, L. Sulas // **Annals of Applied Biology**. – 2015. – Vol. 166 (1). – P. 53–66.
4. Týr, Š. Weed infestation in the stand of milk thistle and infestation in sustainable crop rotation / Š. Týr // Acta fytotechnica et zootechnica. – 2015. – Vol. 18 (4). – P. 90–94.
5. Vereš, T. Milk thistle (*Silybum marianum* (L.) Gaertn.) as a weed in sustainable crop rotation / T. Vereš, Š. Týr // Research Journal of Agricultural Science. – 2012. – Vol. 44 (2). – P. 188–122.
6. Якимович, Е. А. Защита лекарственных, пряно-ароматических и медоносных растений от сорной растительности: монография / Е. А. Якимович. – РУП «Институт защиты растений». – Минск: Колоград, 2018. – 272 с.
7. Vagnerova, L. Herbicide protection of milk thistle (*Silybum marianum* L. Gaertn.) stands / L. Vagnerova, H. Pluhackova, A. Vaculik // MendelNet 2017: proceedings of 24th International PhD Students Conference, Brno, Czech, 8–9 November 2017 / Mendel University in Brno; ed. R. Cerkal [et al]. – Brno, 2017. – P. 146–151.
8. Delchev, G. Efficacy of new herbicides and herbicide combinations on milk thistle (*Silybum marianum* Gaertn.) / G. Delchev, T. Barakova // Agrosym 2017: proceedings of VIII International Scientific Agriculture Symposium, Jahorina, Bosnia and Herzegovina, 5–8 Oct. 2017. – 2017. – P. 1564–1569.
9. Методические указания по регистрационным испытаниям гербицидов в сельском хозяйстве] / Министерство сельского хозяйства Российской Федерации, Российская академия сельскохозяйственных наук, Государственное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений»; ред. В. И. Долженко; сост. А. А. Петунова [и др.]; рец.: К. В. Новожилов, А. Н. Власенко. – Санкт-Петербург , 2013. – 280 с.
10. Методика определения прометрина, действующего вещества препарата гезагард, КС в воде, почве, воздухе рабочей зоны, растительных материалах методом газожидкостной

хроматографии: инструкция 4.1.10.-14-14-2006: – утв. Пост. Глав. Гос. сан. врача Респ. Беларусь 31.08.2006 г., № 108. – Минск: Мин-во здравоохранения Респ. Беларусь, 2006. – 8 с.

THE EFFECTIVENESS OF THE HERBICIDE GAMBIT (PROMETRYN) IN MILK THISTLE (*SILYBUM MARIANUM* (L.) GAERTN.) CROPS

Associate Professor, PhD in Agricultural Sciences Yakimovich A. [a)]
PhD in Agricultural Sciences Shklyarevskaya, O.
Republican Unitary Enterprise "Institute of plant protection", Belarus, ac. Priluki, Minsk region, St. Mira 2, 223011
a) corresponding author – belizr@tut.by

Abstract. The study of the biological and economic efficiency of soil herbicide Gambit, SC (prometryn, 500 g/l) application in milk thistle (*Silybum marianum* (L.) Gaertn.) crops has been carried out. By application after sowing before the crop seedlings emergence at a rate of 1,5–2,0 l/ha, the herbicide has had a high biological efficiency (80–95%) against annual dicotyledonous weeds (*Chenopodium album*, *Tripleurospermum inodora*, *Spergula arvensis*, *Capsella bursa-pastoris*, *Poligonum scabrum, Fallopia convolvulus, Thlaspi arvense,* rubbed out rape (*Brassica napus* L.) and also annual monocotyledon weed *Echinochloa crusgalli* (60–80 %). The herbicide has reduced weed infestation and contributed to the preservation of 3,9–4,2 cwt/ha of milk thistle seed yield. There were no prometryn residues in milk thistle seeds after the herbicide application (in 91 day after treatment).

Keywords: *milk thistle, weeds, herbicides, preserved crop, herbicide residues, prometryn.*

УДК: 577.156:547.944:615.322 DOI: 10.52101/9785870191003_2021_178

ИЗУЧЕНИЕ БЕЛКОВ И УГЛЕВОДОВ БУТОНОВ И НЕЗРЕЛЫХ ПЛОДОВ КАПЕРСА КОЛЮЧЕГО, ПРОИЗРАСТАЮЩЕГО В УЗБЕКИСТАНЕ И ИХ БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ

PhD, Рахимова Ш.Х.[a)], PhD, Саноев З.И., к.х.н. Жауынбаева К.С. к.х.н., Межлумян Л.Г., д.х.н., Рахманбердыева Р.К., д.техн.н. Садиков А.З., профессор, д.техн.н. Сагдуллаев Ш.Ш.

Институт химии растительных веществ им. акад. С.Ю. Юнусова Академии Наук Республики Узбекистан, г.Ташкент, ул. М. Улугбек, 77. Почтовый индекс 100170

а) автор для переписки – shahnoza2380@mail.ru

Аннотация. В статье приведены результаты изучения химического состава каперса колючего *(Capparis spinosa L).* Были получены данные по содержанию суммарного белка и его аминокислотного состава а также по влажности, зольности, минеральному составу и ИК-спектральному анализу. В минеральном составе бутонов преобладают по содержанию K, Mg, Ca, P что характеризует качество бутонов. Влажность и зольность составляют 11,15%, 7,19%, соответственно, а содержание белка в бутонах *C.spinosa* 23,3%.

В аминокислотном составе выявлено наличие 20 аминокислот, 8 из которых являются незаменимыми. Исследованы углеводы из плодов и бутонов растений Каперса колючего. Содержание и моносахаридные соотношения полисахаридов в различных органах растения распределено не одинаково. Установлено что, плоды и бутоны цветков *C.spinosa* являются источниками арабиногалактанами. Фармакологические данные свидетельствуют о том, что белки бутонов *C.spinosa* обладают гипогликемической активностью и укорачивают время свёртывания крови.

Ключевые слова: *бутоны и незрелые плоды каперса колючего, полисахариды, белки, аминокислоты, минеральный состав, биологическая активность*

ВВЕДЕНИЕ

Создание отечественных лекарственных препаратов на основе растительного сырья, культивируемого в Узбекистане является одной из актуальных задач современной фармацевтической промышленности. Решением данной задачи является внедрение в практику новых видов лекарственного растительного сырья уже изученных растений. Одним из таких примеров являются растения рода *Capparis* семейства Каперсовые (лат. *Capparidaceae*). Род *Capparis* семейства Каперсовые включает около 300 видов [1].

Известно, что распространенность сахарного диабета (СД) продолжает катастрофически увеличиваться. Если в 2000 г. в мире насчитывалось 171 млн. больных, в 2015 г. – 415 млн., то к 2040 г., по прогнозам экспертов Международной федерации диабета [2], их число повысится на 55% – более 642 млн. Необходимо также учитывать, что в половине случаев (46,5%) сахарный диабет остается не диагностированным. Поскольку сахарный диабет - хроническое заболевание, для его контроля пациенту необходимо принимать гипогликемические препараты пожизненно. Поэтому встает вопрос не только об эффективности, но и о безопасности такой терапии. Лекарственная безопасность является одним из приоритетных направлений современной медицины и фармации. Кроме того, по оценкам Международной федерации диабета (2013), к 2040 году у одного из 10 взрослых будет диабет [3]. Среди причин смерти от соматических заболеваний диабет занимает третье место после сердечно-сосудистых и онкологических заболеваний [4]. Как известно одно из опасных и часто встречаемых осложнений связано с нарушениями реологических свойств крови, такие как повышенная свёртываемость и тромбозов. Исходя из вышеизложенного, поиск и разработка новых эффективных гипогликемических средств из местного растительного сырья является актуальной задачей современной фармакологии. В связи с этим, в ИХРВ АН РУз проводятся широкомасштабные научные исследовательские работы в этом направлении.

Одной из этих работ является определение гипогликемического и антикоагулянтного действия белков *Capparis spinosa.*

В настоящее время актуальным является поиск новых высокоэффективных, малотоксичных биологически активных препаратов из доступных природных источников. Наибольшее признание в качестве таких веществ получили соединения полисахаридной природы. Их низкая токсичность для организма, большая степень свободы дозирования, экологически чистые и экономичные технологии производства привлекают внимание исследователей. Тем самым, интерес к полисахаридам, особенно растительным полисахаридам, как обладающим более низкой токсичностью существенно возрос. Если ранее полисахариды применялись в качестве вспомогательных веществ в производстве различных лекарственных форм, то в последнее годы их в большей степени рассматривают как биологические активные вещества, поэтому изучение полисахаридов: арабиногалактанов, пектиновых веществ высших растений вызывает большой интерес у исследователей по своему распространению, ценным физико-химическим свойствам и широкому спектру биологической активности.

Каперсы (цветочные почки), ягоды (плоды) каперсов, листья, корни и семена этого растения используются в медицине. Цветочные почки и листья *C.Spinosa* были изучены на содержание общих фенольных соединений, рутина, токоферолов, каротиноидов и витамина С и коррелировали с его лекарственным применением [5-6].

Из литературных данных известно что, в основном, изучаются биологически активные низкомолекулярные соединения из каперсов. Спиртовой экстракцией выделены алкалоиды каппарилозид А, стахидрин, нуклеозид аденозин, гипоксантин и урацил [7] Стахидрин, выделенный из *Capparis spinosa,* представляет значительный практический интерес как средство, оказывающее выраженное позитивное влияние на процесс свертывания крови, а также проявляет гипотензивное и седативное действие. Каперсы колючие широко распространены во всех областях Узбекистана и основным его алкалоидом является стахидрин, который составляет 50% суммы алкалоидов [8-9].

Бутоны каперсов, главную роль, в составе которых играет флавоноидный гликозид рутин, возбуждают аппетит, способствуют выделению желудочного секрета. Клинические исследования свойств корней каперсов в виде отвара или спиртовой настойки показали возможность быстро увеличивать свертываемость крови. Свежие части экзотического растения обладают антисептическим, диуретическим, обезболивающим действием [10-11].

Приведены данные по влиянию экстрактов общих флавоноидов, выделенных из плодов и семян растения *Capparis spinosa L.* на активность объем-зависимого анионного канала (ОЗАК). Установлено, что экстракты из плодов и семян каперсов полностью и необратимо блокируют активность ОЗАК в культуре клеток рака шейки матки человека HeLa [12-13].

Комплексное изучение липидов и углеводов корней *Capparis spinosa* исследовались как описано в работе [13]. В сообщении приведены результаты исследования корней *Capparis spinosa L*, произрастающего в Синьцзянь-Уйгурском автономном округе (Китай). Выход липидов составил 0,54 % от массы сырья. После выделения липидов шрот использовали для извлечения углеводов.

Целью настоящего исследования являлось изучение химического состава и характеристики белков и углеводов каперсов колючих, произрастающих в Узбекистане. Изучение биологической активности и определение перспективности их применения в практической медицине.

В химическом отношении полисахариды надземной части Каперсов изучены недостаточно. В связи с этим, стояла задача исследовать углеводы из плодов и бутонов растения с целью выявления биологической активности.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы. Объектом данного исследования являлись высушенные бутоны растений *Capparis spinosa L.* культивируемое в Узбекистане. Сбор сырья проводили в Ташкентской

области в Охангаранском и Кибрайском районах в 2016-2017 годув период начала плодоношения.

Методы. Анализ влажности проводили рекомендованным методом [14] в двукратной повторности. За окончательный результат принимали среднее из двух параллельных определений. Расхождения между параллельными определениями не превышало 0,3%.

Определение зольности проводили путем сжигания навески в муфеле при температуре 600-800^{0}С в течение 2-3 часов до исчезновения наличия в золе органических веществ в виде черных частиц [19].Содержание золы определяли по разности,между массой тигля до и после прокаливания в муфельной печи, выраженной в процентах к исходной навеске.

Для выделения белков биологический материал измельчали до разрушения клеточных стенок, получая гомогенат. Затем приступали к извлечению белков[14].Биологическая ценность белка растений, в основном, определяется его аминокислотным составом. Для оценки лекарственного достоинства растений большое значение имеет аминокислотный состав белков, особенно содержание незаменимых аминокислот, таких как: лизин, метионин, триптофан, валин, изолейцин, лейцин, треонин, фенилаланин. *Анализ ВЭЖХ ФТК-производных аминокислот.* Синтез ФТК (фенилтиокарбомаил) производных свободных аминокислот проводили по методу StevenA., Cohen Daviel [15]. Идентификацию ФТК-аминокислот проводили на хроматографе Agilent Technologies 1200 на колонке 75х4.6 mm Discovery HS C18. Раствор А: 0,14М CH_3COONa + 0,05% ТЭА pH 6,4, В:CH_3CN. Скорость потока 1,2 мл/мин, поглощение 269нм. Градиент %В/мин: 1-6%/0-2.5мин; 6-30%/2.51-40мин; 30-60%/40,1-45мин; 60-60%/45,1-50мин; 60-0%/50,1-55мин.

С целью определения элементного состава представленных на исследование образцов проводили ICP-масс спектральный анализ на приборе ICP-MS (масс-спектрометр с индукционно-связанной плазмой) AT 7500. Параметры прибора: мощность плазмы 1200 Вт, время интегрирования 0,1 сек. Калибровка прибора и количественный расчет проводились на основании мультиэлементного калибровочного стандарта фирмы “AgilentTechnologist”, 22 элемента [16].

ИК-спектры образцов проводили на ИК-Фурье спектрофотометре System 2000 фирмы Perkin Elmer модель 2000 в таблетках, спрессованных с KBr. Число сканирований -100 [17].

Оценка острой токсичности белковой фракции, выделенной из *Capparis spinosa* проводили как указано в методике [18].

Исследование углеводов. Плоды, бутоны, цветы растения Каперса сначала инактивировали по отдельности смесью хлороформ-метанол (1:1) для удаления не углеводных компонентов, затем 82%-ным спиртом извлекали спирторастворимые сахара (СРС) [19]. Объединенные спиртовые экстракты сгущали и анализировали бумажной хроматографией, обнаруживая фруктозу и сахарозу. Остаток сырья последовательно экстрагировали холодной водой, затем смесью 0,5% растворов щавелевой кислоты и оксалата аммония. Получили пектиновые вещества (ПВ).

Фармакологические эксперименты были выполнены на белых беспородных мышах и крысах самцах массой 18-22 и 200-220 г., содержащихся в стандартных условиях вивария при свободном доступе к воде и пище. Для изучения сахароснижающего и антикоагулянтного эффекта изучаемых частей растений и сборов была использована адекватная экспериментальная модель [20] сахарного диабета – глюкозной нагрузкой, вызванный внутрибрюшинным введением 35%-ного раствора глюкозы в дозе 3500 мг/кг массы животным всех групп, голодавшим в течение 24 часов. Изучаемый белок, полученный из надземных частей растения были введены перорально в дозе 50 и 100 мг/кг. В группе контроля введена дистиллированная вода. Все процедуры с животными проведеныв соответствии с требованиями международных рекомендаций Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или иных научных целях. Острую токсичность соединений определяли при пероральном способе введения. Для каждой дозы

использовано по 10 животных.Статистическая обработка результатов проведена по методу Литчфилда-Уилкоксона при P=0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Количественное определение показателей влажности, зольности, белкового состава плодов каперса (*Capparis spinosa L)* проводили в двукратной повторности. После проведенных расчётов установлено, что влажность и зольность составляют 11,15 %, 7,19 %, соответственно, а содержание белка в бутонах *C.spinosa* 23,3%. Результаты однократного изучения элементного состава, позволили определить количественное содержание 13 элементов. Содержание элементов рассчитывали с учетом их зольности. Результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1- Содержание минеральных веществ в бутонах *C.spinosa*, г/кг

Наименование элементов	Содержание элементов	Наименование элементов	Содержание элементов
Na	0,42221	Ca	1,33332
Mg	2,55553	Cr	0,01222
Al	0,09666	Mn	0,01222
P	3,44441	Fe	0,19999
S	0,41110	Cu	0,02888
K	18,88871	Zn	0,06111
I	-		

Как видно из таблицы 1, бутоны *C.spinosa* характеризуются умеренным содержанием минеральных веществ. В них преобладает содержание калия, фосфора, магния и кальция.

В результате биохимического исследования белков бутонов *C.spinosa* выявлено наличие 20 аминокислот, 8 из которых являются незаменимыми. Сумма незаменимых аминокислот составляет 85,76мг/г., сумма аминокислот 139,52 мг/г., что отражает биологическую ценность объекта исследования.

В ИК- спектрах лиофильно высушенных белков из бутонов *C. spinosa* обнаружена достаточно интенсивная полоса поглощения 1648 $см^{-1}$ (полоса Амид I), обусловленная деформационными колебаниями аминокарбонильных ($CO\text{-}NH_2$) групп пептидной связи.

Из плодов и бутонов цветов *C.spinosa* выделены водорастворимые полисахариды и пектиновые вещества. Дана их физико-химическая характеристика. Из водорастворимых полисахаридов (ВРПС) плодов выделен гомогенный арабиногалактан, где соотношение арабинозы и галактозы составляет 1:2. Полученные данные приведены в таблице 2 и 3.

Таблица 2-Количественное содержание полисахаридов из плодов и бутонов цветков *Capparis spinosa* и их моносахаридный состав

Тип ПС	Выход, %	Соотношение моносахаридных остатков, ГЖХ						UAc,%
		Rha	Ara	Xyl	Man	Glc	Gal	
плоды								
ВРПС	13±1	-	1,3±0,6	-	-	0,5±0,1	2,7±0,3	15±1
ПВ	7±1,5	1,5±0,5	2,5±0,5	0,5±0,1	-	2,0±0,2	3,0±0,2	72±2
Бутоны цветков								
ВРПС	9±1	-	1,2±0,2	-	-	1,0±0,1	2,5±0,1	25±2
ПВ	5±1,5	1,2±0,1	2,2±0,2	0,7±0,2	-	2,2±0,2	3,5±0,2	75±3

Как видно из таблицы 2, содержание и моносахаридные соотношения полисахаридов в различных органах растения распределено не одинаково.

ВРПС плодов представляют собой аморфный порошок с кремовым оттенком, хорошо растворяется в воде: водные растворы имеют $\eta_{отн}$=2,1 (с1% H_2O). Моносахаридный состав ВРПС представлен арабинозой, галактозой и уроновой кислотой. По данным гельфильтрации на сефадексе G-50 ВРПС представляет собой гетерогенный полисахарид. Для получения гомогенного полисахарида ВРПС фракционно осаждали этанолом из водного раствора, в результате получили четыре фракции с выходом, которые представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Выход и моносахаридное соотношение фракции плодов *Capparis spinosa*

Фракция	Выход, в %	Соотношение моносахаридов	ММ, кДа
Плоды			
I	13±0,7		35.000
II	32±1,3	1:2	34.000
III	6,2±1,0		33.000

Фракция-II - наибольшая по выходу и по данным гельфильтрации была гомогенной. В ее гидролизате методами БХ и ГХ обнаружили арабинозу и галактозу в соотношении 1:2, количество уроновой кислоты составило 15 %.

Исследование параметров острой токсичности белков *Capparis spinosa* проводили в опытах на белых мышах массой 18-22 г при внутрижелудочном способе введения. Вещество вводили в дозах от 500 мг/кг до 10000 мг/кг. Установлено, что белки *Capparis spinosa* у животных вызывали одинаковую картину отравления. При введении вещества в дозах от 500 до 4000 мг/кг существенных изменений со стороны общего состояния и поведения интактных животных за исключением кратковременного учащения дыхания не вызывал. При увеличении дозы (начиная с дозы 5000 мг/кг) отмечалось угнетение общего состояния, ограничение двигательной активности.

ВЫВОДЫ

Изучены физико-химические свойства *Capparis spinosa L.*,выращенные в Узбекистане. Разработана схема выделения очистки белков из бутонов *Capparis spinosa L.*,установлены количественные и качественные характеристики. Полученные данные указывают на перспективность использования сырья для получения лекарственных препаратов.

В результате проведённых исследований по полисахаридам бутонов плодов *Capparis spinosa L.,* является источником арабиногалактанов, обладающих иммуностимулирующей активностью.

По результатам фармакологических исследований белков и полисахаридов *Capparis spinosa* установлено, что в связи с отсутствием гибели животных в острых опытах белковой и полисахаридной фракциями, выделенными из бутонов растения *Capparis spinosa L.* **по параметрам степени токсичности можно отнести к 5 классу -** практически нетоксичные, LD_{50} составила (7014±2,8) мг/кг. Таким образом, белки бутонов *Capparis spinosa* обладают гипогликемическим свойством и укорачивают время свёртывания крови.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Вагабова, Ф.А. Каперсы колючие (*Capparis spinosa L.*) - Пищевое растение во флоре Дагестана // Повышение качества и безопасности пищевых продуктов.- Махачкала, 2019 года.- 188-190.

2. IDF Diabetes Atlas/ 6-th edition. Available from. http://www.idf.org/ diabetesatlas/6e/2013.

3. Sharofova, M.U. Diabetes mellitus: the modern state of the issue (part 1)/ M.U.Sharofova, Sh.S. Sagdieva et.al.// Avicenna Bulletin. - 2019. - 21(3):502-12.

4. Юлдашева, Н.Х. Фармакологическая оценка эффективности действия тритерпеновых гликозидов, флавоноидов, модифицированных экдистероидов при экспериментальном сахарном диабете// Автореферат диссертации доктора философии (Phd) по мед.н.-Ташкент.-2019.-51с.
5. Brindha, P. Chemical standardization studies on *Capparis spinosa L* / P.Brindha// Int. J. Pharm Sci. -2014.-6.- 47-54.
6. Aisa, N.A. Химический состав плодов *Capparis spinosa L* / N.A.Aisa, С.Ф. Арипова и т.д.// Химия природ. соедин. – 2007. -2.-149-151.
7. Ботиров, Р.А. *Capparis spinosa* – растительное сырьё для получения алкалоида стахидрина и морфо-анатомическое строение его вегетативных и генеративных органов/ Р.А. Ботиров, Г.М. Дусчанова и т.д. //Фармацевтический вестник Узбекистана. -2017.-3.-25-29.
8. Ботиров, Р.А. Технология производства алкалоида стахидрина из растения *Capparis spinosa L* / Р.А. Ботиров, Н.В.Валиев и т.д. // Universum: технические науки: электрон. научн. журн.-2020.-9(78).- 55-59.
9. Азизова, М.А. Разработка и оценка мази Кростопидин/ М.А. Азизова, Х.К.Жалилов и т.д. //Фармацевтический вестник Узбекистана.- 2016. -4.- 52-55.
10. Болотов, Б. Программа здорового питания академика Болотова. – Питер: 2011. - 320 с.
11. Иногамов, У.К. Влияние экстрактов общих флавоноидов каперсов *Capparis spinosa L* на регуляцию объема тимоцитов и целостность эритроцитов/ У.К. Иногамов, С.И.Рустамова и т.д.// Узбекский биологический журнал.- 2020. -2.-16-21.
12. Sonmezdag, A.S. Characterization of Aroma-Active Compounds, Phenolics, and Antioxidant Properties in Fresh and Fermented Capers *(Capparis spinosa)/* A.S. Sonmezdag, H.Kelebek// J. Food Sci. -2019. -V.84. -9. - 2449-2457.
13. Yili, A. Липиды и углеводы корней *Capparis spinosa/* A.Yili, Б.Т.Сагдуллаев и т.д.// Химия природ. соедин.-2006.- 1.- 81-82.
14. Ермаков, А.И. Методы биохимического исследования растений/ А.И.Ермаков, В.В. Арасимович - Ленинград: ВО «Агропромиздат» Ленинградское отделение, 1987. – 430 с.
15. Steven, A.C. Amino Acid analisis Utilizing Phenylisothiocyanate Derivatives/ A.C. Steven, D.J. Strydom// Anal. Biochem.- 1988.-174.-1-16.
16. Смирнова, Е.В. Определение макро- и микроэлементов в биологических стандартных образцах растительного и животного происхождения методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой/ Е.В. Смирнова, О.В.Зарубина// Современные методы анализа веществ и материалов: масс-спектрометрия. - 2014.-3.- 45-57.
17. Тарасевич, Б.Н. Основы ИК спектроскопии с преобразованием Фурье/- Москва: 2012. -22 с.
18. Хабриев, Р.У. Методические указания по изучению общетоксического действия фармакологических веществ/ Москва: 2005.-832 с.
19. Рахимов, Д.А. Углеводные и белковые компоненты *Helianthus tuberosus* их биологическая активность/ Д.А.Рахимов, К.С.Жауынбаева и т.д.// Химия природ. соедин.-2011.- 4.- 446-449.
20. Миронов,А.Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств/ Москва: 2012. - 944 с.

STUDY OF PROTEINS AND CARBOHYDRATES OF BUDS AND UNRIPE FRUITS OF PRICKLY CAPER GROWING IN UZBEKISTAN AND THEIR BIOLOGICAL ACTIVITY

Ph.D. in Technical Rakhimova Sh.Kh., Ph.D. in Medicine Sanoev Z. I.,
Ph.D. in Chemistry Jauinbaeva K.S., Ph.D. in Chemistry Mezhlumyan L.G.,
D.Sc.Chemistry Rakhmanberdieva R.K., D. Sc. in Technical Sadikov A.Z.,
Professor, D.Sc. in Technical Sagdullaev Sh.Sh.
S. Yu. Yunusov Institute of the Chemistry of Plant Substances, Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, 77, M. Ulugbek str., Tashkent, Postal code 100170
a) corresponding author – shahnoza2380@mail.ru

Abstract The article presents the results of studying the chemical composition of the prickly caper (*Capparis spinosa L.*). Data on the total protein content and its amino acid composition, humidity, ash content, mineral composition, and IR spectral analysis were obtained. Dominance of K, Mg, Ca, and P quantities in the mineral composition of the buds characterizes the quality of the plant. The quantitative moisture content was 11.15%, ash content 7.19%, and protein 23.3%. The amino acid composition of *C.spinosa* contains 20 amino acids, eight of which are irreplaceable. Carbohydrates from fruits and buds of spiny capers have been investigated. The content and monosaccharide ratios of polysaccharides in different plant organs are not equal. Carbohydrates from fruits and buds of prickly caper plant were studied. It was established that the fruits and flower buds of *Capparis spinosa* contain arabinogalactan. Pharmacological data indicate that the proteins of *Capparis spinosa* buds have hypoglycemic activity and shorten the blood clotting time.
Keywords: *buds and unripe fruits of prickly caper, polysaccharides, proteins, amino acids, mineral composition, biological activity.*

УДК 634.737:581 DOI: 10.52101/9785870191003_2021_185

ФЕНОЛОГИЧЕСКИЕ НАБЛЮДЕНИЯ И СРОКИ СОЗРЕВАНИЯ ШИШЕК, ШИШКОЯГОД ХВОЙНЫХ ПОРОД ПАРКА “ДЕНДРАРИЙ”, Г. СОЧИ

Пастухова И. С.

ФГБУ “Сочинский национальный парк” (Россия, г. Сочи, Курортный проспект, 74), 354002
pastuhovairyna@yandex.ru

Аннотация. Определены даты сроков созревания шишек, шишкоягод, плодов хвойных пород осуществлялся путём системы фенологических наблюдений. Хвойные породы парка “Дендрарий” по срокам пыления могут быть разделены на две группы: зимнего и весеннего (февраль-март) пыления. Сюда относятся: *Chamaecyparis funebris* Franco, *Chamaecyparis lawsoniana* Parl., *Chamaecyparis lawsoniana* cv. Pendula, *Chamaecyparis pisifera* Siebold & Zucc., *Chamaecyparis pisifera* Siebold & Zucc. cv. Filifera Aurea, *Cryptomeria japonica* D.Don, *Cryptomeria japonica f.elegans* (Jacob-Makoy) Beissn, *Cupressus cashmeriana* Carr., *Cupressus lusitanica* Mill. и др. Виды весеннего (апрель – май) пыления: *Abies nordmanniana* Spach, *Ginkgo biloba* L., *Cedrus deodara* G.Donfil, *Picea orientalis* (L.) Peterm., *Pseudotsuga menziesii* Franco, *Tsuga canadensis* Marsh., *Taxus baccata f. procumbens* (Loudon) Pilger. Хвойные породы первой группы пылят в период неустойчивой погоды на побережье, когда ясные солнечные дни сменяются дождливыми, а иногда и со снегом, повышенной влажностью воздуха. Поэтому у этих пород наблюдается очень растянутый период пыления, иногда до 3-3,5 месяца. Это явление отмечено у различных пород вне зависимости от их географического происхождения. Хвойные породы второй группы пылят в более благоприятное по погодным условиям время, и их пыление происходит дружно, в более короткое время. Особенно коротким периодом пыления отличаются местные кавказские породы - *Abies nordmanniana* Spach, *Picea orientalis* Lin K.

Ключевые слова: сроки созревания, шишки, шишкоягоды, плоды хвойных пород, фенологические наблюдения.

ВВЕДЕНИЕ

Хвойные породы имеют большое значение в зеленом строительстве, и их роль с каждым годом все увеличивается. Большинство хвойных пород являются вечнозелеными и долговечными. Парки, сады, созданные из хвойных и лиственных пород, очень декоративны. Кроме того, они оздоровляют окружающую местность и поэтому должны играть ведущую роль в ассортименте зеленых насаждений [1].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы - объектами исследований являлись плодоносящие хвойные растения, включённые в делектус парка «Дендрарий».

Виды и формы плодоносящих хвойных растений уточнялись в соответствии с каталогами [2].

Методы - при обследовании хвойных растений парка “Дендрария”, территория которого разделена на куртины, использовался покуртинный метод.

Определение даты сроков созревания шишек, шишкоягод, плодов хвойных пород осуществлялся путём системы фенологических наблюдений. Помечался день, когда шишки, шишкоягоды, плоды больше чем у половины наблюдаемых растений полностью приобрели свойственную им зрелую окраску [3].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Фенологические наблюдения за сроками созревания шишек, шишкоягод и плодов хвойных пород, в парке “Дендрарий”, проводили в течение последних 5 лет [Пастухова, 2017, 2018].

Хвойные породы парка “Дендрарий” по срокам пыления могут быть разделены на две группы: зимнего и весеннего (февраль-март) пыления. Сюда относятся: *Chamaecyparis funebris* Franco, *Chamaecyparis lawsoniana* Parl., *Chamaecyparis lawsoniana* cv. Pendula, *Chamaecyparis pisifera* Siebold & Zucc., *Chamaecyparis pisifera* Siebold & Zucc. cv. Filifera Aurea, *Cryptomeria japonica* D.Don, *Cryptomeria japonica f.elegans* (Jacob-Makoy) Beissn, *Cupressus cashmeriana* Carr., *Cupressus lusitanica* Mill., *Cupressus sempervirens* L.var. *horizontalis* Gord., *Cupressus sempervirens* L. var. *stricta Ait*., *Cupressus torulosa* D.Don, *Juniperus chinensis* L. *cv .Keteleerii*, *Juniperus chinensis* L. cv. *Variegata*, *Juniperus excelsa* Bieb., *Juniperus x media* Dmitr. cv. *Plumosa* Aurea, *Juniperus oblonga* M. Bieb cv. *Pendula*, *Juniperus pseudosabina* Fisch. & C.A. Mey, *Juniperus virginiana* L., *Juniperus virginiana* L. cv.*Glauca*, *Juniperus foetidissima* Willd., *Metasequoia glyptostroboides* Hu & Cheng, *Sequoia sempervirens* Endl., *Taxodium distichum* L. C. Rich, *Taxodium mucronatum* Ten., *Thuja koraiensis* Nakai, *Thuja occidentalis* L.

Виды весеннего (апрель – май) пыления: *Abies nordmanniana* Spach, *Ginkgo biloba* L., *Cedrus deodara* G.Donfil, *Picea orientalis* (L.) Peterm., *Pseudotsuga menziesii* Franco, *Tsuga canadensis* Marsh., *Taxus baccata f. procumbens* (Loudon) Pilger.

Хвойные породы первой группы пылят в период неустойчивой погоды на побережье, когда ясные солнечные дни сменяются дождливыми, а иногда и со снегом, повышенной влажностью воздуха. Поэтому у этих пород наблюдается очень растянутый период пыления, иногда до 3-3,5 месяца. Это явление отмечено у различных пород вне зависимости от их географического происхождения.

Хвойные породы второй группы пылят в более благоприятное по погодным условиям время, и их пыление происходит дружно, в более короткое время. Особенно коротким периодом пыления отличаются местные кавказские породы - *Abies nordmanniana* Spach, *Picea orientalis* Link.

Плодоношение хвойных пород отличается значительной растянутостью во времени. Это объясняется, видимо, тем, обстоятельством, что при фенологических наблюдениях у хвойных пород бывает трудно определить начало и конец созревания. Период созревания шишек часто совмещается с периодом их сбора.

Следует отметить растянутость плодоношения и у *Cupresus*, что может быть объяснено биологическими особенностями и пластичностью этих пород. Шишки *Cupresus* созревают на второй год.

Все *Pinus* проходят фазу пыления в апреле и мае. Как правило, пыление большинства *Pinus* совпадает с установлением на побережье сухой и теплой погоды, которая способствует быстрому созреванию пыльцы, хорошей летучести, успешному опылению женских шишек и последующему семеношению.

Срок созревания шишек у *Pinus* тоже отличается значительным постоянством и происходит у большинства видов в сентябре и октябре.

Шишки *Cedrus deodara* G.Donfil созревают в течение 1,5 лет. После созревания, на второй-третий год осыпаются.

Период созревания шишкоягод *Juniperus excelsa* Bieb., *Juniperus foetidissima* Willd. наступает в октябре-ноябре на второй год после цветения, поэтому на одном дереве имеются одновременно и зелёные и чёрно-синие шишкоягоды.

Пыление хвойных пород *Podocarpus macrophyllus* Lamb., *Podocarpus spinulosus* Mirb. проходит в мае-июне, созревают плоды в октябре.

В таблице 1. приведены данные о сроках созревания шишек хвойных пород.

Таблица 1 - Средние многолетние даты созревания шишек хвойных пород по месяцам

Вид	Родина	Созревание семян
1	2	3
Chamaecyparis funebris Franco	Китай	
Chamaecyparis lawsoniana Parl.	Зап. побережье Сев. Америки	20. VII - 15. VIII
Chamaecyparis lawsoniana cv. Pendula	культурная форма	20. VII - 15. VIII
Chamaecyparis pisifera Siebold & Zucc.	Япония	20. VII - 15. VIII
Chamaecyparis pisifera Siebold & Zucc. cv. *Filifera Aurea*	культурная форма	20. VII - 15. VIII
Cryptomeria japonica D.Don	Китай, Япония	23. VIII - 16. IX
Cryptomeria japonica f. elegans (Jacob-Makoy) Beissn	Садовая форма	23. VIII - 16. IX
Cupressus cashmeriana Carr.	Гималаи	8. VIII - 25. IX
Cupressus lusitanica Mill.	Юго-Вост. часть Сев. Америки: Мексика	10. VI - 13. VII
Cupressus sempervirens L.*var. horizontalis* Gord.	Малая Азия	10. VIII - 15. IX
Cupressus sempervirens L. *var. stricta* Ait.	Средиземноморье	10. VIII - 15. IX
Cupressus torulosa D.Don	Гималаи	15. VI - 10. VIII
Juniperus chinensis L. *cv. Keteleerii*	садовая форма	10. IX - 13. X
Juniperus chinensis L. *cv. Variegata*	садовая форма	10. IX - 13. X
Juniperus excelsa Bieb.	Балканы, Кавказ, Крым, малая Азия	25. IX - 23. X
Juniperus foetidissima Willd.	Балканы, Кавказ, Крым, малая Азия	15. X - 12. XI
Juniperus x media Dmitr. *cv. Plumosa Aurea*	садовая форма	10. IX - 13. X
Juniperus oblonga M. Bieb *cv. Pendula*	садовая форма	10. IX - 13. X
Juniperus pseudosabina Fisch. & C.A.Mey	Забайкалье, Китай, Монголия, Средняя Азия	15. IX - 17. X
Juniperus virginiana L.	Вост. часть Сев. Америки	19. VIII - 27. IX
Juniperus virginiana L.*cv. Glauca*	садовая форма	19. VIII - 27. IX
Metasequoia glyptostroboides Hu & Cheng	Китай	25. IX - 23.X
Sequoia sempervirens Endl.	Зап. часть Сев. Америки	12. IX - 3.X
Taxodium distichum L.C.Rich	Юго-Вост. часть Сев. Америки	30. IX - 28.X
Taxodium mucronatum Ten.	Северная Америка, Мексика	30. IX - 27. X
Thuja koraiensis Nakai	Корея	25. IX - 15.X
Thuja occidentalis L.	Сев.-Вост. часть Сев. америки	25. IX - 15.X
Ginkgo biloba L.	Вост. Китай, Япония Корея	14. IX - 15.X
Abies nordmanniana Spach	Кавказ	20. IX - 10.X
Cedrus deodara G.Donfil	Гималаи	10. X - 12. XI

Picea orientalis (L.) Peterm.	Кавказ, Малая Азия	30. VIII - 22. IX
Pinus bungeana Zucc.	Китай	20. IX
Pinus densiflora Siebold & Zucc.	Корея, Япония	22. X - 4. XI
Pinus halepensis Mill.	Средиземноморье	7. X – 20. X
Pinus massoniana Lamb.	Юго-Западный Китай	10. I - 15. II
Pinus nigra Arn.	Средиземноморье	17. IX – 25. X
Pinus pallasiana D.Don	Зап. Закавказье, Крым, Малая Азия	20. IX - 18. X
Pinus patula Schlecht. & Cham.	Мексика	27. IX - 9. X
Pinus pinaster Ait.	Средиземноморье	20. IX - 18. X
Pinus pinea L.	Средиземноморье	25. IX - 20. X
Pinus pityusa Stev.	Зап. Закавказье, Крым	6. X - 22. X
Pinus radiata D.Don	Зап. часть Сев. Америки	16. IX - 24. X
Pinus tabulaeformis Carr.	Китай	17. IX – 25. X
Pinus taeda L.	Юго-Вост. часть Сев. Америки	20. IX – 24. X
Pinus thunbergiana Franco	Китая, Корея, Япония	29. IX – 26. X
Pinus wallichiana A.B.Jacks.	Гималаи	16. IX - 24. X
Pseudotsuga menziesii Franco	Северная Америка	17. VIII - 22. IX
Tsuga canadensis Marsh.	Сев. часть Сев. Америки	5. IX - 10. X
Podocarpus macrophyllus Lamb.	Австралия	20. IX - 15. X
Podocarpus spinulosus Mirb.	Австралия	20. IX - 15. X
Taxus baccata f. *procumbens* (Loudon) Pilger	Кавказ, Европа, Сев. Африка, Юго-Зап. Азия	26. VII – 25. VIII

ВЫВОДЫ

Развитие акклиматизированных пород в новых условиях обитания особенно ярко проявляется в прохождении растениями различных фенологических фаз: набухании и распускании почек и листьев, бутонизации, цветении, созревании плодов и семян и других сезонных явлениях.

Некоторые интродуцированные древесные и кустарниковые породы по срокам своего развития очень похожи на местные породы, часть пород имеет отклонения от этих сроков. Одни породы устойчивы, легко переносят неблагоприятные факторы внешней среды, другие – в той или иной степени страдают.

Поэтому фенологические наблюдения, проводившиеся в парке «Дендрарий» на протяжении 5 лет, дают необходимый материал практическим работникам лесного, лесопаркового и паркового хозяйства по биологическим фазам (цветению, созреванию плодов, семян) ряда наиболее интересных интродуцированных древесных и кустарниковых видов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Плотникова Л. С. Хвойные растения [Текст] / Л. С. Плотникова. - Москва: Астрель, 2012. - 93, [2] с.

2. Солтани, Г. А., Анненкова И. В., Орлова Г. Л., Егошин А. В. Коллекционные растения сочинского "Дендрария": аннотированный каталог / Федеральное государственное бюджетное учреждение "Сочинский национальный парк", - Сочи: Сочинский нац. парк, 2016. - 171 с.

3. Войт, К. В. Инструкция по организации и производству глазомерных наблюдений за плодоношением древесных и кустарниковых пород: [Утв. 29.05.1947 г.] / М-во лесного

хозяйства СССР. - 2-е изд. - Ленинград: Москва: Гос. лесотехн. изд., [тип. в Пушкине Моск. обл.], 1947. - 20 с.
4. Пастухова И.С. Даты и сроки созревания плодов и семян у пальм и кордилин в парке “Дендрарий» // “Устойчивое развитие ООПТ»: ГКУ КК “Природный орнитологический парк в Имеретинской низменности” 1-3 ноября, Сочи 2017, Том 4, С 195-196.
5. Пастухова И.С. Сроки созревания плодов и семян вечнозеленых лиственных растений парка “Дендрарий” г. Сочи. // “Устойчивое развитие особо охраняемых природных территорий”: ГКУ КК “Природный орнитологический парк в Имеретинской низменности” 10-12 октября, Сочи 2018, Том 5, С. 240-242.

PHENOLOGICAL OBSERVATIONS AND MATURATION DATES OF CONIFEROUS CONES IN THE ARBORETUM PARK, SOCHI

Pastukhova I. S.
FGBU “Sochi National Park” (Russia, Sochi, Kurortny Prospekt, 74), 354002
pastuhovairyna@yandex.ru

Abstract. The dates of maturation of cones, pine cones, and coniferous fruits were determined by means of a system of phenological observations. Coniferous species of the Arboretum park can be divided into two groups according to the terms of dusting: winter and spring (February-March) dusting. These include: *Chamaecyparis funebris* Franco, *Chamaecyparis lawsoniana* Parl., *Chamaecyparis lawsoniana* cv. Pendula, *Chamaecyparis pisifera* Siebold & Zucc., *Chamaecyparis pisifera* Siebold & Zucc. cv. Filifera Aurea, *Cryptomeria japonica* D.Don, *Cryptomeria japonica f.elegans* (Jacob-Makoy) Beissn, *Cupressus cashmeriana* Carr., *Cupressus lusitanica* Mill. et al. Types of spring (April – May) dusting: *Abies nordmanniana* Spach, *Ginkgo biloba* L., *Cedrus deodara* G.Donfil, *Picea orientalis* (L.) Peterm., *Pseudotsuga menziesii* Franco, *Tsuga canadensis* Marsh., *Taxus baccata f. procumbens* (Loudon) Pilger.
Conifers of the first group are polluted during unstable weather on the coast, when clear sunny days are replaced by rainy, and sometimes with snow, high humidity. Therefore, these species have a very long dusting period, sometimes up to 3-3. 5 months. This phenomenon is observed in various breeds, regardless of their geographical origin. Coniferous species of the second group pollen at a more favorable time for weather conditions, and their dusting occurs together, in a shorter time. The local Caucasian breeds - Abies nordmanniana Spach, *Picea orientalis* (L.) Peterm. - have a particularly short dusting period.
Keywords: *maturation period, cones, cones, coniferous fruits, phenological observations.*

МЕТАБОЛОМИКА БИООБЪЕКТОВ

УДК 615.322 DOI: 10.52101/9785870191003_2021_190

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ СОСТАВА ЭКСТРАКТОВ ЦВЕТКОВ БЕССМЕРТНИКА ПЕСЧАНОГО В РАЗЛИЧНЫЕ ФЕНОЛОГИЧЕСКИЕ ФАЗЫ

Адамцевич Н. Ю. [1, a)], к.т.н. Феськова Е. В.[1], чл.-корр. НАН Беларуси, д.б.н. Титок В. В.[2]

1 - Учреждение образования "Белорусский государственный технологический университет», (Республика Беларусь, г. Минск, ул. Свердлова, 13а), 220006

2 - Государственное научное учреждение «Центральный ботанический сад Национальной академии наук Беларуси», (Республика Беларусь, г. Минск, ул. Сурганова, 2в) 220012

а) автор для переписки – natallia.adamtsevich@mail.ru

Аннотация. Цель данной работы заключалась в сравнительном анализе состава экстрактов цветков бессмертника песчаного в различные фенологические фазы. Бессмертника песчаного цветки являются фармакопейным растительным сырьем в различных странах, в том числе в Республике Беларусь и Российской Федерации. К преобладающему классу биологически активных веществ, которые содержатся в данном растительном сырье, относят флавоноиды. Одним из флавоноидов, идентифицированном в цветках бессмертника песчаного, является кемпферол-3-β-D-глюкопиранозид, который обладает ранозаживляющим действием. В работе представлен сравнительный анализ хроматограмм экстрактов цветков бессмертника песчаного в фазе бутонизации и в фазе цветения. Установлено, что компонентный состав полученных экстрактов практически идентичен, однако количественное содержание кемпферол-3-β-D-глюкопиранозида в фазе бутонизации выше, чем в период цветения. Проведена сравнительная оценка элементного состава золы цветков бессмертника песчаного в зависимости от фенологической фазы, определено количественное содержание 11 макро- и микроэлементов. В каждой фазе развития растения отмечено высокое содержание кальция и калия.

Ключевые слова: бессмертник песчаный (Helichrysum arenarium L.), фенологическая фаза, кемпферол-3-β-D-глюкопиранозид, высокоэффективная жидкостная хромато-масс-спектрометрия, сканирующая электронная микроскопия, макроэлементы, микроэлементы.

ВВЕДЕНИЕ

Бессмертник песчаный (Helichrysum arenarium L.) – многолетнее травянистое растение, вид рода Цмин (*Helichrysum*) семейства Астровые (*Asteraceae*) – произрастает на юге и в средней полосе Европейской части, реже встречается в северных областях, степной части Западной Сибири и на Кавказе.

Бессмертника песчаного цветки (*Helichrysi arenari flores*) являются фармакопейным растительным сырьем в Республике Беларусь, Российской Федерации, Украине, Казахстане, Польше, Германии и др. странах [1, 2]. Из данного вида растительного сырья производится лекарственное средство «Фламин», которое применяется для лечения хронических форм холецистита, гепатохолецистита и болезней желчного пузыря.

В цветках бессмертника песчаного встречаются флавоноиды, кумарины, гидроксикоричные кислоты, дубильные вещества, каротиноиды, витамины, полисахариды, следы эфирного масла, соли калия, кальция и марганца [3–5].

Преобладающим классом биологически активных веществ (БАВ) в цветках бессмертника песчаного являются флавоноиды. В Государственной Фармакопее Республики Беларусь (ГФ РБ) общее содержание флавоноидов определяют в пересчете на рутин, при этом

их содержание в сырье не должно быть ниже 2,5 % [6]. В Государственной Фармакопее Российской Федерации определение общего содержания флавоноидов в экстракте цветков бессмертника песчаного выполняют относительно изосалипурпозида [7]; в Государственной Фармакопее Украины – относительно гиперозида [8].

При изучении химического состава некоторых видов лекарственных растений из коллекции Центрального ботанического сада Национальной академии наук Беларуси (ЦБС НАН Беларуси) в экстракте цветков бессмертника песчаного обнаружен кемпферол-3-β-D-глюкопиранозид [9]. Данный флавоноид обладает ранозаживляющим действием [10].

Синтез и накопление БАВ в растениях является динамическим процессом, который изменяется в онтогенезе растения и зависит от многочисленных факторов окружающей среды. При изучении динамики накопления флавоноидов в цветках бессмертника песчаного установлено, что наибольшее содержание данного класса БАВ наблюдается в фазу бутонизации [11].

Известно, что лекарственные растения, содержащие различные группы органических БАВ, обладают избирательной способностью к накоплению определенных макро- и микроэлементов, которые участвуют в их биосинтезе или сочетаются с их действием.

Цель работы – сравнительный анализ состава экстрактов цветков бессмертника песчаного в фазе бутонизации и цветения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы. Объектом исследования являлись цветки бессмертника песчаного из коллекции лекарственных растений ЦБС НАН Беларуси (урожай 2020 г).

Сырье экстрагировали 50 %-ным этиловым спиртом, для приготовления которого использовали 96 %-ный этиловый спирт (ГФ РБ, Т.1, стр. 699) и воду дистиллированную (ГФ РБ, Т.1, стр 616).

Для анализа экстрактов методом высокоэффективной жидкостной хромато-масс-спектрометрии (ВЭЖХ-МС) использовали ацетонитрил (CARLO ERBA Reagents, партия P9I107, годен до 01.12.2022 года, Германия, Standard certificate of analysis 412390000; ГФ РБ, Т.1, стр.607) и муравьиную кислоту безводную (Sigma-Aldrich, партия SHBM 1877, годен до 31.05.2021, Германия, Certificate of analysis; ГФ РБ, Т.1, стр. 667). Для качественного и количественного определения кемпферол-3-β-D-глюкопиранозида использовали стандартный раствор коммерческого препарата кемпферол-3-β-D-глюкопиранозида (Sigma-Aldrich, партия DCCD 3647, годен до 22.05.2025, Германия, Certificate of analysis PhytoLab GmbH & co.KG). Все реактивы приобретены кафедрой биотехнологии БГТУ.

Методы. Растительное сырье собирали вручную на различных этапах развития растения, раскладывали тонким слоем и сушили естественным путем без доступа прямых солнечных лучей. Влажность сырья определяли согласно методике, приведенной в ОФС 2.2.32 «Потеря в массе при высушивании» (ГФ РБ).

Сухие цветки бессмертника песчаного экстрагировали методом трехкратной экстракции, которая заключалась в получении отдельных водно-спиртовых вытяжек 40%-ным, 70%-ным и 96%-ным этиловым спиртом с последующим их объединением. Продолжительность экстрагирования каждой порции составляла 30 мин при 70–75 °С, соотношение массы сырья к объему экстрагента – 1 : 50 – для первой порции, 1 : 25 – для последующих.

Анализ экстрактов методом ВЭЖХ-МС проводили с помощью хромато-масс-спектрометра жидкостного (Waters, США), колонка – BDS HYPERSIL C_{18} 250×4,6 мм, 5 мкм (Thermo Electron Corporation, США). В качестве подвижной фазы использовали ацетонитрил : вода с 1 %-ной муравьиной кислотой в соотношении 20 : 80 в изократическом режиме при скорости элюирования 1 мл/мин. Регистрацию хроматографического разделения осуществляли с помощью диодно-матричного детектора в диапазоне длин волн 200–700 нм и масс-детектора с электроспрей ионизацией (ESI). Регистрацию масс-спектров проводили в области

отрицательных и положительных ионов при следующих параметрах: напряжение на капилляре – 3 кВ, напряжение на конусе – 20 В, напряжение на экстракторе – 3 В, температура десольватации – 350 °С, температура источника – 130 °С, общий расход инертного газа (азота) – 480 л/ч. Обработку результатов осуществляли при помощи программного обеспечения Mass Lynx.

Определение количества общей золы выполняли согласно методике, приведенной в ОФС 2.4.16 «Общая зола» (ГФ ГБ). Элементный состав образцов золы изучали с помощью сканирующего электронного микроскопа JSM-5610 LV с системой химического анализа EDX JED-2201 (JEOL, Япония).

Все анализы проводили в трехкратной повторности. Для статистической обработки полученных результатов использовали программу Microsoft Office Excel 2007.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На рисунке представлены хроматограммы экстрактов цветков бессмертника песчаного в периоды бутонизации и цветения.

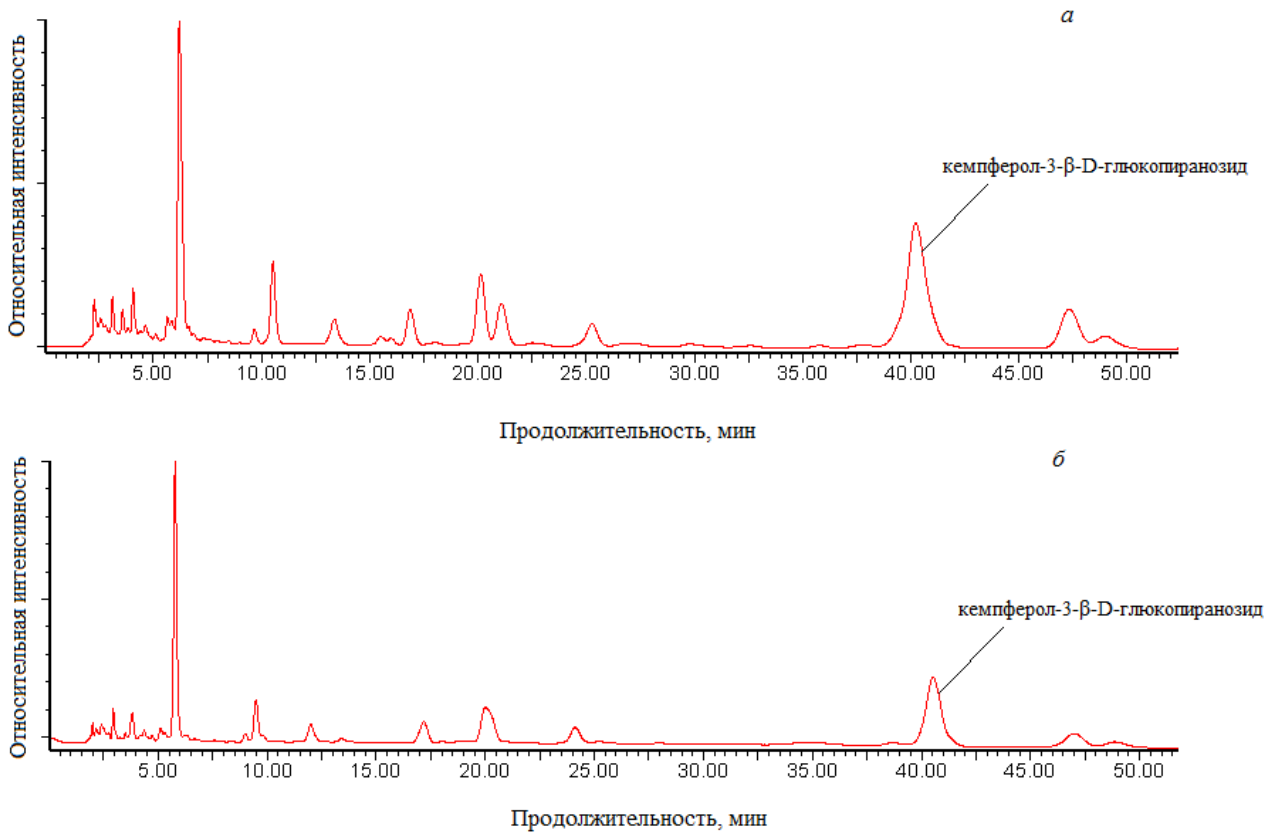


Рисунок – Храматограммы экстрактов цветков бессмертника песчаного
а – фаза бутонизации; *б* – фаза цветения

Как видно из рисунка, компонентный состав полученных экстрактов практически идентичен, однако на хроматограмме экстракта цветков бессмертника песчаного в фазе бутонизации наблюдается пик с временем удерживания 21.33 мин, который отсутствует в фазе цветения. Отличие наблюдается и в интенсивности пиков. В каждом из исследуемых экстрактов идентифицирован кемпферол-3-β-D-глюкопиранозид, количественное содержание которого в экстракте цветков бессмертника песчаного в фазе бутонизации составило (4,06±0,11) мг/г сырья, в фазу цветения – (3,86±0,09) мг/г сырья.

В золе цветков бессмертника песчаного определено количественное содержание 11 макро- и микроэлементов (таблица). При сравнительном анализе исследуемых образцов наряду с

идентичностью качественного состава отмечено варьирование количественного содержания элементов в зависимости от фазы развития растения.

Согласно данным, приведенным в таблице, преобладающими элементами в цветках бессмертника песчаного являются кальций и калий.

Калий – один из наиболее важных элементов растений, который необходим при синтезировании крахмала, жиров, белков и сахарозы, защищает от обезвоживания, укрепляет ткани, предупреждает преждевременное увядания цветков, повышает сопротивляемость культур к различного рода патогенам [12].

Таблица – Содержание макро и микроэлементов в золе цветков бессмертника песчаного в различные фенологические фазы

Элемент	Фенологическая фаза	
	Бутонизация	Цветение
	Содержание элемента, г/100 г золы	
Натрий	не обнаружен	0,06±0,00
Магний	2,69±0,06	3,18±0,07
Алюминий	0,42±0,01	1,01±0,02
Кремний	1,17±0,02	0,89±0,03
Фосфор	3,06±0,08	3,93±0,11
Сера	1,22±0,03	1,80±0,05
Хлор	1,93±0,05	3,08±0,07
Калий	42,79±1,02	45,66±1,21
Кальций	16,75±0,53	13,49±0,49
Медь	4,26±0,12	3,35±0,07
Цинк	2,84±0,05	1,95±0,07

Кальций участвует в углеводном и белковом обмене растений, в образовании хлоропластов. Данный элемент необходим для нормального усвоения растением аммиачного азота, затрудняет восстановление в растениях нитратов до аммиака. От кальция в высокой степени зависит построение клеточных оболочек.

Важным элементов является медь – принимает участие в белковом, углеводном и фенольном обменах, активизирует пероксидазу. Накопление данного элемента проявляется влиянием на содержание различных фенольных соединений, в том числе флавоноидов [13]. Наибольшее количество меди в цветках бессмертника песчаного наблюдалось в фазе бутонизации. Ранее проведенными исследованиями установлено, что в данном растительном сырье максимальное накопление флавоноидов происходит также в период бутонизации [11].

ВЫВОДЫ

Проведен сравнительный анализ состава экстрактов цветков бессмертника песчаного в фазе бутонизации и в фазе цветения. Установлено, что компонентный состав полученных экстрактов практически идентичен, однако количественное содержание кемпферол-3-β-D-глюкопиранозида в фазе бутонизации выше, чем в период цветения.

Проведена сравнительная оценка элементного состава золы цветков бессмертника песчаного в зависимости от фенологической фазы, определено количественное содержание 11 макро- и микроэлементов. В каждой фазе развития растения отмечено высокое содержание кальция и калия.

Согласно полученным результатам исследований можно сделать вывод о том, что оптимальным периодом сбора цветков бессмертника песчаного является период бутонизации.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Попова, Н. В. Лекарственные растения мировой флоры / Н. В. Попова, В.И. Литвиненко. – Харьков: Диса-плюс, 2016. – 540 с

2. К вопросу об изосалипурпозида-стандарте в контроле сырья и фито препаратов из бессмертника песчаного / В. И. Литвиненко [и др.] // Фармаком. – 2016. – № 3. – С. 23–27.

3. Полифенольные соединения новой биологически активной композиции из цветков бессмертника песчаного (*Helichrysum arenarium* (L.) Moench.) / В. С. Гринёв [и др.] // Химия растительного сырья. – 2015. – № 2. – С. 177–185.

4. Sandy Everlasting (*Helichrysum arenarium* (L.) Moench): Botanical, Chemical and Biological Properties / D. Pljevljakusi [et al.] // Frontiers in Plant Science. – 2018. – Vol. 9. – P. 1123–1135.

5. Куркина, А. В. Исследование компонентного состава цветков *Helichrysum arenarium* (L.) Moench. / А. В. Куркина // Химия растительного сырья. – 2011. – №2. – С. 113–116.

6. Государственная Фармакопея Республики Беларусь II. В 2 Т. Т.2. Контроль качества субстанций для фармацевтического использования и лекарственного растительного сырья / М-во здравоохранения Республики Беларусь, РУП «Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении», 2016. – 1367 с.

7. Государственная Фармакопея Российской Федерации XIX. В 4 Т. Т.4. / М-во здравоохранения Российской Федерации, 2018. – 1833 с.

8. Державна Фармакопея України 2-е вид. Доповнення 1. / М-во охорони здоров'я України, Державна служба України з лікарських засобів та контролю за наркотиками, 2016. – Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». – Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2016. – 360 с.

9. Условия экстракции и идентификации флавоноидов, стимулирующих регенерацию тканей / Е. В. Феськова [и др.]. // Труды БГТУ. Сер. 2, Химические технологии, биотехнологии, геоэкология. – 2019. – №1. – С. 49–53.

10. Evaluation of wound healing activity of flavonoids from Ipomoea Carnea Jacq. / S. Ambiga [et al.] // Ancient Science of Life. – 2007. – Vol. 3. – P. 45–51.

11. Адамцевич, Н. Ю. Динамика накопления флавоноидов в цветках бессмертника песчаного в различные фенологические фазы / Н. Ю. Адамцевич, В. С. Болтовский, В. В. Титок // Технология органических веществ: материалы 85-ой науч.- технич. конференции профессорско-преподавательского состава, научных сотрудников и аспирантов (с международным участием) (БГТУ, 1–13 февраля 2021 г.) – Минск, 2021. – С. 355–356.

12. Жукова, В. Г. Изучение влияния ионов калия, кальция и магния на рост и развитие растений / В. Г. Жукова, М. С. Светличная // Достижения науки и образования. – 2018. – № 14 (36). – С.13–15.

13. Кузьмичева, Н. А. Влияние микроэлементов на накопление флавоноидов в проростках гречихи посевной / Н. А. Кузьмичева, А. В. Руденко, Е. А. Мозолевская // Вестник фармации. – 2005. – № 2. – С. 17–24.

COMPARATIVE ANALYSIS OF THE COMPOSITION OF FLOWER EXTRACTS OF THE EVERLASTING IN DIFFERENT PHENOLOGICAL PHASES

Adamtsevich N. Yu. [1, a)], Ph.D. in Engineering Feskova A.[1],
corresponding Member of the NAS of Belarus, D.Sc. in Biology Titok V. V. [2]
[1]Belarusian State Technological University (Republic of Belarus, Minsk, Sverdlov Str., 13a) 220006
[2]Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus (Republic of Belarus, Minsk, Surganov Str., 2v) 220012
a) corresponding author – natallia.adamtsevich@mail.ru

Abstract. The purpose of this work was the comparative analysis of the composition of the extracts of the flowers of the everlasting in various phenological phases. Flowers of the everlasting are pharmacopoeial plant raw materials in various countries, including the Republic of Belarus and the Russian Federation. The predominant class of the biologically active substances that are contained in this plant material is flavonoids. One of the flavonoids identified in the flowers of the everlasting is kaempferol-3-β-D-glucopyranoside, which has a wound-healing effect. The paper presents a comparative analysis of the chromatograms of the extracts of the everlasting flowers in the budding stage and in the flowering stage. It was found that the component composition of the obtained extracts is practically identical, however, the quantitative content of kaempferol-3-β-D-glucopyranoside in the budding stage is higher than in the flowering stage. A comparative assessment of the elemental composition of the ash of the everlasting flowers is carried out, depending on the phenological phase, the quantitative content of 11 macro- and microelements was determined. In each phase of plant development, a high content of calcium and potassium is noted.

Keywords: everlasting (*Helichrysum arenarium* L.), phenological phase, kaempferol-3-β-D-glucopyranoside, high performance liquid chromatography-mass spectrometry, scanning electron microscopy, macroelements, microelements.

УДК: 615.074 DOI: 10.52101/9785870191003_2021_196

ИЗУЧЕНИЕ ФЛАВОНОИДОВ ЦВЕТКОВ КАШТАНА КОНСКОГО ОБЫКНОВЕННОГО

Дунилин А. Д., доцент, к.фарм.н. Чистякова А. С.[a)]

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Воронежский государственный университет», 394018, Россия, г. Воронеж, Университетская площадь, 1

а) автор для переписки – anna081189@yandex.ru

Аннотация. В работе проведено количественное определение экстрактивных веществ и суммы флавоноидов (в пересчете на рутин) в цветках каштана конского обыкновенного, заготовленных в Воронежской области. Результаты исследования показали, что предпочтительным экстрагентом является спирт этиловый 40 %, максимальное содержание которых составило 36,8±1,10. В извлечениях из цветков каштана конского, при выделении экстрактивных веществ методом тонкослойной хроматографии (ТСХ), были обнаружены 6 - 7 зон флавоноидов, где рутин (Rf = 0,55±0,02), кверцетин (Rf = 0,94), так же на треках визуализировались зоны веществ флавоноидной природы, которые идентифицированы не были. Исключением являлось извлечение, полученное 96% спиртом этиловым. Количественное определение содержания суммы флавоноидов в пересчете на рутин в цветках каштана конского, установленное методом дифференциальной спектрофотометрии, показало, что их максимум наблюдался в извлечении полученном 70 % спиртом этиловым (4,36±0,11 %).

Ключевые слова: *цветки каштана конского, экстрактивные вещества, флавоноиды, рутин, спектрофотомерия*

ВВЕДЕНИЕ

Флавоноиды являются продуктами жизнедеятельности растений. Им присуще широкое распространение в растительном мире. Они являются необходимыми и активными участниками клеточного обмена, выполняют функции регуляторов роста, развития и репродукции растений. Интерес к флавоноидам очень велик ввиду характерного для них широкого спектра биологической активности [1].

Каштан конский (*Aesculus hippocastanum* L.) - растение рода конский каштан (*Aesculus* L.), семейства конскокаштановые (*Hippocastanaceae A.Rich.).* Растение широко известно на территории России и в мире. Различные органы каштана конского используются с давних времен, как в народной так и официнальной медицине [2]. На фармацевтическом рынке России присутствует небольшое количество лекарственных препаратов на основе семян каштана: Эскузан, Веноплант, Ангионорм, Анавенол, Репарил-гель Н [3]. В народной медицине, на ряду с семенами, используются и цветки каштана конского обыкновенного в качестве средства при эндартериите, лучевой болезни, геморрое, язвах ног, поражениях вен, вызванных различными травмами [4]. Большое количество работ посвящено изучению химического состава и особенностей применения в медицине семян каштана конского, кроме того, польскими учеными было проведено изучение флавоноидов цветков каштана конского, заготовленного в Польше, методом ЯМР с установлением структур гликозидов кемпферола [5]. Не смотря на то, что каштан конский не исчезает из внимания ученых [2,6,7] как отечественных, так и зарубежных [5,8], изучение цветков каштана конского как перспективного вида лекарственного растительного сырья, в настоящее время актуально.

Целью настоящей работы являлось изучение флавоноидов в цветках каштана конского обыкновенного.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы:

Объектами исследования служили цветки каштана конского обыкновенного, заготовленные самостоятельно от взрослых особей в Воронежской области на территории Ботанического сада им. Б.М. Козо-Полянского во время цветения в 2019 и 2020 годах. Цветки высушивали воздушно – теневым способом.

1 - **рутин** (Acros organics, 132391000, GAS: 153-18-4)
2- **кверцетин** (ЧДА, ТУ – 6-09-10-745-78)
3 - **алюминия хлорид безводный** (Лабтех, ГОСТ 3759-75)
4 - **этилацетат** (ХЧ, АО «Вектон» ГОСТ 22300-76)
5 - **муравьиная кислота** (85 %, АО «Вектон», ИМП)
6 - **кислота уксусная ледяная** (Эко Снаб ЛТД, «ХЧ», ГОСТ 61-75, изм. 1-3)

Методы: для определения **содержания экстрактивных веществ** (ЭВ) был использован метод однократной экстракции согласно ОФС.1.5.3.0006.15 «Определение содержания экстрактивных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах», метод 1 [9].

Определение **суммы флавоноидов в пересчете на рутин** выполняли методом дифференциальной спектрофотометрии по методике ОФС.2.5.0008.15 «Бузины черной цветки» ГФ РФ XIV изд. [9].

ТСХ анализ проводили в системе этилацетат : муравьиная кислота : вода (10 : 2 : 3) [10] восходящим способом, с последующей обработкой 3 % раствором алюминия хлорида и детектированием в УФ-свете. Пробы наносили микрошприцем МШ-10 (Агат, Россия), объем пробы 10 мкл, в качестве стандартных растворов выступали 0,1 % спиртовые растворы рутина и кверцетина.

Статистическая обработка данных проводилась согласно ГФ XIV ОФС.1.1.0013.15 «Статистическая обработка результатов эксперимента» [9].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Первоочередным показателем, дающим информацию, как о качестве лекарственного растительного сырья, так и о присутствии суммы БАВ, является содержание ЭВ. В качестве экстрагентов для анализа этого показателя для цветков каштана конского были выбраны вода и спирто-водные смеси в концетрации 20, 40, 50, 70, 96 %, полученные данные представлены в Таблице 1.

Анализируя результаты первой части эксперимента, видно, что все образцы имеют высокое содержание ЭВ. Максимальное извлечение ЭВ из цветков каштана конского наблюдается при помощи 40 % и 50 % спирта этилового (36,8±1,10% и 35,5±1,06% соответственно).

Таблица 1 - Содержание экстрактивных веществ и суммы флавоноидов в цветках каштана конского, в пересчете на рутин (%), (n=5, P>95 %)

Экстрагент	Содержание экстрактивных веществ, %	Содержание флавоноидов, %
Вода	31,3±0,93	2,10±0,03
Спирт этиловый 20 %	33,9±1,01	2,27±0,04
Спирт этиловый 40 %	**36,8±1,10**	3,89±0,10
Спирт этиловый 50 %	35,5±1,06	3,77±0,02
Спирт этиловый 70 %	30,2±0,90	**4,36±0,11**
Спирт этиловый 96 %	16,5±0,49	3,63±0,04

Флавоноиды, являются растительными пигментами и встречаются преимущественно в надземной части растения: цветках, листьях, придавая последним окраску. Учитывая это,

следующим этапом работы было изучение компонентного состава флавоноидов в цветках каштана конского, для чего были использованы извлечения, полученные при анализе экстрактивных веществ, результаты представлены на Рисунке 1. и Таблице 2.

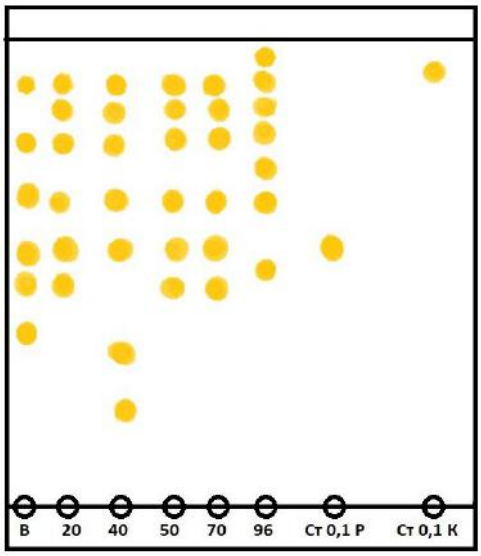


Рисунок 1 - Схема ТСХ – хроматограммы определения флавоноидов в цветках каштана конского обыкновенного

Таблица 2. Rf зон флавоноидов спирто-водных извлечений из цветков каштана конского

Номер пятна	Экстрагент					
	вода	Спирт 20 %	Спирт 40 %	Спирт 50 %	Спирт 70 %	Спирт 96 %
1			0,22			
2			0,33			
3	0,37					
4	0,48	0,48	0,49	0,47	0,49	
5						0,52
6	0,57	0,56	0,56	0,56	0,57	0,57
7		0,67		0,71	0,71	0,72
8	0,7	0,77	0,77	0,79	0,80	0,79
9				0,87		0,87
10	0,89	0,90	0,89		0,89	0,90
11	0,92	0,94	0,92	0,92	0,92	
12						0,98

Rf стандартных растворов: рутин - 0,55, кверцетин – 0,94, гиперозид -0,87*
**литературные данные [10]*

В извлечениях из цветков каштана конского, полученных водой и водно-спиртовыми смесями были обнаружены от 6 до 7 зон флавоноидов, во всех извлечениях был идентифицирован рутин (Rf =0,55±0,02), кверцетин (Rf=0,94) за исключением извлечения, полученного спиртов 96 %, где, кроме рутина, предположительно наблюдалось наличие гиперозида (Rf=0,87±0,02).

Далее, в извлечениях из цветков каштана конского было определено содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин, который был идентифицирован во всех извлечениях. Максимальное значение данного показателя наблюдалось в извлечении полученном 70% спиртом этиловым (4,36±0,11 %).

ВЫВОДЫ

Таким образом, в результате проведенной работы, установлено, что оптимальным экстрагентом для извлечения ЭВ из цветков каштана конского является спирт этиловый 40%. Методом ТСХ показано различие флавоноидного состава извлечений из цветков каштана конского, полученных различными растворителями, во всех извлечениях установлено наличие рутина. Показано, что количественное содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин целесообразно проводить, используя в качестве экстрагента спирт этиловый 70 %, который является более эффективным при экстракции данной группы веществ из цветков каштана конского (4,36±0,11) %.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Макаренко О.А., Левичкий А.П. Физиологические функции флавоноидов в растениях / О.А. Макаренко, А.П. Левицкий // Физиология и биохимия культ. растений. - 2013. - Т. 45. - № 2. - С. 100 -112.
2. Белов П. В. Фармакогностическое исследование каштана конского обыкновенного (Aesculus hyppocastanum L.) как перспективного источника биологически активных веществ: Диссертация на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук: 14.04.02. – Самарский государственный университет, Самара, 2020 – 164 с.
3. Государственный реестр лекарственных средств : сайт. – URL: https://grls.rosminzdrav.ru/grls.aspx (дата обращения: 29.03.2020).
4. Справочник народной медицины [Электронный ресурс] // Режим доступа: http ://www.prodenas.ru/ go .php?name=nm&nam=index-948 (дата обращения 16.02.2021).
5. Dudek-Makuch M., Matlawska I. Flavonoids from the flowers of Aesculus hippocastanum / M. Dudek-Makuch, I. Matlawska // Acta Poloniae Pharmaceutica - Drug Research. – 2011. - Vol. 68. -No. 3. - pp. 403 – 408.
6. Белов П.В., Куркин В.А., Рыжов В.М., и др. Исследование петиолярной анатомии листьев каштана конского как перспективного источника биологически Активных соединений // Аспирантский вестник Поволжья. - 2019. - Т. 19. - №1-2. - С. 6-12.
7. Яцюк В.Я., Елецкая О.А. Элементный состав некоторых видов сырья Aesculus hippocastanum L. / В.Я. Яцук, О.А. Елецкая // Актуальные проблемы медицины. – 2017. - URL: https://cyberleninka.ru/article/n/elementnyy-sostav-nekotoryh-vidov-syrya-aesculus-hippocastanum-l (дата обращения: 29.03.2020).
8. Ireneusz Kapusta 1, Bogdan Janda, Barbara Szajwaj, Anna Stochmal, Sonia Piacente, Cosimo Pizza, Federico Franceschi, Chlodwig Franz, Wieslaw Oleszek Flavonoids in horse chestnut (Aesculus hippocastanum) seeds and powdered waste water byproducts // J Agric Food Chem. – 2007. – Vol. 55(21)/ - pp. 8485-8490/
9. Государственная фармакопея Российской Федерации : в 4 т. – 14-е изд. – Москва, 2018. – URL: http://femb.ru/femb/pharmacopea.php (дата обращения: 14.03.2021).
10. Чистякова А. С. Фармакогностическое исследование травы горца почечуйного : автореф. дис. ... канд. фарм. наук : 14.04.02 / А. С. Чистякова. – Москва, 2017. – 24с.

RESEARCH OF FLAVONOIDS OF AESCULUS HIPPOCASTANI FLOWERS

Dunilin A. D., associate Professor, Ph. D. Chistyakova A. S. [a)]
Voronezh State University, 394018, Russia, Voronezh, Universitetskaya Square, 1
a) corresponding author – anna081189@yandex.ru

Abstract. The paper presents a quantitative determination of extractive substances and the amount of flavonoids (in terms of rutines) in the flowers of Aesculus hippocastani harvested in the Voronezh region. The results of the study showed that the preferred exstraction is 40 % ethyl alcohol, the maximum content was 36.8±1.10. In the essences, when obtaining extractive substances by Thin layer chromatography (TLC), were rutin (Rf = 0.55±0.02) and quercetin (Rf = 0.94) where found in 6-7 zones of flavonoids, also on the tracks were visualized zones of substances of flavonoid nature, which were not identified. An exception was the extraction using 96 % ethyl alcohol. The quantitative determination of the amount of flavonoids by the count of rutin, established by the method of differential spectrophotometry, showed that maximum uptake was observed in the extraction obtained using 70 % ethyl alcohol (4.36±0.11) %.

Keywords: *Aesculus hippocastanum flowers, extractive substances, flavonoids, rutin, spectrophotometry.*

УДК 581.192.2:547.979.8+535.243.2 DOI: 10.52101/9785870191003_2021_201

СРАВНИТЕЛЬНАЯ УСТОЙЧИВОСТЬ АНТОЦИАНОВ ИЗ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ С РАЗНОЙ ОКРАСКОЙ

профессор, д.б.н. Колдаев В. М.[a)]

Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии Дальневосточного отделения Российской академии наук, Россия, 690022 Владивосток, проспект 100-летия Владивостоку, 159

а) автор для переписки – kolvm42@rambler.ru

Аннотация. Цель работы состояла в определении спектрофотометрических критериев устойчивости антоцианов растений. На основе числовых показателей абсорбционных спектров определена взаимосвязь устойчивости экстрагируемых антоцианов с исходной окраской сырья. В исследованиях использовались сырые и высушенные части растений 33 видов из разных семейств. Устойчивость антоцианов определяли как соотношение относительных абсорбций и интенсивностей полос поглощения оптического спектра экстракта. Показано, что наиболее устойчивы антоцианы в экстрактах из плодов с бордово-фиолетовой и черной окраской. Самую низкую устойчивость имеют антоцианы из сырья синего цвета. Устойчивость антоцианов из красного сырья принимает значения между «бордовыми» и «синими». Антоцианидины пеонидин и мальвидин более устойчивы по сравнению с петуидином, пеларголином и цианидином, а дельфинидин наименее устойчив при технологическом высушивании сырья. Спектрофотометрический критерий устойчивости антоцианов целесообразно использовать в экспресс-анализе при отборе перспективных растений для промышленного культивирования и производства антоциансодержащих фитопрепаратов.

Ключевые слова: *спектрофотометрия, спектр поглощения, числовой показатель, фитопрепарат*

ВВЕДЕНИЕ

Антоцианы крупная группа растительных пигментов, придающих лепесткам цветков и плодам окраску от черно-фиолетовой до розовато-красной. Антоцианы проявляют высокую антиоксидантную активность, оказывают профилактическое и лечебное действие при многих заболеваниях [1, 2]. Однако широкое применение антоцианов ограничивается их низкой устойчивостью. Антоцианы легко подвергаются деградации при переработке растительного сырья [3], в частности, при сушке, обычно используемой в технологии фитопрепаратов.

Взаимосвязь устойчивости экстрагируемых антоцианов с исходной окраской растительного сырья мало изучена, хотя могла бы служить основой отбора перспективных видов растений для промышленного культивирования в производстве фитопрепаратов. Поскольку состояния молекул отображаются спектрами поглощения, то для определения деградационных изменений антоциана целесообразно использовать метод абсорбционной спектрофотометрии. Однако спектрофотометрические числовые показатели устойчивости антоцианов разработаны недостаточно полно.

Цель работы состояла в спектрофотометрической оценке устойчивости антоцианов растительного сырья в зависимости от его исходной окраски.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы. 1. Окрашенные части растений (Таблица 1) из разных семейств (ОФС.1.5.1.0001.15), собранные на территории Надеждинского района Приморского края в летний период.

2. Спирт этиловый 95% (ФС.2.1.0036.15) приобретен ФНЦ в аптечной сети.

3. Хлористоводородная кислота (ФС.2.2.0034.18) приобретена ФНЦ в ООО «ДальАналит».

Методы. Собранный материал использовали как в сыром виде немедленно, так и после высушивания. Сушку производили на установке Ветерок-2 (ЭСОФ, Россия) при 36 – 38°*С* в течение 4 – 5 час. Настойки готовили мацерацией (ОФС.1.4.1.0019.15) на 95%-м спирте этиловом в смеси с хлористоводородной кислотой в соотношении 100:1. Настойки исследовали методом спектрофотометрии (ОФС.1.2.1.1.0003.15). Спектры поглощения (СП) регистрировали на цифровом спектрофотометре UV-2501PC (Shimadzu, Япония) в диапазоне 230 – 620 нм, определяли абсорбции максимумов АС, АВ (Рисунок 1), точки перегиба контура спектрограмм, а также интегральную интенсивность поглощения по авторской методике [4].

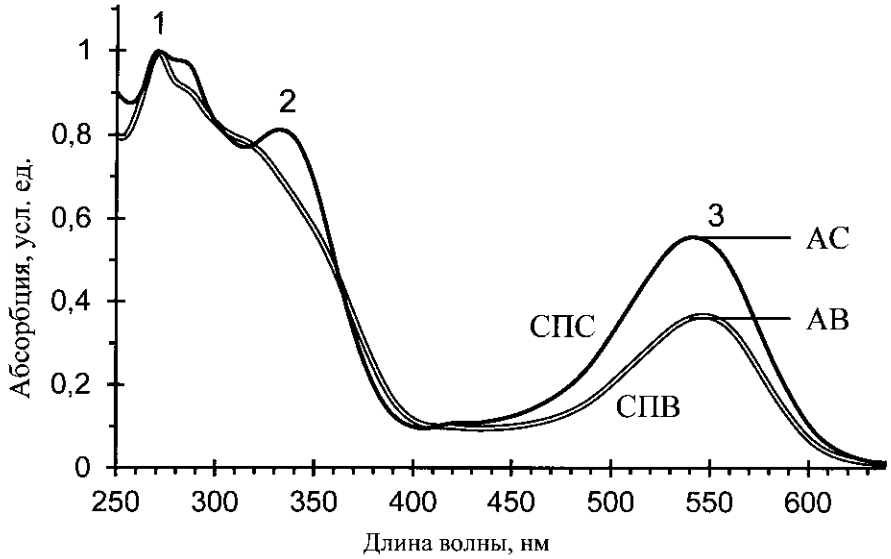


Рисунок 1 - Спектры поглощения экстрактов в кислом этаноле из сырых (СПС) и высушенных (СПВ) лепестков цветков водосбора, 1, 2 и 3 – максимумы,*AC* и *AB* – абсорбции

Интегральная интенсивность поглощения исленно соответствует площади между контуром полосы поглощения и горизонтальной осью в заданных пределах. Площади определяли по формуле Симпсона в пределах длин волн точек перегиба [4].

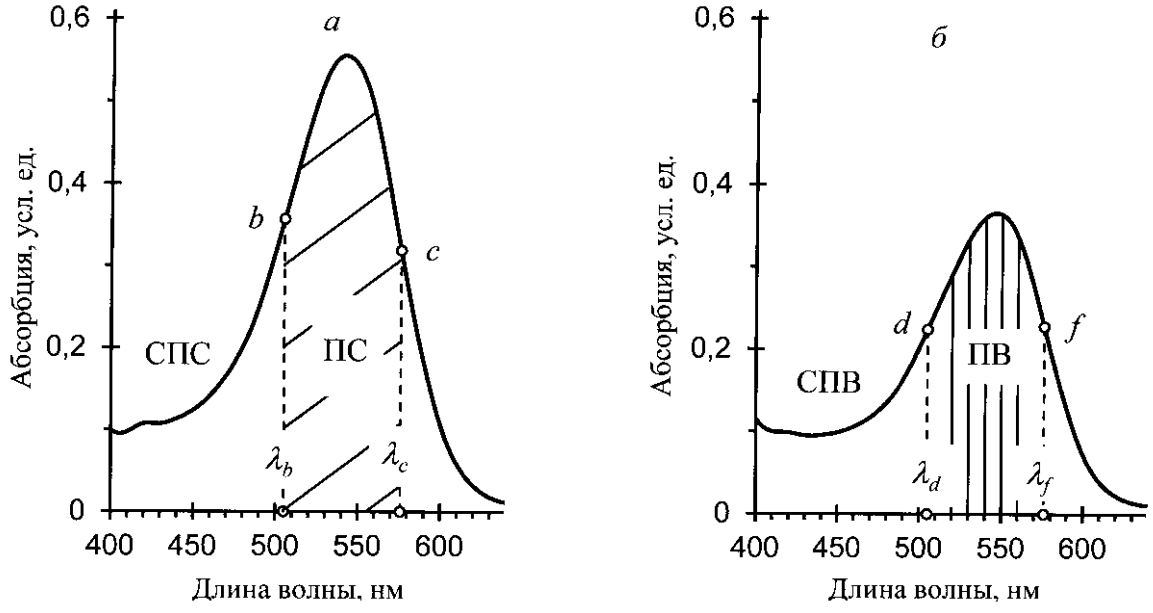


Рисунок 2 - Спектры поглощения третьих максимумов экстрактов из сырых (*а*, СПС) и высушенных (*б*, СПВ) лепестков цветков водосбора. ПС и ПВ – площади, *b*, *c*, *d*, *f* – точки перегиба, λ_b, λ_c, λ_d, λ_f – длины волн точек перегиба, пределы интегрирования

Например, в СП экстракта из лепестков водосбора площадь (ПС, Рисунок 2*а*, косая штриховка) между контуром полосы и горизонтальной осью в пределах длин волн λ_b и λ_c точек перегиба *b* и *c* соответствует интегральной интенсивности поглощения полосы 3-го максимума СП настойки из сырого материала. Площадь (ПВ, Рисунок 2*б*, вертикальная штриховка) между контуром полосы и горизонтальной осью в пределах длин волн λ_d и λ_f точек перегиба *d* и *f* соответствует интенсивности поглощения полосы 3-го максимума СП настойки из высушенного материала.

Коэффициент устойчивости (*КУ*) антоцианов вычисляли как произведение относительной абсорбции на относительную интенсивность поглощения экстрактов из высушенного и сырого материала:

$$КУ = (АВ/АС) \times (ПВ/ПС),$$

где *АВ* и *АС* – абсорбции третьего максимума, *ПВ* и *ПС* – площади полос поглощения экстрактов из высушенного и сырого растительного материала соответственно (Рисунок 2).

При исследовании каждой части растения брали по 5–6 рандомизированных проб и производили статистическую обработку (ОФС.1.1.0014.15) результатов методом малой выборки.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Наиболее высокие *КУ*, составляющие в среднем величину 0,96±0,028, получены для антоцианов из сырья бордового цвета (Таблица 1). Среди бордовых превалируют *КУ* антоцианов из корнеплодов свеклы обыкновенной, перикарпиев сливы домашней и лепестков цветков космеи дваждыперистой, хотя и превышающие среднюю величину на 1-3%, но статистически незначимо ($p > 0,05$). Значения *КУ* антоцианов из остальных исследованных бордовых частей находятся в пределах доверительного интервала. Отличие средних значений *КУ* антоцианов из сиренево-фиолетовых и черных частей растений от средних *КУ* антоцианов из бордовых недостоверно ($p > 0,05$). Наибольшую величину *КУ* среди черных имеют антоцианы из перикарпиев паслена черного и аронии, а среди сиренево-фиолетовых антоцианы из перикарпиев жимолости голубой и черники обыкновенной, превышающие средние значения на 4-5%.

Величины *КУ* антоцианов из красных частей растений в 1,61-1,53, а из синих в 2,67 раза достоверно меньше по сравнению с антоцианами из бордовых ($p < 0,05$). Среди красных *КУ* антоцианов из перикарпиев малины обыкновенной в 1,25, а среди синих *КУ* антоцианов из лепестков василька в 2,36 раза меньше ($p < 0,05$) по сравнению с бордовыми. Устойчивость антоцианов из остальных исследованных синих частей растений еще ниже.

Судя по полученным данным, в процессе высушивания антоцианы из сырья бордовой, сиренево-фиолетовой и черной окраски деградируют в наименьшей степени, а наибольшим изменениям подвержены антоцианы из сырья синего цвета, Устойчивость антоцианов из красного сырья имеет промежуточные значения между «бордовыми» и «синими».

В анализе устойчивости антоцианов из растительного сырья примененный спектрофотометрический показатель *КУ* ранее не использовался, поэтому непосредственные сопоставления полученных результатов с литературными данными исключаются. Однако возможны параллели с опубликованным данными по содержанию тех или иных антоцианов в растительном сырье различной окраски. Обычно в составе окрашенной части растения присутствуют несколько антоцианинов разных типов, но среди них, как правило, только один или два имеют преобладающую концентрацию, они и придают соответствующую окраску органу растения.

Таблица 1 – Коэффициент устойчивости (*КУ*) антоцианов в настойках из окрашенных частей растений

Окраска	Часть	Наименование растения	*КУ*
Голубовато-синяя	Лепестки цветов	Василек синий, *Centaurea cyanus* L.	0,41±0,039
		Колокольчик крапиволистный, *Campanula trachelium* L.	0,35±0,032
		Окопник лекарственный, *Symphytum officinale* L.	0,33±0,028
	Средний *КУ* антоцианов всех голубовато-синих 0,36±0,033		
Бордовая	Лепестки цветов	Вейгела обильноцветущая, *Weigela florida* (Bunge) A. DC.	0,96±0,033
		Кипрей узколистный, *Chamaenerion angustifolium* L.	0,96±0,034
		Космея дваждыперистая, *Cosmos bipinnatus* Cav. **	0,97±0,025
		Рододендрон сихотинский, *Rhododendron sichotense* Pojark.	0,92±0,036
		0,95±0,037	
	Перикарпии	Слива домашняя, *Prunus domestica* L., «Надежда» *	0,98±0,014
		Яблоня садовая, *Malus domestica* Borkh., «Венгерка»	0,95±0,012
		0,96±0,026	
	Корнеплоды	Редис посевной, *Raphanus sativus* Pers., «Виола»	0,95±0,032
		Свекла обыкновенная, *Beta vulgaris* L., «Дочь цилиндры»	0,99±0,004
		0,97±0,029	
	Средний *КУ* антоцианов всех бордовых 0,96±0,028		
Красная	Перикарпии	Барбарис, *Berberis* L.	0,55±0,042
		Жимолость Максимовича, *Lonicera maximowiczii* (Rupr. ex Maxim.) Maxim.	0,63±0,054
		Калина обыкновенная, *Viburnum opulus* L.	0,62±0,049
		Малина обыкновенная, *Rubus idaeus* L. «Шапка Мономаха»	0,77±0,056
		Смородина красная, *Ribes rubrum* L., «Красная ранняя»	0,73±0,052
		0,66±0,032	
	Лепестки цветов	Клевер луговой, *Trifolium pratense* L.**	0,46±0,034
		Недотрога Ройля, *Impatiens roylei* Walp. **	0,54±0,049
		Пион лекарственный, *Paeononia officinalic* L.	0,51±0,036
		Шиповник даурский, *Rosa davurica*. Pall.	0,47±0,057
		0,49±0,044	
	Средний *КУ* антоцианов всех красных 0,59±0,033		
Сиренево-фиолетовая	Перикарпии	Жимолость голубая, *Lonicera caerulea* L.	0,99±0,008
		Ирга круглолистная, *Amelanchier ovalis* Medik. **	0,98±0,009
		Черника обыкновенная, *Vaccinium myrtillus* L. **	0,99±0,007
		0,99±0,004	
	Лепестки цветов	Ирис гладкий, *Iris laevigata* L.	0,96±0,034
		Картофель, *Solanum tuberosum* L., «Наташа»	0,95±0,006
		Лакфиоль, *Erysimum×cheiri* (L.) Crantz	0,96±0,004
		Чина клубненосная, *Lathyrus tuberosus* L.	0,87±0,052
		Шлемник байкальский, *Scutellariaa baicalensis* Georgi	0,98±0,018
		0,94±0,026	
	Средний *КУ* антоцианов всех сиренево- фиолетовых 0,95±0,032		
Черная	Перикарпии	Арония, *Aronia melanocarpa* (Michx) Elliott	0,98±0,007
		Виноград амурский, *Vitis amurensis* Rupr.	0,95±0,006
		Паслен черный, *Solanum nigrum* L.	0,99±0,002
		Смородина черная, *Ribes nigrum* L., «Дачница»	0,93±0,042
		Черемуха Маака, *Prunus maackii* Rupr. **	0,93±0,056
	Средний *КУ* антоцианов из всех черных 0,95±0,041		

** – в кавычках указан сорт, ** – по данным [5].*

Например, синюю окраску придают частям растений в основном производные дельфинидина [1]. Дельфинидин, отличающийся самой высокой антиоксидантной емкостью, наиболее активно участвует в окислительно-восстановительных процессах и быстро деградирует, соответственно имеет низкую стабильность [6]. С этими данными полностью согласуются полученные нами самые меньшие значения *КУ* для экстрактов из синих лепестков цветков окопника лекарственного, а также окрашенных частей других растений.

Бордовую и фиолетовую окраску цветкам и плодам придают пеонидин и мальвидин [1], как например, корнеплодам свеклы, плодовым оболочкам черники [2, 5, 7]. Для антоцианов в экстрактах из бордовых и фиолетовых частей растений получены самые высокие значения *КУ*, что, очевидно, свидетельствует о наибольшей устойчивости пеонидина и мальвидина.

Черный цвет плодов обусловлен совокупностью многих типов антоцианинов, включая и дельфинидин, как например, в черноплодной рябине, черемухе азиатской, черной смородине [7]. Наличие малоустойчивого дельфинидина приводит к снижению суммарной устойчивости антоцианов из «черных» по сравнению с «бордовыми».

Пеларгонидин, пеонидин или цианадин окрашивают части растений в красный цвет, например, перикарпии клюквы обыкновенной, смородины красной [8]. Поскольку для экстрактов из красного сырья получены значения *КУ* ниже бордово-фиолетовых, то, можно сказать, что устойчивость пеларгонидина и цианадина ниже по сравнению с пеонидином и мальвидином.

ВЫВОДЫ

Спектрофотометрический показатель *КУ*, вычисляемый как произведение экстинкций максимумов и интенсивностей поглощения абсорбционных спектров, является адекватной характеристикой устойчивост антоцианов экстрактов из растительного сырья.

Наибольшую устойчивость имеют антоцианы пеонидин, мальвидин в экстрактах из плодов с бордово-фиолетовой и черной окраской.

Показатель *КУ* целесообразно применять на практике в экспресс-анализе при отборе перспективных растений для промышленного культивирования и производства антоциансодержащих фитопрепаратов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Bueno, J.M. Analysis and antioxidant capacity of anthocyanin pigments. Part II: Chemical structure, color and intake anthocyanins / J.M. Bueno, F. Ramos-Escudero, P. Sáez-Plaza, A.M. Jimenez, R. Fett, A.G. Asuero // Critical reviews in analytical chemistry. - 2012. - V. 42, No 2. – pp. 126-151.

2. Fang, J. Classification of fruits based on anthocyanin types and relevance to their health effects // Nutrition. - 2015. - V. 31. – pp. 1301-1306.

3. Remini, H. Recent advances on stability of anthocyanins / H. Remini, F. Dahmoune, Y.K. Sahraoui, Y.K. Madani, N.V. Kapranov, E.F. Kiselev // RUDN Journal of agronomy and animal industries. - 2018. - V.13, No 4. – pp. 257-286.

4. Колдаев В.М. Метод числовых показателей спектров поглощения в анализе извлечений из растений. – М.: ЛЕНАНД, 2021. – 160 с.

5. Koldaev, V.M. Spectrophotometric indicators of stability of anthocyanin-containing extracts depending on the color of plant materials / V.M. Koldaev, A.Y. Manyakhin, P.S. Zoricov // Ovidius university annals of chemistry. - 2020. - V. 31, No 2. – pp. 88-92.

6. Noda, Y. Antioxidant activities of pomegranate fruit extract and its anthocyanidins: delphinidin, cyanidin and pelargonidin / Y. Noda, T. Kaneyuki, A. Mori, L. Packer // Journal of agricultural and food chemistry. - 2002. - V. 50, No 1. - pp. 166-171.

7. Diaconeasa, Z. Antiproliferative and antioxidant properties of anthocyanin rich extract from blueberry and blackcurrant juice / Z. Diaconeasa, L. Leopold, D. Rugina, H. Ayvaz, C. Socaciu // International journal of molecular sciences. - 2015. - V. 16, No 2. – pp. 2352-2365.

8. Veberic, R. Anthocyanin composition of different wild and cultivated berry species / R. Veberic, A. Slatnar, J. Bizjak, F. Stampar, M. Mikulic-Petkovsek // LWT - Food science and technology. - 2015. - V. 60, No 1. – pp. 509-517.

COMPARATIVE STABILITY OF ANTHOCYANES FROM VEGETABLE RAW MATERIALS WITH DIFFERENT COLORS

Professor, D.Sc. in Biology Koldaev V. M.[a)]
Federal Scientific Center of the East Asia Terrestrial Biodiversity, Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences, 690022, Russia, Vladivostok, avenue of 100-years Vladivostok, 159
a) Corresponding author – kolvm42@rambler.ru

Abstract. The aim of the work was to determine the spectrophotometric criteria for the stability of anthocyanins of plant materials. On the basis of the numerical indicators of absorption spectra, the relationship between the stability of the extracted anthocyanins and the original color of the raw material was determined. The research used raw and dried plant parts of 33 species from different families. The stability of anthocyanins was determined as the ratio of relative absorbances and intensities of absorption bands in the optical spectrum of the extract. It has been shown that anthocyanins are the most stable in extracts from fruits with burgundy-violet and black colors. Anthocyanins from blue raw materials have the lowest resistance. The resistance of anthocyanins from red raw materials ranks between "burgundy" and "blue". The anthocyanidins peonidin and malvidin are more stable in comparison with petuidin, pelargolin and cyanidin, and delphinidin is the least stable during technological drying of raw materials.
It is advisable to use the spectrophotometric criterion of anthocyanin resistance in express analysis when selecting promising plants for industrial cultivation and production of anthocyanin-containing phytopreparations.
Keywords: spectrophotometry, absorption spectrum, numerical index, phytopreparation

УДК 615.324:638.1:577.112.3 DOI: 10.52101/9785870191003_2021_207

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ СУММЫ АМИНОКИСЛОТ В *APIS MELLIFICA* НАСТОЙКЕ ГОМЕОПАТИЧЕСКОЙ МАТРИЧНОЙ

к.фарм.н. Копытько Я. Ф.

ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений (ФГБНУ ВИЛАР), Россия, г. Москва, ул. Грина, д. 7, 117216
yanina@kopytko.ru

Аннотация. Разработана методика количественного определения суммы аминокислот в *Apis mellifica* настойке гомеопатической матричной, полученной из живых пчел по гомеопатической технологии. Установлено, что УФ-спектры поглощения продуктов реакции настойки и глицина в диапазоне 300 - 700 нм характеризуются общими максимумами поглощения при длинах волн 567,5, 401,0 и 316,0 нм. Максимум при (569±1) нм выбран в качестве аналитического. Оптимизированы условия реакции – объемы растворов, температура и время реакции. Содержание суммы аминокислот в пересчете на глицин в проанализированных образцах настойке гомеопатической матричной составляет от 0,14 до 1,29 %. Полученные результаты использованы при разработке раздела «Количественное определение» ФС на НГМ *Apis mellifica* для включения в Государственную фармакопею РФ. С учетом статистически обработанных данных, в качестве норматива предложено установить содержание суммы аминокислот в пересчете на глицин, которое составляет не менее 0,1 % .
***Ключевые слова**: Apis mellifica, настойка гомеопатическая матричная, аминокислоты.*

ВВЕДЕНИЕ

Пчела медоносная *Apis mellifica* (*Apis mellifera*) сем. Пчелиные (*Apidae*) и продукты пчеловодства (пчелиный яд, мед, прополис и др.) используются в медицине с глубокой древности, описаны Гиппократом, Аристотелем и Галеном, обладают широким спектром фармакологического действия - антибактериальным, фунгицидным, противоспалительным, иммуномодуляторным [1, 2].

Первое упоминание о лечебном применении яда (Apisinum, Apium virus) в гомеопатии относится к 1835 г [3], использование же целых пчел (*Apis mellifica*) впервые было описано в 1861 г в приложении к Североамериканскому журналу гомеопатии [4], на 442 странице которого описывается случай излечения мальчика, страдающего от водянки, которому в 1847 г стал свидетелем доктор Марси. Мальчик был вылечен от асцита индианкой из племени Наррагансетт, которая изготовила лекарство из медоносных пчел. Таким образом, было найдено новое, сильное гомеопатическое лекарственное средство, после чего начались его испытания и широкое клиническое использование. *Apis mellifica* в гомеопатической практике назначают при отеках, водянке, жгучих и колющих болях, крапивнице, менингите, заболеваниях почек и мочевого пузыря и др. [5, 6].

Пчела медоносная характеризуются сложным составом биологически активных веществ, в который входит мелиттин, гликозидаза, гиалуронидаза, фосфатаза, глюкозидаза, фосфолипаза, ингибитор протеазы, апамин, адолапин, секапин, минимин, гистамин, третиапин, дофамин, пептиды, в т.ч. пептид, дегранулирующий тучные клетки, памин, прокамин А, норадреналин, аминомасляная кислота, аминокислоты, глюкоза, фруктоза, сложные эфиры, калий, кальций, магний [7, 8]; хитозан [9].

Настойка пчелы медоносной гомеопатическая матричная (НГМ), изготавливаемая из живых пчел, описана в гомеопатических фармакопеях Германии, Франции, Великобритании, Индии и Бразилии, в монографиях на НГМ *Apis mellifica* количественное определение не приводится, контроль качества проводится по установлению подлинности (качественные реакции, ТСХ), плотности, содержанию сухого остатка или этанола. Для включения в Государственную фармакопею Российской Федерации ФС на НГМ пчелы медоносной в

соответствии с ОФС 1.6.2.008.18 (Настойки гомеопатические матричные) [10] должна включать показатель «Количественное определение» и норму содержания определяемых БАВ.

Одной из значимых групп БАВ НГМ, получаемой из медоносных пчел, являются аминосоединения (пептиды, аминокислоты и др.), содержание которых может характеризовать качество препарата. Их количественное определение возможно с помощью различных физико-химических методов - ВЭЖХ (ионообменной, обращенно-фазной) ультра-ВЭЖХ, ГХ-МС после дериватизации в летучие соединения, капиллярный электрофорез, а также другие хроматографические методы [11].

Наиболее простым, доступным и специфичным методом определения суммы свободных аминокислот и пептидов является спектрофотометрия продуктов хромогенной реакции аминосоединений с нингидрином [12, 13]. Нингидриновая реакция характерна для аминогрупп, находящихся в α-положении, при этом появляется синее или сине-фиолетовое окрашивание.

Целью исследования являлась разработка методики количественного определения, которая отсутствует в ранее действующей ФС 42-0160-05 на НГМ пчелы медоносной - *Apis mellifica (Apis)* [13].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы: Четыре образца НГМ Apis mellifica, изготовленные из живых пчел по методу 4 ОФС.1.6.2.0008.18 «Настойки гомеопатические матричные» мацерацией с 90% (по объему) спиртом;

Аминоуксусная кислота (глицин) (CAS 56-40-6, Sigma-Aldridch, кат.номер: 410225) был предоставлен ЗАО «ФПК ФармВИЛАР». Около 0,05 г (точная навеска) СО глицина помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл и растворяют в 50 мл воды очищенной, после чего объем раствора доводят тем же растворителем до метки, перемешивают. Срок годности раствора – 1 месяц.;

Нингидрин (CAS 485-47-2, партия № NIN/060315, годен до 02.09.21б Химмед) был приобретён ФГБНУ ВИЛАР.

Методы: Количественное определение суммы аминокислот в пересчете на глицин осуществляли после реакции с нингидрином методом УФ-спектрофотометрии на спектрофотометре Shimadzu UV-1800 (A11635271374US №15942-14.)

Критерии пригодности методики устанавливали в соответствии с ОФС.1.1.0012.15 «Валидация аналитических методик».

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Установлено, что УФ-спектры поглощения продуктов реакции с нингидрином настойки и глицина в диапазоне 300 - 700 нм характеризуются общими максимумами поглощения при длинах волн 567,5, 401,00 и 316,0 нм (Рисунок 1). Максимум при 569±1 нм выбран в качестве аналитического.

Следует отметить, что интенсивность окраски раствора очень чувствительна к условиям проведения нингидриновой реакции, что может приводить к снижению оптической плотности и погрешностям анализа. В связи с этим, проведена оптимизация условий реакции – объемы растворов, температура и время реакции. Установлено, что наиболее стабильные значения оптической плотности наблюдаются при проведении реакции при температуре 100°С в течение 5 мин в среде фосфатного буфера с pH=6.

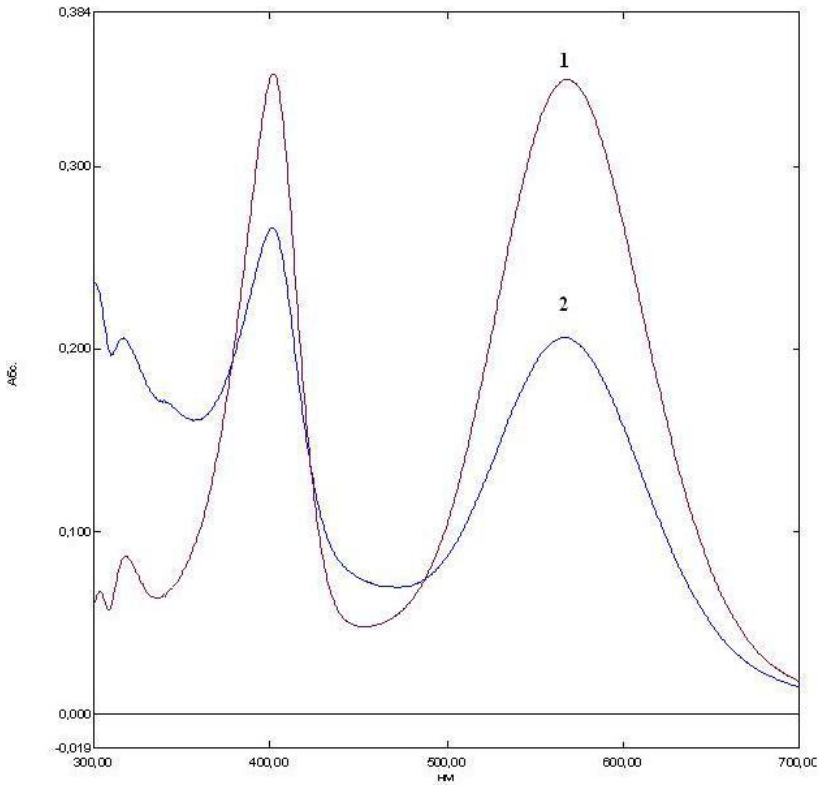


Рисунок 1 - Спектры продуктов взаимодействия раствора глицина (1) и НГМ (2) после реакции с нингидрином

Методика определения:

В коническую колбу вместимостью 10 мл или флакон пенициллиновый ФО-10 мл помещают 0,2 г (точная навеска) настойки, прибавляют 1,0 мл фосфатного буферного раствора с pH 6,0 и 1,0 мл 0,25% (по массе) водного раствора нингидрина, перемешивают и нагревают при 100°С в течение 15 мин (появляется сине-фиолетовое окрашивание). Содержимое колбы количественно переносят в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят до метки водой очищенной и перемешивают.

Определение проводят не менее трех раз, отбрасывая пробы, в которых реакция произошла не полностью (образование окраски заметно менее интенсивно по сравнению с другими опытами).

Интенсивность поглощения растворов измеряют через 10 мин в максимуме поглощения при 569±1 нм в кювете с толщиной поглощающего слоя 1,0 см, в качестве раствора сравнения - холостой опыт.

Параллельно измеряют оптическую плотность 1 мл раствора стандартного образца (СО) глицина, приготовленного аналогично испытуемому раствору.

Содержание суммы аминокислот в пересчете на глицин (Х%) вычисляют по формуле:

$$X_{\%} = \frac{A \cdot m_0 \cdot 1 \cdot 25 \cdot 100}{A_0 \cdot m \cdot 50 \cdot 25 \cdot 0{,}2} = \frac{10 \cdot A \cdot m_0}{A_0 \cdot m}$$

Где A_0 – оптическая плотность раствора СО раствора глицина;

А – оптическая плотность испытуемого раствора;

a_0 – масса глицина в г,

а – масса настойки в г,

Содержание суммы аминокислот в пересчете на глицин в проанализированных образцах НГМ составляет от 0,14 до 1,29 %. Поэтому норму содержания суммы аминокислот в пересчете на глицин целесообразно установить не менее 0,1 %.

Выявлена зависимость содержания суммы аминокислот от сухого остатка. Корреляция между этими величинами, а также нормативами содержания сухого остатка в соответствии с требованиями ГФГ и Евр.Ф 5.0 [15, 16], приведена в таблице 1.

Таблица 1 - Зависимость содержания суммы аминокислот в НГМ от сухого остатка

Образец настойки *Apis mellifica*	Сухой остаток, % (норма 1,25-1,6 НАВ, не менее 0,3 % ЕР 5.0 01/2005:2024)	Содержание суммы аминокислот в пересчете на глицин, %
1	2.20±0,01	0.832±0,014
2	2.27±0,01	0.501±0,006
3	1.16±0,02	0.141±0,012
4	3.54±0,01	1.268±0,011

Определение линейности методики проводилось на 5 уровнях концентраций СО аминоуксусной кислоты (глицина). Установлено, что график зависимости имеет линейный характер в диапазоне концентраций 0,2-0,7 мг/мл, коэффициент корреляции близок к единице (0,9914) (Рисунок 2). Предел определения составляет 0,4 мг/мл. Метрологические характеристики результатов определения содержания суммы аминокислот в пересчете на глицин в НГМ *Apis mellifica*: n=5, P=95%, T(P,f)=2,78; $X_{ср}$=0,83; S^2=1,86 ·10^{-4}; S=1,36 ·10^{-2} ; Sx=6,10 ·10^{-3}; ΔXср=1,7 ·10^{-2}; ΔX=3,79 ·10^{-2}; Ēср=2,04%; E=4,57%.

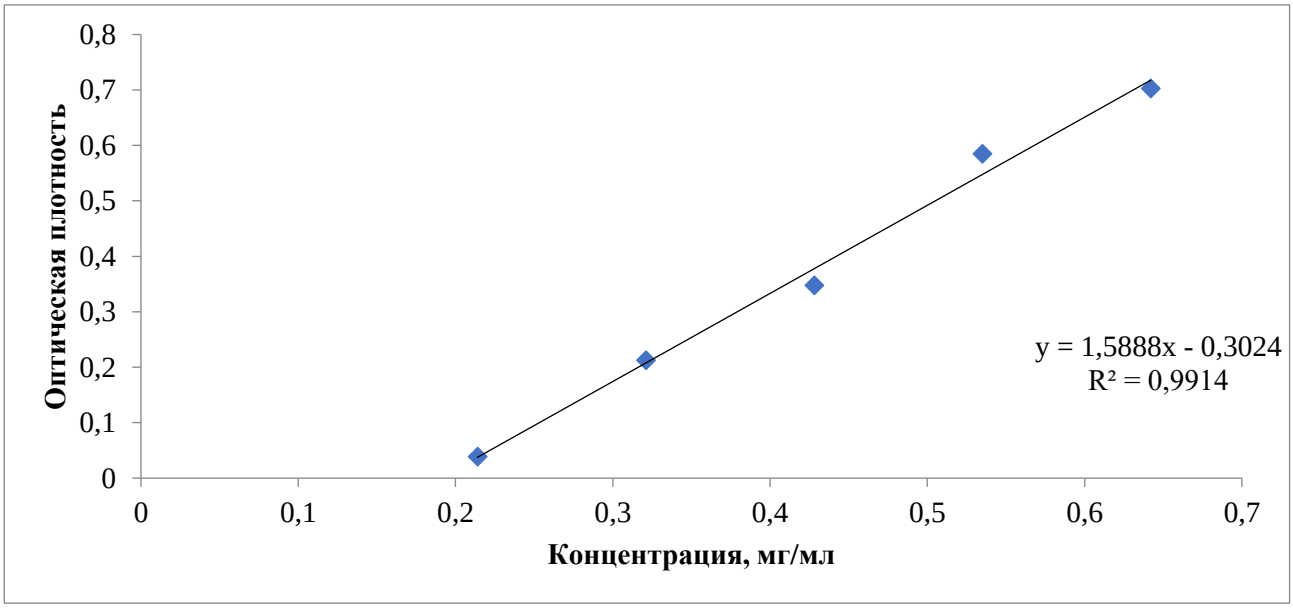


Рисунок 2 – График зависимости оптической плотности от концентрации раствора СО глицина

Методика оценивается положительно также по специфичности (совпадение максимумов поглощения испытуемого раствора и СО); правильности (диапазон процента восстановления – от 97,81 % до 102,5 % со средним значением 101,67 %); сходимости (коэффициент вариации 0,61 - 1,36 %); воспроизводимости (коэффициент вариации внутрилабораторной воспроизводимости не превышает 2 %).

ВЫВОДЫ

Полученные результаты использованы при разработке раздела «Количественное определение» ФС на НГМ *Apis mellifica* для включения в Государственную фармакопею РФ.

С учетом статистически обработанных данных, в качестве норматива предложено установить содержание суммы аминокислот в пересчете на глицин, которое составляет не менее 0,1 % .

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Суханова Л.В. Биологическая ценность пчелинового яда. / Суханова Л.В., Канарский А.В. // Вестник Казанского технологического университета. - 2016. - 8. – 145-149.
2. Кульшарова Э. К. Определение биологической ценности продуктов пчеловодства // Бюллетень науки и практики. - 2018. - 4 (5). - 74-79.
3. Hering K. The guiding symptoms of our materia medica. Poison of the Honey Bee. Apium Virus. Presented by Médi-T Marcy E.E., Peters J.C., Fullgraff O. The elements of a new materia medica and therapeutics: based upon an entirely new collection of drug-provings and clinical experience». Chicago : s.n., 1859-1861. - 442.
4. Шарет Ж. Практическое гомеопатическое лекарствоведение. Смоленск: Гомеопатическая медицина, 1997: 57-62
5. Bigagli E. Exploring the effects of homeopathic *Apis mellifica* preparations on human gene expression profiles./ Bigagli E., Luceri C., Bernardini S., Dei A., Filippini A., Dolara P./ Homeopathy. - 2014.- 103(2).- 127-32.
6. Saeed F. Apis mellifica - An Effective Insect Drug. / Saeed F., Ahmad M. // Hamdard Medicus. 2016.- 59(4).- 20-32.
7. Бутенко Л.И. Физико-химические исследования пчелиного яда и продуктов на его основе. / Бутенко Л.И., Кулешова С.А., Подгорная Ж.В., Мыкоц Л.П., Дмитриев А.Б. // Фармация и фармакология.- 2018.- 6(4).- 351-366.
8. Копытько Я.Ф. Контроль качества настойки пчелы медоносной гомеопатической матричной. / Копытько Я.Ф., Даргаева Т.Д., Сокольская Т.А. / Сборник научных трудов "Нетрадиционные природные ресурсы, инновационные технологии и продукты" М. РАЕН, 2003.- 9.- 226-230
9. Lootsik M. D. Honeybee (*Apis mellifera*) chitosan: purification, heterogeneity and hemocoagulating activity / Lootsik M. D., Bilyy R.O., Lutsyk M.M., Manko N.O., Navytka S.A., Kutsiaba V.I., Stoika R.S. // Biotechnologia Acta.- 2016.- 9(6).- 39-49.
10. Государственная фармакопея Российской Федерации XIV издание. Том.2. URL: http://femb.ru/femb/pharmacopea.php (дата обращения: 28.04.2021).
11. Otter D.E. (2012). Standardised methods for amino acid analysis of food.// British Journal of Nutrition, 108(S2), S230-S237. doi:10.1017/S0007114512002486
12. Симонян А.В. Использование нингидриновой реакции для количественного определения α-аминокислот в различных объектах: Методические рекомендации. / Симонян А.В., Саламатов А.А., Покровская Ю.С., Аванесян А.А.// Волгоград, 2007.- 127с.
13. Determination of total free amino acids in *Sipunculus nudus* by UV spectrophotometry. / Ye H., Cai Y., Zhang L., Yu W., Shi Y., Tian L. // E3S Web Conf. International Conference on Agricultural Science and Technology and Food Engineering (ASTFE 2020) Section Food Biochemistry and Food Processing. - 2020.- 189.- 02013.
14. Копытько Я. Ф. Стандартизация настойки Апис (пчелы медоносной) гомеопатической матричной./ Копытько Я.Ф., Даргаева Т.Д., Сокольская Т.А.// Развитие гомеопатического метода в современной медицине: тез. докл. XIII Московской междунар. гомеопатической конф. Москва, 24-25 января 2003.- 120–121.
15. Honey bee for homoeopathic preparations. *Apis mellifera* ad praeparationes homoeopathicas. 01/2005:2024. European Pharmacopoea 5.0. - 898.
16. *Apis mellifica*. Apis. Homoopathisches Arzneibuch - 2000. Deutscher Apotheker Verlag Stuttgart Govi-Verlag GmbH, Frankfurt.

QUANTITATIVE DETERMINATION OF THE AMINO ACIDS CONTENT IN *APIS MELLIFICA* HOMEOPATHIC MOTHER TINCTURE

Ph.D in Pharmacy Kopytko Ya. F.
All-Russian Scientific Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants (VILAR), Russia, Moscow, Greena str., 7, building 1, 117198,
yanina@kopytko.ru

Abstract. A method of the quantitative determination of amino acids in *Apis mellifica* homeopathic matrix tincture obtained from live bees using homeopathic technology was developed. It was found that the UV absorption spectra of the reaction products of the tincture and glycine with ninhydrin in the range of 300-700 nm are characterized by general absorption maxima at 567.5, 401.0 and 316.0 nm. The maximum at (569 ± 1) nm is selected as analytical. The reaction conditions are optimized - the volumes of solutions, the temperature and reaction time. The content of the sum of amino acids calculated as glycine in the analysed samples of the homeopathic mother tincture is from 0.14 to 1.29 %. The obtained results were used in the development of the section "Quantitative determination" of pharmacopoeial monograph on *Apis mellifica* homeopathic mother tincture for inclusion in the State Pharmacopoeia of the Russian Federation. Taking into account the statistically processed data, it was proposed to establish the content of the sum of amino acids calculated as glycine is not less than 0.1 %.

Keywords: *Apis mellifica, homeopathic mother tincture, amino acids.*

УДК: 615.074 DOI: 10.52101/9785870191003_2021_213

ТСХ АНАЛИЗ ГОРЦА ЩАВЕЛЕЛИСТНОГО ТРАВЫ

Матвеева М. В.[a)], Волкова П. С., доцент, к.фарм.н. Чистякова А. С., доцент, к.фарм.н. Гудкова А. А.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Воронежский государственный университет», 394018, Россия, г. Воронеж, Университетская площадь, 1

а) автор для переписки – mari.savchenko@mail.ru

Аннотация. Горец щавелелистный (*Persicarialapathifólia*) широко распространенное на территории России растение семейства гречишных (*Polygonaceae*). Не смотря на существующие данные о химическом составе горца щавелелистного травы, информация по качественному составу основных групп соединений ограничена. В работе использована горца щавелелистного трава, заготовленная в Воронежской области во время массового цветения. В водных и водно-спиртовых извлечениях (этанол 70 %) (соотношение сырье : экстрагент 1:10) из горца щавелелистного травы методом ТСХ выявлено наличие фенольных соединений (флавоноидов (рутин, кверцетин), дубильных веществ (танин, галловая кислота (следы)), аминокислот (глутаминовая кислота), простых сахаров (фруктоза). Методом денситометрии установлено количественное содержание рутина, которое составило 4,1 мг/мл, в пересчете на растительное сырье – 0,45 %.

Ключевые слова. *Горец щавелелистный, тонкослойная хроматография, химический состав*

ВВЕДЕНИЕ

Горец щавелелистный (*Persicarialapathifólia*) – растение семейства гречишных (*Polygonaceae*). Растение очень широко распространено на территории РФ, является сорным видом. В настоящее время трава горца щавелелистного не является лекарственным растительным сырьем и считается примесью при заготовке травы горца почечуйного. Однако, в результате сравнительного изучения группового состава биологически активных веществ (БАВ) горца щавелелистного авторами [1] была показана перспективность дальнейшего более глубокого анализа химического состава растения. На сегодняшний день существуют данные о количественном содержании в траве горца щавелелистного таких групп веществ, как фенольных соединений (флавоноиды, дубильные вещества), органических кислот, простых сахаров (в частности, фруктозы), аминокислот и других. Однако, информация по качественному составу данных групп соединений ограничена. Для оценки этого параметра Государственная Фармакопея РФ XIV изд. в каждой частной статье на лекарственное растительное сырье включает раздел «Тонкослойная хроматография» (ТСХ) [2]. Метод позволяет с высокой степенью достоверности дать заключение о наличии тех или иных соединений, а также дать количественную оценку их содержания (денситометрия).

Целью работы являлось исследование состава некоторых БАВ горца щавелелистного травы методом ТСХ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы. Объектом исследования выступала горца щавелелистного трава, которая была заготовлена в Воронежской области в 2018 году. Сбор проводили во время массового цветения растений, сырье высушивали на воздухе до остаточной влажности 8,0 %.

В работе были использованы хроматографические пластины Sorbfil на алюминиевой подложке марки ПТСХ АФ А (ЗАО «Вектон», Россия). Пробы наносили микрошприцем МШ-10 Агат (ООО «Лабораторные Технологии», Россия). Для приготовления хроматографических систем и детектирования зон соединений были использованы

следующие реактивы и растворители: этилацетат (ЗАО «Вектон», ХЧ, ГОСТ 22300-76), муравьиная кислота (85 %, ЗАО «Вектон», ИМП), кислота уксусная ледяная («ЭкоСнаб ЛТД», ХЧ, ГОСТ 61-75, изм. 1-3), бутанол (ЗАО «Вектон», Ч, ГОСТ 6006-78), аммиак водный (ЗАО «Вектон»,ОСЧ 23-5, стандарт ГОСТ 24147-80), алюминия хлорид безвод. («Лабтех», ГОСТ 3759-75), квасцы железоаммониевые (ЗАО «Вектон», ЧДА, ТУ 6-09-5359-88), нингидрин («Lachema N.P.» (Brno), ХЧ), бромкрезоловый зеленый (ЗАО «Вектон», ЧДА), сегнетова соль (ЗАО «Вектон», ОКПД 24.14.34.191), гидроксид натрия (ЗАО «Вектон», ЧДА, ГОСТ 4328-44), меди сульфат (ЗАО «Вектон», ГОСТ 4165-78). В качестве стандартов использовали 0,5% водные растворы винной кислоты (ЗАО «Вектон», 98%, ЧДА), лимонной кислоты (ЗАО «Вектон», ХЧ, ГОСТ 3652-69), галловой кислоты («Panreac», 99,0 %), танина (ЗАО «Вектон», Ч, ТУ 6-09-50-2366-80), фруктозы (ЗАО «Вектон», стандарт, ИМП), глутаминовой кислоты (ЗАО «Вектон», ЧДА, CAS # 56-86-0), 0,1% спиртовые растворы рутина («Acrosorganics», 132391000, GAS: 153-18-4) и кверцетина (ЗАО «Вектон», 99 %).

Методы. Для ТСХ анализа основных групп соединений в траве горца щавелелистного готовили водные и спиртовые (этанол 70%) извлечения из растительного сырья (соотношение сырье : экстрагент 1:50 для водно-спиртовых извлечений и 1:10 для водных, нагревали на водяной бане с обратным холодильником 30 мин), объем наносимой пробы исследуемого извлечения 5 мкл. Перед экспериментом хроматографические камеры насыщали в течение 15 минут, пробег элюента составлял 7,5-8,5 см [1,3,5]. Количественную оценку флавоноидов проводили с помощью **прибора для тонкослойной хроматографии с денситометром «Сорбфил»** (ООО Имид, Краснодар, Россия), программное обеспечение Windows 7/86, IntelCorei3 2,4 Ghz.Статистическая обработка данных проводилась согласно ГФ XIV ОФС.1.1.0013.15 «Статистическая обработка результатов эксперимента»[2].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На первом этапе исследования было проведено изучение качественного состава некоторых групп БАВ травы горца щавелелистного методом ТСХ, для чего были использованы элюирующие системы и детектирующие реагенты, наиболее часто встречаемые в различных частных фармакопейных статьях и в научной литературе. Условия проведения эксперимента и полученные данные приведены в Таблице 1. В результате расчета величин Rf в извлечениях из травы горца щавелелистного были идентифицированы в водных извлечениях фруктоза (как представитель группы простых сахаров), галловая кислота и танин (как представители дубильных веществ), глутаминовая кислота (как представитель аминокислот), в водно-спиртовом извлечении проявились флавоноиды (рутин и кверцетин). В результате изучения дубильных веществ, кроме идентифицированных соединений на треках были видны зоны зеленого цвета, и можно предположить их принадлежность к конденсированным дубильным веществам. При анализе органических кислот в качестве стандартных образцов были выбраны винная и лимонные кислоты, однако, не смотря на информацию об их наличии в траве горца щавелелистного, в свободном виде в водных извлечениях данным методом они обнаружены не были. Кроме того, на пластинах присутствовали зоны неидентифицированных соединений.

Таблица 1 – Rf зон соединений при исследовании извлечений из горца щавелелистного травы методом ТСХ (n = 5)

Условия эксперимента	Rf стандартного вещества и окраска пятен на треке	Rf зон на треке исследуемого извлечения
Фруктоза		
Система: н-бутанол : уксусная кислота : вода (4:1:2)	0,63 Красновато-коричневые пятна на синем фоне	**0,64**

Проявитель – реактив Фелинга		
Галловая кислота		
Система: н - бутанол : уксусная кислота : вода (10:3:7) Проявитель – 1,0% спиртовой раствор железоаммониевых квасцов	0,89 Черно–синие пятна на белом фоне	0,54 (зона зеленоватого цвета) 0,78 (зона зеленоватого цвета) **0,87**
Танин		
Система: н - бутанол : уксусная кислота : вода (10:3:7) Проявитель – железоаммониевые квасцы 1% спиртовой раствор	0,85 Черно–синие пятна на белом фоне	0,72 (зона зеленоватого цвета) **0,83** 0,90 (зона зеленоватого цвета)
Глутаминовая кислота		
Система: бутанол : уксусная кислота : вода (4:1:2) Проявитель – 0,2% спиртовой раствор нингидрина	0,33 Малиново–красные пятна на белом фоне	0,19 (зона серо-фиолетового цвета) 0,16 (зона розового цвета) **0,31** 0,65 (зона желтого цвета) 0,79 (зона желтого цвета) 0,89 (зона желтого цвета)
Флавоноиды		
Система: этилацетат : муравьиная кислота : вода (10:2:3) Проявитель – 5% спиртовой раствор алюминия хлорида + УФ-свет	0,57 – рутин 0,95 – кверцетин Пятна с ярко–желтой флуоресценцией на темном фоне	**0,57** 0,69 (ярко-желтая флуоресценция) 0,73 (ярко-желтая флуоресценция) **0,97**
Органические кислоты		
Система: н-бутанол : муравьиная кислота : вода (5:0,5:2) Проявитель – 0,2% спиртовой раствор бромкрезолового зеленого	0,48 – винная кислота 0,26 – лимонная кислота На синем фоне наблюдается наличие желтых пятен органических кислот	**В свободном виде в извлечениях не обнаружены**

Так как все представители семейства гречишных являются источниками флавоноидов, а методом ТСХ в траве горца щавелелистного была выявлена эта группа соединений, на следующем этапе была проведена количественная оценка флавоноидов, в частности, наиболее распространенного представителя данной группы – рутина. Расчет концентрации рутина в извлечении из травы горца щавелелистного проводили методом внешнего стандарта по

площади пика, аппроксимация линейная (y=51712,500*x+13478,000) (Рисунок 1). Денситограммы стандартного 0,1 % спиртового раствора рутина и исследуемого извлечения из горца щавелелистного травы приведены на Рисунке 2.

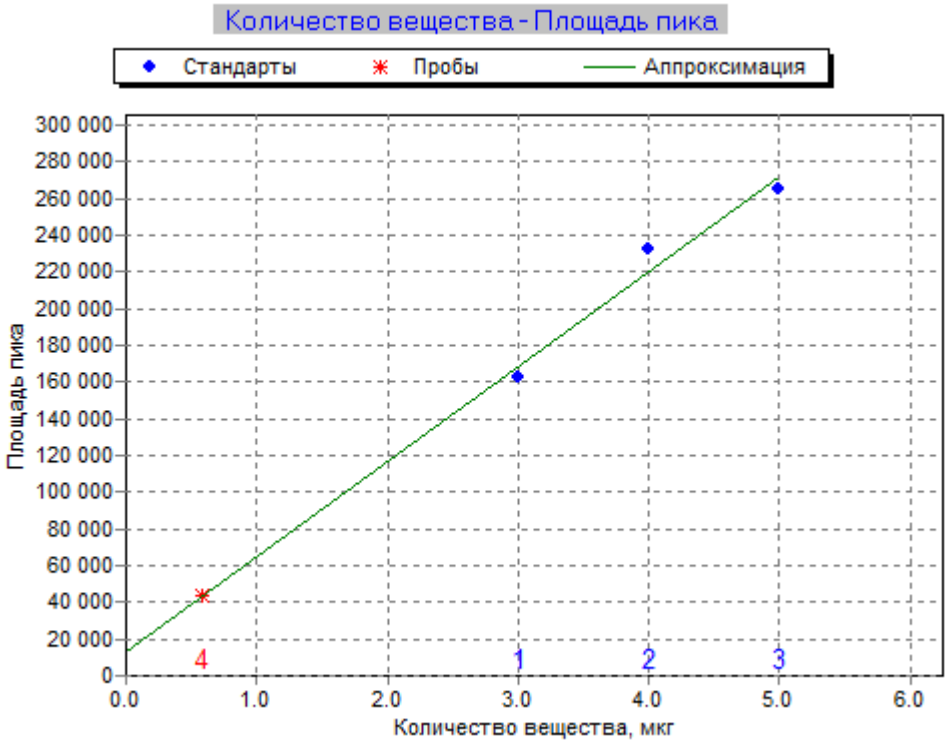


Рисунок 1 – Градуировочный график для определения концентрации рутина в извлечении из горца щавелелистного травы

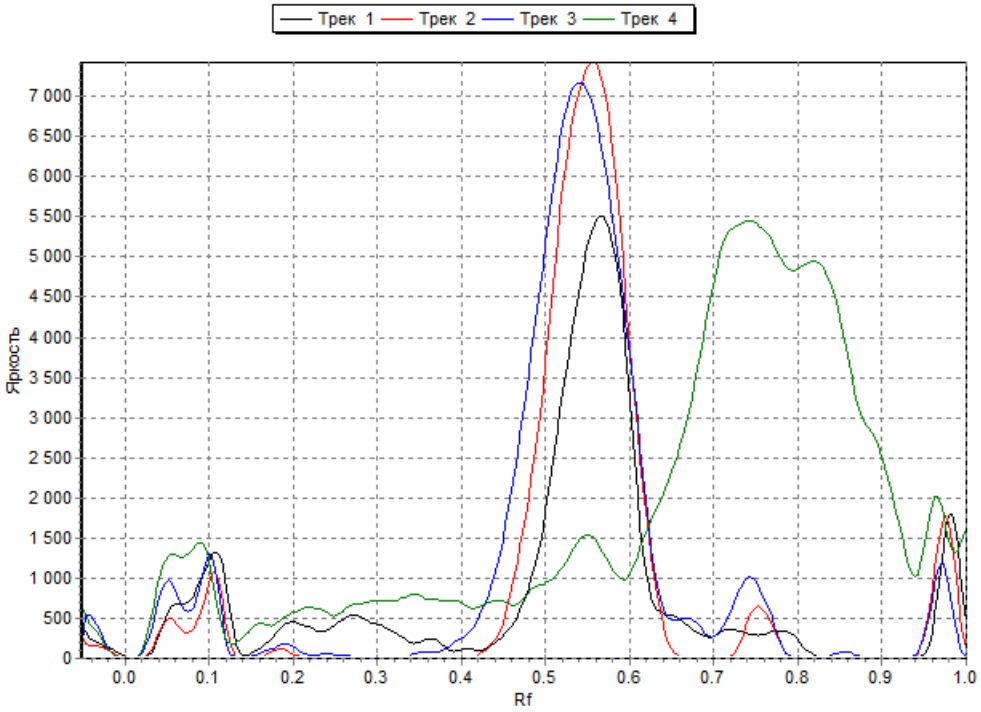


Рисунок 2 – Денситограммы стандартного раствора рутина (трек 1 – 3,0 мкг/мл, трек 2 – 4,0 мкг/мл, трек 3 – 5,0 мкг/мл) и исследуемого извлечения (трек 4)

Таким образом, содержание рутина в извлечении из горца щавелелистного травы составило 4,1 мг/мл, в пересчете на растительное сырье – 0,45%.

ВЫВОДЫ

Изучен качественный состав некоторых групп БАВ горца щавелелистного травы. Показано присутствие фенольных соединений (флавоноидов, дубильных веществ), аминокислот, простых сахаров. Выявлено, что помимо танина и галловой кислоты в траве горца щавелелистного содержится группа конденсированных дубильных веществ. При использовании программы **«Sorbfil Videodensitometer»** установлено содержание рутина в извлечении из горца щавелелистного травы, которое составило 4,1 мг/мл, в пересчете на растительное сырье – 0,45 %.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Гудкова, А. А. Фармакогностическое изучение представителей рода горец (*Persicaria* Mill.) как перспективного источника получения лекарственных препаратов [Текст] :автореф. дис.…докт. фарм. наук : 14.04.02 / Гудкова Алевтина Алексеевна. – М., 2020. – 450 с.
2. Государственная фармакопея Российской Федерации : в 4 т. – 14-е изд. – Москва, 2018. – URL: http://femb.ru/femb/pharmacopea.php (дата обращения: 14.03.2021).
3. Тринеева, О. В. Сравнительная характеристика определения сахаров различными методами в листьях крапивы двудомной / О. В. Тринеева // Разработка и регистрация лекарственных средств. - 2020. - Т. 9. - № 2.- С 91 – 97.
4. Мальцева, А. А. Тонкослойная хроматография в анализе флавоноидов растительных объектов/ А. А. Мальцева [и др.] // Фармация. – 2013. – № 1. – С. 13-16.

TLC ANALYSIS OF *PERSICARIALAPATHIFÓLIA* HERB

Matveeva M. V., Volkova P. S., associate professor, Ph.D. in Pharmacy, Chistyakova A. S., associate professor, Ph.D. in PharmacyGudkova A. A

Voronezh State University, 394018, Russia, Voronezh, Universitetskaya square, 1

a) corresponding author – mari.savchenko@mail.ru

Abstract. *Persicaria lapathifólia* is a plant of the *Polygonaceae* family widespread in Russia. Despite the existing data on the chemical composition of *Persicaria lapathifólia* herb, information on the qualitative composition of the main groups of compounds is limited. In our works we used *Persicaria lapathifólia* herb gathered in the Voronezh region during the mass flowering. TLC revealed the presence of phenolic compounds (flavonoids (rutin, quercetin), tannins (tannin, gallic acid (traces)), amino acids (glutamic acid), simple sugars (fructose). The quantitative content of rutin was established by densitometry which was 4.1 mg/ml in terms of plant raw materials – 0.45 %.

Keywords. *Persicaria lapathifólia, thin layer chromatography, chemical composition*

УДК 615.074 DOI: 10.52101/9785870191003_2021_218

ИССЛЕДОВАНИЕ КОЛИЧЕСТВЕННОГО СОДЕРЖАНИЯ ДУБИЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ В ЛИСТЬЯХ РЯБИНЫ ЧЕРНОПЛОДНОЙ РАЗНЫХ СОРТОВ

Пугачева О. В.[a)], Саурина Н. Н., к.фарм.н, доцент Брежнева Т. А.,
д.фарм.н., профессор Сливкин А. И.,

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Воронежский государственный университет», 394018, Россия, г. Воронеж, Университетская площадь, 1

а) автор для переписки – pugachevaov1@yandex.ru

Аннотация. Целью исследования являлось определение дубильных веществ в листьях рябины черноплодной разных сортов, произраставших в разных условиях. Определение дубильных веществ проводили с применением фармакопейной спектрофотометрической методики в пересчете на (+)-катехин, так как в предварительных исследованиях было показано преобладание в листьях группы конденсированных дубильных веществ. Содержание дубильных веществ составило 10,61 % ± 0,18 % в листьях неизвестного сорта, произраставшего в Воронежской области, 11,57 % ± 0,59 % и 11,63 % ± 0,57 % в сортах «Амит» и «Мулатка», соответственно, произраставших в Тамбовской области. Так как различие в содержании танинов в листьях разных сортов, культивируемых в одних условиях, практически не различалось между собой, можно сделать предположение о том, что сортовая принадлежность не оказывает влияния на накопление дубильных веществ. В то же время различия в условиях произрастания вероятно могут оказывать влияние на их содержание.
Ключевые слова: *листья рябины черноплодной, арония Мичурина, дубильные вещества, определение, спектрофотометрия.*

ВВЕДЕНИЕ

Интерес к поиску новых источников БАВ из растительного сырья сохраняется уже многие годы. Одной из интересующих нас групп веществ являются дубильные вещества (таннины) за счет их широкого спектра применения.

Дубильные вещества обладают вяжущим и антисептическим действием и находят применение как противовоспалительные, бактерицидные, кровоостанавливающие средства и противоядия при отравлении солями тяжелых металлов.

Они представляют собой полифенольные соединения, которые условно классифицируются на гидролизуемые (производные галловой кислоты) и конденсированные (производные катехина). В растениях чаще всего встречается смесь гидролизуемых и конденсированных таннинов с преобладанием одной из групп [1, 2].

Одним из перспективных источников БАВ является рябина черноплодная, которая широко культивируется в нашей стране.

В Государственную фармакопею включены ФС.2.5.0002.15 «Аронии черноплодной свежие плоды» и ФС.2.5.0003.15 «Аронии черноплодной сухие плоды», где указано латинское название Aronia melanocarpa (Michx.) Elliott. Однако наиболее вероятно, что данное название употребляется неверно, так как в нашей стране арония черноплодная не произрастает [3].

Род Aronia, согласно современной номенклатуре, насчитывает 3 вида в Северной Америке: Арония черноплодная (Aronia Melanocarpa), Арония древовидная (A. arbutifolia) и Арония сливолистная (A. prunifolia) [4, 5, 6, 7].

Обычно рябину черноплодную относят к виду Аронии черноплодной, однако произрастающая в диком виде в Северной Америке Арония, представляет собой не декоративный кустарник с практически несъедобными плодами [8].

В то же время культивируемая в нашей стране рябина черноплодная – это кустарник с широко раскинутой кроной и достаточно крупными плодами со сладким, терпким вкусом. Фенотипически этот вид близок к Аронии черноплодной, однако при определении генотипа было показано, что данное растение является гибридом аронии черноплодной и рябины обыкновенной. По этой причине ее стали выделять в отдельный вид, который получил название арония Мичурина (A. mitschurinii), так как появление данного вида связывают с селекционной деятельностью И.В. Мичурина [5, 6].

Химический состав плодов рябины черноплодной широко изучен, и они находят применение как источники антоциановых соединений. Изучение химического состава листьев сосредоточено на определении полифенольных соединений, в основном, флавоноидов и антоцианов. При этом некоторые исследования показывают, что содержание флавоноидов в листьях превышает их содержание в плодах рябины черноплодной [9].

На предыдущих этапах исследования было показано, что листья рябины черноплодной содержат и другие полифенольные соединения – дубильные вещества, преимущественно, конденсированной группы, что подтверждается и качественными, и количественными методиками определения дубильных веществ [1, 10].

Целью данного исследования являлось количественное определение дубильных веществ в листьях рябины черноплодной разных сортов с использованием спектрофотометрического метода.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы. Объектом исследования служили зеленые высушенные листья рябины черноплодной, заготовленные осенью в период плодоношения:

Образец 1 –листья от культивируемого растения Аронии Мичурина неизвестного сорта (влагосодержание 9,38 %), Воронежская область;

Образец 2 - листья Аронии Мичурина сорт «Амит» (влагосодержание 4,65 %), Тамбовская область;

Образец 3 - листья Аронии Мичурина сорт «Мулатка» (влагосодержание 4,65 %), Тамбовская область.

Растения, с которых были получены образцы 2 и 3, предоставлены учебно-исследовательской лабораторией биотехнологии Мичуринского государственного аграрного университета.

Листья измельчали до оптимального размера частиц не более 2 мм [1, 3].

Методы. Для количественного определения дубильных веществ в листьях рябины черноплодной использовали спектрофотометрическую методику по ОФС.1.5.3.0008.18 «Определение содержания дубильных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах» метод 2 в пересчете на (+)-катехин на спектрофотометре СФ-2000 (Россия) при длине волны (280±2) нм.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты определения дубильных веществ в листьях рябины черноплодной трех сортов приведены в табл. 1.

Таблица 1 –Содержание дубильных веществ в пересчете на катехин в листьях рябины черноплодной разных сортов

Сорт	Место произрастания	Содержание антоцианов в пересчете на (+)-катехин, %
Неизвестен	Воронежская область	10,61±0,18
«Амит»	Тамбовская область	11,57±0,59
«Мулатка»	Тамбовская область	11,63±0,57

Согласно табличным данным содержание дубильных веществ в листьях рябины черноплодной разных сортов сопоставимо между собой и находится в диапазоне от 10,61% до 11,63%. Максимальное содержание дубильных веществ наблюдалось в листьях рябины черноплодной сорта «Мулатка». При этом различия в содержании таннинов в листьях сортов «Амит» и «Мулатка» составляет всего 0,06 %.

На основании полученных результатов можно сделать предположение, что сортовая принадлежность оказывает слабое влияние на накопление дубильных веществ. Вероятно, большее влияние оказывает место и условия произрастания.

Данное утверждение является предварительным и требует дальнейшего экспериментального подтверждения.

ВЫВОДЫ

Содержание дубильных веществ в листьях рябины черноплодной разных сортов находится на высоком уровне, что подтверждает перспективность использования данного сырья как источника дубильных веществ. Максимальное содержание танинов в пересчете на (+)-катехин наблюдалось в листьях сорта «Мулатка» - 11,63 % ± 0,57 %.

Исследование влияния сорта, условий и места произрастания растения на уровень накопления дубильных веществ в растениях требует дополнительных испытаний.

Однако на основании проведенных исследований может быть сделан предварительный вывод о том, что сортовая принадлежность в меньшей степени влияет на накопление дубильных веществ в листьях рябины черноплодной и, предположительно, большие различия будут наблюдаться при изменении условий произрастания растений.

Данное предположение требует дальнейших экспериментальных подтверждений.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Пугачева, О. В. Определение дубильных веществ в листьях рябины черноплодной различными аналитическими методами / О.В. Пугачева, Т.А. Брежнева, А.И. Сливкин // Сборник трудов седьмой научной конференции «Современные тенденции развития технологий здоровьесбережения», 2019 – С.292-298
2. Алехина Е.А. Растения семейства Hydrochariyaceae – новый источник дубильных веществ? / Е.А. Алехина, А.Н. Ефремов, О.А. Емельянова // Химия растительного сырья, 2018. - №3 – С. 179-184.
3. Государственная фармакопея российской федерации. –XIV издание. — М.: ФЭМБ, 2018. — 7019 с. Режим доступа: http://femb.ru/femb/pharmacopea.php (дата обращения 10.02.2021).
4. Куклина А. Г. Натурализация аронии Мичурина в лесах европейской части России / А. Г. Куклина // Лесные культуры, 2015. - №2. – С. 46-56.
5. Дейнека В. И. Определение антоцианов и хлорогеновых кислот в плодах рода арония: опыт хемосистематики / В. И. Дейнека и др. // Химия растительного сырья, 2019. - №2. – С.161-167.
6. Peter J. Leonard Investigation of the Origin of Aronia mitschurinii using Amplified Fragment Length Polymorphism Analysis / Peter J. Leonard, Mark H. Brand, Bryan A. Connolly, Samuel G. Obae // HortScience, 2019. - №48 (5). – P. 520-524.
7. Mark H. Brand Anthocyanins, total phenolics, ORAC and moisture content of wild and cultivated dark-fruited Aronia species / Mark H. Brand et al. // Scientia Horticulturae, 2017/ - P. 332-342.
8. Гареева Г.М. Целебные свойства аронии черноплодной (Aronia melanocarpa) / Г.М. Гареева, Л.А. Хасанова, З.М. Хасанова // Вестник Башкирского государственного педагогического университета им. М. Акмуллы, 2018. - №2 (46). - С.36-38.
9. Aleksandra Cvetanović Comparative in vitro studies of the biological potential and chemical composition of stems, leaves and berries Aronia melanocarpa's extracts obtained by subcritical

water extraction / Aleksandra Cvetanović et al. // Food and Chemical Toxicology, 2018. – P. 458-466.
10. Недолужко Е. И. Изучение биологически активных веществ листьев рябины черноплодной / Недолужко Е. И., Брежнева Т. А., Логвинова Е. Е. и др. // Университетская наука: взгляд в будущее. Сборник научных трудов по материалам Международной научной конференции, посвященной 83-летию Курского государственного медицинского университета, 2018. – С. 74-77.

STUDY OF THE QUANTITATIVE CONTENT OF TANNINS IN BLACKBERRY LEAVES OF DIFFERENT VARIETIES

Pugacheva O. V.[a)], Saurina N. N., associate professor, Ph.D. in Pharmacy Brezhneva T. A., professor, D.Sc. in Pharmacy Slivkin A. I.
Voronezh State University, 394018, Russia, Voronezh, University Square, 1
a) corresponding author – pugachevaov1@yandex.ru

Abstract. The aim of the study was to determine tannins in the leaves of black chokeberry in different varieties grown under different conditions. Tannins were determined using the pharmacopoeial spectrophotometric method in conversion to (+)-catechin, because preliminary studies showed the predominance of condensed tannins. The content of tannins was 10,61%±0,18% in leaves of unknown variety growing in Voronezh region, 11,57%±0,59% and 11,63%±0,57% in varieties "Amit" and "Mulatka" growing in Tambov region respectively. As the difference in the content of tannins in leaves of varieties cultivated under the same conditions almost did not differ between each other, it may be concluded that variety affiliation has no effect on the accumulation of tannins. At the same time, different growing conditions can probably have an influence on the difference in tannin content.
Keywords: *black chokeberry leaves, Aronia mitschurinii, tannins, determination, spectrophotometry.*

УДК 631.563.2:633.88:615.322 DOI: 10.52101/9785870191003_2021_222

ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ СУШКИ НА СОДЕРЖАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ В НЕКОТОРЫХ ВИДАХ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ

доцент, к.фарм.н. Скляревская Н. В. [a)], Генералова Ю. Э., Бескостая М. Д.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Российская Федерация, г. Санкт-Петербург, ул. Проф. Попова, д. 14, 197376

а) автор для переписки – nelly.sklyarevskaya@pharminnotech.com

Аннотация. Лекарственное растительное сырье в основном используется в высушенном виде. Каждое растение индивидуально реагирует на внешнее воздействие, так как имеет неповторимый химический состав. Изучение влияния тепловой, воздушно-теневой и инфракрасной (ИК) сушки на количественное содержание биологически активных веществ в некоторых видах растительного сырья является актуальной задачей. Козлятник лекарственный – *Galega officinalis* L., клевер луговой – *Trifolium pratense* L., водяника черная – *Empetrum nigrum* L. как источники полифенольных соединений перспективны для изучения при нарушениях жирового и углеводного обменов, а знание наиболее выгодного способа высушивания дает возможность эффективнее использовать получаемое сырье. Изучено влияние условий сушки на количественное содержание флавоноидов, дубильных веществ в траве козлятника лекарственного, водяники черной, клевера лугового. Для оценки качества сырья использовали перманганатометрию для определения дубильных веществ, спектрофотометрическую методику определения флавоноидов и высокоэффективную жидкостную хроматографию для анализа компонентного состава фенольных соединений. На основании полученных данных показано, что содержание флавоноидов в траве козлятника лекарственного, высушенного различными способами, близки, большее количество дубильных веществ и идентифицированных фенольных соединений отмечено для сырья, полученного при помощи воздушно-теневой сушки. Для травы водяники черной предпочтительнее тепловая сушка, для надземной части клевера лугового целесообразнее использовать инфракрасную сушку.

Ключевые слова: *Galega officinalis, Empetrum nigrum, Trifolium pratense,* сушка, флавоноиды, дубильные вещества.

ВВЕДЕНИЕ

Лекарственное растительное сырье в основном используется в высушенном виде, что удобно при хранении, транспортировке, использовании, анализе. Существуют различные виды сушки, которые имеют определенные достоинства и недостатки [1, 2]. Каждое растение индивидуально реагирует на внешнее воздействие, так как имеет неповторимый химический состав.

В Санкт-Петербургском государственном химико-фармацевтическом университете проводится изучение лекарственных растений, используемых при коррекции нарушений жирового и углеводного обменов [3, 4]. Козлятник лекарственный – *Galega officinalis* L., клевер луговой – *Trifolium pratense* L., водяника черная – *Empetrum nigrum* L. являются источниками полифенольных соединений. Трава козлятника лекарственного содержит дубильные вещества, фенольные кислоты (кофейная, кумаровая, синаповая, пипеколиновая), флавоноиды (астрагалин, рутин, кемпферол, кемпферин, кверцетин, галютеонин, лютеолин, гиперозид, кверцитрин, изорамнетин, нарциссин и др.), сапонины, горечи, алкалоиды (анагирин, галегин, пеганин, вазицинон), витамины С, B_1, каротиноиды, углеводы [5, 6, 7]. В траве клевера лугового обнаружены витамины (С, B_1, B_2, Е, K_1, каротиноиды, фолиевая

кислота), флавоноиды (кверцетин, кемпферол, трифолин, изорамнетин, гиперозид, изотрифолин, пектолинарин, пратол, ононин, генистеин, формононетин, биоханин А, антоцианы – глюкозиды пеонидина, мальвидина), эфирные и жирные масла, дубильные вещества, алкалоиды, аминокислоты, кумарины (кумарин, куместрол), стероиды, фенольные и органические кислоты (кумаровая, салициловая, кетоглутаровая, янтарная, хлорогеновая), смолы, фитоэстрогены [5, 7, 8]. Трава водяники черной содержит алкалоиды; тритерпеновые сапонины (урсоловая кислота); флавоноиды (рутин, гиперозид, кверцетин, изокверцитрин, авикулярин, кемпферол, госсипетин, антоцианы – цианидин, гликозиды дельфинидина, пеонидина, петунидина, мальвидина); дубильные вещества; фенольные и органические кислоты (эллаговая, кофейная, бензойная, уксусная); витамин С; каротиноиды; оксикумарины; эфирные и жирные масла; воск; смолы; андромедотоксин [9, 10]. Эти растения перспективны для изучения при коррекции нарушений жирового и углеводного обменов [11, 12, 13].

Целью исследования являлось определение количественного содержания флавоноидов и дубильных веществ в образцах травы козлятника лекарственного, водяники чёрной, клевера лугового, высушенных методами воздушно-теневой, тепловой и инфракрасной сушки, а также выбор условий сушки для каждого вида сырья.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы Объектами исследования являлись трава козлятника лекарственного – *Galega officinalis* L. и клевера лугового – *Trifolium pratense* L. из сем. бобовых – *Fabaceae*, побеги водяники чёрной – *Empetrum nigrum* L., сем. вересковых – *Ericaceae*, заготовленные в период цветения в июне-июле 2017 г. в питомнике лекарственных растений СПХФУ (Всеволожский р-н Ленинградской обл.) и его окрестностях.

В работе были использованы реактивы и стандартные образцы:

алюминия хлорид (ч.д.а., содержание алюминия хлорида 99%, ЗАО «Вектон», Россия, ГОСТ 3759-75);

кислота серная концентрированная (х.ч., основное вещество 93,6-95,6%, ЗАО «Вектон», Россия, ГОСТ 4204-77);

кислота уксусная (х.ч., ледяная, ЗАО «Вектон», Россия, ГОСТ 61-75);

кислота хлористоводородная (х.ч., основное вещество, 35-38%, ЗАО «Вектон», Россия, ГОСТ 3118-77);

индигокармин (ч.д.а., ООО «НеваРеактив», Россия, ТУ 6-09-07-545-85);

калия перманганат (стандарт-титр, 0,1 н, ЗАО «Уралхиминвест», Россия, ТУ 2642-001-33813273-97);

апигенин (стандартный образец-порошок, содержание апигенина 99%, Sigma Aldrich, США, CAS № 520-36-5, каталожный № 42251, годен до 18/12/17);

гиперозид (стандартный образец-порошок, содержание гиперозида 98,5%, ООО «Фитопанацея», Россия, CAS № 482-36-0, серия 061210, годен до 15/12/17);

кемпферол (стандартный образец-порошок, содержание кемпферола 98%, Sigma Aldrich, США, CAS № 520-18-3, каталожный № 96353, годен до 23/02/18);

(+)-катехин (стандартный образец-порошок, содержание катехина 98,5%, ООО «Фитопанацея», Россия, CAS № 154-23-4, серия 020216, годен до 15/02/18);

(-)-эпикатехин (стандартный образец-порошок, содержание эпикатехина 98%, Sigma Aldrich, США, CAS № 520-64-2, каталожный № 55823, годен до 09/01/18);

ацетонитрил (градиентный для ВЭЖХ, Sigma Aldrich, США, CAS № 75-05-8, каталожный № 51101, годен до 20/06/20).

Методы Образцы травы козлятника лекарственного, водяники чёрной, клевера лугового сушили методами воздушно-теневой, тепловой и инфракрасной сушки. Количественное определение флавоноидов в исследуемых видах сырья проводили методом дифференциальной спектрофотометрии после реакции с алюминия хлорида раствором 2%.

Извлечение получали следующим образом: 0,25 г (точная навеска) измельченного сырья помещали в колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляли 25 мл спирта этилового 70%, колбу присоединяли к обратному холодильнику и нагревали на кипящей водяной бане в течение 0,5 час. Затем колбу охлаждали до комнатной температуры, содержимое колбы фильтровали через бумажный складчатый фильтр, отбрасывая первые 10 мл фильтрата (раствор А). 2,0 мл раствора А помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляли 1 мл алюминия хлорида спиртового раствора 2%, 1 каплю кислоты уксусной разведенной и доводили раствор до метки спиртом этиловым 95% (раствор Б). Через 40 минут измеряли оптическую плотность раствора на спектрофотометре «Shimadzu» UV 1240-mini (Япония) при длине волны 405 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения использовали раствор, состоящий из 2,0 мл раствора А, 1 капли кислоты уксусной разведенной, доведенный спиртом этиловым 95% до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл [14]. Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин и абсолютно сухое сырье в процентах (Х) вычисляли по формуле:

$$X = \frac{A*25*25*100}{A_{1см}^{1\%}*a*2*(100-W)},$$

где А – оптическая плотность раствора Б;

$A_{1см}^{1\%}$ – удельный показатель поглощения комплекса рутина с алюминия хлоридом при длине волны 405 нм, равный 220;

а – навеска сырья, г;

W – влажность сырья, %.

Состав фенольных соединений в образцах сырья определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) на жидкостном микроколоночном хроматографе «Милихром А-02» (Россия), колонка 2,0х75 мм с сорбентом ProntoSil-120-5-C18 A, зернение 5 мкм. В качестве элюентов применяли смеси ацетонитрила и воды в разных соотношениях. Количество вводимой пробы во всех случаях составляло 2 мкл. Для калибровки системы использовали образцы свидетелей фенольных соединений (апигенин, гиперозид, кемпферол, (+)-катехин, (-)-эпикатехин). Для регистрации выхода отдельных компонентов проводили двухволновую детекцию при 210, 254 нм с последующим суммированием откликов на всех каналах.

Извлечение получали следующим образом: около 2,0 г (точная навеска) сырья, измельченного до размера частиц, проходящих сквозь сито с диаметром отверстий 2 мм, помещали в коническую колбу вместимостью 250 мл, прибавляли 50 мл спирта 70%, нагревали с обратным холодильником на кипящей водяной бане в течение 60 мин при периодическом перемешивании. Полученный раствор охлаждали, фильтровали через складчатый бумажный фильтр и использовали для анализа. Идентификацию фенольных соединений проводили по времени удерживания и УФ-спектрам, сравнивая с образцами свидетелей [15].

Содержание дубильных веществ в пересчете на танин определяли фармакопейным методом прямой перманганатометрии в водных извлечениях, метод 1 [16].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При спектрофотометрическом исследовании спиртовых растворов, полученных из травы козлятника лекарственного, водяники черной и клевера лугового выявлено, что содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин в сырье *Galega officinalis*, высушенном воздушно-теневым способом, с помощью тепловой и ИК-сушки, отличается незначительно: от (1,85±0,09) % до (2,04±0,10) % (Таблица 1). В траве *Empetrum nigrum* содержание суммы флавоноидов было больше в сырье, полученном с помощью тепловой сушки (4,37±0,11) %, чем в образцах, высушенных воздушно-теневым способом и методом ИК-сушки. В сырье *Trifolium pratense* большее содержание флавоноидов отмечено в образцах, высушенных воздушно-теневым способом – (3,71±0,11) %.

Таблица 1 – Содержание флавоноидов в траве *Galega officinalis, Empetrum nigrum, Trifolium pratense*

Трава	Тип сушки	Содержание флавоноидов в пересчете на рутин, %
Козлятника лекарственного	Тепловая	1,85±0,09
	ИК	1,85±0,09
	Воздушно-теневая	2,04±0,10
Водяники черной	Тепловая	4,37±0,11
	ИК	4,11±0,10
	Воздушно-теневая	3,88±0,09
Клевера лугового	Тепловая	2,67±0,13
	ИК	2,46±0,12
	Воздушно-теневая	3,71±0,11

Методом высокоэффективной жидкостной хроматографии было установлено, что в изученных образцах из надземной части козлятника лекарственного содержится от 8 до 10 фенольных соединений, из которых идентифицирован катехин (Таблица 2). В траве водяники черной было обнаружено 10-11 фенольных соединений, идентифицирован гиперозид.В образцах надземной части клевера лугового содержится от 7 до 13 фенольных соединений, из которых идентифицированы катехин, эпикатехин и гиперозид.

Таблица 2 – Результаты обнаружения и идентификации фенольных соединений методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Сырье	Тип сушки	Количество обнаруженных фенольных соединений	Идентифицированные фенольные соединения
Трава козлятника лекарственного	Тепловая	9	-
	ИК	8	Катехин
	Воздушно-теневая	10	Катехин
Трава водяники черной	Тепловая	10	Гиперозид
	ИК	10	Гиперозид
	Воздушно-теневая	11	Гиперозид
Трава клевера лугового	Тепловая	11	Катехин, гиперозид
	ИК	13	Катехин, гиперозид, эпикатехин
	Воздушно-теневая	7	Катехин, гиперозид

Примечание: «-» – вещества не идентифицированы.

Учитывая количество обнаруженных соединений, предложены следующие виды сушки растительного сырья: для травы козлятника лекарственного, водяники чёрной – это воздушно-теневая сушка, для травы клевера лугового – ИК-сушка.

В сырье Galega officinalis содержится 3,27–3,60 % дубильных веществ в пересчете на танин, в траве Empetrum nigrum – 5,32–5,94 %, в траве Trifolium pratense – 2,47–2,82 %, (Таблица 3). Для травы козлятника лекарственного большее содержание дубильных веществ отмечено в сырье, высушенном воздушно-теневым способом. В траве водяники черной максимум содержания этой группы веществ обнаружили в сырье, полученном с помощью

тепловой сушки. В траве клевера лугового больше дубильных веществ содержалось в образцах, высушенных в ИК-сушилке.

Таблица 3 – Количественное содержание дубильных веществ в пересчете на танин в водных извлечениях из травы *Galega officinalis, Empetrum nigrum, Trifolium pratense*

Сырье	Тип сушки	Содержание дубильных веществ, %
Трава козлятника лекарственного	Тепловая	3,27±0,16
	Воздушно-теневая	3,60±0,17
	ИК	3,42±0,18
Трава водяники чёрной	Тепловая	5,94±0,28
	ИК	5,58±0,25
	Воздушно-теневая	5,32±0,23
Трава клевера лугового	Тепловая	2,64±0,13
	ИК	2,82±0,12
	Воздушно-теневая	2,47±0,14

Таким образом, согласно результатам проведенных исследований содержание биологически активных соединений в растительном сырье зависит от условий сушки сырья. Подтверждено, что подход к каждому виду растения должен быть индивидуальным.

ВЫВОДЫ

При изучении влияния способа сушки на содержание биологически активных соединений в надземной части *Galega officinalis, Empetrum nigrum, Trifolium pratense* определены условия сушки для каждого объекта исследования: для травы козлятника лекарственного предпочтительнее воздушно-теневая сушка; для травы водяники черной – метод тепловой сушки; для травы клевера лугового целесообразнее использовать инфракрасную сушку.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Корожан, Н. В. Изменения компонентного состава надземной части Bidens frondosa (*Asteraceae*) в зависимости от условий сушки / Н. В. Корожан, Г. Н. Бузук // Растительные ресурсы. – 2015. – Т. 51, вып.3. – С. 426-435.

2. Лягина, Л. А. Сравнительная оценка эффективности различных способов сушки лекарственного сырья / С. Н. Любайкин, Л. А. Лягина// Вавиловские чтения - 2009 : материалы Междунар. науч.практ. конф. – Саратов : Научная книга, 2009. – С. 296-297.

3. Повыдыш, М. Н. Перспективы использования фитотерапевтических средств при нарушениях жирового и углеводного обменов / М. Н. Повыдыш [и др.] // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2018. – №3. – С.130-135.

4. Оковитый, С. В. Лекарственные Лекарственные растения как источник перспективных фармацевтических субстанций для коррекции нарушений углеводного обмена / С. В. Оковитый [и др.] // Фармация. – 2018. – №7. – С. 8-13. https://doi.org/10.29296/25419218-2018-07-02

5. Растительные ресурсы России: Дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность. Т. 3 / Под ред. А. Л. Буданцева. – М.: Товарищество научных изданий КМК, 2010. – С. 31-32; 82-84.

6. Bednarska, K. Investigation of the phytochemical composition, antioxidant activity, and methylglyoxal trapping effect of Galega officinalis herb in vitro / K. Bednarska, P. Kuś, I. Fecka // Molecules. – 2020. – № 24. – P. 5810. doi: 10.3390/molecules25245810

7. Большой энциклопедический словарь лекарственных растений: учебное пособие / под ред. Г. П. Яковлева. – 3-е изд., испр. и доп. – СПб.: СпецЛит, 2015. – С. 260-261, 265-266.

8. Андреева, В. Ю. Сравнительное исследование фенольных соединений видов рода клевер (*Trifolium* L.) флоры Сибири / В. Ю. Андреева [и др.] // Химия растительного сырья. – 2018. – №1. – С. 97-104. DOI:10.14258/jcprm.2018011846

9. Растительные ресурсы России: Дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность. Т. 2 / Под ред. А. Л. Буданцева. – М.: Товарищество научных изданий КМК, 2009. – С. 56-57.

10. Jurikova, T. Black crowberry (*Empetrum nigrum* L.) flavonoids and their health promoting activity / T. Jurikova [and oth.]. – Molecules. – 2016. – № 12. – P. 1685. doi: 10.3390/molecules21121685.

11. Якимова, Т. В. Противодиабетическое действие некоторых лекарственных растений (по материалам публикаций последних 15 лет) / Т. В. Якимова, О. Н. Насанова, А. И. Венгеровский // Растительные ресурсы. – 2016. – Т. 52, вып.1. – С. 3-19.

12. Мартынчик, И. А. Анализ механизма действия галеги лекарственной (*Galega officinalis* L.) / И. А. Мартынчик, Т. Е. Трумпе, Е. В. Ферубко // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2019. – Т. 22, №9. – С. 12-15. DOI: 10.29296/25877313-2019-09-02

13. Yokoyama, Sl. Red Clover (*Trifolium pratense* L.) Sprout Prevents Metabolic Syndrome / Sl. Yokoyama [and oth.]. // J. Nutr. Sci. Vitaminol (Tokyo). – 2020. – №1. – P. 48-53. doi: 10.3177/jnsv.66.48.

14. Государственная фармакопея РФ XIV изд., т. 4., ФС.2.5.0090.18 «Пастушьей сумки обыкновенной трава» [Электронное издание]. Режим доступа: http://femb.ru/femb/pharmacopea.php. (дата обращения: 20.03.2021).

15. Скляревская, Н. В. Фармакогностическое исследование листьев лабазника камчатского / Н. В. Скляревская, Ю.А. Гладкая // Сборник научных трудов научно-методической конференции «II Гаммермановские чтения» 03-06.02.2014. – СПб.: Изд-во СПХФА, 2014. – С. 110-112.

16. Государственная фармакопея РФ XIV изд., т. 2., ОФС.1.5.3.0008.15 «Определение содержания дубильных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах». [Электронное издание]. Режим доступа: http://femb.ru/femb/pharmacopea.php. (дата обращения: 26.03.2021).

INFLUENCE OF DRYING CONDITIONS ON THE CONTENT OF BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES IN SOME SPECIES OF PLANT RAW MATERIALS

associate professor, Ph.D. in Pharmacy Sklyarevskaya N.[a)], Generalova Yu., Beskostaya M.
Saint-Petersburg State Chemical Pharmaceutical University, Russian Federation, Saint-Petersburg, Prof. Popov St., 14, 197376
a) corresponding author – nelly.sklyarevskaya@pharminnotech.com

Abstract. Herbal raw materials are mainly used in dried form. Each plant reacts individually to external influences, as it has a unique chemical composition. The study of the effect of thermal, air-shadow and infrared (IR) drying on the quantitative content of biologically active substances in some types of plant materials is a current task. Goat's rue – *Galega officinalis* L., meadow clover – *Trifolium pratense* L., black crowberry – *Empetrum nigrum* L. as sources of polyphenolic compounds, they are promising for studying in case of disorders of fat and carbohydrate metabolism, and knowledge of the most profitable method of drying makes it possible to use the resulting raw materials more efficiently. The influence of drying conditions on the quantitative content of flavonoids and tannins in the herb of the medicinal goat's rue, black crowberry, and meadow clover has been studied. To assess the quality of raw materials, permanganatometry was used to determine tannins, a spectrophotometric technique for determination of flavonoids, and high-performance liquid chromatography to analyze the component composition of phenolic compounds. On the basis of obtained data, it was shown that the content of flavonoids in the herb of medicinal goat's rue, dried by various methods, is close, a greater amount of tannins and identified phenolic compounds was noted for the raw material obtained using air-shadow drying. For black crowberry herb, heat drying is preferable; for aboveground part of meadow clover, it is more advisable to use infrared drying.
***Keywords**: Galega officinalis, Empetrum nigrum, Trifolium pretense,* drying, flavonoids, tannins.

УДК 615.322 DOI: 10.52101/9785870191003_2021_229

БЫСТРЫЙ ЯМР-СКРИНИНГ СОДЕРЖАНИЯ ФЛАВОНОИДОВ В РАСТИТЕЛЬНОМ СЫРЬЕ

Шеремета А. В.[a)], к.х.н. Васильев В.Г., Ивлев В. А., профессор, д.х.н. Калабин Г. А.

Центр коллективного пользования (Научно-образовательный центр) Российского университета дружбы народов, РФ, Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 8/2, 117198

а) автор для переписки – anzhelika.sheremeta@mail.ru

Аннотация. Оценка перспективности различных видов биомассы растительного сырья для извлечения из него биологически активных веществ требует разработки простых и быстрых методов измерения их содержания в экстрактивных веществах. Исследования различных групп природных полифенольных соединений методом спектроскопии ЯМР 1Н в растворителе ДМСО позволили нам установить для них характеристичность положений сигналов протонов гидроксильных групп, образующих внутримолекулярные водородные связи. Привлекательной особенностью этих сигналов для идентификации по ним отдельных флавоноидов и их групп является то обстоятельство, что в растворителе ДМСО они наблюдаются в области спектра ЯМР 1Н, свободной от всех других сигналов. Поскольку количественное содержание компонентов сложных смесей может быть определено по интегральным интенсивностям сигналов отдельных протонов в количественных спектрах ЯМР 1Н, указанные сигналы наиболее удобны для таких оценок. На примере нескольких групп флавоноидов, представляющих большой интерес как эффективные природные антиоксиданты, содержащиеся в значительном количестве биомассе растительного сырья (таксифолин в Larix sibirica, флаволигнаны в Sílybum mariánum, флавоногликозиды в Ginkgo biloba) показаны его возможности для быстрой оценки ресурсных возможностей сырья.

Ключевые слова. *флавоноиды, таксифолин, флаволигнаны, флавоногликозиды, спектроскопия ЯМР.*

ВВЕДЕНИЕ

Концепция эффективного управления окружающей средой не ограничивается главным экологическим императивом - сохранением экологического биоразнообразия. Его экономическая составляющая - рациональное потребление природного сырья. Деревья и высшие растения являются важными возобновляемыми ресурсами биосферы, методы обработки которых должны быть безотходными и давать не только целлюлозу, строительные и композиционные материалы. Их научно-обоснованное использование предполагает получение также широкого ассортимента пищевых, медицинских и технических веществ и препаратов. Оценка содержания БАВ в биомассе должна основываться на экологически безопасных количественных методах анализа. Ассортимент таких методов весьма широк – различные виды хроматографии, спектрофотометрии и инфракрасная спектрометрия, масс-спектрометрия. Все они имеют те или иные недостатки: необходимость выделения целевой компоненты или ее химическая модификация, сложная и длительная пробоподготовка, невысокая точность и т.д. общее их несовершенство состоит в том, что для определения количественного содержания в сырье целевой компоненты или их совокупности необходимо располагать эталонами, т.е. государственными стандартными образцами. При их отсутствии анализ невозможен. Спектроскопия ЯМР многокомпонентных экстрактов метаболитов свободна от сложной пробоподготовки, дериватизации и необходимости стандартных проб. Благодаря достаточной чувствительности, информативности и безальтернативно точным количественным измерениям, поскольку интегральные интенсивности сигналов отдельных индивидуальных компонентов прямо отражают их содержание, превосходит любой из вышеперечисленных методов. Для пересчета интенсивностей сигналов в содержание

компонентов могут быть использованы сигналы любого вещества, добавленного в образец количественно, в частности, сигналы растворителя.

Среди экстрактивных полифенольных соединений растительной биомассы особое место занимают флавоноиды, которых идентифицировано более 10 000. Разработана универсальная методика спектроскопии ЯМР для оценки содержания флавоноидов с уникальной биологической активностью в существенно разных объектах: таксифолина - 1 в древесине лиственницы сибирской (*Larix sibirica*), флавонолигнанов 2-8 в семенах расторопши пятнистой (*Silybum marianum*), группы флавоноловых гликозидов (ФГ) 9 в листьях гинкго билоба (*Ginkgo biloba*), структурные формулы которых представлены на Рисунке 1. Целью этой работы является изучение возможности определения содержания вышеуказанных биологически активных веществ в исследуемых экстрактах без использования стандартных образцов с целью экологического мониторинга и оценки их ресурсного потенциала для возможности создания лекарственных препаратов.

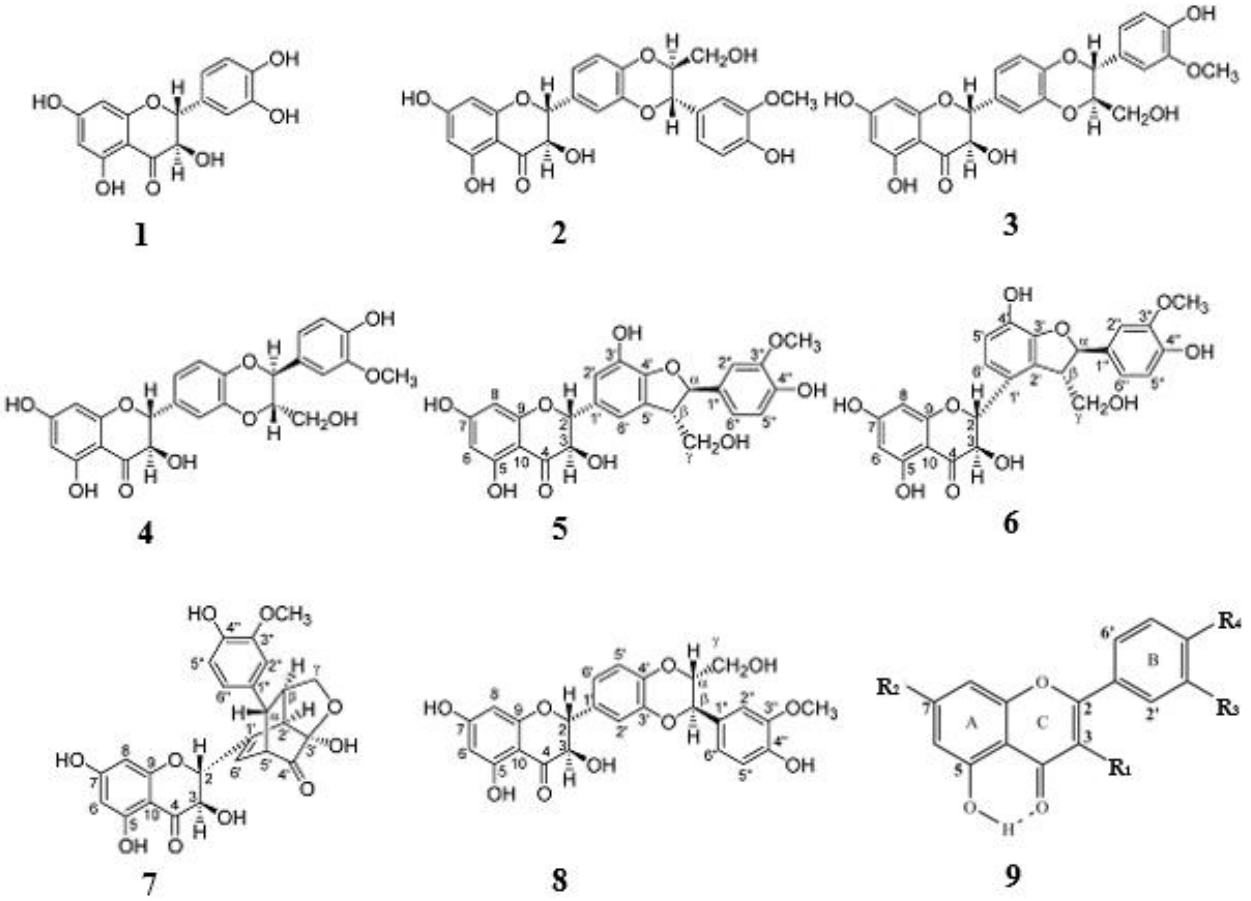


Рисунок 1 – Структурные формулы БАВ, рассматриваемых в статье: **1.** Таксифолин; **2.** Силибин А; **3**. Силибин Б; **4.** Изосилибин А; **5.** Изосилибин Б; **6.** Силикритин; **7.** Изосиликритин; **8.** Силидианин; **9.** ФГ *Ginkgo biloba*

Таксифолин. В хвойных лесах России сосредоточено около половины мировых запасов древесины, среди которых наибольшую площадь (≈260 млн га) занимает лиственница (≈37%) [1], которую ЮНЕСКО определила как символ России. Уникальным явлением лиственницы сибирской (Larix sibirica) является высокое содержание таксифолина в ее древесине (до 4%), что на порядок превышает его содержание в любых других видах растительного сырья. Благодаря своей способности ингибировать перекисное окисление липидов, таксифолин признан более сильным природным антиоксидантом.

Содержание таксифолина в сырье определяется в РФ после выделения и разделения суммы экстрактивных веществ методом ВЭЖХ с УФ-детектированием (λ=290 нм) по площади

хроматографического сигнала со временем удерживания 5,4 минуты [2]. Используется стандартный образец таксифолина с содержанием 98 % и выше. Систематическая погрешность метода для содержания таксифолина в сырье более 2 мг/г составляет 9,7 %.

Флавонолигнаны расторопши пятнистой (Silybum marianum) - однолетнее / двухлетнее растение семейства сложноцветных, которое в настоящее время растет и культивируется во всем мире. Оно веками использовалось в средиземноморской медицине в основном для лечения заболеваний печени, почек, селезенки и желчного пузыря. Силимарин — это хорошо зарекомендовавший себя стандартизованный сухой экстракт семян Silybum marianum, содержащий в основном флаволигнаны (более 65%), а также полимерные и окисленные полифенольные соединения. Основными флавонолигнами силимарина являются 2-8, содержание которых в сырье обычно более 2% [3].

Содержание силибинов в плодах расторопши пятнистой определяется [2] методом обращенно-фазовой ВЭЖХ с УФ-детектированием (λ=288 нм) с использованием подвижной фазы вода – трифторуксусная кислота (pH=2,5). Относительная погрешность для концентраций 2-8 в сырье менее 5 мг/г составляет 17,5%. Методика требует наличия ГСО соединений 2-8 или 2-3 в случае измерения содержания силибинов.

Флавоноловые гликозиды (ФГ). Препараты на основе экстракта листьев гинкго билоба - самые популярные растительные ноотропы в мире. Его лечебные свойства были известны более 2000 лет назад и ныне используются для лечения наиболее тяжелых заболеваний центральной нервной системы, таких как деменция и болезнь Альцгеймера. Экстракт из листьев гинкго содержит большое количество различных ФГ (более 70 классифицированы и более 30 выделены) [4]. ФГ гинкго имеют от одного до трех углеводных остатков и их ацилированных производных, агликоны которых представляют собой преимущественно кверцетин, кемпферол и изорамнетин, содержание которых минимально. Содержание 9 в сырье более 0,5 % - критерий целесообразности его промышленного использования.

Определение содержания совокупности флавоногликозидов 9 в листьях ГБ выполняется методом обращенно-фазовой ВЭЖХ с УФ-детектированием с (λ=365 нм) после кислотного гидролиза образца (т.е. перевода всех компонентов 9 в агликоны) с использованием ГСО кверцетина, кемпферола и изорамнетина [2]. Относительная систематическая погрешность методики для определения концентраций совокупности соединений 9 менее 5 мг/г составляет 13%, а время процесса хроматографирования гидролизата для определения содержания агликонов существенно меньше, чем процесса пробоподготовки и составляет около 10 мин.

Выбранный нами подход к определению флавоноидов – спектроскопия ЯМР ^{1}H, который особенно привлекателен, поскольку в качестве индикаторных сигналов могут быть успешно использованы сигналы протонов ароматических гидроксильных групп. Последние в спектрах ЯМР ^{1}H проявляются в области, как правило, свободной от иных сигналов. Для получения узких интенсивных сигналов этих протонов необходимо обеспечить условия отсутствия или существенно замедления их межмолекулярного протонного обмена. Это может быть достигнуто различными путями (растворители, температура, добавки).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы. Растительный материал представлял собой тонко измельченные абсолютно сухие образцы, а также коммерческие образцы экстрактов из этого сырья:

*1 – **древесина Larix sibirica** была предоставлена ООО «Научно-производственное объединение "Химия древесины"», Иркутск, Россия;*

*2 – **семена Silybum marianum** были предоставлены ЗАО «Фармацентр ВИЛАР», Москва, Россия;*

*3 – **листья Ginkgo biloba** были предоставлены ЗАО «Эвалар», Бийск, Россия. Коммерческие образцы экстрактов листьев Ginkgo biloba (I-VI) были куплены в аптечной сети.*

Для экстракции флавоноидов использовали растворитель диметилсульфоксид-d6 (DMSO-d6) (≥99,9%, Sigma-Aldrich, номер CAS 2206-27-1). Для дополнительной проверки корректности методик также использовались стандарты таксифолина (стандарт USP, номер CAS 480-18-2), силибина (стандарт USP, номер CAS 22888-70-6) и диосмина (стандарт USP, номер CAS 520-27-4).

Методы. Подготовка образцов и эксперименты.

Навеску 50,0 ± 0,5 мг порошка исходного материала помещали в эппендорф встряхивали в течение 10 минут на Vortex, 10 минут обрабатывали ультразвуком и помещали в центрифугу (14000 об/мин) на 5 минут. Надосадочную жидкость переносили в стандартную ампулу для ЯМР диаметром 5 мм и регистрировали спектр ЯМР 1Н.

Спектры ЯМР регистрировали по ОФС.1.2.1.1.0007.15 «Спектроскопия ядерного магнитного резонанса» на спектрометре ЯМР JEOL JNM ECA 600 (JEOL, Япония) при 298 K с рабочей частотой 600 МГц для протонов при следующих условиях: импульс - 45 °, время считывания сигнала - 3,5 с, время задержки между импульсами - 4 с, развертка спектра - 18 м.д., центр спектра - 7 м.д., точек на спектр - 32 К, количество накоплений – 64. Время регистрации каждого спектра - около 8 минут. Сбор и обработка данных выполнялись программой ПО Delta IV. Коррекция фазы и базовой линии производились автоматически, интегрирование производилось вручную.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Ранее при скрининге содержания флавоноидов в различных препаратах мы обнаружили [5], что спектры ЯМР ^{1}H в широком диапазоне концентраций (1-50 мг / мл) содержат узкие протонные сигналы гидроксильной группы в положении 5 (5-ОН) в области более 11 м.д. Это обусловлено тем, что протоны 5-ОН образуют сильную внутримолекулярную водородную связь с кислородом карбонильной группой в положении 4, из-за чего эти ядра сильно дезэкранированы, и их сигналы проявляются в ДМСО-d_6 в области от 11.8 до 13.5 м.д. в зависимости от наличия кратной связи в положении 2-3 кольца С и характера заместителей. Эта область для флавонов - 12.80–13.50 м.д., флавонолов – 12.40-12.65 м.д., флавононов – 12.0-12.20 м.д., флавононолов – 11.80-11.96 м.д. [5,6]. По сигналам протонов 5-ОН групп возможно не только идентифицировать ФГ в экстрактах растительного происхождения, но и определить их содержание.

Биологически активные вещества растительного сырья обычно экстрагируют растворителями с низкой температурой кипения (вода, метанол, этанол, ацетон, этилацетат), которые впоследствии удаляются. Растворитель ДМСО - нетоксичный органический растворитель способный растворять любые флавоноиды. Его присутствие не препятствует количественной оценке содержания соединений **1–9** по спектрам ЯМР ^{1}H при использовании сигналов протонов 5-ОН, химические сдвиги которых > 11 м.д. Высокая основность ДМСО способствует сужению сигналов протонов 5-ОН в спектре из-за замедления протонного обмена. Диосмин в ряде случаев использован в качестве внутреннего стандарта для количественных измерений содержания 1–9, поскольку время релаксации T_1 протонов 5-ОН которых меньше или равно T_1 протонов аналита. T_1 протонов 5-ОН диосмина и 1-9 не превышает 2 секунд в ДМСО-d_6, что значительно сокращает время получения спектра. Сигнал протона 5-ОН диосмина довольно узкий, он находится в той же спектральной области (12,95 ppm), что и сигналы протонов 5-ОН аналитов и представлен на Рисунке 2.

Валидация новой методологии по характеристикам линейность, предел обнаружения и предел количественного определения была проведена для индивидуальных растворов таксифолина или силибина А + силибина Б при концентрациях от 0,01 до 40 мг/мл. Линейная корреляция для таксифолина описывается уравнением: $y = 0,9447x + 0,2973$, $n = 7$, $R^2 = 0,9986$. Предел обнаружения (S/N = 3) составил 0,01 мг / мл для таксифолина (0,02 для силибина А + силибина Б), а предел количественного определения (S / N = 10) составил 0,03 мг / мл для таксифолина (0,05 мг/мл для силибина А + силибина Б). Полученные результаты дают

возможность использовать методику для другого растительного сырья, содержащего флавоноиды в меньших количествах, чем в биомассе древесины *Larix sibirica* или семян *Silybum marianum*.

Для оценки вариации ресурсного потенциала *Larix sibirica* как источника таксифолина измерено его содержание в пробах из разных частей древесины (корень, ствол) одного живого дерева зрелого возраста (100-120 лет) в окрестностях города Иркутска в течение года. Установлено, что содержание таксифолина в биомассе корней составляет около 50% от суммы экстрактивных веществ в ДМСО-d6 и колеблется от 0,8% весной до 3,4% осенью. Биомасса ствола всегда содержит в 1-2 раза меньше, что согласуется с результатами [1]. Сравнение эффективности ДМСО-d6 в качестве экстрагента таксифолина с обычно используемыми растворителями (метанол / вода, ацетон, этилацетат) показало полноту экстракции. Результаты, полученные методами спектроскопии ЯМР ^{1}H и ВЭЖХ-УФ [2], согласуются, хотя последний требует больше времени, требует стандартных образцов и имеет ошибки в 4-5 раз выше.

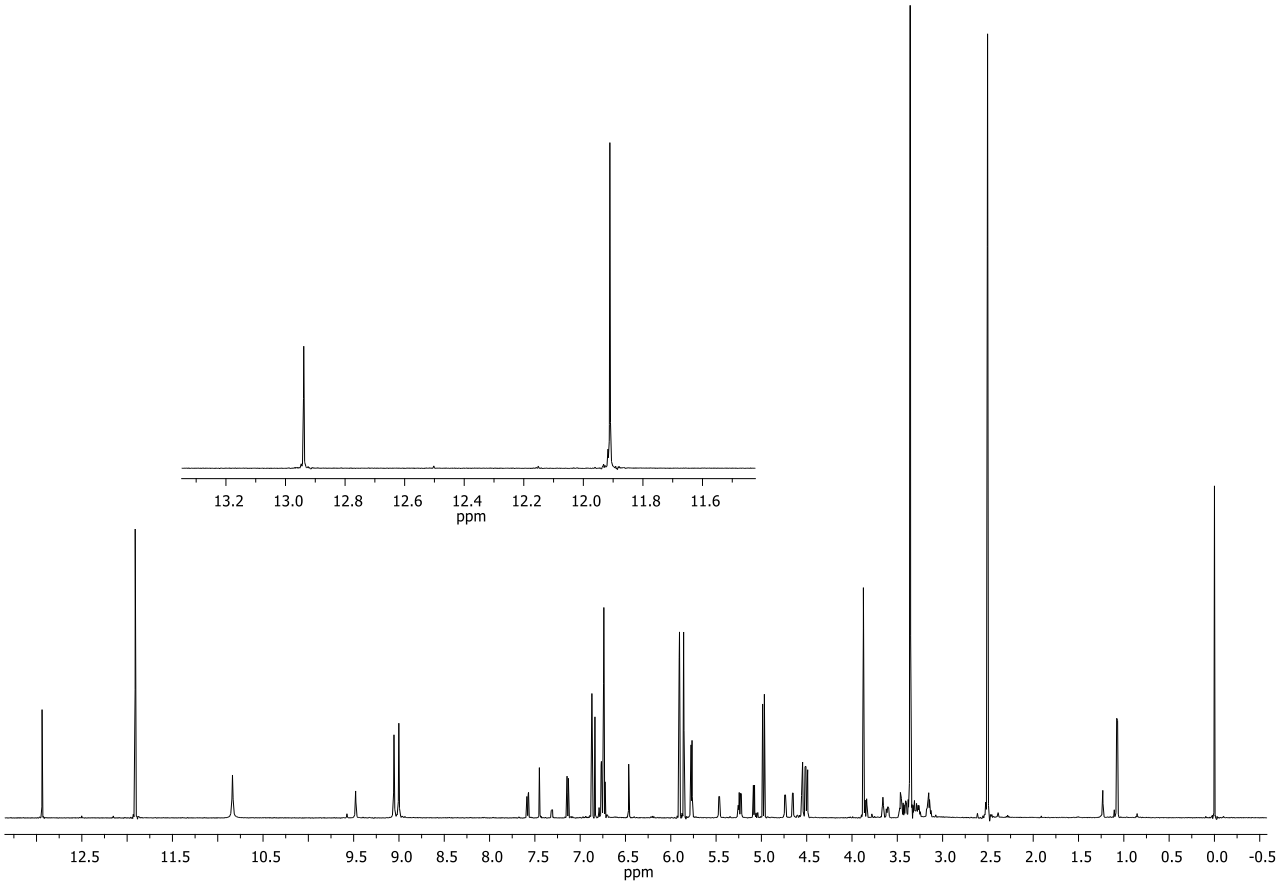


Рисунок 2 – Спектр ЯМР 1H экстракта древесины *Larix sibirica* в ДМСО-d6

Спектр ЯМР ^{1}H флавонолигнанов экстракта семян *Silybum marianum*, представленный на Рисунке 3А, содержит перекрывающиеся сигналы протонов 5-ОН компонентов 2-8 в диапазоне 11,9-12,0 м.д., который свободен от сигналов других компонентов. Их площадь соответствует их общему содержанию и позволяет рассчитать его, используя известную молекулярную массу 2-8, которая равна 482,4 г/моль. Предлагаемый метод позволяет определить целесообразность использования биомассы, извлеченной из различных частей *Silybum marianum* в разные периоды и географическое местоположение сырья. Качество экстракта *Silybum marianum* также зависит от содержания продуктов его окисления, которые содержат двойную связь С2-С3. Эти компоненты имеют сигналы протонов 5-ОН в диапазоне 12,1 - 12,5 м.д., что представлено на Рисунке 3А. Предлагаемый метод ресурсной оценки содержания наиболее эффективных биологически активных флавонолигнанов в экстракте

Silybum marianum по простоте, трудоемкости и точности значительно превосходит известный метод, основанный на ВЭЖХ-УФ и рекомендованный для количественного определения флавонолигнанов как в экстрактах, так и в фармацевтических препаратах на их основе [2].

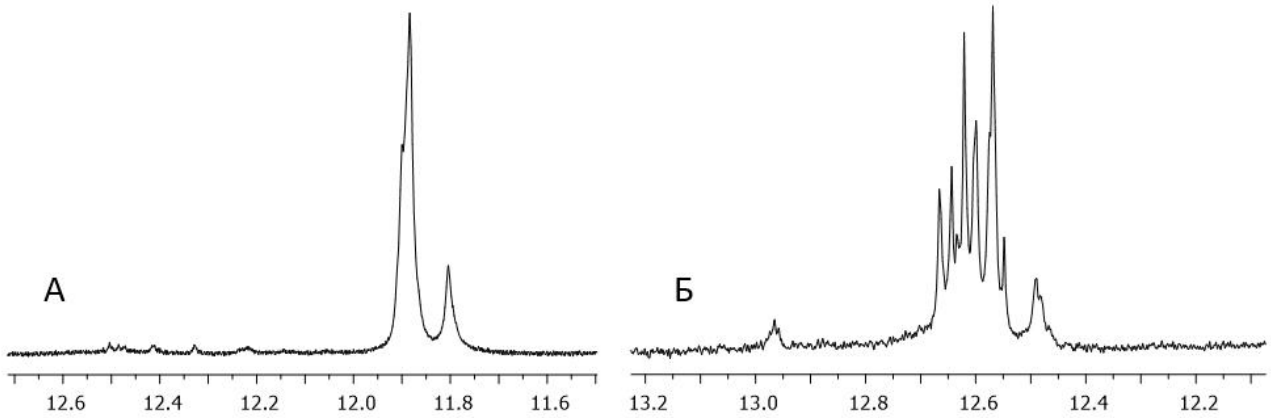


Рисунок 3 – Увеличенные области спектров ЯМР ^{1}H А - экстракта семян *Silybum marianum* и Б - экстракта листьев *Ginkgo biloba* в ДМСО-d6

Согласно [2], определение содержания ФГ в листьях *Ginkgo biloba* проводится методом ВЭЖХ-УФ. Однако пробоподготовка усложняется кислотным гидролизом и проводится пересчет содержания агликонов флавоноилов (кверцетина, кемпферола и изорамнетина) на массу ФГ. Стадия пробоподготовки предагаемого метода не включает гидролиз и, следовательно, позволяет охарактеризовать нативные ФГ в экстракте листьев *Ginkgo biloba*, поэтому их количественное определение является прямым. На Рисунке 3Б показана область спектра ЯМР ^{1}H экстракта *Ginkgo biloba*, содержащая сигналы протонов 5-ОН в области 12,50-12,65 м.д., что доказывает присутствие флавоногликозидов в образце. Согласно Рисунку 3Б, анализируемый образец содержит по меньшей мере десять доминирующих ФГ. В спектре также наблюдаются минорные сигналы при 12,47 м.д., что указывает на присутствие небольшого количества агликонов. Экстракт гинкго билоба содержит флавоноиды с разным размером гликозидной части (1-3 углеводных остатка) и, соответственно, молекулярной массой. Среднее соотношение молекулярной массы ФГ и их агликонов близко к 2,5 [4], а значение средней молекулярной массы составляет около 759 г/моль. Количественное определение ФГ в различных образцах *Ginkgo biloba* (I-VI) проводили путем сравнения интегральных интенсивностей их сигналов протонов 5-ОН с сигналом протонов 5-ОН диосмина. Для определения правильности результаты ЯМР сравнивались с результатами, полученными на ВЭЖХ-УФ. Результаты определения содержания ФГ в проанализированных различных образцах *Ginkgo biloba* методами спектроскопии ЯМР ^{1}H и ВЭЖХ представлены в Таблице 1.

Таблица 1 – Результаты определения ФГ методами ЯМР 1H и ВЭЖХ-УФ (n = 5, P = 0,95)

Образец	ЯМР	ВЭЖХ-УФ
	C, mg/ml	C, mg/ml
I	0,19±0,02	0,18±0,02
II	0,32±0,01	0,33±0,04
III	0,19±0,02	0,18±0,05
IV	0,19±0,04	0,19±0,02
V	0,41±0,04	0,35±0,04
VI	0,22±0,02	0,18±0,02

Воспроизводимость результатов измерения методом ЯМР менее 10 %. Предел обнаружения (при S/N = 3) составляет 0,04 мг/мл, а предел количественного определения (при S/N = 10) – 0,1 мг/мл. Разработанный метод ЯМР 1Н для определения ФГ в различном сырье *Ginkgo biloba* является чувствительным, линейным и воспроизводимым.

ВЫВОДЫ

Разработана методология быстрого измерения таксифолина в древесине *Larix sibirica*, флавонолигнанов в семенах *Silybum marianum*, флавоногликозидов в листьях Ginkgo biloba методом спектроскопии ЯМР ^{1}H. Она показала значительные преимущества по сравнению с другими методами анализа, такие как отсутствие необходимости в стандартных образцах и простая подготовка образцов. Из полученных результатов следует, что использование сигналов протонов 5-ОН флавоноидов удобно для их идентификации и количественного определения в растительном сырье. Валидационные характеристики указывают на возможность применения предложенной методики для оценки ресурсного потенциала растительного сырья. Этот подход успешно протестирован на других растительных материалах, содержащих флавоноиды, таких как корни Scutellaria baicalensis и листья Vitex agnus-castus, что расширяет его применимость.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бабкин, В. А. Биомасса лиственницы: от химического состава до инновационных продуктов / В. А. Бабкин, Л. А. Остроухова, Н. Н. Трофимова // отв. редактор А. А. Семенов. – Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2011. – 236 с.;
2. Тутельян, В. А. Методы анализа минорных биологически активных веществ пищи / В. А. Тутельян, К. И. Эллер. – Москва: Изд-во «Династия», 2010. – 180 с.;
3. Cheilari, A. Head-to-Head Comparison of Ultra-High-Performance Liquid Chromatography with Diode Array Detection versus Quantitative Nuclear Magnetic Resonance for the Quantitative Analysis of the Silymarin Complex in Silybum marianum Fruit Extracts / A. Cheilari, S. Sturm, D. Intelmann, C. Seger, H. Stuppner // Journal of Agricultural and Food Chemistry. – 2016. – 64(7). – P. 1618-1626;
4. Liu, X. G. Advancement in the chemical analysis and quality control of flavonoids in Ginkgo biloba / X. G. Liu, S. Q. Wu, P. Li, H. Yang // Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. – 2015. – V. 113. – P. 212-225;
5. Vasil', ev V. G. Identification of Terpene Lactones and Flavonol Glycosides in Preparations Based on Ginkgo Biloba Extract and a New Way of Semi-Quantitative Determination of Flavonol Glycosides by 1H NMR Spectroscopy / V. G. Vasil'ev, A. S. Prokop'ev, G. A. Kalabin // Russian Journal of Bioorganic Chemistry. – 2017. – 43(7). – P. 86–92;
6. Sheichenko, V. I. NMR study of the phenolic component composition of plant metaboloms / V. I. Sheichenko, O. P. Sheichenko, V. V. Anufrieva, O. N. Tolkachev, K. M. Dyumaev, T. A. Sokol'skaya // Pharmaceutical Chemistry Journal. – 2016. – 50(2). – P. 83-89.

RAPID NMR SCREENING OF FLAVONOID CONTENT IN HERBAL RAW MATERIALS

Sheremeta A. V.a), Ph.D. in Chemistry, Vasil'ev V. G., Ivlev V. A., Professor, D.Sc. in Chemistry Kalabin G. A.

Shared Research and Educational Center of RUDN University, RF, Moscow, 8/2 Miklukho-Maklaya St., 117198

a) corresponding author – anzhelika.sheremeta@mail.ru

Abstract. Evaluation of the prospects of various plant biomass for the extraction of biologically active substances from it requires the development of simple and rapid methods for measuring their content in extractive substances. Study of various groups of natural polyphenolic compounds by 1H NMR spectroscopy in DMSO-d6 solvent allowed us to establish for them the characteristic positions of hydroxyl group proton signals forming intramolecular hydrogen bonds. An attractive feature of these signals for the identification of individual flavonoids and their groups is the fact that in DMSO-d6 solvent they are observed in the 1H NMR spectral region free of all other signals. Since the quantitative content of the components of complex mixtures can be determined by the integral intensities of the signals of individual protons in the quantitative ^{1}H NMR spectra, these signals are most convenient for such assessments. By the example of several groups of flavonoids of great interest as effective natural antioxidants contained in a significant amount of biomass of plant raw materials (taxifolin in *Larix sibirica*, flavolignans in *Silybum marianum*, flavonoglycosides in *Ginkgo biloba*) its possibilities for rapid assessment of resource potential of raw materials are shown.

Keywords. flavonoids, taxifolin, flavolignans, flavonoglycosides, NMR spectroscopy.

УДК: 615.32:547.9+543.544 DOI: 10.52101/9785870191003_2021_237

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА НАДЗЕМНЫХ ОРГАНОВ СИРЕНИ ОБЫКНОВЕННОЙ (*SYRINGA VULGARIS* L.)

профессор, д.фарм.н. Куркин В. А.[a)], к.фарм.н. Рязанова Т. К., Серебрякова А. Д.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Россия, г. Самара, ул. Чапаевская, д. 89, 443099

а) автор для переписки – v.a.kurkin@samsmu.ru

Аннотация. Целью исследования являлось проведение сравнительного исследования химического состава надземных органов сирени обыкновенной (кора, цветки, листья). Кора сирени обыкновенной используется для получения государственного стандартного образца сирингина, нашедшего применение в стандартизации сырья и препаратов элеутерококка колючего. В исследованиях на животных показано, что препараты на основе коры сирени обладают иммуномодулирующим, адаптогенным, анксиолитическим и антидепрессивным действием. В то же время интерес представляет состав биологически активных соединений в других частях растения – цветках и листьях. В работе представлены результаты сравнительных исследований этих органов растений с использованием метода высокоэффективной жидкостной хроматографии и тонкослойной хроматографии. Выявлено, что сирингин – основное биологически активное соединение коры сирени обыкновенной – обнаруживается в незначительных количествах в цветках и не обнаруживается в листьях сирени. Содержание сирингина в образцах коры варьировало от 2,55 % до 5,38 %. Преобладающими биологически активными соединениями в цветках сирени являются фенилпропаноиды, в листьях – флавоноиды. Полученные результаты показывают перспективность дальнейших исследований надземных органов сирени обыкновенной в качестве источников лекарственных средств.

Ключевые слова: сирень обыкновенная, Syringa vulgaris L., хроматография, сирингин, фенилпропаноиды, флавоноиды, цветки, кора, листья

ВВЕДЕНИЕ

Кора сирени обыкновенной (*Syringa vulgaris* L., сем. Маслинные - *Oleaceae*) используется в фармации в качестве источника государственного стандартного образца сирингина, применяемого для стандартизации сырья и препаратов элеутерококка колючего (*Eleutherococcus senticosus* Rupr. et Maxim) [1]. Помимо сирингина, из коры были выделены другие фенилпропаноиды (конифери́н, актеозид, форзитиазид), другие фенольные соединения (салидрозид, тирозол, гидрокситирозол), иридоиды [1-4]. Разработаны методики оценки подлинности и определения количественного содержания сирингина в коре сирени обыкновенной [1]. В то же время меньшее внимание уделялось другим частям растения, в том числе цветкам и листьям, с точки зрения качественного анализа биологически активных соединений (БАС). Согласно литературным данным, в листьях сирени обыкновенной обнаруживали иридоиды (изолигустрозид, изоолеуропеин, вербаскозид и др.), флавоноиды (рутин), в цветках – флавоноид кемпферол-3-*O*-рутинозид. Из листьев и цветков других представителей рода *Syringa* выделяли фенилпропаноиды (мандшурикол A и B, (+)-ларицирезинол 4'-O-β-D-глюкопиранозил-(1→3)-β-D-глюкопиранозид), флавоноиды (лютеолин, роифолин, астрагалин, кемпферол-3,7-α-L-дирамнозид, кемпферол-3-β-D-глюкозид-7-α-L-дирамнозид) и другие соединения [2].

В исследованиях на животных препараты на основе коры сирени показали широкий спектр биологической активности, в том числе обладали иммуномодулирующим, адаптогенным, анксиолитическим и антидепрессивным действием [1]. При введении внутрь и

при внутрибрюшинном введении кошкам и кроликам экстракт из листьев сирени обыкновенной показывал жаропонижающее действие [5]. Известен опыт народного применения листьев сирени в качестве средства, обладающего противовоспалительными и антибактериальными свойствами [6].

В связи с недостаточностью информации о химическом составе надземных органов сирени обыкновенной целью настоящего исследования являлось проведение сравнительного хроматографического исследования коры, цветков, листьев сирени.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы:

1 – образцы коры, цветков и листьев сирени обыкновенной, заготовленные в мае 2020 г. в Ботаническом саду Самарского университета,

2 – образцы коры сирени, заготовленные в 2018-2020 гг. в Самарской (с. Верхний Сускан, с. Ермаково) и Саратовской (с. Натальино) областях.

3 – стандартный образец сирингина, соответствующий требованиям ВФС 42-2088-92, получен авторами статьи из коры сирени обыкновенной с использованием колоночной хроматографии на силикагеле и последующей перекристаллизации из воды.

4 – стандартный образец рутина, соответствующий требованиям ФС 42-2508-87, получен авторами статьи из фармацевтической субстанции «Рутин» с использованием колоночной хроматографии на полиамиде и последующей перекристаллизации из водного спирта.

Методы:

Для анализа сырья сирени обыкновенной использовали хроматографические методы: тонкослойная хроматография (ТСХ) и высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ).

ТСХ-анализ проводили с использованием хроматографических пластинок «Сорбфил ПТСХ-АФ-А-УФ», микропипеткой наносили по 0,015 мл водно-спиртовых извлечений из исследуемых образцов сырья сирени обыкновенной и по 0,015 мл растворов стандартных образцов. Определение проводили в системе хлороформ – этанол – вода (26:16:3). Хроматографическую пластинку помещали в камеру, которую предварительно насыщали в течение 24 часов смесью растворителей и хроматографировали восходящим способом. Полученную хроматограмму просматривали при дневном свете, в УФ-свете при λ=254 нм и λ=366 нм.

ВЭЖХ-анализ осуществляли с использованием хроматографа «Милихром-6» (НПАО «Научприбор») в следующих условиях обращенно-фазовой хроматографии в изократическом режиме: стальная колонка «КАХ-6-80-4» (2 мм х 80 мм; Сепарон-С18 5 мкм), подвижная фаза – ацетонитрил : 1 % раствор уксусной кислоты в воде в соотношении 15:85, скорость элюирования - 100 мкл/мин, объем элюента - 1500 мкл. Для детекции была выбрана длина волны 266 нм, которая соответствует длине волны максимума поглощения сирингина. Расчет содержания сирингина проводили с использованием методом внешнего стандарта. Пригодность хроматографической системы оценивали в соответствии с ОФС.1.2.1.2.0001.15 «Хроматография» [7].

Регистрацию электронных спектров проводили с помощью спектрофотометра «Specord 40» (Analytik Jena) в диапазоне длин волн от 190 до 500 нм.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

С использованием метода ТСХ наличие сирингина подтверждено во всех исследованных образцах коры сирени обыкновенной (Рисунок 1).

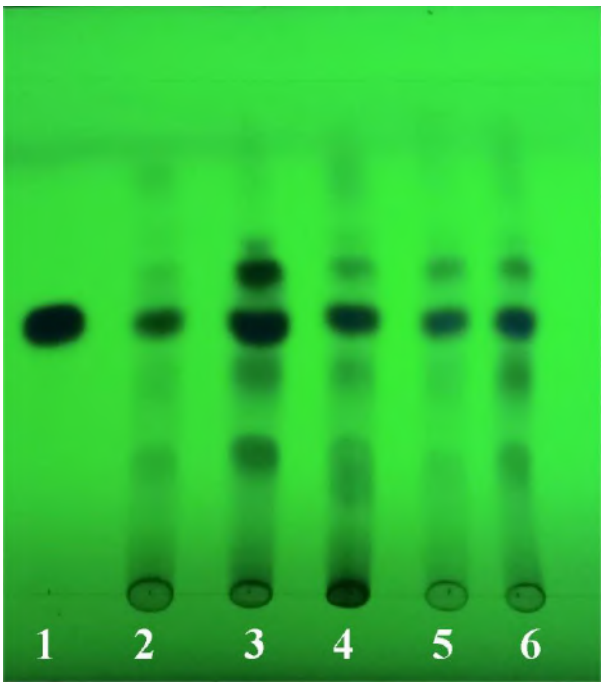


Рисунок 1 - ТСХ-хроматограмма сирингина, водно-спиртовых извлечений из коры сирени обыкновенной и экспериментального препарата «Сирени коры настойка»

Обозначения: 1 – сирингин; 2 – экспериментальный препарат «Сирени коры настойка»; 3 – водно-спиртовое извлечение из коры сирени (с. Натальино, Саратовская область, май 2018 г.); 4 – водно-спиртовое извлечение из коры сирени (с. Верхний Сускан, Самарская область, май 2020 г.); 5 - водно-спиртовое извлечение из коры сирени (с. Ермаково, Самарская область, май 2020 г.), 6 - водно-спиртовое извлечение из коры сирени (Ботанический сад Самарского университета, май 2020 г.)

В описанных выше условиях ВЭЖХ-анализа время удерживания пика сирингина на хроматограммах стандартного образца сирингина и водно-спиртового извлечения из коры сирени обыкновенной составило (4,046±0,070) мин и (4,092±0,082) мин соответственно (Рисунок 2). С использованием этих условиях разработана методика определения количественного содержания сирингина в коре сирени обыкновенной.

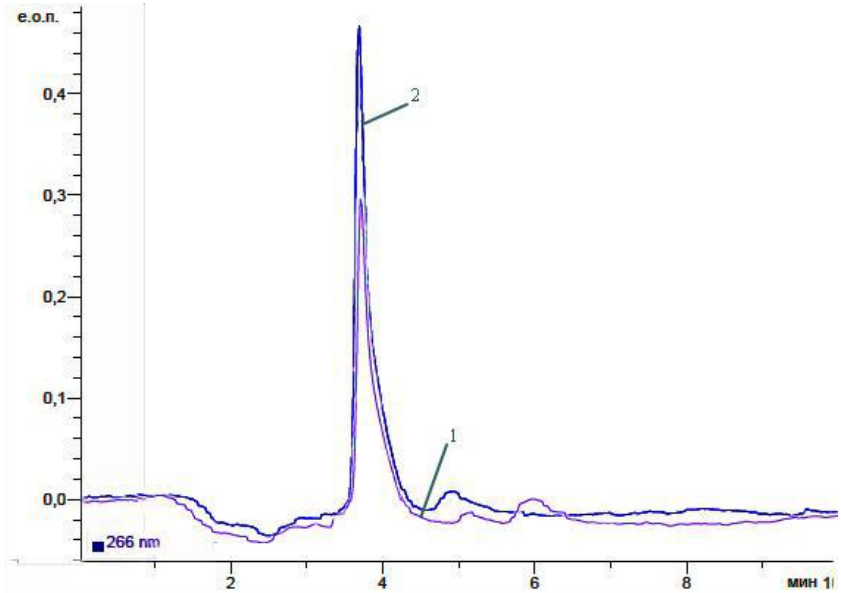


Рисунок 2 – ВЭЖХ-хроматограмма исходного водно-спиртового извлечения из коры сирени обыкновенной (1) и после добавления раствора стандартного образца сирингина (2)

Метрологические характеристики предлагаемой ВЭЖХ-методики свидетельствуют о том, что ошибка определения среднего результата содержания сирингина в коре сирени обыкновенной с доверительной вероятностью 95 % составляет ±3,20 %. Правильность методики определяли методом добавок путем добавления раствора сирингина с известной концентрацией (80 %, 100 % и 120 %) к испытуемому раствору. При этом средний процент восстановления составил 98,8 %.

С использованием данной методики был проанализирован ряд образцов коры сирени обыкновенной (Таблица 1). Содержание сирингина варьировало от 2,55% до 5,38%.

Таблица 1 - Содержание сирингина в образцах коры сирени обыкновенной

№ п/п	**Место и время сбора сырья**	**Содержание сирингина в пересчете на абсолютно сухое сырье, %**
1	Ботанический сад Самарского университета, заготовлено в мае 2020 г.	2,55±0,11
2	Самарская область, с. Ермаково, заготовлено в мае 2020 г.	2,98±0,09
3	Самарская область, с. Верхний Сускан, заготовлено в мае 2020 г.	4,12±0,21
4	Саратовская область, с. Натальино, заготовлено в мае 2018 г.	5,38±0,16

Согласно результатам ТСХ- и ВЭЖХ-анализа содержание сирингин в извлечениях из цветков сирени значительно меньше его содержания в коре, в извлечениях из листьев сирени обыкновенной он не обнаруживается (Рисунки 3-5).

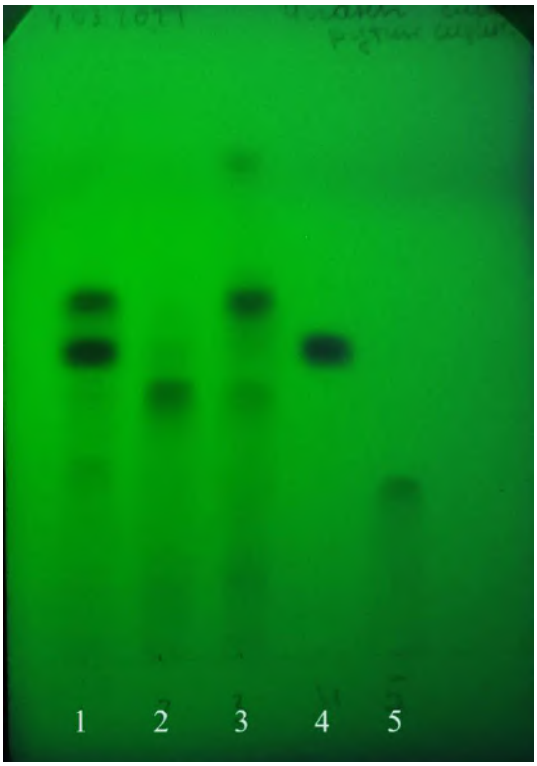


Рисунок 3 – ТСХ-хроматограмма водно-спиртовых извлечений из разных органов сирени обыкновенной в присутствии стандартного образца сирингина

Обозначения: 1 – водно-спиртовое извлечение из коры сирени обыкновенной; 2 – водно-спиртовое извлечение из цветков сирени обыкновенной; 3 – водно-спиртовое извлечение из листьев сирени обыкновенной; 4 – раствор стандартного образца сирингина; 5 – раствор стандартного образца рутина.

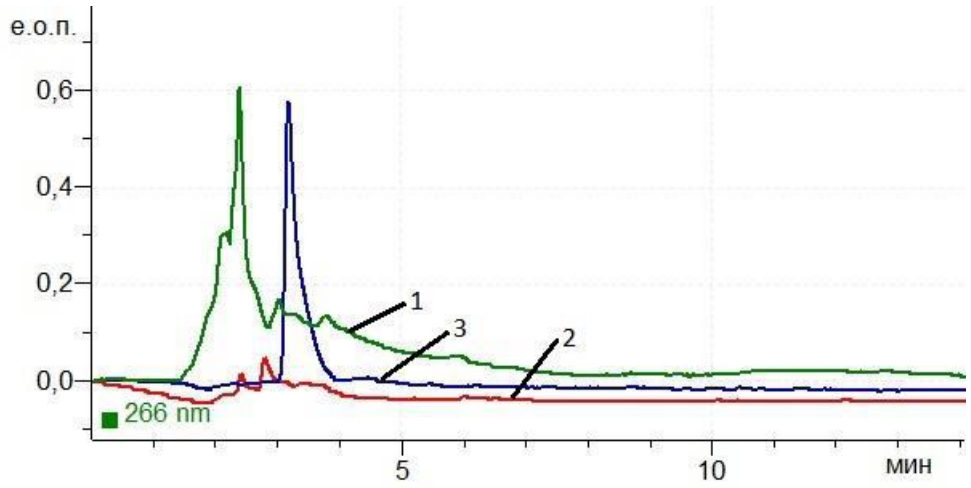


Рисунок 4 – ВЭЖХ-хроматограмма настойки 1:5 из цветков сирени обыкновенной [экстрагент – 70% этанол] (1), извлечения 1:30 из цветков сирени обыкновенной [экстрагент – 70% этанол] (2) и раствора стандартного образца сирингина (3)

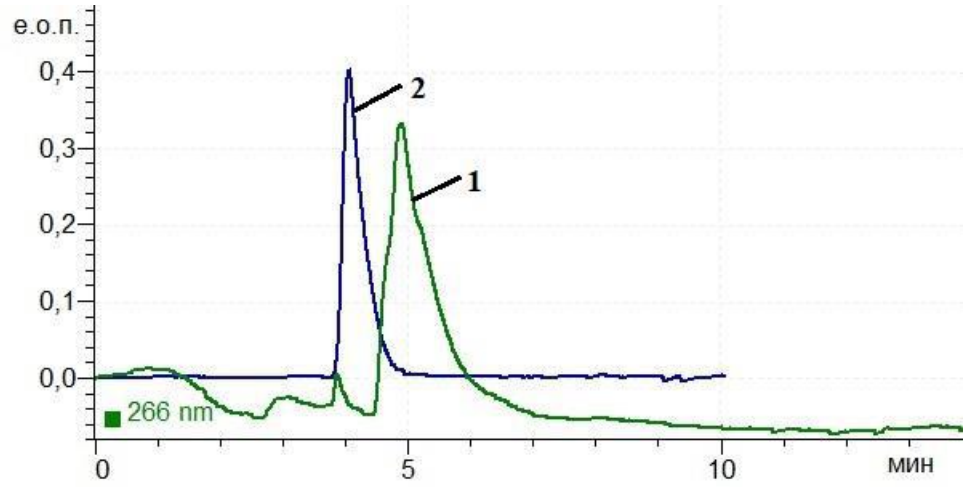


Рисунок 5 – ВЭЖХ-хроматограмма настойки 1:5 из листьев сирени обыкновенной [экстрагент – 70% этанол] (1) и раствора стандартного образца сирингина (2)

В водно-спиртовых извлечениях из листьев сирени обыкновенной при добавлении раствора алюминия хлорида наблюдается батохромный сдвиг длинноволновой полосы с максимумом поглощения при длине волны 412 нм, что может служить признаком наличия флавоноидов в этом органе растения (Рисунок 6). Максимум поглощения при длине волны 412 нм в присутствии алюминия хлорида характерен для Государственного стандартного образца рутина. Возможность присутствия рутина в листьях сирени обыкновенной подтверждается литературными данными [6]. Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин в исследованных образцах листьев сирени обыкновенной составляло от 2,76 до 3,89 %.

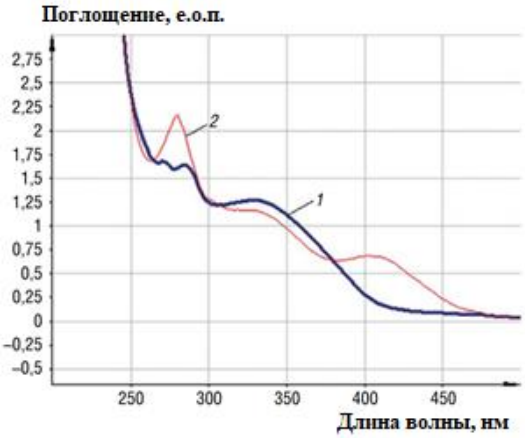
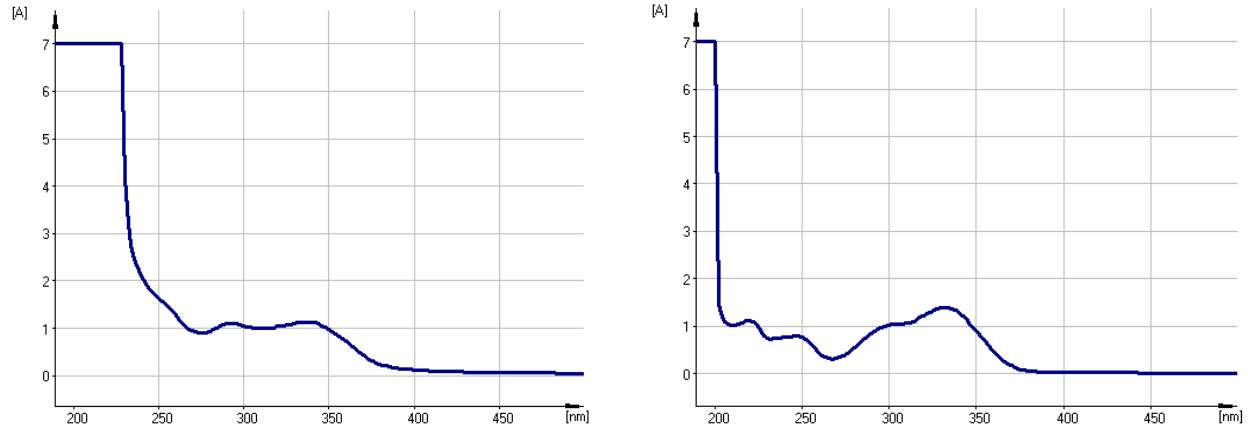


Рисунок 6 – Электронные спектры растворов водно-спиртового извлечения из листьев сирени обыкновенной

Обозначения: 1 – раствор извлечения из листьев сирени; 2 – раствор извлечения с добавлением алюминия хлорида

В УФ-спектре водно-спиртового извлечения из цветков сирени обыкновенной наблюдается пик при длине волны 330 нм, что совпадает с максимумом поглощения в УФ-спектре раствора стандартного образца фенилпропаноида – хлорогеновой кислоты (Рисунок 7). Извлечение из цветков сирени и хлорогеновая кислота имеют также сопоставимые профили кривых поглощения. Содержание суммы фенилпропаноидов в пересчете на хлорогеновую кислоту в цветках варьировало от 5,58 % до 6,19 %. В присутствии раствора алюминия хлорида также наблюдается батохромный сдвиг длинноволновой полосы, что указывает на присутствие соединений флавоноидной природы, однако интенсивность поглощения в дифференциальном варианте незначительная, что указывает на более высокий вклад фенилпропаноидов в кривую поглощения извлечения из цветков и их более высокое содержание в сырье.



А Б

Рисунок 7 – Электронные спектры раствора водно-спиртового извлечения из цветков сирени обыкновенной (А) и спиртового раствора хлорогеновой кислоты (Б)

ВЫВОДЫ

Таким образом, проведено сравнительное исследование химического состава надземных органов сирени обыкновенной. В коре сирени доминирует сирингин, который присутствует в незначительных количествах в цветках и не обнаруживается в листьях сирени. По данным спектроскопических исследований в листьях сирени обыкновенной преобладают флавоноиды (предположительно рутин), в цветках – фенилпропаноиды (предположительно, хлорогеновая кислота). Содержание сирингина в исследованных образцах коры сирени

варьировало от 2,55 % до 5,38 %. Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин в исследованных образцах листьев сирени обыкновенной составляло от 2,76 до 3,89 %. Содержание суммы фенилпропаноидов (в пересчете на хлорогеновую кислоты) в цветках варьировало от 5,58 % до 6,19 %.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.

1. Куркин, В.А. Фармакогнозия: учебник для студентов фармац. вузов / В. А. Куркин. – Изд. 4-е, перераб. и доп. – Самара: Офорт; ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России, 2019. – 1278 с.
2. Su, G. Phytochemical and pharmacological progress on the genus *Syringa.* / G. Su, Y.Cao, C. Li et al. // Chem Cent J. – 2015. – № 9. – P. 2-13.
3. Varga, E., Phenolic composition, antioxidant and antinociceptive activities of *Syringa vulgaris* L. bark and leaf extracts / E. Varga, C. Barabás, A. Tóth, I. Boldizsár, B. Noszál, G. Tóth // Nat Prod Res. – 2019. – Vol. 33, № 11. – P. 1664-1669.
4. Спиридович, Е. В. Анализ вторичных метаболитов в коре видов рода сирень (*Syringa* L.), интродуцированных в Центральном ботаническом саду НАН Беларуси / Е.В. Спиридович, П.С. Шабуня, С.А. Фатыхова и др. // Вестник фармации. – 2018. – Т. 82, № 4. – С. 28-37.
5. Woźniak, M. Effects of phytochemically characterized extracts from *Syringa vulgaris* and isolated secoiridoids on mediators of inflammation in a human neutrophil model / M. Woźniak, B. Michalak, J. Wyszomierska, M.K. Dudek and A.K. Kiss // Front. Pharmacol. – 2018. - № 9. – P. 349.
6. Серебрякова, А.Д. Разработка подходов к стандартизации листьев сирени обыкновенной / А.Д. Серебрякова, В.А. Куркин // Аспирантский вестник Поволжья. – 2020. – № 1–2. – С. 158–163.
7. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. // Министерство здравоохранения Российской Федерации, 2018. URL: http://www.femb.ru/femb/pharmacopea.php.

COMPARATIVE STUDY OF CHEMICAL COMPOSITION OF *SYRINGA VULGARIS* L. ABOVE-GROUND ORGANS

Professor, D.Sc. in Pharmacy Kurkin V.[a)],
associate professor, Ph.D. in Pharmacy Ryazanova T., Serebryakova A.
Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Samara State Medical University" of the Ministry of Health of the Russian Federation, Russia, Samara, ulitsa Chapaevskaya, 89, 443099
a) corresponding author – v.a.kurkin@samsmu.ru

Abstract. The aim of the study was to carry out a comparative study of chemical composition of the aboveground organs of *Syringa vulgaris* L. (bark, flowers, leaves). The bark of *Syringa vulgaris* L. is used to obtain the state standard sample of syringin, which has found application in the standardization of raw materials and preparations of *Eleutherococcus senticosus* (Rupr. & Maxim.) Maxim. Animal studies have shown that preparations based on *Syringa vulgaris* L. bark have immunomodulatory, adaptogenic, anxiolytic and antidepressant effects. At the same time, the composition of biologically active compounds in other parts of the plant (flowers and leaves) is of interest. The paper presents the results of comparative studies of these plant organs using the method of high-performance liquid chromatography and thin layer chromatography. It was revealed that syringin, the main biologically active compound of the common lilac barks, is found in trace amounts in flowers and is not found in leaves of *Syringa vulgaris* L. The syringin content in the bark samples varied from 2.55 % to 5.38 %. The predominant biologically active compounds in *Syringa vulgaris* L. flowers are phenylpropanoids, in leaves - flavonoids. The results obtained show the promise of further studies of the aboveground organs of *Syringa vulgaris* L. as sources of medicines.
Keywords: *Syringa vulgaris L., chromatography, syringin, flavonoids, flowers, bark, leaves*

УДК: 615.32:547.9+543.544 DOI: 10.52101/9785870191003_2021_245

КОНЦЕПТУАЛЬНЫЕ АСПЕКТЫ СТАНДАРТИЗАЦИИ КОРНЕВИЩ И КОРНЕЙ РОДИОЛЫ РОЗОВОЙ (*RHODIOLA ROSEA* L.)

профессор, д.фарм.н. Куркин В. А.[a)], к.фарм.н. Рязанова Т. К.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Россия, г. Самара, ул. Чапаевская, д. 89, 443099

а) автор для переписки – v.a.kurkin@samsmu.ru

Аннотация. Целью исследования являлось обоснование методологических подходов к анализу биологически активных соединений в лекарственном растительном сырье родиолы розовой (*Rhodiola rosea* L.). Известно, что основными действующими компонентами, обусловливающими адаптогенную активность корневищ родиолы розовой, являются фенилпропаноиды (розавин, розин, розарин) и фенолоспирты (тирозол, салидрозид). В действующей фармакопейной статье «Родиолы розовой корневища и корни» (ФС.2.5.0036.15) предусмотрено определение содержания салидрозида и суммы гликозидов коричного спирта в пересчете на розавин. В то же время розавин является наиболее лабильным соединением, который легко разрушается под воздействием ферментов при неправильной сушке сырья (по сравнению с другими фенилпропаноидами). В связи с этим более концептуально верным является определение только розавина, являющегося доминирующим и диагностически значимым биологически активным соединением, а не суммы гликозидов. Кроме этого, по сравнению с существующей методикой нами предлагается замена градиентного режима элюирования на изократический и изменены длины волн для детекции салидрозида (λ_{max} 278 нм вместо 219 нм). Валидационная оценка показала удовлетворительные метрологические характеристики предлагаемой методики определения содержания салидрозида и розавина в корнях и корневищах родиолоы розовой.

Ключевые слова: *родиола розовая, Rhodiola rosea L., корневища и корни хроматография, фенилпропаноиды, розавин, салидрозид.*

ВВЕДЕНИЕ

В медицинской практике широко применяются адаптогенные лекарственные препараты, основным источником которых являются лекарственные растения, среди которых особое место занимает родиола розовая (*Rhodiola rosea* L.) [1-3]. Известно, что основными действующими компонентами, обусловливающими адаптогенную активность корневищ родиолы розовой, являются фенилпропаноиды (розавин, розин, розарин) и фенолоспирты (тирозол, салидрозид) [1]. В действующей фармакопейной статье «Родиолы розовой корневища и корни» (ФС.2.5.0036.15) предусмотрено определение содержания салидрозида и суммы гликозидов коричного спирта в пересчете на розавин [4]. В то же время розавин является лабильным соединением, который по сравнению с другими гликозидами наиболее чувствителен к условиям получения и хранения сырья. Это связано с активностью фермента, способствующего отщеплению вицианозы – углеводного фрагмента молекулы розавина [1]. Вицианозидаза проявляет максимальную активность в температурном интервале 40-60 °С, который ранее рекомендовался для сушки сырья родиолы. Хранение недосушенных корневищ, экстракция свежего сырья этанолом при комнатной температуре также способствует разрушающему действию ферментов на состав биологических активных компонентов. Разрушение розавина приводит к образованию биологически неактивного коричного спирта, соответственно снижается фармакологическая активность сырья родиолы розовой и препаратов на его основе [1].

В связи с этим в целях стандартизации сырья более концептуально верным подходом, на наш взгляд, является количественное определение содержания не суммы гликозидов

коричного спирта, а наиболее уязвимого компонента – розавина. Уровень его содержания отражает правильность условий хранения и сушки корневищ и корней родиолы розовой и является гарантией присутствия других фенилпропаноидов, которые более устойчивы по сравнению с розавином.

Кроме этого, включенная в ФС.2.5.0036.15 методика предусматривает проведение анализа методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) в градиентном режиме элюирования [4]. На наш взгляд, подбор условий для проведения анализа в изократическом режиме позволит повысить воспроизводимость методики [5]. Кроме того, используемая в фармакопейной методике для детекции салидрозида длина волны 219 нм менее специфична по отношению к сопутствующим компонентам по сравнению с другим максимумом поглощения фенилэтанола салидрозида при 278 нм.

В связи с вышеперечисленным целью исследования являлось усовершенствование существующих подходов к стандартизации корневищ и корней родиолы розовой, принятых в Государственной фармакопее Российской Федерации.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы:

1 – образцы корневищ и корней родиолы розовой, заготовленные в 2016 г. (Алтайский край).

2 – стандартный образец розавина, соответствующий требованиям ФС 42-0071-01, получен авторами статьи из корневищ и корней родиолы розовой с использованием колоночной хроматографии на силикагеле и последующей перекристаллизации из 95 % этилового спирта.

3 - стандартный образец салидрозида, имеющий, по данным ТСХ, УФ-, ЯМР-спектроскопии и т.пл. (162-164 ^{o}C), степень чистоты не менее 98,0 % и соответствующий требованиям проекта ФС, получен авторами статьи из корневищ и корней родиолы розовой с использованием колоночной хроматографии на силикагеле, рехроматографии на полиамиде и последующей перекристаллизации из смеси хлороформа и 95 % этилового спирта.

Методы:

Для количественного определения действующих компонентов в сырье родиолы розовой использовали метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

Пробоподготовка заключалась в получении водно-спиртового извлечения из сырья. Для этого аналитическую пробу сырья измельчали до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 1 мм. Около 1 г измельченного сырья (точная навеска) помещали в колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляли 30 мл 70 % этилового спирта. Колбу закрывали пробкой и взвешивали на весах с точностью до ±0,01 г. Колбу присоединяли к обратному холодильнику и нагревали на кипящей водяной бане (умеренное кипение) в течение 60 мин. Затем колбу охлаждали в течение 30 мин, закрывали той же пробкой, снова взвешивали и восполняли недостающий экстрагент до первоначальной массы. Извлечение фильтровали через бумажный фильтр. 2 мкл полученного раствора вводили в хроматограф.

ВЭЖХ-анализ осуществляли с использованием хроматографа «Милихром-6» (НПАО «Научприбор») в следующих условиях обращенно-фазовой хроматографии в изократическом режиме: стальная колонка «КАХ-6-80-4» (2 мм х 80 мм; Сепарон-С18 5 мкм), подвижная фаза – ацетонитрил : 1 % раствор уксусной кислоты в воде в соотношении 13:87, скорость элюирования - 100 мкл/мин, объем элюента - 2500 мкл. Расчет содержания розавина и салидрозида проводили с использованием метода внешнего стандарта. Пригодность хроматографической системы оценивали в соответствии с ОФС.1.2.1.2.0001.15 «Хроматография» [5]. Одновременное УФ-детектирование проводили при длинах волн 252 нм (определение розавина) и 278 нм (определение салидрозида). Проводили не менее 3 параллельных определений.

Параллельно в хроматограф вводили по 3 мкл растворов стандартных образцов розавина и салидрозида и хроматографировали, как описано выше. Для салидрозида в качестве измеряемого параметра использовали высоту пика, так как показано, что при использовании этого показателя достигается более высокое значение коэффициента корреляции. Для розавина в качестве анализируемого показателя использовали площадь пика.

Примечание: *Приготовление раствора стандартного образца салидрозида.* Около 0,025 г (точная навеска) государственного стандартного образца салидрозида (содержание основного вещества ≥98 %) помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в небольшом количестве 95% этилового спирта, доводят 95% этиловым спиртом до метки, перемешивают.

Примечание: *Приготовление раствора стандартного образца розавина.* Около 0,025 г (точная навеска) государственного стандартного образца розавина (содержание основного вещества ≥98 %) помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в небольшом количестве 95% этилового спирта при нагревании на кипящей водяной бане, доводят 95% этиловым спиртом до метки, перемешивают.

Валидационная оценка разработанной методики проводилась по показателям: специфичность, линейность, правильность и прецизионность. Специфичность методики определялась по соответствию времен удерживания стандартных образцов салидрозида и розавина и пикам, соответствующим салидрозиду и розавину, на ВЭЖХ-хроматограмме исследуемых образцов, а также по разрешению между пиками и фактору асимметрии пиков.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В описанных выше условиях ВЭЖХ-анализа время удерживания пиков салидрозида на хроматограммах стандартного образца салидрозида и водно-спиртового извлечения из корневищ с корнями родиолы розовой составило (2,780±0,077) и (2,979±0,070) мин соответственно (Рисунок 1). Для розавина соответствующие значения составили (12,424±0,080) и (12,824±0,070) мин (Рисунок 2).

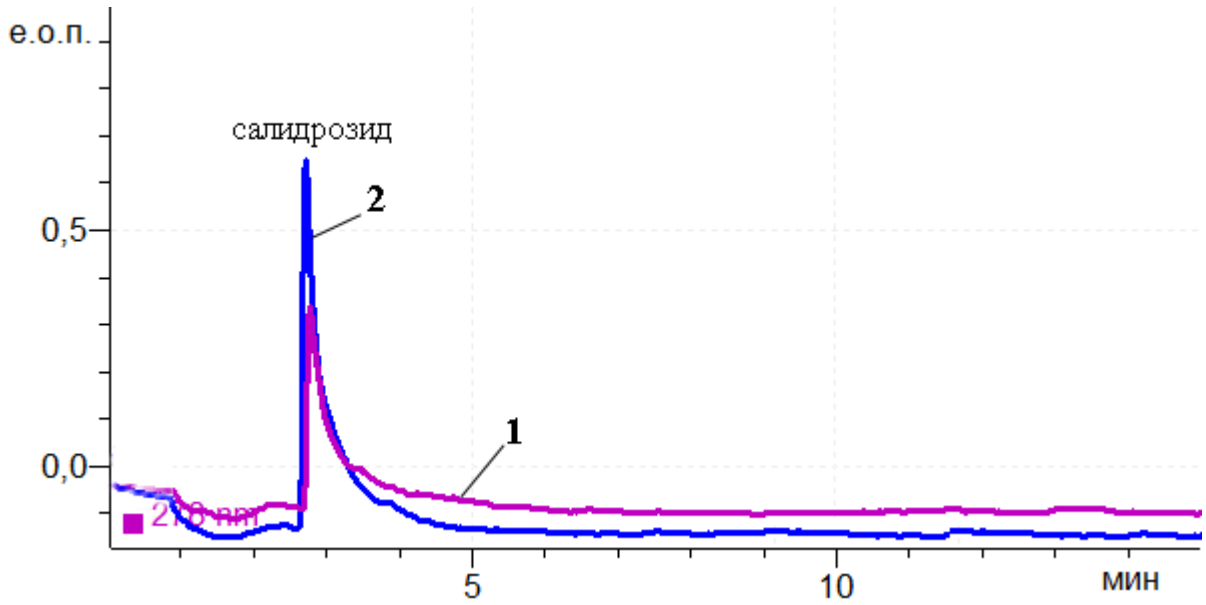


Рисунок 1 – ВЭЖХ-хроматограмма исходного водно-спиртового извлечения из корневищ и корней родиолы розовой (1) и после добавления раствора стандартного образца салидрозида (2) (детекция при длине волны 278 нм)

Метрологические характеристики предлагаемой ВЭЖХ-методики свидетельствуют о том, что ошибка определения среднего результата содержания салидрозида в корневищах и корнях родиолы розовой с доверительной вероятностью 95 % составляет ±4,75 %, розавина –

±4,56 %. Правильность методики определяли методом добавок путем добавления растворов салидрозида и розавина с известной концентрацией (80 %, 100 % и 120 %) к испытуемому раствору. При этом средний процент восстановления составил 97,6 % и 98,8 % соответственно. Ошибки определения салидрозида и розавина в пробах с добавками стандартных образцов находились в пределах ошибки единичного определения, что свидетельствует об отсутствии систематической ошибки.

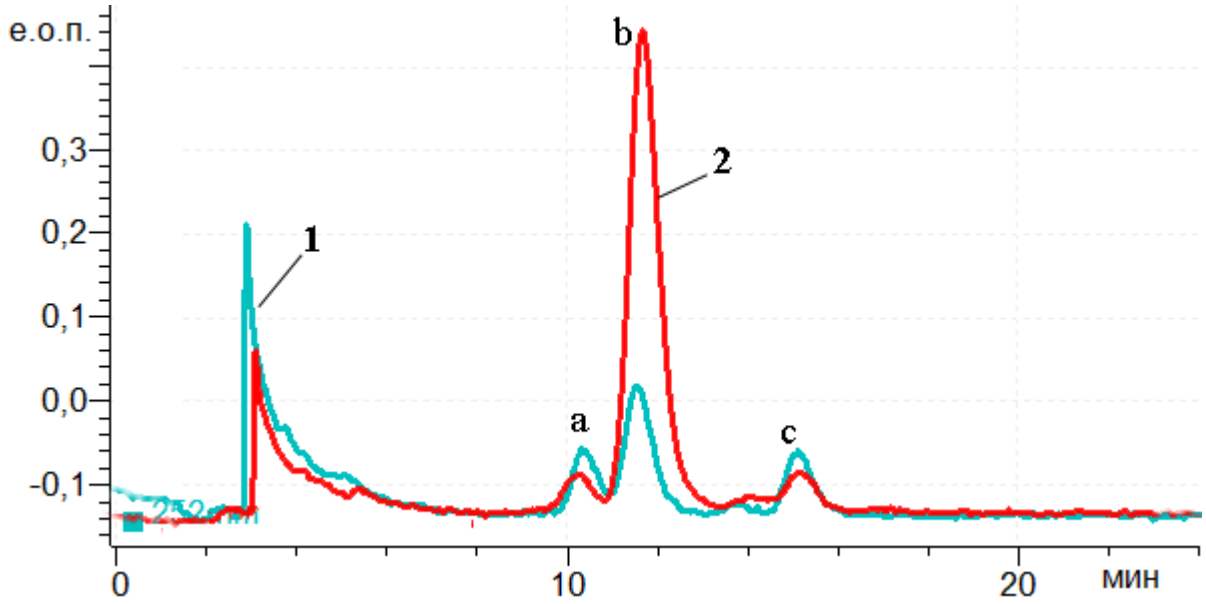


Рисунок 2 – ВЭЖХ-хроматограмма исходного водно-спиртового извлечения из корневищ и корней родиолы розовой (1) и после добавления раствора стандартного образца розавина (2) (детекция при длине волны 252 нм)

Обозначения: a – розарин; b – розавин; c – розин.

Определение линейности проводили на пяти уровнях концентраций растворов стандартных образцов (с концентрациями в диапазоне от 0,1467 до 1,4667 мг/мл для салидрозида и от 0,12 до 0,96 мг/мл для розавина)). Коэффициент корреляции для зависимости анализируемого параметра от концентрации салидрозида при этом составил 0,9996 при использовании в качестве анализируемого показателя высоты пика, 0,9888 – площади пика. Этот диапазон можно рассматривать как аналитическую область методики. Для методики определения розавина соответствующие значения составили 0,9973 и 0,9999. В связи с этим расчет содержания салидрозида проводили с использованием высоты пика, розавина – площади пика. Указанные диапазоны концентраций салидрозида и розавина можно рассматривать как аналитические области методик.

ВЫВОДЫ

Таким образом, в статье рассмотрены методологические подходы к разработке методик фармакопейного анализа сырья и препаратов родиолы розовой. На наш взгляд, более целесообразным является расчет содержания именно розавина, а не суммы гликозидов коричного спирта в пересчете на розавин, так как розавин – лабильное соединение, наиболее чувствительное к условиям сушки, хранения сырья и его переработки. Предложена методика одновременного определения содержания двух наиболее значимых биологически активных соединений корневищ и корней родиолы розовой) – розавина и салидрозида - с помощью метода ВЭЖХ в условиях изократического режима элюирования. Ошибка определения среднего результата содержания розавина и салидрозида в сырье родиолы не превышала 5,0 %.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.

1. Куркин, В. А. Родиола розовая (золотой корень): стандартизация и создание лекарственных препаратов: монография. - 2-ое изд., перераб. и доп. / В.А. Куркин. – Самара: ООО «Офорт»; ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России, 2020. – 240 с.
2. Jawaid, T. Adaptogenic agents: a review / T. Jawaid, N. Tewari, L. Verma. // International Journal of Biomedical Research. – 2011. - № 2(5). – P. 285-304.
3. Куркин, В. А. Исследование номенклатуры адаптогенных лекарственных препаратов, представленных на фармацевтическом рынке Российской Федерации / В. А. Куркин, И. К. Петрухина, А. С. Акушская // Фундаментальные исследования. – 2014. – № 8-4. – С. 898-902.
4. ФС.2.5.0036.15 «Родиолы розовой корневища и корни» / Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. – Министерство здравоохранения Российской Федерации, 2018. URL: http://www.femb.ru/femb/pharmacopea.php.
5. ОФС.1.2.1.2.0001.15 Хроматография / Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. – Министерство здравоохранения Российской Федерации, 2018. URL: http://www.femb.ru/femb/pharmacopea.php

CONCEPTUAL ASPECTS OF STANDARDIZATION OF RHIZOMES AND ROOTS OF *RHODIOLA ROSEA* L.

Professor, D.Sc. in Pharmacy Kurkin V.[a)], associate professor, Ph.D. in Pharmacy Ryazanova T.
Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Samara State Medical University" of the Ministry of Health of the Russian Federation, Russia, Samara, ulitsa Chapaevskaya, 89, 443099

a) corresponding author – v.a.kurkin@samsmu.ru

Abstract. The aim of the study was to substantiate methodological approaches to the analysis of biologically active compounds in medicinal plant raw materials of *Rhodiola rosea* L. It is known that the components that determine the adaptogenic activity of rhizomes of *Rhodiola rosea* L. are phenylpropanoids (rosavin, rosin, rosarin) and phenolic alcohols (tyrosol, salidroside). The current pharmacopoeial monograph "*Rhodiola rosea* rhizomes and roots" (FS.2.5.0036.15) provides for an assay of salidroside and the total of cinnamic alcohol glycosides calculated on rosavin. At the same time, rosavin is the most labile compound, which is easily destroyed under the influence of enzymes at improper drying of raw materials (in comparison with other phenylpropanoids). In this regard, it is more conceptually correct to analyze only rosavin, which is the dominant and diagnostically significant biologically active compound, and not the total of glycosides. In addition, it is proposed to replace the gradient elution mode with the isocratic mode and change a wavelength for the detection of salidroside (λ_{max} is 278 nm instead of 219 nm). The validation assessment showed satisfactory metrological characteristics of the proposed method for assay of salidroside and rosavin in the roots and rhizomes of *Rhodiola rosea*.

Keywords: *Rhodiola rosea L., chromatography, rhizomes and roots, phenylpropanoids, rosavin, salidroside.*

УДК 615.322 DOI: 10.52101/9785870191003_2021_250

ПРИМЕНЕНИЕ КИСЛОТНОГО ГИДРОЛИЗА ПРИ ИДЕНТИФИКАЦИИ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ МЕТОДОМ СВЭЖХ-УФ НА ПРИМЕРЕ СВИДИНЫ ШЕЛКОВИСТОЙ (*CORNUS SERICEA* L.)

Аксенов А. А.[a)], к. фарм. н. Адамов Г. В., к. с.-х. н. Кроль Т. А.

ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений, Россия, г. Москва, ул. Грина 7, стр. 1, 117216

а) автор для переписки – aksenov@vilarnii.ru

Аннотация. Фенольные соединения (ФС) распространенная группа вторичных метаболитов покрытосеменных растений. К ФС относятся флавоноиды, в растениях обычно находящиеся в связанной форме. Идентификация или количественное определение соединений в связанной форме является важной задачей и требует применение сложных физико-химических методов или использования стандартных образцов. В литературных источниках предложены способы идентификации и количественного определения агликонов флавоноидов при помощи кислотного гидролиза с применением масс-спектрометрического детектирования. Цель данной работы – изучение возможности идентификации фенольных соединений с применением кислотного гидролиза методом сверхэффективой жидкостной хроматографии и УФ-детекции на примере свидины шелковистой *Cornus sericea* L. После проведенного гидролиза идентифицированы пики кофейной, эллаговой, п-кумаровой кислот и кверцетина, также установлено деструктивное влияние условий проведения реакции на пентагаллоилглюкозу. Метод кислотного гидролиза может быть использован как подход для изучения состава и количественного содержания биологически активных веществ для потенциального применения в лекарственном растениеводстве и медицине.

Ключевые слова: *идентификация, кислотный гидролиз, СВЭЖХ-УФ, фенольные соединения*

ВВЕДЕНИЕ

Фенольные соединения (ФС) наиболее широко распространенная группа фитохимических веществ, которые являются вторичными метаболитами растений и одновременно их основными активными нутрицевтическими и фитохимическими компонентами [1]. Полифенолы делятся на несколько классов в зависимости от количества фенольных колец, и структурных элементов, основные группы представлены: флавоноидами, фенольными кислотами, дубильными веществами (гидролизуемые и конденсированные), стильбенами и лигнанами [2]. Хорошо известны антиоксидантные и противоопухолевые свойства флавоноидов и гидролизуемых таннинов [3-4]. Кроме того некоторые исследования показывают взаимосвязь между регулярным употреблением флавоноидов и снижением риска сердечно-сосудистых заболеваний [5-7].

Важным аспектом анализа фенольных соединений является выбор аналита, например, в интактных растениях целевые вещества существуют в форме различных конъюгатов или соответствующих им агликонов [4, 8]. В растениях, пищевых продуктах и биоматрицах фенольные соединения, как правило, исследуют в нативном состоянии (конъюгаты глюкуронидов или сульфатированные формы) [8]. При фитохимическом анализе для идентификации индивидуальных фенольных соединений в основном используются: масс-спектрометрия, УФ-спектроскопия, для точной идентификации предпочтительнее использовать ЯМР-спектроскопию [4, 18, 19]. Ограничения последнего метода – чувствительность и высокая чистота образца, например, для получения качественных спектров, необходимо более 1 мг очищенного соединения, особенно при использовании магнитов средней частоты (300 МГц) [4, 18, 19]. При необходимости идентификации и количественного определения фенольных соединений, в том числе флавоноидов в их гликозилированной форме, следует использовать соответствующий стандартный образец,

доступность которого ограничена или прибегать к ВЭЖХ с тандемной масс-спектрометрией, что дает возможность определения нативных соединений по характерным осколочным ионам и их сравнению с библиотекой масс-спектров [4, 8, 17]. В случае идентификации агликонов флавоноидов, для разрушения гликозидных или эфирных связей обычно применяется гидролиз, который позволяет идентифицировать соединения в исследуемом растении путем сравнения спектральных данных и времени удерживания испытуемых и стандартных образцов [3, 4, 8]. Авторами [9-11] предложен способ гидролиза, путем термостатирования аналитов в соляно-кислой среде в течение длительного временного периода для анализа агликонов и сахарных остатков с использованием масс-спектрометрического детектирования. В представленной нами работе также используется кислотный гидролиз, но с использованием более распространённого способа детектирования в УФ-области.

Растения семейства *Cornaceae* богаты фенольными соединениями [12]. В ходе изучения плодов и листьев различных видов, таких как *C. officinalis* Siebold & Zucc., *C. mas* L., *C. controversa* Hemsl. ex Prain., *C. kousa* Bürger ex Miq., и *C. canadensis* L. показано высокое содержание кверцетина, кемпферола, и гликозидов цианидина [3, 4, 13, 14, 16]. Свидина шелковистая, многолетний листопадный кустарник, родом из Северной Америки, потенциально богата ФС, однако нами не было обнаружено работ, посвященных её фитохимическому составу.

Цель данного исследования изучить возможность идентификации фенольных соединений с применением кислотного гидролиза методом сверхэффективной жидкостной хроматографии с УФ-детекцией (СВЭЖХ-УФ) на примере *Cornus sericea* L.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы

2.1. Стандартные образцы (СО) и реактивы. Стахиурин ≥95% (предоставлен научной группой из Университета Турку, Финляндия), (-)-эпикатехин ≥90%, кофейная кислота ≥98%, нарингенин ≥98%, 1,2,3,4,6-пентагаллоилглюкоза ≥90%, эллаговая кислота ≥95%, п-кумаровая кислота ≥98%, подофиллотоксин ≥98%, кверцетин ≥95%, хинная кислота ≥95% (получены от Sigma-Aldrich, США); ацетонитрил (HPLC grade ≥99,9%, MACRON, Польша), метанол (HPLC grade ≥99,9%, Supelco, США), муравьиная кислота ≥98%, хлористоводородная кислота 37% (получены от Sigma-Aldrich, Германия), вода деионизованная с электрическим сопротивлением 18,2 МОм*см.

2.2. Объект исследования. Объектом исследования являлись листья растений *C. sericea* из биоколлекции ФГБНУ ВИЛАР, собранные в фазу цветения в 2020 году.

Методы

2.3. Пробоподготовка образцов. Собранные листья хранили при температуре -20 °С для предотвращения действия полифенолоксидазы, далее проводили лиофильную сушку (Labconco FreeZone 2.5 L, США) при температуре -80 °С в течение 72 часов. Образцы гомогенизировали на вибрационной мельнице при частоте 20 Гц в течение 2 минут (ММ 400, Retsch, Германия). 200,0 мг гомогенизата (CPA 225D, Sartorius, Германия) помещали в мерную колбу объемом 10 мл, добавили 5 мл 80% метанола. Смесь взбалтывали, доводили объем до метки тем же растворителем, обрабатывали ультразвуком (60кГц, ПСБ-Галс, Россия) в течение 10 минут. Полученную суспензию фильтровали через шприцевой мембранный фильтр (Nylon, 0,45 мкм, Millipore, Нидерланды). Раствор упаривали на роторном испарителе (IKA-RV-10, Германия) при 40 °С до получения сухого остатка, который перерастворяли в 5 мл деионизованной воды и центрифугировали в течении 15 минут при 14000 g (Eppendorf 5430R, Германия). Надосадочную жидкость разделяли на две части, первую (0,5 мл раствора) разводили деионизованной водой в соотношении 1:10, центрифугировали 15 минут при 14000 g, отбирали надосадочную жидкость и использовали для анализа. Вторую часть использовали для гидролиза.

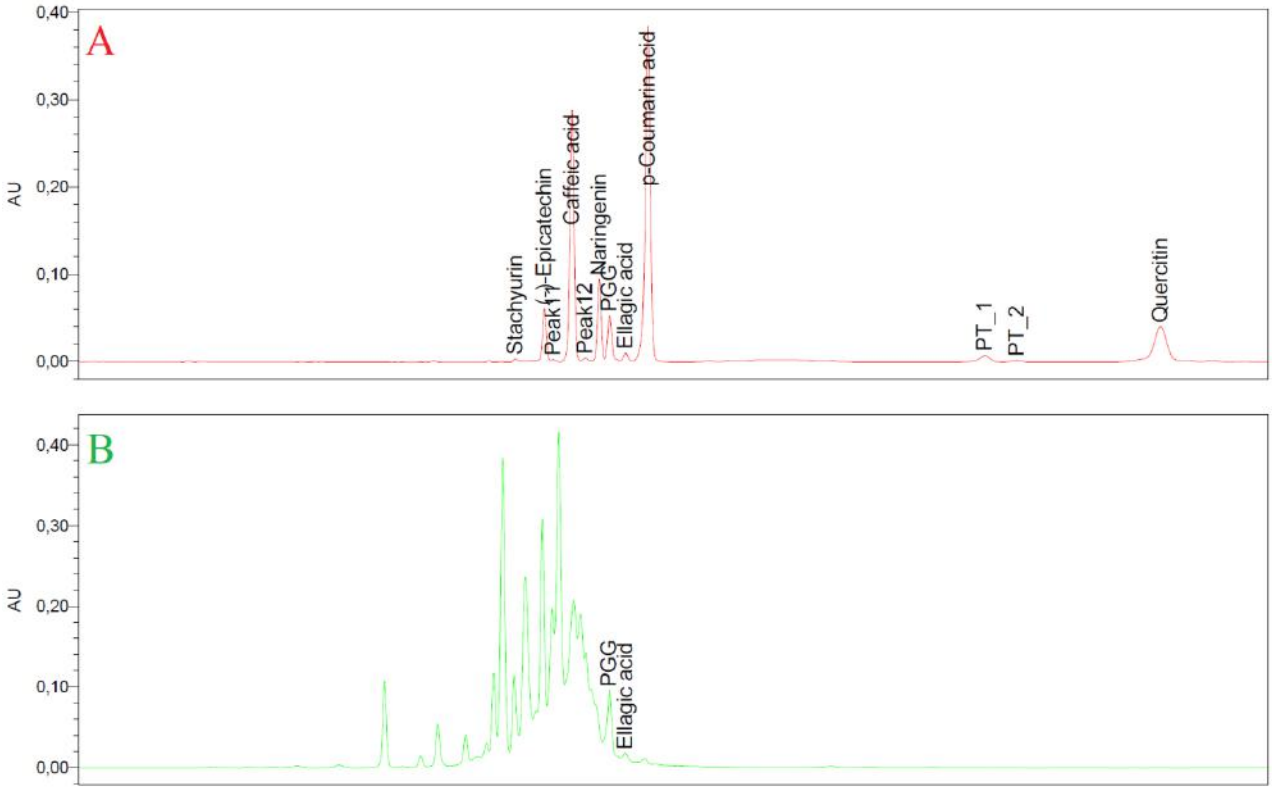
2.4. Гидролиз образцов. К 4 мл раствора добавляли 1 мл 6 М HCl (конечная концентрация HCl - 1,2 М) и термостатировали на водяной бане при температуре 85 °С в течение 2 часов. Полученный раствор разводили деионизованной водой в соотношении 1:10, центрифугировали 15 минут при 14000 g, супернатант использовали для СВЭЖХ анализа.

2.5. Приготовление СО. Навеску СО (1 мг) растворяли в 1 мл метанола, перемешивали на шейкере, обрабатывали ультразвуком 5 минут, добавляли 5 мл деионизованной воды, перемешивали на шейкере, обрабатывали ультразвуком около 5 минут, доводили до метки деионизованной водой (10 мл). Далее по 500 мкл каждого раствора помещали в пластиковую пробирку объемом 5 мл, добавляли 2,5 мл деионизованной воды и перемешивали на шейкере, 100 мкл раствора переносили в виалу для хроматографии и добавляли 900 мкл подвижной фазы А.

2.6. СВЭЖХ-УФ анализ. Исследования проводили на хроматографической системе ACQUITY UPLC (Waters Corporation, США) оснащенной детектором с фотодиодной матрицей (Waters Corporation, США). Хроматографическое разделение проводилось на колонке ACQUITY UPLC® BEH Shield RP18 (50×2,1 мм, 1,7 µm, Waters, Ирландия), с предколонкой ACQUITY UPLC® BEH Shield RP18 (5×2,1 мм, 1,7 µm, Waters, Ирландия). Подвижная фаза (А) - 0,1% муравьиная кислота, подвижная фаза (Б) ацетонитрил. Элюирование в градиентном режиме: 0-0,5 мин (1% В), 0,5-2,2 мин (1-30% В), 2,2-7,5 мин (30-35% В), 7,5-8,5 мин (35-1% В), 8,5-9,5 мин (1% В). Скорость потока – 0,25 мл/мин. Детектирование при 280 нм ± 2 нм, запись спектра в диапазоне длин волн 190-500 нм. Инжектируемый объем образца – 1 мкл.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Получены хроматограммы стандартного образца содержащего: стахиурин, (-)-эпикатехин, кофейная кислота, нарингенин, 1,2,3,4,6-пентагаллоилглюкоза (PGG), эллаговая кислота, п-кумаровая кислота, подофиллотоксин (PT), кверцетин, хинная кислота (Рисунок 1А).



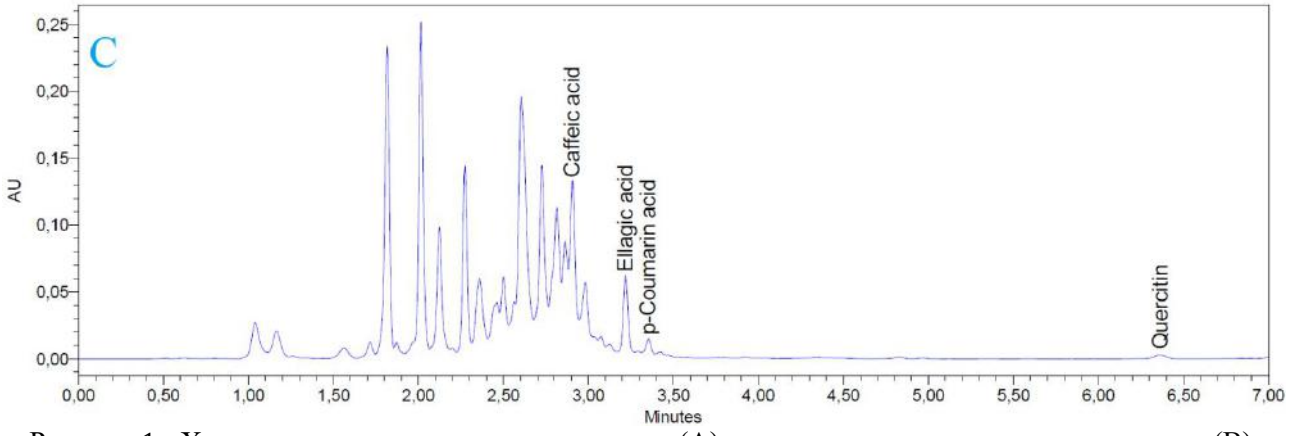
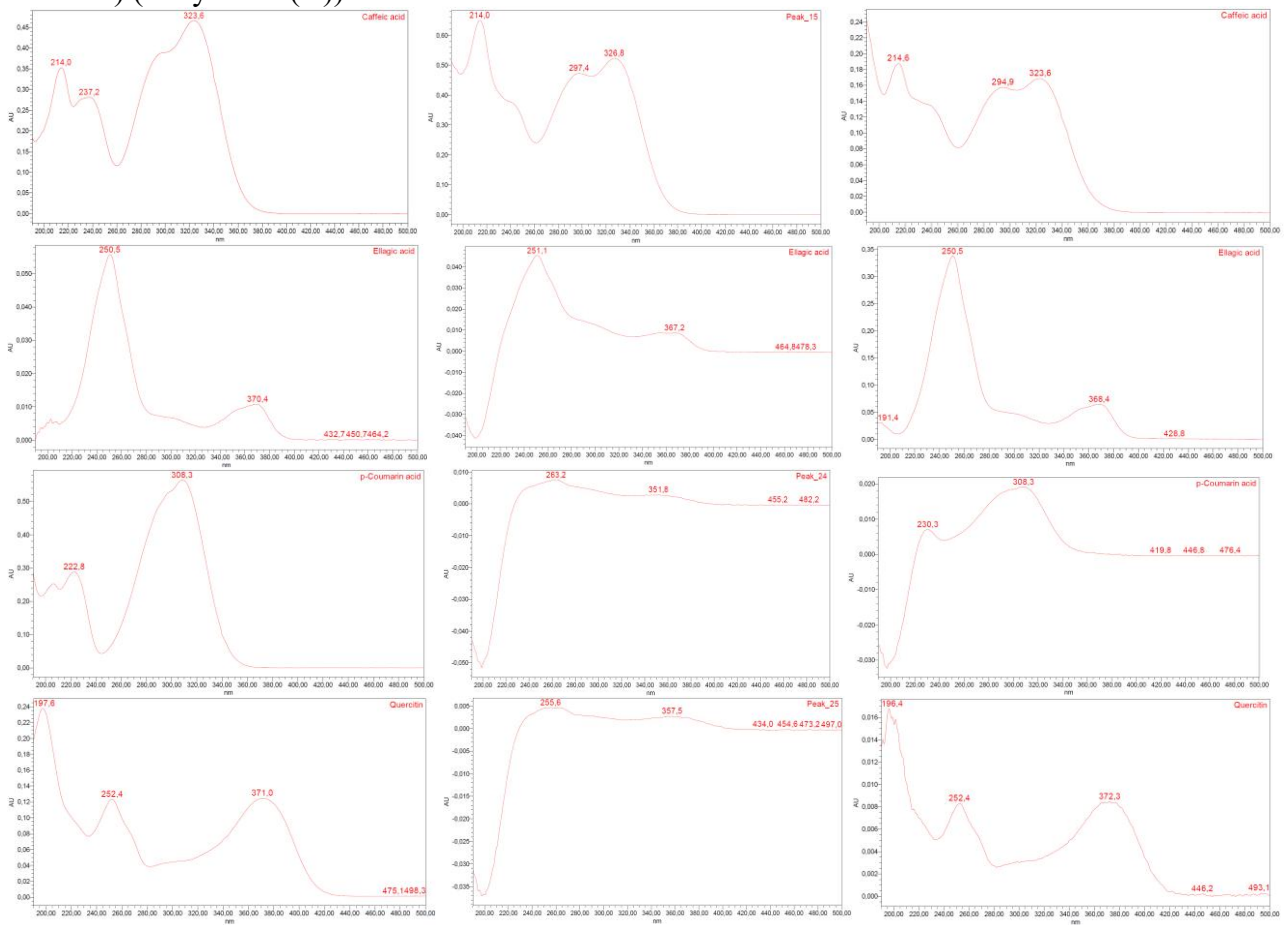


Рисунок 1 - Хроматограмма стандартного раствора (A), экстракта до проведенного гидролиза (B), экстракта после гидролиза (C)

Далее проводили хроматографический анализ экстракта из листьев. На хроматограммах СО и экстрактов отсутствует пик хинной кислоты, что обусловлено с одной стороны, слабым удерживанием на колонке типа С18 и как следствие элюирование с «мертвым объемом», а с другой слабым поглощением соединения в УФ области спектра [15]. По этой причине, дальнейшее исследование данного соединения не представляется возможным. На хроматограмме экстракта отсутствуют пики соответствующие по времени удерживания и спектрам поглощения с пиками на хроматограмме раствора СО (стахиурин, (-)-эпикатехин, кофейная кислота, нарингенин, п-кумаровая кислота, подофиллотоксин, кверцетин, хинная кислота) (Рисунок 1 (А)).



A B C

Рисунок 2 – Типичные УФ-спектры поглощения изучаемых соединений поученные от стандартного раствора (А), экстракта до проведенного гидролиза (В) и экстракта после гидролиза (С)

Исходя из анализа полученных хроматографических и спектральных данных, пики кофейной кислоты, п-кумаровой кислоты, кверцетина имеют отличные времена удерживания, но схожие спектры поглощения в УФ-области, по отношению к хроматограмме СО, что объясняется нахождением аналитов в гликозилированной или эфирной форме (Рисунок 1 (А, В) и Рисунок 2 (В)). Далее было проведено гидролитическое расщепление и инжектирование образца (Рисунок 1 (С)).

На хроматограмме и УФ-спектрах экстракта после гидролиза, (Рисунок 1 (С) и Рисунок 2 (С)) идентифицируются пики кофейной, эллаговой, п-кумаровой кислот и кверцетина. Следовательно, в экстракте из листьев растения они находились в гликозилированной или эфирных формах, что объясняется разрушением гликозидных связей под действием кислой среды и соответственно, перехода соединений в агликоны. Сравнение хроматограмм экстрактов, показало значительное увеличение площади и интенсивности пика эллаговой кислоты (около 5 раз) после проведенного гидролиза. Установлено деструктивное влияние кислой среды на эллагитанины, в частности на пентагаллоилглюкозу.

ВЫВОДЫ

Таким образом, полученные результаты подтверждают литературные данные по идентификации некоторых фенольных соединений (агликоны флавоноидов) после кислотного гидролиза, данный метод может быть использован как подход для изучения качественного и количественного состава биологически активных веществ для потенциального применения в лекарственном растениеводстве и медицине. Дальнейшее изучение подверженности гидролизу БАВ содержащихся в биообъектах, позволит оптимизировать условия пробоподготовки для оценки количественного содержания исследуемых веществ.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Lapornik, B. Comparison of extracts prepared from plant by-products using different solvents and extraction time / B. Lapornik, M. Prošek, A. G. Wondra // Journal of food engineering. – 2005. – V. 71. – №. 2. – P. 214-222.
2. D'Archivio, M. Polyphenols, dietary sources and bioavailability / M. D'Archivio, C. Filesi, R. Di Benedetto, R. Gargiulo, C. Giovannini, R. Masella // Annali-Istituto Superiore di Sanita. – 2007. – V. 43. – №. 4. – P. 348.
3. Harborne, J. B. Anthocyanins and other flavonoids / J. B. Harborne, C. A. Williams // Natural product reports. – 2001. – V. 18. – №. 3. – P. 310-333.
4. Grotewold, E. The science of flavonoids / E. Grotewold – New York : Springer, 2006. – 269 p.
5. Zessner, H. Fractionation of polyphenol enriched apple juice extracts to identify constituents with cancer chemopreventive potential / H. Zessner, L. Pan, F. Will, K. Klimo, J. Knauft, R. Niewöhner, W. Hümmer, R. Owen, E. Richling, N. Frank, P. Schreier, H. Becker, C. Gerhauser // Molecular nutrition & food research. – 2008. – V. 52. – №. S1. – P. S28-S44.
6. Erdman, Jr. J. W. Flavonoids and heart health: proceedings of the ILSI North America flavonoids workshop / Jr. J. W. Erdman, D. Balentine, L. Arab, G. Beecher, J. T. Dwyer, J. Folts, J. Harnly, P. Hollman, C. L. Keen, G. Mazza, M. Messina, A. Scalbert, J. Vita, G. Williamson, J. Burrowes //The Journal of nutrition. – 2007. – V. 137. – №. 3. – P. 718S-737S.
7. Giovannucci, E. A prospective study of tomato products, lycopene, and prostate cancer risk / E. Giovannucci, E. B. Rimm, Y. Liu, M. J. Stampfer, W. C. Willett // Journal of the National Cancer Institute. – 2002. – V. 94. – №. 5. – P. 391-398.
8. Stalikas, C. D. Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids / C. D. Stalikas // Journal of separation science. – 2007. – V. 30. – №. 18. – P. 3268-3295.
9. Häkkinen, S. High-performance liquid chromatography with electrospray ionization mass spectrometry and diode array ultraviolet detection in the identification of flavonol aglycones and glycosides in berries / S. Häkkinen, S. Auriola // Journal of Chromatography A. – 1998. – V. 829. – №. 1-2. – P. 91-100.

10. Arimboor, R. Simultaneous estimation of phenolic acids in sea buckthorn (Hippophae rhamnoides) using RP-HPLC with DAD / R. Arimboor, K. S. Kumar, C. Arumughan // Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. – 2008. – V. 47. – №. 1. – P. 31-38.
11. Rösch, D. Structure − antioxidant efficiency relationships of phenolic compounds and their contribution to the antioxidant activity of sea buckthorn juice / D. Rösch, M. Bergmann, D. Knorr, L. W. Kroh // Journal of Agricultural and Food Chemistry. – 2003. – V. 51. – №. 15. – P. 4233-4239.
12. Son, S. Y. Metabolite fingerprinting, pathway analyses, and bioactivity correlations for plant species belonging to the Cornaceae, Fabaceae, and Rosaceae families / S. Y. Son, N. K. Kim, S. Lee, D. Singh, G. R. Kim, J. S. Lee, H.-S. Yang, J. Yeo, S. Lee, C. H. Lee // Plant cell reports. – 2016. – V. 35. – №. 9. – P. 1917-1931.
13. Popović, Z. Geographic variability of selected phenolic compounds in fresh berries of two Cornus species / Z. Popović, R. Matić, J. Bajić-Ljubičić, V. Tešević, S. Bojović // Trees. – 2018. – V. 32. – №. 1. – P. 203-214.
14. Eyde, R. H. Comprehending Cornus: Puzzles and progress in the systematics of the dogwoods / R. H. Eyde // The Botanical Review. – 1988. – V. 54. – №. 3. – P. 233-351.
15. Truba, J. Inhibition of Digestive Enzymes and Antioxidant Activity of Extracts from Fruits of Cornus alba, Cornus sanguinea subsp. hungarica and Cornus florida – A Comparative Study / J. Truba, I. Stanisławska, M. Walasek, W. Wieczorkowska, K. Woliński, T. Buchholz, M. F. Melzig, M. E. Czerwińska // Plants. – 2020. – V. 9. – №. 1. – P. 122.
16. Hagl, S. Colonic availability of polyphenols and D-(−)-quinic acid after apple smoothie consumption / S. Hagl, H. Deusser, B. Soyalan, C. Janzowski, F. Will, H. Dietrich, F. W. Albert, S. Rohner, E. Richling // Molecular nutrition & food research. – 2011. – V. 55. – №. 3. – P. 368-377.
17. Ignat, I. A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables / I. Ignat, I. Volf, V. I. Popa // Food chemistry. – 2011. – V. 126. – №. 4. – P. 1821-1835.
18. Qing, Z. X. Systematic identification of flavonols, flavonol glycosides, triterpene and siraitic acid glycosides from Siraitia grosvenorii using high-performance liquid chromatography/quadrupole-time-of-flight mass spectrometry combined with a screening strategy / Z. Qing, H. Zhao, Q. Tang, C. Mo, P. Huang, P. Cheng, P. Yang, X. Yang, X. Liu, Y. Zheng, J. Zeng // Journal of pharmaceutical and biomedical analysis. – 2017. – V. 138. – P. 240-248.
19. Harborne, A. J. Phytochemical methods a guide to modern techniques of plant analysis / A. J. Harborne. – Springer science & business media, 1998.

THE APPLICATION OF ACID HYDROLYSIS FOR IDENTIFICATION OF PHENOLIC COMPOUNDS BY UPLC-UV METHOD ON THE EXAMPLE OF RED-OSIER DOGWOOD (CORNUS SERICEA)

Aksenov A., Ph.D. Adamov G., Ph.D. Krol T.
All-Russian Scientific Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants, Grina 7, Moscow, 117216 (Russia)
a) corresponding author – aksenov@vilarnii.ru

Abstract. Phenolic compounds are a common group of compounds in angiosperms. PC are flavonoids found in plants, usually in their present form. The identification or use of reference compounds in the form is official and requires the use of complex physicochemical methods or the use of reference materials. In the literature, methods have been proposed for the identification and quantitative determination of flavonoid aglycones by acid hydrolysis using mass spectrometric detection. The purpose of this work is to study the possibilities of identifying phenolic compounds using the method of acid hydrolysis by ultra-performance liquid chromatography and UV detection using the example of swida sericea *Cornus sericea* L. After the hydrolysis, the peaks of caffeic, ellagic, p-coumaric acids and quercetin were identified, and the destructive effect of the reaction conditions on pentagalloyl glucose was also established. The acid hydrolysis method can be used as an approach to study the composition and quantitative content of biologically active substances for potential use in medicinal plant growing and medicine.
Keywords: *identification, acid hydrolysis, UHPLC-UV, phenolic compounds*

БИОТЕХНОЛОГИЯ В РАСТЕНИЕВОДСТВЕ, ФАРМАЦИИ И МЕДИЦИНЕ

УДК 581.1. DOI: 10.52101/9785870191003_2021_257

КРАТКОВРЕМЕННОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ ВЫСОКОЙ ТЕМПЕРАТУРЫ НА *INVITRO* КУЛЬТУРУ ЧАЙНОГО РАСТЕНИЯ (*CAMELLIASINENSIS*)

Аксенова М. А.[1, a)], Нечаева Т. Л.[2], доцент, к.б.н. Живухина Е. А.[1],
профессор д.б.н. Загоскина Н. В.[2]

1 - Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Московский педагогический государственный университет", Россия, Москва, ул. Малая Пироговская, дом 1, строение 1, 119991
2 - Институт физиологии растений им.К.А. Тимирязева Российской академии наук, Россия, Москва, ул. Ботаническая, д. 35, 129276
а) автор для переписки – akse.masha@yandex.ru

Аннотация. Изучено влияние кратковременного воздействия высокой температуры (30 мин, 38°С) на каллусную культуру чайного растения (*Camelliasinensis*L.). Проведено определение оводненности каллусов, уровня перекисного окисления липидов и содержания флаванов (основных компонентов фенольного комплекса чаясР-витаминной капилляроукрепляющей активностью) через 30 мин и через 5 суток после воздействия (быстрый и отдаленный ответ, соответственно). Гипертермия не вызывала изменений в морфофизиологических характеристиках каллусных культур чая и их оводненности. Это свидетельствует об устойчивости этих культур к кратковременному воздействию высокой температуры. Определение уровня стрессовой реакции клеток по содержанию малоновогодиальдегида показало, что в контрольных условиях (25°С) оно снижалось по мере роста, тогда как после кратковременного воздействия высокой температуры сохранялось на одном уровне в течение всего периода исследования. Количество флаванов в культуре после действия гипертермии возрастало (быстрый ответ), превышая таковое контрольного варианта, а в дальнейшем (отдаленный ответ) снижалось. Это свидетельствует о том, что высокая температура приводила к быстрой активации биосинтеза флаванов в каллусных культурах чайного растения.

Ключевые слова:*CamelliasinensisL., чайное растение, каллусные культуры, высокая температура, уровень ПОЛ, флаваны.*

ВВЕДЕНИЕ

Чай (*Camellia Sinensis* L.) относится к уникальным растительным объектам с высокой способностью к биосинтезу фенольных соединений [1]. Разнообразие их состава и высокая биологическая, в том числе антиоксидантная, активность, а также крепкий настой и аромат способствуют его широкому использованию в ежедневном рационе человека во всем мире. Известно, что флаваны чая проявляют Р-витаминную капилляроукрепляющую активность, уменьшая хрупкость и проницаемость капилляров, нормализуют тканевое дыхание, предотвращают развитие атеросклероза [2]. Они также способствуют выведению различных токсичных веществ из организма человека, оказывают вяжущее и бактериостатическое действие, эффективны при сепсисе и ревматоидном артрите, онкологических заболеваниях, защите генетического аппарата клетки от поражающего действия ионизирующего излучения [3].

Несмотря на то, что растения чая возделываются более чем в 50 странах мира, однако они имеют ограниченный ареал произрастания. В России это влажно-субтропическая зона, где

часто отмечается наличие высокой температуры и засухи, что негативно сказывается на урожайности растений и качестве чая [4].

Одним из подходов при изучении физиологии и биохимии растений является использование инициированных из них каллусных и суспензионных культур, которые сохраняют в условиях *in vitro* многие свойства интактных растений, включая и накопление вторичных метаболитов [5]. Это отмечалось и для каллусов чая, синтезирующихфлаваны, хотя их содержание было ниже, чем в исходных эксплантах, а состав менее разнообразен [6]. Используя различные экзогенные воздействия (свет, УФ-радиация, элиситоры и др.) можно повысить уровень этих вторичных метаболитов в культурах чая, а также изучить механизмы регуляции данного процесса[7].

Одним из экстремальных для клеток высших растений фактором воздействия является температура, изменение которой, как в сторону снижения, так и повышения, оказывает значительное влияние на физиологические и биохимические показатели [8]. Ранее было отмечено негативное действие высоких температур (свыше 30 °С) на рост и продуктивность чайного растения [4]. При этом сведения о накоплении в них флаванов отсутствуют.

Целью исследования было изучение кратковременного воздействия высокой температуры на каллусные культуры чайного растения и последующего за этим быстрого и отдаленного их ответа на уровне накопления флаванов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы. Объектом исследования были гетеротрофные каллусные культуры, инициированные из стеблячайного растения (*Camelliasinensis*L, грузинскаяразновидность) и выращиваемые в камере фитотрона ИФР РАН в темноте при 25 °С и относительной влажности воздуха 70 % на питательной среде Хеллера с 2,4-дихлорфеноксиуксуной кислотой (5 мг/л) и глюкозой (25 г/л). Длительность пассажа составляла 42 дня.

При проведении исследования каллус помещали в жидкую (не содержащую агар) питательную среду и выращивали на качалке (90 об/мин.) в стандартных условиях. Через 7 дней часть культуры оставляли в тех же условиях (контроль), тогда как другую подвергали кратковременному воздействию высокой температуры (30 мин, 38 °С). Отбор проб производили через 30 мин после его завершения (быстрый ответ) и через 5 суток (отдаленный ответ). В этот же временной период анализировали и каллусы контрольного варианта.

Методы. Оценка морфофизиологического состояния культур проводилась по их внешним характеристикам - цвет, плотность культуры, наличие некротических участков.

Содержание воды определяли после высушивания каллусов до постоянного веса при 70 °С [9].

Уровень перекисного окисления липидов (ПОЛ) в каллусных тканях определяли по содержанию малоновогодиальдегида (МДА), используя качественную реакцию с тиобарбитуровой кислотой (ТБК)[10]. Для этого навеску замороженного растительного материала (200 мг) гомогенизировали в 5 мл 0.1 М трис-HCl буфера (pH 7.5) содержащего 0.35 М NaCl. К полученному гомогенату добавляли 1 мл 0.5 % раствора ТБК в 20 % трихлоруксусной кислоте (ТХУ). Реакционную смесь инкубировали на кипящей водяной бане в течение 30 мин и измеряли оптическую плотность раствора при 532 нм. Для расчета содержания МДА (мкмоль/г сухой массы) использовали коэффициент молярной экстинкции равный 1.56×10^{-5} $см^{-1}М^{-1}$.

Фенольные соединения извлекали из замороженного материала 96%-ным этанолом при 45ºС в течение 40 мин. Гомогенат центрифугировали (16000 об./мин, 10 мин). В надосадочной жидкости проводили спектрофотометрическое определение содержания флаванов– с ванилиновым реактивом (поглощение при 500 нм) [6]. Калибровочную кривую строили по (-)-эпикатехину.

Определения проводили в двух аналитических и трех биологических повторностях. Полученные результатыстатистически обрабатывали с использованием программ SigmaPlot

12.3. и Microsoft Excel. На рисунках представлены средние арифметические значения определений и их стандартные ошибки (±SEM).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Каллусные культуры чайного растения 7-дневного возраста, выращиваемые в стандартных условиях (25 °С) были плотными, светло-бежевого цвета. После кратковременного воздействия высокой температуры (38 °С) их морфофизиологические характеристики были аналогичны таковым контроля, хотя число темно-бежевых и темно-коричневых включений на поверхности каллусов увеличивалось, что в большей степени проявлялось через 5 суток после воздействия.Исходя из этих данных можно заключить, что кратковременное воздействие высокой температуры не приводило к выраженным изменениям в морфологиикаллусных культур чая.

Важным показателем жизнеспособности клеток и их физиологического состояния является содержание воды[9]. В нашем случае оводненностькаллусных клеток чаяво всех вариантах составляла 92-93 %. Это еще раз подтверждает отсутствие изменений в морфофизиологии каллусов чая как при быстрой (через 30 мин), так и при отдаленной (через 5 суток) их реакции на кратковременное воздействие высокой температуры.

Основным показателем стрессового воздействие является уровень перекисного окисления липидов (ПОЛ) мембран растительных клеток [10].Его определяют по содержанию продукта этой реакции - малоновогодиадьдегида (МДА). Как следует из представленных на рис. 1 данных, в каллусе контрольного варианта, выращиваемого в стандартных условиях при 25°С, на начальном этапе исследования уровень ПОЛ был выше, чем на более поздней стадии роста.

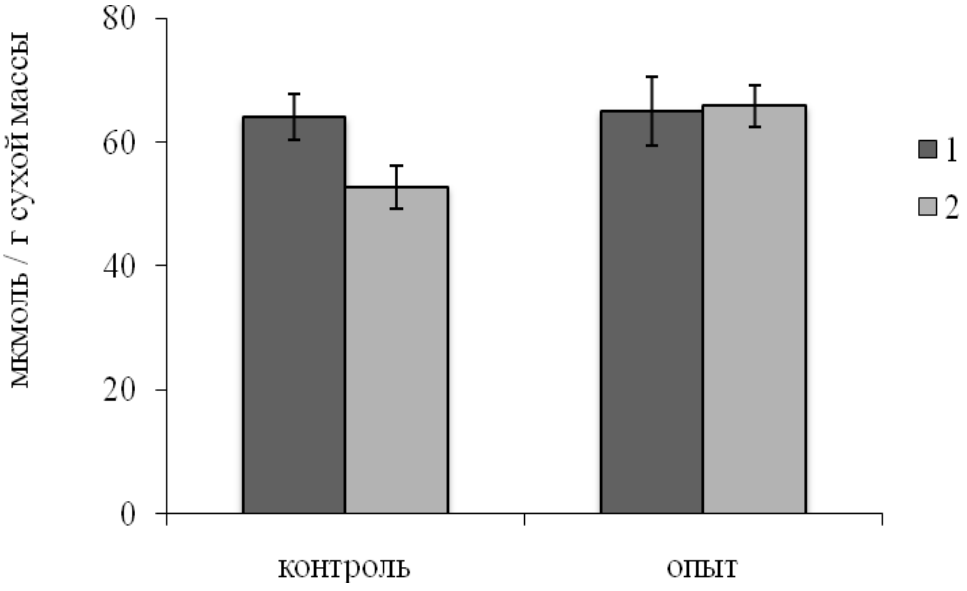


Рисунок 1 - Содержание МДА в каллусной культуре чайного растения, выращиваемой при 25°С (контроль) и подвергнутой кратковременному воздействию гипертермии (38°С, опыт).1, 2 -время после воздействия (30 мин и 5 суток, соответственно)

Иная тенденция отмечена для каллусов, подвергнутых кратковременному воздействию высокой температуры. В этом случае уровень ПОЛ был высоким и равным в течение всего периода исследования. Следовательно, функционирование антиоксидантной системы в клетках чайного растения как сразу после воздействия гипертермии, так и через 5 суток после него сохранялось практически на одном уровне.

Известно, что фенольные соединения, в том числе и флаваны, характеризуются высокой антиоксидантной активностью и способны защищать клетки от негативного действия

активных форм кислорода, количество которых обычно возрастает в стрессовых условиях [11].

Определения содержания флаванов - веществ с Р-витаминной капилляроукрепляющей активностью и основных компонентов фенольного комплекса растений чая и инициированных из них каллусных культур - показало значительные отличия между контрольным и опытным вариантом (рис. 2).

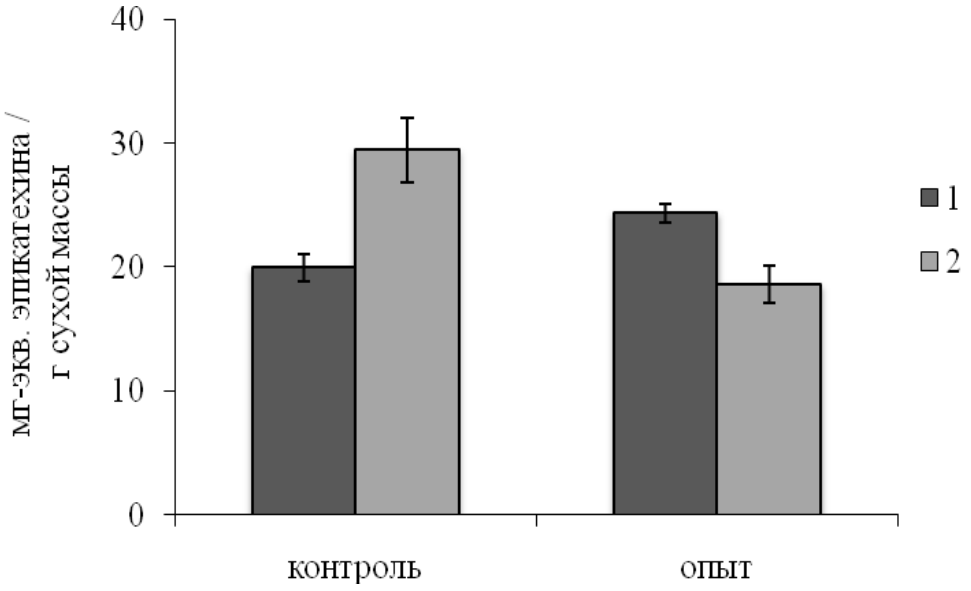


Рисунок 2 - Содержание флаванов в каллусной культуре чайного растения, выращиваемой при 25°С (контроль) и подвергнутой кратковременному воздействию гипертермии (38°С, опыт). 1, 2 - время после воздействия (30 мин и 5 суток, соответственно)

В каллусной ткани, выращиваемой в обычных условиях, накопление флаванов возрастало по мере роста. Иная тенденция отмечена для опытного варианта, у которого через 30 мин после действия гипертермии их уровень превышал таковой контроля на 40%, что свидетельствует об активации биосинтеза флаванов. О том, что в условиях стрессовых воздействий может происходить накопление этих соединений с антиоксидантной активностью сообщалось в литературе [2, 7, 11]. Через 5 суток после действия гипертермии количество флаванов в каллусах снижалось и приравнивалось к таковому контрольного варианта на начальных этапах исследования.

Все вышеизложенное свидетельствует о том, что кратковременное воздействие высокой температуры приводит к изменениям в функционировании антиоксидантной системы в каллусных культурах чая, что проявляется на уровне ПОЛ и накопления низкомолекулярных антиоксидантов флавановой природы.

ВЫВОДЫ

1. Кратковременное воздействие высокой температуры (38 °С) не вызывало значительных изменений в морфофизиологических характеристиках каллусных культур чайного растения.

2. По мере роста каллусов чая в контрольных условиях (25ºС) уровень ПОЛ в них снижался, тогда как после кратковременного воздействия высокой температуры (38°С) сохранялся на одном уровне в течение всего периода исследования.

3. Содержание флаванов по мере роста каллусов в контрольных условиях повышалось. Сразу после воздействия высокой температуры оно возрастало, а в дальнейшем снижалось, что свидетельствует о быстрой активации биосинтеза флаванов в условиях гипертермии.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки РФ в рамках темы государственного задания Института физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук № АААА-А19-119041890054-8.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Mukhopadhyay, M. Biotechnological advances in tea (*Camellia sinensis*[L.] O. Kuntze): a review / M. Mukhopadhyay, T. K. Mondal, P. K. Chand // Plant cell reports. – 2016. – V. 35. – №. 2. – P. 255-287.
2. Agati, G. Flavonoids as antioxidants in plants: location and functional significance / G. Agati, E. Azzarello, S. Pollastri, M. Tattini // Plant science. - 2012. - V. 196. - P. 67-76.
3. Афонина С. Н. Биохимия компонентов чая и особенности его биологического действия на организм (обзор) / С. Н. Афонина, Е. Н. Лебедева, Н. П. Сетко // Оренбургский медицинский вестник. – 2017. – №. 4 (20) - С. 17-33.
4. Самарина, Л. С. Генетические механизмы акклиматизации чайного растения (*Camellia sinensis*(L.) Kuntze) к холодовому стрессу / Л. С. Самарина, Л. С. Малюкова, М. В. Гвасалия, А. М. Ефремов, В. И. Маляровская, С. В. Лошкарёва, М. Т. Туов // Вавиловский журнал генетики и селекции. - 2019. - Т. 23(8). - С. 958-963.
5. Dias, M. I. Exploring plant tissue culture to improve the production of phenolic compounds: A review / M. I. Dias, M. J. Sousa, R. C. Alves, I. C. Ferreira // Industrial Crops and Products. - 2016. - V. 82. - P. 9-22.
6. Zubova, M. Y. Regulation of the phenolic compounds accumulation in the tea-plant callus culture with a separate and combined effect of light and cadmium ions / M. Y. Zubova, T. L. Nechaeva, A. V. Kartashov, N. V. Zagoskina // Biology Bulletin. - 2020. - V. 47(6). P. 593-604.
7. Загоскина, Н. В. Биотехнологические подходы в регуляции биосинтеза полифенолов в invitro культурах растений / Н. В. Загоскина, Т. Л. Нечаева, Е. А. Гончарук // От растения до лекарственного препарата. Москва, 4-5 июня 2020. - Москва, 2020. - С. 158-164.
8. Ritonga, F. N. Physiological and molecular mechanism involved in cold stress tolerance in plants / F. N. Ritonga, S. Chen // Plants. – 2020. – V. 9 (5). – P. 560.-https://doi.org/10.3390/plants9050560.
9. Рогожин, В. В. Практикум по физиологии и биохимии растений / В. В. Рогожин, Т. В Рогожина. - Санкт-Петербург: ГИОРД, 2013. - 352 с.
10. Прядехина, Е. В. Изменения в интенсивности перекисного окисления липидов и образовании флавоноидов у интактных и генно-модифицированных растений картофеля (*Solanum tuberosum*L.) после низкотемпературного воздействия / Е. В. Прядехина, П. В. Лапшин, Н. В. Загоскина // Сельскохозяйственная биология. - 2014. - Т. 49. - № 3. - С. 88-91.
11. Jahantigh, O. Changes in antioxidant enzymes activities and proline, total phenol and anthocyanine contents in *Hyssopus officinalis* L. plants under salt stress / O. Jahantigh, F. Najafi, H. N. Badi, R. A. Khavari-Nejad, F. Sanjarian // Acta Biologica Hungarica. - 2016. - V. 67. - № 2. - P. 195-204.

SHORT-TERM EFFECTS OF HIGH TEMPERATURE ON IN VITRO TEA PLANT CULTURE (*CAMELLIASINENSIS*)

Aksenova M. A.[1a)], Nechaeva T. L.[2], associate professor, Ph.D. in Biology Zhivukhina E. A.[1], Professor, D.SC in Biology Zagoskina N. V.[2]

1 - Moscow Pedagogical State University (MPGU), Russia, Moscow, 1/1 Malaya Pirogovskaya Str., 119991

2 - K.A. Timiryazev Institute of Plant Physiology RAS (IPP RAS), Russia, Moscow, 35 Botanicheskaya St., 127276

a) corresponding author – akse.masha@yandex.ru

Abstract. The effect of short-term exposure to high temperature (30 min, 38°C) on the callus culture of the tea plant (Camellia sinensis L.) was studied. The water content of calli, the level of lipid peroxidation and the content of flavans (the main components of phenolic complex of tea with P-vitamin capillary-strengthening activity) were determined 30 minutes and 5 days after exposure (fast and long-term response, respectively).Hyperthermia did not cause changes in the morphophysiological characteristics of the tea callus cultures and their water content. This indicates the resistance of these cells to short-term exposure to high temperatures. Determination of the level of stress reaction of calli by the content of malondialdehyde showed that under control conditions (25° C) it decreased as it grew, while after a short-term exposure to high temperature it remained at the same level throughout the study period.The content of flavans in the callus after the action of hyperthermia increased (rapid response), exceeding that of the control variant, and subsequently (long-term response) decreased. This indicates that the high temperature led to the rapid activation of flavan biosynthesis in the callus cultures of the tea plant.

Keywords: *Camellia sinensis L., tea plant, callus cultures, high temperature, level of lipid peroxidation, flavans.*

УДК: 57.085.23 DOI: 10.52101/9785870191003_2021_263

КЛОНАЛЬНОЕ МИКРОРАЗМНОЖЕНИЕ БЕССМЕРТНИКА ПЕСЧАНОГО *HELICHRYSUM ARENARIUM* (L.) MOENCH

к.б.н. Мартиросян Ю. Ц., Коновалова М. А., к.б.н. Мартиросян В. В.,
к.б.н. Овчинникова В. Н.[a)]

Федеральное бюджетное государственное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии РАН, Россия, Москва, ул.Тимирязевская, 42. 127550

а) автор для переписки – vera.ovchinnikova.1957@mail.ru

Аннотация. Бессмертник песчаный *Helichrysum arenarium* (L.) Moench - ксерофитный и гелиофильный вид из семейства астровые (Asteraceae), находящийся на грани исчезновения. Бессмертник песчаный (другое название цмин) является фармакологически важным лекарственным растением, широко используется в официальной и народной медицине, внесен в отечественную фармакопею. В соцветиях содержатся флавоноиды (6,5%); халконовые гликозиды, флавонол кемпферол; производные фталевого ангидрида (фталиды); кумарин скополетин, эфирное масло (0,04 %), филлохиноны, дубильные вещества. Препараты бессмертника песчаного обладают желчегонным, гемостатическим, детоксическим, слабительным, противовоспалительным, диуретическим действием, обладают гипохолестеринемическим свойством, антибактериальной активностью. Целью настоящего исследования явилось введение в стерильную культуру и разработка эффективного протокола микроразмножения in vitro этого лекарственного растения. Изучали и сравнивали влияние фитогормонов на размножение *H. arenarium.* Наибольший коэффициент размножения размножения был достигнут на среде QL, дополненной 6-БАП (1,5 мг/л) и ИУК (0,3 мг/л. Высокий процент укоренения был достигнут на среде без гормонов и средах, дополненных ИМК (0,1-0,2 мг/л).

Ключевые слова: *Helichrysum arenarium (L.) Moench, лекарственные растения, культура тканей, микроразмножение растений, регенерация, фитогормоны.*

ВВЕДЕНИЕ

История использования лекарственных растений насчитывает тысячелетия и в настоящее время этот источник лекарств не только не потерял своей актуальности, но и наблюдается увеличение спроса на это фармацевтическое сырье. Почти четверть всех производимых фармацевтических препаратов содержат химические соединения растительного происхождения [1]. Растения, используемые в фитофармпрепаратах, получают в основном из естественных мест произрастания. Традиционный метод размножения до сих пор является основным для них.

Спрос на лекарственное сырье растительного происхождения активно растет. Нерегулируемый и неконтролируемый сбор урожая приводит к чрезмерной эксплуатации и к сокращению их ареала, угрожая сокращению, а часто и выживанию природных популяций, в то время как многие важнейшие лекарственные растения представляют редкие и исчезающие виды.

Решить эти проблемы помогают современные биотехнологические методы культивирования растительных клеток и тканей, эффективность которых в значительной степени объясняется круглогодичным функционированием системы, а также способностью преодоления ограничивающих условий, таких как генотипическая изменчивость, естественная вариация за счет биотических и абиотических факторов, влияющих на урожайность растений и качество сырья, затрудняющих его стандартизацию [2, 3].

Биотехнологическое производство вторичных метаболитов лекарственных растений все чаще рассматривается как перспективное дополнение, а часто и как альтернатива

традиционному производству в промышленном масштабе биоактивных растительных метаболитов, которое позволяет решить многие экономические, экологические и технологические [4-6].

Helichrysum arenarium (L.) Moench - хорошо известен в народной медицине. Его применяют как желчегонное, гепатопротекторное и детоксицирующее средство, мочегонное, как мягкое антимикробное и спазмолитическое средство [7]. Бессмертник песчаный - относится к роду *Helichrysum* семейства Asteraceae. Многолетнее травянистое растение высотой 15-30 см. Этот ксерофитный и гелиофильный вид распространен в **с**редней и южной зоне европейской части Российской Федерации, часто встречается на Украине, реже на Кавказе, в Средней Азии и Западной Сибири. Местообитание - преимущественно песчаные почвы, открытые солнечные поляны, молодые посадки сосны.

H. arenarium является богатым источником фенольных соединений, включая флавоноиды, халконы, фенольные кислоты, фталиды, кумарины и пироны, эфирное масло, филлохиноны, дубильные вещества. Помимо полифенолов, из сырья этого вида были также выделены и идентифицированы стерины, лигнаны и гликозиды ароматических соединений.

Растения рода *Helichrysum* активно изучают в Сербии, Италии, Турции, Румынии [8-12]. Об особенностях роста и размножения в культуре *in vitro* больше всего представлены данные о таких видах, как *H. arenarium* (L.) Moench [13-16] и *H. italicum* (Roth) G. Don [17, 18]. Интерес к этим растениям обоснован их традиционным терапевтическим применением в качестве антисептиков, спазмолитиков, диуретиков и др. [19]. Эфирные масла, в частности, применяют для заживления ран и других кожных заболеваний (таких как гематомы и рубцы). Качество сырья оценивают по содержанию флавоноидов.

H. arenarium - классифицируется как исчезающий вид в ряде европейских стран [7]. Необходимость сохранения и удовлетворения растущей потребности в посадочном материале этого вида обосновывает необходимость разработки современных методов размножения. Исследования эффективности размножения *H. arenarium in vitro* важны для оценки потенциала крупномасштабного производства тканевых и клеточных культур соответствующих клонов в том числе с заданными свойствами вторичных метаболитов.

Размножение *H. arenarium in vitro* имеет ряд преимуществ перед традиционным способом, главным образом за счет быстрого и широкомасштабного круглогодичного производства посадочного материала. Цель настоящей работы состоит в том, чтобы изучить влияние минерального состава культуральных средах и определить концентрации цитокининов и ауксинов на эффективность регенерации и получения укорененных микрорастений *H. arenarium* - важного лекарственного растения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы

Для введения в культуру *in vitro H. arenarium* в качестве эксплантов использовали семена. Качество семян соответствует ГОСТу 12420-81. В работе использовали следующие фитогормоны фирмы “Sigma” - 6-бензиламинопурин (6-БАП), β-индолилмасляная кислота (ИМК), β-индолилуксусная кислота (ИУК).

Методы

Для стерилизации семян проводили в следующей последовательности: 70 % - ный этиловый спирт (1 мин); 30 % - ный NaOCI (хлоракс) (20 мин). Каждая из этих процедур сопровождалась трехкратной промывкой стерильной дистиллированной водой по 3 минуты. Простерилизованные и промытые семена подсушивали и помещали в пробирки на агаризованную среду Мурасиге и Скуга [20], содержащую ½ концентрации минеральных веществ, с добавлением 2 % сахарозы 0,7 % агара, без гормонов. Перед автоклавированием pH среды доводили до 5,7.

После достижения проростками 1,5-2 см их использовали для изучения корнеобразования и регенерационного потенциала сегментов стеблей и листовых эксплантов.

Изучение корнеобразования регенерантов проводили на среде МС полного минерального состава и ½ концентрации минеральных элементов с добавлением ИМК в диапазоне концентраций 0-0,3 мг/л. Результаты представлены в таблице 1.

Изучение минерального состава культуральных сред на получение посадочного материала *H. arenarium* проводили на средах МС, ½ МС, QL [21], B 5 [22] с добавлением ИМК (0,1 мг/л). Учитывали количество и длину побегов и корней, количество листьев на растениях. Результаты представлены в таблице 2.

Изучение регенерационного потенциала разных частей растений *H. arenarium* проводили на средах различного минерального состава (МС, QL, B 5) с 6-БАП и ИУК в различных концентрациях. Проводили описание состояния эксплантов, учитывали среднее количество регенерантов на эксплант и средние показатели их размера. Результаты представлены в таблице 3.

Проращивание семян и все последующие культуральные работы проводили в климокамере WLR-351 Sonyo (Япония) при 25 °С днем, 16 °С ночью и продолжительности светового дня 16 ч. в условиях освещения 4 клкс.Учет показателей укоренения, регенерационного потенциала и параметры роста побегов, регенерантов и корней проводили через 30 дней культивирования.

Статистическую обработку проводили, используя пакет Microsoft Excel 2007.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Выбор экспланта зависит от его реакции на гормональные, органические и минеральные компоненты культуральной среды и степени его инфицированности. В естественных условиях произрастания *H. arenarium* размножается семенами или порослью от корневищ. Поскольку, последние являются подземной частью растения, они подвержены бактериальной и грибной кантаминации в значительной степени и эффективная дезинфекция их весьма затруднена. Поэтому, в качестве экспланта для введения в культуру *in vitro* мы предпочли семена.

Используя предложенную последовательность обработки семян бессмертника стерилизующими агентами - 70 % C_2H_5OH (1 мин.) и 30 % NaOCI 30 % (20 мин) - через 4 недели культивирования мы получили 85 % проростков, свободных от экзогенной и эндогенной инфекции. Эти проростки в последующем использовали для изучения корнеобразования, а также регенерационного потенциала бессмертника.

Для представителей рода Helichrysum, как и для большинства других культур, характерна зависимость корнеобразования от генотипа, причем весьма существенная. Эффективность укоренения может варьировать от 50 до 100%, более того ауксины, в частности, ИМК, иногда не только не стимулируют, но ингибируют этот процесс [23-24]. Эти результаты показывают, что питательные среды и условия культивирования должны быть тщательно изучены для получения оптимального роста культуры. Для укоренения микрорастений *H. arenarium* наиболее часто используют ИМК в концентрациях (0,1-0,3 мг/л) [18, 23].

В наших исследованиях для определения оптимальных условий для корнеобразования, использовали черенки стеблей первичных проростков. Такие экспланты использовали с целью максимально исключить вероятное последействие на процесс корнеобразования фитогормонов, применяемых при индукции регенерации. Изучали корнеобразование *H. arenarium* под влиянием концентраций ИМК от 0,1 до 0,3 мг/л, на средах МС и ½ МС, а также на безгормональных вариантах. Результаты представлены в Таблице 1.

Наши результаты показывают, что экспланты *H. arenarium* способны спонтанно образовывать корни уже на безгормональной среде. ИМК активизирует этот процесс. С повышением концентрации ауксина увеличивается количество растений, образовавших корни.

Таблица 1 - Влияние концентрации ИМК на корнеобразование *H. arenarium* (L.) Moench (30 дней культивирования)

Вариант среды	Концентрация ИМК, мг/л	% растений, образовавших корни	Среднее количество корней на растение	Средняя длина корней, см
МС	0	71,4	2,80±0,71	3,21±1,05
	0,1	76,3	3,95±1,08	2,28±0,65
	0,2	87,5	3,23±0,78	2,38±0,42
	0,3	94,0	2,51±0,83	0,95±0,03
½ МС	0	76,3	3,50±1,31	2,29±0,68
	0,1	74,2	3,22±0,83	1,71±0,49
	0,2	87,3	3,63±0,91	1,27±0,33
	0,3	91,0	1,67±0,07	0,57±0,04

Среднее количество корней, образовавшихся на 1 растении, отмечено при концентрации ИМК 0,1-0,2 мг/л на среде МС и 0-0,2 мг/л ½ МС и варьируют незначительно в этих вариантах - от 2,8 до 3,23 на МС и от 3,22 до 3,63 на ½ МС. Показатели средней длины корней находится в обратной зависимости от концентрации ИМК. Под влиянием 0,3 мг/л ИМК количество корней на растении и их длина были наименьшими, отмечали витрификацию побегов и образование каллуса в их основании. Влияние минерального состава на корнеобразование было существенным только на безгормональных вариантах. Количество образовавшихся корней на ½ МС было почти на 5 % выше по сравнению с МС. При эквимолярных концентрациях ИМК интенсивность корнеобразования существенно не различалась на средах различного минерального состава.

В последующем для изучения влияния различного минерального состава культуральных сред на рост и развитие побегов использовали ИМК в концентрации 0,1 мг/л. В качестве эксплантов использовали сегменты стеблей пробирочных растений.

Таблица 2 - Влияние состава культуральной среды на морфогенез побегов (30 дней культивирования)

Вариант	Кол-во побегов (в среднем на 1 эксплант)		Растения, образовавшие корни, %	Кол-во листьев (в среднем на 1 растение)
	Кол-во	длина		
QL + ИМК 0,1	1,4±0,07	3,45±0,89	80,2	12,44±1,25
МС + ИМК 0,1	1,6±0,11	3,27±0,65	76,34	11,62±1,05
½ МС + ИМК 0,1	1,3±0,08	2,89±0,55	74,21	10,14±1,67
В 5 + ИМК 0,1	1,1±0,08	1,97±0,30	63,5	9,25±1,47

Результаты, представленные в Таблице 2, показывают, что минеральный состав культуральных сред оказывает существенное влияние на рост побегов *H. arenarium*. Растения бессмертника песчаного в условиях *in vitro* способны образовывать адвентивные побеги даже без участия цитокининов. Однако, количество их незначительно и варьирует в узком диапазоне (1,4-1,1). Лучшие показатели морфогенетические показатели были отмечены на среде QL. Длина побегов в этом варианте в 1,75, количество образовавшихся листьев в 1,34, а корнеобразование – в 1,26 раза выше по сравнению с аналогичными показателями на среде В 5. Хорошие показатели роста также наблюдалась при выращивании на средах МС и ½ МС. Растения, выращенные в этих условиях, незначительно отличались по своим показателям, достоверной разницы по количеству образовавшихся побегов, их длине и количеству сформировавшихся листьев среди вариантов культуральных сред QL, МС и ½ МС, не наблюдалось. Наименьшие результаты получены на среде В 5.

На средах МС и ½ МС отмечали развитие корневищ растениями *H. arenarium*. Более того, на этих корневищах формировались регенеранты (Рисунок 1).

В практике культивирования *in vitro* принято, что высокая концентрация питательных элементов в культуральной среде благоприятна для образования первичного каллуса, но в ряде случаев может быть несовместима с последующей регенерацией и ростом адвентивных побегов и корней. Нами отмечено, что *H. arenarium* активно реагирует уже на невысокие концентрации гормонов в среде, образуя каллус и витрифицированные побеги.

Рисунок 1 - Образование корневища с регенерантами *H. arenarium* (L.)Moench на МС

Использование ½ концентрации минерального состава среды позволяет снять этот негативный для получения полноценных побегов эффект. Тем не менее обеспечивает необходимый минеральный и органический состав, достаточный для роста и развития микропобегов [25].

Цель клонального микроразмножения - получить максимальное количество пригодных к употреблению новых побегов. Коэффициент размножения, один из важнейших показателей, характеризующий количество образовавшихся регенерантов на эксплант. Регенерационная активность эксплантов важна не только для получения большего количества микрорастений, но играет особенную роль и в других биотехнологических манипуляциях, в частности, при проведении генетической трансформации.

Регенерация зависит от вида экспланта и минерального и гормонального состава культуральной среды. Изучали регенерационную активность двух видов эксплантов *H. arenarium* – сегментов стеблей и листьев. В качестве индуктора побегообразования использовали 6-БАП в трех концентрациях в сочетании с ИУК на трех средах различного минерального состава. Результаты представлены в Таблице 3.

Полученные результаты демонстрируют существенную зависимость регенерации бессмертника песчаного от вида экспланта, минерального состава среды и концентрации 6-БАП.

Зависимость размножения и роста регенерантов бессмертника песчаного от концентрации цитокининов была продемонстрирована в ряде работ [26, 27]. Оптимальной была признана концентрация 6-БАП 1,0 мг/л на культуральной среде МС.

Таблица 3 - Влияние концентрации 6-БАП и минерального состава культуральных сред на регенерацию сегментов стеблей и листовых эксплантов *H. arenarium* (L.) Moench (30 дней культивирования)

Вариант среды	Состав гормонов, Мг/л	Экспланты					
		Листья			Сегменты стеблей		
		Регенерация эксплантов, %	Кол-во регенерантов	Длина регенерантов, см	Регенерация эксплантов,%	Кол-во регенерантов	Длина регенерантов, см
QL	ИУК 0,3 6-БАП 0,5	81	14,3±3,1	0,80±0,08	58	11,0±3,1	0,58±0,12
	ИУК 0,3 6-БАП 1,0	90	22,4±2,9	0,69±0,1	67	14,9±2.9	0,48±0,12
	ИУК 0,3 6-БАП 1,5	94	32,7±4,2	0,37±0,06	71	18,0±3,5	0,39±0,06
MC	ИУК 0,3 6-БАП 0,5	75	16,1±3,7	0,85±0,1	52	10,75±2,2	0,54±0,11
	ИУК 0,3 6-БАП 1,0	86	20,3±5,1	0,67±0,09	63	14,11±2,7	0,49±0,09
	ИУК 0,3 6-БАП 1,5	89	29,1±5,3	0,35±0,01	70	17, 11±2,0	0,23±0,01
B 5	ИУК 0,3 6-БАП 0,5	53	10,3±2,8	0,85±0,1	32	7,75±2,1	0,58±0,14
	ИУК 0,3 6-БАП 1,0	61	17,5±3,1	0,67±0,1	44	11,13±3,2	0,47±0,11
	ИУК 0,3 6-БАП 1,5	68	22,4±3,9	0,35±0,01	51	12, 44±3,1	0,24±0,02

В наших опытах также было отмечено, что *H. arenarium* в условиях *in vitro* активно реагирует на изменение концентрации цитокинина в среде, Регенеранты, полученные на средах одного минерального состава, различаются по длине и количеству и размеру листьев с изменением концентрации 6-БАП. С повышением концентрации гормона от 0,5 до 1,5 мг/л увеличивается количество регенерирующих эксплантов и коэффициент регенерации (количество регенерантов на эксплант) как листьев, так и сегментов стеблей. Эти показатели достоверно различаются в пределах каждого варианта сред. Макисмальное количество вновь образовавшихся побегов было получено на листовых эксплантах, культивируемых на культуральных средах QL и MC, дополненных 1,5 мг/л 6-БАП – в среднем (32,7±4,2) и (29,1±5,3) регенерантов на 1 эксплант.

На сегментах стеблей также наблюдали увеличение регенерирующих эксплантов и возрастание коэффициента размножения с увеличением концентрации 6-БАП. Однако эти показатели на 30-40% ниже, чем у листовых эксплантов при эквимолярных концентрациях 6-БАП на всех вариантах сред. Самые низкие показатели коэффициента размножения были выявлены на среде В 5.

Более активно регенерация проходит на среде QL, немного уступают эти показатели на среде MC. Листовые экспланты в 1,27-1,66 раза активнее образуют регенеранты по сравнению с сегментами стеблей, среднее количество эксплантов также выше на листовых эксплантах в 1,3-1,81 раза.

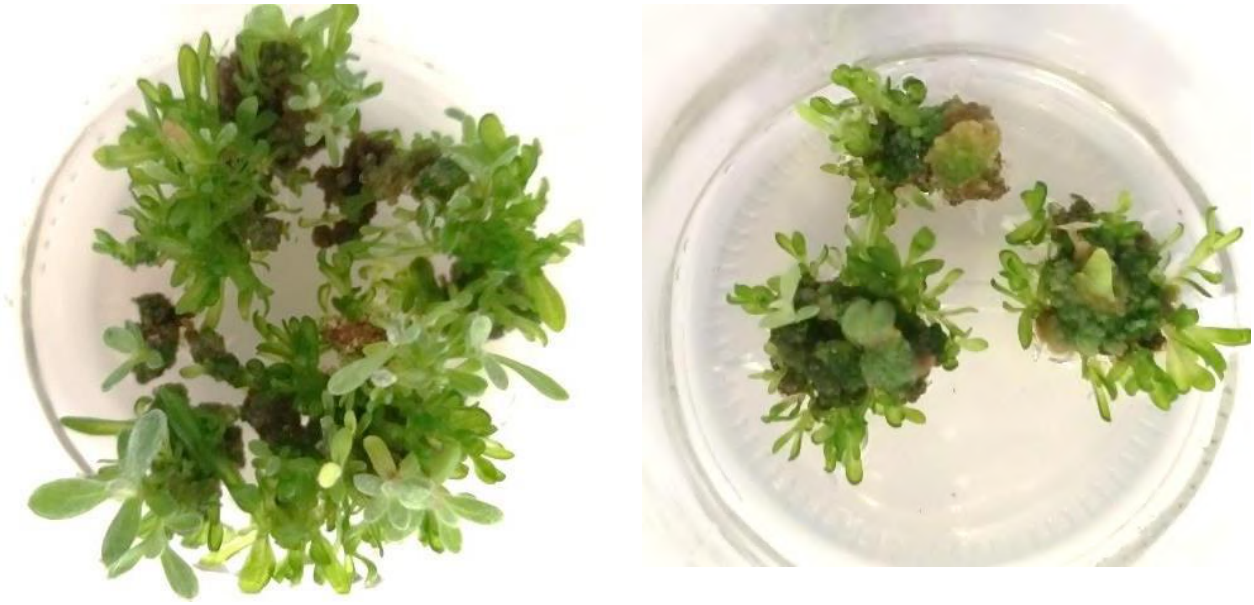
При эквимолярных концентрациях 6-БАП количество и длина регенерантов *H. arenarium* на средах QL и MC варьируют в узком диапазоне, достоверной разницы по этим показателям не наблюдалось. Giovannini A. с соавт. [27], изучая регенерацию листовых

эксплантов других видов - *H. italicum, H. stoechas* - также не отмечали достоверной разницы по длине и количеству побегов и количеству листьев среди вариантов питательной среды при эквимолярном содержании регуляторов роста.

В то же время на среде В 5 эти показатели были существенно ниже.

Установлено, что коэффициенты регенерации листовых эксплантов *H. arenarium* (L.) на сред QL варьируются от 14,3 при концентрации 6-БАП 0,5 мг/л; 22,4 при концентрации 6-БАП 1,0 мг/л; 32,7 при концентрации 6-БАП 1,5 мг/л; на среде МС – 16,1; 20,3 и 29,1; на среде В 5 – 10,3; 17,5 и 22,4 соответственно.

Регенерация листовых и стеблевых эксплантов на среде QL представлены на Рисунке 2 а, б.



а б

Рисунок 2 - Регенерация *H. arenarium* (L.) Moench на среде QL: а - листовые экспланты, б – сегменты стеблей

Таким образом, клональное микроразмножение *H. arenarium* показало свою эффективность. Трудности могут заключаться в следующем этапе - адаптации микрорастений к условиям *in vivo*. При выращивании *in vitro* растения находятся в условиях насыщенной влажности и имеют максимально благоприятные условия для роста и перевод их в условия *ex vitro* сопряжен со стрессом, требует максимально быстрой адаптации. В естественных условиях растения *H. arenarium* обитают в условиях значительной засухи на песчаной почве, бедной минеральными солями. Переход от пробирочных к условиям *ex vitro* требует постоянной высокой влажности для адаптации микрорастений, в противном случае велик риска потери большого их количества. Таким условиям наиболее полно отвечает аэропонная система культивирования растений. Нами проведены предварительные опыты по культивированию микрорастений *H. arenarium* в аэропонной установке. Показано, что растения хорошо адаптируются в таких условиях, показывают хороший рост корней и побегов, образуют корневища с регенерантами. Это позволяет нам продолжить исследования в этом направлении.

Рисунок 3 – растение *H. arenarium* (L.) Moench после 2-х недель культивирования на аэропонике

ВЫВОДЫ

Растения *H. arenarium* были введены в культуру *in vitro*, показана эффективность микроразмножения этого вида под влиянием различных концентраций 6-БАП. Наилучшая скорость размножения при хорошем качестве саженцев была достигнута на среде QL, дополненной 1,5 мг/л 6-БАП.

Интенсивность и скорость регенерации, роста и укоренения регенерантов продемонстрировало эффективность микроразмножения *H. arenarium*, что позволяет с помощью этой техники размножать клоны в короткие сроки. Высокая скорость регенерации (учет проводился через три недели культивирования) позволяет сократить культивирование эксплантов на средах, содержащих факторы сомаклональной изменчивости (в частности, цитокинины). Это позволит избежать сомаклональной изменчивости. При соблюдении таких условий имеет место высокая скорость образования адвентивных почек.

Для регенерации листовых эксплантов бессмертника песчаного среды QL и MC являются более благоприятными, чем среда B 5 при одинаковом гормональном фоне. Из одного листового экспланта мы получали в среднем до 32 жизнеспособных регенерантов.

Использование растительной среды MC, содержащей ½ концентрации минеральных солей, показало хорошие результаты роста и укоренения регенерантов.

Размножение *in vitro* вполне возможно использовать для сохранения находящихся под угрозой исчезновения видов, особенно это важно для лекарственного растительного сырья. Использование аэропонной технологии представляет интерес в плане адаптации пробирочных растений.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Dias, D.A. A historical overview of natural products in drug discovery / D. A. Dias, S. Urban, U. Roessner // Metabolites. -2012.-N 2.-303–336.
2. Yue, W. Medicinal plant cell suspension cultures: Pharmaceutical applications and high-yielding strategies for the desired secondary metabolites / W. Yue, Q.L. Ming, B. Lin, K. Rahman, Z. Cheng, T. Han, L.P. Qin // Critical Rev Biotechnol.-2016.-N 36 (2).- 1–18.
3. Shaw, D. Pharmacovigilance of herbal medicine/ D. Shaw, L. Graeme, D. Pierre, E. M. Williamson, C. Kelvin//J. of Ethnopharmacology. - 2012.-N 140.-513–518.
4. Kolewe, M.E. Development of plant cell culture processes to produce natural product pharmaceuticals: characterization, analysis, and modeling of plant cell aggregation/ M.E. Kolewe

M.E.- A Ph.D. Thesis submitted-to the Department of Chemical Engineering, Graduate school, University of Massachusetts Amherst, in partial fulfillment of requirements for the Degree of Doctor of Philosophy. 2011.- 1–140.

5. Isah, T. Adjustments to in vitro culture conditions and associated anomalies in plants/ T. Isah// Acta biologica cracoviensia. Ser. Botanica. - 2015.- 57/2.- 9–28, 2015 DOI: 10.1515/abcsb-2015-0026.
6. Jimenez-Garcia, S. N. Current approaches for the enhanced expression of the secondary metabolites as bioactive compounds in plants for agronomic & human health purposes-review S.N. Jimenez-Garcia, M.A. Vazquez-Cruz, Ramon G. Guevara-González, I. Torres-Pacheco, A. Cruz-Hernandez, A.A. Feregrino-Perez // Pol. J. Food and Nutr. Sci.-2013.- 63(2). - 67–78.
7. Bigović, D. (2011). Antiradical and cytotoxic activity of different *Helichrysum plicatum* flower extracts/ D. Bigović, K. Savikin, T. Janković, N. Menković, G. Zdunić, T. Stanojković, Z. Djurić//Nat. Prod. Commun. -2011.- N 6(6). - 819–822.
8. Bigović, D.J. Antimicrobial activity of Helichrysum plicatum DC/ D.J. Bigović, T.R. Stević, T.R. Janković, N.B Noveski, D.S. Radanović, D.S. Pljevljakušić, Z.R. Djurić// Hemijska Industrija. – 2017. - N 71. - 337–342.
9. Vujić B. Composition, Composition, Antioxidant Potential, and Antimicrobial Activity of Helichrysum plicatum DC. Various Extracts/ B. Vujić, V. Vidaković, M. Jadranin, I. Novaković, S. Trifunović, V. Tešević , B. Mandić// Plants. – 2020. - N 9. 337.
10. Viegas A.D. Helichrysum italicum: from traditional use to scientific data/ A.D. Viegas, A. Palmeira-de-Oliveira, L. Salgueiro, J. Martinez-de-Oliveira, R.J. Palmeira-de-Oliveira// Ethnopharmacol. – 2014. - 151(1). -54-65.
11. Yildirim B.A. Effect of Helichrysum plicatum DC. subsp. plicatum ethanol extract on gentamicin-induced nephrotoxicity in rats/ B.A.Yildirim, S..Kordali, K.A.T. Kapakin, Fatih Yildirim, E.A. Senocak, S. Altun// J Zhejiang Univ Sci B. – 2017. -18(6). – 501-511.
12. Babotă M. Phytochemical Analysis, Antioxidant and Antimicrobial Activities of Helichrysum arenarium (L.) Moench. and Antennaria dioica (L.) Gaertn. Flowers/M. Babotă, An. Mocan, L. Vlase, O. Crișan, I. Ielciu, A-M. Gheldiu, D.C. Vodnar, G. Crişan, P. Ramona// Molecules. – 2018. - 23(2). - 409
13. Sawilska, A.K. Efficiency of Sandy Everlasting [Helichrysum arenarium (L.) Moench. cultivation from in vitro seedlings and achenes/ A.K. Sawilska, E. Jendrzejczak//Industrial Crops and Production. – 2013.- N 43. – 50-55.
14. Mao Z. Anti-atherosclerotic activities of flavonoids from the flowers of Helichrysum arenarium L. MOENCH through the pathway of anti-inflammation/Z. Mao, C. Gan, J. Zhu, N. Ma, L. Wu, L. Wang, X. Wang // Bioorg. Med.Chem. Lett. – 2017. – N 27. - 2812–2817
15. Grădinaru, A. Helichrysum arenarium subsp. arenarium: Phenolic composition and antibacterial activity against lower respiratory tract pathogens / A. C. Grădinaru, M. Silion, A. Trifan, A. Miron, A. C. Aprotosoaie // Nat. Prod. Res. – 2014. – N 28. - 2076–2080.
16. Grinev, V.S.; Shirokov, A.A.; Navolokin, N.A.; Polukonova, N.V.; Kurchatova, M.N.; Durnova, N.A.; Bucharskaya, A.B.; Maslyakova, G.N. Polyphenolic compounds of a new biologically active extract from immortelle sandy flowers (Helichrysum arenarium (L.) Moench.). Russ. J. Bioorg. Chem. 2016 ,42, 770–776.
17. Rigano, D. Intestinal antispasmodic effects of Helichrysum italicum (Roth) Don ssp. italicum and chemical identification of the active ingredients. Rigano D, Formisano C, Senatore F, Piacente S, Pagano E, Capasso R, Borrelli F, Izzo A.A./ J. Ethnopharmacol. – 2013. - 150(3). - 901-906.
18. Dimitrova, N. Micropropagation of Helichrysum italicum (ROTH) G. Don – a medicinal plant with ornamental value/N. Dimitrova, L. Nacheva// J. BioSci. Biotech. 2018- 7(2). - 97-101.

19. Pljevljakušić, D. Sandy Everlasting (Helichrysum arenarium (L.) Moench): Botanical, Chemical and Biological Properties./D.Pljevljakušić, D. Bigović, T. Janković, S. Jelačić, K. Šavikin//Front Plant Sci. – 2018.- Aug 7;9:1123doi: 10.3389/fpls.2018.01123. eCollection 2018.
20. Murashige, T. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures/ T. Murashige, F. Skoog// Physiologia Plantarum. -1962.-N 15.- 473-497.
21. Quorin, M. & Lepoivre P., Elude de milieux adaptes aux cultures in vitro de Prunus/ M. Quorin, P. Lepoivre// Acta Hort. - 1977.- N 78. - 437-442.
22. Gamborg, O.L. Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells/ O. L. Gamborg, R. A. Miller, K. Ojima. // Exp. Cell Res. -1968. -Vol. 50. - 151-158.
23. Tomaszewska-Sowa, M. Environmental and acological aspects of cultivation of selected energy and herbal plants propagated by in vitro culture/ M. Tomaszewska-Sowa, A. Figas// Infrastructure and ecology of rural areas. – 2014. - IV (3). - 1457–1465.
24. Figas, A. Effect of Phosphorus on the growth and photosynthetic pigments content of Helichrysum arenarium (L.) moench plantlets in *in vitro* cultures/ A. Figas, M. Tomaszewska-Sowa, A. Sawilska, K. Bocian// Infrastructure and ecology of rural areas. 2016.- III (1). - 697-704.
25. Clasquin, S. Micropropagation d'Helichrysum arenarium (L.) Moench/ S. Clasquin, M. Henry//Acta Botanica Gallica: bulleten de la Société de France. – 2013. - 149(2). - 189-195.
26. Sawilska, A.K. Micropropagation of Helichrysum arenarium (L.) Moench. / A.K. Sawilska, Figas A.// International Conference Biotechnology. Czech Republic Česke. Budejovice, 2006. Scientific Pedagogical Publishing, 721-723.
27. Giovannini, A. Agrobacterium rhizogenes-Mediated Transformation in Mediterranean Helichrysum/ A. Giovannini, C. Mascarello, L. Pipino, A. Nostro// Transgenic Plant Journal – 2008.- 2(1). - 54-61.

CLONAL MICROPROPAGATION OF SAND IMMORTELLE *HELICHRYSUM ARENARIUM* (L.) MOENCH

Ph.D. in Biology Martirosyan Yu. Ts., Konovalova M. A., Ph.D. in Biology Martirosyan V. V.
Ph.D. in Biology Ovchinnikova V. N.[a)]

Federal Budgetary State Scientific Institution All-Russian Research Institute of Agricultural Biotechnology of the Russian Academy of Sciences, Russia, Moscow, ul. Timiryazevskaya, 42. 127550

a) corresponding author – vera.ovchinnikova.1957@mail.ru

Abstract. The Sandy Everlasting Helichrysum arenarium (L.) Moench is a xerophytic and heliophilic species from the Asteraceae family, which is on the verge of extinction. Sand helichrysum (another name for cumin) is an important medical plant, widely used in official and folk medicine, included in the domestic pharmacopoeia. The inflorescences contain flavonoids (6.5 %); chalconic glycosides, flavonol kaempferol; phthalic anhydride derivatives (phthalides); coumarin scopoletin, essential oil (0.04 %), filoquinones, tannins. Preparations of sand helichrysum have choleretic, hemostatic, detoxic, laxative, anti-inflammatory, diuretic effects, have hypocholesterolemic properties, antibacterial activity. The aim of this study was to introduce this medicinal plant into a sterile culture and develop an effective protocol for in vitro micro-propagation. The effect of phytohormones on the reproduction of H. arenarium was studied and compared. The highest multiplication factor of reproduction was achieved on a QL medium supplemented with 6-BAP (1.5 mg/l) and IUK (0.3 mg/l). A high percentage of rooting was achieved on hormone-free media and media supplemented with BCI (0.1-0.2 mg / l).

Keywords: *Helichrysum arenarium (L.) Moench, medicinal plants, tissue culture, plant micropropagation, phitohormones.*

УДК 539.1.047 DOI: 10.52101/9785870191003_2021_273

ПРИОРИТЕТНЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ ИССЛЕДОВАНИЙ РАДИАЦИОННО-ХИМИЧЕСКИХ ВОЗДЕЙСТВИЙ НА БИОТКАНИ ДЛЯ МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИХ ПРИЛОЖЕНИЙ

профессор, д.б.н. Матвейчук И. В.[1, a)], профессор, д.б.н. Розанов В. В.[1,2], к.б.н. Панин В. П.[1]

1 - Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений», Россия, г. Москва, ул. Грина, 7, 117216;

2 – Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова

а) автор для переписки – mivilar@mail.ru

Аннотация. Представлены основные положения стратегии, а также научно-методический подход к созданию современной концепции совершенствования используемых в медико-биологических приложениях методов стерилизации биологических тканей, создаваемых на их основе лекарственных препаратов для решения актуальных задач в рамках направления «Репродукция клеток, тканей и биопротезирование». Концепция включает экспериментально подтверждённые обоснования необходимости дальнейшего углублённого изучения технологий радиационной и химической стерилизации с применением озоно-кислородных смесей, оптимизации параметров режимов технологических процессов при селективном и сочетанном использовании рассматриваемых стерилизующих факторов. Акцентировано внимание на важности дальнейшего расширения поиска новых физико-химических факторов, обеспечивающих стерилизующий эффект, а также на актуальности исследований по установлению оптимальных сочетаний этих факторов для создания эффективных комбинированных технологий стерилизации. Отмечена необходимость разработки и внедрения в практику общепринятой методологии определения эффективности комбинированной технологии или отдельного метода стерилизации, их безопасности, дефинитивных показателей и критериев для использования в практической деятельности. Основу методологии должны составлять не только микробиологические, но и современные информативные методы объективной регистрации структурно-функционального состояния, композиционного и элементного состава биологических тканей. Основные положения концепции могут служить в качестве медико-технических требований при разработке инновационных технологий комбинированной стерилизации для различных медико-биологических приложений.

Ключевые слова: биоимплантология, биологические ткани, концепция, озоновая обработка, радиационные воздействия, стерилизация.

ВВЕДЕНИЕ

Среди актуальных проблем современной регенеративной медицины опорно-двигательного аппарата следует выделить одну из приоритетных – создание новых эффективных пластических материалов. При этом возникает необходимость решения задач, связанных с обеспечением потребности в костно-пластическом материале, разработкой имплантатов высокого качества [1, 2] и ряда других.

Вопросам обеспечения высокого качества биоимплантатов, касающихся их морфофункциональных особенностей, оптимальной степени шероховатости поверхности, композиционного и элементного состава, установлению связи этих характеристик с эффективностью применения костно-пластического материала в биоимплантологии, уделяется в последнее десятилетие особое внимание [3-5]. При этом подчеркивается важная роль стерилизации для обеспечения не только высокого качества, но и безопасности имплантатов на основе биологических тканей.

Создание эффективных способов стерилизации биологических тканей является одной из актуальных медико-биологических проблем в целом и биоимплантологии, в частности [4, 5]. Поиск инновационных подходов к её решению, как и ряда других медико-биологических задач, составляет основу Федеральных целевых программ последних десятилетий, в которых значительное внимание уделено здоровьесберегающим технологиям. На их успешное решение направлены в настоящее время усилия специалистов смежных наук, что позволит создать прорывные технологии в области стерилизации и обеспечить оптимизацию данного процесса при достижении высокой его эффективности.

Вопросы обеспечения высокого уровня безопасности биологических пластических материалов, включая костные имплантаты, регулируются в Российской Федерации рядом национальных государственных и межгосударственных стандартов [6]. Это обусловлено не только необходимостью исключения рисков инфицирования реципиентов, но и обеспечения безопасности персонала банка тканей, находящегося в непосредственном контакте с биологическими тканями при отборе донорского материала и в процессе изготовления имплантатов.

Ограниченность возможностей современных технологий стерилизации в связи с необходимостью учета многочисленных биологических факторов и ряда ограничений, связанных с биологической природой пластического материала, свидетельствует о том, что рассматриваемая проблема ещё далека от оптимального решения. В этой связи представляет значительный интерес разработка стратегии, а также научно-методического подхода к созданию современной концепции совершенствования используемых в медико-биологических приложениях методов стерилизации биологических тканей, создаваемых на их основе лекарственных препаратов для решения актуальных задач в рамках направления «Репродукция клеток, тканей и биопротезирование».

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

При разработке концепции совершенствования технологий стерилизации и определении стратегических направлений научного поиска при решении рассматриваемой проблемы использованы результаты многолетних исследований авторов, полученные на базе Научно-исследовательской лаборатории биомедицинских технологий Научно-исследовательского и учебно-методического центра биомедицинских технологий ФГБНУ ВИЛАР, переименованной в 2013 г. в совместную (ВИЛАР-МГУ) Научно-исследовательскую лабораторию биомедицинских технологий, осуществляющую свою деятельность с участием ученых и специалистов физического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова, а также Физико-технического института Северо-Восточного Федерального Университета имени М.К. Аммосова.

Объектом исследования служили образцы костной ткани, полученные из бедренных костей мужчин различных возрастных групп. В модельных экспериментах, связанных с изучением методических факторов, использованы образцы из бедренных костей быка (возраст животных - 1,5÷2 года). При изготовлении имплантатов, а также экспериментальных костных образцов для различных испытаний, использованы инновационные авторские разработки, основанные на применении высокотехнологичных методов заготовки, механической, химической обработки костных фрагментов. Характеристика исследованного материала, описание методик изготовления и структурно-функционального анализа представлены ранее [2].

При хранении костных образцов (имплантатов) использовали пакеты из двухслойной термоплёнки DGM Steriguard, герметизацию которых осуществляли с применением термоаппарата F70-400 (Нидерланды).

В экспериментах использован научно-технологический потенциал и оборудование указанных организаций: промышленная установка Flow Water Jet (Flow International Corporation – США) для гидродинамической резки, с диаметром гидроабразивной струи (0,76

– 1,01) мм и диапазоном автоматического регулирования давления до 400 МПа, универсальная многофункциональная рабочая станция на базе двухлучевого сканирующего электронно-ионного микроскопа «Quanta 3D FEG» (производства FEI Europe B.V, Нидерланды), растровый электронный микроскоп высокого разрешения JSM-7800F фирмы «Japanese Electron Optics Laboratory» (Япония) с термополевым эмиссионным катодом Шоттки и супергибридной объективной линзой, энергодисперсионный спектрометр OXFORD X-MAX-20.

Для стерилизации костных фрагментов озоно-воздушной смесью использовали оборудование производства ОАО «Электромашиностроительный завод «Лепсе» (г. Киров, Россия) – промышленный генератор медицинского озона А-с-ГОКСф-5-02-ОЗОН, измеритель концентрации озона ИКО – 50, а также концентратор кислорода Vision Aire (США).

Радиационные воздействия на костные образцы осуществляли на линейном ускорителе электронов непрерывного действия на энергию 1 МэВ с мощностью пучка до 25 кВт.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На основе анализа современного состояния и инновационных направлений развития способов стерилизации [7, 8] в качестве приоритетных направлений радиационно-химических воздействий на биологические ткани для медико-биологических приложений следует считать радиационные технологии [9-12] и воздействия с использованием озоно-кислородной смеси [13, 14]. Выбор указанных методов осуществлен на основе детального рассмотрения их дефинитивных характеристик.

К достоинствам стерилизации озоном следует отнести низкотемпературный режим обработки, короткую экспозицию, глубокое проникновение в материал, возможность стерилизации термолабильных материалов и изделий, работу со стерилизационными камерами различного объема, отсутствие токсичности, низкую стоимость оборудования, малые эксплуатационные затраты, а также безопасность для окружающей среды [14]. Важным преимуществом и особенностью озоновой обработки является осуществление стерилизации в газовой атмосфере, что исключает необходимость предварительной дегидратации образцов [8] перед радиационным облучением. Кроме того, озоновое воздействие позволяет исключить микробиологический риск остаточной контаминации, поскольку оно способно эффективно поражать патогенные микроорганизмы и в споровой форме, которая может быть устойчива даже к радиации.

Результаты предварительных исследований эффективности стерилизации костных образцов озоно-кислородной смесью с концентрацией (6–8) мг/л в течение (10–20) минут свидетельствуют о том, что при таких воздействиях полная стерильность костного вещества не обеспечивается. В этой связи приоритетной задачей дальнейших научно-практических разработок с использованием озоновых технологий следует считать проведение обстоятельных исследований по определению параметров режима обработки биологических тканей с учётом их реального физико-химического состояния. Это позволит обеспечить оптимизацию технологического процесса стерилизации, а также разработку медико-технических требований для создания современных установок для стерилизации с возможностью расширения их контрольных функций.

В настоящее время разработаны и изготовлены несколько типов таких установок, которые используются в качестве базовых экспериментальных образцов. На их основе осуществляется модернизация ранее созданных устройств с расширением функций обратной связи и комплектацией их дополнительными блоками, обеспечивающими возможность использования других физических факторов для сочетанного с озоном стерилизующего воздействия.

Для обеспечения максимальной эффективности процесса стерилизации с использованием озона параметры процесса необходимо выбирать с достаточным «запасом прочности». При таком выборе существует ряд вариантов, реализация которых сопряжена с

дополнительными затратами времени, энергии, реагентов, повышенной нагрузкой на стерилизуемый объект. Это не исключает возможного негативного влияния на морфофункциональные характеристики, остеоиндуктивные свойства биоимплантатов.

Авторами было предложено технологическое решение, обеспечивающее оптимизацию процесса стерилизации не по времени обработки, а на основе определения момента достижения стерильности объекта по мере приближения к запрограммированному значению концентраций на входе и выходе стерилизационной камеры. Такой подход позволяет, с одной стороны, автоматически учитывать влияние текущих внешних параметров – температуры, влажности, освещенности, флуктуации концентрации смеси, с другой – обеспечить экономию временных и энергетических затрат в процессе стерилизации.

Основная цель практической реализации нового технологического решения заключается в обеспечении сохранения исходной структуры, остеоиндуктивных свойств стерилизуемых объектов, возможности использования устройства для массовой заготовки имплантатов в условиях постоянного контроля разницы концентраций озоно-кислородной смеси на входе и выходе стерилизационной камеры. Допустимое значение пороговой разницы в концентрациях устанавливается с учетом скорости естественной диссоциации молекул озона.

На практике существует необходимость создания стационарных промышленных установок для обеспечения стерилизации больших объемов материала применительно к целям и задачам банков тканей. Наряду с этим, имеется потребность в разработке и внедрении в научно-исследовательскую практику малогабаритных (лабораторных) устройств - мобильных комплексов, предназначенных для отработки методических вопросов, решения многочисленных практических задач в различных областях медицины - в стоматологии, военно-полевой хирургии и др.

К приоритетным и перспективным инновационным методам стерилизации следует отнести радиационное воздействие [9, 15], что подтверждается тенденцией роста его применения с расширением перечня стерилизуемых объектов [9]. Повышенный интерес к радиационной стерилизации и значительное количество осуществляемых исследований по данной проблеме послужило основанием для выделения их в отдельное научное направление.

Результаты экспериментов, выполненных авторами [16, 17], а также другими исследователями [18-21] с использованием радиационного воздействия при решении задач биоимплантологии, свидетельствуют о том, что ввиду специфических особенностей структуры биологических тканей и необходимости максимального обеспечения сохранности их регенеративного потенциала, возникает дилемма: повышение поглощенной дозы усиливает стерилизационный эффект, но приводит к морфологическим изменениям тканей [18, 19], ухудшению их механических характеристик [21]. Увеличение поглощенной дозы сопровождается появлением деструктивных изменений, проявляющихся в разрушении морфогенетических белков, что оказывает негативное влияние на эффективность процесса репаративного остеогенеза. Устранить это недостаток позволяет снижение дозы поглощения в процессе стерилизационной обработки биотканей до значений ниже 15 кГр [22]. Однако, достижение необходимой стерильности в этом случае возможно только при использовании радиационной обработки в сочетании с другими стерилизующими факторами.

Эффективное использование радиационных технологий сдерживает нерешённость ряда вопросов, одним из которых является поиск и выбор оптимального источника ионизирующего излучения, применимого в комбинированных технологиях стерилизации. В настоящее время, по данным [10], гамма-кванты используются в 40,5 % от всех имеющихся установок, пучки быстрых электронов – в 4,5 %, а другие виды излучения, включая рентгеновское – в 5% технологических процессов.

Предпочтение использованию гамма-излучения объясняется возможностью стерилизации объектов независимо от их формы и размеров, материалов с переменной плотностью, гомогенных или гетерогенных по составу, в различной фазе и т.д. При этом важно

соблюдать установленные требования по защите персонала, окружающей среды ввиду наличия непрерывно излучающих во всех направлениях изотопных источников, требующих также специальных условий хранения. К существенным недостаткам следует отнести продолжительность стерилизации, которая может составлять часы и даже сутки.

Ряда указанных недостатков лишена технология с использованием потока быстрых электронов. Незначительное время экспозиции (секунды, минуты), высокая производительность, возможность прекращения излучения в конце производственного цикла, более точная регистрация поглощенной дозы делает её технологией выбора. Однако, значительные энергетические затраты, стоимость оборудования (ускорителей) являются факторами, тормозящими развитие этого метода, который не стал до настоящего времени конкурентноспособным [8].

Эффективность лучевых воздействий при их практическом применении не исключает наличия радиологических факторов риска. Они могут быть связаны с увеличением дозовой нагрузки, в первую очередь, от неучтённой её составляющей, вызываемой потоками вторичных частиц. В этой связи следует акцентировать внимание на значительную трудность при использовании радиационных технологий - определение реально поглощенной дозы при использовании рассматриваемых источников. Этот показатель сложно определить на основе прямых измерений в процессе каждого производственного цикла стерилизации. Это обусловливает необходимость привлечения дополнительных методов или использования математических расчётов на основе специальных программ, в начальных условиях которых содержится ряд допущений. Но такие подходы влияют на точность оценки величины поглощённой дозы, что указывает на необходимость проведения дополнительных исследований в этом направлении. Полученные при этом результаты, имеющие важное значение для практической деятельности, позволят изменить имеющее место субъективное отношение к лучевым воздействиям [15].

Результаты проведённых экспериментальных исследований авторов [8, 10, 13, 16, 17, 22], дополняющие имеющиеся в литературе сведения [7, 9, 11, 12, 15, 20, 21], подтверждают наличие широких возможностей для совершенствования технологий стерилизации. В качестве одного из приоритетных, перспективных подходов к решению этой проблемы рассматривается создание комбинированных способов стерилизации костных имплантатов [4, 23, 24] с использованием радиационных и химических воздействий. Такое сочетание позволяет уменьшить величину критической поглощенной дозы при радиационной обработке ниже значения 25 кГр, принятого в банках тканей ряда стран.

Преимуществом сочетанного использования различных физических и химических факторов является значительное увеличение суммарного эффекта по сравнению с селективным действием каждого из них, что обеспечивает достижение синергетического эффекта их совокупного воздействия. При этом интенсивность используемых в комбинированном методе отдельных воздействий может быть снижена, что позволяет уменьшить и степень вредного побочного влияния на биологические ткани каждого из них при усилении суммарного эффекта и обеспечении необходимого уровня стерилизации [10, 22, 23].

Авторами предложен высокотехнологичный метод двухэтапной стерилизации: на первом этапе костный имплантат подвергается химическому воздействию озоно-кислородной смесью, а на втором – облучению потоком быстрых электронов [22]. При экспериментальной апробации этого комбинированного способа стерилизации установлено значительное уменьшение уровня исходной обсемененности стерилизуемых образцов после обработки их озоно-кислородной смесью, а, следовательно, и резистентности патогенов к радиационному воздействию. Такая технология позволила обеспечить достижение требуемой стерильности при снижении величины поглощенной дозы радиационного облучения вплоть до 11 кГр [22].

При создании комбинированных технологий имеются широкие возможности для использования различных комбинаций стерилизующих факторов, последовательности их

воздействия на стерилизуемые объекты. Представляет интерес использование при комбинированной стерилизации в сочетании с озоно-кислородной смесью таких физических факторов, как УФ-излучение, ИК-излучение, СВЧ-воздействие и др. Экспериментальная апробация различных комбинаций указанных стерилизующих факторов при вариации последовательности этапов, на которых предусмотрено их воздействие, позволит оптимизировать процесс стерилизации и обеспечить достижение максимального эффекта.

Важно отметить, что существующие и разрабатываемые комбинированные технологии стерилизации костных имплантатов не являются универсальными. Ввиду дефицита донорского материала – костей человека из-за существующих ограничений, препятствующих возможности их получения в достаточном количестве, осуществляются поиски альтернативных источников. Это обусловило появление многих разновидностей применяемых в практике и создаваемых инновационных видов костно-пластического материала с заданными свойствами в зависимости от целей применения [25, 26]. Такая ситуация указывает на необходимость индивидуального подхода к выбору методов стерилизации в каждом конкретном случае.

Проведенный авторами мониторинг [2, 27] и исследование альтернативных источников другими исследователями [28, 29] позволили установить возможность использования ксеноматериала – костей быка, свиньи. Это подтверждается результатами сравнительного комплексного структурно-функционального анализа указанных костей с позиций биоматериаловедения, позволившего выработать рекомендации по использованию костных фрагментов для биоимплантологии с учетом установленного факта, что физико-механические характеристики являются интегральным выражением морфомеханического состояния костей, уровня их структурной организации, действующих функциональных нагрузок и состава костной ткани. Применение инновационных авторских разработок – методов физико-механического разделения (резки) кости, включая гидродинамическую инцизию, составляющих основу современных технологий и характеризующихся высокой производительностью, позволяет обеспечить удовлетворение постоянно возрастающей потребности в костно-пластическом материале высокого качества.

Создание современных технологий стерилизации тесно связано с проблемой оценки их эффективности. В настоящее время этому вопросу уделяется недостаточное внимание, о чём свидетельствует отсутствие общепринятой методологии определения эффективности применяемой технологии или отдельного метода стерилизации, установленных показателей и критериев для использования их на практике. Основу методологии должны составлять не только методы микробиологического анализа, но и морфологического исследования с учетом уровней структурной организации биологических тканей.

Важная информация о структурно-функциональных взаимосвязях может быть получена при проведении биомеханических исследований, являющихся информативными и позволяющими выявить тонкие изменения структуры на макро- и микроуровнях после воздействий различных факторов физико-химической природы, используемых при стерилизации.

Одним из главных этапов при оценке эффективности и безопасности технологии (метода) стерилизации является определение остеоиндуктивного потенциала костного имплантата на стадии доклинических испытаний. Анализ существующих подходов к проведению подобных исследований, используемых моделей [30] свидетельствуют о необходимости их совершенствования с учетом современных достижений в области регенеративной медицины.

Современные вызовы последних десятилетий отразились и на практической медицине. Их проявление выражается в недостаточном объеме эффективного пластического материала, инновационных технологий его получения для целей биоимплантологии. Одним из возможных подходов к решению ряда актуальных задач регенеративной медицины является междисциплинарная интеграция, объединение усилий представителей смежных областей наук

– биофизики, биоэлементологии, морфологии, радиационной медицины и ряда других, направленных на развитие методов пробоподготовки, стерилизации, объективной регистрации структурно-функционального состояния, композиционного и элементного состава костных имплантатов. Поиск оптимальных решений, получение новых сведений в рамках рассматриваемой проблемы позволят внести достойный вклад в создание современных здоровьесберегающих технологий.

ВЫВОДЫ

1. Представлены результаты экспериментальных исследований, свидетельствующие о важной роли процесса стерилизации костных фрагментов, биоимплантатов, обеспечивающего безопасность реципиента, медицинского персонала клиник и банков тканей, а также о необходимости дальнейшего совершенствования существующих технологий стерилизации с целью их оптимизации для достижения высокой эффективности.

2. Разработаны основные положения стратегии, а также научно-методический подход к созданию современной концепции совершенствования используемых в медико-биологических приложениях методов стерилизации биологических тканей, создаваемых на их основе лекарственных препаратов для решения актуальных задач в рамках направления «Репродукция клеток, тканей и биопротезирование».

3. Научно обоснована необходимость дальнейшего углублённого изучения технологий радиационной и химической стерилизации, оптимизации параметров режимов технологических процессов при селективном и сочетанном использовании указанных стерилизующих факторов.

4. Отмечена важность расширения поиска новых физико-химических факторов, установления оптимальных их сочетаний для создания эффективных комбинированных технологий стерилизации.

5. Установлена важная роль применения современных информативных методов объективной регистрации структурно-функционального состояния биологических тканей, доклинических испытаний для оценки эффективности и безопасности применяемых методов стерилизации.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ардашев, И.П. Современное состояние вопроса о костнопластических материалах, стимулирующих остеогенез / И.П. Ардашев, С.В. Черницов, И.Ю. Веретельникова, А.А. Гришанов, М.С. Шпаковский // Вестник новых медицинских технологий. – 2011. – Т.18. – Вып.4. – С.161-165.

2. Денисов-Никольский, Ю.И. Актуальные проблемы теоретической и клинической остеологии / Ю.И. Денисов-Никольский, С.П. Миронов, Н.П. Омельяненко, И.В. Матвейчук // М.: ОАО «Типография «Новости». – 2005. – 336 с.

3. Кирилова, И.А. Сравнительная характеристика материалов для костной пластики: состав и свойства / И.А. Кирилова, М.А. Садовой, В.Т. Подорожная // Хирургия позвоночника. – 2012. – №3. – С. 72-83.

4. Лекишвили, М.В. Костнопластические остеоиндуктивные материалы в травматологии и ортопедии / М.В. Лекишвили, Е.Д. Склянчук, В.С. Акатов, А.А. Очкуренко, В.В. Гурьев, И.С. Рагинов, С.Н. Бугров, А.Ю. Рябов, И.С. Фадеева, Ю.Б. Юрасова, А.С. Чеканов // Гений ортопедии. – 2015. – № 4. – С. 61-67.

5. Сенотов, А.С. Разработка остеопластических материалов с высоким потенциалом биоинтеграции для ускоренной регенерации костной ткани / А.С. Сенотов, И.С. Фадеева, П.О. Кирсанова, Р.С. Фадеев, А.А. Просвирин, Н.И. Фесенко, М.В. Лекишвили, В.С. Акатов // Медицинский академический журнал. – 2016. – Т. 16. – № 4. – С. 35-36.

6. ГОСТ Р ИСО 14602-99 «Неактивные хирургические имплантаты. Имплантаты для остеосинтеза. Технические требования». – Введ. 2001-01-01. – М.: Госстандарт России: Изд-во стандартов. – 2000. – 7 с.

7. Воробьев, К.А. Современные способы обработки и стерилизации аллогенных костных тканей (обзор литературы) / К.А. Воробьев, С.А. Божкова, Р.М. Тихилов, А.Ж. Черный // Травматология и ортопедия России. – 2017. – Т. 23. – №3. – С.134-147.

8. Розанов, В.В. Современное состояние и перспективные инновационные направления развития способов стерилизации биоимплантатов / В.В. Розанов, И.В. Матвейчук // Альманах клинической медицины. – 2019. – Т. 47. – №7. – С.634-646.

9. Калашников, В.В. Разработка и применение метода радиационной стерилизации в Федеральном медицинском биофизическом центре им. А.И. Бурназяна (обзор) / В.В. Калашников, А.В. Гордеев, Е.П. Павлов, Ю.А. Бушманов // Саратовский научно-медицинский журнал. – 2014. – Т. 10. – №4. – С.844-849.

10. Розанов, В.В. Современное состояние и направления дальнейшего развития высокотехнологичных методов радиационной стерилизации / В.В. Розанов, И.В. Матвейчук, А.П. Черняев, Н.А. Николаева, С.А. Краснов // Известия Российской академии наук. Серия физическая. – 2020. – Т.84. – №4. – С.521-524.

11. Rahman, N. Investigation of the mechanism of gamma irradiation effect on bovine bone / N. Rahman, R. Khan, T. Hussain // Cell and Tissue Banking. – 2020. – Vol. 21. – Is. 2. – P.249–256.

12. Singh, R. Radiation sterilization of tissue allografts: A review / R. Singh, D. Singh, A. Singh // World J. Radiology. – 2016. –Vol. 8. – № 4. – P. 355–369.

13. Пантелеев, В.И. Медицинские озоновые технологии. Новые задачи, возможности, оборудование / В.И. Пантелеев, В.В. Розанов, И.В. Матвейчук М.В. Лекишвили, Н.Н. Сысоев, С.А. Шутеев, С.В. Альков, Т.М. Андреева // Биомедицинская радиоэлектроника. – 2013. – № 2. – С. 3-11.

14. Масленников, О.В. Руководство по озонотерапии / О.В. Масленников, К.Н. Конторщикова, Б.Е. Шахов. – Н. Новгород: Исток. – 2015. – 346 с.

15. Зинченко, Ю.П. Исследование возможностей повышения эффективности лучевой терапии и снижения рецидивов у онкологических больных: влияние ионизирующих излучений и роль психологической реабилитации / Ю.П. Зинченко, Е.И. Рассказова, А.С. Кузнецова, М.А. Титова, Р.С. Шилко, М.С. Ковязина, А.П. Черняев, С.М. Варзарь, М.В. Желтоножская, Е.Н. Лыкова // Медицинская физика. – 2020. – Т. 85. – №1. – С.19-20

16. Розанов, В.В. Изменения морфомеханических характеристик костных имплантатов при радиационной стерилизации / В.В. Розанов, И.В. Матвейчук, А.П. Черняев, Н.А. Николаева // Известия Российской академии наук. Серия физическая. – 2019. – Т. 83. –№10. – С.1435-1440.

17. Розанов, В.В. Исследование структурно-функциональных характеристик поверхности костных имплантатов при комбинированной стерилизации / В.В. Розанов, И.В. Матвейчук, А.П. Черняев, Н.А. Николаева, Л.Н. Саввинова // Известия Российской академии наук. Серия физическая. – 2020. – Т. 84. – №11. – С.1587-1592.

18. Осипенкова-Вичтомова, ТК. Судебно-медицинская экспертиза костей / М.: Бином. – 2017. – 272 с.

19. Шангина, О.Р. Влияние радиационной стерилизации на структуру и свойства биоматериалов / О.Р. Шангина, Р.Т. Нигматуллин // Морфология. – 2006. – Т. 129. – №3. – С. – 44–47.

20. Nguyen, H. Reducingthe radiation sterilization dose improves mechanical and biological quality while retaining sterility assurance levels of bone allografts / H. Nguyen, A.I. Cassady, M.B. Bennett, E. Gineyts, A. Wu, D.A. Morgan, M.R. Forwood // Bone. – 2013. – Vol. 57. – № 1. – P.194–200.

21. Akkus, O. Sterilization by gamma radiation impairs the tensile fatigue life of cortical bone by two orders of magnitude / O. Akkus, R.M. Belaney // J. Orthop. Res. – 2005. – Vol.23. –№5. – С.1054–1058.

22. Розанов, В.В. Способ снижения дозовой нагрузки в процессе радиационной стерилизации костных имплантатов / В.В. Розанов, А.А. Николаева, И.В. Матвейчук, А.В. Белоусов, Д.С. Юров, А.П. Черняев // Ученые записки физического факультета Московского университета. – 2019. – №2. – С.1920303-(1-5).

23. Розанов, В.В. Стратегия развития комбинированных радиационных технологий стерилизации костных имплантатов / В.В. Розанов, И.В. Матвейчук, А.П. Черняев, Н.А. Николаева, Л.Н. Саввинова // Известия Российской академии наук. Серия физическая. – 2021. – Т.85. – №5. – С.748-751.

24. Савельев, В.И. Комбинированный способ стерилизации костных трансплантатов / В.И. Савельев, А.А. Булатов, Ю.А. Рыков // Патент РФ № 2356224, 2007. URL: https://new.fips.ru/registers-doc-view/fips_servlet?DB=RUPAT&DocNumber-=2356224-&Type-File =html.

25. Деев, Р.В. Создание и оценка биологического действия ген-активированного остеопластического материала, несущего ген *VEGF* человека / Р.В. Деев, А.Ю. Дробышев, И.Я. Бозо, Д.В. Галецкий, В.О. Королев, И.И. Еремин, Е.С. Филоненко, С.Л. Киселев, А.А. Исаев // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. – 2013. – Т.8. – №3. – С. 78- 85.

26. Шнеттлер, Р. Аллогенные костнопластические материалы: современное состояние проблемы / Р. Шнеттлер, И. Франке, Д. Римашевский В., Н.В. Загородний, Н.Д. Батпенов, Р.Е. Унгер, С. Вениш, М. Барбек // Травматология и ортопедия России. – 2017. – Т. 23. – №4. – С. 92-100.

27. Матвейчук, И.В. Костная ткань как объект биотехнологических исследований и разработок / И.В. Матвейчук, В.В. Розанов, Ю.И. Денисов-Никольский, Ю.Ю. Литвинов // Технологии живых систем. – 2016. – №1. – С.25-35.

28. Стогов, М.В. Костные ксеноматериалы в травматологии и ортопедии (аналитический обзор литературы) / Д.В. Смоленцев, Е.А. Киреева // Травматология и ортопедия России. – 2020. – Т. 26. – № 1. – С.181-189.

29. Bokov, A.E. Current trends in the development of materials for bone grafting and spinal fusion (review) / S.G. Mlyavykh, N.Y. Shirokova., A.E. Bokov // Sovremennye tehnologii v medicine 2018. – Vol. 10. – № 4. – P. 203-219.

30. Панин, В.П. Анализ экспериментальных моделей для проведения доклинических испытаний костных имплантатов / В.П. Панин, И.В. Матвейчук, В.В. Розанов // VII научн. конф. с междунар. участием «Современные тенденции развития технологий здоровьесбережения» (ФГБНУ ВИЛАР, 12-13 декабря 2019 г.). – М., 2019. – С. 479-484.

PRIORITY DIRECTIONS OF RESEARCH OF RADIATION-CHEMICAL EFFECTS ON BIOTISSES FOR MEDICAL-BIOLOGICAL APPLICATIONS

Professor, D.Sc. in Biology Matveychuk I.V. [1,a)],
professor, D.Sc. in Biology Rozanov V.V. [1,2],
Ph.D. in Biology Panin V.P.[1]

1 - All-Russian Scientific Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants,
Russia, Moscow, Grina str., 7; 117216

2 - Lomonosov Moscow State University, Russia, Moscow, Leninskie gory, Bi 1. bld. 2; 119991

a) corresponding author – mivilar@mail.ru

Abstract. The main provisions of the strategy, as well as the scientific and methodological approach to the creation of a modern concept for improving the methods of sterilization of biological tissues used in biomedical applications, drugs created on their basis for solving urgent problems in the framework of the direction "Reproduction of cells, tissues and bioprosthetics" are presented. The concept includes experimentally confirmed justifications for the need for further in-depth study of radiation and chemical sterilization technologies using ozone-oxygen mixtures, optimization of the parameters of technological processes with selective and combined use of the considered sterilizing factors. Attention is focused on the importance of further expanding the search for new physicochemical factors that provide a sterilizing effect, as well as on the relevance of studies to establish optimal combinations of these factors for the creation of effective combined sterilization technologies. The need for the development and implementation into practice of a generally accepted methodology for determining the effectiveness of a technology or a separate method of sterilization, their safety, definitive indicators and criteria for use in practice. The methodology should be based not only on microbiological, but also modern informative methods for objective registration of the structural and functional state, compositional and elemental composition of biological tissues. The main provisions of the concept can serve as medical and technical requirements in the development of innovative combined sterilization technologies for various biomedical applications.

Keywords: *bioimplantology, biological tissues, concept, ozone treatment, radiation exposure, sterilization.*

УДК 582.711.711:577.13 + 581.143.6 DOI: 10.52101/9785870191003_2021_283

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ *SPIRAEA BETULIFOLIA* SUBSP. *AEMILIANA* (ROSACEAE) *IN VIVO* И *IN VITRO*

к.б.н. Костикова В. А.[1, 2, a], к.б.н. Мурасева Д. С.[1]

1 - Центральный сибирский ботанический сад СО РАН; Россия, г. Новосибирск, ул. Золотодолинская, 101, 630090

2 - Томский государственный университет; Россия, г. Томск, пр. Ленина, 36, 634050

а) автор для переписки – serebryakova-va@yandex.ru

Аннотация. Впервые индуцирована культура *in vitro Spiraea betulifolia* subsp. *aemiliana* (C.K. Schneid.) H. Hara из природной популяций с о. Кунашир с целью оценки потенциала накопления фенольных соединений *in vitro* в сравнении с интактными растениями, интродуцированными в условиях г. Новосибирска. Активные процессы адвентивного побегообразования получены на питательной среде по прописи Мурасиге-Скуга (MS), дополненной 5.0 мкМ 6-бензиламинопурина и 1.0 мкМ α-нафтилуксусной кислоты (91% и 28.8±3.6 шт./экспл., соответственно). На этапе укоренения *in vitro* эффективным оказалось использование индолил-3-масляной кислоты, наилучший результат наблюдали при пассировании микропобегов на ½ MS, дополненной индолил-3-масляной кислотой 0.1 мкМ. Методом высокоэффективной жидкостной хроматографии установлено, что качественный состав фенольных соединений в интактных растениях разнообразнее в сравнении с растениями из культуры *in vitro* – не менее 26 соединений против 13–19 веществ фенольной природы, соответственно. Содержание хлорогеновой кислоты, кемпферола и фенолокислоты 4 в полтора–два раза выше в растениях из культуры *in vitro* (в зависимости от стадии культивирования) по сравнению с интактными растениями, тогда как концентрация гиперозида, астрагалина, кверцетина больше в интактных растениях. Полученные результаты свидетельствуют о возможности использования растений *S. betulifolia* subsp. *aemiliana* из культуры *in vitro* в качестве источника фенолкарбоновых кислот и флавоноидов и перспективности дальнейших исследований по накоплению вторичных метаболитов фенольной природы в культуре *in vitro* данного таксона.

Ключевые слова: *Spiraea betulifolia* subsp. *aemiliana*, регенерация *in vitro*, микропобеги, фенолкарбоновые кислоты, флавоноиды, высокоэффективная жидкостная хроматография, вторичные метаболиты *in vitro.*

ВВЕДЕНИЕ

Spiraea betulifolia subsp. *aemiliana* (C.K. Schneid.) H. Hara (syn. *S. aemiliana* C.K. Schneid.) декоративный кустарник из секции *Calospira* C. Coch, произрастает только на островной части России (о. Сахалин, Курильские острова) и в Японии. Потенциал *S. betulifolia* subsp. *aemiliana* связан с накоплением флавоноидов, особенно флавонолов – гиперозида, изокверцитрина, рутина, кверцетина, кемпферола, астрагалина, содержание которых было выявлено нами при проведении исследования фенольных соединений в листьях растений из природных и интродукционных ценопопуляций [1].

Культура *in vitro* является востребованной технологией размножения и сохранения редких и исчезающих таксонов, а также стала альтернативой растениям из природных популяций при получении ценных вторичных метаболитов [2]. Несмотря на большой интерес к представителям рода *Spiraea* как декоративным растениям и источникам вторичных метаболитов, информация о культуре изолированных клеток, тканей и органов спирей крайне немногочисленна. Нам известны только единичные работы, посвященные культивированию *in vitro* этого таксона [3]. Данные о культивировании *in vitro S. betulifolia* subsp. *aemiliana* в литературе отсутствуют, при этом важные с практической точки зрения качества растений и ограниченность растительного материала из природных местообитаний определяют

актуальность исследований по разработке систем культивирования *in vitro* изучаемого таксона. Кроме того изучение химического состава растений *in vivo* и *in vitro* позволит оценить перспективность использования различных типов растительного сырья для получения целевых метаболитов.

Цель исследования – индуцировать регенерацию *Spiraea betulifolia* subsp. *aemiliana* в культуре *in vitro* и оценить содержание фенольных соединений на разных стадиях клонального микроразмножения в сравнении с интактными растениями.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы. В работе использовали растения *S. betulifolia* subsp. *aemiliana,* культивируемые на интродукционном участке лаборатории фитохимии ЦСБС СО РАН (Россия, г. Новосибирск). Растения привезены из природной популяции с о. Кунашир, кальдера вулк. Головина в 2016 г.

1. Хлорид ртути (II) ($HgCl_2$; >99.5 %, Sigma-Aldrich, США) был приобретен ФГБУН ЦСБС СО РАН.
2. Tween 80 (≥58.0 %, Sigma-Aldrich, США) был приобретен ФГБУН ЦСБС СО РАН.
3. 6-бензиламинопурин (БАП; ≥99 %, Sigma-Aldrich, США) был приобретен ФГБУН ЦСБС СО РАН.
4. Агар (PanReac, Испания) был приобретен ФГБУН ЦСБС СО РАН.
5. α-нафтилуксусная кислота (НУК; >98 %, TCI, Tokyo chemical industry CO., LTD, Япония) была приобретена ТГУ.
6. Индолил-3-масляная кислота (ИМК; ≥99 %, Sigma-Aldrich, США) была приобретена ФГБУН ЦСБС СО РАН.
7. Этанол (95 %, ОАО «Кемеровская фармацевтическая фабрика», Россия) был приобретен ФГБУН ЦСБС СО РАН.
8. Метанол ("ОСЧ" для градиентной ВЭЖХ ТУ 2636-018-294-8378, ООО «Химмед», Россия) был приобретен ТГУ.
9. Ортофосфорная кислота («ЧДА», АО «База №1 Химреактивов», Россия) была приобретена ФГБУН ЦСБС СО РАН.
10. Фильтры обеззоленные (Желтая лента, d=7 см, ООО «Мелиор XXI», Россия) были приобретены ТГУ.
11. Мембранный фильтр (фильтр шприцевой, нейлон, d=13 мм, размер пор 0,45 мкм, Teknokroma, Испания) были приобретены ТГУ.

Методы

Индукция культуры in vitro. В качестве первичных эксплантов использовали пазушные почки. Изолированную пазушную почку с частью стебля погружали в раствор стерилизующего агента – 0.2 % раствор $HgCl_2$ с добавлением Tween 80 (1 капля на 100 мл раствора) (экспозиция 20 мин), с последующей промывкой стерильной дистиллированной водой (3 раза). После стерилизации в асептических условиях удаляли почечные чешуи, листья, оставляя только 2–4 верхних листочка, и переносили по 1 шт. на питательные среды.

Питательную среду по прописи Мурасиге-Скуга (MS) [4] дополненную 5.0 мкМ БАП использовали для индукции культуры *in vitro*. Длительность первого пассажа составляла 30–35 сут.

На всех этапах культивирования *in vitro* использовали агаризованные питательные среды (0.6 % агар). Перед стерилизацией pH среды доводили до 5.6–5.8 (pH-метр лабораторный, Эконикс-Эксперт, Россия), автоклавировали (стерилизатор паровой, АО «Государственный Рязанский приборный завод», Россия), среды при 121±2 ºС в течение 20 мин. Все регуляторы роста растений вносили в питательные среды после автоклавирования.

Собственно размножение. Собственно размножение проводили на среде MS, дополненной регуляторами роста: БАП в концентрации 0.1–5.0 мкМ и НУК 1.0 мкМ.

Контрольной являлась безгормональная среда. Конгломераты образованных побегов разделяли на единичные особи и использовали их для очередного цикла микроразмножения. Длительность пассажа на данном этапе 35–45 сут.

Укоренение in vitro. Укореняли микропобеги в условиях *in vitro*, ризогенез индуцировали на средах MS полного или с уменьшенным в два раза содержанием макро- и микрокомпонентов (½ MS) составах, дополненных ауксинами НУК или ИМК в концентрации 0.1 и 1.0 мкМ. Безгормональная среда MS являлась контролем. Длительность пассажа на этапе укоренения 50–60 сут.

Пассирование на этапах индукции культуры *in vitro*, собственно размножения и укоренения *in vitro* проводили в условиях свето-культуральной комнаты при (23±2) ºС, 16–часовом фотопериоде, интенсивности освещения 54 μmol m^{-2} s^{-1}.

Анализ фенольных соединений методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Анализ и сравнение фенольных соединений проводили в экстрактах из листьев интактных растений (I1, I2, I3, I4 и I5), а также микропобегов, листьев растений-регенерантов (микрорастений) (C1 и C2) (Таблица 1).

Таблица 1 – Характеристика исследованных образцов *S. betulifolia*subsp.*aemiliana*

Название	Место сбора	Часть растения	Дата сбора	Фаза вегетации
I1	г. Новосибирск, Академгородок, экспериментальный участок лаборатории фитохимии ЦСБС СО РАН	листья	28.06.2017 г.	Бутонизация
I2	–//–	листья	17.07.2017 г.	Цветение
I3	–//–	листья	30.08.2017 г.	Плодоношение
I4	–//–	листья	19.07.2018 г.	Цветение
I5	–//–	листья	22.07.2019 г.	Цветение
C1	Собственно размножение	микропобеги	Июль–Август 2019 г.	Вегетация
C2	Укоренение *invitro*	листья	Ноябрь 2019 г.	Вегетация

Сырьё высушивали на воздухе в затенённом месте, измельчали, просеивали через лабораторное сито (размер ячеек 3 мм, ООО «Вибротехник», Россия), перемешивали и отбирали репрезентативную пробу. Для изучения фенольных соединений использовали водно–этанольные извлечения (40 % этиловый спирт) из листьев и микропобегов *S. betulifolia* subsp. *aemiliana*, полученные экстракцией на водяной бане WB-4MS (Biosan, Латвия). Точную навеску измельчённого воздушно-сухого материала экстрагировали дважды в конической колбе со шлифом (КН-2-100-34 ТС, «Стеклоприбор», Россия) и с обратным холодильником Аллина (длина 300 мм, 29/32, Simax, Чехия): сначала 30 мл – в течение 30 минут, затем 20 мл – в течение 20 минут. По завершении фильтрации на обеззоленых фильтрах остаток в колбе и на фильтре промывали 5 мл 40 % этилового спирта. После этого объединенный экстракт концентрировали в фарфоровых чашечках (50 мл, d=77 мм, h=30мм, «СКФ Самара», Россия) до 10–15 мл (точный объём).

1 мл водно-этанольного экстракта разбавляли бидистиллированной водой (бидистиллятор ZLSC-5, Shenan, Китай) до 5 мл и пропускали через концентрирующий патрон Диапак С16 (БиоХимМак, Россия). Вещества смывали с патрона небольшим количеством (3 мл) 40 % водно-этанольного раствора, а затем 2 мл 96 % этанола. Объединенный элюат пропускали через мембранный фильтр. Анализ фенольных соединений, содержащихся в элюате, проводили на аналитической ВЭЖХ-системе, состоящей из жидкостного

хроматографа «Agilent 1200» (Agilent Technologies, США) с диодно-матричным детектором, автосамплером и системой для сбора и обработки хроматографических данных ChemStation, модифицировав методику T. A. van Beek [5]. Колонка ZorbaxSB-C18 (Agilent Technologies, США), 4.6×150 мм, 5 мкм. Разделение проводили в следующих условиях: градиент от 31 до 33 % метанола, подкисленного в ортофосфорной кислоте (0.1 %) в течение 27 мин., далее в подвижной фазе содержание метанола в водном растворе отрофосфорной кислоты (0.1 %) изменялось от 33 до 46 % за 11 мин., затем от 46 до 56 % за следующие 12 мин. и от 56 до 100 % за 4 мин. Скорость потока элюента 1 мл/мин. Температура колонки (26±2) °С. Объем вводимой пробы 10 мкл. Детектирование осуществляли при длинах волн λ = 254, 270, 290, 340, 360 и 370 нм. Стандартные образцы готовили в концентрации 1 мг/мл, их использовали для построения калибровочный кривых в диапазоне концентраций 2–100 мкг/мл. Количественное определение индивидуальных компонентов в образцах растений проводили по методу внешнего стандарта [5]. Для приготовления стандартных образцов использовали коричную кислоту (Serva, Германия), таксифолин (Austrowaren, Австрия), хлорогеновую и *n*–кумаровую кислоты, кверцетин, кемпферол (Sigma-Aldrich, США), изокверцитрин, рутин, авикулярин, астрагалин и гиперозид (Fluka, Германия). Расчет содержания неидентифицированных флавоноидов проводили по гиперозиду, содержание неидентифицированных кислот – по хлорогеновой кислоте.

Статистический анализ. Все эксперименты по культивированию *in vitro* и анализ фенольных соединений методом ВЭЖХ проводили минимум в 3 повторностях. Для выявления статистически значимых различий использовали дисперсионный анализ (ANOVA) с последующим тестом Тьюки (HSD). В работе обсуждаются различия, достоверные при 95 %-ном уровне значимости. Для статистической обработки результатов использовали пакет программ Statistica 10 (StatSoft.Inc.), Microsoft Excel 2007. Значения в таблицах и на графиках приведены в виде средних арифметических значений и стандартных ошибок (M±SE).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Индукция культуры in vitro и собственно размножение. Адвентивное побегообразование в культуре пазушных почек спиреи отмечали на индукционной среде через 25–30 сут. с начала культивирования. Частота регенерации для спиреи составила 67 %, формировалось 2.8±0.9 побега на эксплант.

На этапе собственно размножения развивались как адвентивные микропобеги, так и пазушные побеги 2 и 3-го порядков, при этом вне зависимости от питательных сред процессов каллусообразования не наблюдали. В культуре микропобегов *S. betulifolia* subsp. *aemiliana* на всех средах, дополненных экзогенными регуляторами роста, получена частота регенерации не менее 90 % и только на контрольной безгормональной среде побегообразование не отмечено (рисунок 1). Проведенный дисперсионный анализ не выявил достоверных различий в числе образующихся побегов спиреи в зависимости от экзогенных регуляторов роста. Выявлена прямая зависимость числа побегов от концентрации БАП. Культивирование на среде, содержащей 5.0 мкМ БАП и 1.0 мкМ НУК, приводило к формированию в среднем 28.8±3.6 микропобегов на эксплант, что при 91 % регенерации является наилучшим результатом при микроразмножении спиреи.

На данном этапе важным фактором являлась длительность пассажа: при культивировании на среде более 2 мес. наблюдали сильное удлинение междоузлий, слабое развитие листового аппарата; в случае, если длительность пассирования не превышала 6 недель, подобной морфологии побегов не наблюдали.

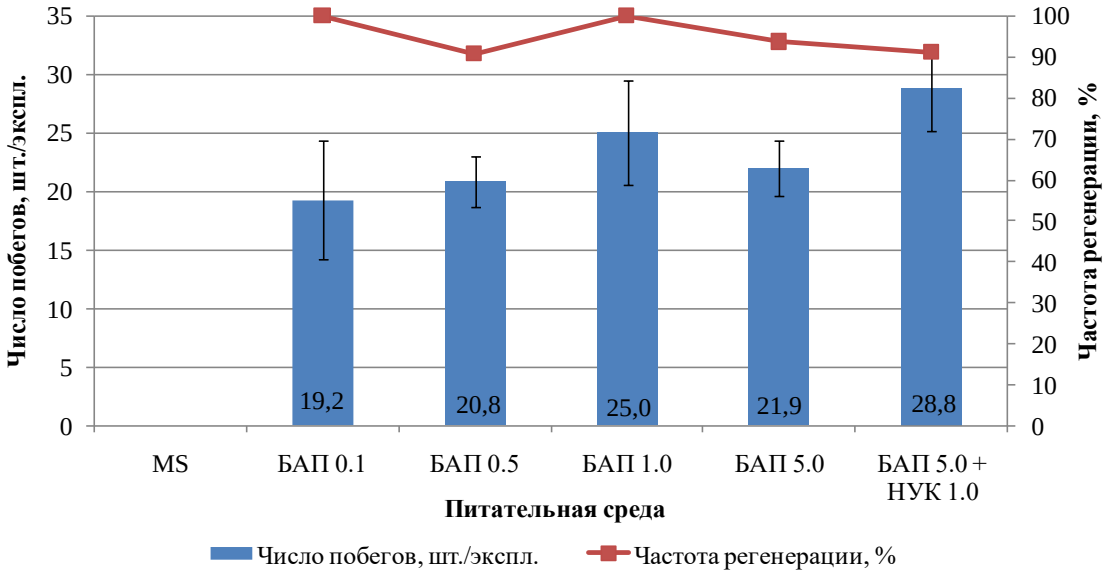


Рисунок 1 – Влияние состава питательных сред на регенерацию адвентивных побегов *Spiraea betulifolia* subsp. *aemiliana* на этапе собственно размножения.

Укоренение in vitro. Полученные на этапе собственно размножения конгломераты делили на отдельные побеги и переносили их на среды, индуцирующие ризогенез *in vitro*.

Внесение регуляторов роста в среду стимулировало ризогенез микропобегов. Наблюдали прямую зависимость числа корней от концентрации ИМК на средах полного состава. Культивирование на средах ½ MS в присутствии ИМК оказалось более эффективным в сравнении со средами полного состава, наибольшая частота укоренения получена на среде ½ MS с ИМК 0.1 мкМ. Выявлена чувствительность микропобегов к действию НУК: на среде ½ MS, дополненной НУК 1.0 мкМ получены наибольшее число корней и их длина, однако частота ризогенеза на данной среде минимальна.

Учитывая совокупность показателей укоренения микропобегов спиреи, установлено, что оптимальной питательной средой, индуцирующей ризогенез *in vitro*, является среда ½ MS, дополненная ИМК 0.1 мкМ.

Анализ фенольных соединений методом ВЭЖХ. Анализ и сравнение фенольных соединений проводили в экстрактах из листьев интактных растений (I1, I2, I3, I4, I5), а также микропобегов, полученных на этапе собственно размножения (С1), листьев растений-регенерантов (микрорастений), полученных на этапе укоренения *in vitro* (С2) (Таблица 1). Интактные растения изучали в фазе бутонизации (I1), цветения (I2) и плодоношения (I3) в 2017 г., а также в фазе цветения растений в 2018 г. (I4) и 2019 г. (I5).

По полученным ранее данным в водно-этанольных экстрактах (40 %) из листьев *S. betulifolia* subsp. *aemiliana* из природных популяций, произрастающих на о-ве Кунашир, методом ВЭЖХ выявлено не менее 19 фенольных соединений [1]. В составе фенольных соединений водно-этанольных извлечений из листьев растений *S. betulifolia* subsp. *aemiliana*, собранных на интродукционном участке ЦСБС, обнаружено не менее 26 соединений (рисунок 2, таблица 2 и 3). Спектр веществ в экстрактах из листьев растений интродукционной популяции изменился по сравнению с природными растениями, добавилось 7 новых компонентов. Качественный состав фенольных соединений в микропобегах С1 (13 соединений) и листьях растений культуры *in vitro* С2 (19 соединений), напротив, не так разнообразен, как в интактных растениях, но по количеству обнаруженных веществ сопоставим с растениями из природы.

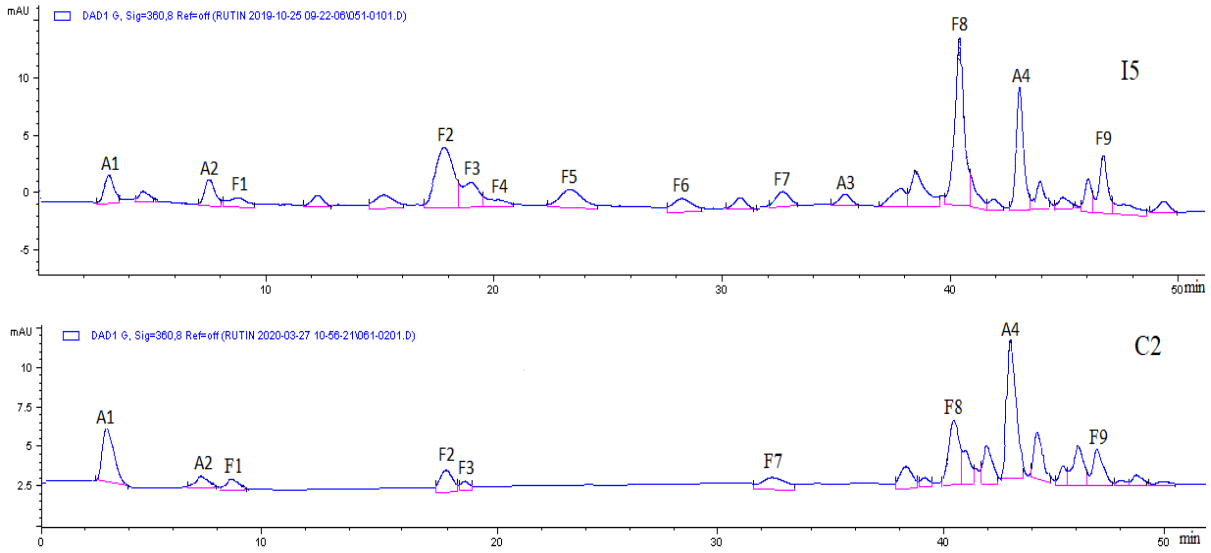


Рисунок 2 – Хроматограммы 40 % водно-этанольных экстрактов из листьев *S. betulifolia* subsp. *aemiliana* (I5 и C2) при 360 нм.

По оси абсцисс – время удерживания, мин; по оси ординат – сигнал детектора, единица оптической плотности. Номер пика вещества соответствует обозначению соединения в таблицах 2 и 3.

На основании УФ-спектров и сравнения времен удерживания пиков веществ на хроматограммах анализируемых образцов с временами удерживания пиков стандартных образцов в листьях *S. betulifolia* subsp. *aemiliana* идентифицированы 3 кислоты – хлорогеновая, *n*-кумаровая и коричная, 7 флавонолов – кверцетин и его гликозиды (гиперозид, изокверцитрин, рутин, авикулярин), кемпферол и его гликозид – астрагалин и дигидрофлавонол – таксифолин (таблица 2 и 3). Остальные компоненты не идентифицированы, но в процессе хроматографирования в режиме «on-line» были зарегистрированы их УФ-спектры. Неидентифицированные соединения согласно спектральным характеристикам отнесены к флавонолам (λ_{max}, нм = 250–270, 350–390), фенолкарбоновым кислотам – оксибензойным (λ_{max}, нм = 235–270, 290–305) или оксикоричным (λ_{max}, нм = 230–240, 290–320) и флавонам (λ_{max}, нм = 250–270, 210–350).

В таблице 2 представлено количественное содержание идентифицированных фенолкарбоновых кислот и основных неидентифицированных кислот, концентрация которых в водно-этанольных экстрактах из листьев *S. betulifolia* subsp. *aemiliana* более 1 мг/г. Хлорогеновая, *n*-кумаровая и фенолокислота 4 выявлены во всех исследуемых образцах интактных растений и растений в культуре *in vitro*. Коричная кислота отсутствует в экстрактах из листьев интактных растениях в фазе бутонизации (I1), микропобегов (C1) и листьев микрорастений (C2). Накопление фенолкарбоновых кислот в листьях интактных растений по фазам вегетации оказалось неоднородным. Самое высокое содержание хлорогеновой кислоты (0.75 мг/г) в листьях можно наблюдать в фазе бутонизации, затем происходит спад её содержания в фазе цветения и небольшое увеличение концентрации в фазе плодоношения растений. Содержание коричной кислоты в листьях растений не изменяется по фазам вегетации. Концентрация *n*-кумаровой кислоты в листьях спиреи постепенно увеличивается от стадии бутонизации к стадии плодоношения (0.48 мг/г). Максимум содержания фенолокислоты 4 (2.22 мг/г) наблюдается в фазе цветения растений, а в фазе бутонизации и плодоношения её содержание ниже. Установлены колебания концентрации хлорогеновой кислоты и фенолокислоты 4 при размножении *S. betulifolia* subsp. *aemiliana* в культуре *in vitro*. Содержание хлорогеновой кислоты в микропобегах C1 (1.43 мг/г) и листьях растений-регенерантов C2 (1.36 мг/г), статистически достоверно выше, чем в листьях растений, собранных на интродукционном участке в разные фазы вегетации растений и в разные годы в фазе цветения растений (от 0.32 до 1.01 мг/г). В листьях микрорастений C2 возросло

содержание фенолокислоты 4 (5.38 мг/г) практически в 2 раза, по сравнению с интактными растениями (от 1.45 до 2.66 мг/г). Содержание *n*-кумаровой кислоты не отличается в интактных растениях и в растениях из культуры *in vitro*.

Таблица 2 – Характеристика и содержание фенолкарбоновых кислот, обнаруженных в экстрактах из листьев растений *Spiraea betulifolia* subsp. *aemiliana*

№ пика	Соединение (спектральная характеристика λ_{max}, нм)	Образец (мг/г от массы абсолютно-сухого сырья)						
		Интактные растения					Культура *in vitro*	
		I1 (б*)	I2 (ц*)	I3 (п*)	I4 (ц*)	I5 (ц*)	C1	C2
A1	хлорогеновая кислота (244,300 пл,330)	0.75±0.05^{b}	0.32±0.03^{c}	0.43±0.07^{c}	0.79±0.06^{b}	1.01±0.09^{b}	1.43±0.03^{a}	1.36±0.05^{a}
A2	*n*–кумаровая кислота (226, 293, 320)	0.26±0.06^{bc}	0.34±0.04^{b}	0.48±0.03^{b}	0.54±0.05^{b}	0.84±0.09^{a}	0.15±0.06^{c}	0.25±0.03^{bc}
A3	коричная кислота (216, 270)	н.о.	0.28±0.03^{a}	0.28±0.07^{a}	0.27±0.04^{a}	0.43±0.07^{a}	н.о.	н.о.
A4	фенолокислота4 (255, 265 пл, 315)	2.13±0.08^{d}	2.22±0.09^{cd}	1.45±0.06^{ef}	1.90±0.10^{de}	2.66±0.09^{c}	1.22±0.07^{f}	5.38±0.13^{a}

*Примечание. Представлены средние арифметические значения определений и их стандартные ошибки (n = 3). Значения, за которыми следуют разные буквы в строке (a, b, c, d), статистически значимо различаются ($p \leq 0,05$) в соответствии с тестом Тьюки (HSD); * – фаза вегетации растений: б – бутонизация, ц – цветение, п – плодоношение; н.о. – не обнаружено.*

В таблице 3 представлено количественное содержание идентифицированных флавоноидов и основных неидентифицированных флавоноидов, концентрация которых в водно-этанольных экстрактах из листьев *S. betulifolia* subsp. *aemiliana* более 1 мг/г. Гиперозид, таксифолин, астрагалин, кверцетин и кемпферол выявлены во всех исследуемых образцах интактных растений и растений в культуре *in vitro*. Изокверцитрин и рутин отсутствуют в интактных растениях в фазе бутонизации (I1), рутин также не выявлен в микропобегах (C1) и листьях микрорастений (C2). Флавон 5 и авикулярин не обнаружены в экстрактах растений из культуры *in vitro* на всех этапах размножения. Накопление флавоноидов, также как и фенолкарбоновых кислот, в листьях интактных растений по фазам вегетации оказалось неоднородным. Самое высокое содержание авикулярина (0.47 мг/г) в листьях можно наблюдать в фазе бутонизации, затем происходит спад его содержания в фазе цветения и небольшое увеличение концентрации в фазе плодоношения растений. Концентрация таксифолина, астрагалина и флавона 5 постепенно увеличивается от стадии бутонизации к стадии плодоношения. Максимум содержания остальных флавонолов – гиперозида (2.20 мг/г), изокверцитрина (0.49 мг/г), рутина (0.40 мг/г), кверцетина (2.97 мг/г), кемпферола (0.32 мг/г) наблюдается в фазе цветения растений, а в фазе бутонизации и плодоношения их содержание ниже. В листьях микрорастений C2 наблюдается скачок содержания кемпферола (2.08 мг/г) по сравнению с интактными растениями, собранными в разные фазы вегетации растений и в разные годы в фазе цветения растений (0.18–0.75 мг/г). В микропобегах C1 и в листьях микрорастений C2 содержание флавонолов – гиперозида, астрагалина, кверцетина на этапах собственно размножение (C1) и укоренение *in vitro* (C2) значительно ниже и сравнимо только с содержанием этих соединений в интактных растениях в фазе бутонизации (I1). Содержание таксифолина, изокверцитрина равнозначно в интактных растениях и в растениях из культуры *in vitro*. Концентрация практически всех флавоноидов и фенолкарбоновых кислот в листьях растений из культуры *in vitro* увеличивается от этапа собственно размножения (C1) к стадии укоренения *in vitro* (C2) (таблицы 2 и 3).

Колебания содержания фенольных соединений могут быть связаны, как с генетическими характеристиками таксона, так и с условиями их культивирования. Изменение состава фенольных соединений, а также количественные колебания их содержания в растениях из культуры *in vitro* могут значительно изменить биологическую активность, которая выявлена у интактных растений. Возможно, например, усиление или ослабление выявленной ранее антиоксидантной или противовирусной активности экстрактов из листьев *Spiraea* [6]. Изучение этих показателей может быть целью будущих исследований.

Таблица 3 – Характеристика и содержание флавоноидов, обнаруженных в экстрактах из листьев растений *Spiraea betulifolia* subsp. *aemiliana*

№ пика	Соединение (спектральная характеристика λ_{max}, нм)	Образец (мг/г от массы абсолютно-сухого сырья)						
		Интактные растения					Культура *in vitro*	
		I1 (б*)	I2 (ц*)	I3 (п*)	I4 (ц*)	I5 (ц*)	C1	C2
F1	таксифолин (290)	0.15±0.04^{b}	0.22±0.03^{b}	0.34±0.06^{ab}	0.24±0.07^{b}	0.56±0.05^{a}	0.23±0.03^{b}	0.29±0.04^{b}
F2	гиперозид (225, 268 пл, 355)	0.39±0.05^{c}	2.20±0.10^{a}	1.47±0.09^{b}	1.39±0.06^{b}	1.70±0.10^{b}	0.35±0.05^{c}	0.45±0.04^{c}
F3	изокверцитрин (259, 266 пл, 358)	н.о.	0.49±0.06^{a}	0.22±0.07^{ab}	0.21±0.09^{ab}	0.28±0.03^{ab}	0.16±0.05^{b}	0.19±0.05^{b}
F4	рутин (256, 358)	н.о.	0.40±0.05^{a}	0.24±0.06^{ab}	0.14±0.03^{b}	0.19±0.03^{b}	н.о.	н.о.
F5	Флавон 5 (250, 340)	0.30±0.05^{c}	0.77±0.04^{b}	1.32±0.03^{a}	1.31±0.06^{a}	1.33±0.05^{a}	н.о.	н.о.
F6	авикулярин (260, 270 пл, 360)	0.47±0.03^{b}	0.20±0.05^{c}	0.34±0.05^{bc}	0.34±0.05^{bc}	0.68±0.05^{a}	н.о.	н.о.
F7	астрагалин (265, 300 пл, 350)	0.49±0.04^{cd}	0.78±0.05^{b}	1.28±0.04^{a}	1.24±0.06^{a}	0.65±0.06^{bc}	0.24±0.04^{d}	0.35±0.05^{d}
F8	кверцетин (255, 372)	1.23±0.07^{de}	2.97±0.07^{b}	1.96±0.09^{c}	2.86±0.14^{b}	5.07±0.07^{a}	0.25±0.06^{f}	0.79±0.06^{e}
F9	кемпферол (266, 370)	0.23±0.03^{d}	0.32±0.04^{cd}	0.18±0.05^{d}	0.19±0.06^{d}	0.75±0.10^{b}	0.56±0.06^{bc}	2.08±0.07^{a}

*Примечание. Представлены средние арифметические значения определений и их стандартные ошибки (n = 3). Значения, за которыми следуют разные буквы в строке (a, b, c, d), статистически значимо различаются ($p \leq 0,05$) в соответствии с тестом Тьюки (HSD); * – фаза вегетации растений: б – бутонизация, ц – цветение, п – плодоношение; н.о. – не обнаружено.*

ВЫВОДЫ

Впервые разработана эффективная система клонального микроразмножения редкого, декоративного растения *S. betulifolia* subsp. *aemiliana*. Установлена перспективность культуры *in vitro* как источника ценных фенольных соединений. Культура *in vitro* может быть объектом для проведения экспериментов по усилению и управлению синтеза фенольных соединений в биомассе полученных в культуре ткани микропобегов исследуемого таксона под действием различных индукторов.

Работа выполнена в рамках государственного задания ЦСБС СО РАН (проект № АААА-А21-121011290025-2) и при финансовой поддержке гранта Президента РФ для молодых учёных – кандидатов наук (проект № МК-1045.2020.4). При подготовке публикации

использовались материалы биоресурсной научной коллекции ЦСБС СО РАН «Коллекция живых растений в открытом и закрытом грунте», УНУ № USU 440534.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Костикова, В. А. Изменение состава и содержания флавоноидов и фенолкарбоновых кислот в листьях *Spiraea betulifolia* subsp. *aemiliana* (Schneid.) Hara (Rosaceae) при интродукции в Академгородке г. Новосибирска / В. А. Костикова, А. А. Кузнецов // Химия в интересах устойчивого развития. – 2021. – № 29. – С. 42-51. DOI: 10.15372/KhUR2021276
2. Kikowska, M. Accumulation of valuable secondary metabolites: phenolic acids and favonoids in diferent *in vitro* systems of shoot cultures of the endangered plant species – *Eryngium alpinum* L. / M. Kikowska, B. Thiem, A. Szopa, H. Ekiert // Plant Cell, Tissue and Organ Culture. – 2020. – Vol. 141. – P. 381-391. https://doi.org/10.1007/s11240-020-01795-5
3. Bancheva, S. *In-situ* and *ex-situ* conservation of *Spiraea crenata* (Rosaceae) in Bulgaria / S. Bancheva, M. Delcheva, Tz. Kikindonov // Flora Mediterranea. – 2019. – № 29. – P. 109-117. https://doi.org/10.7320/FlMedit29.109
4. Murashige, T. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures / T. Murashige, F. Skoog // Physiologia Plantarum. – 1962 – Vol. 15. – P. 473-497.
5. van Beek, T. A. Chemical analysis of *Ginkgo biloba* leaves and extracts / T. A. van Beek // Journal of Chromatography A. – 2002. – Vol. 967(1). – P. 21-55. https://doi.org/10.1016/S0021-9673(02)00172-3
6. Костикова, В. А. Противовирусная активность и фенольные соединения *Spiraea media* Franz Schmidt, *Spiraea salicifolia* L. и *Spiraea crenata* L. / В. А. Костикова, Е. И. Филиппова // Биологические особенности лекарственных и ароматических растений и их роль в медицине: Материалы Международной научно-практической конференции, посвящённой 85–летию ВИЛАР. Москва, 23-25 июня 2016 г. / Отв. ред. Л. Н. Зайко – М.: Щербинская типография, 2016. – С. 482-486.

COMPARATIVE ANALYSIS OF PHENOLIC COMPOUNDS OF MICROCLONES AND INTACT PLANTS OF *SPIRAEA BETULIFOLIA* SUBSP. *AEMILIANA* (ROSACEAE)

Ph.D. in Biology V. A. Kostikova[1, 2, a], Ph.D. in Biology Muraseva D. S.[1]

1 - Central Siberian Botanical Garden, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Russia, Novosibirsk, 101 Zolotodolinskaya Str.

2 - Tomsk State University, Russia, Tomsk, 36 Lenin Ave.

a) corresponding author – serebryakova-va@yandex.ru

Abstract. *In vitro* culture of *Spiraea betulifolia* subsp. *aemiliana* (C.K. Schneid.) H. Hara from natural population on Kunashir Islands—was induced and an analysis of phenolic compounds from *in vitro* microshoots as compared with *in vivo* plants was performed for the first time. Active adventitious shoot formation was implemented on the Murashige-Skoog (MS) nutrient medium supplemented with 5.0 μM 6-benzylaminopurine and 1.0 μM 1-naphthalene acetic acid (28.8 ± 3.6 and 91%, respectively). Indole-3-butyric acid was found to be effective for the *in vitro* rooting; the best result was obtained on ½ MS supplemented with 0.1 μM indole-3-butyric acid. By high-performance liquid chromatography, it was determined that the profile of phenolic compounds was more diverse in intact plants than in the plants from *in vitro* culture: 26 versus 13–19 phenolic substances, respectively. Concentrations of chlorogenic acid, kaempferol, and "phenolic acid 4" were 1.5–2.0-fold higher in the *in vitro* plants (depending on the cultivation stage) compared to the intact plants, while concentrations of hyperoside, astragalin, and quercetin were higher in the intact plants. Our results indicate the feasibility of using *S. betulifolia* subsp. *aemiliana* plants from *in vitro* culture as a valuable alternative source of phenol carboxylic acids and flavonoids as well as potential usefulness of further studies on the accumulation of secondary phenolic compounds in this subspecies *in vitro*.

Keywords: *Spiraea betulifolia subsp. aemiliana, In vitro* regeneration, Phenol carboxylic acid, Flavonoid, HPLC, *In vitro* secondary metabolite.

УДК: 579.61:577.15 DOI: 10.52101/9785870191003_2021_293

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КОЛЛАГЕНОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ГРИБОВ, ОТНОСЯЩИХСЯ К РАЗЛИЧНЫМ РОДАМ

профессор, д.б.н. Никитина З. К.[a)]., к.б.н. Гордонова И. К., Насибов Э. М.

ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений, Россия, Москва, ул. Грина, 7, стр. 1, 117216

а) автор для переписки – nikitinaz@yandex.ru

Аннотация. Изучение различных ферментов, синтезируемых микроорганизмами, и возможности их практического применения является одним из актуальных направлений биотехнологии. Целью настоящей работы являлась сравнительная характеристика коллагенолитической активности коллекционных штаммов мицелиальных грибов, относящихся к различным родам. Показано, что все изученные микромицеты росли на среде Чапека с заменой сахарозы на коллаген, образовывая заметные зоны лизиса. Отмечены существенные видовые и штаммовые различия скоростей роста и индексов лизиса микромицетов при культивировании на среде с коллагеном. Установлено, что все культуры способны гидролизовать коллаген при поверхностном культивировании и могут рассматриваться в качестве потенциальных продуцентов коллагеназ. На основании детального изучения параметров роста грибов, относящихся к разным родам, а также проведенного регрессионного и корреляционного анализа, отобраны культуры для дальнейшего изучения при глубинном культивировании.

Ключевые слова: *мицелиальные грибы, коллаген, коллагенолитическая активность, поверхностное культивирование*

ВВЕДЕНИЕ

Своеобразие коллекции микромицетов ФГБНУ ВИЛАР состоит в наличии штаммов способных гидролизовать различные белки, являясь потенциальными продуцентами протеиназ [1-4]. Изучение различных ферментов, синтезируемых микроорганизмами, и возможности их практического применения является одним из актуальных направлений биотехнологии. К числу таких ферментов относятся коллагеназы - эндопептидазы, расщепляющие тройную спираль молекулы нерастворимого природного белка коллагена [5-8]. Уже достаточно давно проводятся исследования, направленные на разработку на основе этого фермента различных лекарственных средств и композиций для лечения ран и рубцов [9-13], ожогов [14]. Коллагеназы успешно применяются для лечения стенозов гортани [15], офтальмологических заболеваний [6]. Приведенные данные о возможности широкого использования коллагеназ в медицине и других областях жизнедеятельности человека, а также большое количество работ, посвященных указанной проблеме, делает актуальным поиск культур, обладающих коллагенолитической активностью, а также сравнительное изучение активности коллагеназ мицелиальных грибов, что и являлось целью настоящего исследования.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы.

Объектом исследования являлись 8 штаммов 7-ми видов микромицетов из коллекции микроорганизмов ФГБНУ ВИЛАР, относящиеся к родам *Aspergillus, Botrytis, Cladosporium*: *A. fumigatus* F 22, *A. mangini* F 30, *A. sydovii* F 25, *B. terrestris* F 38, *Cl. cladosporoides* F 35, *Cl. herbarum* F 33, 57, *Cl. sphaerospermum* F 56. В качестве штамма сравнения использовали микромицет *A. flavus* F 52, из культуральной жидкости которого были ранее выделены и охарактеризованы два фермента с коллагенолитической активностью [1, 16].

В работе использовали следующие реактивы

1.- ***агар бактериологический*** *(HISPANAGAR S.A, Испания, расфасовано ФБНУ ГНЦ ПМБ г. Оболенск, РФ, партия О58-А01129, годен до 10.2023) приобретен ФГБНУ ВИЛАР;*
2.- ***сахароза ЧДА*** *(ГОСТ 5833-75, ЗАО «ВЕКТОН», РФ, партия № 15, годен до 11.2023) приобретен ФГБНУ ВИЛАР;*
3.- ***коллаген тип I****(Sigma-Aldrich, США, код продукта C7661-5MG, расфасовано Диаэм, лот 59154536, годен до 04.2022) приобретен ФГБНУ ВИЛАР;*
4.- ***натрий азотнокислый ЧДА*** *(ГОСТ 4168-79, ЗАО «ВЕКТОН», РФ, партия № 1236, годен до 09.2023) приобретен ФГБНУ ВИЛАР;*
5.- ***калий хлористый ХЧ*** *(ГОСТ 4234-77, ЗАО «ВЕКТОН, РФ, партия № 368, годен до 09.2022) приобретен ФГБНУ ВИЛАР;*
6.- ***калий фосфорнокислый-однозамещенный ЧДА*** *(ГОСТ 4198-75, «Компонент-реактив», РФ, партия 45, годен до 07.2023) приобретен ФГБНУ ВИЛАР;*
7.- ***медь сернокислая (II). 5-водная, Ч*** *(ГОСТ 4165-78, ЗАО «ВЕКТОН», РФ, партия 11, годен до 09.2023) приобретен ФГБНУ ВИЛАР;*
8.- ***магний сернокислый. 7-водный, Ч*** *(ГОСТ 4523-77, ЗАО «ВЕКТОН», РФ, партия 19, годен до 09.2023) приобретен ФГБНУ ВИЛАР;*
9.- ***железо сернокислое, 7-водное, Ч*** *(ТУ 6-09-4339-77, ЗАО «ВЕКТОН», РФ, партия 5, годен до 11.2023) приобретен ФГБНУ ВИЛАР;*
10.- ***кальций углекислый ХЧ*** *(ГОСТ 4530-76, «Ленреактив», РФ, артикул 100357, годен до 12.2021) приобретен ФГБНУ ВИЛАР*

Методы.

Состав агаризованной питательной среды Чапека для выращивания спорового материала культур (%): $NaNO_3$ - 0,2; KH_2PO_4 - 0,1; $MgSO_4$ x $7H_2O$ - 0,05; KCl - 0,05; $FeSO_4$ x $7H_2O$ - 0,001; $CaCO_3$ - 0,3; сахароза - 2; агар – 2.

Состав агаризованной питательной модифицированной среды Чапека (%): $NaNO_3$ - 0,2; KH_2PO_4 - 0,1; $MgSO_4$ x $7H_2O$ - 0,05; KCl - 0,05; $FeSO_4$ x $7H_2O$ - 0,001; $CaCO_3$ - 0,3; коллаген - 2; агар – 2.

После культивирования на свежих средах в течение 7 суток проводили посев спор микромицетов тремя уколами на чашки Петри в двух повторностях с модифицированной агаризованной средой Чапека и инкубировали при температуре (26±1) °С (Термостат суховоздушный ТС-80 У4.2, ТУ 84-1-1302-76, Одесский экспериментальный завод лабораторной медицинской техники, Украина), в темноте. Коллагеназную активность микроорганизмов оценивали по диаметру колоний и зон лизиса, радиальной скорости роста и индексам лизиса. Диаметр колоний и зон лизиса измеряли в двух перпендикулярных направлениях, рассчитывая индекс лизиса (Ил) по формуле: Ил = $Дл^2/Дк^2$, где Дл и Дк – средние диаметры зон лизиса и колоний соответственно.

Статистическую обработку результатов, регрессионный и корреляционный анализ проводили на персональном компьютере с помощью пакета статистических программ Microsoft Office Excel 2010. Данные на рисунках представлены в виде средних значений и стандартных ошибок среднего по 12 измерениям. В ряде случаев рассчитывались доверительные интервалы для уровня значимости α=0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для оценки протеолитической активности коллекционных штаммов мицелиальных грибов ранее нами был предложен комплекс показателей, включающий определение скоростей роста и индексов лизиса при поверхностном культивировании на модифицированных средах с заменой сахарозы на соответствующие белки [1, 2]. Проведение подобных скрининговых исследований позволило выявить потенциальных продуцентов протеиназ, а затем выделить и охарактеризовать ферменты [1, 3, 4]. В связи с этим, для сравнительного изучения коллагенолитических свойства микромицетов, целесообразно было

проведение подобных исследований при поверхностном культивировании грибов на средах с заменой сахарозы на коллаген.

Известно, что рост микроорганизмов в условиях полной или частичной замены легко усвояемого источника углерода на трудно метаболизируемые биополимеры, например коллаген, позволяет оценить их гидролитическую активность. Рост грибов на средах с коллагеном свидетельствует об их способности утилизировать белок после его гидролиза, а наличие выраженных зон лизиса является признаком секреции протеиназ [17].

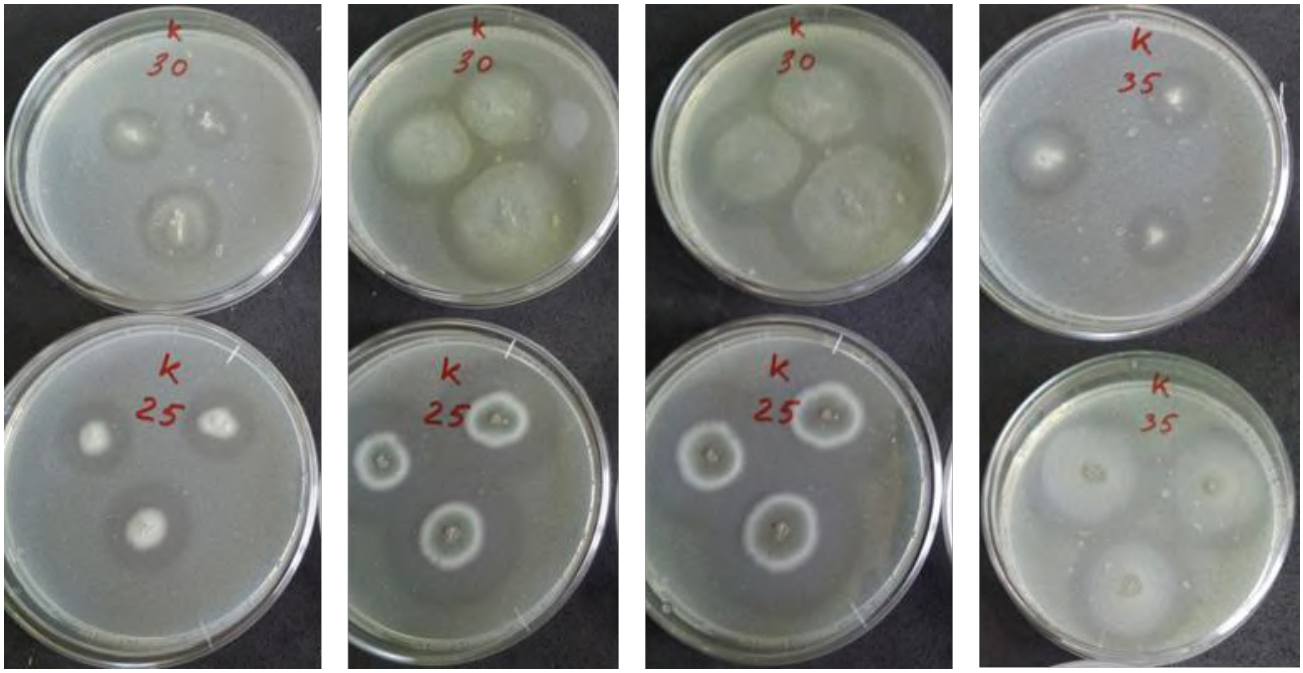


Рисунок 1 - Колонии и зоны лизиса грибов при культивировании на среде с коллагеном (слева – направо): *A. mangini* F 30, *A. sydovii* F 25 (4, 6, 7 сутки), *Cl. cladosporoides* F 35 (вверху – 4, внизу - 7 сутки культивирования)

Можно видеть (рис. 1), что микромицеты росли на среде с заменой сахарозы на коллаген и образовывали хорошо выраженные зоны лизиса, однако размеры колоний, зон лизиса и скорости радиального роста (рис. 2) отличались у разных видов. При анализе изменения скоростей роста грибов в процессе культивирования необходимо отметить, что у всех культур минимальные показатели фиксировались на начальных этапах. Возможно, в этот период происходит активный гидролиз коллагена с образованием низкомолекулярных компонентов, утилизаций которых обеспечивает в дальнейшем увеличение скоростей роста.

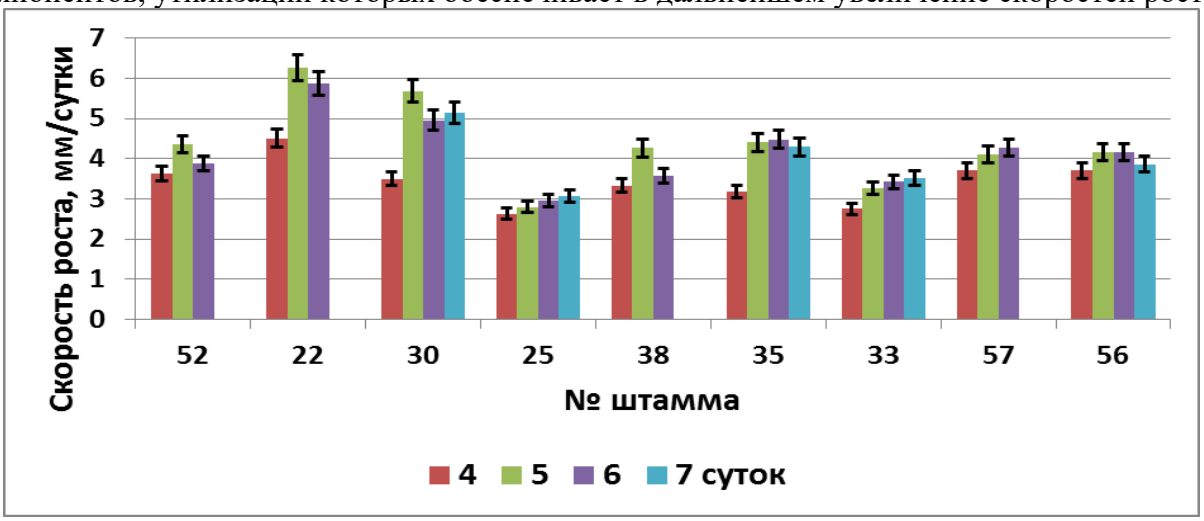


Рисунок 2 - Изменение скорости радиального роста микромицетов в процессе культивировании на среде с коллагеном

Скорость роста микроорганизмов на средах с заменой легко утилизируемой сахарозы на трудно метаболизируемый нерастворимый белковый субстрат может являться показателем адаптационного потенциала культур и служить одним из критериев для отбора при поиске потенциальных продуцентов гидролаз соответствующих белков. При сравнении средних за все время культивирования скоростей роста грибов (рис. 3) максимальные показатели, превышающие данные для штамма сравнения *A. flavus* F 52, зафиксированы у *A. fumigatus* F 22 и *A. mangini* F 30, минимальный показатель обнаружен у *A. sydovii* F 25. Скорости роста трех представителей рода *Cladosporium* (*Cl. cladosporoides* F 35, *Cl. herbarum* F 57, *Cl. sphaerospermum* F 56), а также *B. terrestris* F 38 не отличались статистически достоверно от аналогичного показателя у *A. flavus* F 52.

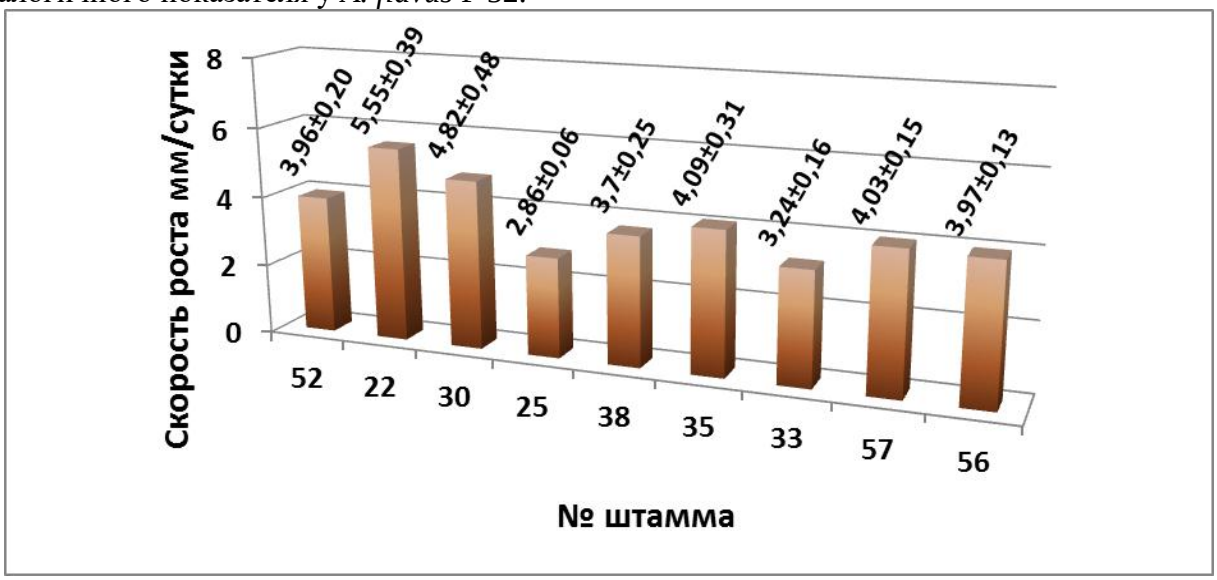


Рисунок 3 - Средние скорости роста микромицетов при культивировании на среде с коллагеном. Подписи данных представлены в виде средних значений и доверительных интервалов при уровне значимости α = 0,05

Наряду с такими параметрами роста микроорганизмов, как диаметр колоний, зон лизиса, скорости роста важным показателем является индекс лизиса. Индекс лизиса определяется соотношением площади колонии и площади зоны лизиса и характеризует удельную протеолитическую активность культуры, так как площадь колонии пропорциональна ее биомассе, а площадь зоны лизиса – активности секретируемых протеиназ. В связи с этим на следующем этапе исследования были рассчитаны индексы лизиса микромицетов при росте на средах, содержащих коллаген (рис. 4).

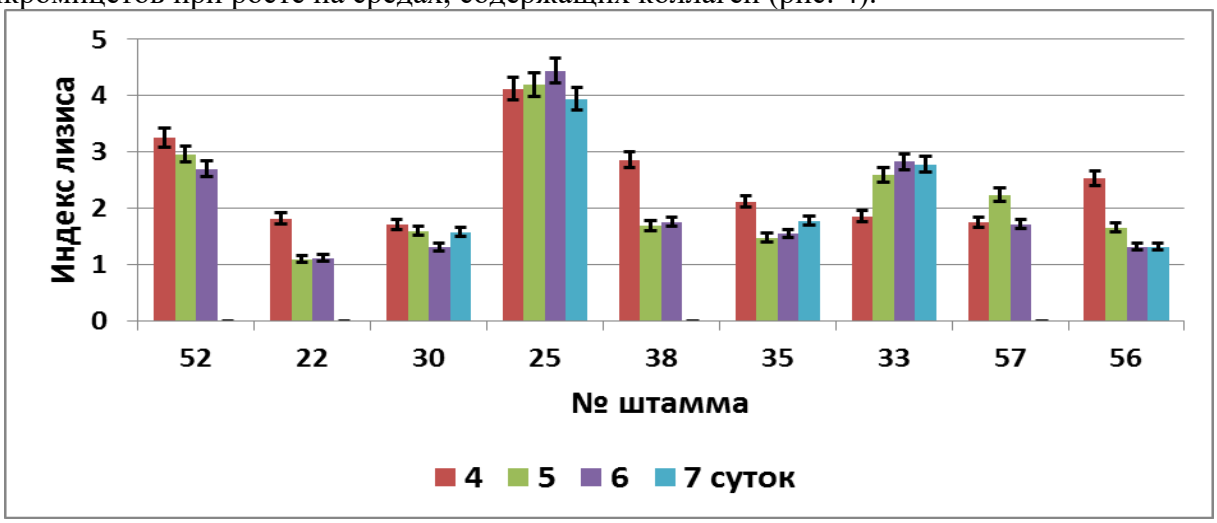


Рисунок 4 - Изменение индексов лизиса микромицетов в процессе культивировании на среде с коллагеном

Можно видеть, что у пяти исследованных штаммов (F 22, F 30, F 38, F 35 и F 56), также как у штамма сравнения F 52, максимальные индексы лизиса фиксировались на начальных этапах культивирования. Обнаруженный факт свидетельствует, по-видимому, об интенсивной секреции протеиназ на этих этапах, необходимой для адаптации культур к трудно утилизируемому субстрату. На 5 – 7 сутки культивирования индекс лизиса снижался, оставаясь на относительно постоянном уровне. У двух штаммов *Cl. herbarum* в начале культивирования, наоборот, наблюдались минимальные значения индексов лизиса, затем они или постепенно повышались (F 33), или повышались, а потом возвращались к исходным значениям (F 57). У гриба *A. sydovii* F 25 на всех этапах культивирования фиксировались высокие показатели индекса лизиса, превышающие данные у культуры сравнения *A. flavus* F 52.

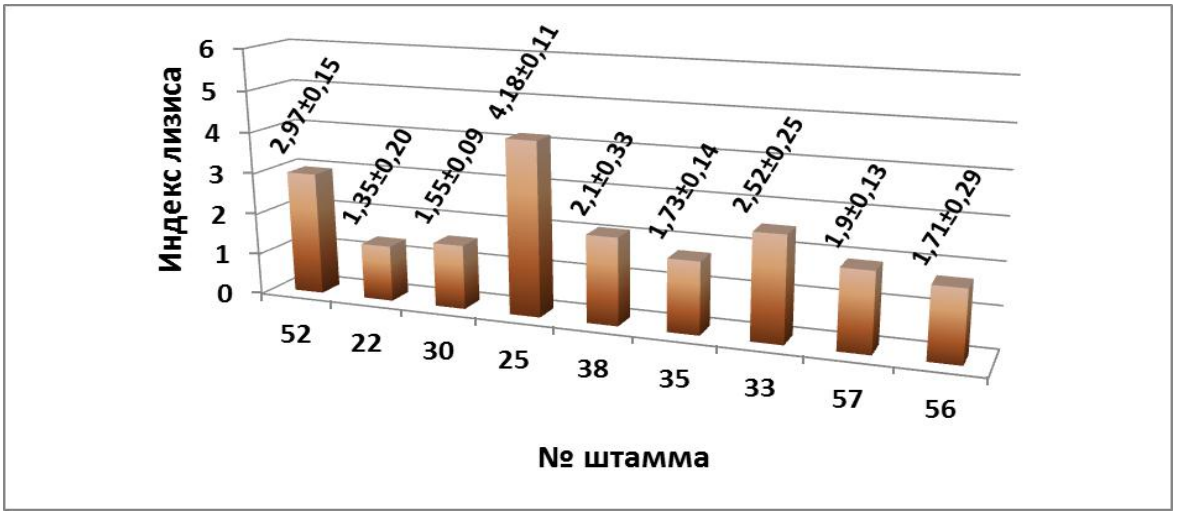


Рисунок 5 - Средние индексы лизиса микромицетов при культивировании на среде с коллагеном. Подписи данных представлены в виде средних значений и доверительных интервалов при уровне значимости α = 0,05

Для оценки коллагенолитической активности грибов анализировались средние за все время культивирования индексы лизиса (рис.5). Максимальное значение указанного показателя, зафиксированное у *A. sydovii* F 25, было почти в 1,5 раза больше, чем у штамма сравнения *A. flavus* F 52, минимальное – у *A. fumigatus* F 22. У грибов рода *Cladosporium* F 35, 57, 56, а также у *B. terrestris* F 38 индексы лизиса статистически достоверно не отличались. Относительно высокий индекс лизиса отмечен у *Cl. herbarum* F 33, который был ниже, чем у штамма сравнения только на 18 %.

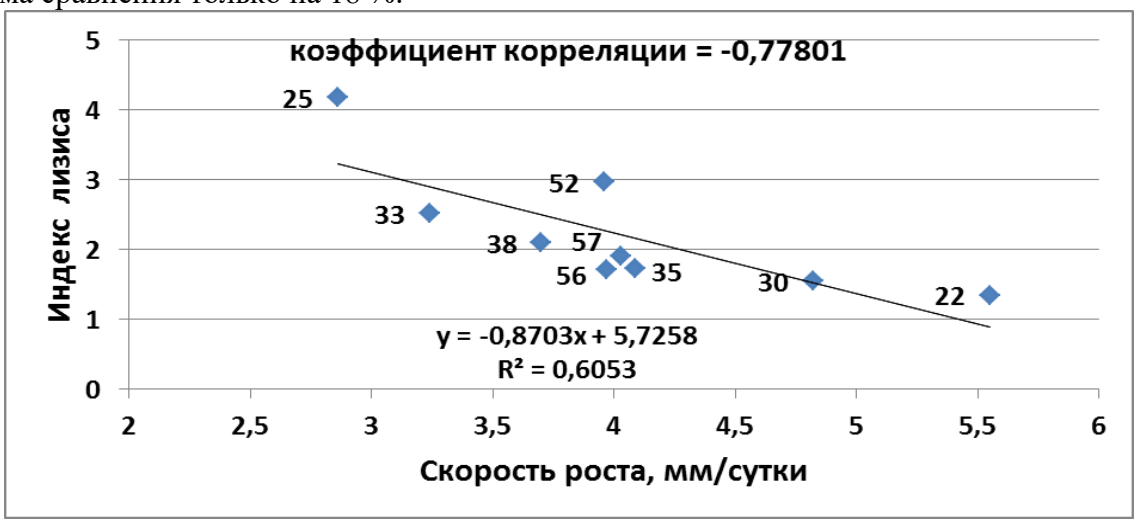


Рисунок 6 - Линия и уравнение линейной регрессии, показывающая соотношение между средней скоростью роста и индексом лизиса микромицетов (R^2 – коэффициент детерминации). Цифрами указаны № штаммов

При проведении скрининговых исследований культур основной целью является отбор перспективных штаммов-продуцентов для дальнейшего углубленного изучения коллагенолитического потенциала микроорганизмов. При этом важными показателями для отбора являются скорость роста, которая определяет количество биомассы, и индекс лизиса – показатель гидролитической активности. Проведенный регрессионный и корреляционный анализ обнаружил отрицательную корреляцию между скоростью роста и индексом лизиса при культивировании грибов на средах с коллагеном (рис. 6). Коэффициент корреляции r = -0,77801, значимость коэффициента корреляции tp = 4,968 ≥ tкр = 2,921 при уровне значимости 0,05, то есть полученный коэффициент корреляции статистически значим [18, 265]. В связи с этим для проведения дальнейших исследований были выбраны грибы *Cl. herbarum* F 33, 57 и *B. terrestris* F 38 с параметрами наиболее близкими к штамму сравнения *A. flavus* F 52. Кроме того, представляло интерес исследование двух культур с максимальными индексами лизиса (*A. sydovii* F 25) и скоростями роста (*A. fumigatus* F 22).

ВЫВОДЫ

1. Показано, что все изученные микромицеты росли на среде Чапека с заменой сахарозы на коллаген, образовывая заметные зоны лизиса.
2. Отмечены существенные видовые различия скоростей роста и индексов лизиса микромицетов при культивировании на среде с коллагеном.
3. На основании детального изучения параметров роста грибов, относящихся к разным родам, а также проведенного регрессионного и корреляционного анализа, отобраны культуры для дальнейшего изучения при глубинном культивировании.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Секреция коллагенолитических ферментов некоторыми видами дейтеромицетов / Е. А. Сухосырова, М. Б. Яковлева, З. К. Никитина, В. А. Быков // Технология живых систем. - 2007. - Т.4, № 4. - С.29-33.

2. Гордонова, И. К. Поиск микромицетов, перспективных для использования в ферментативных процессах переработки кератинсодержащих отходов / И. К. Гордонова, З. К. Никитина // Современная микология в России. Грибные биотехнологии. – 2020. – Т.8. – С.402-404.

3. Никитина, З. К. Некоторые свойства кератинолитического фермента, секретируемого *Cladosporium sphaerospermum* / З. К. Никитина, И. К. Гордонова // Вопросы биол., мед. и фарм. химии -. 2011. - № 5. - С.36-40.

4. Никитина, З.К. Выделение, очистка и биохимические свойства кератинолитического фермента, секретируемого *Penicillium citrinum* / З.К. Никитина, И.К. Гордонова // Вопросы биол., мед. и фарм. химии. – 2013. - № 9. - С.36-41.

5. Diversity, structures, and collagen-degrading mechanisms of bacterial collagenolytic proteases / Y-Z.Zhang, L-Y.Ran, C-Y.Li, X-L.Chen // Appl Environ Microbiol. 2015. – V.81. №18. – P.6098 – 6107. doi:10.1128/AEM.00883-15.

6. Письменская В. А. Применение коллагеназы в хирургическом лечении регматогенной отслойки сетчатки, осложненной пролиферативной витреоретинопатией: автореф. дис. … канд. мед. наук: 14.01.07 / Письменская Виктория Адилевна; МОНТК «Микрохирургия глаза». - М., 2016. - 21с.

7. Gabrielson, A.T. Collagenase Clostridium Histolyticum in the Treatment of Urologic Disease: Current and Future Impact / A.T. Gabrielson, J.T. Spitz, W.J.G. Hellstrom // Sex Med Rev. - 2018. – V.6. - P.143-156.

8. Коллагеназы в медицинской практике: современные средства на основе коллагеназы и перспективы их совершенствования / А. В. Майорова, Б. Б. Сысуев, Ю. О. Иванкова, И. А. Ханалиева // Фармация и фармакология. – 2019. – Т.7, №5. – С.260-270. doi: 10.19163/2307-9266-2019-7-5-260-270

9. Иванкова, Ю. О. Разработка мази репаративного действия с коллагеназой камчатского краба / Ю. О. Иванкова, Э. Ф. Степанова // Успехи современного естествознания. – 2014. – № 8 – С.161-162.
10. Therapeutic applications of collagenase (metalloproteases): A review / H.Alipour, A.Raz, S.Zakeri, N. D.Djadid // Asian Pac J Trop Biome. - 2016. – V.6, №.11. – P.975–981. doi.org/10.1016/j.apjtb.2016.07.017
11. Thermosensitive Chitosan–Gelatin–Glycerol Phosphate Hydrogels as Collagenase Carrier for Tendon–Bone Healing in a Rabbit Model / Y-M. Huang, Y-C. Lin, C-Y. Chen et all. // Polymers. – 2020. – V.12. – P.436-451. doi:10.3390/polym12020436
12. Парамонов, Б. А. Коллагенолитические ферменты Часть 2. Применение для очищения ран / Б.А. Парамонов // Косметика и медицина. – 2016. – №2. – С.38–48.
13. Патент 2484811 Российская Федерация, МПК A61K 38/43 Ферментный ранозаживляющий препарат / Н. С. Демина, Д. А. Рототаев; ООО «МКНТ» (РФ) – №2011133921, заявл. 15.08.2011, опубл. 20.06.13. Бюл. № 17 - 11 с.
14. Иванкова, Ю.О. Морфологическая оценка эффективности мазей, содержащих фермент коллагеназу, на термический ожог в эксперименте / Ю.О.Иванкова, И.Л.Абисалова, А.В.Локарев // Фундаментальные исследования. – 2012. – №8, часть 2. – С.466-469.
15. Современные методы профилактики и терапии осложнений при реконструктивной хирургии у пациентов со стенозом гортани и трахеи / А.И.Крюков, А.В.Гуров, Е.А.Кирасирова, Е.В.Кулабухов // Вестник оториноларингологии. – 2019. – Т.84, №.6. – С.48-53. doi.org/10.17116/otorino20198406148/
16. Nikitina, Z. K. The method of producing collagenases *Aspergillus flavus* in submerget cultivation in fermenters / Z. K. Nikitina, M. B. Yakovleva // Global Sciencece and Innovation: materials of the IV International Scientific Conference, Chicago, March 12-13th, 2015 / publishing office Accent Graphics communications – Chicago, 2015. - P.26-31.
17. Яковлева, М. Б. Скрининг-методы в биотехнологии (Обзор). Часть I. Поиск микроорганизмов – продуцентов ферментов / М. Б. Яковлева, З. К. Никитина // Вопросы биол., мед. и фарм. химии. – 2013. - № 9. - С.36-41.
18. Ивченко, Г.И. Математическая статистика: Учебник. / Г.И. Ивченко, Ю.И. Медведев - М.: «Либреком». - 2014 - 352 с.

THE COLLAGENOLYTIC ACTIVITY COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF FUNGI BELONGING TO DIFFERENT GENERA

Professor, Dr. Sc. in Biology Nikitina Z. K., Ph. D. in Biology, Gordonova I. K.,
Graduate student Nasibov E. M.
Federal state budgetary scientific institution "All-Russian research Institute of medicinal and aromatic plants", Moscow, Grin str., h.7, b. 1, 117216
a) corresponding author – nikitinaz@yandex.ru

Abstract. The study of various enzymes synthesized by microorganisms and the possibility of their practical application is one of the most relevant areas of biotechnology. The aim of this work was the comparative study the collagenase activity by mycelial fungi belonging to different genera. It was shown that all studied micromycetes grew on the Chapek medium with the replacement of sucrose with collagen, forming noticeable lysis zones. Significant species and strain differences in the growth rates and lysis indices of micromycetes were observed when strains cultured on a medium with collagen. The collagenolytic properties stability of fungi during long-term storage was confirmed. It is established that all cultures are capable to hydrolyze collagen at surface cultivation and can be considered as potential producers of collagenases. In the result of the detailed study of fungal belonging to different genera, as well as regression and correlation analysis, 5 micromycetes promising for study as collagenase producers were selected.
Keywords: *mycelial fungi, collagen, collagenolytic activity, surface cultivation*

УДК: 634.7 DOI: 10.52101/9785870191003_2021_301

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ВИТАМИННО-МИНЕРАЛЬНОГО КОМПЛЕКСА И БИОПРЕПАРАТОВ ПРИ КУЛЬТИВИРОВАНИИ КНЯЖЕНИКИ АРКТИЧЕСКОЙ (*RUBUS ARCTICUS* L.)

к. с.-х. н. Макаров С. С.[a)], Чудецкий А. И.

Филиал федерального бюджетного учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт лесоводства и механизации лесного хозяйства» «Центрально-европейская лесная опытная станция», Россия, г. Кострома, проспект Мира, д. 134, 156013

а) автор переписки – makarov_serg44@mail.ru

Аннотация. В статье представлены результаты исследований по клональному микроразмножению растений княженики арктической сортов Anna, Sofia и перспективной гибридной формы К1 на этапе «собственно микроразмножение» и на этапе адаптации растений к нестерильным условиям *in vivo*. При повышении в питательной среде MS концентрации цитокинина 6-БАП от 0,5 до 1,0 мг/л и добавлением витаминно-минерального комплекса отмечено значительное увеличение количества и суммарной длины микропобегов. Приведены данные по влиянию добавления биопрепаратов микоризного типа в субстрат из верхового торфа на этапе адаптации *in vivo*. Максимальная приживаемость и средняя длина побегов княженики отмечены на субстрате с добавлением препарата Микориза. Растения княженики гибридной формы К1 имели максимальный коэффициент размножения на этапе «собственно микроразмножение» и лучшие биометрические показатели на этапе адаптации к торфяным субстратам по сравнению с другими сортами.

Ключевые слова: *княженика арктическая, Rubus arcticus L., in vitro, in vivo, клональное микроразмножение, адаптация, биометрические показатели, торф.*

ВВЕДЕНИЕ

В последние годы все больше возрастает интерес к выращиванию хозяйственно ценных лесных ягодных растений. Кроме того, создание посадок ягодных растений на неиспользуемых вышедших из промышленного оборота землях, включая выработанные торфяники, является одним из видов биологической рекультивации таких земель, способствующей их рациональному использованию. При этом резко снижается пожароопасность торфяников, прекращается их водная и воздушная эрозия, существенно уменьшается эмиссия парниковых газов, увеличивается биологическое разнообразие. При этом природные ресурсы некоторых видов лесных ягодных культур (голубика, княженика, морошка, красника) ограничены и часто подвержены антропогенному стрессу, в то время как рыночная стоимость ягод княженики высока, и спрос на них очень велик [1, 2].

Княженика арктическая (*Rubus arcticus* L.), она же арктическая малина, поленика, мамура – многолетнее травянистое, вегетативно подвижное растение из семейства Розоцветные. Является бореально-гипоарктическим и зимостойким видом. Встречается обычно рассеянными экземплярами или небольшими группами, произрастает по заболоченным лесным опушкам, на сыроватых просеках, вырубках, гарях, на пойменных лугах, в сосняках сфагновых, в осоково- разнотравных и осоково-сфагновых лесах, на болотах по кочкам, в лесотундровых редколесьях и в тундре [3-5].

Плод княженики арктической – сборная костянка со средней массой 1…2 г. Ягоды малиново-красноватые, созревают в 1-й декаде июля. Среди дикорастущих ягодных растений княженика арктическая с давних времен пользуется особым вниманием, что объясняется, прежде всего, сильным приятным ароматом и изумительным вкусом, частично напоминающим ананас и землянику. О ценности этого вида говорит и тот факт, что среди экспортируемых дикорастущих ягод деликатесные ягоды княженики являются самыми дорогостоящими. Постепенное движение рынка к наиболее необычным, полезным и в тоже

время вкусным продуктам питания делает княженику наиболее привлекательной ягодой среди других. В то же время ее редко встретишь на прилавках магазинов, что объясняется ее дороговизной. Постепенно она приходит в сады садоводов-любителей из леса, но существует сортовая княженика, у которой ягоды крупнее и ароматнее [1, 4].

В плодах княженики, имеющих высокую пищевую и лекарственную ценность, содержится целый набор важных в биологическом отношении веществ: сахара (в основном фруктоза и глюкоза) – до 7 %), органические кислоты, ароматические вещества, дубильные и пектиновые вещества (0,4–0,6 %), до 200 мг/100 г витамина С. Плоды княженики содержат полифенолы. Особенно богата княженика эллагитанином, который препятствует росту вредных кишечных бактерий. Цвет плодов княженики обусловлен антоцианами, которые обладают антиоксидантным действием. Плоды княженики употребляют в пищу как в свежем виде, так и замораживают, сушат, готовят из них варенье, морс, компоты, джем, наливки и ликеры. Также очень вкусен чай, приготовленный из листьев и плодов княженики. В медицине настой плодов используют как противоцинготное, жаропонижающее средство, а также при почечнокаменной болезни, подагре, гастритах, колитах, анемии, острых респираторных заболеваниях, бронхиальной астме; наружно – при гингивитах и стоматитах. Свежие листья можно применять в качестве ранозаживляющего средства. Настойку из листьев используют при ревматизме. Кроме того, растения княженики используются в косметологии, а также в декоративных посадках [6, 7].

На сегодняшний день княженика арктическая остается малоизученной в условиях *in vitro* ягодной культурой. Метод клонального микроразмножения позволяет за короткий период получать большое количество посадочного материала в год из одной введенной в культуру меристемы, что в разы больше, чем при использовании традиционных методов вегетативного размножения [9, 10]. В связи с этим требуется разработка различных приемов на разных стадиях клонального микроразмножения, обеспечивающих уменьшение длительности периода субкультивирования (с увеличением коэффициента размножения эксплантов) и этапа корнеобразования и повышение приживаемость растений на этапе адаптации. Помимо всего прочего, крайне мало изучено применение современных биопрепаратов, содержащих споры микоризы, способствующей улучшению корнеобразования.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы:

1 – Питательная среда **MS (Murashige & Skoog)**, содержащая микро- и макроэлементы, витамины, сахароза, агар-агар, витаминно-минеральный комплекс;

2 – Регулятор роста – цитокинин **6-БАП (6-бензиламинопурил)** (годен до 30.12.2021, КНР) был предоставлен “In Vitro Kiev”;

3 – Регулятор роста **Экогель ВР** («Для культур открытого грунта») (годен до 20.06.2021, Биохимические Технологии, Россия) был предоставлен ООО «Биохимические Технологии»;

4 – Стимулятор роста для корней **Микориза** (годен до 20.11.2021, Bioelements Ltd., Великобритания) был предоставлен ООО «Зеленое сечение»;

5 – Микоризный инокулянт **Микогель** (годен до 13.12.2021, Kimitec, Испания), был предоставлен интернет-мазагином «GreenAgroLab»;

6 – Компонент для приготовления торфяных и почвенных субстратов **Торф садовый верховой кислый** (Россия) был предоставлен ОАО «Буйский химический завод».

Методы. Исследования по выращиванию княженики арктической *in vitro* проводили в 2017–2020 гг. в Лаборатории клонального микроразмножения растений на базе Центрально-европейской лесной опытной станции ФБУ «ВНИИЛМ» по общепринятым методикам [9, 11], адаптированным к местным условиям произрастания. В качестве объектов исследования использовали растения княженики арктической сортов Anna, Sofia и гибридной формы К1.

Растения-регенеранты княженики культивировали на питательной среде MS в световой комнате при температуре воздуха +23...+25 °С, влажности 75…80 % и фотопериоде 16/8 часов. На этапе «собственно микроразмножение» изучали влияние цитокинина 6-БАП в концентрациях 0,5 и 1,0 мг/л на коэффициент размножения растений княженики арктической. Учитывали количество образуемых микропобегов и их длина. Повторность опыта 3-кратная, по 10 пробирочных растений в каждой. На этапе укоренения *in vitro* в качестве регулятора роста применяли препарат Экогель в концентрации 0,5 мг/л. На этапе адаптации растений княженики к нестерильным условиям *in vivo* использовали верховой торф, предварительно пропаренный при температуре +90 °С. После чего вносили экологические биопрепараты с содержанием микоризы (Микориза, Микогель), разведенные в воде в соотношении 1:10. Затем субстрат поливали полученными растворами и оставляли на 10 дней, после чего высаживали в него растения-регенеранты в различные сроки. Повторность опыта 3-кратная. Статистическую обработку полученных экспериментальных данных проводили при помощи программ AGROS v2.11 и Microsoft Office 2016.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате исследований установлено, что на этапе «собственно микроразмножение» добавление в питательную среду MS цитокинина 6-БАП оказывало существенное влияние на побегообразование растений княженики. Количество микропобегов на одно пробирочное растение княженики на безгормональной среде (контроль) составило в среднем 1,5 шт., а добавление в питательную среду цитокинина 6-БАП в концентрации 0,5 и 1,0 мг/л способствовало значительному увеличению количества микропобегов до 3,2 и 4,8 шт., соответственно. При добавлении в питательную среду витаминно-минерального комплекса мы наблюдали значительное увеличение количества побегов, которое составило в среднем 3,6 шт, а без витаминно-минерального комплекса – 2,5 шт. (табл. 1).

Таблица 1 – Влияние концентрации 6-БАП и добавления витаминно-минерального комплекса на количество побегов в среднем на одно растение княженики арктической

Концентрация 6-БАП, мг/л	Среднее количество побегов на 1 растение, шт.		
	MS	MS + витаминно-минеральный комплекс	Среднее
-	1,1±0,27	1,9±0,24	1,5
0,5	2,7±0,31	3,8±0,36	3,2
1,0	3,8±0,41	5,8±0,52	4,8
Среднее	2,5±0,32	3,6±0,39	-

По взаимодействию факторов наибольшее количество побегов наблюдалось в варианте с концентрацией цитокинина 6-БАП в концертрации 1,0 мг/л с витаминно-минерального комплекса, оно достигало 4,8 шт. (рис. 1).

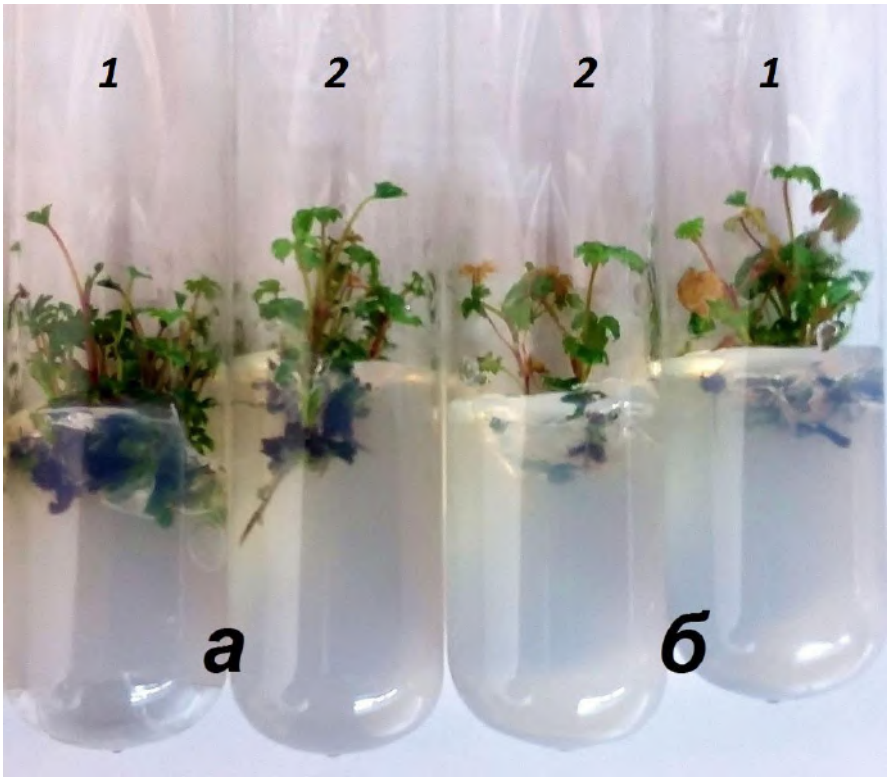


Рисунок 1 – Растения княженики арктической *in vitro* на этапе «собственно микроразмножение» на питательной среде MS с применением 6-БАП в концентрациях 1,0 мг/л (*1*) и 0,5 мг/л (*2*): *а* – с добавлением витаминно-минерального комплекса; *б* – без витаминно-минерального комплекса

Суммарная длина побегов у княженики арктической существенно различалась в зависимости от добавления цитокинина 6-БАП и витаминно-минерального комплекса (табл. 2). Так, в контроле она составила в среднем 3,15 см, а в вариантах с 6-БАП 0,5 и 1,0 мг/л – 6,45 и 4,0 см, соответственно. При этом между вариантами с разной концентрацией 6-БАП различия существенны.

Таблица 2 – Влияние концентрации 6-БАП и добавления витаминно-минерального комплекса на суммарную длину побегов княженики арктической

Концентрация 6-БАП, мг/л	Суммарная длина побегов, см		
	MS	MS + витаминно-минеральный комплекс	Среднее
-	2,6±0,35	3,7±0,32	3,15
0,5	4,1±0,47	8,8±0,65	6,45
1,0	2,4±0,29	5,6±0,48	4,0
Среднее	3,0±0,38	9,1±0,78	-

Добавление витаминно-минерального комплекса способствовало значительному увеличению суммарной длины побегов, которая составила в среднем 9,1 см, а без витаминно-минерального комплекса – лишь 3,0 см. Анализируя взаимодействие факторов, следует выделить вариант с концентрацией 6-БАП 0,5 мг/л с добавлением витаминно-минерального комплекса, где суммарная длина микропобегов была максимальна и достигала 8,8 см, в то время как в других вариантах с 6-БАП она была несколько меньше, а в вариантах без 6-БАП – минимальной (3,7 и 2,6 см, соответственно).

Анализ влияния количества пассажей растений-регенерантов княженики на коэффициент размножения показал, что до 5-го пассажа наблюдалось стремительное

увеличение коэффициента размножения до 11 у обоих исследуемых сортов и гибридной формы К1. У сорта Sofia максимальный коэффициент размножения сохранялся с 4-го по 7-й пассаж, затем снижался до 4 на 11-м пассаже. У сорта Anna, начиная с 5-го пассажа он плавно уменьшался до 8 на 7-м пассаже, затем снова увеличился до 12 на 9-м пассаже. Коэффициент размножения растений гибридной формы К1 был максимальным (9) с 5-го по 11-й пассажи. Далее коэффициент размножения у обоих сортов и гибридной формы уменьшался.

При адаптации княженики к нестерильным условиям *in vivo* максимальная приживаемость растений как у сортов Anna, Sofia, так и гибридной формы К1 отмечена при использовании субстрата из торфа с добавлением Микоризы и достигала 94–100 %. На субстрате торф + песок 1:1 с добавлением препарата Микогель приживаемость растений составила 76–82 %, а на верховом торфе – 52–62 % (табл. 3).

Таблица 3 – Влияние состава субстрата на приживаемость и биометрические показатели адаптируемых растений княженики арктической

Сорт	Состав субстрата	Приживаемость, %	Средняя длина побегов, см	Количество листьев, шт.
Anna	Торф верховой	52	2,8±0,32	4,9±0,49
	Торф + Микориза	98	3,5±0,39	3,8±0,41
	Торф + песок 1:1 + Микогель	78	3,3±0,43	4,3±0,52
Sofia	Торф верховой	54	2,1±0,25	3,9±0,43
	Торф + Микориза	94	4,3±0,48	4,2±0,58
	Торф + песок 1:1 + Микогель	76	2,9±0,37	3,4±0,44
Гибридная форма К1	Торф верховой	62	3,1±0,40	4,8±0,55
	Торф + Микориза	100	3,9±0,44	3,7±0,42
	Торф + песок 1:1 + Микогель	82	4,7±0,53	4,2±0,51

Аналогичная закономерность наблюдалась по показателям средней длины побегов, а по количеству листьев более высокие показатели растения княженики имели на верховом торфе и субстрате из торфа с добавлением песка и препарата Микогель.

ВЫВОДЫ

Таким образом, добавление в питательную среду MS цитокинина 6-БАП способствовало значительному увеличению количества побегов и увеличению суммарного прироста, что объясняется снятием апикального доминирования и последующим развитием большого количества боковых побегов небольшой длины. Добавление витаминно-минерального комплекса способствовало еще более значительному увеличению биометрических показателей на этапе «собственно микроразмножение». На этапе адаптации к нестерильным условиям *in vivo* максимальные показатели приживаемости и средней длины побегов растений княженики арктической отмечены на субстрате из верхового торфа с добавлением биопрепарата Микориза, а наибольшее количество листьев наблюдалось при использовании верхового торфа и субстрата из торф с песком и добавлением препарата Микогель. При этом растения гибридной формы К1 имели лучшие биометрические показатели по сравнению с сортами Anna и Sofia.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Тяк, Г. В. Биологическая рекультивация выработанных торфяников путем создания посадок лесных ягодных растений / Г. В. Тяк, Л. Е. Курлович, А. В. Тяк // Вестник Казанского гос. аграрного ун-та. – 2016. – Т. 11. – № 2. – С. 43–46.
2. Тяк, Г. В. Перспективы культивирования и селекции лесных ягодных растений в Костромской области / Г. В. Тяк, Л. Е. Курлович, Г. Ю Макеева, А. В. Тяк // Природа

Костромского края: современное состояние и экомониторинг (Кострома, 24–25 марта 2017 г.). – Кострома, 2017. – С. 146–151.
3. Фрейдлинг, М. В. Поленика / М. В. Фрейдлинг // Известия Карело-финского филиала АН СССР. – 1949. – № 3. – С. 49–57.
4. Тяк, Г. В. Выращиваем княженику / Г. В. Тяк // Питомник и частный сад. – 2016. – № 1. – С. 18–22.
5. Ragnar, M. Åkerbär. Black Island Books / M. Ragnar, P. Rytkonen, J. Hedh. – 2017. – 169 p.
6. Баранова, И. И. Биологически активные вещества некоторых дикорастущих ягод Южной Карелии / И. И. Баранова, Л. М. Смирнова, Г. Ф. Ершова // Эколого-биологические особенности и продуктивность растений болот. – Петрозаводск, 1982. – С. 134–140.
7. Княженика – царская ягода / А. Семчина // Ботаничка.ru. URL: http://www.botanichka.ru/blog/2011/08/16/arctic-raspberry (дата обращения: 15.12.2020)
8. Калашникова, Е. А. Клеточная инженерия растений: учеб. пособие / Е. А. Калашникова. – М.: Изд-во РГАУ-МСХА, 2012. – 318 с.
9. Назаренко, Л. В. Биотехнология растений: учеб. и практикум для вузов / Л. В. Назаренко, Ю. И. Долгих, Н. В. Загоскина, Г.Н. Ралдугина. – М.: Юрайт, 2020. – 161 с.
10. Выращивание лесных ягодных растений в условиях in vitro: лабораторный практикум / Сост. С. С. Макаров, Е. А. Калашникова, И. Б. Кузнецова, Р. Н. Киракосян. –Караваево: Костромская ГСХА, 2019. – 48 с.

THE USE OF VITAMIN-MINERAL COMPLEX AND BIOLOGICAL PREPARATIONS IN THE CULTIVATION OF THE ARCTIC BRAMBLE (*RUBUS ARCTICUS* L.)

Ph.D. in Agriculture Makarov S.[a)], Chudetsky A.
Branch of the Federal Budgetary Institution “All-Russian Scientific Research Institute of Silviculture and Mechanization of Forestry” “Central European Forest Experimental Station”, 134, Prospekt Mira str., Kostroma, 156013, Russia
a) corresponding author – makarov_serg44@mail.ru

Abstract. The results of research on clonal micropropagation of arctic bramble plants of cultivars Anna, Sofia and promising hybrid form K1 at the stages of “proper micropropagation” and of adaptation to non-sterile conditions *in vivo*. A significant increase in the number and total length of microshoots is noted with an increase in the concentration of cytokinin 6-BAP in the nutrient medium MS from 0.5 to 1.0 mg/l and the addition of a vitamin-mineral complex. The data on the effect of adding mycorrhizal type biopreparations to the high-moor peat substrate at the stage of *in vivo* adaptation. The maximum survival rate and the average length of the prickly shoots are on the substrate with the addition of the Mycorrhiza. Plants of the arctic bramble of the hybrid form K1 have a maximum multiplication factor at the stage of :proper micropropagation: and the best biometric indicators at the stage of adaptation to peat substrates in comparison with other cultivars.
Keywords: *arctic bramble, Rubus arcticus L., in vitro, in vivo, clonal micropropagation, adaptation, biometric parameters, peat.*

УДК: 577.58.071 DOI: 10.52101/9785870191003_2021_307

ПОЛУЧЕНИЕ БОРОДАТЫХ КОРНЕЙ У *ARTEMISIA ANNUA* L

профессор, д.б.н. Тимина О. О.[1,a)]., доцент, к.с-х.н. Тимин О. Ю.[2], к.б.н. Степанова А. Ю.[3], доцент, к.х.н. Щука Т. В.[1]

1 - Приднестровский государственный университет им. Т. Г. Шевченко, Молдова, Приднестровье, Тирасполь, ул. 25 Октября 128, корпус В, 3300
2 - Республиканский научно исследовательский институт экологии и растительных ресурсов, Молдова, Приднестровье, г. Бендеры, Каховский тупик 2, 3200
3 - Федеральное государственное бюджетное учреждение институт физиологии растений им. К. А. Тимирязева, Россия, РАН, Москва, Ботаническая ул., 35, 127276
а) автор для переписки – otimina@mail.ru

Аннотация. Цель исследований – получение **новых** линий бородатых корней *A. annua* с улучшенным выходом целевого продукта. Получение бородатых корней с использованием диких штаммов бактериальных векторов, без дополнительных встроек с генами устойчивости к антибиотикам, гербицидам и т.п. – это вероятностный, но естественный процесс встраивания ***rol*** –генов векторов в растения реципиентов, имеющий место в природе. Получение продуцентов с высоким выходом целевого продукта остается актуальной и востребованной задачей. В Молдове, Приднестровье и России культура бородатых корней *A. annua* не зарегистрирована. В работе представлен протокол получения бородатых корней полыни обыкновенной, произрастающей в Приднестровье. Нами подобраны лучшие экспланты маточных растений полыни на ранней фазе развития (5-6 настоящих листьев), формирующие каллус и бородатые корни, а также подобран дикий штамм *Agrobacterium rhizogenes* с высокой трансформирующей активностью. Получены новые линии бородатых корней, продуцентов лекарственных веществ, которые будут детально изучены по скорости роста и химическому составу. Они пройдут дальнейшую молекулярно-биологическую идентификацию и будут использоваться в исследованиях биофарминга *A. annua*.

Ключевые слова: *Artemisia annua, бородатые корни, бактериальная трансформация, дикие штаммы, биофарминг*

ВВЕДЕНИЕ

Инфекционные заболевания различной этиологии по-прежнему остаются актуальными для человеческой популяции. По данным ВОЗ отмеченная в 2020 году новая вирусная пандемия с постоянно мутирующим возбудителем SARS-CoV-2, семейства короновирусов, вызывающим различные осложнения и высокую смертность в группах риска, свидетельствует о необходимости активного и целенаправленного поиска лекарственных растений, как высокопотенциальных и высокоактивных источников против разнообразных инфекционных агентов. Семейство *Compositae* (сложноцветных или астровых) очень перспективно для изучения его представителей на наличие биоактивных веществ (БАВ), включает свыше 1700 различных родов, объединяя более 27000 видов, произрастающих во всех климатических зонах планеты [1]. Представитель этого семейства - род *Artemisia* особенно востребован фармакологической промышленностью. Установлено, например, что *Artemisia* – источники терпеноидов, флавоноидов и терпенового лактона артемизинина, который обладает противомалярийной, противопаразитарной, противораковой, а также и противовирусной активностью, в том числе и в отношении вирусов SARS-CoV и SARS-CoV-2 [2, 3, 4, 5]. Артемизинин получают в большинстве из *Artemisia annua* L.(полынь однолетняя). Из этого растения выделено 137 биологически активных соединений, в том числе 40 сесквитерпенов, 10 тритерпенов, 7 кумаринов, 46 флавоноидов, которые уже являются основой либо перспективны как новые лекарственные препараты [6, 7]. Однако,

на сегодняшний день страны, производящие артемизинин, обеспечивают около четверти потребности мирового здравоохранения [8, 9, 10]. Как оказалось, содержание целевого продукта в растениях в условиях естественного произрастания невысокое (0,023-0,8%) и сильно варьирует в зависимости от места и фазы вегетации, эдафических и климатических условий выращивания [6, 7, 11]. Типичные растения полыни, размножаемые семенами, производят артемизинина менее 1% на сухой вес с урожайностью ниже 25 кг/га [12].

Химический синтез артемизинина все еще затруднен и не рентабельный [10, 13]. Стоимость лекарственного сырья и сам целевой продукт остаются достаточно дорогими. Поэтому перспективен как поиск новых источников БАВ в генофонде рода *Artemisia*, так и использование биофарминга как альтернативного метода, интенсифицирующего получение целевого продукта из возобновляемого сырья. Разрабатываются и уже применяются на практике различные подходы биофарминга, одним из которых является использование бородатых корней (hairy roots). Известно, например, о том, что получение и выращивание корневой культуры ряда представителей р. *Artemisia* in vitro в стационарных условиях позволяет увеличить выход целевого продукта в 2-12 раз [10, 14, 15]. Но в тоже время, высокий выход целевого продукта зависит не только от генотипа растения и используемого экспланта, но также и от штамма вектора, и успешной передачи, и экспрессии ***rol***-генов ризобий в растении, что в совокупности является вероятностным процессом. Поэтому получение новых быстро растущих линий бородатых корней лекарственных растений, дающих высокий выход целевого продукта, не теряет своей новизны и актуальности. Целью наших исследований явилось получение бородатых корней *A.annua,* произрастающей в Приднестровье.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы

Материалом для исследования послужили растения полыни однолетней, выращенной в тепличных условиях. Семена, прошедшие естественную яровизацию в условиях открытого грунта в Слободзейском районе Приднестровья, были собраны с верифицированных растений этого вида, и в конце февраля были высеяны в горшки, размещенные в обогреваемой остекленной теплице. Режим выращивания: t=24-25°C в дневные часы и 18-20°C в ночные. После появления всходов в теплице использовалось доосвещение с фотопериодом 16/8. На рисунке 1 представлены используемые растения.

Рисунок 1 - Маточные растения *A. annua* для получения эксплантов.

В исследованиях использовались не стерильные маточные растения, выращенные для изъятия эксплантов в фазе 5-6 настоящих листьев. Эксплантами служили апексы, узлы, настоящие листья, черешки и гипокотили. Размер эксплантов 1-1,5 см.

Используемая бактериальная культура *Agrobacterium rhizogenes*, дикие агропиновые штаммы (А-4 и 15834) без специальных генетических встроек и генов устойчивости к антибиотикам и гербицидам, поддерживалась на среде УЭБ, хранилась в холодильнике и пересевалась ежемесячно.

Методы

Трансформацию осуществляли общепринятыми методами. Исследования состояли из нескольких этапов: стерилизации маточных растений и введения в культуру *in vitro* стерильных эксплантов, кокультивирования полученных эксплантов с бактериальной культурой *A. rhizogenes* для переноса ***rol*** - генов в геном растения, удаления бактериального вектора, выделения трансформированных эксплантов и получения стабильной трансформированной корневой культуры.

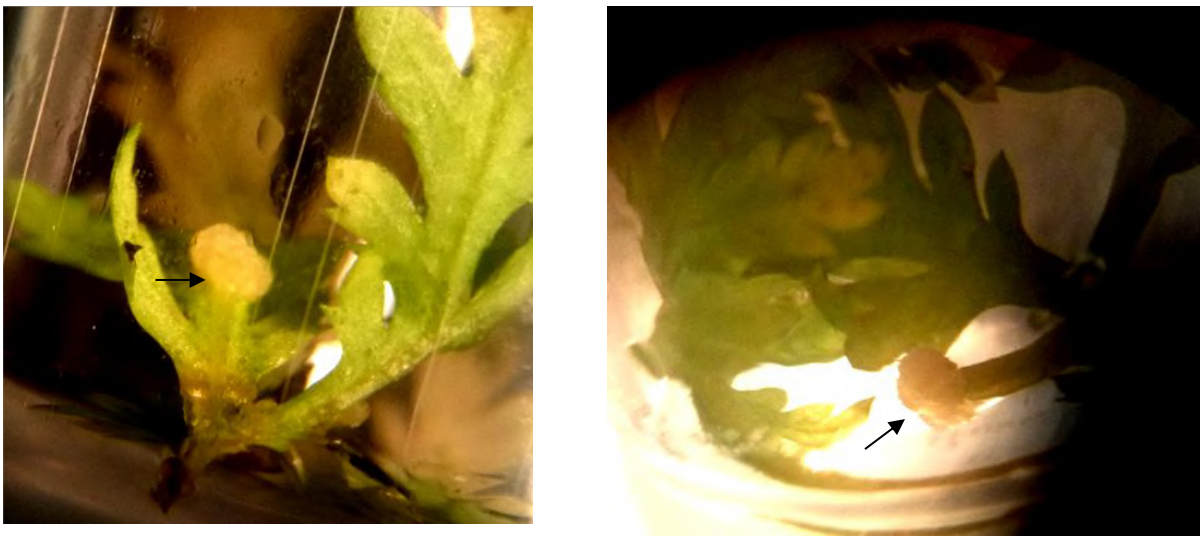
Для ввода эксплантов в условия in vitro применяли двухэтапную стерилизацию растений. Для обеззараживания первоначально тщательно промывали растения в проточной воде, помещали в колбу и в течение часа обрабатывали 0,3% раствором тетрациклина. Затем промывали стерильной водой и обрабатывали коммерческим раствором Domestos в течении 1 минуты, разбавив раствор по объему в два раза стерильной водой. Отмывали растения от стерилизующего раствора до полного прекращения появления пены.

Для приготовления бактериальной взвеси использовали суточную культуру *A. rhizogenes*, делая смывы дистиллированной водой с плотной питательной среды. Плотность бактериальной суспензии определяли спектрофотометрически на спктрофотометре марки СФ-26, производство России. Инфицирующим раствором являлась суспензия с оптической плотностью OD=0,5-0,6. Подготовленные экспланты погружали в бактериальную взвесь и инсулиновым шприцом для эффективного заражения наносили легкие уколы на поверхности эксплантов. Заражение осуществляли в течение 20-30 минут, затем извлекали экспланты, слегка промокали стерильным фильтром и помещали на агаризованную общеизвестную питательную безгормональную среду Мурасиге и Скуга (МС) без добавления антибиотика для кокультивирования в течение суток. После кокультивирования избавлялись от вектора, помещая подсушенные экспланты на безгормональную среду МС с добавлением 800 мг/л цефатоксима. Культивировали экспланты в термостате при 26°С на этой среде в течение 2-4 дней, а затем пересаживали на агаризованную среду МС с пониженной концентрацией антибиотика до получения морфогенетического ответа испытуемых эксплантов. В дальнейшем при последующих пассажах культивирование трансформированных эксплантов проводили на средах без антибиотика.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные нами результаты подтверждают литературные данные [14, 16] об успешном взаимодействии используемых штаммов ризобий А-4 и 158344 и эксплантов артемизии. Взаимодействие ризобий и эксплантов обнаруживалось, прежде всего, в массовом образовании галлов на листьях, представленных на рисунке 2.

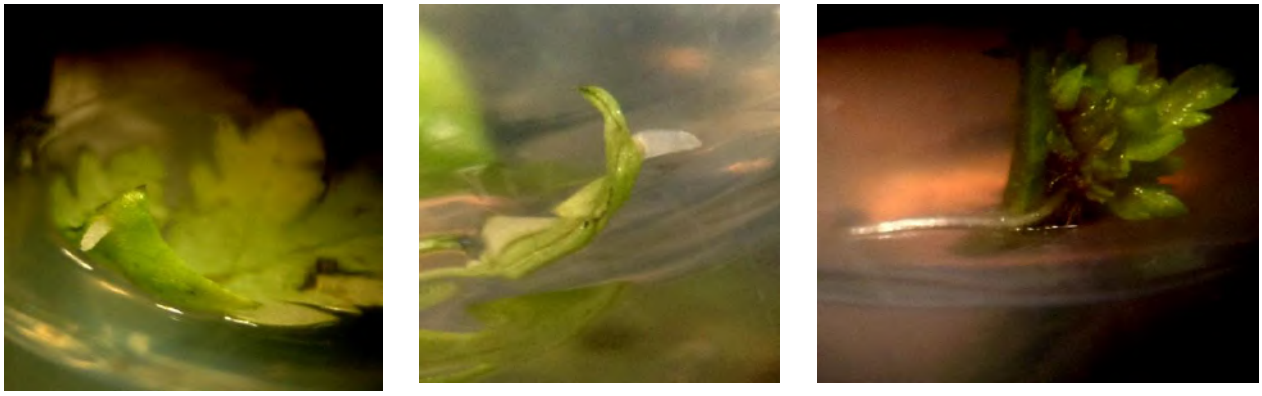
Галлы формировались, как правило, на центральной жилке листа уже на 3 сутки после кокультивирования и даже на среде с высоким содержанием цефатоксима. Фитотоксическое действие антибиотика проявлялось на эксплантах на четвертые сутки. У эксплантов отмечался сильный хлороз, и подавлялось формирование галлов. Поэтому третьи сутки являются в нашем случае оптимальным временем переноса трансформированных эксплантов на новую среду с пониженной концентрацией, либо не содержащую антибиотик.



а б

Рисунок 2 - Формирование галлов штаммом 15834 (а) и А-4 (б) на листьях полыни однолетней. Бар – 5,88 мм

На некоторых трансформированных эксплантах формировались также корни, представленные на рисунке 3.



а б в

Рисунок 3 - Прямое образование корней на различных эксплантах полыни однолетней: на листьях маточного растения (а, б) и отрастающих молодых листочках из узлов (в). Бар -5,88 мм.

Формирование корней происходило без образования каллуса на первично отделенных листовых пластинках маточного растения, а также на листочках, отрастающих из узлов.

Сравнительная эффективность трансформации различных эксплантов полыни представлена в таблице.

Отрастающие корни по характеру роста (плагиотропности) и способности расти на безгормональных средах, классифицируются как трансформированные. Суммарная трансформирующая активность эксплантов полыни у штамма А-4 выше, чем у 15834. Наиболее отзывчивыми эксплантами, изъятыми у материнских растений полыни в фазе 5-6 настоящих листьев, оказались апексы, узлы и особенно листья. У отделенных черешков отмечена низкая способность к трансформации, и она зависела от штамма вектора. Гипокотили растений данной возрастной категории не проявили способности к трансформации.

Таблица - Эффективность трансформации эксплантов полыни однолетней в зависимости от штамма *A. rhizogenes,* 2021 г.

Штамм	Эксплант	Кол-во исследован. эксплантов, штук	Трансформация с образованием, %			
			Каллуса	Корней	Побегов	∑ показателей
А-4	Апекс	6	66,7	0	0	66,7
	Узел	16	43,8	0	0	43,8
	Лист	8	75	75	0	150
	Черешок	7	14,2	0	0	14,2
	Гипокотиль	4	0	0	0	0
15834	Апекс	4	50	0	0	50
	Узел	12	41,7	8,3	0	50
	Настоящий лист	13	23,1	15,4	0	38,5
	Черешок	10	0	0	0	0
	Гипокотиль	5	0	0	0	0

Листовые экспланты оказались самыми чувствительными структурами для получения разнообразных типов морфогенеза. На них формировался не только каллус, но также и корни. Причем индукция корней отмечена как на первоначально отделенных листьях маточного растения, так и на вновь образующихся листьях, растущих из узлов. Скорость формирования корней также зависела от штамма вектора. Начало формирования отмечено уже на 3 день с использованием А-4 и на седьмой - с 13834. Образовавшиеся корни субкультивировали с кусочком экспланта для поддержания активного первоначального роста, и они начали активно расти на безгормональной среде. Начальный рост корневой культуры представлен на рисунке 4.

Рисунок 4 - Семидневные бородатые корни полыни однолетней

Получение бородатых корней с использованием диких штаммов бактериальных векторов без дополнительных встроек и генов устойчивости к антибиотикам, гербицидам и т.п. – это естественный процесс встраивания ***rol*** – генов векторов в растения реципиентов. В природе имеет место аналогичная естественно происходящая трансформация, и это вероятностный процесс. Получение продуцентов с высоким выходом целевого продукта, поэтому остается актуальной и востребованной задачей. В Молдове, Приднестровье и России, как показывает литературный анализ, такая культура не зарегистрирована. В тоже время получение и изучение бородатых корней полыни однолетней в мире проводят, начиная с конца 80 –х годов прошлого, и продолжают в новом миллениуме [14, 16]. Основные проблемы, связанные с таким длительным изучением и внедрением результатов, связаны с наладкой рентабельного получениям целевого продукта в биореакторах

различного типа. Отмечается и недостаток наличия высокоактивных корневых линий [10, 13, 15, 17], селекция которых продолжается по признаку высокого выхода продукта и скорости роста. Еще одним активно разрабатываемым направлением по улучшению выхода целевого продукта с использованием бородатых корней являются исследования по подбору эффективных предшественников его синтеза [10, 18]. Кроме того, вероятно, нет достаточных оснований утверждать о том, что все пути биосинтеза артемизинина в растении полыни досконально установлены. Известно, что артемизинин накапливается в цитозоле железистых трихом листьев и цветов, однако в культуре бородатых корней эти структуры отсутствуют, и, тем не менее, в отсутствии железистых клеток, целевой продукт активно нарабатывается. И можно согласиться с предположением [10] о том, что, и сами пути синтеза артемизинина все еще нуждаются в верификации. Таким образом, предстоит еще выполнить объемные дополнительные исследования, позволяющие получить завершающие результаты.

ВЫВОДЫ

1. Уточнен оптимальный протокол получения бородатых корней для полыни однолетней, произрастающей в Приднестровье;
2. Выделены новые линии бородатых корневых культур полыни;
3. Полученные линии пройдут дальнейшую необходимую молекулярно-биологическую идентификацию;
4. Новый материал будет оценен на предмет выхода целевого продукта и скорости роста.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Семейство Сложноцветных. http://www.theplantlist.org/browse/A/Compositae/ (Дата обращения: 7 апреля 2021)
2. Kazemi, M. Composition, antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil of *Artemisia kermanensis* Podl., an endemic species from Iran / M. Kazemi, M. Dakhili, A.Dadkhah, Z.Yasrebifar, K.Larijani // L. J. Med. Plant. Res. – 2011. – 5. - 18. – 4481-4486.
3. Martínez, M. J.A. Pharmacological Potentials of Artemisinin and Related Sesquiterpene Lactones: Recent Advances and Trends: Artemisia annua - Pharmacology and Biotechnology // M JA. Martínez, L.M., Bedoya Del Olmo, Ticona LA., Benito P.B / Ed. Tariq Aftab, Jorge F.S., Ferreira M., Masroor A. Khan, M. Naeem. – 2013. – 75-93.
4. Коновалов, Д. Л. Обзор клинических исследований противораковой активности производных артемизинина // А.А. Хамилонов, О.М. Шевчук, Л.А. Логвиненко // Фармация и фармакология. – 2018. – 5. – 402-418.
5. Nair, M. S. Artemisia annua L. extracts prevent in vitro replication of SARS-CoV-2 / M.S. Nair, Y. Huang, D.A Fidock., S.J. Polyak, J.Wagoner, M.J.Towler, P.J. Weathers // bioRxiv preprint doi: https://doi.org/10.1101/2021.01.08.425825; this version posted January 8, 2021.
6. Abdin M.Z. Artemisinin, a novel antimalarial drug: biochemical and molecular approaches for enhanced production / M.Z. Abdin, M. Israr, R.U. Rehman, S.K. .Jain // Planta Medica – 2003. – 69. – 289–299.
7. Соктоева, Т. Э. Фармакогностическое исследование *Artemisia annua* L и *Artemisia sieversiana* Willd флоры Бурятии / Автореф. дис. … канд. фарм. наук: 14.04.02/ Соктоева Туяна Эрдемовна; Бурятский госуниверситет. – Улан-Удэ, 2011. – с.25.
8. Kumar S, High yields of artemisinin by multi-harvest of *Artemisia annua* crops / S. Kumar, S. Gupta, P. Singh // Ind Crops Prod. – 2004. – 19. -77–90.
9. Brisibe, E. A. Adaptation and agronomic performance of Artemisia annua L. under lowland humid tropical conditions / E. A Brisibe, O.Udensi, P. N. Chukwurah, P. M.. De Magalhäes, G. M. Figueira, J. F. Ferreira // Ind. Crops Prod. – 2012. – 39. – 190-197. doi: 10.1016/j.indcrop.2012.02.018.
10. Kayani, W K. Biotechnological approaches for artemisinin production in *Artemisia* / W K. Kayani, B H. Kiani, E D. Erum Dilshad, B. Mirza // World Journal of Microbiology and Biotechnology. – 2018. – 34. – 54 https://doi.org/10.1007/s11274-018-2432-9.

11. Weathers, P.J. The flavonoids casticin and artemetin are poorly extracted and are unstable in an *Artemisia annua* tea infusion / P.J. Weathers, M. J. Towler // Planta Med. – 2012. – 78. – 1024–1026.
12. Wetzstein, H Y. Selection and Clonal Propagation of High Artemisinin Genotypes of Artemisia annua / H Y. Wetzstein, J A. Porter, J. Janick, J. F. S. Ferreira, T M. Mutui // Frontiers in Plant Science | www.frontiersin.org/ March 2018. – 9. - Article 358.
13. Kiani, B.H. Comparative Artemisinin analysis in *Artemisia dubia* transformed with two different Agrobacteria harbouring ***rol ABC*** genes / B.H. Kiani, N. Safdar, A. Mannan // Plant Omics. – 2012. – 5. – 386–391.
14. Qin, M. B. Induction of hairy root from *Artemisia annua* with *Agrobacterium Rhizogenes* and its culture in vitro / M. B. Qin, G.Z. Li, H.C. Ye, G.F..Li // Acta Bot Sin. – 1994. – 36. – 165–70.
15. Liu, C.Z. Development of a nutrient mist bioreactor for growth of hairy roots in vitro / C.Z. Liu, Y.C. Wang, B. Zhao, C. Guo, F. Ouyang, H.C. Ye, G.F. Li. // Cell Dev Biol Plant. – 1999. – 35. – 271-274.
16. Sharma, P. Hairy root cultures: a suitable biological system for studying secondary metabolic pathways in plants / P. Sharma, H. Padh, N. Shrivastava // Eng Life Sci. – 2013. – 13. – 62-75.
17. Dilshad, E. ***Rol*** genes enhance the biosynthesis of antioxidants in Artemisia carvifolia Buch / E. Dilshad, H. Ismail, Ihsan-ul- Haq, R. M. Cusido, J. Palazon, K. Ramirez-Estrada, B. Mirza // BMC Plant Biology. – 2016. – 16. – 125. DOI 10.1186/s12870-016-0811-7.
18. Zhu, C. A concise synthesis of (+)-artemisinin / C. Zhu, S.P. Cook // J Am Chem Soc. – 2012. – 134. – 13577–13579.

INDUCTION OF HAIRY ROOTS FROM *ARTEMISIA ANNUA* L

Professor, D.Sc. in Biology Timina O. O[1.a)],
Associate professor Ph.D. in Agriculture Timin O. Y[2],
Senior Research Fellow Ph.D. in Biology Stepanova A. Y[3],
Associate professor Ph.D. in Chemistry Shchuka T. V[1].

1 - Shevchenko State University, Moldova, Transdnistria, Tiraspol, ulica 25 Oktyabrya 128, Building B, 3300

2 - Research Institute of Ecology and Natural Resources, Moldova, Transnistria, Bendery, Kahovskij tupik 2, 3200

3 - Timiryazev Institute of Plant Physiology, RAS, Moscow, Russia, Botanicheskaya ulica 35, 127276

a) corresponding author – otimina@mail.ru

Abstract. The aim of the research is to obtain new lines of hairy roots of *A. annua* with improved output of the target product. Induction of hairy roots using wild strains of bacterial vectors, without additional insertions as antibiotic resistance genes, herbicides, etc, are a probabilistic but natural processes of embedding ***rol***-genes of vectors in the plants of recipients, which take place in nature. Getting products with high output of the target product remains an urgent and in-demand task. The culture of hairy roots of *A. annua* is not registered in Moldova, Transdnistria and Russia. The work presents the protocol of obtaining hairy roots of one-year-old wormwood, growing in Transdnistria. We selected the best explants of stock wormwood plants in the early phase of development (5-6 real leaves), forming callus and hairy roots, as well as selected a wild strain *A. rhizogenes* with high transformative activity. New lines of hairy roots were obtained, producers of medicinal substances, which will be studied in detail on the rate of growth and chemical composition. They will undergo further molecular and biological identification and will be used in *A. annua* biopharming research.

Keywords. *Artemisia annua, hairy roots, bacterial transformation, wild strains, biopharming*

УДК 633.81: 57.085.2 DOI: 10.52101/9785870191003_2021_314

ВЛИЯНИЕ ГЕНОТИПА, СОСТАВА ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ И ТИПА ЭКСПЛАНТА НА ИНДУКЦИЮ КАЛЛУСО- И МОРФОГЕНЕЗА У *MELISSA OFFICINALIS* L.

к.б.н. Якимова О. В., доцент, д.б.н. Егорова Н. А., Коваленко М. С.

ФГБУН Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма, адрес (Россия, г. Симферополь, удица Киевская, д. 150), 295 493

а) автор для переписки – olyyakimova@yandex.ru

Аннотация. Мелисса лекарственная (*Melissa officinalis* L.) – многолетнее травянистое эфиромасличное, лекарственное и пряно-ароматическое растение, широко применяемое в медицине, а также в парфюмерно-косметической и пищевой промышленности. *M. officinalis* чаще выращивают как лекарственное растение, так как в его сырье низкое содержание эфирного масла. В НИИСХ Крыма проводят селекцию, направленную на создание высокомасличных сортов мелиссы лекарственной. Для проведения селекции на современном уровне перспективно применение различных клеточных технологий для создания исходного материала, большинство из которых основываются на индукции каллусо- и морфогенеза. Целью нашего исследования было изучение влияния некоторых факторов (сорта, гормонального состава питательной среды и типа экспланта) на индукцию каллусо- и морфогенеза у мелиссы лекарственной *in vitro*. В качестве эксплантов использовали сегменты стебля, листа и почек, выделенные из растений мелиссы сортов Цитронелла, Соборная, Крымчанка. Установлено, что индукция морфогенного каллуса у изучаемых сортов проходила на некоторых вариантах питательной среды только при использовании эксплантов почек. Лучшей питательной средой для индукции морфогенеза у сорта Соборная была среда МС, дополненная 1,0 мг/л НУК и 1,0 мг/л ТДЗ, при этом частота регенерации побегов составила 25,5 %, а для сортов Цитронелла и Крымчанка (28,0 % и 24,0 % соответственно) – среда МС, содержащая 1,0 мг/л НУК и 0,5 мг/л БАП. Проведенные исследования являются основой для разработки методики получения растений-регенерантов мелиссы.

Ключевые слова: *Мелисса лекарственная, каллус, морфогенез in vitro, эксплант, питательная среда.*

ВВЕДЕНИЕ

Уникальные природно-климатические условия Крыма позволяют выращивать многие эфиромасличные культуры, продукты переработки которых активно используются в медицине, ликеро-водочном производстве, парфюмерно-косметической, пищевой и др. отраслях промышленности. В связи с возрождением эфиромасличной отрасли в Республике Крым последние годы, наряду с использованием традиционных ароматических растений (*Lavandula angustifolia, Rosa damascena, Salvia sclarea, Coriandrum sativum*), активно исследуют и внедряют в производство новые виды эфиромасличных и лекарственных культур, в частности *Melissa officinalis*. [1].

Мелисса лекарственная – многолетнее травянистое эфиромасличное, лекарственное и пряно-ароматическое растение, которое возделывают во многих странах мира – на юге России и Украины, в Италии, Болгарии, Сирии, Иране и др. [2–4]. Мелиссу используют как ценный медонос, как пряность в кулинарии, а также при изготовлении ароматических чаев [5–7]. Наиболее широко мелиссу применяют в медицине. Фармакологическая активность ее препаратов достаточно детально изучена. Растительное сырье мелиссы успешно применяют при лечении заболеваний сердечно-сосудистой системы. Ее эфирное масло входит в состав препаратов, обладающих успокаивающими, спазмолитическими, иммуномодулирующими, антиаллергическими и ветрогонными свойствами [3, 4, 8].

M. officinalis чаще выращивают как лекарственное растение, так как содержание эфирного масла в сырье не велико (0,02-0,30 % в пересчете на сухую массу) и его получение затруднено вследствие частичной растворимости в дистилляте [8, 9]. В связи с этим в ФГБУН «НИИСХ Крыма» проводят селекцию, направленную на создание высокомасличных сортов мелиссы лекарственной [6]. Использование биотехнологических приемов позволит повысить эффективность этого процесса. Разработка методов клеточной инженерии, направленных на создание растений с ценными хозяйственными признаками, связана с решением целого ряда фундаментальных вопросов [10, 11]. Одним из важнейших этапов подобных технологий является получение каллусных культур и индукция непрямого морфогенеза [12, 13].

Биотехнологические приемы создания исходного селекционного материала и его ускоренного размножения активно применяют для решения прикладных задач селекции основных сельскохозяйственных, цветочно-декоративных, плодово-ягодных и других культур [13–15]. Однако разработке биотехнологических методов у эфиромасличных и лекарственных растений посвящено незначительное число исследований [16–18].

В литературе встречаются единичные работы, посвященные биотехнологическим исследованиям *M. officinalis*. В частности, изучены некоторые вопросы индукции каллусо- и морфогенеза [19, 20]. Большая часть публикаций касается разработки методических приемов клонального микроразмножения мелиссы [21–23]. Также есть сведения о получении гаплоидов мелисы *in vitro* с использованием культуры микроспор [24]. Однако в этих работах часто представлены противоречивые данные, и кроме того, не использованы выращиваемые на территории Российской Федерации сорта. Высокая генетическая зависимость процессов морфогенеза *in vitro* часто обуславливает необходимость оптимизации условий культивирования индивидуально для каждого сорта или селекционного образца.

В связи с этим целью нашего исследования было изучение влияния некоторых факторов (сорта, гормонального состава питательной среды и типа экспланта) на индукцию каллусо- и морфогенеза у мелиссы лекарственной *in vitro*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы. Материалом для исследования служили ткани и органы трех сортов *Melissa officinalis* L. (Цитронелла, Соборная, Крымчанка). Донорные растения выращивали в условиях закрытого грунта. В качестве инициальных эксплантов для индукции каллусогенеза использовали сегменты стебля (5-6 мм), высечки листовых пластинок (5×5 мм) и сегменты пазушных почек (0,2-0,5 мм).

Методы. Эксперименты проводили согласно общепринятым в биотехнологии растений методам культивирования тканей и органов *in vitro* [10, 25]. Для соблюдения условий асептики все работы по введению в культуру и микрочеренкованию побегов in *vitro* выполняли в условиях ламинарного бокса БАВнп-01-«Ламинар-С»-1,2 (Россия). Для стерилизации растительный материал предварительно промывали в мыльном растворе (15-20 мин) и ополаскивали в проточной и дистиллированной воде. Дальнейшую стерилизацию осуществляли в условиях ламинарного бокса. В качестве стерилизующих веществ для освобождения от экзогенной инфекции применяли 70 %-ный этанол с экспозицией 1 мин и 50 %-ный раствор препарата «Брадофен» 10 Н («ФЛОРИН АО», Венгрия) с экспозицией 4 мин.

Экспланты культивировали в пробирках (150×16 мм), содержащих 10 мл питательной среды, закрытых ватно-марлевыми пробками. Использовали модификации питательной среде Мурасиге и Скуга [26] с добавлением регуляторов роста ауксинового и цитокининового типов действия – 2,4-Д, НУК, тидиазурон (ТДЗ), кинетин, БАП («Sigma», США). Культивирование осуществляли в культуральной комнате при температуре (26±2)

°С, относительной влажности воздуха 70 %, освещении 2000-3000 люкс и продолжительности фотопериода 16 часов.

Частоту индукции каллусогенеза определяли в процентах как отношение числа эксплантов с каллусом к общему количеству эксплантов. Частоту индукции морфогенного каллуса определяли в процентах как отношение каллусов с почками и побегами к общему числу проанализированных каллусов.

Опыты проводили в 2-3-х кратной повторности, в каждом варианте анализировали не менее 20 эксплантов. Статистическую обработку данных проводили согласно общепринятым методам математической статистики при помощи стандартного пакета документов Microsoft Office Excel (2010).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В предыдущих исследованиях нами была разработана методика индукции каллусогенеза у *M. officinalis* в культуре *in vitro*. При этом максимальную частоту индукции каллуса (59,5-92,9 %) и его прирост (1,5-1,9 балла) отмечали у эксплантов черешка и листа на питательной среде МС, дополненной 1,0 мг/л 2,4-Д и 0,5 мг/л БАП [27]. При длительном культивировании каллусных тканей на оптимальной для пассирования каллусов мелиссы питательной среде максимальный прирост массы каллуса (ростовой индекс 11,5-13,7) отмечали в 17-19 пассажах.

При культивировании трех типов эксплантов на семи модификациях питательной среды МС было установлено, что во многих вариантах опыта формировался каллус, частота которого варьировала от 12,5 до 100 % (представлено в таблице 1). Максимальную частоту индукции каллусогенеза (64,0-100 %) с хорошим приростом отмечали на среде МС, дополненной 1,0 мг/л НУК и 0,5 мг/л БАП.

Ключевым этапом большинства клеточных технологий является индукция морфогенеза и регенерация растений *in vitro*. В нашем эксперименте частоту индукции морфогенного каллуса из эксплантов листового и стеблевого происхождения на испытанных вариантах питательной среды не наблюдали. Индукция морфогенеза в каллусе происходила на некоторых вариантах питательной среды только при использовании эксплантов почек.

Таблица 1 – Влияние сорта, состава питательной среды и типа экспланта на индукцию каллусо- и морфогенеза у мелиссы лекарственной *in vitro*

Гормональные добавки в питательной среде, мг/л	Сорт	Тип экспланта	Количество жизнеспособных эксплантов, %	Частота каллусогенеза, %	Частота морфогенного каллуса, % от общего числа каллусов
БАП - 1,0	Цитронелла	лист	0	0	0
		стебель	0	0	0
		почка	94,1±5,8	12,5±0,8	12,5±0,8
	Соборная	лист	0	0	0
		стебель	0	0	0
		почка	53,3±4,3	50,0±1,8	12,5±0,9
	Крымчанка	лист	21,1±0,9	50,0±2,8	0
		стебель	0	0	0
		почка	37,5±8,7	16,7±1,1	0
Кинетин – 1,0	Цитронелла	лист	0	0	0
		стебель	0	0	0
		почка	30,7±1,9	33,3±2,1	25,0±1,6
	Соборная	лист	0	0	0
		стебель	0	0	0
		почка	24,1±1,8	28,5±1,8	0
	Крымчанка	лист	0	0	0
		стебель	0	0	0
		почка	38,8±1,6	0	0
ТДЗ – 1,0	Цитронелла	лист	0	0	0
		стебель	0	0	0

		почка	47,4±1,1	0	0
	Соборная	лист	0	0	0
		стебель	0	0	0
		почка	73,9±9,1	50,0±3,5	12,5±0,9
	Крымчанка	лист	0	0	0
		стебель	0	0	0
		почка	65,5±5,8	28,6±1,4	4,7±0,4
2,4-Д – 1,0 ТДЗ – 0,5	Цитронелла	лист	50,0±8,9	68,8±6,9	0
		стебель	80,0±7,4	100	0
		почка	38,5±1,2	90,0±10,0	0
	Соборная	лист	64,2±9,2	65,0±8,9	0
		стебель	40,0±2,9	66,7±1,4	0
		почка	42,8±4,5	75,0±6,5	0
	Крымчанка	лист	67,7±8,5	63,6±7,4	0
		стебель	41,7±1,1	100	0
		почка	20,0±1,7	83,3±6,1	0
НУК – 1,0 БАП – 0,5	Цитронелла	лист	96,0±4,0	100	0
		стебель	33,3±1,8	100	0
		почка	100	84,0±7,5	28,0±1,9
	Соборная	лист	96,9±3,1	100	0
		стебель	40,0±4,1	83,3±10,2	0
		почка	86,9±7,1	80,0±9,1	20,0±0,8
	Крымчанка	лист	93,3±4,6	96,5±3,4	0
		стебель	68,0±7,5	66,7±1,6	0
		почка	89,6±5,7	64,0±6,7	24,0±1,8
НУК – 1,0 ТДЗ – 1,0	Цитронелла	лист	100	75,0±8,1	0
		стебель	72,3±6,3	62,5±5,1	0
		почка	92,0±5,5	82,6±8,1	17,4±0,7
	Соборная	лист	87,1±6,1	84,6±7,2	0
		стебель	0	0	0
		почка	62,9±5,4	82,3±9,5	25,5±1,0
	Крымчанка	лист	78,5±7,8	81,8±8,4	0
		стебель	66,7±8,7	95,2±4,7	0
		почка	46,2±3,2	58,3±1,4	8,3±0,8
2,4-Д – 1,0 БАП – 0,5	Цитронелла	лист	96,7±3,2	86,7±6,3	0
		стебель	76,9±7,2	90,0±10,0	0
		почка	90,9±6,2	90,1±6,8	10,0±1,1
	Соборная	лист	85,7±6,0	100	0
		стебель	72,4±8,4	80,0±9,1	0
		почка	65,2±7,1	93,3±6,7	13,3±1,9
	Крымчанка	лист	33,3±2,8	80,0±10,3	0
		стебель	100	90,0±6,8	0
		почка	68,8±5,3	81,8±8,4	0

Установлено, что на 15-17 сутки культивирования в некоторых вариантах опыта в первичном каллусе наблюдали развитие почек и затем побегов, что может свидетельствовать об индукции органогенеза (геммогенеза). При этом в каллусе формировалось от двух до шести побегов (часто витрифицированных) длиной 3-7 мм (представлены на рисунке 1). Регенерацию побегов из первичного каллуса у изучаемых сортов отмечали на нескольких вариантах питательной среды с частотой 4,7-28,0 %. При использовании в составе питательной среды таких регуляторов роста как БАП, кинетин, или ТДЗ индукцию морфогенных структур наблюдали редко и с достаточно низкой частотой. При совместном использовании 1,0 мг/л 2,4-Д и 0,5 мг/л ТДЗ регенерация побегов из каллуса отсутствовала. В то же время при добавлении к 1,0 мг/л 2,4-Д 0,5 мг/л БАП индукцию непрямого морфогенеза выявили только у сортов Цитронелла и Соборная с частотой 10,0 % и 13,3 % соответственно. Использование в составе питательной среды НУК вместо 2,4-Д – позволило повысить величину этого показателя в 1,9-2,8 раза. Максимальную частоту регенерации почек и побегов из каллусных тканей для сортов Цитронелла и Крымчанка (28,0 и 24,0 % соответственно) отметили на питательной среде МС, дополненной 1,0 мг/л НУК и 0,5 мг/л БАП, а для сорта Соборная (25,5 %) – на среде с 1,0 мг/л

НУК и 1,0 мг/л ТДЗ. При сравнении различных сортов выявлено, что наибольшим регенерационным потенциалом отличались экспланты сорта Цитронелла.

Рисунок 1 – Индукция морфогенеза (А) и развитие побегов (Б) в каллусе, полученном из эксплантов почек, и укоренение побегов (В) *in vitro* у мелиссы лекарственной.

Проведен сравнительный анализ долевого влияния различных факторов (состава питательной среды, генотипа и типа экспланта) на частоту индукции морфогенеза в первичном каллусе *M. officinalis* (представлен на рисунке 2). Согласно результатам трехфакторного дисперсионного анализа на индукцию непрямого морфогенеза *in vitro* наиболее значимое воздействие оказывал тип экспланта, доля влияния которого составила 42,1 %. Достоверное влияние оказывали взаимодействие состава питательной среды и типа экспланта (31,2 %) и состав питательной среды (15,6 %). Достоверно значимого воздействия других факторов и их совместного воздействия на образование морфогенных структур из каллуса не выявлено.

Рисунок 2 – Доля влияния фактора (питательной среды, генотипа и типа экспланта) на частоту индукции морфогенеза из каллуса *M. officinalis*

В работах иранских ученых показано, что формирование побегов из каллусов (полученных из гипокотилей) у мелиссы, в отличие от наших исследований, происходило на питательной среде, содержащей 1,0 мг/л кинетина [19, 20]. В наших исследованиях у всех изучаемых сортов морфогенные каллусы были получены из эксплантов почек. При дальнейшем культивировании из образовавшихся *de novo* почек развивались побеги, которые размножали и укореняли *in vitro* и адаптировали *ex vitro*. В результате проведенных исследований получены растения-регенеранты, которые будут в дальнейшем изучены и оценены в питомнике исходного материала с целью выявления ценных генотипов.

ВЫВОДЫ

Изучено влияние гормонального состава питательной среды, генотипа и типа экспланта на индукцию каллусо- морфогенеза мелиссы *in vitro*. Лучшей питательной средой для индукции непрямого морфогенеза у сортов Цитронелла и Крымчанка (28,0 и 24,0 %, соответственно) была среда МС с 1,0 мг/л НУК и 0,5 мг/л БАП, а у сорта Соборная (частота морфогенеза – 25,5 %) – среда МС, содержащая 1,0 мг/л НУК и 1,0 мг/л ТДЗ. При помощи трехфакторного дисперсионного анализа установлено, что на индукцию непрямого морфогенеза в каллусе мелиссы лекарственной наибольшее влияние оказывал тип экспланта (42,1 %) и взаимодействие состава питательной среды и типа экспланта (31,2 %). Данные исследования являются основой для разработки методики получения сомаклональных вариантов, которые могут служить исходным материалом для селекции.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Паштецкий, В.С. Эфиромасличная отрасль Крыма. Вчера, сегодня, завтра / В.С. Паштецкий, Н.В. Невкрытая, А.В. Мишнев [и др.]. – Симферополь: ИТ «АРИАЛ», 2018. – 320 с. 1
2. Бирюлева, Э.Г. Эпидермальные структуры и анатомия вегетативных органов *Melissa officinalis* в связи с эфиромасличностью / Э.Г. Бирюлева, Н.Н. Петришина // Экосистемы, их оптимизация и охрана. – 2014. – Вып. 10. – С. 88–93. 2
3. Быков, В.А. Атлас лекарственных растений России / В.А. Быков, Л.Н. Зайко, Н.Т. Конон [и др.]. – М.: ФГБНУ ВИЛАР**,** 2006. – 345 с. 3
4. Dixit, A.K. Lemon balm (*Melissa officinalis* L.) an herbal medicinal plant with broad therapeutic uses and cultivation practices: a review / A.K. Dixit // International Journal of Recent Advances in Multidisciplinary Research. – 2015. – Vol. 02 (11), – P.0928–0933. URL: https://www.researchgate.net/publication/285581177 (дата обращения: 30.03.2021). 4
5. Moradkhani, H. *Melissa officinalis* L., a valuable medicine plant: a review / H. Moradkhani, E. Sargsyan, H. Bibak [et al.] // J. of Medicinal Plants Research. – 2010. – Vol. 4, № 25. – P. 2753–2759. 5
6. Невкрытая, Н.В. Итоги работы по созданию нового сорта *Melissa officinalis* L. / Н.В. Невкрытая, Э.Д. Аметова, М.П. Марченко // Ученые записки ТНУ им. В.И. Вернадского, серия биология и химия. – 2014. – Т. 27 (66), № 5. – С. 110–118. 6
7. Невкрытая, Н.В. Сравнительная характеристика перспективных сортообразцов *Melissa officinalis* L. / Н.В. Невкрытая, Н.К. Скопинцева, М.С. Черняк // Виноградарство и виноделие. – 2012. – № 1. – С. 22–24. 7
8. Kittler, J. Content and composition of essential oil and content of rosmarinic acid in lemon balm and balm genotypes (*Melissa officinalis*) / J. Kittler, H. Krüger, D. Ulrich [et al.] // Genet Resour Crop Evol. – 2018. – №65. – P. 1517–1527. doi:10.1007/s10722-018-0635-4. 8
9. Тарасов, В.Е. Мелисса лекарственная, как ценный источник натуральных ароматических и биологически активных веществ / В.Е. Тарасов, Н.В. Невкрытая, О.Н. Пономарева // В сборнике: Инновационное развитие экономики. Материалы второго Крымского инновационного форума. ФГБУН «НИИСХ Крыма», Научно-технический союз Крыма: Симферополь: ООО ИТ «Ариал», 2020. – С. 106-109. 9

10. Калашникова, Е.А. Клеточная инженерия: Учебное пособие / Е.А. Калашникова. – М.: Мзд-во РГАУ- МСХА, 2012. – 318 с. 10
11. Круглова, Н. Н. Каллус *in vitro* как модельная система для изучения органогенеза растений / Н.Н. Круглова, О.А. Сельдимирова, А.Е. Зинатулина // Известия Уфимского научного центра РАН. – 2019. – № 2. – С. 44–54. doi:10/31040/2222-83-2019-0-2-44-54. 11
12. Бутенко, Р. Г. Биология клеток высших растений *in vitro* и биотехнологии на их основе: учебное пособие / Р.Г. Бутенко. – М.: ФБК-ПРЕСС, 1999. – 146 с. 12
13. Игнатова, С. А. Клеточные технологии в растениеводстве, генетике и селекции возделываемых растений: задачи, возможности, разработки систем *in vitro*: монография / С.А. Игнатова. – Одесса: Астропринт, 2011. – 224 с. 13
14. Митрофанова, И. В. Этапы регенерации *in vitro* декоративных, ароматических и плодовых культур. В книге: Основы создания генобанка *in vitro* видов, сортов и форм декоративных, ароматических и плодовых культур. (Под ред. И.В. Митрофановой) / И.В. Митрофанова, О.В. Митрофанова, Н.Н. Иванова, Н.А. Егорова [и др.]. – Симферополь, 2018, «Ариал». С. 27-126. 14
15. Бишимбаева, Н. К. Сомаклональная вариабельность как источник получения новых форм пшеницы с ценными признаками / Н.К. Бишимбаева // **Experimental Biology**. – 2015. – [S.l.]. Vol. 55, No. 3. – P. 41–46. 15
16. Islam, A.T. M.R. *In vitro* callus induction and indirect organogenesis of *Mentha piperita* (L.) - an aromatic medicinal plant / A.T. M.R. Islam, M.F. Alam // GSC Biological and Pharmaceutical Sciences. – 2018. – Vol. 4(03). – P. 49–60. doi:10.30574/gscbps.2018.4.3.0078. 16
17. Егорова, Н. А. Некоторые аспекты биотехнологии эфиромасличных растений: индукция каллюсо- и морфогенеза, использование сомаклональной вариабельности / Н.А. Егорова // Физиология растений и генетика. – 2014. – Т. 46, № 2. – С. 108–120. 17
18. Ali, M. Plant regeneration through somatic embryogenesis and genome size analysis of *Coriandrum sativum* L. / M. Ali , A. Mujib, D. Tonk, N. Zafar // Protoplasma. – 2017. – № 254(1). – P. 343–352. 18
19. Meftahizade, H. Improved *in vitro* culture and micropropagation of different *Melissa officinalis* L. genotypes / H. Meftahizade, H. Moradkhani, B. Naseri [et al.] // J. of Medicinal Plants Research. – 2010. – Vol. 4, № 3. – P. 240–246. 19
20. Meftahizade, H. Optimization of micropropagation and establishment of cell suspension culture in *Melissa officinalis* L. / H. Meftahizade, M. Lotfi, H. Moradkhani // African J. of Biotechnology. – 2010. – Vol. 9, № 28. – P. 4314–4321. 20
21. Mohebalipour, N. Effect of plant growth regulators BAP and IAA on micropropagation of Iranian lemon balm (*Melissa officinalis* L.) landraces / N. Mohebalipour, S. Aharizad , S. A. Mohammadi [et al.] // Journal of Food, Agriculture & Environment. – 2012. – Vol. 10 (1). – P. 280–286. 21
22. Sevik, H. Effects of IAA, IBA, NAA, and GA3 on rooting and morphological features of Melissa officinalis L. stem cuttings / H. Sevik, K. Guney // The Scientific World Journal. – 2013. – Vol. 2013. – P. 1–5. doi:10.1155/2013/909507. 22
23. Егорова, Н.А. Влияние длительного субкультивирования на клональное микроразмножение *Melissa officinalis* L. и *Origanum vulgare* L. / Н.А. Егорова, О.В. Якимова // Вестник Томского государственного университета. Биология. – 2019. – № 47. – 2019. – С. 22–39. 23
24. Kaster, U. Comparison of *in vitro* haploid induction in balm (*Melissa officinalis*) / U. Kaster, J. Kitler, F. Marthe // Plant Cell Tiss Organ Cult. – 2017.– № 60. – P. 152–161 doi:10.1007/s11240-016-1007-4. 24
25. Davey, M. R. Plant cell culture: essential metods / M.R. Daney, P. Anthony. – Singapore: Markono Print Media: Ptk. Ltd, 2010. – 335 p.25
26. Murashige, T. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures / T. Murashige, F. Skoog // Physiol. Plant. – 1962. – Vol. 15, № 3. – P. 473–479. 26

27. Якимова О.В., Егорова Н.А. Исследование влияния некоторых факторов на каллусообразование у мелиссы (*Melissa officinalis* L.) в культуре *in vitro* / О.В. Якимова, Н. А. Егорова // Вестник Удмуртского университета: Биология. Науки о земле. – 2014. – Вып. 4. – С. 39–45. 27

INFLUENCE OF GENOTYPE, COMPOSITION OF CULTURE MEDIUM AND EXPLANT TYPE ON INDUCTION OF CALLUSO - AND MORPHOGENESIS IN *MELISSA OFFICINALIS* L.

Ph.D. in Biology Yakimova O. V., associate professor, D.Sc. in Biology Yegorova N. A., Kovalenko M. S.

Abstract. Lemon balm (*Melissa officinalis* L.) is a perennial herbaceous essential oil, medicinal and aromatic plant widely used in medicine, food industry, perfumery and cosmetics. *M. officinalis* is more often grown as a medicinal plant there is a low essential oil content in its raw material. In the Research Institute of Agriculture of Crimea, breeding aimed at creating high-oil cultivars of lemon balm is carried out. To create initial material, the use of various cellular technologies, most of which are based on the induction of calluso- and morphogenesis, are promising for breeding at the modern level. To carry out selection at the modern level, it is promising to use various cell technologies to create the initial material. The aim of our research was to study the influence of some factors (cultivar, culture medium hormonal composition and explant type) on the induction of calluso- and morphogenesis in lemon balm *in vitro*. Stem, leaf and buds' segments isolated from lemon balm cultivars Citronella, Sobornaya and Krymchanka were used as explants. It was found that induction of morphogenic callus in the studied cultivars took place on some variants of culture medium only when using bud explants. The best culture medium for induction of morphogenesis in cultivar Sobornaya was MS medium supplemented with 1.0 mg/l NAA and 1.0 mg/l TDZ (the frequency of shoot regeneration was 25.5 %), for cultivars Citronella and Krymchanka – MS medium containing 1.0 mg/l NAA and 0.5 mg/l BAP (28.0 % and 24.0 %, respectively). These studies are the basis for the development of a method of obtaining lemon balm plant-regenerants.

Keywords: *Melissa officinalis*, callus, *in vitro* morphogenesis, explant, culture medium.

ПОИСК НОВЫХ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ И РАЗРАБОТКА НА ИХ ОСНОВЕ НОВЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ

УДК 658.524 DOI: 10.52101/9785870191003_2021_322

СПЕКТР ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ И БАД ПРЕДСТАВЛЕННЫХ КОМПАНИЕЙ ЗАО «ЭКОлаб» НА ОТЕЧЕСТВЕННОМ РЫНКЕ

Директор производства ГЛС ЗАО «ЭКОлаб» Рогожникова Е.П.[a)]

ЗАО «ЭКОлаб», 142530, Московская обл., г. Электрогорск, ул. Буденного, д. 1.
а) автор для переписки – ekoab-rogozhnikova@mail.ru

Аннотация. В публикации приведен обзор зарегистрированных и выпускаемых предприятием «ЭКОлаб» лекарственных препаратов, которые являются доступными и востребованы населением (настойки из лекарственного растительного сырья, спреи, суспензии, сиропы). Описано их фармакологическое действие и область применение. Представлен обзор по клиническим исследованиям, проведенным при регистрации таких лекарственных препаратов, как: «Лоратадин-ЭКОлаб, сироп для приема внутрь», «ЭКО-Тербин, спрей для наружного применения». В настоящее время проводится клиническое исследование лекарственного препарата «Нифуроксазид-ЭКОлаб, суспензия для приема внутрь». На ряду с выпуском лекарственных препаратов на предприятии развивается направление разработки и регистрации биологически активных добавок: разработано и зарегистрировано шесть биологически активных добавок: «ЭКО-Кардио-Фито», «Стальника сироп», «Эхинацея сироп», «Апибад», «ЭКОдетрим», «ЭКОфитол». На ряду с лекарственными препаратами и добавками к пище предприятием выпускаются диагностические тест-системы для иммунохимического, иммуноферментного анализа, необходимые для лабораторной диагностики социально-значимых инфекций.
Ключевые слова: *Ибупрофен, Парацетамол-ЭКОлаб, Нифуроксазид-ЭКОлаб, Пертуссин-ЭКО, Амброксол-ЭКОлаб, Солодки сироп, Лоратадин-ЭКО, Эхинацеи настойка, Меновазин.*

ВВЕДЕНИЕ

Роль лекарственных препаратов в нашей жизни неоценима. Правильное их использование позволяет оптимизировать работу сердца, ЖКТ, помочь в стрессовых ситуациях, при простудных заболеваниях и т.д. Количество лекарственных препаратов промышленного производства за последние годы значительно выросло за счет снижения доли препаратов, выпускаемых аптечными организациями и переноса ряда лекарственных форм на промышленный выпуск (например, настойки, растворы, мази). Выпускаемые лекарственные препараты фармацевтического предприятия ЗАО «ЭКОлаб» в форме настоек из лекарственного растительного сырья относятся к таким препаратам. Однако в линейке выпускаемых препаратов есть современные высокотехнологичные формы: суспензии и спреи.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для подготовки статьи использовали информационные базы данных: Государственный реестр лекарственных средств; Единый реестр свидетельств о государственной регистрации; Реестр свидетельств о государственной регистрации продукции [1, 2, 3].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Фармацевтическое предприятие ЗАО «ЭКОлаб» в течение 30 лет производит готовые лекарственные препараты и тест-системы для клинико-лабораторной диагностики социально-значимых инфекций. Выпускаемые лекарственные препараты широко востребованы всеми слоями населения: сиропы, суспензии, растворы и спреи для местного и наружного применения, настойки, масла. Продукция предприятия — это домашняя аптечка первой помощи. Препараты способны помочь при головной боли, ушной боли, высокой температуре, кашле, аллергии, диареи, нервозах, невралгиях, миозите, нарушении сна, неврастении, тонзиллите, фарингите, ларингите, стоматите, гингивите, пародонтите и др. Основное усилие руководства предприятия направлено на обеспечение качества продукции; снижая рисков, отрицательно влияющих на качество препаратов; рисков связанных с опасностью их применения. При этом особое внимание уделяется качеству исходного сырья, упаковочных материалов, эффективности технологии, своевременной замене технологического и аналитического оборудования.

Большое внимание уделяется выпуску детских препаратов: «Ибупрофен, суспензия для приема внутрь (для детей)», «Парацетамол-ЭКОлаб, суспензия для приема внутрь (для детей)», «Нифуроксазид-ЭКОлаб, суспензия для приема внутрь». Все сырье, используемое в производстве данных препаратов, закупаются в странах Европы у таких известных производителей как «BASF», «Коприма».

«Ибупрофен, суспензия для приема внутрь (для детей)» [4] и «Парацетамол-ЭКОлаб, суспензия для приема внутрь (для детей)» - анальгетики. Применение данных препаратов разрешено с 3 месяцев для симптоматического лечения в качестве жаропонижающего средства (при острых респираторных заболеваниях, гриппе, детских инфекциях, других инфекционно-воспалительных заболеваниях и пост прививочных реакциях, сопровождающихся повышением температуры тела) и обезболивающего средства (при зубной боли, в том числе при прорезывании или удалении зубов, головной боли и мигрени, боли в горле, боли в мышцах, ушной боли при отите).

«Нифуроксазид-ЭКОлаб, суспензия для приема внутрь» противомикробное средство, полный аналог уже хорошо зарекомендовавшего на рынке препарата «Энтерофурил». Нифуроксазид блокирует ряд биохимических процессов в микробной клетке, разрушает мембрану микробной клетки, снижает продукцию токсинов микроорганизмами. Не нарушает равновесие кишечной микрофлоры. При острой бактериальной диарее восстанавливает эубиоз кишечника. При инфицировании энтеротропными вирусами препятствует развитию бактериальной суперинфекции. После перорального применения нифуроксазид практически не всасывается из пищеварительного тракта, и свое антибактериальное действие оказывает исключительно в просвете кишечника. Препарат разрешен к применению детям от 1 месяца. Руководство предприятия инициировало пострегистрационное клиническое наблюдательное исследование эффективности и безопасности применения зарегистрированного препарата «Нифуроксазид-ЭКО» на базе Федерального государственного бюджетного учреждения «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней» Федерального медико-биологического агентства России [5].

Ни для кого не секрет, что дети больше других подвержены респираторным заболеваниям, которые нередко сопровождаются сильным кашлем. ОРВИ у здоровых детей может возникать несколько раз в год. Дети, посещающие детский сад, болеют чаще – заболеваемость доходит до 6-12 эпизодов ежегодно. Кашель при ОРВИ длится порядка 1-3 недель. Муколитические препараты, выпускаемые в виде сиропов такие как «Пертуссин-ЭКО», «Амброксол-ЭКОлаб сироп», «Солодки сироп» способны эффективно помогать в лечении кашля. Так «Амброксол-ЭКОлаб» [6] эффективен при лечении заболеваний дыхательных путей, с образованием вязкой мокроты: острого и хронического бронхита, пневмонии, хронической обструктивной болезни лёгких, бронхиальной астме с затруднением отхождения мокроты, бронхоэктатической болезни. «Солодки сироп» - оказывает

отхаркивающее действие, обусловленное, в первую очередь, наличием глицирризина, усиливающего функцию слизистых оболочек верхних дыхательных путей. Применяется взрослыми и детьми в качестве отхаркивающего средства при заболеваниях верхних дыхательных путей, сопровождающихся кашлем, главным образом, при наличии плохо отделяемого, густого и вязкого секрета (особенно у детей и лиц пожилого возраста). «Пертуссин-ЭКО» - комбинированный препарат: экстракт травы чабреца оказывает отхаркивающее действие, увеличивает количество секреторного отделяемого слизистых оболочек верхних дыхательных путей, способствует разжижению мокроты и ускорению ее эвакуации; бромид калия снижает возбудимость центральной нервной системы. Назначается в качестве отхаркивающего средства в комплексной терапии острых респираторных заболеваний, трахеитов, бронхитов, а также у детей при коклюше. Экстракт чабреца и бромид калия изготавливаются на собственном участке приготовления субстанций, и проходит всесторонний контроль на соответствие всем нормируемым показателям качества.

Аллергические заболевания в настоящее время представляют серьезнейшую проблему практического здравоохранения. Создание конкурентоспособных отечественных лекарственных препаратов с подтвержденной биоэквивалентностью первоочередная задача импортозамещения. «Лоратадин-ЭКО» это сироп для приема внутрь - противоаллергическое средство (блокатор Н1-гистаминовых рецепторов). Оценка токсичности, и биоэквивалентности препаратов Лоратадин - ЭКО, сироп 1мг/мл, производства «ЭКОлаб» и референтного препарата – Кларитин, сироп 1мг/мл, Бельгия подтвердила, что препараты являются биоэквивалентными. Как исследуемый препарат, так и препарат сравнения, продемонстрировали благоприятный профиль безопасности, каких-либо различий в профиле безопасности препаратов не обнаружено.

В современном мире у людей возникает немало поводов для волнений, поэтому седативные средства являются актуальными и востребованными препаратами. Достоинствами настоек является удобство приема, отсутствие побочных действий, возможность длительного приема, мягкость действия (за счет присутствия сопутствующих веществ), сохранение действующих веществ в растворенном состоянии. Они используются, как в лечебных, так и в профилактических целях. К ним относятся выпускаемые предприятием настойки: «Пустырника настойка», «Пиона уклоняющегося настойка», «Боярышника настойка», «Валерианы настойка», «Мяты перечной настойка» [7].

«Пустырника настойка» - оказывает выраженное седативное, умеренное кардиотоническое (замедляет ритм и увеличивает силу сердечных сокращений) действие, обладает умеренными гипотензивными свойствами, применяется при повышенной нервной возбудимости, нарушении сна, неврастении, нейроциркуляторной дистонии.

«Пиона уклоняющегося настойка» - настойку применяют как успокаивающее средство при нарушениях сна, повышенной нервной возбудимости, вегето-сосудистых нарушениях.

«Боярышника настойка» - обладает умеренным кардиотоническим, спазмолитическим и седативным действием и применяется в комплексной терапии функциональных расстройств сердечной деятельности, кардиалгий, климактерического синдрома, астено-невротических состояний.

«Валерианы настойка» - проявляет умеренно выраженный седативный эффект, препарат незаменим при повышенной нервной возбудимости, бессонницы, функциональных расстройствах сердечно-сосудистой системы. Кроме того, препарат оказывает спазмолитическое действие на гладкую мускулатуру желудочно-кишечного тракта снимая спазмы.

«Мяты перечной настойка» - оказывает спазмолитическое действие на желудочно-кишечный тракт и слабое седативное действие, это хорошее симптоматическое средство при тошноте, рвоте, спазмах гладкой мускулатуры желудочно-кишечного тракта [8].

Нередко многие из вышеперечисленных настоек назначают одновременно в комплексной терапии.

«Календулы настойка» - это натуральное антисептическое и противовоспалительное средство. Широко применяют наружно при порезах, ушибах, экземах и местно для полоскания горла при воспалительных заболеваниях глотки (тонзиллиты, фарингиты, ларингиты, фаринголарингиты) и слизистой оболочки полости рта (стоматит, гингивит, пародонтит), внутрь как желчегонное, спазмолитическое при холецистите, холангите [9].

«Эвкалипта настойка» - оказывает противовоспалительное местное и антисептическое действие в комплексной терапии воспалительных заболеваний верхних дыхательных путей, полости рта и глотки.

Выпускаемый препарат «Эхинацеи настойка», относится к препаратам, востребованным в период сезонных заболеваний, так как является иммуностимулирующим и противовоспалительными препаратом, применяемый в комплексной терапии хронических, рецидивирующих, инфекционно-воспалительных заболеваний дыхательных путей [10].

Среди лекарственных препаратов, во все времена востребованы растворы для местного и наружного применения такие как: «Хлоргексидин, раствор для местного и наружного применения 0,05%», «Перекись водорода, раствор для местного и наружного применения 3%», «Этиловый спирт раствор для наружного применения 70%» и «Этиловый спирт раствор для наружного применения 95%», «Люголь, раствор для местного применения». В разработке на этапе регистрации находится «Хлоргексидин, спрей для местного и наружного применения 0,05%», это более удобная форма препарата для использования, особенно, когда необходимо с постоянной периодичностью обрабатывать руки. Данный препарат также можно использовать и для профилактики проникновения вируса через слизистые оболочки носоглотки и ротовой полости.

«Меновазин раствор для наружного применения спиртовой» - комбинированный препарат для наружного применения. Оказывает местное анестезирующее действие. Ментол при нанесении на кожу и слизистые вызывает раздражение нервных окончаний, расширяет поверхностные сосуды кожи, вызывая ощущение прохлады, сопровождающееся анальгетическим эффектом и, тем самым, усиливает анестезирующее действие новокаина и анестезина; облегчает зуд. Хороший помощник при лечении невралгии, миалгии, артралгии и зудящихся дерматозов.

«ЭКО-Тербин спрей для наружного применения 1%» - при государственной регистрации лекарственного препарата проведено доклиническое исследование общей токсичности (острой и подострой), раздражающих свойств, аллергенного действия препарата, и клинические исследования терапевтической эквивалентности в сравнении с оригинальным препаратом «Ламизил® спрей для наружного применения 1%», производства «Новартис Фарма С.А.С.», Франция. Результаты исследования подтверждают терапевтическую эффективность, как и у оригинального препарата, хорошую переносимость, отсутствие возникновения рецидивов по окончании курса [11].

Лекарственное средство «ЭКО-Тербин» назначают при лечении грибковых инфекций кожи, в том числе микозов стоп («грибок» стопы), паховой эпидермофитии (*Tinea cruris*), грибковых поражений гладкой кожи тела (*Tinea corporis*), вызванных дерматофитами, разноцветного лишая, вызываемого диморфными грибами.

«Муравьиный спирт, спрей для наружного применения спиртовой 1,4%» - местнораздражающее средство, оказывает отвлекающее действие. Возбуждает чувствительные рецепторы кожи, вызывает расширение сосудов, улучшает трофику тканей. Хорошо зарекомендовал себя при миозитах, невралгиях, миалгиях, артралгиях, неспецифических моно- и полиартритах.

За свой 30-летний стаж работы на фармацевтическом рынке ЗАО «ЭКОлаб» прошел путь развития от выпуска простых антисептических растворов до сиропов, настоек, суспензий.

В настоящее время ЗАО «ЭКОлаб» нацелено как на увеличение номенклатуры выпускаемых жидких лекарственных препаратов, так и на расширение форм выпуска готовых лекарственных средств. Проводятся работы по разработке и регистрации лекарственных

препаратов в форме гелей, мазей и суппозиториев. Создается проект нового производства под данные лекарственные формы с учетом всех современных требований фармацевтического производства в соответствии с правилами GMP.

Одно из направлений деятельности ЗАО «ЭКОлаб» - это разработка и регистрации биологически активных добавок. На данный момент выпускается несколько таких продуктов: «ЭКО-Кардио-Фито», «Стальника сироп», «Эхинацея сироп ЭКОлаб», «ЭКОдетрим», «ЭКОфитол».

«Эхинацея сироп ЭКОлаб» - оказывает стимулирующее действие на иммунную систему. Обладает также антибактериальным и противовирусным свойствами. Рекомендуется для профилактики простудных заболеваний, иммунодефицитных и астенических состояний. Повышает защитные силы организма, укрепляет иммунитет.

«ЭКОдетрим», содержащий в своем составе витамин $Д_3$ (80 МЕ в одной капле), детям с 1,5 до трех лет. Добавку легко комбинировать с другими витаминными препаратами или молочными смесями, питьем и едой. Содержит натуральный жирорастворимый витамин, естественным способом поступает в организм, благодаря очищенному кокосовому маслу-носителю, повторяя природный способ поступления витамина $Д_3$ с пищей, который влияет не только на усвоение кальция, но и на все виды обмена веществ, на иммунную и эндокринную системы. Обеспечивает правильное развитие мышц, укрепляет костную и зубную ткань, поддерживает работу иммунной системы, зрительных органов. Обладает противовирусным действием.

«Стальника сироп ЭКОлаб» - корень стальника снимает воспаления в области ЖКТ, оказывает мочегонное, слабительное действие, снижает кишечные и желудочные боли, позволяет быстрее заживить внутренние язвы и эрозии, снижает кровоточивость геморроидальных узлов, способствует уменьшению хрупкости и проницаемости капилляров. Плоды шиповника оказывают желчегонное, общеукрепляющее действие на организм, применяются для лечения и профилактики гиповитаминозов, кроме того, экстракт шиповника придает тонус коже, способствуя ее регенерации.

«ЭКО-Кардио-Фито» - экологически чистые растения, входящие в состав сиропа, являются источником витаминов, органических кислот, микроэлементов; улучшают аппетит, нормализуют работу желудочно-кишечного тракта, поддерживают функцию сердечно-сосудистой системы, оказывают мягкое успокаивающее действие, способствуют нормализации обмена веществ, повышают иммунитет:

«ЭКОфитол ЭКОлаб» - эффект обусловлен комплексом входящих в состав листьев артишока полевого биологически активных веществ. Цинарин в сочетании с фенолокислотами обладает желчегонным, а также гепатопротекторным действием. Содержащиеся в артишоке аскорбиновая кислота, каротин, витамины $В_1$ и $В_2$, инулин способствуют нормализации обменных процессов.

ВЫВОДЫ

Продукция предприятия ЗАО «ЭКОлаб» представлена на фармацевтическом рынке широким спектром от давно вошедших в лечебную практику лекарственных форм (настойки, растворы) до высокотехнологичных современных препаратов в форме суспензии и спрея.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Государственный реестр лекарственных средств http://grls.rosminzdrav.ru/Default.aspx

2. Единый реестр свидетельств о государственной регистрации https://portal.eaeunion.org/sites/odata/_layouts/15/portal.eec.registry.ui/directoryform.aspx?listid=0e3ead06-5475-466a-a340-6f69c01b5687&itemid=231#

3. Реестр свидетельств о государственной регистрации продукции http://34.rospotrebnadzor.ru/content/175/3747/

4. Ситникова, Е. А. Результаты сравнительного доклинического изучения безопасности препаратов ибупрофена / Е. А. Ситникова, С. Г. Марданлы, Е. П. Рогожникова // Разработка и регистрация лекарственных средств - № 4(25) – 2018. – С. 86-88.

5. Гончар, Н.В. Эшерихиозы у детей: проблемы диагностики и лечения / Н.В. Гончар, К.Д. Ермоленко, О.И. Климова, Э.А. Мартенс, Ю.В. Лобзин, С.Г. Марданлы // Медицина экстремальных ситуаций. - 2020. - №2. - С.148-156.

6. Овинникова, С.С. изучение стабильности амброксола сироп производства ЗАО "ЭКОлаб" с целью увеличения срока годности / Е.П. Рогожникова, Е.А. Ситникова // Перспективы внедрения инновационных технологий в медицине и фармации (Орехово-Зуево, 30 ноября 2018 года) - С.143-150

7. Помазанов, В. В. Введение в галенику: монография/ В. В. Помазанов, С. Г. Марданлы, Е. П. Рогожникова, В. А. Киселёва. – г. Орехово-Зуево: Редакционно-издательский отдел ГГТУ, 2016. – С. 356.

8. Марданлы, С.Г. Мяты перечной настойка и способ ее получения /Марданлы С.Г., Мизина П.Г., Рогожникова Е.П., Помазанов В.В., Гашенко Т.Ю. //Патент РФ на изобретение №2712236 от 04.04.2019.

9. Марданлы, С.Г. Настойка из лекарственного растительного сырья и способ ее получения /Марданлы С.Г., Мизина П.Г., Рогожникова Е.П., Помазанов В.В., Гашенко Т.Ю., Ситникова Е.А. //Патент РФ на изобретение № 2722067 от 26.05.2020 г.

10. Марданлы, С.Г. Настойка эхинацеи пурпурной и способ ее получения / С.Г. Марданлы, В.Ю. Борисов, В.В. Помазанов, Е.П. Рогожникова, Е.И. Осипова, И.С. Попова //Патент на изобретение РФ № 2552919 от 11.07.2014.

11. Ситникова, Е. А. Изучение общей токсичности и местно-раздражающего действия лекарственного противогрибкового препарата / Е.А.Ситникова, Е.П. Рогожникова, Н.П. Николаева // Перспективы внедрения инновационных технологий в медицине и фармации (Орехово-Зуево, 30.11.2018 г.) - 269-270.

MEDICINAL PREPARATIONS OF THE COMPANY CJSC "ECOlab"

Director of Production of Finished Medicines CJSC "EKOlab" Rogozhnikova E.P.[a)]
142530, Moscow region, Electrogorsk, st. Budenny d.
ekoab-rogozhnikova@mail.ru

Abstract. The publication provides an overview of the entire range of medicines registered and produced by the company "ECOlab", which are available and in demand by the population (tinctures from medicinal plant raw materials, sprays, suspensions, syrups). Their pharmacological action and application are described. A review of clinical studies conducted during the registration of such drugs as: "Loratadine-ECOlab, syrup for oral administration", "ECO-Terbin, spray for external use"is presented. Currently, a clinical trial of the drug "Nifuroxazid-ECOlab, suspension for oral administration"is being conducted. Along with the production of medicines, the company develops the direction of development and registration of biologically active additives: six biologically active additives have been developed and registered: "ECO-Cardio-Phyto", "Stalnika syrup", "Echinacea syrup", "Apibad", "ECOdetrim", "ECOfitol". Along with medicines and supplements to
Keywords: *Ibuprofen, Paracetamol-ECOlab, Nifuroxazide-ECOlab, Pertussin-ECO, Ambroxol-ECOlab, Licorice syrup, Loratadin-ECO, Echinacea tincture, Menovazin.*

УДК: 615.322:547.98 DOI: 10.52101/9785870191003_2021_328

АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ КЛАССИФИКАЦИИ И ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОГО АНАЛИЗА ТАНИНОВ В ЛЕКАРСТВЕННОМ РАСТИТЕЛЬНОМ СЫРЬЕ

Чуб С. К.[1, а)], д.фарм.н. Дайронас Ж. В.[1], д.фарм.н., проф. РАН Зилфикаров И. Н.[2,3]

1 – Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства Здравоохранения Российской Федерации, (Российская Федерация, Ставропольский край, г. Пятигорск, пр. Калинина 11, 357532);
2 – ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений» (ВИЛАР) (Российская Федерация, г. Москва, ул. Грина, д. 7, стр. 1, 117216);
3 – ФГБОУ ВО «Майкопский государственный технологический университет» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (Российская Федерация, Республика Адыгея, г. Майкоп, ул. Первомайская, д. 191, 385000).
а) автор для переписки – svetlanachub07@gmail.com

Аннотация. Цель работы – анализ литературных и экспериментальных научных данных и актуальных вопросов, посвящённых классификации и методам физико-химического анализа растительных дубильных веществ (танинов) в лекарственном растительном сырье (ЛРС). Исследовательская проблема: в современной фармации и фитотерапии по-прежнему очень широкое применение находит ЛРС, содержащее значительное количество танинов. Данная группа природных биологически активных соединений нашла отражение в общих и частных фармакопейных статьях действующей Государственной Фармакопеи РФ XIV изд., поскольку, как и прежде, представляет большой научно-практический интерес как при стандартизации ЛРС, его содержащего, так и при разработке и стандартизации новых растительных лекарственных препаратов (ЛРП), биологически активных добавок (БАД) к пище, косметологических средств, средств гигиены и др. Анализ научной литературы, научно-технической и нормативной документации, результатов собственных исследований позволяет сделать вывод об актуальности дополнений и изменений в сложившуюся к настоящему времени классификацию танинов, а также предложения современных и надежных методов их качественного и количественного анализа.

***Ключевые слова**: лекарственное растительное сырье, орех черный, растительные дубильные вещества, танины, полифенолы, классификация, методы анализа.*

ВВЕДЕНИЕ

В Государственную фармакопею РФ XIV издания включена ОФС.1.5.3.0008.18 «Определение содержания дубильных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах», а также ряд частных фармакопейных статей, предусматривающих стандартизацию лекарственного растительного сырья по содержанию дубильных веществ: бадана толстолистного корневища, дуба кора, змеевика корневища, ели обыкновенной шишки, калины обыкновенной кора, кровохлебки лекарственной корневища и корни, лапчатки прямостоячей корневища, ольхи соплодия, черемухи обыкновенной плоды, шалфея лекарственного листья [1]. Отвары и экстракты, полученные из ЛРС данных растений, обладают разносторонней фармакологической активностью, которую связывают с присутствием танинов.

Термин «дубильные вещества» исторически связан с их техническим применением в кожевенном производстве, охватывает широкий перечень веществ, включает в себя вещества растительного, минерального (комплексные соединения хрома, циркония, алюминия) и

синтетического (синтаны) происхождения. Поэтому, на наш взгляд, в тех случаях, когда идет речь о дубильных веществах растительного происхождения, более корректным является определение «танины» (син.: таниды, таннины, tannins).

Танины – полифенольные соединения растительного происхождения, обладающие свойством образовывать осадок (нерастворимые комплексы) в пробирочной химической реакции с белками, аминокислотами, алкалоидами, соединениями, содержащими третичный азот, катионами тяжелых металлов и др. Лекарственные препараты на основе танинов применяют в качестве вяжущих и противовоспалительных средств. Наружно отвары из ЛРС применяют при легких формах ожогов и других небольших повреждениях кожи. Внутрь – при заболеваниях желудочно-кишечного тракта (острый и хронический энтерит и колит), как антидот при острых отравлениях. Местно препараты, содержание танины, применяются при стоматитах, гингивитах, тонзиллитах, фарингитах, а также в качестве вяжущих и сосудоукрепляющих средств при геморроидальном расширении вен. Танины оказывают такие эффекты, как ускорение свертывания крови, снижение артериального давления и уровня липидов в плазме крови [2]. В экспериментах обнаружены антиканцерогенные и антимутагенные эффекты танинов, которые предположительно связаны с их антиоксидантными свойствами [3]. Танины подавляют рост многих грибков, бактерий и вирусов. Например, в плодах представителей сем. розоцветные (*Rosaceae*), ореховые (*Juglandaceae*), дербенниковые (*Lythraceae*), эбеновые (*Ebenaceae*) они являются важнейшим звеном естественного защитного механизма против инфекций. Антимикробные свойства танинов используются в пищевой промышленности для увеличения сроков хранения некоторых продуктов.

Исследования фармакологических свойств продолжаются, поэтому вопросы классификации этих соединений, качественного и селективного количественного определения остаются актуальными.

В настоящее время танины классифицируют на две группы по результатам фармакопейной реакции с раствором железа (III) аммония сульфата: гидролизуемые (сине-чёрная окраска) и конденсированные (зелёно-чёрная окраска). Этот подход не учитывает всего структурного разнообразия и иногда приводит к получению противоречивых результатов, когда в одном и том же ЛРС присутствуют одновременно обе группы танинов. Одним из многочисленных видов ЛРС, содержащего танины, являются плоды и листья видов рода орех (*Juglans* L.) семейства ореховых (*Juglandaceae*): ореха грецкого (*Juglans regia* L.) и ореха чёрного (*Juglans nigra* L.). Результаты анализа танинов в этих образцах ЛРС позволяют проиллюстрировать основные проблемы интерпретации танинов как групп биологически активных веществ.

Цель работы – анализ литературных и экспериментальных научных данных и актуальных вопросов, посвящённых классификации и методам физико-химического анализа растительных дубильных веществ (танинов) в лекарственном растительном сырье (ЛРС).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для информационно-аналитического обзора актуальных аспектов классификации танинов использовали сведения научной литературы из открытых и доступных источников, опубликованные за последние десять лет и размещенные в научно-технических библиотеках учреждений, а также в электронных базах данных: *Elibrary, PubMed*, Академия *Google,* Киберленинка. Поисковые запросы – дубильные вещества, танины, tannins.

Объектами экспериментальных исследований явились высушенные воздушно-теневым способом листья и перегородки плодов ореха грецкого (*Juglans regia* L.), а также листья, плоды и околоплодники ореха черного (*Juglans nigra* L.), собранные в парковых насаждениях г. Пятигорска (Ставропольский край, Россия) в 2019 г. Качественный анализ дубильных веществ проводили по фармакопейной методике с применением железа (III) аммония сульфата раствора 1 % [1].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Методика обнаружения танинов с помощью железа (III) аммония сульфата раствора 1% является фармакопейной, и предложена в ГФ РФ XIV изд. для их идентификации и первичной классификации. При взаимодействии танинов в катионами железа (III) образуются комплексы, имеющие выраженное окрашивание: сине-чёрное (гидролизуемые танины) или зелёно-чёрное (конденсированные танины). Аналитический эффект обусловлен преобладанием той или иной подгруппы веществ, поэтому в случае их совместного присутствия в ЛРС он не информативен, и в большинстве случаев не позволяет достоверно оценить природу танинов.

Например, в ходе фармакогностического исследования ЛРС двух видов ореха, нами установлено наличие в образцах листьях и плодах ореха грецкого и ореха чёрного разных групп танинов. Для этого образцы исследуемого сырья экстрагировали различными растворителями, в частности, спиртом этиловым с концентрацией 95 %, 70 % и 40 %, а также водой, и в каждом извлечении последовательно определяли наличие танинов по реакции с железа (III) аммония сульфатом. Было установлено, что окрашивание танинов, как аналитический сигнал, в значительной степени зависит от суммарной концентрации определяемых веществ и преобладания одной из групп танинов в конкретном извлечении, что также затрудняет интерпретацию результатов (таблица 1).

Таблица 1 – Результаты качественного анализа танинов в различных образцах ореха чёрного и ореха грецкого

ЛРС	**Обнаруженные группы танинов, извлекаемые**			
	спиртом 95%	**спиртом 70%**	**спиртом 40%**	**водой**
Ореха чёрного листья	конденсированные	конденсированные	конденсированные	конденсированные
Ореха чёрного плоды	конденсированные	конденсированные	гидролизуемые	гидролизуемые
Ореха чёрного околоплодник	конденсированные	конденсированные	конденсированные	конденсированные
Ореха грецкого листья	конденсированные	конденсированные	конденсированные	конденсированные
Ореха грецкого перегородки плодов	гидролизуемые	гидролизуемые	гидролизуемые	гидролизуемые

Как следует из полученных аналитических эффектов в листьях, перегородках и околоплоднике ореха грецкого и ореха чёрного идентифицированы конденсированные танины, а в плодах – обе группы.

Таким образом, ставшая на сегодняшний день традиционной классификация танинов не учитывает разнообразия химического строения и физико-химических свойств танинов, так как основана на несовершенном методе идентификации в составе ЛРС и извлечений.

Современные научные данные позволяют разделить танины на большее количество групп и предложить более точную классификацию, способную учитывать различные задачи, стоящие перед исследователями.

Природные дубильные вещества (танины), встречающиеся в ЛРС, классифицируются:

1. по растворимости в воде:
   а) растворимые;
   б) нерастворимые.
2. по молекулярной массе:
   а) низкомолекулярные (500-900 дальтон);

б) высокомолекулярные (900-20000 дальтон).

3. по химической структуре (рис. 1):
   а) эфиры галловой (1) или эллаговой (2) кислот (в англоязычной литературе танины типа пирогаллола) [4];
   б) флоротаннины (3) – олигомеры флороглюцина (обнаружены в бурых и красных водорослях) [5];
   в) олиго- и полистильбены (4) [6];
   г) флобафены;
   д) производные катехина (5) (полимеры флаван-3-ола);
   е) псевдотанины – низкомолекулярные фенольные соединения (галловая кислота, катехин, хлорогеновая кислота), связанные с веществами из других классов.

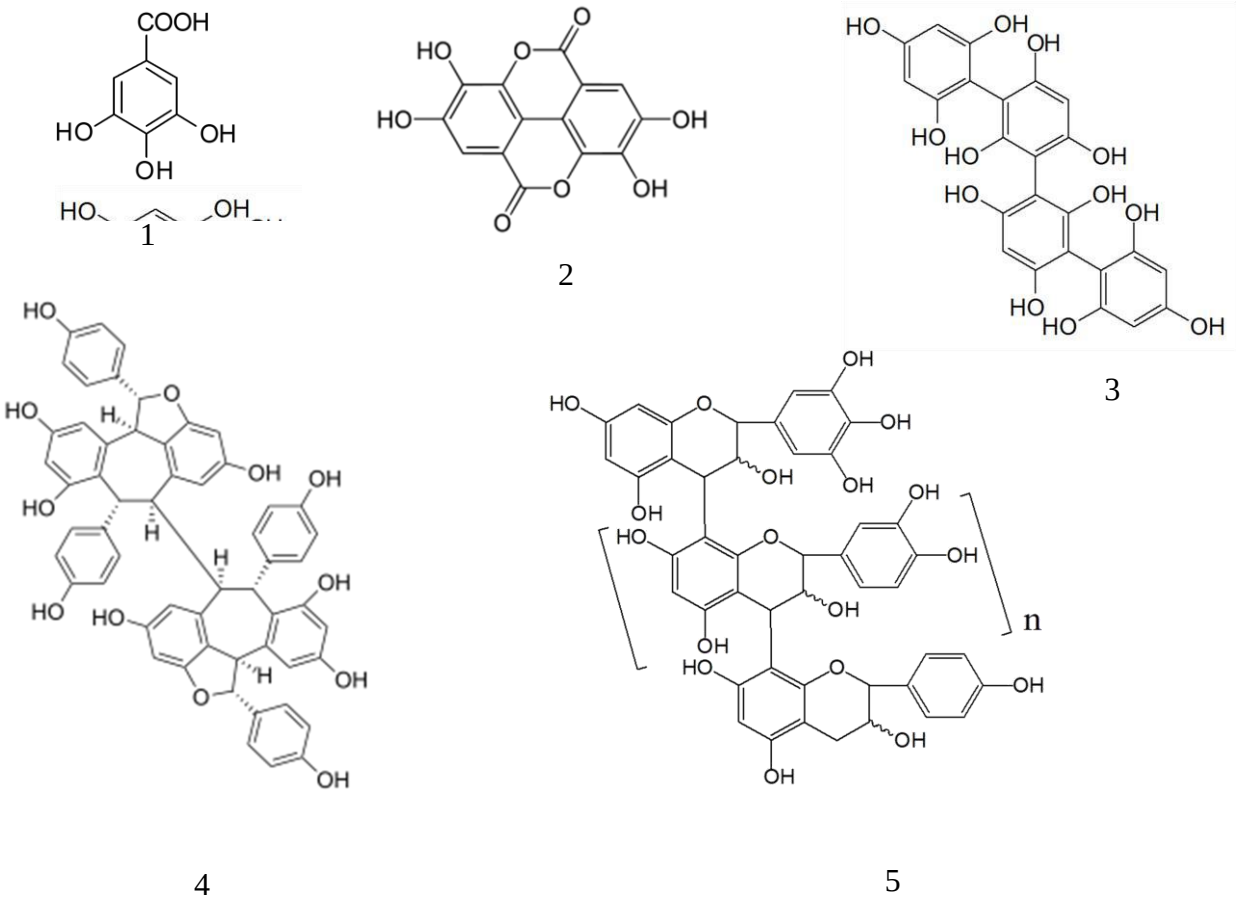


Рисунок 1 - Химические структуры основных соединений, входящих в состав танинов

Исследователями из Санкт-Петербургского химико-фармацевтического университета А.А. Орловой и М.Н. Повыдыш в 2019 г. опубликована работа «Обзор методов качественного и количественного анализа танинов в растительном сырье», в которой приводят современные способы определения этой группы соединений [7]. Считаем, что данное научное направление требует дальнейшего развития с учетом преимуществ и недостатков того или иного подхода к анализу танинов.

В литературе в качестве методов обнаружения танинов чаще всего приводятся осадительные реакции: с раствором желатина, с раствором хинина спиртовым, с раствором железа (III) аммония сульфата, с раствором калия дихромата 5 %, с раствором средней соли свинца ацетата в присутствии уксусной кислоты; и реакции окрашивания: с раствором формальдегида 40 % в присутствии кислоты хлористоводородной концентрированной, с

кристаллами натрия нитрита в присутствии кислоты хлористоводородной 10 %, с раствором натрия нитрита 5 % в растворе уксусной кислоты 2 %, с раствором ванилина 1 % в хлористоводородной кислоте концентрированной, с бромной водой и др. [8]. В ГФ XIV изд. для обнаружения танинов предложена реакция с раствором железа (III) аммония сульфата [1].

Для количественного определения танинов предложены методы гравиметрические (после осаждения), титриметрические (перманганатометрическое титрование, без осаждения и с осаждением желатином), оптические (фотоэлектроколорметрия, спектрофотометрия) [9]. В статьях зарубежных авторов описаны методы высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ), ЯМР- и масс-спектрометрии, гель-проникающей хроматографии, инфракрасной спектроскопии и термогравиметрического анализа [10, 11]. В качестве фармакопейных методов в ГФ XIV изд. приведены перманганатометрическое титрование (без осаждения желатином) и УФ-спектрофотометрия [1].

Гравиметрический метод основан на осаждении танинов из водного извлечения при взаимодействии с желатином или ионами тяжелых металлов. Преимуществаметода – относительная простота и экономичность. Недостатки – вероятность растворения осадка при избыточном добавлении желатина, осаждение сопутствующих веществ и др.

Перманганатометрическое титрование основано на реакции окисления функциональных групп танинов с образованием оксидов, пероксидов, хинонов. Преимуществами метода являются экономичность, воспроизводимость, широкое распространение в фитохимическом анализе. К недостаткам можно отнести не всегдаотчетливый переход окраски в точке эквивалентности и неспецифичность – способность калия перманганатане избирательно окислять сопутствующие низкомолекулярные фенольные соединения, органические кислоты, аскорбиновую кислоту, моносахариды и др.

Спектрофотометрический метод основан на прямом или дифференциальном определении разности значений оптической плотности испытуемого раствора до взаимодействия танинов с кожным (гольевым) порошком и после. Недостатком подхода является высокая погрешность, т.к. на кожном порошке возможна адсорбция сопутствующих оптически активных веществ, в частности, других фенольных соединений.

Метод ВЭЖХ – специфичный и хорошо воспроизводится, однако нуждается в большем развитии, т.к. в настоящее время сводится, как правило, к обнаружению того или иного вещества, иногда нескольких веществ, входящих в структуру танинов или сопутствующих им. Большинство ограничений для применения метода ВЭЖХ связано с высокой молекулярной массой танинов.

ВЫВОДЫ

Учитывая большое разнообразие строения и физико-химических свойств танинов, а также проявлений фармакологической активности суммарных и очищенных препаратов на их основе, в ходе фитохимического анализа ЛРС целесообразно определять не только суммарное содержание дубильных веществ, но и стремиться охарактеризовать их фракционный состав по молекулярной массе и растворимости в воде, оценивать принадлежность к той или иной группе, согласно предложенной химической классификации, определять природу и количественное содержание доминирующих соединений, входящих в структуру, устанавливать антиоксидантную активность или окислительно-восстановительный потенциал комплекса, изучать динамику накопления и локализацию, стабильность в процессе хранения. При этом на разных этапах анализа могут быть задействованы разные подходы, а в характеристике одного показателя применено несколько методов, которые обязательно должны упоминаться в описании результатов исследований. Например, в листьях и околоплоднике ореха грецкого и ореха чёрного идентифицированы конденсированные танины, а в плодах – обе группы. Соответственно, подходы к анализу групп танинов в разном ЛРС, даже заготовленном от одного и того же вида, должны отличаться. Применение

современной и уточненной классификации танинов для разработки методик их анализа позволит повысить точность, селективность и правильность определения, а также исключить мешающее влияние сопутствующих природных веществ.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Государственная фармакопея Российской Федерации: в 4 т. – XIV изд. – М., 2018. – [Электронный ресурс] – Режим доступа: http://www.femb.ru.
2. Chung, K. T. Tannins and human health: a review / K. T. Chung, T. Y. Wong, C. I. Wei, Y. W. Huang, Y. Lin // Critical Reviews in Food Science and Nutrition. – 2010. – Vol. 38. – C. 421–464.
3. Pizzi, A. Tannins: Prospectives and Actual Industrial Applications / A. Pizzi // Biomolecules. – 2019. – Vol. 9(8). – P. 344.
4. Гидролизуемые галло-эллаго-таннины кипрея узколистного (*Chamaenerion angustifolium* (L.)) из биоколлекции питомника ботанического сада ФГБНУ ВИЛАР – перспективный источник для получения цитотоксических средств / Сасов С. А., Тотоева Н.Н., Толкачев В.Н., Алиева Т.А., Бедрина Е.Н., Толкачев О.Н., Мисюрин В.А., Кесаева Л.А., Финашутина Ю.П., Лыжко Н.А., Мисюрин А.В., Масляков В.Ю., Фадеев Н.Б. // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2019. – Т. 22. – № 1. – С. 28-34. – DOI 10.29296/25877313-2019-01-04.
5. Catarino, M. D. Fucaceae: A Source of Bioactive Phlorotannins / M. D. Catarino, A. M. S. Silva, S. M. Cardoso // Int J Mol Sci – 2017. – Vol. 18(6). – P. 1327.
6. Ito, T. Structures of oligostilbenoids in dipterocarpaceaeous plants and their biological activities / T. Ito // Yakugaku Zasshi. – 2011. – Vol. 131(1). – P. 93-100.
7. Орлова, А. А. Обзор методов качественного и количественного анализа танинов в растительном сырье / А. А. Орлова, М. Н. Повыдыш // Химия растительного сырья. – 2019. – № 4. – С. 29-45.
8. Саякова, Г. М. Фармакопейный анализ отечественного лекарственного растительного сырья — жимолости илийской (*Lonicerailiensis*) и жимолости алтайской (*Loniceraaltaica*), семейства жимолостных (*Caprifoliaceae*) на определение биологически активных веществ / Г. М. Саякова // Инновации в науке. – 2014. – № 32. – С. 101-114.
9. Разарёнова, К. Н. Сравнительная оценка содержания дубильных веществ в некоторых видах рода видах рода *Geranium L.* флоры Северо-Запада / К. Н. Разарёнова, Е. В. Жохова // Химия растительного сырья. – 2011. – № 4. – С. 187-192.
10. Wei-Ming Chai, Yan Shi, Hui-Ling Feng, Ling Qiu, Hai-Chao Zhou, Zi-Wei Deng, Chong-Ling Yan, and Qing-Xi Chen Journal of Agricultural and Food Chemistry 2012 60 (19), 5013-5022. DOI: 10.1021/jf300740d.
11. Pantoja-Castroa M.A., González-Rodríguez H. Study by infrared spectroscopy and thermogravimetric analysis of Tannins and Tannic acid // Rev. latinoam. quím vol.39 no.3 Naucalpan de Juárez dic. 2011. P. 107-112.

PROBLEM OF CLASSIFICATION AND PHYSICAL AND CHEMICAL ANALYSIS OF NATURAL TANNINS

Chub S.K.[1, a)], Professor, D.Sc. in Pharmacy Daironas J.V.[1], Professor, D.Sc. in Pharmacy Zilfikarov I.N.[2,3]

1 –Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute, branch of the Volgograd State Medical University of the Ministry Of Health Of The Russian Federation (Russian Federation, Stavropol region, Pyatigorsk, Kalinin ave., 11, 357532)

2 –All-Russian Scientific Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants (Russian Federation, Moscow, Grinast., 7, bldg. 1, 117216);

3 –Maikop State Technological University (Russian Federation, Republic of Adygea, Maykop, Pervomayskayast., 191, 385000)

a) corresponding author – svetlanachub07@gmail.com

Abstract. The aim of the work is an analytical review of scientific data and current issues of classification and methods of physico-chemical analysis of vegetable tannins.Research problem: medicinal plant raw products which contain a lot of tannins are widely used in medicine. This group of biologically active compounds is found in the State Pharmacopoeia of the Russian Federation (XIV edition). Tannins are of great scientific interest in the standardization of raw materials that contain it. They are also of interest in the development and standardization of new herbal medicines, dietary supplements, cosmetics, hygiene products, etc. The analysis of scientific literature, scientific-technical and regulatory documentation allows us to conclude that it is important to supplement and change the modern classification of natural tannins.It is also necessary to offer modern and reliable methods of qualitative and quantitative analysis of tannins.

Keywords*: medicinal plant raw, natural tannins, tannins, polyphenols, classification, method of analysis.*

УДК: 615:633.877.3 DOI: 10.52101/9785870191003_2021_335

СОДЕРЖАНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ПЫЛЬЦЕ *PINUS SYLVESTRIS, PINUS SIBIRICA, PINUS PUMILA*

Эрдынеева.С. А[a)], к.т.н. Ширеторова В. Г., профессор, д.х.н. Раднаева Л. Д.

Байкальский институт природопользования СО РАН, Россия, г. Улан-Удэ, ул. Сахьяновой, 6, 670047.

а) автор для переписки – esssa198013@gmail.com

Аннотация. Поиск и разработка препаратов на основе лекарственного растительного сырья, содержащих комплекс веществ, обладающих антиоксидантным эффектом, является актуальным, в связи с ухудшением экологической обстановки и ростом патологий, вызванных свободнорадикальным окислением клеток. Интерес к сосновой пыльце как к ценному источнику биологически активных веществ, обусловлен широким спектром ее фармакологической активности. В статье представлены результаты исследования количественного содержания соединений фенольного ряда пыльцы *P. sylvestris, P. sibirica, P. pumila,* произрастающих на территории Республики Бурятия. Установлено, что содержание суммы фенольных соединений в пыльце составило 2,55-4,51 мг.экв галловой кислоты/гр. сухого вещества, флавоноидов в пересчете на рутин 0,81-0,95 %, дубильных веществ в пересчете на галловую кислоту 0,67-0,87 %, гидроксикоричных кислот, в пересчете на хлорогеновую кислоту 0,37-0,72 %. Наибольшее содержание фенольных соединений выявлено в пыльце *Pinus pumila.* Данные полученные в результате проведенных исследований, свидетельствуют о перспективности применения пыльцы растений рода *Pinus* в качестве лекарственного растительного сырья, содержащего комплекс веществ, обладающий антиоксидантным действием.

Ключевые слова: *пыльца, полифенольные соединения, Pinus sylvestris, Pinus sibirica, Pinus pumila.*

ВВЕДЕНИЕ

Для противодействия свободнорадикальному окислению растения продуцируют различные антиоксидантные соединения (флавоноиды, дубильные вещества, токоферолы, каротиноиды, ликопин, гидрокси- и аминокислоты, аскорбиновую кислоту и другие органические вещества). Среди природных антиоксидантов, сочетающих низкую токсичность со способностью эффективно ингибировать процессы свободнорадикального окисления в живых организмах, ведущую роль играют фенольные соединения [1]. Антиоксидантная активность фенольных соединений основана на их способности связывать свободные радикалы, лишая их каталитического действия в процессах окисления [2]. Установлено, что употребление пищи, содержащей растительные полифенолы, способствует профилактике гериатрических расстройств и онкологических заболеваний [3]. Учитывая рост патологий, вызванных свободнорадикальным окислением клеток и ухудшающуюся экологическую обстановку, поиск и разработка препаратов на основе лекарственного растительного сырья, содержащие комплекс веществ, обладающих антиоксидантным действием, является перспективным направлением фармацевтической отрасли.

К одним из таких растений можно отнести растения рода *Pinus* (*Pinaceae*), который включает в себя 130 видов вечнозелёных деревьев и является одним из широко распространенных видов хвойных, произрастающих в Северном полушарии [4, 5]. Почки сосны обыкновенной *(Pini sylvestris gemmae*) введены в медицинскую практику в качестве отхаркивающего средства, при заболеваниях верхних дыхательных путей, и входят в состав официнальных грудных сборов. Путем перегонки живицы сосны обыкновенной получают скипидар очищенный (*Oleum terepinthinae rectificatum*), который является лекарственным средством и оказывает местно-раздражающее, анальгезирующее, «отвлекающее» и

антисептическое действие. Он применяется в составе комплексной терапии невралгии, миалгии, ревматических болей, используется в виде линиментов, мазей [6]. Хвою сосен используют как поливитаминное средство, содержащее хлорофилл, каротиноиды, витамин С [7]. Показано, что экстракты из хвои сосен ингибируют рост лейкозных клеток и защищают ДНК клеток от окислительного повреждения и апоптоза, вызванного гидроксильными радикалами [8].

Ценным источником БАВ является пыльца сосен, которая используется в народной медицине как средство, обладающее общеукрепляющим, гепатопротекторным действием и замедляющее старение организма. Известно, что сосновая пыльца содержит витамины: А, бета - каротин, Д3, Е, В1, В2, В6, РР, фолиевую и аскорбиновую кислоты; аминокислоты, макро- и микроэлементы; ферменты и коферменты; моно- и полисахариды; жиры и пищевые волокна [9]. Содержание различных групп биологически активных веществ в пыльце сосен обуславливает широкий спектр ее фармакологической активности. Китайскими исследователями установлено, что экстракты, содержащие полисахаридные фракции пыльцы *Pinus massoniana* обладают иммуномодулирующей, противовоспалительной и противовирусной активностью, а также антиоксидантным и гепатопротекторным действием [10,11]. Спиртовые экстракты пыльцы *Pinus densiflora*, произрастающей в Корее, обладают противовоспалительным действием и антиоксидантной активностью [12]. Ранее нами было определено содержание флавоноидов и дубильных веществ в пыльце *Pinus sylvestris* и *Pinus pumila* [13], однако данные по сумме фенольных соединений и сумме гидроксикоричных соединений представлены впервые. Данные по содержанию в пыльце *Pinus sibirica* фенольных соединений также представлены впервые.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы.

1. Реактив Фолина-Чокалтеу (Sigma Aldrich CAS 233-820-4, серия 7/1118, годен до 27.12.2022, MerckKGaA, Германия)

2. Натрия карбонат (ГОСТ 4201-79, партия 1, годен до 01.2022, Россия).

3. Рутин (Biochem CAS 250249-75-3, серия 11152, годен до 01.2022, Франция.)

Все реактивы приобретены БИП СО РАН

Методы.

Объектом исследования являлась пыльца сосны обыкновенной *Pinus sylvestris,* сосны сибирской *Pinus sibirica,* кедрового стланика *Pinus pumila,* произрастающих на территории Республики Бурятия. Сбор проб пыльцы проводили в мае - июне 2020 года перед началом пыления. Характеристика мест сбора проб представлена в Таблице 1.

Таблица 1- Характеристика мест сбор пыльцы *P. sylvestris, P. sibirica, P. pumila*

Вид растения	Место сбора
Pinus sylvestris	Кабанский район, побережье оз. Байкал, окрестности с. Мантуриха, (LAT 51°46′ LON 105°58′), предбайкальская низменность, тип леса разнотравный, высота над уровнем моря 461 м
Pinus sibirica	
Pinus pumila	Иволгинский район, хребет Улан-Бургасы, 30 км от г.Улан-удэ, верхняя часть лесного пояса, подгольцовые плосковершинные поверхности. (LAT 52°50′ LON 109°03), высота над уровнем моря 1222 м.

Известно, что содержание БАВ в растениях зависит от различных факторов: места произрастания, фазы развития растения, экологической обстановки и т.д. Так показано, что состав эфирного масла, полученного из хвои *P.pumila*, может значительно изменяться в зависимости от климатических условий места произрастания [14]. Исследовано изменение

состава и концентрации в тканях растений основных и вторичных метаболитов под влиянием природных (температурного, водного, гипоксического, биогенного) и техногенных стрессов [15].

Удаленность районов сбора образцов от источников загрязнения, позволяет считать данные территории фоновыми. Собранное сырьё (микростробилы) досушивали в закрытых помещениях при комнатной температуре до высыпания пыльцы из пыльцевых мешочков. Пыльцу отсеивали на ситах и хранили до проведения анализа в стеклянной герметичной таре при 2−3 °С.

Для обнаружения фенольных соединений были получены водно-спиртовые извлечения из образцов пыльцы. Для этого пыльцу обрабатывали 70% этанолом, дважды на водяной бане с обратным холодильником в течение 30 мин при температуре 90º С в соотношении сырье-экстрагент 1:50. Полученные извлечения объединяли, фильтровали в мерную колбу на 50 мл.

Суммарное содержание растворимых полифенолов определяли по методу Фолина – Чокальтеу [15]. Для анализа 1 мл полученного раствора переносили в колбу на 25 мл, доводили до метки водой очищенной (раствор Б). К 1 мл раствора Б прибавляли реактив Фолина-Чокалтеу и 7,5 % водный раствор натрия карбоната. Оптическую плотность определяли на спектрофотометре ПЭ-5400УФ (Россия) при длине волны 765 нм через 60 минут. Содержание суммы фенольных соединений в полученных экстрактах рассчитывали по градуировочному графику, представленному на Рисунке 1, с учетом фактора разведения и пересчетом на абсолютно сухое сырье. Для построения градуировочного графика использовали раствор (РСО) галловой кислоты. Серию разведений РСО галловой кислоты готовили в концентрациях от 10-50 мг/л.

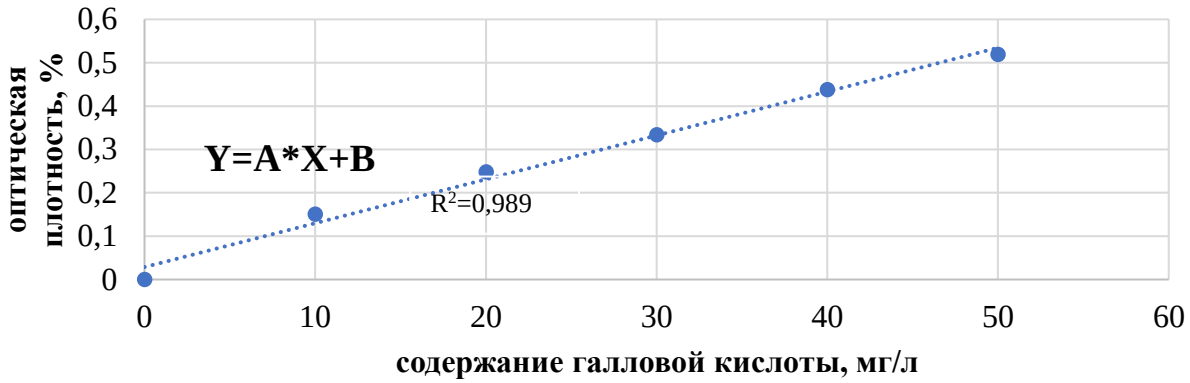


Рисунок 1 - Калибровочный график галловой кислоты

Содержание суммы флавоноидов, суммы гидроксикоричных кислот, суммы дубильных веществ в пыльце исследуемых видов определяли на спектрофотометре ПЭ-5400УФ (Россия), согласно [13, 16, 17].

Каждое определение проводили в трех параллелях, причем различия в полученных значениях составляли не более 0,5 % от определяемой величины. Статистическую обработку данных проводили с помощь пакета программ Excel 2010.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Предварительно были получены электронные УФ-спектры спиртовых экстрактов исследуемых образцов, представленные на Рисунке 2.

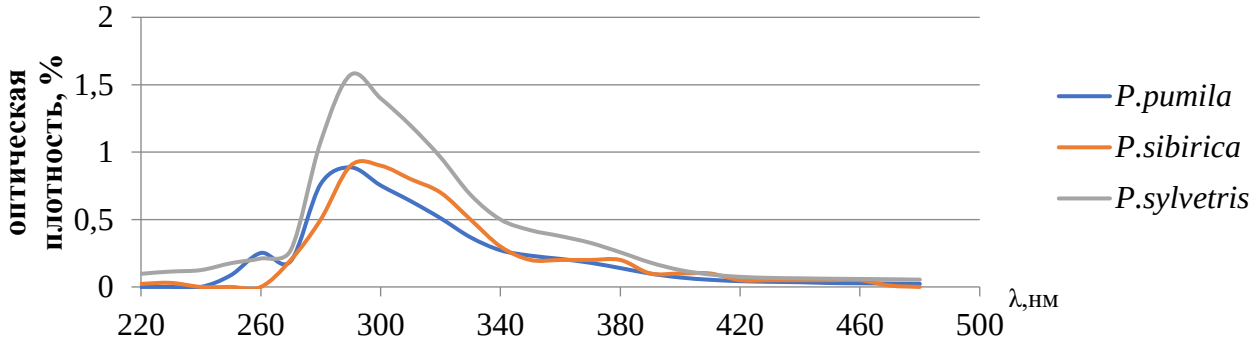


Рисунок 2 – УФ-спектры поглощения спиртовых извлечений из пыльцы *P.pumila, P.sibirica, P.sylvestris*

Полученные водно-спиртовые извлечения имеют максимум поглощения при длине волны (280±2) нм. Наличие полос поглощения 250-290 нм и 320-380 нм характерно для соединений фенольного ряда, что свидетельствует о присутствии в сырье флавоноидов, дубильных веществ и фенолкарбоновых кислот. Результаты определения содержания фенольных соединений для образцов исследуемой пыльцы представлены в Таблице 1.

Таблица 2 - Содержание фенольных соединений в пыльце *P.sylvestris, P.sibirica* и *P.pumila*

Вид	Сумма фенольных соединений, мг- экв. галловой к-ты/грамм сухого вещества	Сумма флавоноидов в пересчете на рутин (%)	Сумма дубильных веществ в пересчете на галловую кислоту(%)	Сумма гидроксикоричных кислот в пересчете на хлорогеновую кислоту (%)
P.sylvestris	2,55±0,01	0,81±0,03	0,67±0,01	0,48±0,01
P.sibirica	3,17±0,02	0,92±0,06	0,84±0,02	0,37±0,01
P.pumila	4,51±0,05	0,95±0,05	0,87±0,02	0,72±0,04

Известно, что флавоноиды и фенольные кислоты вносят значительный вклад в процесс адаптации растений к различным окислителям. Дубильные вещества играют большую роль в защитной функции растений от бактериальных, грибковых инфекций, действия окислителей и др. [15]. Показано, что с увеличением степени экстремальности температурно-влажностных, радиационных условий произрастания растений, формируются неспецифические биохимические адаптации, выражающиеся в повышение содержания и активности антиоксидантов, в том числе фенольных соединений [19]. Наибольшее содержание суммы фенольных соединений, а также суммы флавоноидов, дубильных веществ, гидроксикоричных кислот обнаружено в пыльце *P.pumila*. Возможной причиной более высокого содержания фенольных соединений в кедровом стланике может являться видовая специфичность растения и значительная высота места произрастания. Пыльца *P.sibirica* накапливает все исследуемые фенольные соединений несколько больше, чем пыльца *P.sylvestris.*

ВЫВОДЫ

В результате проведенных исследований установлено содержание фенольных соединений в пыльце *P.sylvestris, P.sibirica, P.pumila* произрастающих на территории Республики Бурятия. Наибольшее содержание всех исследуемых фенольных соединений определено для пыльцы P.pumila. Полученные данные свидетельствуют о перспективности применения пыльцы *P.sylvestris, P.sibirica, P.pumila* в качестве лекарственного растительного средства с антиоксидантной активностью.

Исследования проводились в рамках государственного задания БИП СО РАН

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Men'shchikova, E. V. Phenolic antioxidants in biology and medicine. Structure, properties, mechanisms of action. / V.Z. Lankin, N.V. Kandalintseva. - Saarbrücken.: LAP, 2012. 495 p.
2. Park Y.S. Antioxidant activity and analysis of proanthocyanidins from pine (*Pinus densiflora*) needles. / M.H. Jeon, H.J. Hwang et al. // Nutr Res Pract. – 2011. - 5(4). 281-287. doi:10.4162/nrp.2011.5.4.281
3. Stojko, R. Polyphenols from Bee Pollen: Structure, Absorption, Metabolism and Biological Activity. / A. Stojko, J. Kurek-Górecka, et al // Molecules. - 2015. 20. 21732-21749. 10.3390/molecules201219800
4. The Plant List [Электронный ресурс]. Режим доступа: http://www.theplantlist.org/ (дата обращения: 01.04.2021)
5. Выводцев, Н. В. Кедровый стланик: Распространение. Экология. Использование. / М. А. Джумаев, Ю. Г. Тагильцев, Р. Д. Колесникова // Вестник ТОГУ.- 2011.- № 1. – С.115-124.
6. Государственный реестр лекарственных средств, [Электронный ресурс]. Режим доступа: http://grls.rosminzdrav.ru/ (дата обращения: 01.04.2021)
7. Беспалов, В. Г. Провитам – биоактивный комплекс из хвои сосны и ели / В. Б. Некрасова, И. А. Шевченко, А. С. Вершинин. - СПб.:Нордмедиздат, 2012. - 52 с.
8. Park, Y. S. Antioxidant activity and analysis of proanthocyanidins from pine *(Pinus densiflora*) needles. / M. H. Jeon, H. J. Hwang et al. // Nutr Res Pract. – 2011. 5(4). 281-287. doi:10.4162/nrp.2011.5.4.281
9. Linskens, H. F. Stanley R G. Pollen: biology, biochemistry and management. - N.Y.: Springer, 1974. 314 p.
10. Yu, C. *Taishan Pinus massoniana* pollen polysaccharide inhibits subgroup J avian leucosis virus infection by directly blocking virus infection and improving immunity. / K. Wei, L. Liu, S. Yang et al // Sci. Rep.-2017. – 7. - 443-53; doi: 10.1038/srep44353
11. Yang, S. Characterization and Biological Activity of *Taishan Pinus massoniana* Pollen Polysaccharide In Vitro / K Wei, F Jia, X Zhao, G Cui, F Guo et al. //PLoSONE.-2015; 10(3): 0115638.doi:10.1371/journal.pone.0115638.
12. Choi, E.-M. Antinociceptive and antiinflammatory activities of pine (*Pinus densiflora*) pollen extract. //Phytother. Res.-2007.-21.-P.471-475. https://doi.org/10.1002/ptr.2103
13. Эрдынеева С. А. Фармакогностическое исследование пыльцы *Pinus sylvestris* L. и *Pinus pumila* (Pall) *Regel*. / В. Г. Ширеторова, Л. Д. Раднаева. // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2021. -Т. 24.- №2.-С.4−10. https://doi.org/10.29296/25877313-2021-02-00
14. Эрдынеева, С. А. Сравнительное исследование компонентного состава эфирных масел хвои Pinus pumila (Pall) Regel прибайкальской и якутской популяций / В. Г. Ширеторова, В. В. Тараскин, Л. Д. Раднаева // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2020. – Т. 23. – № 9. – С. 19-25. – DOI 10.29296/25877313-2020-09-03.
15. Судачкова, Н. Е. Биохимические индикаторы стрессового состояния древесных растений / И. В. Шеин, Л. И. Романова, И. Л. Милютин. — Новосибирск: Наука, 1997. — 176 с
16. Singleton, V. L Analysis of total phenolics and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. in: Methods in Enzymology. /R.Orthofer, R.M.Lamuela-Raventos. // Oxidants and Antioxidants.-1999.-299.-P.152-178.

17. Бубенчикова, В. Н. Разработка и валидация методики количественного определения суммы гидроксикоричных кислот в траве *Galinsoga parviflora*. / С.А. Боева // Актуальные проблемы медицины. – 2013. - Т.24.№ 25(168). – С. 80-85.
18. Дыленова, Е. П. Количественное определение суммы дубильных веществ и флавоноидов *Artemisiae frigidae herba* и *Artemisiae jacuticae herba* / Т. Э. Рандалова, С. В. Жигжитжапова, Л. Д. Раднаева. // Шестая научно-практическая конференция «Молодые ученые и фармация XXI века»: Сб. научн. тр. - М.: Вилар, 2018. - С.155-160
19. Анцупова, Т. П. Проблемы изучения лекарственных растений Забайкалья / Г. Б. Ендонова, Л. В. Мазур, Е. П. Павлова // Ученые записки Забайкальского государственного университета. – 2014. – № 1(54). – С. 6-12.

CONTENT OF PHENOL COMPOUNDS OF PINUS SYLVESTRIS, PINUS SIBIRICA, PINUS PUMILA POLLEN

Erdyneeva S. A.[a)], Ph.D. in Technic Shiretorova V. G.,
Professor, D.Sc. in Chemistry Radnaeva L. D.

Baikal Institute of Nature Management SB RAS, Russia Ulan-Ude, Sahyanovoi str, 6, 670047
a) corresponding author – esssa198013@gmail.com

Abstract. The search and development of new therapeutic substances of plant origin containing a complex of substances with an antioxidant effect is relevant due to the deterioration of the ecological situation and the growth of pathologies caused by free radical oxidation of cells. Interest in pine pollen as a valuable source of biologically active substances is due to the wide spectrum of its pharmacological activity. The article presents the results of a study of the quantitative content of phenolic compounds in the pollen of *P. sylvestris, P. sibirica, P. pumila* growing in Buryatia. It was found that the content of the sum of phenolic compounds in pollen was 2.55-4.51 mg equivalent of gallic acid / g. dry matter, flavonoids in terms of rutin 0.81-0.95 %, tannins in terms of gallic acid 0.67-0.87 %, hydroxycinnamic acids, in terms of chlorogenic acid 0.37-0.72 %. The highest content of phenolic compounds was found in the pollen of Pinus pumila. The obtained data indicate that Pine pollen can be used as a medicinal plant material containing a complex of substances with an antioxidant effect.

***Keywords*:** pollen, polyphenolic compounds, *Pinus sylvestris, Pinus sibirica, Pinus pumila,*

УДК 634.71:581.192:615.322 DOI: 10.52101/9785870191003_2021_341

МЕЖПОПУЛЯЦИОННЫЕ РАЗЛИЧИЯ СОДЕРЖАНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ ПЛОДОВ МОРОШКИ ПРИЗЕМИСТОЙ (*RUBUS CHAMAEMORUS* L.)

Страх Я. Л.[a)], доцент, к.б.н. Игнатовец О. С., доцент, к.х.н. Леонтьев В. Н.

Учреждение образования «Белорусский государственный технологический университет», Республика Беларусь, г. Минск, ул. Свердлова, д. 13 а, 220006

а) автор для переписки – y.strakh@gmail.com

Аннотация. Изучение биологической активности растений представляет значительный интерес как для поиска новых источников сырья для создания фитопрепаратов, так и для анализа условий произрастания. Антиоксидантная активность растений проявляется благодаря наличию целого спектра фенольных соединений, биосинтез которых зависит от ряда факторов. В работе приведены результаты исследований по содержанию фенольных соединений, в том числе флавоноидов, в плодах морошки приземистой популяций, произрастающих в различных геоклиматических зонах ареала обитания данного вида растения. Дана оценка перспективности использования плодов морошки приземистой для разработки растительных препаратов, обладающих антиоксидантной активностью. Выявлено, что наиболее перспективным источником фенольных соединений, обладающих антиоксидантной активностью является популяция, произрастающая на территории южной границы ареала обитания (Республика Беларусь).

Ключевые слова: *морошка приземистая, Rubus chamaemorus* L.*, популяция, плоды, фенольные соединения, флавоноиды, антиоксидантная активность.*

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время поиск новых перспективных видов растительного сырья, как источника биологически активных веществ, является весьма актуальной задачей. Накопление указанных веществ зависит от целого ряда характеристик: вид, геоклиматические условия, стрессовые факторы и др. Существует множество исследований, направленных на поиск взаимосвязи закономерностей влияния вышеуказанных факторов на биосинтез вторичных метаболитов. В наибольшей степени интерес представляет сравнительный анализ накопления фенольных соединений растений, которые вносят основной вклад в антиоксидантную защиту клетки.

Морошка приземистая (*Rubus chamaemorus* L.) – высшее растение, которое является хозяйственно полезным и перспективным видом сырья для фармацевтической и пищевой промышленности. На территории Республики Беларусь проходит южная граница ареала обитания. В настоящий момент недостаточно сведений о закономерностях накопления фенольных соединений в зависимости от географического расположения популяции.

В связи с вышеизложенным, целью исследований являлось изучение межпопуляционных различий по содержанию фенольных соединений в плодах морошки приземистой, а также определение антиоксидантной активности экстрактов данного растения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы. Объектом исследований являлись плоды морошки приземистой, произрастающей на территории Республики Беларусь (заказник «Лонно»), Латвийской Республики, Российской Федерации (Республика Карелия).

Экстракцию образцов проводили при температуре 60 °С в течение 40 минут, соотношение сырье : экстрагент составляло 1 : 50, концентрация этанола 70% (ГФ РБ, Т.1, стр. 699).

Для определения содержания фенольных соединений использовали реактив Фолина-Чокальтеу (Sigma-Aldrich, партия SHBK8810, годен до 09.2023 г., Германия), дистиллированную воду (ГФ РБ, Т.1, стр. 616), карбонат натрия (ОАО «Белреахим», ГОСТ 83-79, годен до 02.2022 г., ЧДА). В качестве стандарта использовали галловую кислоту (Sigma-Aldrich, партия SLCB2701, годен до 04.2021 г., Германия).

Для определения содержания флавоноидов использовали алюминия хлорид (PanReac AppliChem ITW Reagents партия 000126541, годен до 06.03.2025, Испания, USP, BP, Ph. Eur.), этиловый спирт (ГФ РБ, Т.1, стр. 699), уксусную кислоту (ОАО «Белреахим», ГОСТ 61-75, годен до 10.2021 г., ХЧ). В качестве стандарта использовали рутин (Sigma-Aldrich, партия BCBS3798, годен до 06.2021 г., Германия).

Для оценки общей антиоксидантной активности фосфомолибденовым методом использовали серную кислоту (ОАО «Белреахим», ГОСТ 4204-77, годен до 12.2021 г., ХЧ), фосфат натрия (Sigma-Aldrich, партия 0000114917, годен до 12.2020 г., Германия), молибдат аммония (Sigma-Aldrich, партия 0000042294, годен до 07.2021 г., Германия). В качестве стандарта использовали аскорбиновую кислоту (Supelco, партия LRAA9813, годен до 31.12.2020 г., Германия).

Все реактивы приобретены кафедрой биотехнологии БГТУ.

Методы. Влажность образцов определяли с помощью методики приведенной в [1].

Исследование содержания фенольных соединений в экстрактах методом Фолина-Чокальтеу.

Определение концентрации фенольных соединений проводили методом Фолина-Чокальтеу в модификации Синглетона и Росси [2].

Раствор реактива Фолина-Чокальтеу готовили в соотношении 1 часть реактива и 9 частей дистиллированной воды. Готовили 7,5 % раствор Na_2CO_3.

Для измерения концентрации фенольных соединений в экстрактах в пробирку вносили 0,25 мл исследуемого спиртового экстракта, в контрольную пробирку – 0,25 мл 70%-ного этанола и затем во все пробирки добавляли по 1,25 мл разведенного реактива Фолина-Чокальтеу, а ровно через 3 минуты по 1,0 мл раствора Na_2CO_3.

Пробирки с реакционной смесью интенсивно встряхивали и оставляли на 2 часа, после чего проводили измерение оптической плотности на спектрофотометре Specord 200 PLUS (Analytik Jena, Германия) при длине волны 765 нм. Содержание фенольных соединений в экстракте определяли с помощью калибровочного графика, который строили по приведенной ранее методике, где вместо экстракта были внесены точные количества раствора галловой кислоты.

Содержание внутриклеточных фенольных соединений в экстрактах рассчитывали по формуле:

$$P = \frac{C_P \cdot V_Э \cdot 100}{m \cdot (100 - W) \cdot 1000},$$

где Р – общее содержание внутриклеточных фенольных соединений в пересчете на галловую кислоту, мг-экв галловой кислоты/г сухого веса; C_P – концентрация фенольных соединений, рассчитанная по калибровочному графику, исходя из оптической плотности реакционных смесей, мг-экв галловой кислоты /л; $V_Э$– общий объем экстракта, мл; 100 – перевод процентов в доли, m – масса навески, г; W – влажность сырья, %; 1000 – коэффициент перевода л в мл.

Определение содержания флавоноидов [3].

Для количественного определения флавоноидов в экстрактах растений в мерную колбу вместимостью 5 мл помещали 0,4 мл экстракта, добавляли 0,4 мл 1 % раствора алюминия хлорида в 95 % этиловом спирте, 0,1 мл 33 % раствора уксусной кислоты и доводили объем раствора 95 % этиловым спиртом до метки. Для приготовления раствора сравнения в другую колбу вместимостью 5 мл помещали 0,4 мл исследуемого раствора, 0,1 мл 33 % раствора

уксусной кислоты и доводили до метки 95 % этиловым спиртом. Измерение оптической плотности проводили через 20 минут при длине волны 410 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. Параллельно измеряли оптическую плотность реакционной смеси содержащей стандартный раствор рутина. Для этого 0,4 мл 0,02 % стандартного раствора рутина помещали в мерную колбу 5 мл, прибавляли 0,4 мл 1 % раствора алюминия хлорида, 0,1 мл 33 % раствора уксусной кислоты и доводили до метки 95 % этиловым спиртом. Для приготовления раствора сравнения в колбу вместимостью 5 мл помещали 0,4 мл стандартного раствора рутина, 0,1 мл 33 % раствора уксусной кислоты и доводили до метки 95 % этиловым спиртом. Суммарное содержание флавоноидов (X, мг-экв рутина / г абсолютно сухого сырья) в исследуемых экстрактах вычисляли по формуле:

$$X = \frac{A_X \cdot C_{CT} \cdot V_Э \cdot 1000 \cdot 100}{A_{CT} \cdot m \cdot (100 - W) \cdot V_X \cdot 100},$$

где A_x – оптическая плотность исследуемого раствора; $C_{ст}$ – концентрация стандартного раствора рутина, %; $V_Э$ – общий объем экстракта, мл; 1000 – перевод граммов в миллиграммы; 100 – перевод процентов в доли, $A_{ст}$ – оптическая плотность стандартного раствора рутина; m – масса навески, г; W – влажность сырья,%; V_x – объем исследуемого экстракта, мл; 100 – перевод из %-ой концентрации в мг-экв / г.

Общая антиоксидантная активность была оценена фосфомолибденовым методом [4].

Фосфомолибденовый метод определения общей антиоксидантной активности основан на способности атомов и молекул отдавать электроны, восстанавливая молибден (VI) в молибден (V) с помощью пробы анализируемого вещества и последующим образованием фосфата/Mo(V) – комплекса с максимумом поглощения при 695 нм. К 0,2 мл экстракта вносили 1 мл раствора 0,6 М серной кислоты, 1 мл раствора 28 мМ фосфата натрия и 1 мл раствора 4 мМ молибдата аммония. Пробирки с крышкой инкубировали в термостате при 95 °С в течение 90 минут. После охлаждения до комнатной температуры измеряли оптическую плотность на спектрофотометре Specord 200 PLUS (Analytik Jena, Германия) при 695 нм по отношению к холостому образцу, в который вносили 0,2 мл 70 % этилового спирта. Активность сравнивали с 1,7 мМ раствором аскорбиновой кислоты (Supelco, партия LRAA9813, годен до 31.12.2020 г., Германия) в качестве стандарта.

Общую антиоксидантную активность рассчитывали по следующему уравнению:

$$\%\text{ от общей антиоксидантной емкости} = \left(\frac{A_{контр} - A_x}{A_{контр}} \right) \cdot 100\%,$$

где $A_{контр}$ – оптическая плотность контроля;

A_x – оптическая плотность исследуемого образца.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты проведенных исследований по анализу содержания биологически активных веществ и определению общей антиоксидантной активности представлены в Таблице.

Таблица – Содержание биологически активных веществ и общая антиоксидантная активность плодов *Rubus chamaemorus* L.

Объект исследования	Содержание внутриклеточных фенольных соединений, мг-экв галловой кислоты / г абсолютно сухого сырья	Содержание флавоноидов, мг-экв рутина / г абсолютно сухого сырья	Общая антиоксидантная активность (ОАА), %
Плоды морошки приземистой,	33,02±2,12	9,25±0,96	56,52±2,38

Республика Беларусь, заказник «Лонно»			
Плоды морошки приземистой, Латвийская Республика	25,10±1,87	7,58±0,68	41,18±2,44
Плоды морошки приземистой, Российская Федерация, Республика Карелия	20,53±1,54	6,83±0,61	35,24±1,85

Благоприятными условиями для произрастания морошки являются следующие: высокий уровень влажности воздуха и почвы, неглубокое прохождение подземных вод, стабильный уровень температур без резких перепадов, высокий уровень освещенности.

Северный регион РБ является южной грацией ареала обитания морошки приземистой и характеризуется не самыми оптимальными климатическими условиями для жизнедеятельности данного вида растения. Для указанного региона характерно наличие таких стрессовых факторов для морошки, как средний уровень освещенности, низкая влажность и резкие перепады температур. В связи с этим мы наблюдали высокое содержание фенольных соединений, в том числе флавоноидов в плодах морошки, произрастающей в заказнике «Лонно». В тоже время северные популяции (Республика Карелия) характеризуются низким накоплением указанных вторичных метаболитов. Так как фенольные соединения вносят основной вклад в формирование антиоксидантных свойств, то их содержание коррелирует с общей антиоксидантной активностью экстрактов. Наибольшее значение ОАА имел образец плодов заказника «Лонно» (Республика Беларусь) в сравнении с образцами РФ и Латвии. Таким образом, очевидно, что содержание фенольных соединений и флавоноидов зависит от геоклиматических условий произрастания популяции.

ВЫВОДЫ

Полученные результаты позволяют сделать выводы о межпопуляционных различиях содержания фенольных соединений и антиоксидантной активности плодов морошки приземистой. Наиболее перспективным источником фенольных соединений для разработки фитопрепаратов с антиоксидантной активностью является популяция, произрастающая на территории Республики Беларусь.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Государственная фармакопея Республики Беларусь. В 2 т. Т. 1. Общие методы контроля качества лекарственных средств / Центр экспертиз и испытания в здравоохранении; под общ. ред. А. А. Шерякова. – Молодечно: Победа, 2012. – 1220 с.

2. Singleton, V. L. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent / V.L. Singleton, R. Orthofer, R. M. Lamuela-Raventós // Methods in Enzymology. – 1999. – Vol. 299. – P. 152–178.

3. Мальцева, Е.М. Количественное определение суммарного содержания флавоноидов в траве кровохлебки лекарственной / Е.М. Мальцева, Н.О. Егорова, И.Н. Егорова // Вестник уральской медицинской академической науки. – 2011. – № 3(1). – С. 68.

4. Rahini, D. In-vitro antioxidant activity of *Artabotrys hexapetallus* / D. Rahini, R. Anuradha // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. – 2014. – Vol. 5(2). – P. 396–405.

INTERPOPULATION DIFFERENCES IN THE CONTENT OF BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES OF CLOUDBERRY FRUITS (*RUBUS CHAMAEMORUS* L.)

Strakh Ya. L.[a)], Associate Professor, Ph.D. in Biology Ignatovets O. S.,
Associate Professor, Ph.D. in Chemistry V. N. Leontiev
Belarusian State Technological University, Republic of Belarus, Minsk, Sverdlova str., 13 a, 220006
a) corresponding author – y.strakh@gmail.com

Abstract. The study of the biological activity of plants is of considerable interest both for the search for new sources of raw materials for the creation of herbal treatment and for the analysis of growing conditions. The antioxidant activity of plants is manifested due to the presence of a whole spectrum of phenolic compounds, the biosynthesis of which depends on a number of factors. The paper presents the results of studies on the content of phenolic compounds, including flavonoids, in the fruits of cloudberries populations growing in different geoclimatic zones of the habitat of this plant species. An assessment of the prospects of using the fruits of cloudberry for the development of herbal preparations with antioxidant activity is given. It was revealed that the most promising source of phenolic compounds with antioxidant activity is the population growing on the territory of the southern border of the habitat (Republic of Belarus).

Keywords: *cloudberry, Rubus chamaemorus* L., *population, fruits, phenolic compounds, flavonoids, antioxidant activity.*

УДК 57.016 DOI: 10.52101/9785870191003_2021_346

ACETYLCHOLINESTERASE INHIBITORY ACTIVITY OF ARTSAKH TRADITIONAL ANTIDIABETIC REMEDY

Sukiasyan L. M.[1], PhD in Biology Danielyan M. H.[1],
PhD in agriculture Hovhannisyan L.E.[2], DSc in agriculture BabakhanyanM. A.[2, 3],
PhD in biology Simonyan K. V.[1,], PhD in biology Isoyan A. S.[1],
PhD in biology Avetisyan L. G.[1], PhD. in biology Lorikyan A. G.[1],
DSc in biology Chavushyan V. A.[1, a)]

1 - Laboratory of Neuroendocrine Relations, L. Orbeli Institute of Physiology of NAS, Armenia, Yerevan, 22 Orbeli br. str., 0028
2 - G.S. Davtyan Institute of Hydroponics Problems, NAS, Armenia, Yerevan, Noraghyugh 108, 0082
3- Scientific Center of Artsakh, Artsakh (Nagorno-Karabakh), Stepanakert, 26 Tigran Metsi str.
a) corresponding author – verginechavushyan@gmail.com

Abstract. Type 2 diabetes (T2D) is known to be at a high risk for cognitive decline and dementia. Therefore, the effects of antidiabetic agents in regard with the cognitive decline are discussed. At the same time, T2D is known a sone of the most common and economically impacting chronic diseases and from the ethno-pharmacological point of view, the medications of natural origin are cost-effective therapy. In this proof-of-concept study, we examined whether Artsakh ethno-botanical medicinal herbal collection Diabephyt can act on the plasma and brain acetylcholinesterase (AChE) and become a beneficial antidiabetic agent with therapeutic potential for cognition enhancement in diabetic dementia. Galantamine is approved as an AChE inhibitors and is considered as a first-line therapy for dementia, therefore, it has proven to be a positive control. Our study highlights the important role of plasma and brain AChE as a target of Diabephyt *in vivo,* when introduced into rats. Our data support the hypothetical concept that the synergistic effects of Diabephyt herbal combinations may have a significant effect in the acetylcholine-mediated prevention of T2D complications. A characteristic feature of T2D is polymorbidity (cardiovascular diseases, breakage of antioxidant systems, chronic inflammation, neuropathy), which underlines the expediency and necessity for targeted, intensified, multifactorial intervention.
Keywords: *antidiabetic plant collection, dementia, acetylcholinesterase inhibitors*

INTRODUCTION

Acetylcholinesterase (AChE) inhibitors are widely used for enhance central cholinergic transmission and improve memory. The plant with the ability of inhibiting the enzyme AChE increases the levels of the neurotransmitter acetylcholine in the brain, thus improving cholinergic functions in patients with Alzheimer's disease (AD) and alleviating the symptoms of dementia [1]. Nowadays, research is mainly focussed on natural molecules from plants as prominent sources of new or rather more effective AChE inhibitor [2]. Different plant families have been reported in traditional medicinal practices having the potential to inhibit AChE. Families like Acanthaceae, Amaranthaceae, Amaryllidaceae, Anacardiaceae, Apiaceae, Illiciaceae, Lamiaceae, Zingiberaceae, Solanaceae, Rutaceae and Polygonaceae are reported for having AChE inhibitory activities [1-3]. Galanthamine, a natural alkaloid firstly isolated by soviet scientists Mashkovsky and Kruglikova-Lvova from bulbs of Caucasian snowdrops *Galanthus* sp. in the early 1950s and chemical synthesis was introduced in the following decades [4]. The drug was approved by US-FDA in 2001 and is considered as a first-line therapy for dementia.

Pathogenesis of AD is complex and the current anti-AD strategy depends largely on single-targeted drugs, like AChE inhibitors. Many drugs targeting these pathways have been developed and shown but the effects of these drug's are quite limited and new anti-AD agents are multi-target directed [5]. Combination therapy comprising several anti-AD drugs or multipotent agents in one pill (cocktail therapeutics) may have very good efficacy [6] to avoid drug interactions and control

pharmacokinetic behaviors. Thus, finding naturally occurring multi-potent agents attracted much attention.

There is evidence that the link between AD and T2D includes decreased brain insulin signaling and glucose metabolism, neuroinflammation, neurotransmitter alteration, and vascular disease [7]. Numerous clinical studies have highlighted the potential of traditional Chinese medicine (based on complex formulation,) in the treatment of diabet-related cognitive decline [8]. These proposed mechanisms include various diabeticspecific factors or signalling pathways that may influence cognitive functioning, such as hyperglycemia, insulin deficiency, microvascular complications, and inflammation [8].

The ethno-botanical medicinal herbal collection "Diabephyt" are traditionally used in Artsakh as an antidiabetic agent. "Diabephyt" phytocollection includes leaves of Stevia rebaudianaBertoni, fruit and leaves of Lycium barbarum L., Ganoderma lucidum mushroom, leaves of Leonurus cardiac L., fruits of Sambucus nigra L., leaves of Smilax officinalis, L., leaves of Melissa officinalis L., leaves of Mentha piperita L., flowers and leaves of Hypericum perforatum L. Previously, the effectiveness of complex treatment (phytocollection+diabeton) in diabetes mellitus in volunteers has been studied [9], as well as effects of Diabephyt on the cardiovascular changes in condition metabolic disordersinduced by dietary fructose overload [10]. Our data suggest the neuroprotective effect of Diabephyt on synaptic plasticity in cholinergic projections of the brain of rats under conditions of fructose-induced diabetes the (results are published in the form of an abstract) [11]. The results of our studies, as well as literature data about pharmacological properties of plants making up Diabephyt suggest that neuroprotective mechanisms are associated with the AChE inhibitory activity of this phytocollection.

Thus, the objective of this study was to determine changes in the level of AChE activity evoked by phytotherapy with medicinal herbal collections Diabephyt compared with Galantamine in blood plasma and in the brain.

MATERIALS AND METHODS

Materials

Diabephyt phytocollection content: Stevia rebaudiana Bertoni – 15 % ; Lycium barbarum L. – 15 %; Ganoderma lucidum – 15 %; Leonurus cardiac L. – 10 % ; Sambucus nigra L. – 15 % ; Smilax officinalis L. – 8 % ; Melissa officinalis L. – 8 % ; Mentha piperita L. – 8 % ; Hypericum perforatum L. – 6 %.

Preparation of the infusion on the basis of phytocollection was carried out immediately before use, as follows: 10g of the phytocollection was previously ground to a powdery state with a pestle in a porcelain mortar, after which the resulting powder was placed in a glassy flask with 200 ml of hot drinking water (+60°C).The flask was heated in a boiling water bath for 15 minutes, and then cooled at room temperature for 1 hour. At the end, the infusion was filtered and brought to a volume of 200 ml by the boiled water adding. To determine the optimal volume of fluid introduced intragastrically through a probe, the data of A.V. Rybakova et al., 2018 were used (https://doi.org/10.30895/1991-2919-2018-8-4-207-217).

Total 75 rats were divided into 3 groups with 25 mice each. In each group, 20 rats were used for plasma AChE test and the 5 rats were used for brain AChE test.group 1 (control) – rats were fed 2 times a day through a probe with drinking boiled water at the rate of 10 ml/kg/day, for 3 weeks;group 2 (Galantamine) – rats were administered by a solution the drug Nivaline (galantamine hydrobromide) (Sopharma, Bulgaria) at the rate of 0.2 mg/kg/day for short-term (3 weeks of 5 daily injections/week) through a probe 2 times per day; group 3 (Diabephyt) – rats were administered by infusion of “Diabephyt” herbal collection at the rate of 10 ml/kg/day during short-term period (3 weeks of 5 daily injections /week) through the catheter 2 times a day.

Methods

After 3 weeks, 12 hours before the blood collection, the feeding of the animals was stopped, while ensuring free access of the animals to the drinker (*ad libitum*). Blood sampling was performed

by the heart puncture in rats previously brought into a state of deep anesthesia, using a disposable sterile syringe with a volume of 10 ml. The procedure was performed under the "zoletil-xylazine" anesthesia by intramuscular injection of 20 mg/kg of telazol ("Zoetis Inc.", USA) and also of 6 mg/kg of xylanit ("NITA-PHARM", Russia).

Determination of acetylcholinesterase activity in rat blood plasma was performed by colorimetric method using the AChE Assay Kit (Colorimetric) (Abcam, cat. number ab138871); all the manipulations were performed according to the manufacturer's protocol (https://www.abcam.com/acetylcholinesterase-assay-kit-colorimetric-ab138871.html). For the measurements, a SpectraMax 250 micro-plate reader (Molecular Devices) was used.

Statistical processing of the study results was carried out using the software "MSExcel 2010" ("Microsoft", USA) and "Statistica 13" ("StatSoftInc", USA). When using the Shapiro-Wilk test, the null hypothesis about the normal distribution of features in the studied groups was adopted, and in this connection, the methods of parametric statistics were further applied. To describe the results, there were used the following descriptive statistical indices: arithmetic mean, confidence intervals for the arithmetic mean (Confidence±95), standard deviation (SD), and standard error of the mean (SE). The difference between the arithmetic mean values of the indices was expressed as a percentage change. The two-sided Student's test was used to test the null hypothesis, that there were no statistically significant differences in paired comparisons of independent groups; $p \leq 0.05$ was set as the critical level of significance. To assess the effect of encountered intervention on the studied indices, a single-factor analysis of variance (ANOVA) was used, and at the $F > Fcr$ with $p < 0.05$, the null hypothesis of the absence of the effect of the studied intervention was rejected.

To determin AChE activity the rats of group norm (n=5), Galantamine (n=5), Diabephyt (n=5) were sacrificed by decapitation under deep anesthesia (Pentobarbital 50 mg/kg, intraperitoneal) .The brains were isolated and the activity of AChE in the amygdala and nucleus basalis magnocellularis (NBM) was determined using Karnovsky and Roots method [12]. The basis of the method is that thiocholine is belived to reduce ferricyanide to ferrocyanide preferentially. The latter combines with Cu^{++} ions to form the insoluble copper ferrocyanide. The Cu^{++} ions in the medium are complexed with citrate to prevent formation of copper ferricyanide. The thiocholine ester used as substrate is hydroliysed by cholinesterase, and the liberated thiocholine is captured by Cu^{++} ions, precipitating as colorless copper thiocholine. The latter is converted to brownish CuS by treatment with sulfide. The method is performed as follows: blocks of tissues are fixed overnight in cold 10% formalin containing 1% $CaCl_2$ and are then kept in 0.88 M sucrose-1% gum arabic. Section are cut in a cryostat, and are incubated. The medium is made as follows: 5 mg substrate (acetyl thiocholine iodide) is dissolved in 6.5 ml 0.1 M sodium hydrogen maleate buffer, pH 6.0. The following are added in order: 0.5 ml 0.1 M sodium citrate, 1 ml 5 mM potassium ferricyanide. The stock solutions keep in the cold for several weeks. The final incubation medium is clear, greenish in color, and is stable for hours.

RESULTS AND DISCUSSIONS

Since the neuropathological changes of cognitive deficit have been linked to oxidative damage and cholinergic dysfunction, free radical scavengers and AChE inhibitors have been commonly used to treat these conditions [13]. A phyto-collection Diabephit has traditionally been used in Artsakh as an antidiabetic, but now it is the first time test in scientific-research experiment concerning various physiological aspects.

Our research found that acetylcholine in plasma in the norm was (184.03±1.08) mU/ml. 3 weeks after oral administration of Galantamine, acetylcholine level in plasma decreased to(141.06±4.41) mU/ml ($P<0.05$), and after oral administration of Diabephyt– (158.14±0.68) mU/ml ($P<0.05$) (Table 1).

Table 1 -The acetylcholinesterase activity in rat blood plasma, mU/ml

Index	Groupcontrol	GroupGalantamine	GroupDiabephyt
Mean	184.03	141.06	158.14
Confidence±95	0.50	2.06	0.32
SD	1.08	4.41	0.68
SE	0.24	0.99	0.15
F=1333.25, p<0.0001			

An inverse relationship was seen between ACh levels and AChE activities in the whole brain [14]. Contemporary anatomical theories suggest a highly differentiated topographic organization of the cholinergic system is known [15], however there are restrictions regarding the acetylcholine detection. However, recent studies have shed light on the sparse, selective targeting of cholinergic cell types but failed to reveal their overall topographic and anatomical organization [16, 17]. The advantages of Karnovsky, Roots method are: color is produced directly at the site of enzymatic activity, facilitating eastimation of the optimum incubation time; the precipitate is finely granular, so that, even with prolonged incubation, needle-like deposits are not observed; intense color and contrast can consequently be produced, and sites of low activity more easily detected. Compared to the norm (Fig. 1A; Fig. 2A), under action of Galantamine and Diabephyt in amygdala and NBM, there is a slight increase in precipitation (increase in AChE activity) in Galantamine rat group (Figure 1B; Figure 2B) and in the Diabephyt group (Figure 1C; Figure 2C).The most pronounced increase in AChE activity was found in NBM of Diabephyt group.

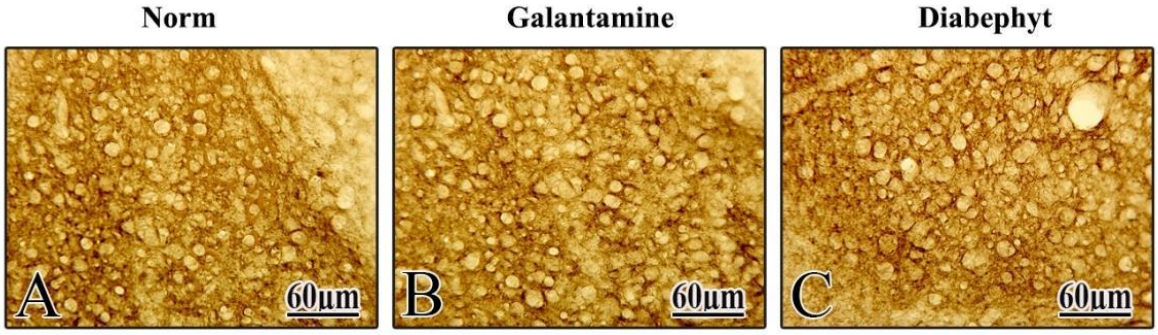


Figure 1 -AChE demonstration on a 20 µm thick section of rat amygdala by Karnovsky and Roots method. A - norm; B - norm + Galantamine; C - norm + Diabephyt. Magnification: × 160

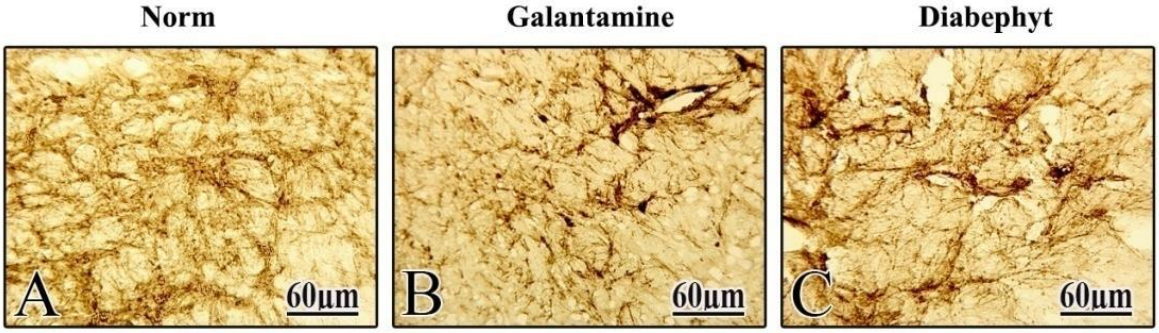


Figure 2 -AChE demonstration on a 20 µm thick section of rat nucleus basalis magnocellularis (NBM) by Karnovsky and Roots method. A – norm; B – norm+Galantamine; C – norm+Diabephyt. Magnification: × 160

This effect is probably mediated through a regulatorycontrol of high-affinity choline transport in responseto ACh increases following AChE inhibitionrather than by a direct interactionwith the transporter. It is known that Galantamine modestly inhibits acetyl cholinesterase and has an allosteric potentiating ligand effect at nicotinic receptors [18]. Galantamine (Diabephyt cannot be excluded) is

allosteric modulator and interacts with the receptor through binding sites that are distinct from those for acetylcholine and nicotinic agonists and antagonists. According to our results in the Galantamine and Diabephyt groups, insignificant differences in AChE intensity have been found by Karnovsky and Roots method. In addition, we shall notice, that in the blood plasma in the same groups the AChE activity indices decreased significantly compared with the norm.

It is believed that galantamine may interact with the cholinergic anti-inflammatory pathway via direct modulation of the α7 nAChR, and galantamine alleviates inflammation and insulin resistance in patients with metabolic syndrome [19]. A link between inflammation, neuroinflammation, and cognitive deterioration has also been identified. Of note, galantamine, have been shown to alleviate neuroinflammation and improve cognition in preclinical studies [20].

Many molecules from natural sources likepolyphenols, flavonoids, tannins, anthocyanidins are potent AChE inhibitors and perhaps play a vital role as an antioxidant and robust metal chelator which may contribute in reducing oxidative stress of the tissue affected in AD [21, 22].

*Stevia rebaudiana*has a large overall proportion of phenols, up to 91 mg/g [23] .Stevia is a non-caloric sugar substitute with anti-diabetic effects and well-known commercial herbal medicine grown in Artsakh since 2012 [24].

Polyphenols, an important type of natural products, are notable constituents in *Lycium barbarum*. 53 polyphenols, including 28 phenylpropanoids, four coumarins, eight lignans, five flavonoids, three isoflavonoids, two chlorogenic acid derivatives, and three other constituents, were identified from Lycium barbarum. All these compounds exhibited oxygen radical absorbance capacity, some compounds displayed radical scavenging activity, and one compound had AChE inhibitory activity [25].

The ethanolic and various extracts from the plant roots of Smilax china manifestAChE inhibitory activity and recommend to treat the AD [26]. The methanol extract of *Hypericum perforatum* had significant anticholinesterase and antioxidant properties [27**]** .

Elderberry plant *(Sambucus nigra)* has medicinal properties associated with the presence of polyphenols, which are compounds with potential antioxidant properties. They can greatly affect the course of disease processes by counteracting oxidative stress, exerting beneficial effects on blood pressure, glycaemia reduction, increase in the activity of antioxidant enzymes in the blood plasma [28].

Ganoderma lucidum is a well-known drug used in traditional Chinese medicine for treating diabetes [29]. *Ganoderma lucidum* enriched with triterpenoids and polysaccharide which maintain the balance between free radical production and antioxidant status. The triterpenes and polysaccharides, isolated from *Ganoderma lucidum*, manifest anti-AChE effects [30].

It is known that, Lamiaceae species (Leonurus cardiac L., Melissa officinalis L., Mentha piperita L.) are a rich source of various natural AChE inhibitors and antioxidants that could be useful in the prevention and treatment of AD [3].

All properties of plants referred to above in Diabephyt composition under complex exposure may have a significant effects in alleviation of T2D complications. A characteristic feature of T2D is polymorbidity (cardiovascular diseases, breakage of antioxidant systems, chronic inflammation, neuropathy), which underlines the expediency and necessity for targeted, intensified, multifactorial intervention. Our data support the hypothetical concept that the synergistic effects of Diabephyt herbal combinations may have a significant effect in the ACh-mediated prevention of T2D complications.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Murraya, A. P. Natural AChE Inhibitors from Plants and their Contribution to Alzheimer's Disease Therapy / A. P. Murraya, M. B. Faraonia, M. J. Castroa, N. P. Alzaa, V. Cavallaro // Current Neuropharmacology. –2013. – V.11. – N4. – 388-413.
2. Patel, S. Sh. Medicinal plants with acetylcholinesterase inhibitory activity / S.Sh. Patel, R. Raghuwanshi, M. Masood, A. Acharya, S.K. Jain // Rev. Neurosci. – 2018. – 29. – 5. – 491-529.

3. Vladimir-Knežević, S. Acetylcholinesterase inhibitory, antioxidant and phytochemical properties of selected medicinal plants of the Lamiaceae family / S. Vladimir-Knežević, B. Blažeković, M. Kindl, J. Vladić, A.D Lower-Nedza, A. H. Brantner // Molecules. – 2014. – Jan 9. – 19(1). – 767-782.
4. Heinrich, M. Galanthamine from snowdrop - The development of a modern drug against Alzheimer's disease from local caucasian knowledge / M. Heinrich, H. L. Teoh, // J. Ethnopharmacol. –2004.–92. – 147-162.
5. Makhoba, X.H. Potential Impact of the Multi-Target Drug Approach in the Treatment of Some Complex Diseases / X.H. Makhoba, C. Jr. Viegas, R.A. Mosa, F.P.D. Viegas, O.J. Pooe // Drug Des Devel Ther. – 2020. – 11. – 14. – 3235-3249.
6. Geldenhuys, W.J. The emergence of designed multiple ligands for neurodegenerative disorders / W.J. Geldenhuys, M.B. Youdim, R.T. Carroll, C.J. Van der Schyf // Prog Neurobiol. – 2011. – 94. – 4. – 347-359.
7. Papazafiropoulou, A. K. Diabetes and dementia – the two faces of Janus / A. K. Papazafiropoulou, Ch. Koros, A. Melidonis, S. Antonopoulos // Arch Med Sci Atheroscler Dis. –2020. –Jul 21. –5. – e186-e197.
8. Seto, S. W. Diabetes Mellitus, Cognitive Impairment, and Traditional Chinese Medicine / S. W. Seto, G. Y. Yang, H. Kiat, A. Bensoussan, Y. W. Kwan, D. Chang // Int J Endocrinol. –2015. – 2015. –810439.
9. Nahapetyan, Kh. H. Experimental and clinical study of the action of Artsakh phytopreparationdiabefit (DBF), stevia (SrB) and diabeton (DBN) in complex treatment of diabetes / Kh.H. Nahapetyan, M.A. Babakhanyan, A.S. Isoyan, L.E. Hovhannisyan, K.V. Simonyan, R. A. Avetisyan, K.A. Nebogova, L.G.Avetisyan // J Medical Science of Armenia. – 2019. – LIX. – 1. –95-101.
10. Avetisyan, L.G. Effects of phytotherapy on the cardiovascular changes induced by fructose overload / L.G.Avetisyan, L.M. Sukiasyan, M.A. Babakhanyan, L.E. Hovhannisyan, K.V. Simonyan, Kh.H. Nahapetyan, A.S. Isoyan, R.A. Avetisyan, V.A Chavushyan // Electronic Journal of Natural Sciences. – 2019. – 33(2) .–14-20.
11. Sukiasyan, L. M. Evaluation of the neuroprotective efficacy of acetylcholinesterase inhibitory therapy in a diabetes model / L. M. Sukiasyan, L. G. Avetisyan, A. S. Isoyan, K. V. Simonyan, M. A. Babakhanyan, V. A Chavushyan // JournalofEvolutionaryBiochemistryandPhysiology. – 2020. –V 56. – N 7.–.p 692.
12. Karnovsky, M. J. A « Direct-coloring» thiocholine method for cholinesterases / M. J. Karnovsky, L. Roots // J HistochemCytochem. –1964. – 12. – 219-221.
13. Benfeito, S. Exploring the Multi-Target Performance of Mitochondriotropic Antioxidants against the Pivotal Alzheimer's Disease Pathophysiological Hallmarks / S. Benfeito, C. Fernandes, S. Vilar, F. Remião, E. Uriarte, F. Borges // Molecules. – 2020. – 25. – 276.
14. McHardy, S.F. Recent advances in acetylcholinesterase Inhibitors and Reactivators: an update on the patent literature (2012-2015) / S.F. McHardy, H.L. Wang, S.V. McCowen, M.C. Valdez // Expert Opin Ther Pat. – 2017. – 27. – 4. – 455-476.
15. Zaborszky, L. Stereotaxic probabilistic maps of the magnocellular cell groups in human basal forebrain / L. Zaborszky, L. Hoemke, H. Mohlberg, A. Schleicher, K. Amunts, K. Zilles // Neuroimage. – 2008. – 42. – 1127-1141.
16. Li, X. Generation of a whole-brain atlas for the cholinergic system and mesoscopic projectome analysis of basal forebrain cholinergic neurons / X. Li, B. Yu, Q. Sun, Y. Zhang, M. Ren, X. Zhang, A. Li, J. Yuan, L. Madisen, Q. Luo, H. Zeng, H. Gong, Z..Qiu // PNAS.– 2018. –115. – 415-420.
17. Wu, H. Complete morphologies of basal forebrain cholinergic neurons in the mouse / H. Wu, J. Williams, J. Nathans // eLife. – 2014. –3. – e02444.

18. Xie, H. Therapeutic potential of α7 nicotinic acetylcholine receptor agonists to combat obesity, diabetes, and inflammation / H. Xie, N. Yepuri, Q. Meng, R. Dhawan, C.A. Leech, O.G. Chepurny, G.G. Holz, R.N. Cooney // Rev Endocr Metab Disord. – 2020. – 21. – 4. – 431-447.
19. Consolim-Colombo, F.M. Galantamine alleviates inflammation and insulin resistance in patients with metabolic syndrome in a randomized trial / F.M. Consolim-Colombo, C.T. Sangaleti, F.O. Costa, T.L. Morais, H.F. Lopes, J.M. Motta, M.C. Irigoyen, L.A. Bortoloto, C.E. Rochitte, Y.T. Harris, S.K. Satapathy, P.S. Olofsson, M. Akerman, S.S. Chavan, M. MacKay, D.P. Barnaby, M.L. Lesser, J. Roth, K.J. Tracey, V.A. Pavlov // JCI Insight. – 2017. – 2. – 14. – e93340.
20. Wang, T. Galantamine reversed early postoperative cognitive deficit via alleviating inflammation and enhancing synaptic transmission in mouse hippocampus / T. Wang, H.Zhu, Y. Hou, W. Gu, H. Wu, Y. Luan, et al. // Eur. J. Pharmacol. – 2018. – 846. – 63-72.
21. Balkis, A. Screening flavonoids for inhibition of acetylcholinesterase identified baicalein as the most potent inhibitor / A. Balkis, K. Tran, Y. Lee, K. Ng // J Agric Sci. – 2015. – 7(9). – 26–35.
22. Roseiro, L. B. Polyphenols as acetylcholinesterase inhibitors: Structural specificity and impact on human disease / L. B. Roseiro, A. P. Rauter, M.L.M. Serralheiro // Nutr Aging. –2012. – 1(2). – 99-111.
23. Shivanna, N. Antioxidant, anti-diabetic and renal protective properties of Stevia rebaudiana / N.Shivanna, M.Naika, F. Khanum, V.K. Kaul // Journal of Diabetes and Its Complications. – 2012. – 27 (2). – 103-113.
24. Babakhanyan, M. A. The production test, physiological influence and introduction of strategic cultured plant Stevia rebaudiana Bertoni in Armenia and Artsakh / M. A. Babakhanyan, L. E. Hovhannisyan, K. V. Simonyan, A. S. Isoyan, Sh. S. Zakaryan, V. T. Kochikyan, A. G. Ghukasyan // Electronic Journal of Natural Sciences. –2019. – V 31. – Issue 1. – 22-26.
25. Zhou, Zheng-Qun. Polyphenols from wolfberry and their bioactivities / Zheng-Qun Zhou, Jia Xiao, Hong-Xia Fan, Yang Yu, Rong-Rong He, Xiao-Lin Feng, Hiroshi Kurihara, Kwok-Fai So, Xin-Sheng Yao, Hao Gao // Food Chem. –2017.– Jan 1. – 214. – 644-654.
26. Yokeshwaran, A. Anticholinesterase activity of plant extracts of Smilax zeylanica and Smilax china / A. Yokeshwaran, V.V. Venkatachalam, B. Sabarisenthil, V. K: Kalaichelvan // Int J Pharm Sci & Res. – 2020. – 11(9). – 4370-74.
27. Altun, M. Assessment of cholinesterase and tyrosinase inhibitory and antioxidant effects of *Hypericum perforatum* L. (St. John's wort) / M. L. Altun, B. S. Yilmaz, I. E. Orhan, G. S. Citoglu // Ind. Crops Prod. – 2013– 43. – 87-92.
28. Sidor, A. Advanced research on the antioxidant and health benefit of elderberry (Sambucus nigra) in food / A. Sidor, A. Gramza-Michałowska // Journal of Functional Foods. – 2015. – V18 – Part B. – 941-958.
29. Deepalakshmi, K. Therapeutic properties and current medical usage of medicinal mushroom: *Ganoderma lucidum* / K. Deepalakshmi, S. Mirunalini // Int J Pharm Sci Res. – 2011. –2. –1922-1929.
30. Cör, D. Antimicrobial, Antioxidant and Antiacetylcholinesterase Effect of Ganoderma Lucidum Terpenoids and Polysaccharides: A Review / D. Cör , Ž. Knez, M. KnezHrnčič // Antitumour, Molecules. – 2018. – 23. – 649.

АЦЕТИЛХОЛИНЕСТЕРАЗ-ИНГИБИТОРНАЯ АКТИВНОСТЬ АРЦАХСКОГО ТРАДИЦИОННОГО АНТИИДАБЕТИЧЕСКОГО СРЕДСТВА

Сукиасян Л. М. [1], к.б.н. Даниелян М.А.[1], к.с-х.н. Оганесян Л. Э. [2],
д.с-х.н. Бабаханян М. А. [2, 3], к.б.н. Симонян К. В. [1,], к.б.н. Исоян А. С. [1],
к.б.н. Аветисян Л. Г. [1], к.б.н. Лорикян А. Г. [1], д.б.н. Чавушян В. А. [1, a)]

1 - Лаборатория нейроэндокринных взаимоотношений, Институт физиологии им.акад. Л.А.Орбели НАН, Армения, Ереван, ул. бр. Орбели 22, 0028

2 - Институт проблем гидропоники им. Г.С.Давтяна НАН, Армения, Ереван, Норагюх 108, 0082

3 - Научный Центр Арцаха, Арцах (Нагорный Карабах), Степанакерт, ул. Тиграна Меца 26 а)

а) автор для переписки - verginechavushyan@gmail.com

Аннотация. Сахарный диабет 2 типа (СД2) снижает когнитивные функции и повышает риски деменций. Поэтому обсуждаются влияния противодиабетических средств на пониженную когнитивную функцию. В то же время, СД2 известен как один из наиболее распространенных и экономически значимых хронических заболеваний, и с этно-фармакологической точки зрения лекарства природного происхождения являются экономически эффективной терапией. В данном экспериментальном исследовании мы изучили, может ли арцахский этно-ботанический сбор лекарственных трав Диабефит воздействовать на ацетилхолинэстеразу плазмы и головного мозга и стать полезным противодиабетическим средством с терапевтическим потенциалом для улучшения познавательной функции при диабетической деменции. Галантамин одобрен в качестве ингибитора ацетилхолинэстеразы и рассматривается как препарат первой линии при лечении деменций, поэтому использован нами в качестве положительного контроля. В данном изучении в in vivo хронических исследованиях на крысах доказана важная роль ацетилхолинэстеразы плазмы и головного мозга в качестве мишени для Диабефита. Данные подтверждают гипотетическую концепцию о том, что синергичные эффекты комбинаций трав Диабефита могут иметь значительный эффект в ацетилхолин-опосредованной профилактике осложнений диабета. Характерной особенностью СД2 является полиморбидность (кардиоваскулярные заболевания, повреждение антиоксидантных систем, хроническое воспаление, нейропатии), что диктует целесообразность и необходимость интенсивных мультифакторных вмешательств.

Ключевые слова: *антидиабетический растительный сбор, деменция, ингибиторы ацетилхолинэстеразы*

УДК: 615.322 DOI: 10.52101/9785870191003_2021_354

ОБОСНОВАНИЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ СЫРЬЯ *SESBANIA SESBAN* (L.) В КАЧЕСТВЕ ПЕРСПЕКТИВНОГО ИСТОЧНИКА БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

Ал Зангилиги М. М. А.[a)], к.фарм.н. Мусса Рамадан, к.х.н. Александрова Е. Ю., доцент, д.фарм.н. Суслина С.Н.

Российский Университет Дружбы Народов, Россия, Москва, ул. Миклухо-Маклая, д.6, индекс 117198.

а) автор для переписки – mariam.salih@mail.ru

Аннотация. Целью данной работы является оценка перспектив медицинского использования сырья *Sesbania sesban* (L.) *S.sesban*, произрастающей на территории Ирака, для получения новых лекарственных средств, обладающих антибактериальной, противогрибковой и противовоспалительной активностью. Сырье *S.sesban* широко применяется в народной медицине для лечения инфекций бактериального и вирусного происхождения. Осуществлен прогноз фармакологической активности биологически активных соединений, содержащихся в различных частях *S.sesban* на основании литературных данных с помощью веб-сервиса PASS. На основании проведенных качественных реакций в водном извлечении из сырья *S.sesban* обнаружены сапонины, а в спиртовых извлечениях установлено присутствие флавоноидов и дубильных веществ. Определены ключевые числовые показатели сырья: фракционный состав, влажность, насыпной объем и насыпная плотность измельченного высушенного растительного материала. Установлено содержание экстрактивных веществ и коэффициенты поглощения экстрагентов в водном извлечении и спиртовых извлечениях с различным содержанием спирта.

Ключевые слова: *Sesbania sesban, сапонины, антибактериальная, противовирусная активность, числовые показатели.*

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время особую актуальность приобретает научная оценка опыта этнофармации в получении и использовании средств растительного происхождения. Научно обоснованное использование средств народной медицины в виде современных лекарственных форм повышает качество лекарственной помощи и гарантирует эффективное лечение широкого спектра заболеваний в регионах Мира, затронутых военными и политическими конфликтами. Известно, что биологически активные соединения (БАС), содержащиеся в растениях, по своей структуре родственны естественным метаболитам человека, менее токсичны, и оказывают мягкое комплексное воздействие. Антибактериальные средства растительного происхождения (эвкалимин, сангвиритрин) отличаются более медленным формированием резистентной флоры по сравнению с препаратами синтетического происхождения. На данный момент фармацевтический рынок, особенно развивающихся стран нуждается в расширении ассортимента лекарственного растительного сырья (ЛРС) ввиду его территориальной и экономической доступности и значительного опыта использования в народной медицине как источника эффективных средств противовоспалительного, антимикробного, противовирусного действия. Одним из продуцентов антибактериальных веществ может служить *Sesbania sesban* (L.), Fabaceae.

Sesbania sesban (L.) — это кустарник или небольшое дерево с мягкой древесиной, в диком виде встречается в Африке (Египет, Эфиопия, Кения, Уганда) и Азии (Ирак, Иран, Индия, Пакистан, Малайзия, Йемен), а также часто культивируется в Австралии и США [1].

S. sesban широко применяется в народной медициной регионов произрастания для получения средств противовоспалительного [2], противомикробного [3, 4],

противодиабетического [5], противопротозойного [6], антиоксидантного [3, 4], обезболивающего [2], стимулирующего ЦНС [7], спермицидного [5], вяжущего, ветрогонного, слабительного [8], снотворного [9], успокаивающего и глистогонного действия [2].

По мнению известного иракского ученого, профессора Модафера Дауда (Mothafer Dawood) из университета г. Мосула, различные части *S.sesban* могут применяться в качестве источника средств, используемых совместно с противовирусными препаратами, поскольку известно высокое содержание витаминов и минералов, укрепляющих иммунную систему. Также сырье *S.sesban* применяется в Ираке для лечения кожных заболеваний. Млечный сок, капающий с веток и листьев известен, в народе, как средство, успокаивающее нервную систему. Известно использование свежих корней и листьев для лечения укусов скорпиона, фурункулов и абсцессов. Листья используются для лечения ангины, гонореи и сифилиса, а также для приготовления чая, который обладает антибактериальным и глистогонным действиями.

По данным литературы [5, 10] в листьях *S.sesban,* произрастающей в Индии, выявлено содержание кемпферола. В цельном растении обнаружены такие соединения, как кампестерин, β-ситостерин, цианидин, дельфинидин, тритерпеноидные сапонины, шавелевоуксусная, пировиноградная, олеаноловая, пальмитиновая, стеариновая, олеиновая, линолевая, линоленовая кислоты. Цветки содержат гликозиды цианидина и дельфинидина, флавонолы, а семена содержат сапонины, пальмитиновую, стеариновую, лигноцериновую, олеиновую, линолевую, линоленовую кислоты [5]. Из экстракта корней *S.sesban* выделен 3-β-D-глюкуронид олеаноловой кислоты [11]. Однако, химический состав данного растения изучен не полностью, не выявлен целевой фрагмент метаболома (ЦФМ).

Результаты исследований ученых из разных стран свидетельствуют о перспективности разработки фитопрепаратов на основе сырья *S.sesban*. Таким образом, существует необходимость в более углубленном изучении сырья *S.sesban* с целью получения средств антимикробного действия.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы

Объектом исследования являются побеги S.sesban, заготовленные в сентябре 2020 года (до начала цветения) на территории Научного центра лекарственных трав Аль-рази в Багдаде (Ирак).

Методы

Сушку сырья осуществляли, разложив его тонким слоем под навесами, вдали от прямых солнечный лучей. Хранение сырья осуществляли в соответствии с ОФС.1.5.1.0001.15 Лекарственное растительное сырье [12]. Влажность цельных листьев определяли согласно ОФС.1.5.3.0007.15 Определение влажности лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов, при помощи влагомера Аквилон АВ-50. Измельчение сырья осуществлялось в мельнице аналитической фирмы IKA (модель A11B). Оценку фракционного состава проводили по методике, описанной в ОФС.1.1.0015.15 Ситовой анализ с использованием стандартных сит с размером отверстий от 0,5 до 3 мм, соответствующих требованиям ТУ 23.2.2068-89. Насыпной объем и насыпную плотность определяли в соответствии с ОФС.1.4.2.0016.15 Степень сыпучести порошков. Для получения извлечений измельченное сырье экстрагировали водой в соотношении, 40 % спиртом, 70 % спиртом и 90% спиртом в соотношении 1:10 согласно ОФС.1.4.1.0018.15 Настои и отвары. После отстаивания извлечения фильтровали через бумажный фильтр. Содержание экстрактивных веществ, извлекаемых водой и спиртом различной концентрации определяли в соответствии с ОФС.1.5.3.0006.15 Определение содержания экстрактивных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах. Коэффициенты поглощения экстрагентов определяли по методике, описанной в ОФС.1.5.3.0012.15 Определение коэффициента водопоглощения и расходного коэффициента лекарственного растительного сырья. Для этого сырье экстрагировали водой и спиртом

различной концентрации в соотношении 1:10. Для выявления возможной фармакологической активности биологически активных соединений, содержащихся в сырье S. sesban, использован веб-сервис PASS [13]. Качественные реакции на основные группы БАС проведены по общеизвестным методикам [14].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для первичной оценки перспектив медицинского использования ЦФМ S.sesban осуществлен прогноз потенциальной фармакологической активности БАС, описанных в научной литературе [5, 10, 11], результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1 - Прогноз фармакологической активности БАС, S.sesban на основании веб-сервиса PASS

БАС	Pa	Pi	Основные прогнозируемые свойства
Кемпферол	0,948	0,001	Антимутагенное
	0,894	0,002	Антигеморрагичекое
	0,856	0,003	Антиоксидантное
	0,851	0,010	Антисеборейное
	0,814	0,003	Кардиопротекторное
	0,715	0,008	Противораковое
Кампестерол	0,962	0,002	Антигиперхолестеринемическое
	0,867	0,005	Гиполипидемическое
	0,789	0,004	Лечение пролиферативных заболеваний
	0,802	0,018	Противоэкземное
	0,664	0,008	Противовирусное (грипп)
	0,606	0,018	Противогрибковое
	0,502	0,056	Противовоспалительное
3-β-D-глюкуронид олеаноловой кислоты	0,985	0,001	Гепатопротекторное
	0,830	0,003	Противовирусное (грипп)
	0,817	0,004	Антипротозойное
	0,785	0,002	Антиноцицептивное
	0,755	0,011	Иммуностимулирующее
	0,656	0,013	Противогрибковое
	0,635	0,011	Противораковое
Чикусетсусапонин-IVa	0,988	0,001	Гепатопротекторное
	0,970	0,002	Ранозаживляющее
	0,915	0,003	Антигиперхолестеринемическое
	0,796	0,002	Антиноцицептивное
	0,764	0,004	Противовирусное (грипп)
	0,728	0,013	Иммуностимулирующее
	0,645	0,009	Противораковое
	0,628	0,016	Противогрибковое
	0,633	0,026	Противовоспалительное
	0,645	0,012	Антипротозойное
Дельфинидин	0,887	0,002	Антимутагенное
	0,836	0,001	Вяжущее
	0,778	0,023	Антисеборейное
	0,759	0,008	Фибринолитическое
	0,749	0,004	Антиоксидантное

Данные PASS по веществам (кемпферол, кампестерин, 3-β-D-глюкуронид олеаноловой кислоты, чикусетсусапонин, дельфинидин), описанным в литературе сопоставимы с описанием фармакологических эффектов в опубликованных данных и опытом этномедицины. Обоснование перспектив использования S.sesban в качестве источника БАС, требует углубленного изучения состава этого растения и технологических свойств сырья для разработки технологии выделения БАС ЦФМ и его дальнейшего использования.

Предварительная оценка изучаемого сырья S.sesban на основные группы БАС проведена с помощью доступных реактивов для качественных реакций. Проведены качественные реакции на сапонины, алкалоиды, флавоноиды и дубильные вещества в водном и водно-спиртовых извлечениях, результаты представлены в таблице 2.

Таблица 2 - Результаты определения групп БАС в сырье S.sesban

Вид реакции	Результат реакции	Извлечение			
		вода	Водно-спиртовое, % спирта		
			40	70	90
Сапонины					
Пенообразование	Обильная и стойкая пена	+++	-	-	-
С раствором ацетата свинца 10 %	Осадок	+	-	-	-
Алкалоиды					
С кремневольфрамовой кислотой	Белый осадок	+	-	-	-
Раствор Люголя	Желтый осадок	-	-	-	-
Флавоноиды					
С раствором хлорида железа III	Черно-зеленое окрашивание	+	++	++	++
Цианидиновая проба по Шиноду	Розовое окрашивание	-	-	-	-
Дубильные вещества					
С железоаммонийными квасцами	Черно-зеленое окрашивание	-	+	+	+

Как видно из данных, представленных в таблице 2, наиболее выраженные эффекты обнаружены с помощью качественных реакций на сапонины, однако, как и в случае с алкалоидами только в водном извлечении. Флавоноиды присутствуют во всех извлечениях, а дубильные вещества только в спиртовых. Полученные данные предполагают дальнейшее углубленное изучение полярного и средне полярного фрагментов метаболома S.sesban, а также изучение числовых показателей и технологических характеристик, необходимых для препаративного выделения исследуемых фрагментов.

Результаты определения фракционного состава измельченного сырья S.sesban представлены в таблице 3.

Таблица 3 - Фракционный состав измельченного сырья S.sesban

Частицы сырья, оставшиеся на сите с отверстиями размером	Содержание фракции, %
3 мм	14,87±0,65
2 мм	44,30±0,73
1 мм	36,67±0,61
0,5 мм	2,69±0,05
Частиц, прошедших сквозь сито с отверстиями размером 0,5 мм	1,45±0,03

При проведении оценки фракционного состава измельченного сырья S.sesban было установлено преобладание фракций 1-3 мм, а также отмечено ,что измельченный материал характеризуется значительной хрупкостью, но при этом пылевые фракции незначительны.
С целью дальнейшей разработки методики выделения БАС ЦФМ из сырья S.sesban установлены некоторые числовые показатели и технологические характеристики, результаты которых представлены в таблицах 4 и 5.

Таблица 4 - Результаты определения технологических характеристик сырья S. sesban

Числовой показатель	Значение показателя
Влажность, %	5,47±0,4
Насыпной объем до уплотнения, мл	48±0,82
Насыпной объем после уплотнения (1250), мл	40±0,75
Насыпная плотность до уплотнения г/см3	0,21±0,094
Насыпная плотность после уплотнения (1250), г/см3	0,25±0,098
Коэффициент водопоглощения, мл/г	2,9±1,06
Коэффициент поглощения 40 % спирта, мл/г	2,6±0,22
Коэффициент поглощения 70 % спирта, мл/г	2,3±0,31
Коэффициент поглощения 90 % спирта, мл/г	1,9±0,20

Из исследованных числовых показателей можно отметить низкую влажность высушенного сырья 5,47 %. Установленные значения технологических характеристик насыпного объема и плотности будут использованы при разработке методик экстрагирования. Коэффициенты поглощения водно-спиртовых смесей зависит от содержания спирта и максимален при 0% - 2,9 мл/г и снижается при 90 % - 1,9 мл/г.
Результаты определения содержания экстрактивных веществ в исследуемом сырье представлены в таблице 5.

Таблица 5 – Содержание экстрактивных веществ, извлекаемых различными растворителями в сырье S.sesban

Экстрагент	Содержание экстрактивных веществ, %
Вода очищенная	26,64±0,46
40 % этанол	26,02±0,42
70 % этанол	33,53±1,33
90 % этанол	23,27±0,38

Результаты определения содержания экстрактивных веществ в сырье показывают возможность извлечения значительных количеств веществ различной полярности. Однако, наиболее истощающим экстрагентом является 70 % спирт, в него переходит более 30% веществ, что свидетельствует о наличии веществ полярно и средне полярного характера. Таким образом, необходимо углубленное изучение состава БАС ЦФМ S.sesban с помощью инструментов метаболомики.

ВЫВОДЫ

С помощью PASS in silico установлена потенциальная противовирусная, противогрибковая и противовоспалительная активности, что коррелирует с литературными данными и опытом народной медицины. Предварительная оценка наличия основных групп БАС с использованием качественных реакций показала присутствие сапонинов, алкалоидов, флавоноидов и дубильных веществ. Для проведения дальнейших углубленных исследований и получения фитопрепаратов, определены некоторые числовые показатели и технологические характеристик и сырья. Таким образом, растение S.sesban, произрастающее в Ираке является интересным объектом для изучения и перспективным источником ценных БАС.

БЛАГОДАРНОСТИ

Публикация выполнена при поддержке Программы стратегического академического лидерства РУДН.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Nirmal, S. A. Antinociceptive activity of *Sesbania sesban* (Linn) wood extracts, a preliminary study / S. A. Nirmal, J. H. Bairagi, A. N. Patil, S. C. Pal, C. D. Upasani, S. C. Mandal // Indian Journal of Experimental Biology.-2012.-Vol.50.-P.61-64.
2. Pravin, G. *Sesbania sesban* Linn: A Review on Its Ethnobotany, Phytochemical and Pharmacological Profile / G. Pravin, G. Priti, A. Shaikh, S. Sindha, M. S. Khan // Asian Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences.-2012.-Vol.2(12).-P.11-14.
3. Kathiresh, M. Bioactive compounds in *Sesbania sesban* flower and its Antioxidant and Antimicrobial activity / M. Kathiresh, P. D. Suganya, M. Saravanakumar // Journal of Phamacy Research.-2012.-Vol.5(1).-P.390-293
4. Mani, R. P. Phytochemical Screening and *In-vitro* Evaluation of Antioxidant Activity and Antimicrobial Activity of the Leaves of *Sesbania sesban (L) Merr* / R. P. Mani, A. Pandey, P. Tripathi, V. Kumudhavali, A. P. Singh // Free radicals and antioxidants.-2011.-Vol.3(1).-P.66-69.
5. Sandeep, K. Physico-Chemical and Phytochemical Investigation of Plant *Sesbania sesban.* / K. Sandeep, B. B. Singh, K. Narinder // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences.-2014.- Vol.5(1).-P.110-117
6. Newbold, C. J. Influence of foliage from African multipurpose trees on activity of rumen protozoa and bacteria / C. J. Newbold, S. M. El Hassan, J. Wang, M. E. Ortega, R. J. Wallace// British Journal of Nutrition.-1997.-Vol.78.-P.237-249
7. Naik, N. N. Central nervous system stimulant effect of extracts obtained from the barks of *Sesbania sesban* / N. N. Naik, H. L. Tare, A. K. Sherikar, S. R. Deore, G. Y. Dama // International journal of institutional pharmacy and life sciences-2011.-Vol.1(1).-P.77-92.
8. Nirosha, M. Antimicrobial activity of organic leaf extract of Sesbania sesban against gram negative pathogenic bacteria/M. Nirosha, K. Pavani, A. K. Priya, U. Haseena, S. Jyothsna//International Journal of Life science and Pharma Research.-2019.-Vol.9(2).-P.31-38.
9. Padumanonda, T. Determination of melatonin content in traditional Thai herbal remedies used as sleeping aids / T. Padumanonda, J. Johns, A. Sangkasat, S. Tiyaworanant // Daru-journal of faculty of pharmacy.-2014.-Vol.22(6).-P.1-5.
10. Sandeep, K. Evaluation of anti-bacterial activity of plant *Sesbania sesban*// K. Sandeep, B. Baljinder Singh, K. Narinder // International journal of pharmacy.-2014.-4(1).-P.385-396.
11. Bunma, S. A Review of the Economic Botany of Sesbania (Leguminosae) / S. Bunma, H. Balslev // Botanical review.-2019.- Vol.85(3).-P.185-251
12. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV-е изд. ч. 1,2-М.: НЦЭСМП, 2018. – 1447 с.
13. ГУ НИИ Биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича РАМН: программа PASS [Электронный ресурс]. – 2003. – Режим доступа: http://www.way2drug.com/PASSOnline/
14. Коренская И. М. Фитохимический анализ и стандартизация лекарственного растительного сырья/ И. М. Коренская, Н. П. Ивановская, О. А. Колосова, А. А. Мальцева.-М.:Воронеж, 2017.-78.

RATIONALE FOR THE USE OF *SESBANIA SESBAN* (L.) AS A PROMISING SOURCE OF BIOLOGICAL ACTIVE COMPOUNDS

Mariam Al Zangiligi [a)], Ph.D. in Pharmacy Ramadan Mussa.,
Ph.D. in Chemistry Alexandrova E. Y., D.Sc. in Pharmacy Suslina S. N.
Peoples Friendship University of Russia, Russia, Moscow, Miklukho-Maklaya street, 6, 117198
a) corresponding author – mariam.salih@mail.ru

Abstract. The purpose of this study is to assess the prospects for the medical use of plant materials of *Sesbania sesban* (L.) *S.sesban* growing in Iraq to obtain new drugs with antibacterial, antifungal and anti-inflammatory activity. *S.sesban* is widely used in folk medicine to treat bacterial and viral infections. A prediction of the pharmacological activity of biologically active compounds contained in various parts of *S.sesban* was carried out on the basis of literature data using the PASS web service. Based on the qualitative reactions carried out, saponins were found in the aqueous extract from the plant material of *S.sesban*, and the presence of flavonoids and tannins was established in the alcoholic extracts. The key numerical indicators of raw materials have been determined: moisture content, fractional composition, bulk volume and bulk density of crushed dried plant material. The content of extractives and the absorption coefficients of the extractants in the aqueous extract and alcoholic extracts with different alcohol content have been determined.

Keywords: *Sesbania sesban, saponins, antibacterial, antiviral activity, numerical values*

УДК: 615.322: 543.95 DOI: 10.52101/9785870191003_2021_361

АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ ЭКСТРАКТОВ GNAPHALIUM ULIGINOSUM L. (ASTERACEAE) В ОТНОШЕНИИ ЧЕЛОВЕЧЕСКИХ ПАТОГЕНОВ И ФИТОПАТОГЕНОВ

Белов Т. Г.[1a)], к.х.н. Теренжев Д. А.[1], к.х.н. Никитин Е. Н.[1], Рахмаева А. М.[1], Синяшин К. О.[2]

1 - Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Федеральный исследовательский центр «Казанский научный центр Российской академии наук», Российская Федерация, Республика Татарстан, г. Казань, ул. Лобачевского, дом 2/31., 420111
2 - ООО «ЭкоХимКонсалтинг», Российская Федерация, Республика Татарстан, г. Казань, ул. Академика Арбузова, дом 8, 420008
а) автор для переписки – belofftimur@mail.ru

Аннотация. В настоящей работе экстракты сушеницы топяной (Gnaphalium uliginosum L.) были оценены на предмет антимикробного действия при экстрагировании различными растворителями (70 % этанол, гексан, хлороформ и метил-трет-бутиловый эфир). Экстракты концентрировались с использованием роторного испарителя и перерастворялись в ДМСО. Антибактериальная активность экстрактов оценивалась по отношению к фитопатогенным грибам (*Alternaria solani* и *Fusarium graminearіu)* и грамположительным бактериям (*Rathayibacter iranicus* и *Clavibacter michiganensis)*; а также по отношению к человеческим патогенам: дрожжеподобным грибам (*Candida albicans)*, грамположительным бактериям (*Staphylococcus aureus)* и грамотрицательным бактериям (*Escherichia coli*).
Установлено, что по отношению к человеческим патогенам экстракты сушеницы топяной проявляют умеренную антимикробную активность (значения МИК варьировались от 625 до 1250 мкг/мл). В отношении к фитопатогенам наилучшая активность наблюдалась к грамположительным бактериям *Rathayibacter iranicus* (значения МИК у гексанового и хлороформного экстрактов - 125 и 78 мкг/мл соответственно). Полученные результаты могут быть полезны при дальнейших исследованиях для создания бактерицидов и фунгицидов природного происхождения.
Ключевые слова: *Gnaphalium uliginosum L., экстракты, антимикробная активность, фитопатогены, грамположительные бактерии.*

ВВЕДЕНИЕ

Лекарственные растения, благодаря наличию в своем составе биологически активных соединений, находят огромное применение в фармацевтической промышленности, также они нашли применение в сельском хозяйстве. Так за последние несколько лет экстракты растений с биологически активными группами стали использоваться для подавления бактериальных и грибковых патогенов сельскохозяйственных культур [1]. Так как данные средства безопасны для человека и окружающей среды [2], поиск биопрепаратов из растительных компонентов при разработке новых антибактериальных и противогрибковых веществ является одной из ключевых проблем.

Gnaphalium uliginosum L., представитель семейства сложноцветных (Asteraceae) - однолетнего растения, широко используемого в российской фитотерапии. Известно, что отвары и настои надземных частей G. uliginosum обладают противовоспалительными, вяжущими и антисептическими свойствами [3]. Лекарственным сырьем является собранная в фазе цветения и высушенная трава дикорастущих растений. Химические исследования обнаружили у Gnaphalium uliginosum L. флавоны, флавонолы, кофеилхиновую и кофеилглюкаровую кислоты [4], а также каротиноиды, дубильные вещества, фитостерины, дитерпенолы, стерины, тритерпены, витамин B_1, следы аскорбиновой кислоты и алкалоидов [5-7].

Цель данного исследования – изучение химического состава экстрактов G. uliginosum L, определение и сравнение бактерицидной и фунгицидной активности против человеческих патогенов и фитопатогенов. Представленные данные внесут обширный вклад в современные знания об антибактериальных свойствах сушеницы топяной и помогут оценить его потенциальную пользу при дальнейших исследованиях.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы. Надземная часть сушеницы топяной (*Gnaphalium uliginosum L.*) была собрана в болотистой местности села Васильево Зеленодольского района Республики Татарстан, Российская Федерация, в период с середины июля по начало августа 2020 года при температуре воздуха 23 – 26 °C в утреннее время . Растительное сырье промывали дистиллированной водой от пыли и примесей, сушили при (25±1) °C в темноте в течении 2 недель в проветриваемом помещении; в последствии фасовали в плотные бумажные пакеты и хранили в темноте до дальнейшего использования в экспериментах [8].

Методы. Высушенную траву измельчали в порошок с размером частиц 0,2 – 0,5 мм на лабораторной мельнице (LM 202, Россия) и проводили экстракцию путем мацерации [8-9] с некоторыми изменениями: порошок (20 г) экстрагировали с использованием 70 % этанола, гексана, хлороформа и метил-трет-бутилового эфира (МТБЭ) в предварительно продутые инертным газом (аргон) круглодонные колбы, используя соотношение сухой массы к растворителю (1: 8); перемешивали при 500 об/мин с помощью автоматической магнитной мешалки (IKA RCT basic) при температуре 45 °C в течение 1,5 часов вдали от прямых солнечных лучей. Супернатант, полученный в результате экстракции, центрифугировали для осаждения крупных частиц и взвеси (центрифуга US 1536E), фильтровали через бумажный фильтр высокой плотности с пористостью 0,22 мкм. Экстракт концентрировали на роторном испарителе (LabTex Re 100-Pro) на водяной бане при температуре 35-37 °C и давлении 6,7 мбар. Экстракты хранили в медицинской морозильной камере при -35 °C для дальнейших анализов. Для анализа на антимикробную активность готовились 1 % растворы экстрактов в ДМСО.

Анализ антимикробной активности. Для анализа на антимикробную активность были выбраны стандартные бактериальные штаммы возбудителей болезней человека по отношению к дрожжеподобным грибам - *Candida albicans* ATCC 10231, грамположительным бактериям - *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 P FDA 209P и грамотрицательным бактериям - *Escherichia coli* ATCC 25922; фитопатогенные бактериальные штаммы, а именно фитопатогенные грибы *Alternaria solani K-100054* и *Fusarium graminearium FG-30,* фитопатогенные грамположительные бактерии *Rathayibacter iranicus BKM Ac-1602* и *Clavibacter michiganensis BKM Ac-1404.* Их культивировали в стандартных стерильных питательных бульонах: бульоне Хоттингера для патогенных бактерий человека, среде Сабуро для патогенных грибов человека и бульоне глюкозы экстракта картофеля для фитопатогенных микроорганизмов. Концентрацию бактерий определяли на денситометре DEN1B (Biosan, Латвия) по стандартным протоколам.

Антимикробный анализ in vitro. Минимальная ингибирующая концентрация (МИК) соединения, которая снижает рост соответствующего тестируемого микроба, рассматривалась как активная доза. Минимальная бактерицидная концентрация (МБК) и минимальная фунгицидная концентрация (МФК), соответственно, была минимальной концентрацией, вызывающей гибель клеток [10], в значениях мкг / мл, она была определена методом двукратного серийного разведения [11]. Фунгистатическую активность экстрактов определяли методом серийных разведений в жидкой среде. Результаты регистрировались каждые 24 часа в течение 5 дней для бактерий, время выдержки грибов составило 7 дней. Рост микробов определяли визуально. Все анализы были выполнены в трех повторностях.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Средний процентный выход экстрактов из высушенных порошкообразных экстрагируемых материалов *Gnaphalium uliginosum* L. представлен в таблице 1. По сравнению с другими растворителями, 70% этанол был наиболее эффективным растворителем для экстракции активных веществ. Этанольный экстракт имел самый высокий выход (4,2±0,13 %). Наименьший выход по сухому веществу проявил хлороформ (1,5±0,05 %)

Таблица 1 - Выходы экстракционных веществ Gnaphalium uliginosum L. с использованием четырех различных типов экстрагентов

Экстракт, растворитель	Выход экстрактивных веществ, %
Этанол 70 %	4,2±0,13
Гексан	2,1±0,1
МТБЭ	2,1±0,08
Хлороформ	1,5±0,05

Поскольку это исследование было направлено на изучение антимикробной активности *Gnaphalium uliginosum* L., выбранные экстрагенты должны быть эффективными при экстракции биологически активных веществ, в том числе и антимикробных соединений.

В зависимости от метода экстракции тестируемые экстракты сушеницы топяной показали широкий спектр антимикробной активности против грамположительных и грамотрицательных бактерий и против патогенных грибов.

Результаты антимикробной активности четырех типов экстрактов Gnaphalium uliginosum L. при тестировании на 4 штаммах фитопатогенов приведены в таблице 2, при тестировании на человеческих штаммах - в таблице 3 . В качестве сравнения, в таблице приведены данные по антимикробной активности чистого ДМСО. Результаты представлены в таблице в терминах минимальных ингибирующих концентраций (МИК) — концентраций, останавливающих рост бактерий и грибов, и минимальных бактерицидных и фунгицидных концентраций (МБК и МФК, соответственно) — концентраций, вызывающих гибель клетки.

Результирующее ингибирование исследуемых микроорганизмов зависело от экстракционного растворителя. Как видно из таблицы 2 наиболее активным по отношению к фитопатогенам был хлороформный экстракт, значительно подавлял рост в отношении грамположительных бактерий и гриба *Alternaria solani* (МИК 78-625 мкг/мл). Чуть менее активными оказались гексановый и этанольный экстракты, в случае метил-трет-бутилового экстракта активность оказалось более слабой. В отношении человеческих патогенов в отличие от фитопатогенов наблюдалось более низкая активность к ингибированию выбранных штаммов - таблица 3. Так, *Escherichia coli* оказалась более устойчивой к действию четырех экстрактов (МИК 1250 мкг/мл), что можно объяснить наличием дополнительной внешней мембраны в их клеточной стенке. Максимальное ингибирование *Staphylococcus aureus* относилось к гексановому и хлороформному, менее к этанольному экстракту (МИК 625 и 780 мкг/мл соответственно) а в отношении *Candida albicans* наилучшую активность проявили этанольный и хлороформный экстракты (МИК 625 и 780 мкг/мл).

Таблица 2 - МИК, МБК и МФК экстрактов *Gnaphalium uliginosum* L. (1 % ДМСО) с использованием различных экстракционных растворителей против фитопатогенных бактерий и грибов

Экстракт, растворитель	*Rathayibacter iranicus*		*Alternaria solani*		*Clavibacter michiganensis*		*Fusarium graminearium*	
	МИК, мкг/мл	МБК, мкг/мл	МИК, мкг/мл	МФК, мкг/мл	МИК, мкг/мл	МБК, мкг/мл	МИК, мкг/мл	МФК, мкг/мл
Этанол 70 %	313±20	313±17	625±39	1250±80	625±49	1250±90	1200± 80	1200±90
Гексан	125±18	1000 ±85	1250±120	1250±90	313±27	1250±105	1200±110	1200±95
МТБЭ	625±58	1000 ±59	1250±95	2500±150	1250± 100	1250±110	1200±105	2500±105
Хлороформ	78±11	78±13	625±37	625±41	625±35	1000±100	1200±95	1200±110
ДМСО	$12{,}5\cdot10^4$ $\pm1\cdot10^3$	$25\cdot10^4$ $\pm2\cdot10^3$	$25\cdot10^4$ $\pm1{,}7\cdot10^3$	$50\cdot10^4$ $\pm3\cdot10^3$	$12{,}5\cdot10^4$ $\pm1{,}2\cdot10^3$	$25\cdot10^4$ $\pm2\cdot10^3$	$25\cdot10^4$ $\pm1{,}9\cdot10^3$	$50\cdot10^4$ $\pm1\cdot10^3$

Таблица 3 - МИК, МБК и МФК экстрактов *Gnaphalium uliginosum* L. (в 1% ДМСО) с использованием различных экстракционных растворителей против человеческих бактерий и грибов

Экстракт, растворитель	*Staphylococcus aureus*		*Escherichia coli*		*Candida albicans*	
	МИК, мкг/мл	МБК, мкг/мл	МИК, мкг/мл	МБК, мкг/мл	МИК, мкг/мл	МФК, мкг/мл
Этанол	780±71	1200±100	1250±110	1250±120	625±59	1000±90
Гексан	625±60	1000±80	1250±90	1250±110	1000±75	>1250±110
МТБЭ	1250±105	1250±110	1250±80	1250±90	1250±90	>1250±120
Хлороформ	625±58	800±75	1250±85	1250±100	780±76	>1250±80
ДМСО	$12{,}5\cdot10^4\pm1\cdot10^3$	$25\cdot10^4\pm2\cdot10^3$	$25\cdot10^4\pm1{,}7\cdot10^3$	$50\cdot10^4\pm3\cdot10^3$	$20\cdot10^4\pm1{,}2\cdot10^3$	$25\cdot10^4\pm2{,}5\cdot10^3$

Разница в биологической активности связана с полярностью растворителей, используемых при экстракции, которые отражаются на проницаемости через клеточную мембрану растений, увеличивая или уменьшая количество извлекаемых соединений, что согласуется с сообщениями Jaberian et al. (2013) [12]. Экстракты растений обладают антибактериальной активностью, что может быть связано с присутствием сильнодействующих соединений, таких как флавоноиды, алкалоиды, дубильные вещества и т.д. Преимущество полярных растворителей для извлечения активных агентов связано с лучшей растворимостью известных компонентов с антибиотическими свойствами.

ВЫВОДЫ

Надземную часть сушеницы топяной (*Gnaphalium uliginosum* L.) экстрагировали в соответствии с мацерацией, что позволило оценить влияние растворителей на способность к извлечению активных компонентов с антимикробной активностью. Экстракты эффективно подавляли рост нежелательных микроорганизмов, особенно к патогенным бактериям.

Среди экстрагентов наименее подходящим является метил-трет-бутиловый эфир, показавший наименьшую активность при сравнении выходов экстракционных веществ. Среди остальных растворителей в отношении к выбранным штаммам наилучший результат показал хлороформ, при этом наибольшую активность проявлял к бактерии *Rathayibacter iranicus* (МИК -78мкг/мл), а среди человеческих - к грамположительным бактериям *Staphylococcus aureus* (МИК -625мкг/мл)

Таким образом, полученные данные по экстрактам показывают антимикробное действие на условно-патогенные микроорганизмы. Исследование предполагает, что экстракты, полученные из *Gnaphalium uliginosum* L., являются многообещающим источником природных соединений с биологической активностью. Очистка экстрактов, полученных из *Gnaphalium uliginosum* L., разделение на отдельные фракции будет представлять интерес для будущей оценки взаимосвязи состав/структура и биоактивность, что представляет несомненный интерес для дальнейшего изучения экстрактов при разработке новой стратегии борьбы с лекарственно-устойчивыми патогенами.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы благодарны сотрудникам лаборатории микробиологии, ОСП ИОФХ им. Арбузова, Федерального исследовательского центра Казанского научного центра Российской академии наук за помощь в обсуждении результатов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Buono, D.D. Can biostimulants be used to mitigate the effect of anthropogenic climate change on agriculture? It is time to respond/ DanieleDel Buono // Science of The Total Environment. - 2021. - 751.
2. Haas da Silva, A. R. Acute toxicity and antimicrobial activity of leaf tincture Baccharis trimera (Less)/ Haas da Silva A. R., Soares Lopes L. Q., Cassanego G. B., Romualdo de Jesus P., Figueredo K. C., Vianna Santos R. C., Hu¨bscher Lopes G. H., Bauermann L. de F. // Biomedical Journal – 2018. - 41 (3). - 194-201.
3. Shikov, A. N. Medicinal Plants of the Russian Pharmacopoeia, history and applications/ Shikov A. N., Pozharitskaya O.N., Makarov V.G., Wagner H., Verpoorte R., Heinrich M.// Journal of Ethnopharmacology - 2014. - 154 (3).- 481-536.
4. Cicek, S.S. Caffeoyl-D-Glucaric Acid Derivatives in the Genus Gnaphalium (Asteraceae: Gnaphalieae)/, Cicek S.S., Untersulzner C., Schwaiger S. and Zidorn C.// Rec. Nat. Prod. - 2012. - 6 (3).- 311-315.
5. Хадарцев, А.А. Химический состав этанольного экстракта Сушеницы Топяной (Болотной) (Gnaphalium uliginosum L.; Семейство Астровые – ASTERACEAC)

(СООБЩЕНИЕ V)/ Хадарцев А.А., Платонов В.В., Дунаев В.А., Сухих Г.Т., Шатский М.А., Волочаева М.В.// Вестник новых медицинских технологий - 2020. - 14 (2). - 55-71.
6. Хадарцев, А.А. Химический состав органического вещества Сушеницы Топяной (Болотной) (Gnaphalium uliginosum L.; Семейство Астровые – ASTERACEAC) / Хадарцев А.А., Сухих Г.Т., Платонов В.В., Дунаев В.А., Яркова Т.А.// Вестник новых медицинских технологий - 2019. - 26 (1). - 82-88.
7. Olennikov, D.N. Spinacetin, a new caffeoylglycoside, and other phenolic compounds from Gnaphalium uliginosum/ Olennikov D. N., Chirikova N. K. and Kashchenko N. I. // Chemistry of Natural Compounds. - 2015. - 51 (6). - 1085-1090.
8. Sharonova, N.L. Phytochemical Contents, Antimicrobial and Antioxidant Properties of Gnaphalium uliginosum L. Ethanolic Extract and Essential Oil for Agricultural Uses/ Sharonova N.L., Terenzhev D.A., Bushmeleva K.N., Gumerova S.K., Lyubina A.P., Fitsev I. M. and Belov T.G.// Asian Journal of Chemistry - 2019. - 31 (11). - 2672-2678.
9. Marsoul, A. Determination of Polyphenol contents in Papaver rhoeas L. flowers extracts (soxhlet, maceration), antioxidants and antibacterial evaluation/ Marsoul A., Ijjaali M., Oumous I., Bennani B. Boukir A.// Materials Today: Proceedings - 2020. - 31 (1). - S183-S189.
10. Scavo, A. Antimicrobial activity of cultivated cardoon (Cynara cardunculus L. var. altilis DC.) leaf extracts against bacterial species of agricultural and food interest/ Scavo A., Pandino G., Restuccia C., Parafati L., Cirvilleri G. and Mauromicale G. // Industrial Crops and Products - 2019. - 129. - 206-211.
11. CLSI, Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically, CLSI: Wayne, Pennsylvania, USA (2018).
12. Jaberian, H. Phytochemical composition and in vitro antimicrobial and antioxidant activities of some medicinal plants/ Jaberian H., Piri K., Nazari J.// Food Chemistry - 2013. - 136(1). -237-244.

ANTIMICROBAL ACTIVITY OF GNAPHALIUM ULIGINOSUM L. AGAINST HUMAN AND PHYTOPATHOGENS

Belov T. G. [1,a)], Ph.D. in Chemistry Terenzhev D. A. [1], Ph.D. in Chemistry Nikitin E. N. [1], Rakhmaeva A. M.[1], Sinyashin K. O.[2]

1 - Federal State Budgetary Institution of Science "Kazan Scientific Center of Russian Academy of Sciences", Russia, Kazan, Lobachevsky str. 2/31, 420111

2 - «EcoChimConsalting» LTD, Russia, Kazan, Arbuzov str. 8, 420008

a) corresponding author – belofftimur@mail.ru

Abstract. In the present work, the extracts of the Gnaphalium uliginosum L. (Asteraceae) were evaluated for their antimicrobial action when extracted with various solvents (70% ethanol, hexane, chloroform, and methyl tert-butyl ether). The extracts were concentrated using a rotary evaporator and redissolved in DMSO. The antibacterial activity of the extracts was evaluated against phytopathogenic fungi (Alternaria solani and Fusarium graminearіu) and gram-positive bacteria (Rathayibacter iranicus and Clavibacter michiganensis); as well as in relation to human pathogens: yeast-like fungi (Candida albicans), gram-positive bacteria (Staphylococcus aureus) and gram-negative bacteria (Escherichia coli).

It was found that in relation to human pathogens, Gnaphalium uliginosum L. extracts exhibit moderate antimicrobial activity (MIC values varied from 625 to 1250 μg / ml). In relation to phytopathogens, the best activity was observed against the gram-positive bacteria Rathayibacter iranicus (MIC values for hexane and chloroform extracts were 125 and 78 μg / ml, respectively). The results obtained can be useful in further research for the creation of bactericides and fungicides of natural origin.

Keywords: *Gnaphalium uliginosum L., extracts, antimicrobial activity, phytopathogens, gram-positive bacteria.*

УДК 582.681:581.2:57.082 DOI: 10.52101/9785870191003_2021_367

СРАВНИТЕЛЬНОЕ МОРФОЛОГО-АНАТОМИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ЦИКОРИЯ ОБЫКНОВЕННОГО (*CICHORIUM INTYBUS* L.) И ВОЗМОЖНЫХ ПРИМЕСНЫХ ВИДОВ

к.фарм.н. Сайбель О. Л.[a)], Коняева Е. А., д.фарм.н., проф. Даргаева Т. Д.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений», Российская Федерация, Москва, ул. Грина, дом 7, стр. 1, 117216

а) автор для переписки – saybel@vilarnii.ru

Аннотация. Морфолого-анатомическое изучение нового перспективного отечественного вида лекарственного растительного сырья – травы цикория обыкновенного проведено согласно тематического плана НИР ФГБНУ ВИЛАР (FNSZ-2019-0010). В результате сравнительного исследования надземной части дикорастущего и культивируемого (растения 1 года вегетации) цикория обыкновенного установлено сходство в морфологическом и анатомическом строении листьев. Выявленные в ходе исследования признаки имеют диагностическое значение и позволяют устанавливать подлинность этого вида лекарственного растительного сырья. Полученные данные могут быть использованы при разработке нормативной документации на новый вид лекарственного сырья – цикория обыкновенного трава. В результате проведенного сравнительного изучения надземной части цикория обыкновенного и одуванчика лекарственного установлены отличительные микродиагностические признаки, позволяющие выявлять в траве цикория наличие возможного примесного вида – одуванчика лекарственного.

***Ключевые слова*:** цикорий обыкновенный, надземная часть, морфологические и анатомические признаки, возможные примеси.

ВВЕДЕНИЕ

Цикорий обыкновенный (*Cichorium intybus* L.) – двулетнее или многолетнее травянистое растение семейства Астровых (*Asteraceae*) высотой до 150 см с прямостоячим, ветвистым стеблем. Прикорневые листья собраны в розетку, струговидно-перисторазделные или цельные, стеблевые – очередные, сидячие, ланцетные, стеблеобъемлющие. Цветочные корзинки крупные, состоят из голубых язычковых цветков. Плоды – продолговатые семянки с хохолком. Цикорий обыкновенный широко распространенный вид с евроазиатским ареалом, как заносное растение известен и на других континентах. В России встречается в Европейской части, на Северном Кавказе, в Западной Сибири; в дикорастущем виде цикорий произрастает на лугах, лесных полянах, травянистых склонах, часто как сорное растение вдоль дорог и полей [1,2].

Цикорий обыкновенный получил широкую известность благодаря применению в пищевой промышленности, экстракт обжаренных корней которого используется в качестве заменителя кофе. Для этих целей корни цикория выращивают на промышленных плантациях в течение одного года, при этом надземную часть скашивают перед механизированной уборкой корней осенью. Надземная часть, представленная корневыми розетками листьев, подлежит утилизации как отход производства. Однако, проведенные исследования химического состава и фармакологической активности подтверждают целесообразность использования надземной части цикория в качестве лекарственного растительного сырья [1,3,4]. Использование всей растительной массы цикория обыкновенного позволит комплексно перерабатывать данное растение.

Цикорий обыкновенный широко используется в азиатской традиционной медицине в качестве желчегонного, противовоспалительного, гепатопротекторного, гипогликемического

средства. Наряду с этим, цикорий обыкновенный включен в Китайскую и Немецкую гомеопатическую фармакопеи [3,4].

В надземной части цикория обыкновенного содержатся оксикоричные кислоты, флавоноиды, оксикумарины, тритерпены, полисахариды, каротин, витамины, микроэлементы, в цветках идентифицированы антоцианы [3,4].

В настоящее время в ФГБНУ ВИЛАР изучается возможность использования надземной части цикория обыкновенного, получаемой как от дикорастущих, так и от культивируемых растений, в качестве сырья для разработки нового лекарственного растительного средства. В этой связи, возникла необходимость стандартизации этого вида сырья. Одним из основных этапов контроля качества, подтверждающих подлинность лекарственного растительного сырья, является характеристика его внешних и микроскопических признаков.

К траве дикорастущего цикория обыкновенного в качестве возможной примеси может быть представитель того же семейства, в частности, одуванчик лекарственный (*Taraxacum officinale* Wigg.), имеющий схожие с цикорием морфологические признаки листьев, что повышает вероятность его попадания при заготовке сырья.

Таким образом, целью настоящей работы явилось сравнительное морфолого-анатомического изучение надземной части дикорастущего и культивируемого цикория обыкновенного и как возможного примесного вида – одуванчика лекарственного для выявления характерных диагностических признаков.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы.

Объекты исследования – высушенная надземная часть дикорастущего цикория обыкновенного, заготовленная в Рязанской области в 2020 году; культивируемого цикория обыкновенного (растения 1 года вегетации), собранная на промышленных плантациях корневого цикория в Воронежской области в 2018 году, а также одуванчика лекарственного, заготовленная в Рязанской области в 2020 году.

Методы.

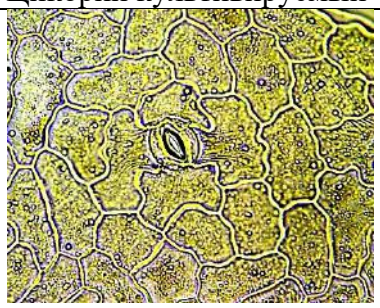
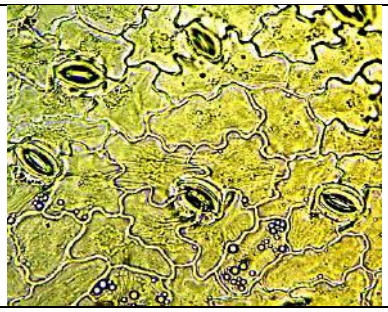
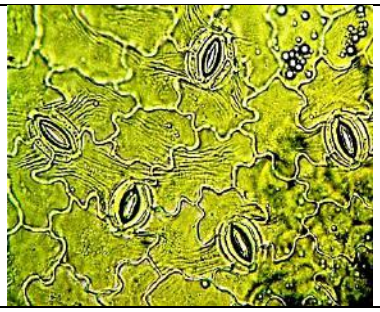
Исследование сырья проводили согласно общим фармакопейным статьям Государственной фармакопеи Российской Федерации XIV издания [5]: ОФС.1.5.1.0002.15 «Травы» и ОФС.1.5.3.0003.15 «Техника микроскопического и микрохимического исследования лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов». Препараты готовили с поверхности и изучали с помощью биологического микроскопа «Альтами БИО 2 LED» с цифровой окулярной USB камерой 3,1 Мпикс (Россия).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При макроскопическом исследовании травы дикорастущего цикория обыкновенного определены морфологические признаки сырья. Установлено, что сырье представляет собой цельные или разрезанные на куски различной длины олиственные стебли с цветочными корзинками и без них, отдельные стебли, листья, цветочные корзинки и их части. Стебли округлые, полые, ребристые, опушенные или почти голые. Прикорневые листья струговидно-перисторазделные или цельные, зубчатые по краю, у основания постепенно суженные в крылатый черешок. Стеблевые листья очередные, сидячие, стеблеобъемлющие с закругленными или стреловидными ушками, ланцетно-яйцевидные или ланцетные; верхние – цельнокрайние, нижние – острозубчатые. Все листья более или менее опушенные. Соцветия – корзинки одиночные или собранные по нескольку в пазухах листьев или на верхушках стеблей. Обвертка корзинки двухрядная, наружные листочки в 1,5-2 раза короче внутренних, неодинаковой формы, сверху опушенные железистыми волосками. Цветки язычковые, пятизубчатые, обоеполые. Венчик длиной до 25 мм. Цвет листьев и стеблей от зеленого, серовато-зеленого до коричневато-зеленого, венчиков – голубой. Запах слабый. Вкус водного извлечения горьковатый.

При описании внешних признаков надземной части культивируемого цикория обыкновенного, полученной от растений 1 года вегетации, было отмечено, что сырье представлено только прикорневыми розеточными листьями, морфологические признаки которых схожи с таковыми у дикорастущего цикория и охарактеризованы выше, стебли и цветки отсутствуют.

Поскольку надземная часть культивируемого цикория состоит только из листьев, сравнительное анатомическое изучение проводили именно по листьям. При микроскопическом исследовании листа дикорастущего и культивируемого цикория выявлено, что стенки клеток верхнего эпидермиса прямые и слабоизвилистые, нижнего – слабоизвилистые и извилистые, местами стенки клеток четковидно утолщены. Кутикула продольно морщинистая, вокруг устьиц лучисто-морщинистая. Устьица с обеих сторон листа, овально-округлые, аномоцитного типа, окружены 3-6 клетками эпидермиса (рис. 1 а, б). На обеих сторонах листа, чаще по жилкам и по краю расположены простые многоклеточные, реже однорядные, в основном многорядные волоски, с бородавчатой и гладкой поверхностью (рис. 1 в, з), нередко волоски имеют клетки со спавшимися стенками и могут быть обломаны (рис. 1 г, е). Вокруг волосков клетки эпидермиса часто образуют розетку, при опадении волосков хорошо заметны места их прикрепления (рис. 1 ж). По краю листа волоски толстостенные и более короткие. Встречаются железистые волоски на многоклеточной, часто двух-, трехрядной ножке с многоклеточной головкой (рис. 1 д). В мезофилле листа, вблизи жилок видны млечники.

Цикорий дикорастущий		Цикорий культивируемый		Одуванчик лекарственный
				
а		а		а
				
б		б		б
в	г	в	г	в

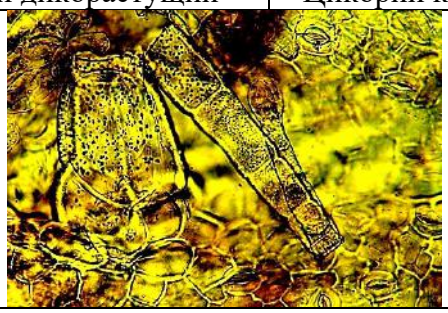
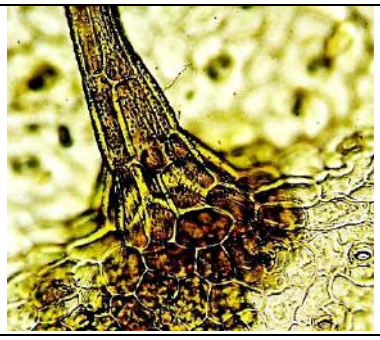
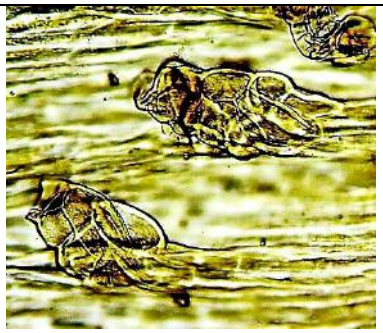
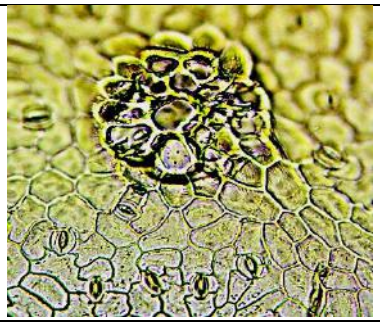
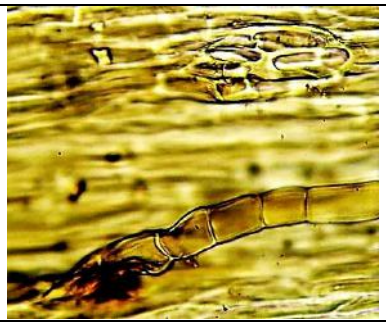
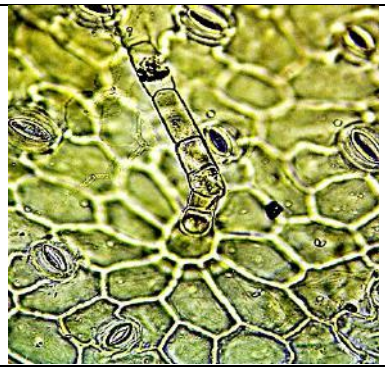
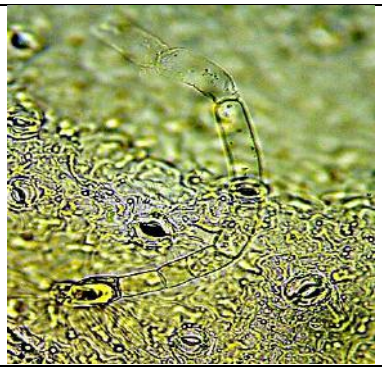
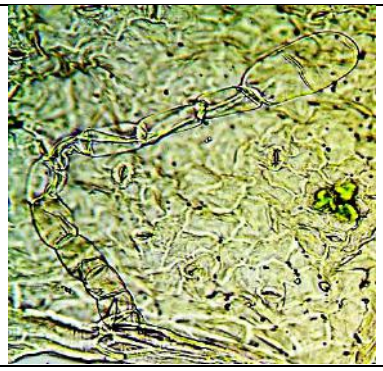
Цикорий дикорастущий	Цикорий культивируемый	Одуванчик лекарственный
		–
д		
		
е	е	е
		
ж	ж	ж
		
з	з	з

Рисунок 1 – Сравнительные анатомо-диагностические признаки листа дикорастущего, культивируемого цикория обыкновенного и одуванчика лекарственного:
а – верхний эпидермис (х400); б – нижний эпидермис (х400); в – простые многоклеточные многорядные волоски (х200); г – простые многоклеточные многорядные волоски со спавшимися стенками клеток (х200); д – железистый волосок (х400); е – обломки волосков (х400); ж – места прикрепления волосков (х400); з – простые многоклеточные однорядные волоски (х400)

Цикорий обыкновенный и морфологически сходный с ним вид – одуванчик лекарственный имеют незначительные отличия в морфологических признаках листьев, которые не могут быть использованы для достоверной диагностики. В связи с этим, было проведено анатомическое изучение листа одуванчика лекарственного, как возможной примеси к траве цикория обыкновенного. При рассмотрении листа одуванчика лекарственного

с поверхности установлено, что клетки верхнего эпидермиса имеют прямые и слабоизвилистые стенки, нижнего – извилистые. Устьица на обеих сторонах листа, аномоцитного типа, окружены 3-6 клетками эпидермиса (рис. 1 а, б), отмечено наличие устьиц разного размера. По жилкам листа расположены простые многоклеточные одно- и многорядные волоски. Однорядные волоски состоят из нескольких квадратных клеток в основании, затем более вытянутых тонкостенных, часто смятых клеток, и крупной конечной клетки (рис. 1 з), многорядные волоски длинные (рис. 1 в), могут иметь спавшиеся клетки и часто обламываются (рис. 1 е); при опадении волосков видны места прикрепления (рис. 1 ж). Нередко вокруг оснований волосков заметна складчатость кутикулы. В мезофилле листа, вдоль жилок расположены млечники. В отличие от цикория обыкновенного, у одуванчика лекарственного на эпидермисе листа нет железистых волосков.

Также было проведено сравнительное изучение цветоноса одуванчика лекарственного и стебля цикория обыкновенного, анатомические особенности которых могут являться важным признаком в диагностике сырья. Эпидермис цветоноса/стебля у исследуемых видов представлен слегка вытянутыми по длине многоугольными клетками с прямыми стенками, устьицами аномоцитного типа (рис. 2 а, г). У одуванчика лекарственного на эпидермисе цветоноса волоски простые многоклеточные однорядные (рис. 2 д), часто встречаются обломки в виде оснований волосков (рис. 2 е). У цикория обыкновенного на эпидермисе стебля, кроме простых многоклеточных волосков, имеются железистые волоски (рис. 2 б), аналогичного строения, описанного ранее для листа, и характерные места прикрепления опавших волосков (рис. 2 в).

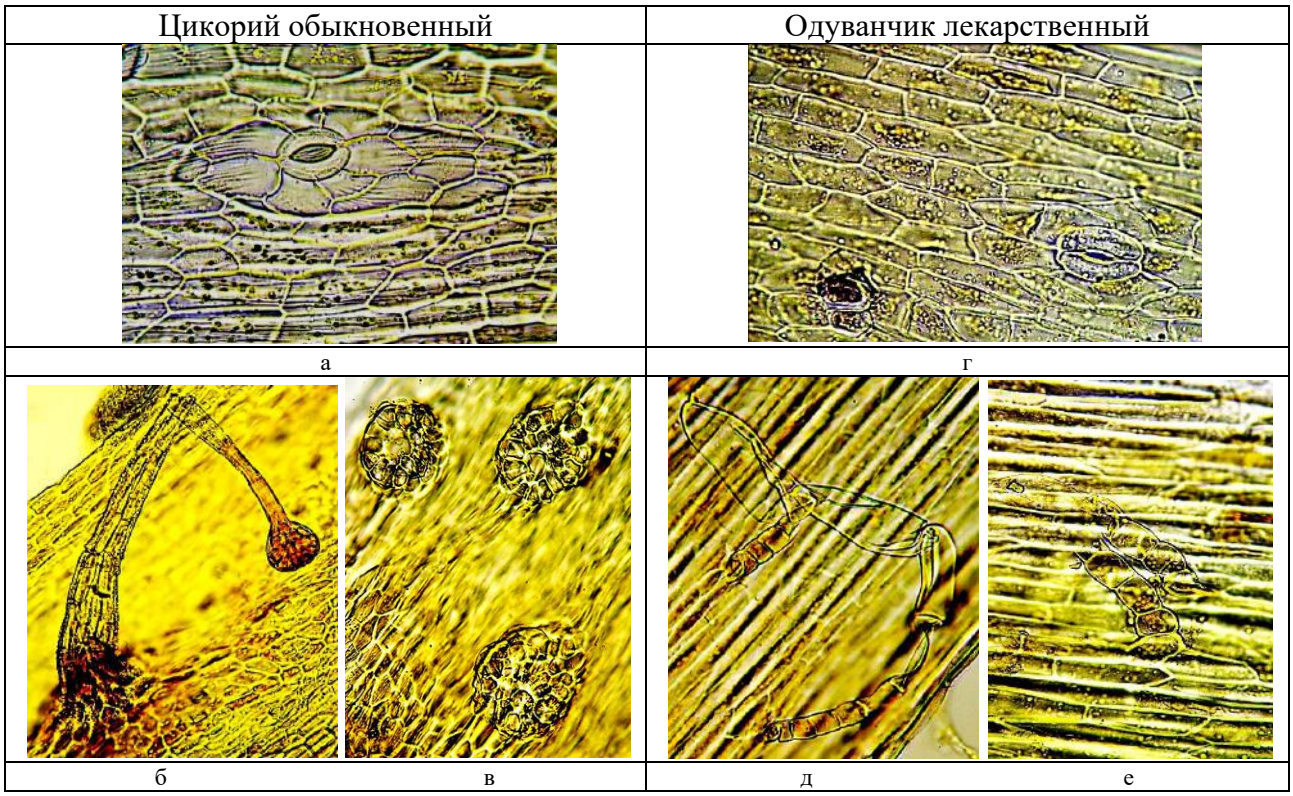


Рисунок 2 – Сравнительные анатомо-диагностические признаки стебля цикория обыкновенного и цветоноса одуванчика лекарственного:
а – эпидермис стебля (х400); б – железистый волосок (х200); в – места прикрепления волосков (х200); г – эпидермис цветоноса (х400); д – простые многоклеточные однорядные волоски (х200); е – обломки простых волосков (х400)

ВЫВОДЫ

В результате проведенных сравнительных исследований можно отметить сходство в морфологическом и анатомическом строении листьев дикорастущего и культивируемого (1

года вегетации) цикория обыкновенного. Определены диагностические признаки, позволяющие устанавливать подлинность сырья, которые будут использованы при разработке нормативной документации на новое лекарственное растительное сырье – цикория обыкновенного трава.

Наряду с этим, выявлены отличительные микродиагностические признаки надземной части (листьев и цветоносов) одуванчика лекарственного, позволяющие достоверно определять его наличие как возможную примесь в траве цикория обыкновенного, что тем самым будет способствовать повышению степени диагностики этих видов растений. Полученные результаты позволили подтвердить данные об особенностях анатомического строения надземной части одуванчика лекарственного [6-8].

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Губанов И. А. Иллюстрированный определитель растений Средней России. Т.-3: Покрытосеменные (двудольные: раздельнолепестные). М.: Т-во научных изданий КМК, Ин-т технологических исследований. – 2004. – С. 371
2. Ефремов А.П. Дикорастущие лекарственные растения средней полосы России / А.П.Ефремов. М.: Фитон XXI, 2020 г. – 304 с.
3. Medical importance of Cichorium intybus – A review /Ali Esmail Al-Snafi // IOSR Journal Of Pharmacy. – 2016. – Vol. 6 (3). - P. 41-56.
4. Сравнительное фитохимическое изучение надземной части дикорастущего и культивируемого растения цикория обыкновенного (*Cichorium intybus* L.) / Сайбель О.Л., Радимич А.И., Даргаева Т.Д, Адамов Г.В. // Химия растительного сырья. – 2020. - №3. – С.185-195. DOI: 10.14258/jcprm.2020037386
5. Государственная фармакопея РФ XIV издания. Федеральная электронная медицинская библиотека Министерства здравоохранения Российской Федерации. – Москва 2018. – [Электронный ресурс]. – режим доступа: http://femb.ru/feml.
6. American Herbal Pharmacopeia Botanical Pharmacognosy 2011/ American Herbal Medicine Association, 2011. – 733p.
7. European Pharmacopeia. 8.0 edition. - 2014.
8. Анатомо-морфологическое исследование надземной части одуванчика лекарственного (*Taraxacum officinale* Wigg.) / А.В Азнагулова, В.А. Куркин, В.М. Рыжов, Л.В. Тарасенко // Медицинский альманах. – 2014. – № 3(33). – С. 173-179.

COMPARATIVE MORPHOLOGICAL AND ANATOMICAL STUDY CHICORY (*CICHORIUM INTYBUS* L.) AND POSSIBLE IMPURITY SPECIES

PhD in Pharmacy Saybel O. L.[a)], Konyaeva E. A., PhD in Pharmacy, professor Dargaeva T. D.
Federal State budgetary Scientific Institution «All-Russian Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants», Russian Federation, Moscow, Grina str. 7, p. 1, 117216
a) corresponding author – saybel@vilarnii.ru

Abstract. The morphological and anatomical study of a new promising domestic type of medicinal plant raw material – herb chicory was carried out according to the thematic plan of research FGBNU VILAR. As a result of a comparative study of the aerial part of wild and cultivated (plants of 1 year of vegetation) chicory, similarity in the morphological and anatomical structure of the leaves was established. The signs identified in the course of the study have diagnostic significance and allow us to establish the authenticity of this type of medicinal plant raw materials. The obtained data can be used in the development of regulatory documentation for a new type of medicinal raw material-chicory herb. As a result of the comparative study of the aerial part of the chicory and the medicinal dandelion, distinctive microdiagnostic signs were established that allow identifying the presence of a possible impurity species in the chicory herb – the medicinal dandelion.
Keywords: *chicory, aerial part, morphological and anatomical signs, possible impurities.*

УДК 615.326 DOI: 10.52101/9785870191003_2021_374

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ И БИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ МИНЕРАЛЬНОГО СОРБЕНТА

к.фарм.н. Бондарев А. В.[a)], Гамаюнова Т. С., Новикова Н. Б.

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования Белгородский государственный национальный исследовательский университет, Россия, г. Белгород, ул. Победы, 85, 308015

а) автор для переписки – alexbond936@yandex.ru

Аннотация. В настоящее время минеральные сорбенты используются в качестве средств для гастроэнтеросорбции. Перспективным направлением изучения минеральных сорбентов является транспорт лекарственных веществ. Цель работы – исследование физико-химических и биофармацевтических свойств минерального сорбента. Материалы: монтмориллонитовая глина (ТУ 9296-001-62646221-2012, Россия); реактив метиленовый синий (ТУ 2463-044-05015207-97, Мосреактив, Россия). Методы: определение адсорбционной активности проводили по ОФС.1.2.3.0021.15 «Определение адсорбционной активности энтеросорбентов». Первая часть работы посвящена исследованиям физико-химических свойства минерального сорбента. Изучено строение монтмориллонита. Минерал монтмориллонит сложен из одного октаэдрического и двух тетраэдрических слоев. Монтмориллонит относиться к слоистым минералам с расширяющейся решеткой и является мезомикропористым сорбентом. По морфологическим характеристикам исследуемый объект представлен симметрическими частицами неоднородной формы различных размеров. Энергодисперсионный спектр показал наличие в составе элементов: кремния, алюминия, железа, кальция, калия, магния.

Вторая часть работы посвящена исследованию биофармацевтических свойств минерального сорбента. Для определения влияния температуры и pH среды на адсорбционную активность проведены биофармацевтические исследования в опытах *in vitro* в растворах, имитирующих физиологические среды.

Выводы: Исследованы физико-химических свойства минерального сорбента. Изучено строение монтмориллонита. Удельная поверхность минерального сорбента составила 53 м²/г, объем пор – 0,065 см³/г, средний размер мезопор – 4,8 нм, микропор – 1,23 нм. Адсорбционная активность по метиленовому синему – (62,0±0,2) мг/г. Исследованы биофармацевтические свойства минерального сорбента. Установлено, что адсорбционная активность у модели желудка составила (57,3±0,3) мг/г, модели кишечника – (58,9±0,2) мг/г.

Ключевые слова: *минеральный сорбент, монтмориллонит, физико-химические свойства, биофармацевтические свойства.*

ВВЕДЕНИЕ

В историческом аспекте минеральные сорбенты на основе глин использовались на всем протяжении существования человечества. Начиная с XX века, глины подвергаются физико-химическому исследованию, обосновывается их терапевтическое действие и практическое применение в фармации и медицине. Всестороннее изучение глин, актуальных для использования в фармацевтической технологии, изучались российскими (Сало Д.П., 1969г; Цагарейшвили Г. В., 1986 г.; Халифаев Д. Р., 2004 г.; Жилякова Е. Т., 2012 г.; Мизина П. Г., 2017 г.) и зарубежными учеными [1-2].

Первое направление использования минеральных сорбентов – это гастроэнтеросорбция – поглощение сорбентом токсических веществ в желудке и кишечнике. Сорбент вводится в дозе 100-200 мг/кг массы тела. Применяется в первые сутки отравления три раза. Метод позволяет сорбировать токсические экзотоксины, которые находятся в желудочно-кишечном тракте или эндотоксины, повторно выделившиеся в его просвет. Гастроэнтеросорбционное

действие медицинских глин основано на высоких показателях их удельной поверхности, ионообменной способности, стабилизации слизистого барьера желудочно-кишечного тракта, связывании токсинов во всех его отделах при приеме *per os*. Фармакологическое действие медицинских глин антидиарейное, адсорбционное, обволакивающее и гастропротективное [3].

Второе направление использования минеральных сорбентов – это транспорт лекарственных веществ. Минеральный сорбент возможно использовать для создания систем доставки лекарственных средств, в которых основным механизмом связывания, транспорта и выделения лекарственной молекулы является сорбционный. Сорбент в данном случае выступает в качестве переносчика лекарственной молекулы с последующей ее доставкой к месту назначения посредством десорбции [4].

Цель работы – исследование физико-химических и биофармацевтических свойств минерального сорбента.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы:

1 - монтмориллонитовая глина (ТУ 9296-001-62646221-2012, Россия);

2 - реактив метиленовый синий (ТУ 2463-044-05015207-97, Мосреактив, Россия).

Методы:

определение адсорбционной активности проводили по ОФС.1.2.3.0021.15 «Определение адсорбционной активности энтеросорбентов». Оборудование для проведения исследования: центрифуга медицинская настольная ЦЛМН Р-10-01 «Элекон» (ГОСТ 4453-74, Элекон, Россия), биохимический анализатор «Clima МС-15» (ГОСТ 4453-74, Clima, Россия).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Ранее нами были изучены физико-химические свойства минеральных сорбентов [1]. Основным минералом изучаемого минерального сорбента является минерал монтмориллонит. Минерал монтмориллонит сложен из одного октаэдрического и двух тетраэдрических слоев с наличием межпакетного пространства между тетраэдрическими слоями. Каждый октаэдр состоит из двух слоев плотноупакованных кислородов или гидроксильных групп, в которых атомы алюминия, железа или магния расположены в октаэдрической координации таким образом, что каждый из них находится на равном расстоянии от шести кислородов или гидроксильных групп. Вторая структурная единица образована кремнекислородными тетраэдрами. В каждом тетраэдре атом кремния одинаково удален от четырех кислородов или гидроксильных групп, расположенных в форме тетраэдра с атомом кремния в центре, чтобы сбалансировать структуру.

Пористость сорбентов определяется как отношение объема пор к общему объему минерального сырья. Монтмориллонит относиться к слоистым минералам с расширяющейся решеткой и является мезомикропористым сорбентом. Он имеет первичную и вторичную пористость. Первичная пористость обусловлена кристаллическим строением сорбента, вторичные поры образованы зазорами между контактирующими частицами. При адсорбции полярных веществ решетка первичных пор расширяется и в межпакетное пространство внедряется один или несколько слоев молекул адсорбата. В процессе сорбции вторичная пористая структура способна к расширению за счет увеличения размеров микропор. Как правило, сорбционное взаимодействие минерального сорбента и сорбата происходит в жидкой среде. На границе твёрдой минеральной частицы и раствора формируется слой связанной воды, отличной по свойствам от свободной воды. Связанную воду подразделяют на прочносвязанную и рыхлосвязанную. Прочносвязанная вода удерживается частицами. Рыхлосвязанная вода при небольших давлениях отжимается из глин. На формирование связанной воды большое влияние оказывают обменные катионы. При реакции обмена катионы вступают в химическую связь с молекулами твёрдой поверхности, переходя в состав

кристаллической решётки. В монтмориллоните обменные реакции идут только по сколам, внешним базальным и всем внутренним поверхностям кристаллической решетки.

По морфологическим характеристикам монтмориллонитовая глина представлена симметрическими частицами неоднородной формы различных размеров. Энергодисперсионный спектр показал наличие в ее составе следующих элементов: кремния, алюминия, железа, кальция, калия, магния. Удельная поверхность составила 53 м²/г, объем пор – 0,065 см³/г, средний размер мезопор – 4,8 нм, микропор – 1,23 нм. Адсорбционная активность по метиленовому синему – (62,0 ± 0,2) мг/г.

При приеме внутрь энтеросорбент входит в состав химуса и оказывает адсорбирующее действие на всем протяжении желудочно-кишечного тракта. Для определения влияния температуры и pH среды на адсорбционную активность проведены биофармацевтические исследования в опытах *in vitro* в растворах, имитирующих физиологические среды. Полученные данные представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Результаты биофармацевтических исследований в опытах *in vitro* по определению адсорбционной активности с использованием метиленового синего

Вид модели	Желудок	Кишечник	Обычные условия
Характеристика модели	T = 37 °C, pH 2,0, время 20 мин	T = 37 °C, pH 7,5, время 20 мин	T = 20 °C, pH 8,5, время 20 мин
Адсорбционная активность, мг/г	57,3 ± 0,3	58,9 ± 0,2	60,5 ± 0,2

pH желудка моделировали соляной кислотой до 2,0 (время опыта – 20 мин); pH 12-перстной кишки моделировали тоже соляной кислотой до 7,5, т.к. исходная pH – 8,5 (время опыта – 20 мин). Температура опытов составляла 37 °C. Как следует из таблицы 1, адсорбционная активность у модели желудка составила (57,3±0,3) мг/г, модели кишечника – (58,9±0,2) мг/г.

На рисунке 1 представлена диаграмма зависимости адсорбционной активности монтмориллонитовой глины в моделях желудка, кишечника и в обычных условиях.

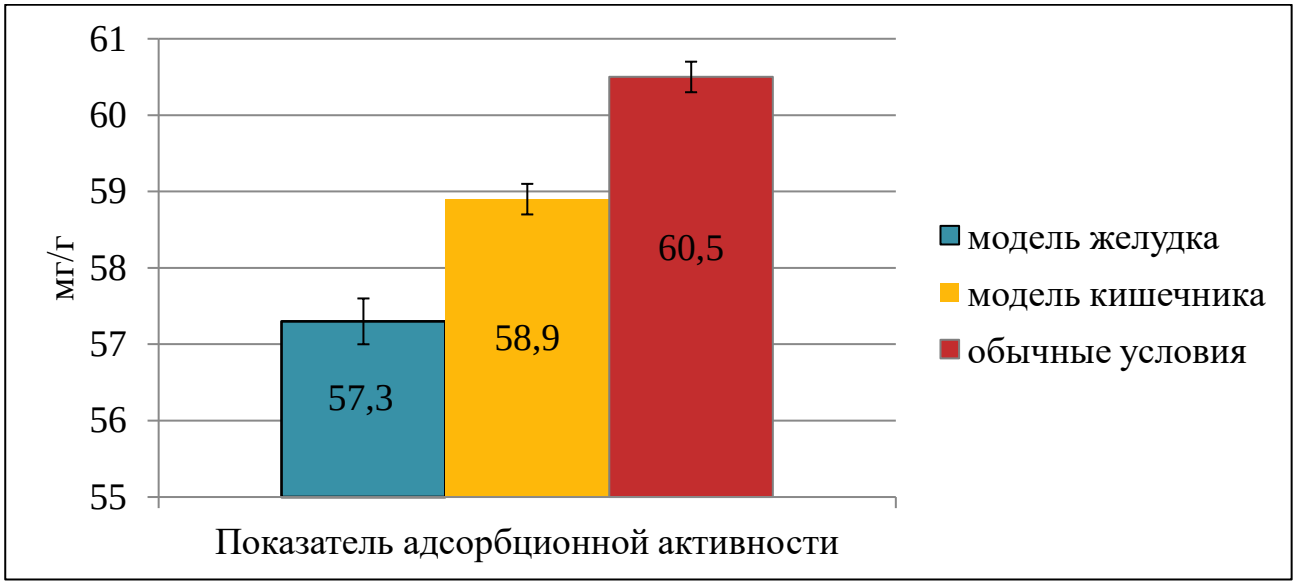


Рисунок 1 – Адсорбционная активность монтмориллонитовой глины в моделях желудка, кишечника и в обычных условиях

Замечена высокая адсорбционная активность как в среде желудка, так и среде кишечника, но при повышении температуры и сдвиге pH среды в кислую сторону наблюдается

уменьшение адсорбционной активности, что также подтверждается рядом литературных данных.

ВЫВОДЫ

Исследованы физико-химических свойства минерального сорбента. Изучено строение монтмориллонита. Минерал монтмориллонит сложен из одного октаэдрического и двух тетраэдрических слоев с наличием межпакетного пространства между тетраэдрическими слоями. Монтмориллонит относиться к слоистым минералам с расширяющейся решеткой и является мезомикропористым сорбентом. Он имеет первичную и вторичную пористость. По морфологическим характеристикам монтмориллонитовая глина представлена симметрическими частицами неоднородной формы различных размеров. Энергодисперсионный спектр показал наличие в ее составе следующих элементов: кремния, алюминия, железа, кальция, калия, магния. Удельная поверхность составила 53 м²/г, объем пор – 0,065 см³/г, средний размер мезопор – 4,8 нм, микропор – 1,23 нм. Адсорбционная активность по метиленовому синему – (62,0±0,2) мг/г.

Исследованы биофармацевтические свойства минерального сорбента. Установлено, что адсорбционная активность у модели желудка составила (57,3±0,3) мг/г, модели кишечника – (58,9±0,2) мг/г.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.

1. Zhilyakova, E. T. Physical research of porosity of mineral sorbents / E. T Zhilyakova, A. V Bondarev, N. N Bojko., D. K. Naplekov // Journal of International Pharmaceutical Research. – 2018. – № 45. – С. 477-480.
2. Кормишина, А. Е. Новые перспективы использования глины кимериджской (голубой) Ундоровской / А. Е. Кормишина, П. Г. Мизина, Е. С. Мелентьева, Д. В. Козлов // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Естественные науки. – 2016. – № 4(16). – С. 88-96.
3. Плоскирева, А. А. Патогенетические аспекты цитомукопротективной терапии острых кишечных инфекций / А. А. Плоскирева, Т. А. Руженцова, И. Т. Щербаков, Е. И. Исаева, Н. В. Чебышев, А. В. Бондарева, А. В. Горелов // ЭиКГ. – 2016. – №1(125). – С. 65-73.
4. Бондарев, А. В. Перспективы использования медицинских глин / А. В. Бондарев, Е. Т. Жилякова, Н. Б. Демина, Е. Ю. Тимошенко // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2019. – № 8(4). – С. 27-31. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2019-8-4-27-31.

PHYSICO-CHEMICAL AND BIOPHARMACEUTICAL STUDIES OF MINERAL SORBENT

Ph.D. in Pharmacy Bondarev A.[a)], Gamayunova T., Novikova N.
Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education Belgorod State National Research University, Russia, Belgorod, Pobedy str., 85, 308015
a) corresponding author – alexbond936@yandex.ru

Abstract. Currently, mineral sorbents are used as agents for gastroenterosorption. A promising area of study of mineral sorbents is the transport of medicinal substances. The aim of the work is to study the physico-chemical and biopharmaceutical properties of the mineral sorbent. Materials: Montmorillonite Clay (Technical Specifications 9296-001-62646221-2012, Russia); Methylene Blue Reagent (Technical Specifications 2463-044-05015207-97, Mosreactive, Russia). Methods: the determination of the adsorption activity was carried out by General Pharmacopoeia Article.1.2.3.0021.15 "Determination of the adsorption activity of enterosorbents".
The first part of the work is devoted to the study of the physical and chemical properties of the mineral sorbent. The structure of Montmorillonite is studied. The mineral Montmorillonite is composed of one octahedral and two tetrahedral layers. Montmorillonite is a layered mineral with an expanding lattice and is a mesomicroporous sorbent. According to the morphological characteristics, the object under study is represented by symmetric particles of inhomogeneous shape of various sizes. The energy-dispersion spectrum showed the presence of elements in the composition: Silicon, Aluminum, Iron, Calcium, Potassium and Magnesium.
The second part of the work is devoted to the study of the biopharmaceutical properties of the mineral sorbent. To determine the effect of the temperature and pH of the medium on the adsorption activity, biopharmaceutical studies were carried out in in vitro experiments in solutions simulating physiological media.
Conclusions: The physical and chemical properties of the mineral sorbent were investigated. The structure of Montmorillonite is studied. The specific surface area of the mineral sorbent was 53 m^2/g, the pore volume was 0.065 cm^3/g, the average mesopore size was 4.8 nm, and the micropore size was 1.23 nm. The adsorption activity for methylene blue is (62.0±0.2) mg/g. The biopharmaceutical properties of the mineral sorbent were investigated. It was found that the adsorption activity in the stomach model was 57.3±0.3 mg/g, and in the intestine model – (58.9±0.2) mg/g.
Keywords*: mineral sorbent, Montmorillonite, physico-chemical properties, biopharmaceutical properties.*

УДК: 111.111 DOI: 10.52101/9785870191003_2021_379

ИЗУЧЕНИЕ СТРУКТУРЫ КОМПЛЕКСА РУТИНА С ЦИНКОМ МЕТОДАМИ ЯМР И СПЕКТРОФОТОМЕТРИИ

доцент, д.фарм наук, Тернинко И. И., Вишняков Е. В[a]., Топоркова В. И., Уэйли А. К.

Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет, Российская Федерация, г. Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, 197376

а) автор для переписки – evgeniy.vishnyakov@pharminnotech.com

Аннотация. В ходе исследовательской работы получен комплекс рутина с цинком, а также выявлены потенциальные сайты связывания металла в молекуле флавоноида методами ЯМР (ядерный магнитный резонанс) и спектрофотометрии с целью доказательства структурных особенностей комплекса. Интерпретация спектров позволила установить, что в предполагаемом комплексе цинк связывается с гидроксогруппами катехинового фрагмента молекулы рутина (кольцо В) и с гидроксогруппой сахарного остатка рамнозы. Полученные данные помогут объяснить физико-химические свойства и спрогнозировать фармакологические эффекты, опосредованные уникальными структурными особенностями минерального комплекса. В перспективе планируется использовать и другие методы, такие как ИК-спектроскопия, термогравиметрия, рентгеноструктурный анализ, масс-спектрометрия, элементный анализ для подтверждения строения исследуемого комплекса, а также изучать новые комплексные соединения, в основу которых входят переходные металлы и фенольные соединения.

Ключевые слова: *флавоноиды, металлы, комплексные соединения, ядерный магнитный резонанс, спектрофотометрия, рутин, цинк*

ВВЕДЕНИЕ

Природные минеральные комплексы с биологически активными веществами растительного происхождения (например, флавоноидами) являются новым, перспективным классом соединений, которые в исследованиях продемонстрировали противоопухолевую, противодиабетическую, противомикробную, антиоксидантную активности, опосредованные через уникальные структурные особенности молекулы комплекса [1]. Исходя из этого, доказательство строения комплексов является важной задачей с точки зрения прогнозирования фармакологических эффектов и механизмов взаимодействия с биологическими системами животных организмов на молекулярном уровне [2].

Анализ литературных источников [3-6] показывает, что наиболее информативным методом для установления структуры комплексов, является РСА (рентгеноструктурный анализ), однако если его нельзя реализовать, прибегают к ЯМР-спектроскопии, спектроскопии в видимой и УФ-областях, ИК (инфракрасная) – спектроскопии, термогравиметрии, масс-спектрометрии, компьютерному моделированию, которые в совокупности позволяют оценить потенциальные сайты связывания металла в молекуле флавоноида [7]. К группировкам молекулы флавоноида, которые способны взаимодействовать с ионами металлов относятся: I – 5-гидрокси-4-оксо группа (4-5 сайт); II – 3-гидрокси-4-оксо группа (3-4 сайт); III – 3’, 4’-дигидроксигруппа (3’-4’ сайт); IV – гидроксигруппы сахарного остатка (см. Рисунок 1) [8]. Стоит отметить, что за счёт того, что флавоноиды – слабые кислоты, вероятность хелатирования по каждому из представленных выше сайтов и качественный состав самого комплекса будет определяться pH раствора [9].

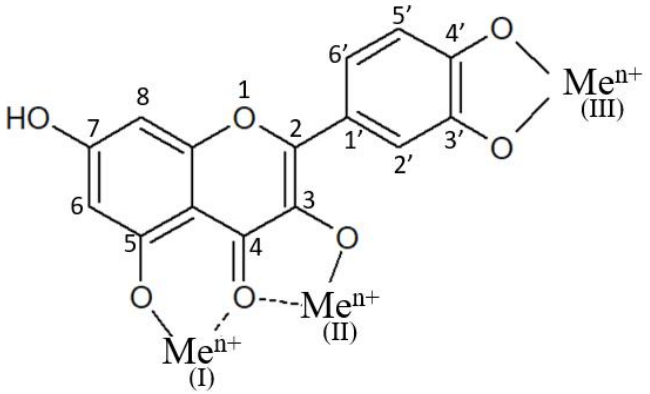


Рисунок 1 – Потенциальные сайты связывания металла с молекулой флавоноида

Поэтому, исходя из актуальности поставленной задачи, ***цель работы*** – изучение структуры модельного комплекса цинка с рутином методами ЯМР – спектроскопии и спектрофотометрии. В ходе выполнения исследовательской работы были поставлены следующие задачи: получить комплекс цинка с рутином, оценить спектральные особенности комплекса в сравнении с «родительским» флавоноидом с помощью методов ЯМР-спектроскопии, спектрофотометрии и интерпретировать полученные результаты.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы. В ходе выполнения работы были использованы следующие реактивы и растворители:

1 – ***рутин*** *(Rutin, партия 332, годен до 26.03.2023, Sichuan Guangsong Pharmaceutical Co., Ltd., Китай, ФС 000569-060514) был приобретён ФГБОУ СПХФУ;*

2 – ***цинка хлорид безводный*** *(Цинк хлористый б/в, партия 39/G 4, годен до 09.10.2021, Нева Реактив, Россия, СТП ТУ КОМП 1-533-2012) был приобретён ФГБОУ СПХФУ;*

3 – ***метанол*** *(Карбинол, партия 05, годен до 15.09.2021, АО «ВЕКТОН», Россия, ГОСТ 6995-77) был приобретён ФГБОУ СПХФУ;*

4 – ***d-ДМСО*** *(Dimethyl sulfoxide-d 6 Aldrich, партия 151874, годен до 29.08.21, Sigma-Aldrich, США, Ph. Eur., BP, USP-NF) был приобретён ФГБОУ СПХФУ.*

Методы. Комплекс цинка с рутином получали следующим образом: 1,220 г рутина (2 ммоль) растворяли в 100 мл метанола, затем к раствору рутина в метаноле добавляли цинка хлорид ($ZnCl_2$) в количестве 0,136 г (1 ммоль). Реакционную смесь нагревали при 80 ^{0}C с использованием обратного холодильника в течение 6 часов. После охлаждения раствор отфильтровывали, измеряли pH фильтрата с помощью pH–метра Mettler Toledo Five Easy 20 с универсальным комбинированным электродом LE438-P67, оборудованного термодатчиком при температуре 20±2°C. Далее фильтрат помещали в фарфоровую чашку для выпаривания растворителя при температуре водяной бани (100 ^{0}C). Полученный комплекс промывали метанолом для удаления избытка реагентов, высушивали.

Полученный комплекс представлял собой порошок коричневого цвета, хорошо растворимый в воде, 96 % спирте, метаноле и диметилсульфоксиде.

Исследование полученного металл-флавоноидного комплекса в сравнении с рутином методом ядерного магнитного резонанса в соответствии с *ОФС.1.2.1.1.0007.15 «Спектроскопия ядерного магнитного резонанса»* проводили с использованием прибора Bruker Avance III (Германия), рабочая частота для спектров ^{1}H - 400 МГц, ^{13}C - 100 МГц, растворитель ДМСО-d6. ЯМР – спектры были обработаны с помощью программы ACD/SpecManager 10.0 (AdvancedChemistryDevelopment, Inc) [10].

УФ-спектры рутина и его комплекса с цинком регистрировали в соответствии с *ОФС 1.2.1.1.0003.15 «Спектрофотометрия в УФ и видимой областях»* на приборе СФ-2000 (Россия) [10]. Для анализа готовили метанольные растворы рутина (0,610 г в 250,0 мл) и рутина

с хлористым цинком в различных соотношениях компонентов в мерной колбе на 250,0 мл (см. Таблица 1) с контролем pH.

Таблица 1 – Варианты соотношения компонентов рутин / цинка хлорид в метанольном растворе

Соотношение/компонент	Рутин	Цинка хлорид
1:1	0,610 г (1 ммоль)	0,136 г (1 ммоль)
1:2	0,610 г (1 ммоль)	0,272 г (2 ммоль)
2:1	1,220 г (2 ммоль)	0,136 г (1 ммоль)

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На Рисунке 2 представлены УФ-спектры рутина и комплекса с различным соотношением компонентов. Как видно из данных рисунка, спектральные характеристики комплекса имеют отличия относительно флавоноида-предшественника при значении pH метанольных растворов 4,11. При длине волны в 320 нм у комплекса пропадает минимум, а также свою форму меняет максимум при λ=366 нм, который характерен для катехинового фрагмента (кольцо B) молекулы рутина (см. Рисунок 3). Исходя из этого, можно сделать вывод, что в ходе комплексообразования затрагиваются гидроксильные группы кольца B (3'-4' сайт связывания).

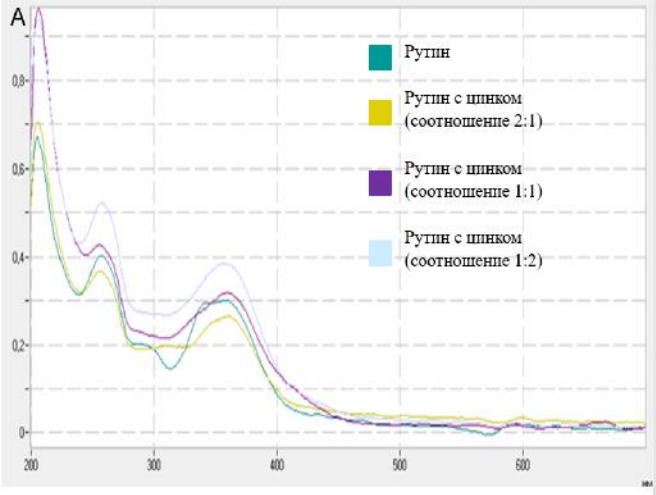


Рисунок 2 – УФ-спектры рутина и комплекса цинка с рутином с различным соотношением компонентов (pH 4,11)

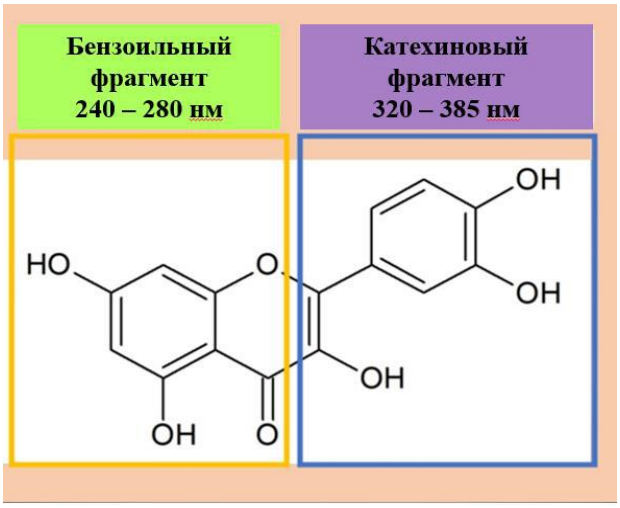


Рисунок 3 – Характерные полосы поглощения для бензоильного и катехинового фрагментов молекулы флавоноида

На Рисунках 4 и 5 представлены ЯМР – спектры рутина и предполагаемого комплекса. ^{1}H-ЯМР спектр рутина можно разделить на три части: от 1 – 5.5 м.д. (часть спектра, где представлены сигналы протонов, относящиеся к углеводным остаткам глюкозы и рамнозы), от 6,0 – 8,0 м.д. (часть спектра, где находятся сигналы ароматических протонов) и 9,0 – 13,0 м.д. (область, в которой находятся сигналы протонов фенольных гидроксилов).

При добавлении иона металла происходят некоторые изменения в общем виде спектра рутина - изменения в значении химических сдвигов некоторых протонов и в ширине ряда пиков. Часть спектра от 1 – 5.5 м.д. становится практический не поддается интерпретации вследствие уширения сигналов протонов углеводных остатков и возникновения ряда других уширенных сигналов, возможно, имеющих отношение к различным формам координационно связанной воды с ионом металла. Но в этой области спектра можно отметить сдвиг дублета

метильной группы рамнозы от 0,99 до 1,14 м.д., что может свидетельствовать об образовании ковалентной связи металла с гидроксигруппой остатка рамнозы.

В части спектра 6,0 – 8,0 м.д. наблюдается уширение в сигналах всех ароматических протонов. При этом дублет протона 8-Н сдвигается от 6,38 м.д. до 6,40 м.д. и дублет протона Н-5’ сдвигается от 6,85 до 6,88 м.д.

Специфической особенностью части спектра от 9,0 до 13,0 м.д. является сужение пиков протонов всех фенольных гидроксилов. Данное явление можно объяснить через участие данных функциональных групп в комплексообразовании, вследствие которого протоны фенольных гидроксилов становятся менее подвержены обменным процессам, приводящим к уширению пиков. Также наблюдаются изменения в химических сдвигах всех протонов фенольных гидроксилов.

Суммируя вышесказанное можно заключить, что комплексообразование влияет на распределение электронной плотности ряда функциональных групп и влечет за собой изменения в химических сдвигах ассоциированных протонов. Также следует отметить сужение в ширине пиков протонов фенольных гидроксилов, что свидетельствует об их участии в процессе комплексообразования.

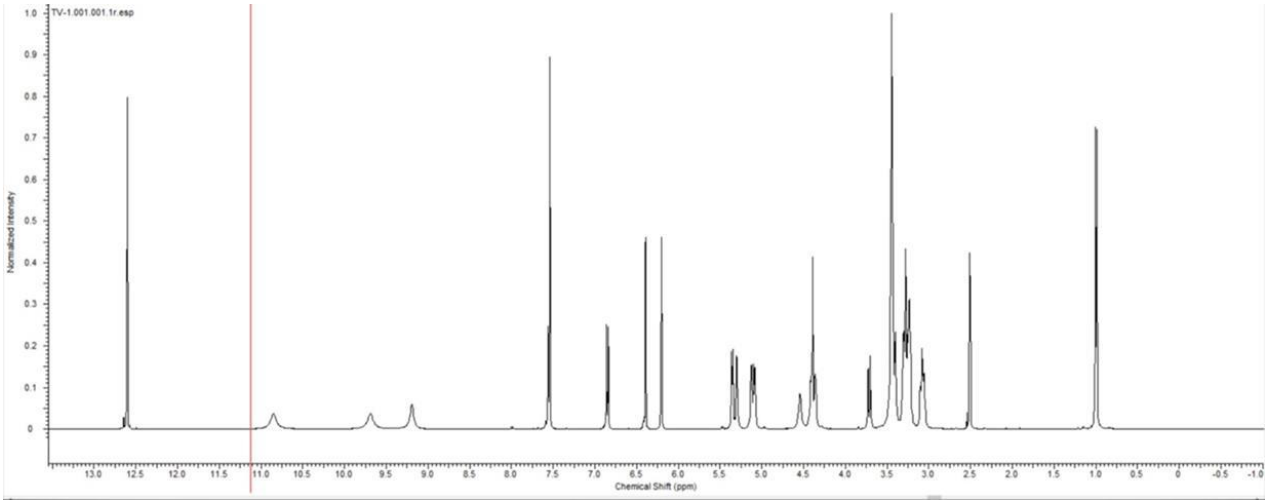


Рисунок 4 – ЯМР-спектр рутина

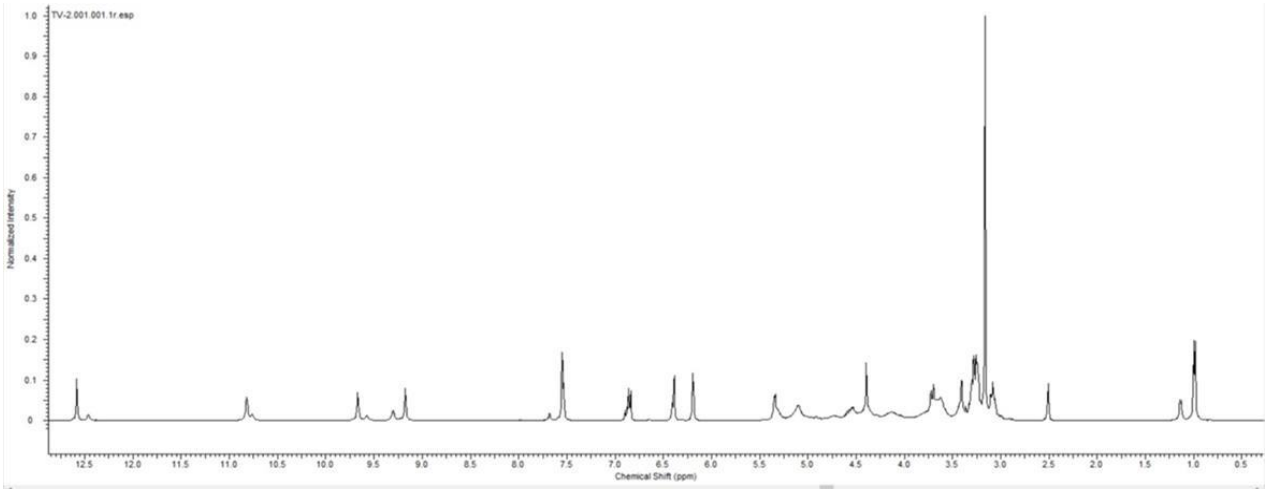


Рисунок 5 – ЯМР-спектр предполагаемого комплекса

ВЫВОДЫ

С помощью методов ЯМР-спектроскопии и спектрофотометрии установлены потенциальные сайты связывания цинка с молекулой рутина. Интерпретируя полученные данные, можно сделать вывод о том, что металл при заданном значении pH исходного метанольного раствора (pH 4,11) может взаимодействовать с молекулой флавоноида через фенольные гидроксилы кольца B (3'-4' сайт) и гидроксигруппы сахарного остатка молекулы рамнозы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Selvaraj, S. Flavonoid-Metal Ion Complexes: A Novel Class of Therapeutic Agents / S. Selvaraj, S. Krishnaswamy, V. Devashya, S. Sethuraman, U.M. Krishnan // Medicinal Research Reviews. – 2013. – 29;34(4). – 677–702;
2. Khater, M. Metal complexes of flavonoids: their synthesis, characterization and enhanced antioxidant and anticancer activities / M. Khater, D. Ravishankar, F. Greco, H. M. Osborn // Future MedicinalChemistry. Future Science Ltd. – 2019. – 11(21). – 2845–2867;
3. Tu, L.Y. Synthesis, characterization and anticancer activity of kaempferol-zinc (II) complex / L.Y. Tu, J. Pi, H. Jin, J. Y. Cai, S. P. Deng // Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters. – 2016. – 26(11). – 2730–2734;
4. Pastuszko, A. The synthesis, lipophilicity and cytotoxic effects of new ruthenium (II) arene complexes with chromone derivatives / A. Pastuszko, K. Majchrzak, M. Czyz, B. Kupcewicz, E. Budzisz // J. Inorg. Biochem. – 2016. –159. – 133–14;
5. Kurzwernhart, A. Flavonoid-Based Organometallics with Different Metal Centers - Investigations of the Effects on Reactivity and Cytotoxicity / A. Kurzwernhart, S. Mokesch, E. Klapproth, M. S. Adib-Ravazi, M. A. Jakupec, C. G. Hartinger // European Journal of Inorganic Chemistry. – 2015. – 6(2). –240–246;
6. Kasprzak, M. M. ChemInform Abstract: Properties and Applications of Flavonoid Metal Complexes / M. M. Kasprzak, A. Erxleben, J. Ochocki // ChemInform. – 2015. – 46(29). – 503–516;
7. Wang, Q. Complexation of luteolin with lead (II): Spectroscopy characterization and theoretical researches / Q. Wang, L. Zhao, H. Zhao, X. Liu, L. Gao, N. Cheng // Journal of Inorganic Biochemistry. – 2019. – 193. – 25–30;
8. Primikyri, A. Understanding Zinc (II) Chelation with Quercetin and Luteolin: A Combined NMR and Theoretical Study / A. Primikyri, G. Mazzone, C. Lekka, A. G. Tzakos, N. Russo // The Journal of Physical Chemistry. – 2014. – 119(1). – 83–95.
9. Maitera, O. N. Synthesis and characterization of some metal complexes using herbal flavonoids / O. N. Maitera, H. Louis, J. T. Barminas, O. U. Akakuru, G. Boro // Natural Products Chemistry Research. – 2018. – 6. – 314 –326;
10. Государственная фармакопея Российской Федерации / МЗ РФ. – XIV изд. –Т.1. – Москва, 2018. – 1814 с.

DETERMINATION OF ZINC-RUTIN COMPLEX STRUCTURE THROUGH ^{1}H NMR AND SPECTROPHOTOMETRY

Professor, D. Sc. in Pharmacy, associate professor Terninko I. I., Vishnyakov E. V.[a], Toporkova V. I.,Waley A. K.
St. Petersburg Chemical Pharmaceutical University, Russian Federation, St. Petersburg, st. prof. Popova, 14, 197376
a) corresponding author – evgeniy.vishnyakov@pharminnotech.com

Abstract. In the course of the research work, a complex of rutin with zinc was obtained, and potential sites of metal binding in the flavonoid molecule were identified by NMR (nuclear magnetic resonance) and spectrophotometry with final evidence of the structure of the complex. The interpretation of the spectra makes it possible to establish that, in the putative complex, zinc binds to the hydroxo groups of the catechol fragment of the rutin molecule (ring B) and to the hydroxo group of the sugar residue of rhamnose. The data obtained will help explain the physicochemical properties and predict the pharmacological effects mediated by the unique structural features of the mineral complex. In the future, it is planned to use other methods, such as IR spectroscopy, thermogravimetry, X-ray diffraction analysis, mass spectrometry, elemental analysis to confirm the structure of the studied complex, as well as to study new complex compounds based on transition metals and phenolic compounds.

***Key words**: flavonoids, metals, complex compounds, nuclear magnetic resonance, spectrophotometry, rutin, zinc.*

УДК 615.322: 547.9 DOI: 10.52101/9785870191003_2021_385

РАЗРАБОТКА МЕТОДОВ АНАЛИЗА СОКА ПЛОДОВ БОЯРЫШНИКА МЯГКОВАТОГО

Волкова Н. А.[a)], Шайхутдинов И. Х., профессор, д.фарм.н. Куркин В. А.,
доцент, д.фарм.н. Правдивцева О. Е.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Российская Федерация, г. Самара, ул. Чапаевская 89, 443099

а) автор для переписки – nadezhda_alexandrovna_1997@mail.ru

Аннотация. Растения рода боярышник широко применяются в медицинской практике Российской Федерации, а также за рубежом для изготовления кардиотонических средств. Плоды боярышника мягковатого (*Crataegus submollis* Sarg.) – новый вид лекарственного растительного сырья. Методом определения подлинности для сока свежих плодов боярышника мягковатого могут служить качественные реакции (цианидиновая проба, реакция с 2 % спиртовым раствором алюминия хлорида), УФ-спектрофотометрия. Количественное определение суммы флавоноидов в соке плодов боярышника мягковатого целесообразно проводить с помощью прямой спектрофотометрии при длине волны 282 нм в пересчете на катехин. Обоснована целесообразность использования высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) для определения биологически активных соединений в соке плодов боярышника мягковатого. Сок свежих плодов боярышника мягковатого является перспективным лекарственным средством.

***Ключевые слова*:** *боярышник мягковатый, Crataegus submollis Sarg., плоды, сок, флавоноиды, спектрофотометрия, ВЭЖХ.*

ВВЕДЕНИЕ

Боярышник мягковатый (*Crataegus submollis* Sarg.) широко культивируется в РФ в качестве декоративного и пищевого растения [1]. Плоды боярышника мягковатого сходны по составу с плодами фармакопейных видов боярышника, однако на сегодняшний день не используются в медицинской практике [2]. Согласно данным доклинических исследований на белых беспородных крысах, сок свежих плодов боярышника мягковатого обладает диуретическим действием [3]. На наш взгляд, он является перспективным лекарственным средством. Однако для новых лекарственных средств необходимым условием является разработка методов анализа. Нами предложена методика анализа методом прямой спектрофотометрии при длине волны 282 нм в пересчете на катехин сока свежих плодов боярышника мягковатого, не содержащего окисленные формы флавоноидов, в частности, гиперозид, в больших количествах.

Целью настоящей работы явилась разработка методик качественного и количественного анализа сока свежих плодов боярышника мягковатого.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.

Материалы

Плоды боярышника мягковатого были заготовлены на территории Самарской области в сентябре 2020 г. Для исследования плоды снимались с веток одного растения. Непосредственно после сбора из свежих плодов путем прямого прессования был получен нативный сок. Затем после добавления спирта этилового и отстаивания при температуре 8-10 ^{0}C в течение двух суток с последующим фильтрованием получали готовый продукт. Полученные образцы сока были исследованы на содержание суммы флавоноидов в пересчете на катехин.

Методы

Детекцию флавоноидов осуществляли с помощью специфических качественных реакций на данную группу биологически активных соединений (цианидиновая проба, реакция с 2 % спиртовым раствором алюминия хлорида).

Нами был изучен подход к анализу сока плодов боярышника мягковатого методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) в соответствии с ОФС 1.2.1.2.0005.15 «Высокоэффективная жидкостная хроматография» [2]. ВЭЖХ-анализ осуществляли на микроколоночном жидкостном хроматографе «Милихром-6» (НПАО «Научприбор», Россия) с ультрафиолетовым детектированием в следующих условиях: градиентный режим, обращеннофазовая стальная колонка «КАХ-6-80-4» (№1; 2 мм х 80 мм; Сепарон-С18), подвижная фаза – различные соотношения ацетонитрила и 1 %-го водного раствора ледяной уксусной кислоты, скорость движения растворителя – 100 мкл/мин, объем растворителя – 2500 мкл, объем пробы 2-6 мкл.

Определение суммы флавоноидов в пересчете на катехин проводили методом прямой спектрофотометрии при длине волны 282 нм. При этом рассчитывали сумму флавоноидов в пересчете на катехин. Регистрацию УФ-спектров проводили с помощью спектрофотометра «Specord 40» (Analytik Jena, Германия).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Как известно, плоды боярышника содержат в основном восстановленные формы флавоноидов (процианидины) [3], которые не дают выраженных аналитических эффектов при проведении цианидиновой реакции и реакции с раствором алюминия хлорида. Сок плодов боярышника мягковатого окрасился в черный цвет при добавлении раствора железа (III) хлорида и потемнел при взаимодействии с раствором щелочи. Определено, что для сока плодов боярышника мягковатого характерен максимум поглощения 282 нм в случае прямой спектрофотометрии, совпадающий с максимумом раствора катехина. Электронные спектры сока плодов боярышника мягковатого и катехина отображены на рисунках 1 и 2, соответственно.

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на катехин в соке свежих плодов боярышника мягковатого составило 0,41 % ± 0,02 %.

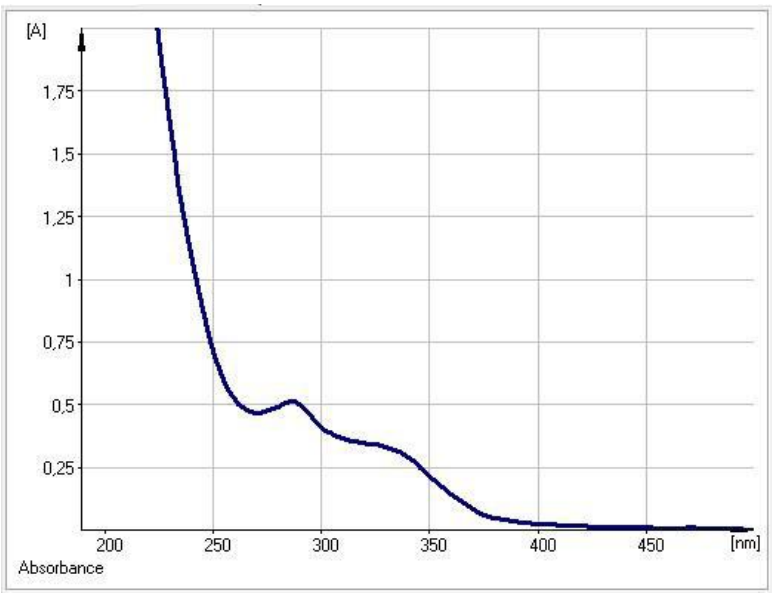


Рисунок 1 – Электронный спектр сока плодов боярышника мягковатого

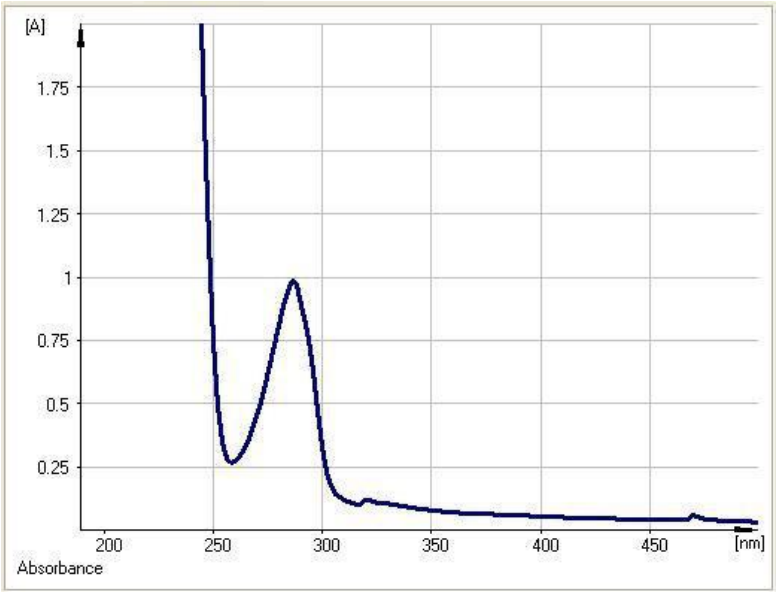


Рисунок 2 – Электронный спектр раствора катехина

В качестве подвижной фазы для проведения ВЭЖХ-анализа была выбрана система растворителей ацетонитрил – 1 % водный раствор ледяной уксусной кислоты в градиентном режиме. Детекция осуществлялась на длине волны 254 нм, 282 нм, 330 нм и 360 нм, в соответствии с максимумами поглощения исследуемых веществ. Также нами были использованы растворы веществ, ранее выделенных методом колоночной хроматографии и идентифицированных как гиперозид, хлорогеновая кислота и катехин.

Наиболее оптимальное разделение сока плодов боярышника мягковатого происходит при использовании четырехступенчатого градиента, в следующих соотношениях элюентов: первая ступень – ацетонитрил : 1 % раствор уксусной кислоты 1:9 (700 мкл); вторая ступень – ацетонитрил 1 % раствор уксусной кислоты 15:85 (700 мкл); третья ступень – ацетонитрил 1 % раствор уксусной кислоты 2:8 (500 мкл); четвертая ступень – ацетонитрил : 1 % раствор уксусной кислоты – 35:65 (600 мкл).

В ходе эксперимента были получены ВЭЖХ-хроматограммы сока плодов боярышника мягковатого, представленные на Рисунке 3.

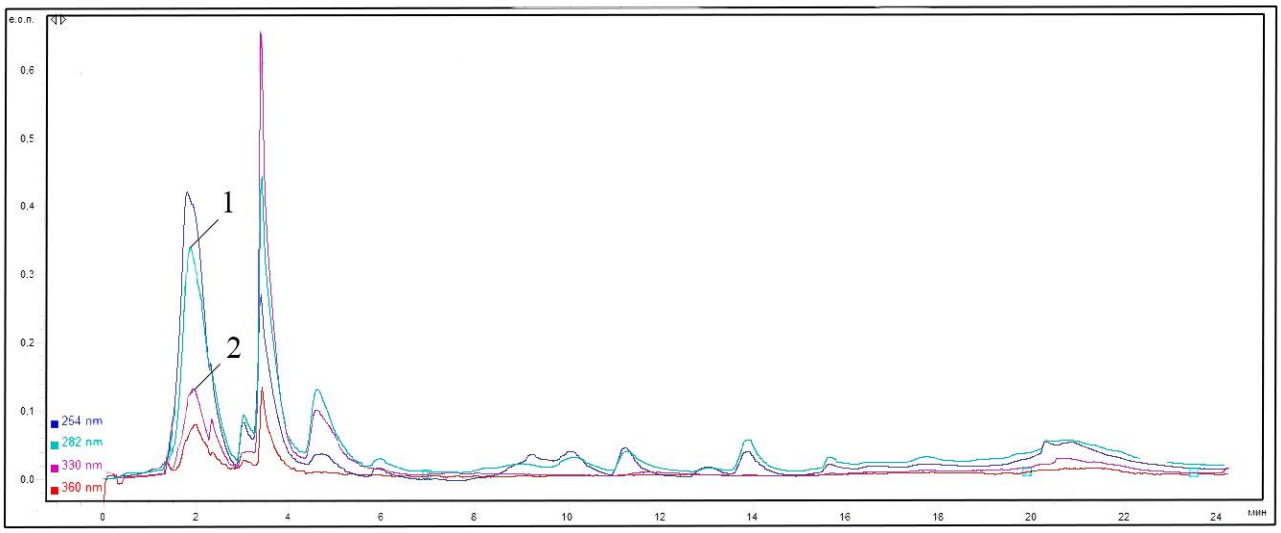


Рисунок 3 – Типичная ВЭЖХ-хроматограмма сока плодов боярышника мягковатого:
1 – катехин; 2 – хлорогеновая кислота

На рисунке 4 представлена ВЭЖХ-хроматограмма катехина с концентрацией 400 мкг/мл.

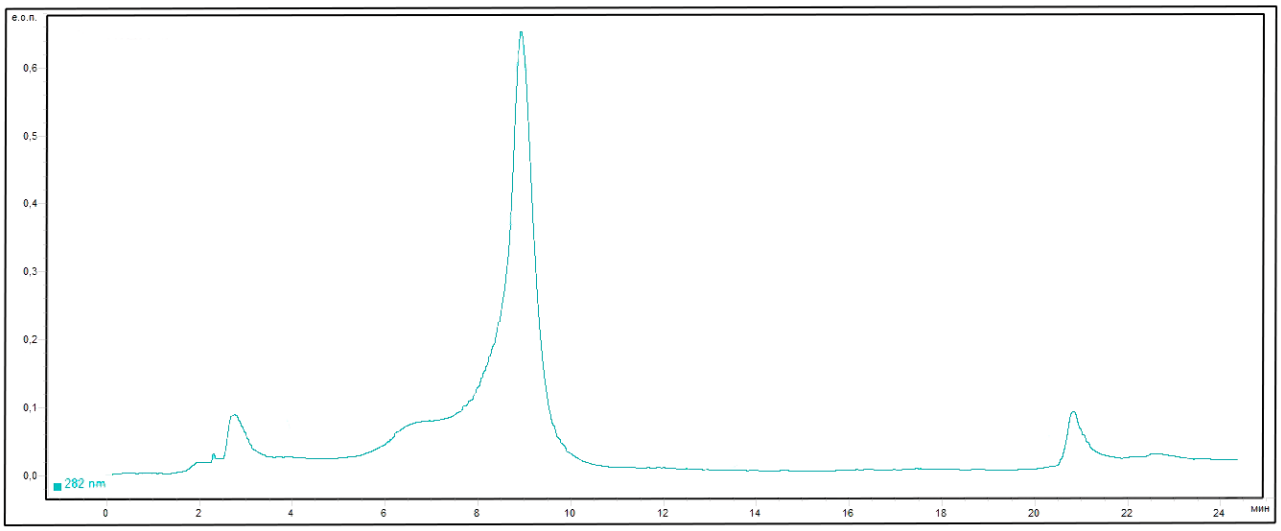


Рисунок 4 – ВЭЖХ-хроматограмма катехина

Добавление раствора катехина к соку в соотношении 1:2 на хроматограмме характеризуется увеличением интенсивности пиков выделенных на хроматограмме веществ по сравнению с таковой в исходном испытуемом растворе, что показано на рисунке 5.

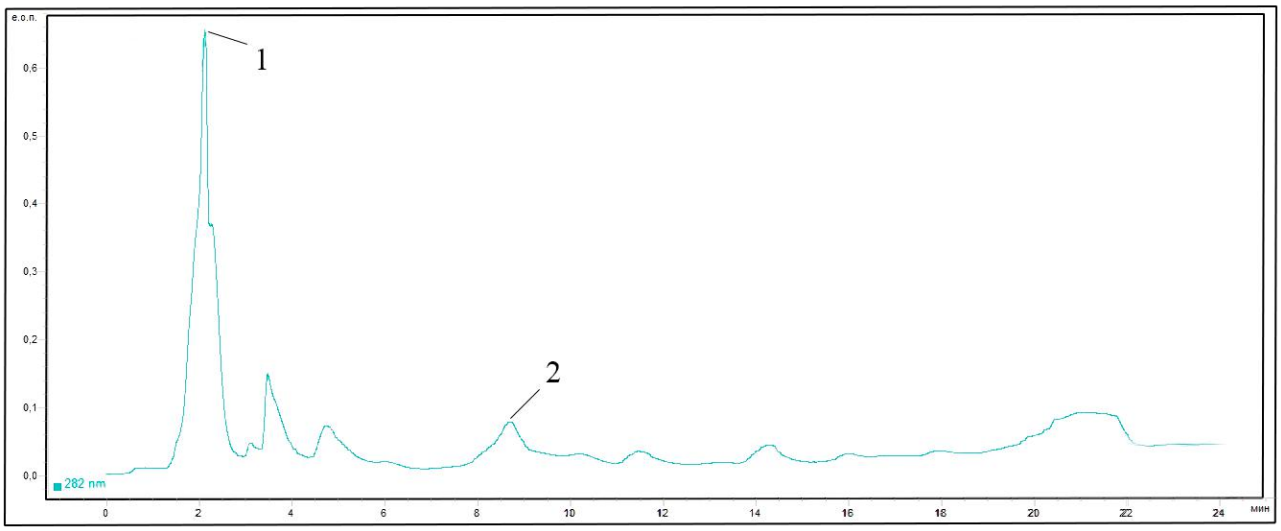


Рисунок 5 – ВЭЖХ-хроматограмма сока плодов боярышника мягковатого с добавлением катехина: 1, 2 – изомеры катехина

При тех же условиях элюирования интенсивность пиков на ВЭЖХ-хроматограмме сока плодов боярышника мягковатого с раствором катехина отличается от стандартного образца катехина, что связано с изомеризацией катехина [4].

На рисунке 7 представлена ВЭЖХ-хроматограмма хлорогеновой кислоты с концентрацией 400 мкг/мл.

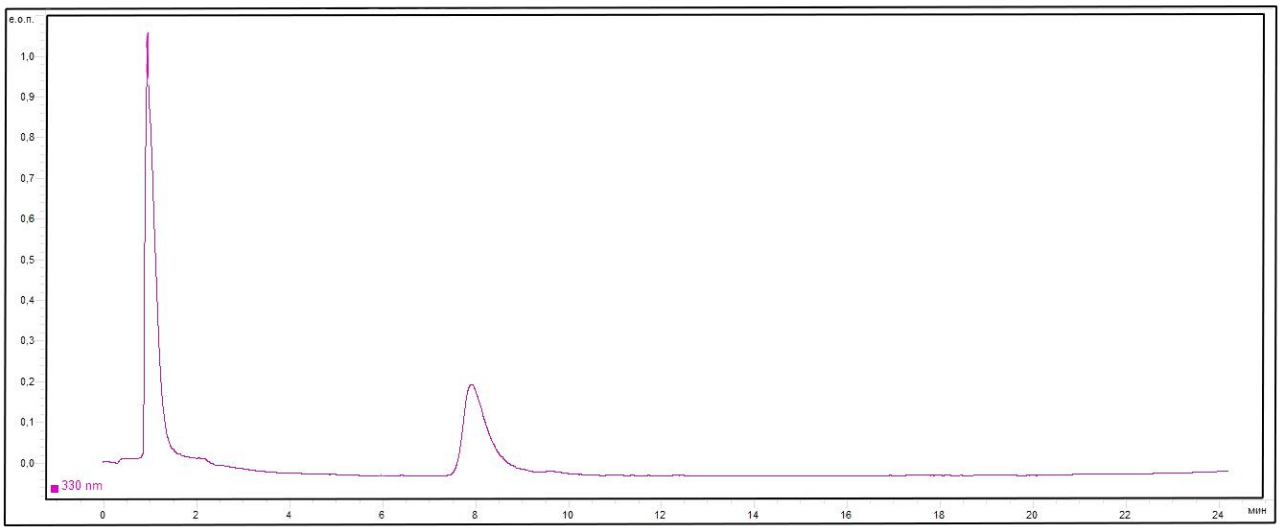


Рисунок 6 – ВЭЖХ-хроматограмма хлорогеновой кислоты

При добавлении к соку плодов боярышника мягковатого раствора стандартного образца хлорогеновой кислоты наблюдали повышение пика вещества, обозначенного на рисунке 7.

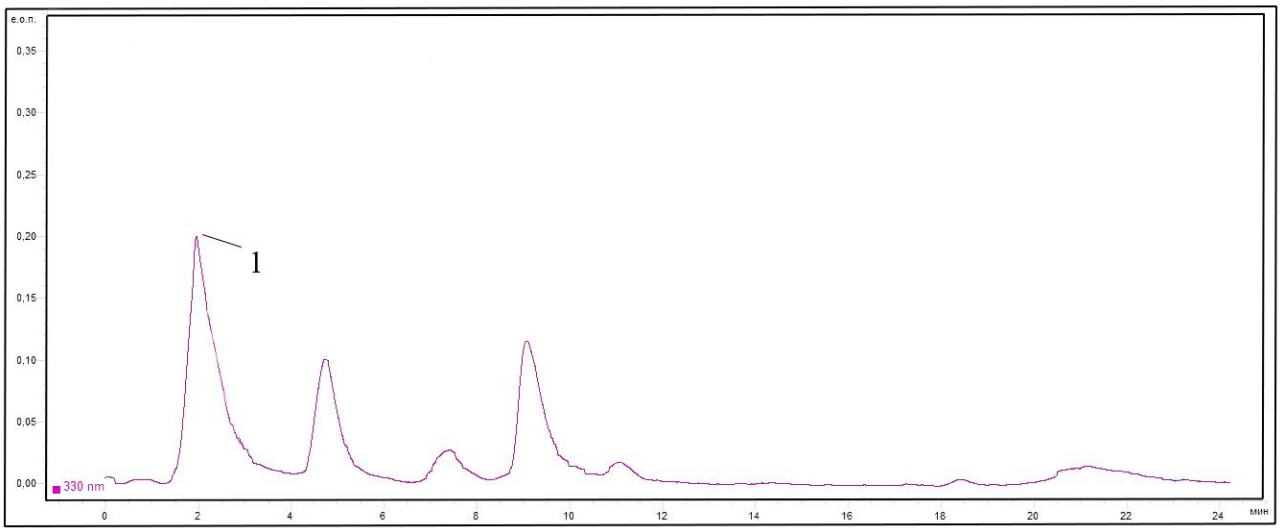


Рисунок 7 – ВЭЖХ-хроматограмма сока плодов боярышника мягковатого с добавлением хлорогеновой кислоты: 1 – хлорогеновая кислота

Ранее нами было подтверждено наличие гиперозида в спиртовых извлечениях плодов боярышника мягковатого [3]. Сок также был подвергнут анализу на содержание данного вещества. Стандартный образец гиперозида элюировали при тех же условиях (Рисунок 8). Пик соответствующих времени удерживания гиперозида, в соке отсутствует. Это объясняется наличием в соке преимущественно восстановленных форм флавоноидов.

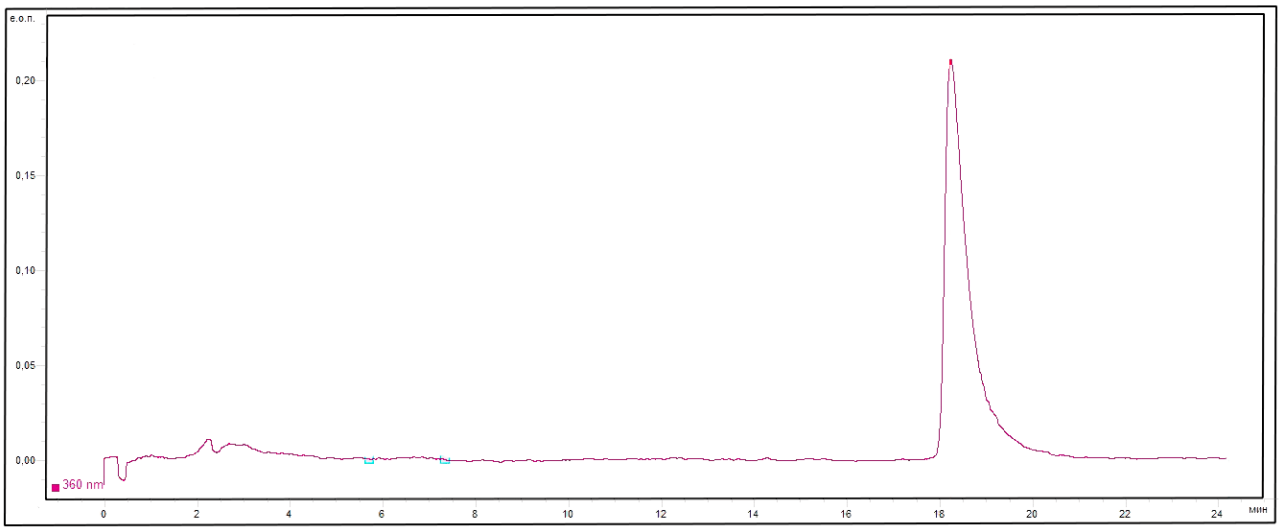


Рисунок 8 – ВЭЖХ-хроматограмма гиперозида

Установлены показатели времени удерживания веществ на ВЭЖХ-хроматограмме сока плодов боярышника мягковатого, представленные в таблице 1.

Таблица 1 – Время удерживания веществ сока плодов боярышника мягковатого

№ п/п	Вещество	Время удерживания на хроматограмме, мин	
		Сок плодов боярышника мягковатого	Раствор индивидуального вещества
1	Хлорогеновая кислота	1,97 ± 0,08	0,97 ± 0,08
2	Изомер катехина	2,14 ± 0,08	2,64 ± 0,08

ВЫВОДЫ

Таким образом, методом качественного анализа для сока свежих плодов боярышника мягковатого могут являться качественные реакции (раствор натрия гидроксида и раствор железа (III) хлорида) в сочетании с УФ-спектрофотометрией. При этом определение следует проводить, ориентируясь на восстановленные формы флавоноидов. В виду многокомпонентного состава данного лекарственного препарата перспективным методом анализа является высокоэффективная жидкостная хроматография. Количественный анализ сока свежих плодов боярышника мягковатого целесообразно проводить с помощью прямой спектрофотометрии при длине волны 282 нм с определением суммы флавоноидов в пересчете на катехин. Сок свежих плодов боярышника мягковатого – перспективный лекарственный препарат.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Шемякина, А. В. Боярышник (Crataegus L.) на Российском Дальнем Востоке // Материалы международной конференции «Перспективы лекарственного растениеведения». – М.: ВИЛАР, 2018. – С. 135-138.
2. Государственная фармакопея Российской Федерации / МЗ РФ. XIV изд. Т. I-IV. М., 2018. [Электронный ресурс] URL: http:// http://femb.ru/femb/pharmacopea.php (дата обращения: 07.02.2021).
3. Куркина, А. В. Флавоноиды фармакопейных растений: монография / А.В. Куркина. – Самара: ООО «Офорт», ГБОУ ВПО СамГМУ Минздравсоцразвития России, 2012. – 290 с.
4. Флавоноиды: биохимия, биофизика, медицина / Тараховский Ю. С., Ким Ю. А., Абдрасилов Б. С., Музафаров Е. Н.; [отв. ред. Е.И. Маевский] – Пущино: Synchrobook, 2013. – 310 с.

DEVELOPMENT OF METHODS FOR ANALYSIS OF THE JUICE OF *CRATAEGUS SUBMOLLIS* SARG. FRUITS

Volkova N.[a)], Shaikhutdinov I., Professor, D.Sc. in Pharmacy Kurkin V., associate professor, D.Sc. in Pharmacy Pravdivtseva O.

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Samara State Medical University» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Russian Federation, Samara, Chapaevskaya ul. 89, 443099

a) corresponding author – nadezhda_alexandrovna_1997@mail.ru

Abstract. Plants of the genus hawthorn are widely used in the medical practice of the Russian Federation, as well as abroad for the manufacture of cardiotonic drugs. The fruits of *Crataegus submollis* Sarg. are a valuable source of medicinal plant raw material. The method of qualitative analysis for the juice of fresh fruits of *Crataegus submollis* Sarg. can be qualitative reactions (zinc-hydrochloric acid reduction test, 2 % alcohol solution of aluminum chloride reaction) in combination with UV-spectrophotometry. Quantitative determination of the total flavonoids in the juice of *Crataegus submollis* Sarg. fruits analysis should be performed using of direct spectrophotometry at a wavelength of 282 nm calculated on catechin. It was substantiated the expediency of the biologically active compounds in the juice of *Crataegus submollis* Sarg. fruits by means of an HPLC. The juice of fresh fruits of *Crataegus submollis* Sarg. may be a new drug.

Keywords: Crataegus submollis Sarg., fruits, juice, flavonoids, spectrophotometry, HPLC.

УДК 615.322 DOI: 10.52101/9785870191003_2021_392

ОПРЕДЕЛЕНИЕ *IN VITRO* АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ ЖИРНОГО МАСЛА ЧЕРНОГО ТМИНА

Мубинов А. Р.[1, a)], профессор, д.фарм.н. Авдеева Е. В.[1], профессор, д.фарм.н. Куркин В. А.[1], профессор, д.фарм.н Латыпова Г. М.[2], профессор, д.м.н Р.Р. Фархутдинов Р. Р.[2], профессор, д. фарм.н. В. А. Катаев[2], доцент, к.фарм.н. Рязанова Т. К.[1]

1 - Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, Российская Федерация, г. Самара, ул. Чапаевская 89, 443099

2 - Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, Российской Федерации, г. Уфа, ул. Ленина 3, 450008

а) автор для переписки – mubinov.arthur@gmail.com

Аннотация. В настоящей статье обсуждается антиоксидантная активность жирного масла семян чернушки посевной (*Nigella sativa* L.), или чёрного тмина, с использованием метода регистрации хемилюминесценции и препарата сравнения – масляного раствора альфа-токоферола ацетата. В результате проведённого исследования выявлена способность жирного масла чёрного тмина подавлять генерацию активных форм кислорода (АФК) и перекисного окисления липидов (ПОЛ) в модельных системах (МС) *in vitro*, что характеризует их антиоксидантные свойства. При использовании различных концентраций жирного масла чёрного тмина в МС (1 мг/мл и 5 мг/мл) выявлено, что эффект подавления уровня свечения является дозозависимым. Также установлено более активное подавление уровня свечения в системе ПОЛ, что позволяет рассматривать жирное масло чернушки посевной как антиоксидант перекисного окисления липидов.

Ключевые слова: *чернушка посевная, Nigella sativa L., чёрный тмин, жирное масло, антиоксидантные свойства, хемилюминесценция*

ВВЕДЕНИЕ

Проблемы регуляции оксидативного стресса и поиск биологически активных веществ, обладающих антиоксидантной активностью, находятся в центре внимания исследователей [1]. В настоящее время оксидативный стресс рассматривается как совокупность процессов, вызывающих повреждение молекул, клеток и тканей собственного организма в результате избыточного образования окислителей – свободных радикалов [1, 2]. В норме скорость свободнорадикальных реакций относительно мала, что обусловлено сбалансированной работой системы антиоксидантной защиты организма. При её ослаблении возрастает продукция радикалов-инициаторов, возникает «синдром липидной пероксидации», способствующий повреждению мембран клеток, развитию различных заболеваний [3]. Изучено и доказано влияние оксидативного стресса на развитие сердечно-сосудистых заболеваний, в том числе атеросклероза [4], гипертонии [5], а также диабета [6], онкологических заболеваний и ряда других, также его считают одной из основных причин старения.

Поиск новых активных веществ-антиоксидантов растительного происхождения остаётся весьма актуальной задачей, не менее важна и корректная оценка антиоксидантных свойств веществ-антиоксидантов, так как при всей вариабельности методических подходов не существует стандартизованного метода оценки антиокислительной активности [7].

К числу перспективных для использования в медицинских целях антиоксидантов природного происхождения, на наш взгляд, относится жирное масло семян однолетнего травянистого растения – чернушки посевной (*Nigella sativa* L.) из семейства Лютиковых (*Ranunculaceae*). Жирное масло чёрного тмина содержит различные биологически активные

вещества – ненасыщенные жирные кислоты, терпеноиды, витамины, для которых в мировой литературе описаны антиоксидантные, липолитические антибактериальные, желчегонные свойства [8–11].

Целью исследования: изучение влияния жирного масла чернушки посевной на процессы свободнорадикального окисления в модельных системах (МС) *in vitro* с использованием экспресс-метода определения антиоксидантной активности, основанного на регистрации хемилюминесценции (ХЛ).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы

Объектом исследования служил образец нерафинированного, полученного методом холодного прессования, жирного масла семян чернушки посевной «Egyptian Black Seed Oil» фасовкой 300 мл («Organic CO. for Natural oil», Египет). Год изготовления: 2018 г., срок годности – 2 года (исследования проведены в пределах срока годности).

В качестве образца сравнения использовался масляный раствор альфа-токоферола ацетата (витамин Е) 100 мг/мл фасовкой 50 мл («Марбиофарм», Россия). Год изготовления: 2019 г., срок годности – 2 года (исследования проведены в пределах срока годности).

Методы

Антиоксидантную активность определяли методом регистрации хемилюминесценции на хемилюминометре «ХЛМ-003» (Россия) в системах, моделирующих процессы выработки активных форм кислорода (АФК) и перекисного окисления липидов (ПОЛ) [12, 13].

В качестве МС, где генерировались АФК, использовали 20 мл фосфатного буфера (20 мМ KH_2PO_4, 105 мМ KCl) с добавлением раствора люминола (10–5 М) и цитрата натрия (50 мМ). Предварительно исследуемые образцы были растворены в диметилсульфоксиде (ДМСО) из расчета содержания в 1 мл полученного образца 0,2 мл исследуемого масла. Величину pH полученного раствора МС доводили до 7,45 ед. титрованием насыщенным раствором калия гидроксида. Для инициирования реакций, сопровождающихся образованием АФК, вводили 1 мл 50 мМ раствора солей Fe^{2+}. Регистрация свечения продолжалась в течение 5 мин при постоянном перемешивании. ХЛ в МС характеризовалась спонтанным свечением, быстрой вспышкой и развивающейся затем медленной вспышкой. Основными наиболее информативными характеристиками ХЛ служили светосумма свечения, определяющаяся по интенсивности излучения, и амплитуда максимального свечения.

Влияние исследуемых извлечений на ПОЛ изучали в липидах куриного желтка, сходных по составу с липидами крови человека. Липиды получали путём гомогенизирования куриного желтка в фосфатном буфере в соотношении 1:5 и последующим разбавлением в 20 раз; отбирали 20 мл. Добавление в систему 1 мл 50 мМ раствора Fe^{2+} вело к инициированию окисления ненасыщенных жирных кислот, что сопровождалось ХЛ. По интенсивности свечения судили о процессах ПОЛ. Окисление липидов инициировалось введением сернокислого железа, катализирующего окисление ненасыщенных жирных кислот, входящих в состав липидов, и образование продуктов перекисного окисления. Уровень спонтанного свечения характеризует интенсивность перекисного окисления липидов до введения катализатора; амплитуда быстрой вспышки отражает скорость окисления ионов Fe^{2+} и образования АФК и гидроперекисей липидов; длительность латентного периода коррелирует с антиокислительной активностью изучаемого образца. Величина светосуммы свечения определяет способность липидов подвергаться окислению.

В экспериментах с МС при определении АФК и ПОЛ добавляли по 0,1 и 0,5 мл приготовленных образцов жирного масла чернушки посевной (концентрация масла в МС – 1 мг/мл и 5 мг/мл, соответственно). В качестве контроля служили МС без добавления исследуемых препаратов (в тех же объемах добавляли физиологический раствор), а также с добавлением ДМСО (контроль+ДМСО), препарат сравнения - альфа-токоферола ацетат.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Методом регистрации хемилюминесценции *in vitro* в системах АФК и ПОЛ установлено существенное ингибирующее влияние образцов масла чернушки посевной на кинетику свободнорадикального окисления. При добавлении в модельную систему, где генерировались АФК, образцов масла чернушки посевной (в виде раствора в ДМСО) уменьшалась амплитуда быстрой вспышки, удлинялся латентный период, медленная вспышка начиналась позже и угасала раньше, значение максимальной светимости снижалось. Данные о влиянии жирного масла чернушки посевной в сравнительном аспекте с препаратом сравнения (масляный раствор альфа-токоферола ацетата) на ХЛ в МС, генерирующей АФК, представлены соответственно на Рисунке 1 и 2, а также в Таблице 1.

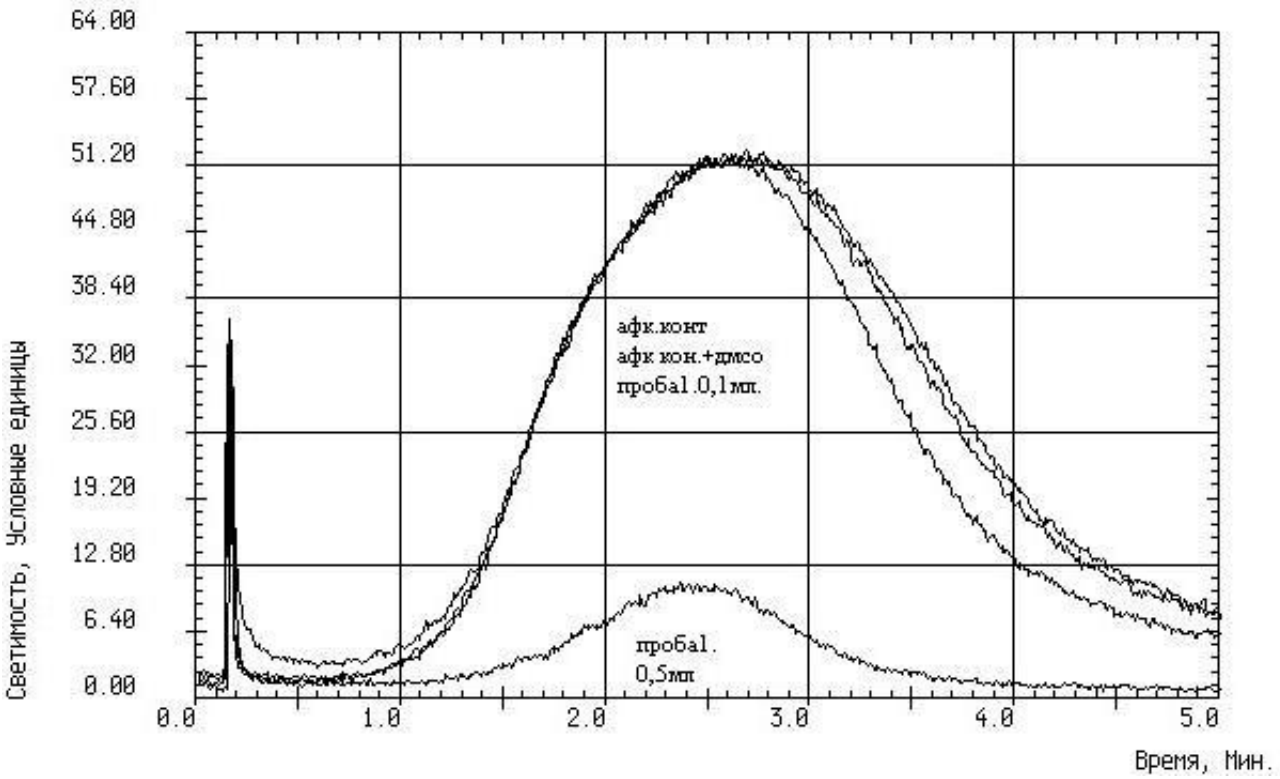


Рисунок 1 - Влияние образцов масла чернушки посевной «Egyptian Black Seed Oil» («Organic CO. for Natural oil», Египет) на процессы СРО в модельной системе АФК

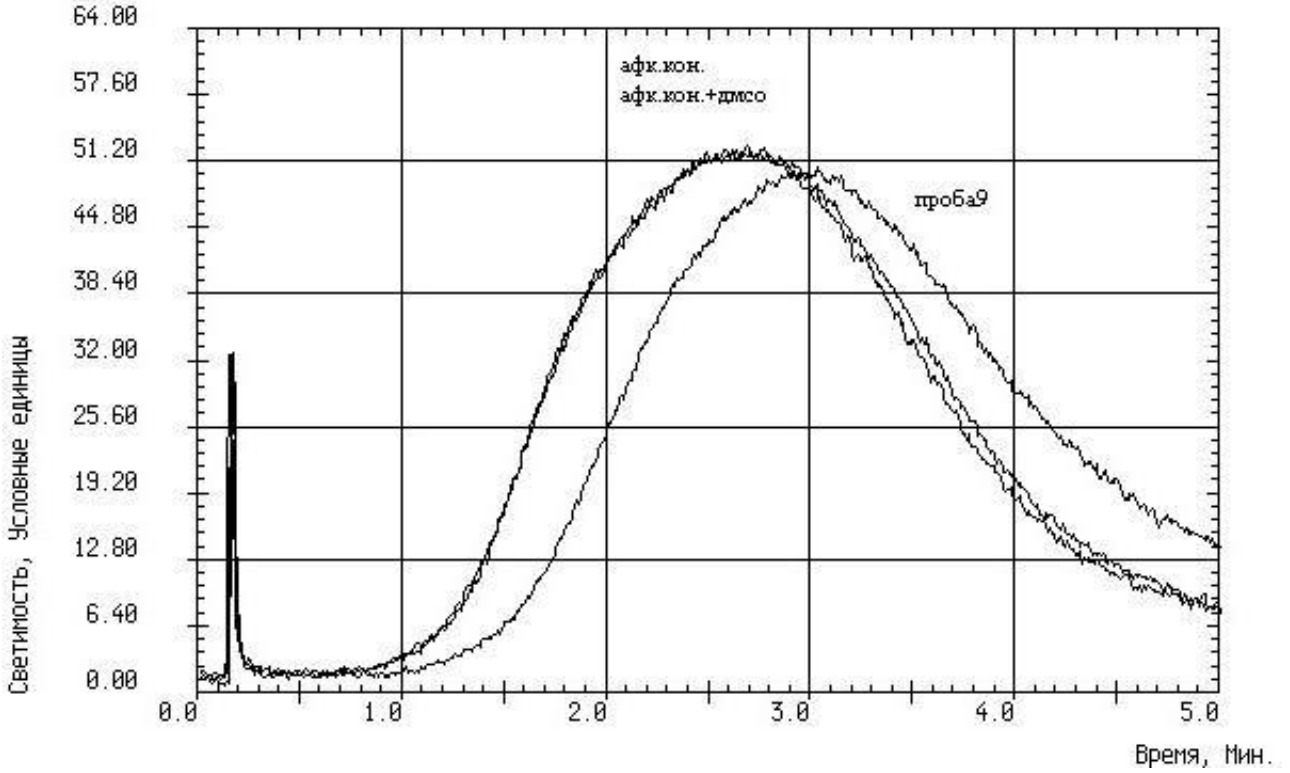


Рисунок 2 - Влияние альфа-токоферола ацетата на процессы СРО в модельной системе АФК

Угнетение ХЛ зависело от концентрации жирного масла в МС: выбрано оптимальным для данного анализа взятие пробы в 0,5 мл (5 мг/мл в МС), а проба в 0,1 мл (1 мг/мл в МС) имела сравнительное значение, так как положительное влияние на уменьшение СРО было недостаточным. Выявлено: чем больше концентрация масла в МС, тем сильнее подавлялось свечение, что свидетельствовало о дозозависимом эффекте исследуемых образцов жирного масла чернушки посевной.

Таблица 1 - Влияние жирного масла чернушки посевной на ХЛ в МС, генерирующей АФК

№	Опыт	Объем, мл	Светосумма абсол /относит. контроля	Макс. светимость
1	Контроль		123±0,2/102,5 %	52±0,2
2	**Контроль+ДМСО**		**120±0,1/100 %**	**51±0,1**
3	Масло чёрного тмина «Egyptian Black Seed Oil» («Organic CO. for Natural oil», Египет)	0,1	110±0,2/91,7 %	52±0,2
4		0,5	18±0,1/15 %	11±0,1
5	Препарат сравнения (масляный раствор альфа-токоферола ацетата)	0,5	115±0,3/95,8 %	50±0,3

Препарат сравнения незначительно удлинял латентный период и уменьшал величину светосуммы ХЛ. Исследуемый приготовленный образец масла в объёме 0,5 мл (5 мг/мл в МС) значительно удлиняет латентный период и почти в 6,7 раз уменьшает величину светосуммы ХЛ. Полученные данные показывают принципиальные преимущества масла чёрного тмина перед препаратом сравнения.

Данные о влиянии жирного масла чернушки посевной в сравнительном аспекте с препаратом сравнения (масляным раствором альфа-токоферола ацетата) на ХЛ в МС желточных липопротеидов, представлены соответственно на Рисунке 3 и 4, а также в Таблице 2.

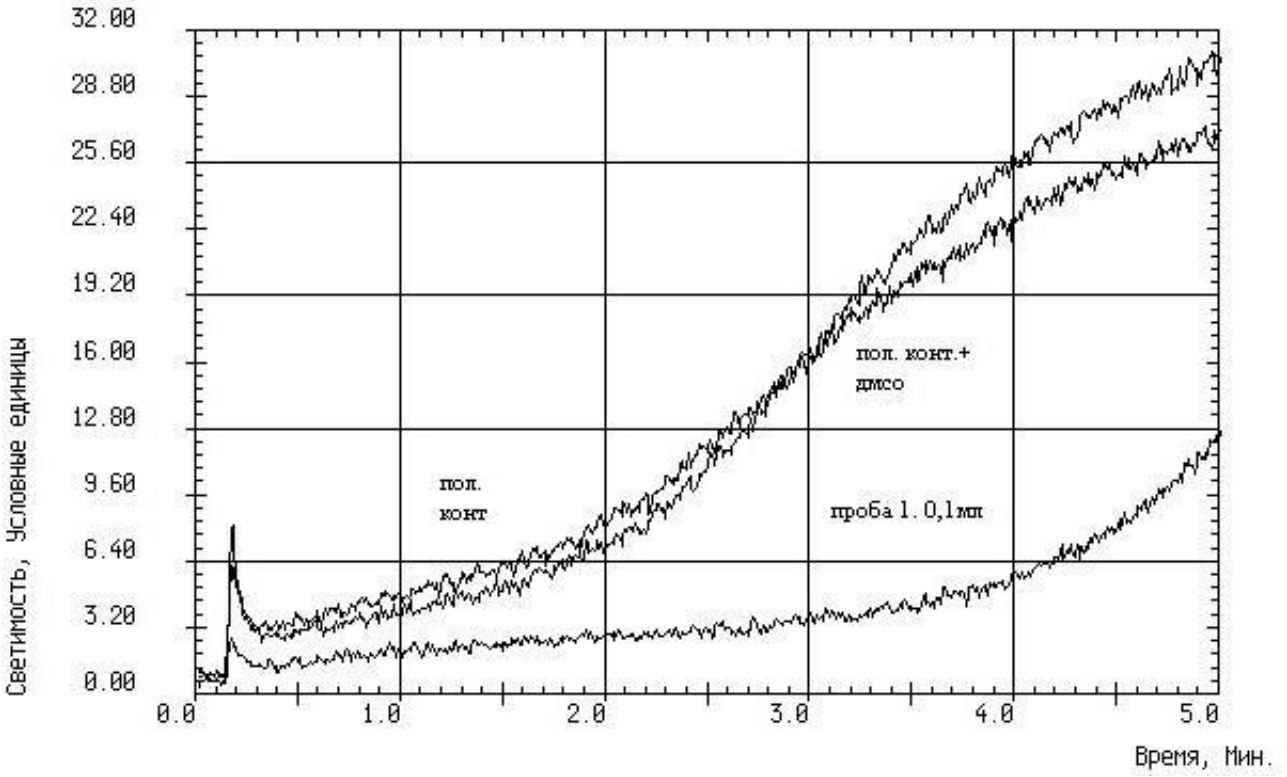


Рисунок 3 - Влияние образцов масла чернушки посевной «Egyptian Black Seed Oil» («Organic CO. for Natural oil», Египет) на процессы СРО в модельной системе ПОЛ

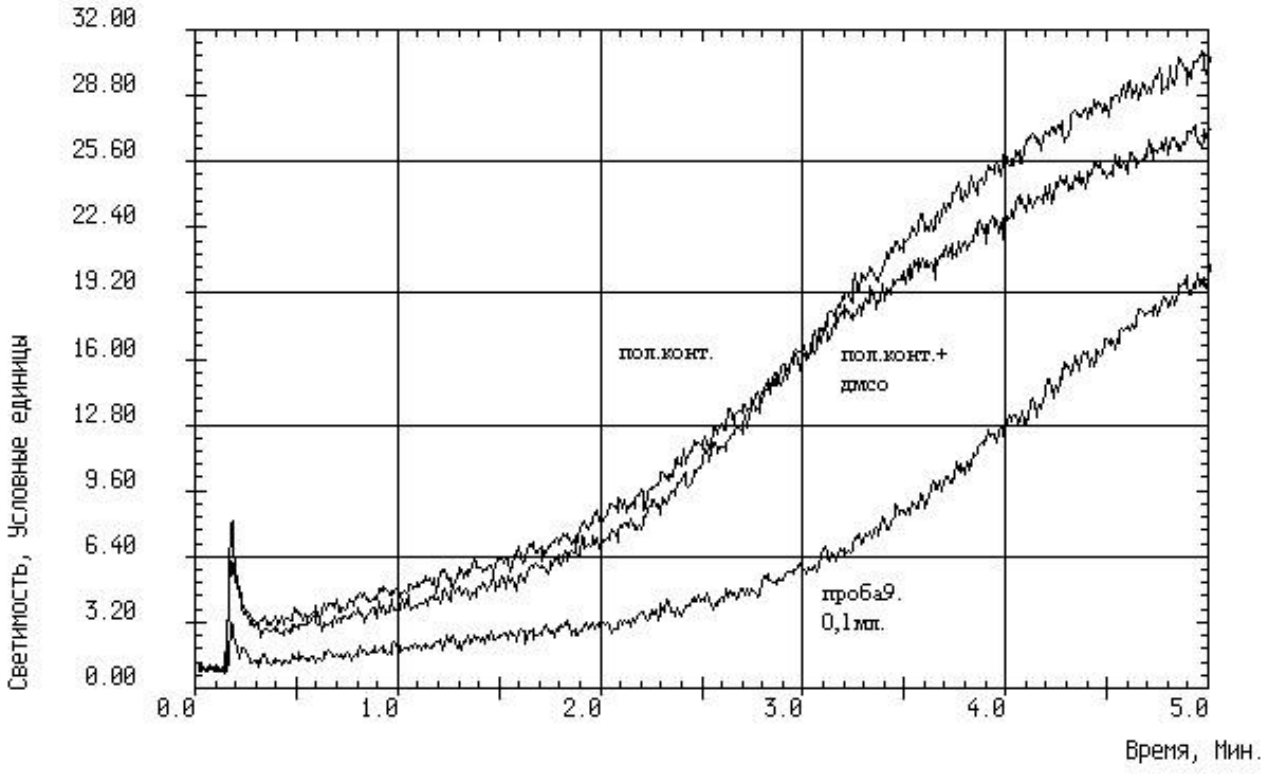


Рисунок 4 - Влияние альфа-токоферола ацетата на процессы СРО в модельной системе ПОЛ

В отличие от препарата сравнения внесение в МС желточных липопротеидов приготовленных образцов жирного масла чернушки посевной в наименьшей концентрации (1 мг/мл) сопровождалось значительным уменьшением амплитуды быстрой и медленной вспышек, увеличением длительности латентного периода, снижением значения максимальной светимости. Следовательно, жирное масло чернушки посевной может рассматриваться как антиоксидант перекисного окисления липидов

Таблица 2 - Влияние жирных масел чернушки посевной на ХЛ в МС, генерирующей ПОЛ

№	Опыт	Объем, мл	Светосумма абсол /относит. контроля	Макс. светимость
1	Контроль		69±0,1/104,5%	30±0,1
2	**Контроль+ДМСО**		**66±0,1/100%**	**27±0,2**
3	Масло чёрного тмина «Egyptian Black Seed Oil» («Organic CO. for Natural oil», Египет)	0,1	19±0,2/28,8%	12±0,2
4		0,5	7,8±0,3/11,8%	2,7±0,3
9	Препарат сравнения (масляный раствор альфа-токоферола ацетата)	0,1	33±0,2/50,0%	20±0,2

ВЫВОДЫ

Таким образом, полученные данные показывают перспективную для использования способность жирного масла чернушки посевной подавлять генерацию активных форм кислорода и перекисного окисления липидов в модельных системах, что характеризует их антиоксидантные свойства. По величине светосуммы отмечено, что образец масла чернушки посевной в 6 раз активнее подавляет процессы СРО в системе АФК и в 2 раза – в системе ПОЛ, чем препарат сравнения (масляный раствор альфа-токоферола ацетата), что позволяет рассматривать жирное масло чернушки посевной для использования в медицинских целях.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Владимиров, Ю. А. Свободные радикалы и антиоксиданты // Вестник РАМН. – 1998. – № 7. – С. 43–51.
2. Черенкевич, С.Н. Редокс-регуляция клеточной активности: концепции и механизмы / С.Н. Черенкевич, Г.Г. Мартинович, Мартинович И.В., Горудко И.В., Шамова Е.В. // Известия Национальной академии Беларуси. Серия биологических наук. – 2013. - № 1. – С. 92-108.
3. Сайбель, О.Л. Оценка антиоксидантной активности травы цикория обыкновенного (*Cichorium Intybus* L.) / О.Л. Сайбель, Т.Д. Даргаева, К.А. Пупыкина, И.В. Петрова, Р.Р. Фархутдинов // Acta Biomedica Scientifica (East Siberian Biomedical Journal). – 2017. – №2. – С. 85-88.
4. Kattoor, A. Oxidative stress in atherosclerosis / A. Kattoor, N. Pothineni, D. Palagiri, J. Mehta // Current Atherosclerosis Reports. – 2017. – Vol. 19(11). – P. 32-42.
5. Rodrigo, R. The role of oxidative stress in the pathophysiology of hypertension / R. Rodrigo, J. Montero, F. Paoletto // Hypertension Research. – 2011. – Vol. 34(4). – P. 431-440.
6. Chikezie, P. Oxidative stress in diabetes mellitus / P. Chikezie, O. Ojiako, A. Ogbuji // International Journal of Biological Chemistry. – 2015. – Vol. 9(3). – P. 92–109.
7. Хасанов, В. В. Методы исследования антиоксидантов / В. В. Хасанов, Г. Л. Рыжова, Е. В. Мальцева // Химия растительного сырья. – 2004. – № 3. – С. 63–75.
8. Куркин, В.А. Фармакогнозия: учебник для студентов фармацевтических вузов (факультетов), 4-е изд. перераб. и доп. - Самара: ООО «Офорт», ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России, 2019. - 1278 с.

9. Орловская, Т.В. Новый взгляд на пищевые растения как перспективные источники лекарственных средств / Т.В. Орловская, М.В. Гаврилин, В.А. Челомбитько. – Пятигорск, 2011. - 240 с.
10. Telci, I. Comparison of Seed Oil Composition of *Nigella sativa* L. and *N. damascena* L. During Seed Maturation Stages / I. Telci, A. Sahin-Yaglioglu, F. Eser et al. // Journal of the American Oil Chemists' Society. – 2014. – Vol. 91(10). – P. 1723–1729.
11. Gharby, S. Chemical investigation of *Nigella sativa* L. seed oil produced in Morocco / S. Gharby, H. Harhar, D. Guillaume et al. // J Saudi Soc Agric Sci. – 2015. – Vol. 14(2). – P. 172-177.
12. Фархутдинов, Р.Р. Методики исследования хемилюминесценции биологического материала на хемилюминометре ХЛ-003 / Р.Р. Фархутдинов, С.И. Тевдорадзе // Методы оценки антиоксидантной активности биологически активных веществ лечебного и профилактического назначения: Сборник докладов. Под ред. проф. Е.Б. Бурлаковой. - М.: Изд-во РУДН, 2005. - С. 147-154
13. Куркин, В. А. Антиоксидантное средство "Куркумы экстракт густой" / В. А. Куркин, В. А. Катаев, Г. М. Латыпова, Р. Р. Фархутдинов, Е.В. Авдеева, М. Ю. Борисов, Т. К. Рязанова, А. Д. Серебрякова, Л. В. Дударева // Пат. РФ 2650642 С1, 2018. URL: https://new.fips.ru/registers-doc-view/fips_servlet?DB=RUPAT&DocNumber=2650642&TypeFile=html

DETERMINATION IN VITRO OF ANTIOXIDANT ACTIVITY OF BLACK CUMIN FATTY OIL

Mubinov A.R. [1, a)], Professor, D.Sc. in Pharmacy Avdeeva H.V.[1], Professor, D.Sc. in Pharmacy Kurkin V.A.[1], Professor, D.Sc. in Pharmacy Latypova G. M.[2], Professor, D.Sc. in Medicine Farkhutdinov R.R.[2], Professor, D.Sc. in Pharmacy Kataev V.A.[2], Associate professor, Ph.D. in Pharmacy Ryazanova T.K[1].

1 - Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Samara State Medical University» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Russia, Samara, Chapaevskaya ul. 89, 443099

2 - Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Bashkir State Medical University», of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Russia, Ufa, Lenina ul. 3, 450008

a) corresponding author – mubinov.arthur@gmail.com

Abstract. In this article there is discussed the antioxidant activity of the black cumin (*Nigella sativa* L.) fatty oil by using the method of recording chemiluminescence and a reference drug (oil solution of alpha-tocopherol acetate). The ability of black cumin fatty oil to suppress the generation of reactive oxygen species (ROS) and lipid peroxidation (LPO) in model systems (MS) *in vitro* was established, which characterizes their antioxidant properties. When using various concentrations of black cumin fatty oil in MS (1 mg/ml and 5 mg/ml), it was found that the effect of suppressing the level of luminescence is dose-dependent. In addition, a more active suppression of the level of luminescence in the LPO system was found, which allows us to consider the black cumin fatty oil as an antioxidant of lipid peroxidation.

Keywords: Nigella sativa L., black cumin, fatty oil, antioxidant properties, chemiluminescence

УДК: 61.45.15 DOI: 10.52101/9785870191003_2021_399

РАЗРАБОТКА ФИТОСУБСТАНЦИИ КЛЕВЕРА ЛУГОВОГО ТРАВЫ И ТАБЛЕТОК НА ЕЕ ОСНОВЕ

Голубев А. Н. [a)]; доцент, к.фарм.н. Сорокин В. В., профессор, д.фарм.н. Каухова И. Е., Александрова Л. Ю.

ФГБУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России), 197367, Россия, Санкт-Петербург, ул. Проф. Попова, д.14, лит.А, 197376

а) автор для переписки – artyom.golubev@spcpu.ru

Аннотация. Целью исследования явилась разработка состава твердой лекарственной формы с фитосубстанцией клевера лугового травы, с применением концепции «качество через разработку» и метода планирования эксперимента. В ходе исследований разработана технология получения фитосубстанции клевера лугового травы с использованием метода экстракция жидкость-жидкость. При выборе экстрагента для получения сухого экстракта с высоким содержанием действующих веществ предложено использовать критерий эффективности «К». Разработан целевой профиль качества готового продукта – таблеток на основе фитосубстанции, определены критические атрибуты качества и материалов, разработан план эксперимента и определен оптимальный теоретический состав разрабатываемых таблеток. Получены таблетки данного состава. Рассчитаны показатели качества таблеток, соответствующих выбранному составу, произведена оценка адекватности полученной модели путем сравнения расчетных и реальных показателей. Показано, что погрешность расчетов не превышает 10 %, а предложенная модель оптимизации может использоваться для разработки состава таблеток.

Ключевые слова: *клевер луговой, фармацевтическая разработка, качество через разработку, quality by design*

ВВЕДЕНИЕ

Процесс разработки новых лекарственных средств сложный и трудоемкий процесс, требующий большого количества ресурсов, времени и внимания. Для ускорения процесса разработки исследователи применяют различные методы, облегчающие реализацию данного процесса. Одним из таких методов является использование статистического инструмента – метода планирования эксперимента. Его использование позволяет облегчить процесс создания лекарств, за счет грамотной организации процесса, а именно, планирование эксперимента помогает учитывать влияние сразу нескольких факторов (состав, технологические параметры, различные типы сырья и др.) на отклики, которыми могут быть показатели качества промежуточного или готового продукта (сыпучесть смеси для таблетирования, прочность таблеток, высвобождение действующего вещества), тем самым приводя к экономии времени (меньшее количество опытов) и снижению затрат. Дополнительным преимуществом данного метода является его интегрированность с концепцией «Quality by design», что становится очень важным в рамках жизненного цикла препарата.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы

В работе использовалась надземная часть клевера лугового, собранного на территории Ленинградской области в 2019 году.

В качестве вспомогательных веществ при создании твердой лекарственной формы использовали: лактозу (лактоза импортная, партия 1790052, годен до 25.05.2021, Ph. Eur), аэросил (аэросил 380, партия 234508, годен до 12.07.2021), натрия крахмала гликолят (sodium starch glycolate sigachi, партия B1234-56, годен до 25.03.2022, Ph. Eur, USP), магния стеарат

(магния стеарат импортный, партия 4567834, годен до 25.05.2021, Ph. Eur), микрокристаллическую целлюлозу (МКЦ импортная, партия 156034, годен до 25.05.2021, Ph. Eur)

Методы

Для оценки качества используемого лекарственного растительного сырья (ЛРС) был проведен товароведческий и фитохимический анализ по стандартным методикам, описанным в ГФ XIV издания [1].

Товароведческий анализ осуществлялся в соответствии с ОФС.1.5.3.0004.15 «Определение подлинности, измельченности и содержания примесей в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах», ОФС.1.2.2.0013.15 «Зола общая», ОФС.1.5.3.0007.15 «Определение влажности лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов», ОФС.1.5.3.0006.15 «Определение содержания экстрактивных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах» [1].

Количественное определение суммы флавоноидов и изофлавоноидов в траве клевера лугового проводили следующим образом: аналитическую пробу сырья измельчали до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 1 мм. Далее навеску сырья помещали в плоскодонную колбу вместимостью 200 мл, прибавляли 50 мл 70% этилового спирта, присоединяли к обратному холодильнику. Нагревали содержимое колбы на водяной бане при слабом кипении в течение 30 мин. Извлечение фильтровали. Фильтр помещали в колбу для экстрагирования и прибавляли 50 мл 70% этилового спирта. Экстракцию повторяли в описанных выше условиях, фильтровали в ту же мерную колбу. Затем объем извлечения доводили 70% этиловым спиртом до метки и перемешивали (раствор А).

Испытуемый раствор для анализа флавоноидов готовили следующим образом: 1 мл полученного извлечения помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляли 1 мл 2% спиртового раствора алюминия хлорида и доводили объем до метки 96% этиловым спиртом (испытуемый раствор Б). Раствор сравнения готовили следующим образом: 1 мл извлечения помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл и доводили объем раствора до метки 96% этиловым спиртом (раствор сравнения Б). Оптическую плотность раствора Б измеряли на спектрофотометре при длине волны 410 нм в кювете с толщиной слоя 10мм. Оптическую плотность определяли по пику полученного спектра.

Параллельно измеряли оптическую плотность раствора стандартного образца рутина.

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин и абсолютно сухое сырье в процентах (Х) вычисляли по формуле 1:

$$X\ (\%) = \frac{D.m_0.100.100.100}{Do.m.100.(100-Z)} \qquad (1)$$

где D - оптическая плотность испытуемого раствора;

D_0 – оптическая плотность раствора ГСО рутина;

m – масса сырья, г;

m_o – масса СО рутина, г;

Z – потеря в массе при высушивании сырья, %.

Раствор рутина готовили следующим образом: около 0,05 г рутина, предварительно высушенного при температуре 130-135˚С, растворяли в 85 мл 96% спирта в мерной колбе вместимостью 100 мл, доводили объем до метки 96% спиртом и перемешивали. Затем 1 мл полученного раствора помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл, добавляли 1 мл спиртового раствора алюминия хлорида 2 % ого, после чего доводили объём до метки 96% спиртом этиловым.

Испытуемый раствор для анализа изофлавоноидов готовили следующим образом: в мерную колбу вместимостью 25 мл помещали 0,3 мл раствора А и доводили объем 70% этиловым спиртом до метки (раствор В). Оптическую плотность раствора В измеряли на

спектрофотометре при длине волны 260 нм. Раствором сравнения служили 70% этиловый спирт.

Содержание изофлавоноидов в пересчете наononин и абсолютно сухое сырье в процентах (X) вычисляли по формуле 2:

$$X(\%)= \frac{D.V_1 .V_3.100}{921{,}6.m.V_2.(100-Z)} \quad (2)$$

где D – оптическая плотность испытуемого раствора при длине волны 260 нм;
921,6 – удельный показатель поглощения ononина при длине волны 260 нм;
V1 – объем раствора А, мл;
V2 – аликвота, мл;
V3 – объем раствора В, мл;
m – масса сырья, г;
Z – потеря в массе при высушивании сырья, %.

Анализ выполняли на спектрофотометре Shimadzu UV-1280.

Определение содержания экстрактивных веществ в лекарственном растительном сырье проводили методом однократной экстракции в соответствии с ГФ XIV ОФС.1.5.3.0006.15 «Определение содержания экстрактивных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах».

Разработка плана эксперимента проводилась в программном пакете JMP Pro 14 (ver.14.3.0), SAS Institute Inc., США [2].

Проверка полученных таблеток на распадаемость, проводилась в соответствии с ОФС.1.4.2.0013.15 «Распадаемость таблеток и капсул» [1], на тестере распадаемости ZT 220 [Erweka GmbH. Германия],

Прочность таблеток проводились в соответствии с ОФС.1.4.2.0011.15 «Прочность таблеток на раздавливание» [1] на тестере прочности TBH 125 [Erweka GmbH. Германия]

Тест на влагопоглощение проводили измерением прироста влаги готовыми таблетками. Таблетки помещали в стеклянные бюксы (с заранее измеренной массой), закрывали крышкой. Взвешивали бюкс с таблетками на аналитических весах, с точностью до 4 знака после запятой. После чего бюкс помещали в эксикатор с водой, крышки бюксов открывались. По истечении 6 и 12 часов проводилось взвешивание таблеток. Бюксы закрывали крышками, вынимали из эксикатора и взвешивали с точностью до 4 знака после запятой. Далее производился расчет прироста влаги в процентах по формуле (1), где m_1- масса пустого бюкса, m_2- масса бюкса с таблеткой до эксикатора, m_3- масса бюкса с таблетками по истечении 6 и 12 часов [3].

$$X = \frac{m_3 - m_2}{m_2 - m_1} \quad (3)$$

Сжимаемость порошка, оценивалась с помощью показателя - число Хауснера (H) – характеристика сжимаемости порошка. Для расчета использовалась формула 4, ρ_y- плотность после уплотнения, ρ – насыпная плотность до уплотнения [3]:

$$H = \frac{\rho_y}{\rho} \quad (4)$$

Сыпучесть порошка - индексу Карра (J). Для расчета использовалась формула 5 [3]:

$$J = 100\% * \frac{\rho_y - \rho}{\rho_y} \quad (5)$$

Определение плотностей производилось в соответствии с ОФС.1.4.2.0016.15 «Степень сыпучести порошков» [1] на тестере насыпной плотности SVM 121 [Erweka GmbH. Германия].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ образцов сырья – клевера лугового травы, показал, что показатели сырья соответствуют требованиям соответствующих статей ГФ XIV. В ходе проведенного качественного анализа сырья методом спектрофотометрии установлено, что содержание флавоноидов (%) в сырье составило 1,67±0,03, содержание суммы изофлавоноидов – 2,29±0,05.

При разработке параметров экстракции клевера лугового травы для оценки избирательности экстрагента к БАВ флавоноидной природы введен критерий эффективности К - отношение содержания суммы флавоноидов к содержанию сухого остатка в извлечениях, характеризующий концентрацию веществ данной природы в извлечении.

Экстракцию проводили методом мацерации при перемешивании, а также применяли ультразвуковую экстракцию.

Исходя из выполненных опытов установлено, что наибольшее значение критерия К – 0,105 наблюдается для извлечений, полученных методом мацерации при нагревании.

Предлагаемые параметры проведения процесса экстракции клевера лугового травы методом мацерации, следующие: размер сырья - 0,5-1 мм; экстрагент – 80 %; температура – (60±2) °С, время экстракции -45 мин.

Фитосубстанцию клевера лугового травы получали следующим образом: извлечение упаривали в вакууме до 1/5-1/7 исходного объёма. Затем проводили обработку сгущенного извлечения неполярным органическим растворителем (гексаном) для удаления балластных веществ и далее экстракцией жидкость-жидкость экстрагировали вещества флавоноидной природы в этилацетат. Этилацетатные фракции направляли на сушку до остаточного влагосодержания в экстракте не более 5 %.

При разработке таблеток на основе фитосубстанции клевера лугового травы проведена разработка целевого профиля качества готового продукта, представленная в таблице 1. В его основу включены показатели качества готовых таблеток и смеси для таблетирования [4].

Таблица 1 - Целевой профиль качества продукта

Показатель качества	Метод анализа	Критерий приемлемости
Описание	ОФС.1.4.1.0015.15	Двояковыпуклые таблетки от серого до светло-коричневого цвета, без сколов, с ровной, однородной поверхностью
Прочность на раздавливание	ОФС.1.4.2.0011.15	Не менее 40 Н
Распадаемость	ОФС.1.4.2.0013.15	Не более 15 минут
Растворение	ОФС.1.4.2.0014.15	За 45 минут в среду растворения должно перейти не менее 75 % действующего вещества
Прочность на истирание	ОФС.1.4.2.004.15	Потеря в массе до 1 % (прибор 1)
Индекс Карра	ОФС.1.4.2.0016.15 и математические расчеты	Не более 26 %
Индекс Хауснера	ОФС.1.4.2.0016.15 и математические расчеты	не более 1,36
Влагопоглощение	СОП Лаборатории	-

Далее на основании составленного целевого профиля качества и метода анализа рисков определены: технология получения таблеток, оптимальный компонентный состав, критические атрибуты материалов (CMA) и критические атрибуты качества (CQA) [4].

На первоначальном этапе был подобран компонентный состав разрабатываемых таблеток с целью обеспечения свойств, заданных в целевом профиле качества продукта [5]. В качестве состава была выбрана композиция вспомогательных веществ, способствующая получению таблеток соответствующего качества (при использовании технологии прямого прессования). Предложенный компонентный состав и границы содержания компонентов представлены в таблице 2.

Таблица 2 - Компонентный состав таблеток с границами варьирования

Компонент	Назначение	влияние на параметр QTPP	Границы содержания
Высокоочищенный экстракт клевера лугового травы	Действующее вещество, обеспечивает комплексное воздействие на организм	-	75 мг (20 % здесь и далее от массы таблетки)
Микрокристаллическая целлюлоза (МКЦ)	Связывающий вещество, определяет прочность и целостность таблетки	Прочность на истирание, прочность на раздавливание	20-56 %
Лактоза	Наполнитель и корригент вкуса, предназначен для придания массы таблетки, увеличивает распадаемость	Распадаемость, растворение	17,7-52,2 %
Аэросил	Антифрикционное вещество, повышает сыпучесть смеси для таблетирования, препятствует прилипанию таблеток к матрице и пуансонам	однородность массы, однородность дозирования,	1,01-3,08 %
Натрия карбоксиметилцеллюлоза	Супердезинтегрант, помогает таблетке быстрее распадаться при контакте с влагой	распадаемость, растворение	2-6 %
Стеарат кальция	Стеарат кальция, опудривающий агент, облегчает выход таблеток из пуансона и повышает сыпучесть смеси для таблетирования	однородность массы, однородность дозирования, описание	1,1-3 %

В качестве критических атрибутов качества выбраны характеристики, способные влиять на показатели качества готового продукта и на которые возможно повлиять изменением компонентного состава. В работе не рассматривались показатели, зависящие от организационных мероприятий на производстве. Перечень выбранных критических атрибутов представлен в таблице 3.

Таблица 3 - Критические атрибуты качества разрабатываемых таблеток

Наименование показателя	Желаемый уровень
Прочность на раздавливание	Не менее 40 Н
Распадаемость	Не более 15 минут
Растворение	За 45 минут в среду растворения должно перейти не менее 75 % действующего вещества
Индекс Карра	Не более 26 %
Индекс Хауснера	не более 1,36
Влагопоглощение	Минимальные значения

В ходе следующего этапа, в программном пакете JMP, составлен D-план эксперимента, состоящий из 16 контрольных точек (составов) (рисунок 2) которые были получены и проанализированы по выбранным ранее показателям CQA.

	Экстракт клевера (мг/табл)	МКЦ (мг/табл)	Лактоза (мг/табл)	Аэросил (мг/табл)	Натрия крахмала гликолят (мг/табл)	Стеарат кальция (мг/табл)	Общая масса (мг)	Прочность на раздавливание	Распадаемость	Инд. Карра	Инд. Хауснера	Влагопоглощение
1	75	210	66,4	15	7,5	1,1	375	*	*	*	*	*
2	75	75	195,7	3,8	22,5	3	375	*	*	*	*	*
3	75	210	51,4	15	22,5	1,1	375	*	*	*	*	*
4	75	210	60,7	3,8	22,5	3	375	*	*	*	*	*
5	75	75	201,4	15	7,5	1,1	375	*	*	*	*	*
6	75	75	212,6	3,8	7,5	1,1	375	*	*	*	*	*
7	75	210	75,7	3,8	7,5	3	375	*	*	*	*	*
8	75	210	62,6	3,8	22,5	1,1	375	*	*	*	*	*
9	75	75	199,5	15	7,5	3	375	*	*	*	*	*
10	75	75	197,6	3,8	22,5	1,1	375	*	*	*	*	*
11	75	75	210,7	3,8	7,5	3	375	*	*	*	*	*
12	75	142,5	131,05	9,4	15	2,05	375	*	*	*	*	*
13	75	75	184,5	15	22,5	3	375	*	*	*	*	*
14	75	210	77,6	3,8	7,5	1,1	375	*	*	*	*	*
15	75	210	64,5	15	7,5	3	375	*	*	*	*	*
16	75	75	186,4	15	22,5	1,1	375	*	*	*	*	*

Рисунок 2 - Скриншот с полученным планом эксперимента

Далее на практике были получены составы, предложенные программой JMP при реализации алгоритма «оптимизация» и их анализу по выбранным показателям.

После внесения экспериментальных данных в программу, был произведен анализ моделей с точки зрения их адекватности и возможности использования в дальнейшем исследовании. Оказалось, что для всех моделей среднеквадратичное отклонение (параметр Rsq) составляет не менее 0,85, что характеризует их как приемлемые для дальнейшего анализа.

На основании модели определен желаемый состав таблеток (таблица 4). Для непосредственного получения оптимального состава использовали функцию Prediction Profile и соответствующие графики, на которых отражается влияние каждого компонента на каждый показатель, а также приведены графики желательности. Для нахождения оптимального состава в меню Prediction Profile (профиль прогнозирования) выбрали Optimization and desirability (оптимизация и желательность), а далее опцию Maximize Desirability (максимальная желательность). Получали рекомендуемый программой оптимальный состав с учетом максимального удовлетворения заданным критериям (таблица 4).

Таблица 4 - Рекомендуемый JMP состав таблеток с фитосубстанцией клевера лугового травы

Действующее вещество, экстракт клевера	МКЦ	Лактоза	Аэросил	Натрия крахмала гликолят	Стеарат магния
75	170,14	91,26	15	22,5	1,1
Ожидаемые показатели качества					
Индекс Карра	Индекс Хаусне ра	Распадаемость	Прочность на раздавливание	Влагопоглощение (4 часа)	Влагопоглощение (12 часов)
1,32	24,4	493 с	154 Н	2,3%	7,5%

Критерий желательности для полученного состава составил 0,87, что считается хорошим показателем для модели.

Провели полный анализ 3-х партий таблеток и сравнение их показателей качества с заявленными в модели. Результаты эксперимента представлены в таблице 5.

Таблица 5 – Показатели качества таблеток

Наименование показателя	Модельное значение	Фактические значения	Отклонение модели
Индекс Карра	1,32	1,30±0,05	1,5%
Индекс Хауснера	24,4%	(24,9±0,4) %	2%
Распадаемость	493 с	(512±3)с	4%
Прочность на раздавливание	154 Н	(161±5) Н	5%
Влагопоглощение (4 часа)	2,3%	(2,4±0,2)%	4%
Влагопоглощение (12 часов)	7,5%	(7,3±0,4)%	3%

Анализ результатов, представленных в таблице, показывает, что полученная модель является показательной, а состав оптимальным.

Сравнение показателей качества разработанного состава с целевым профилем качества приведено в таблице 6.

Таблица 6. Характеристика разработанного состава таблеток с экстрактом клевера лугового травы

Показатель качества	Ожидаемый показатель	Фактический
Описание	Двояковыпуклые таблетки от серого до светло-коричневого цвета, без сколов, с ровной, однородной поверхностью	Двояковыпуклые таблетки от серого до светло-коричневого цвета, без сколов, с ровной, однородной поверхностью
Прочность на раздавливание	Не менее 40 Н	178 Н
Распадаемость	Не более 15 минут	13 минут
Растворение	За 45 минут в среду растворения должно перейти не менее 75 % действующего вещества	24 минуты
Прочность на истирание	Потеря в массе до 1 %	0,2%
Индекс Карра	Не более 26 %	25,7%
Индекс Хауснера	не более 1,36	1,35
Влагопоглощение за 24 ч	-	7,33 %

ВЫВОДЫ

В результате выполненной работы исследования разработана технология получения фитосубстанции клевера лугового травы, обогащенная веществами флавоноидной природы. Оптимизированы параметры проведения процесса. Разработан алгоритм построения плана эксперимента для оптимизации состава смеси для производства таблеток. На основе алгоритма разработан состав таблеток с фитосубстанцией клевера лугового травы. Получены таблетки выбранного состава, оценены показатели качества таблеток, произведено их сравнение с параметрами, рассчитанными теоретически. Показано, что модель адекватнА , а отклонение расчетной модели не превышает 10 %.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Государственная Фармакопея РФ 14 изд. [Электронное издание]. Режим доступа: http://femb.ru/femb/pharmacopea.php [Дата обращения 06 март, 2021]

2. SAS Institute Inc. 2016. JMP 13 design guide to experiments. Cary, North Carolina: SAS Institute Inc.

3. Чуешов, В.И. Технология лекарств промышленного производства: учебник для студ. высш. учеб. завед.: перевод с укр.: в 2 ч. Ч. 1; перевод с укр. / В. И. Чуешов, Е. В. Гладух, И. В. Сайко и др. – Винница: Нова Книга, 2014. – 696 с.

4. ICH Q8 (R2) Pharmaceutical development, step 5. [Электронное издание]. Режим доступа: https://www.ich.org/page/quality-guidelines [Дата обращения: 06 март, 2021]

5. Голубев, А. Н. Разработка таблеток на основе фитосубстанции клевера лугового травы с применением методов планирования эксперимента и инструментов QbD / А. Н. Голубев, Т. Ш. Нгуен, В. В. Сорокин, И. Е. Каухова // Разработка и регистрация лекарственных средств . – 2020. – Т. 9. – №. 3. – С. 51-58.

DEVELOPMENT OF PHYTOSUBSTANTIATION OF MEADOW CLOVER GRASS AND TABLETS BASED ON IT

Golubev A. [a)]; associate professor, Ph.D. in Pharmacy Sorokin V.,
Professor., D.Sc. in Pharmacy Kaukhova I., Aleksandrova L.
Saint-Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University (SPCPU), 197367, Russia, Saint-Petersburg, Prof. Popov st., h.14, b.A, 197376
a) corresponding author – artyom.golubev@spcpu.ru

Abstract. The aim of the study was to develop the composition of a solid dosage form with a phytosubstantiation of meadow clover grass, using the concept of quality through development and the method of planning the experiment. In the course of the research, a technology for obtaining a phytosubstance of meadow clover grass was developed. When choosing an extractant for obtaining a dry extract with a high content of active substances, it is proposed to use the efficiency criterion "K". It is proposed to obtain the phytosubstance using the liquid-liquid extraction method. The target quality profile of the finished product was developed, the critical attributes of quality and materials were determined, the experimental plan was developed, and the optimal theoretical composition of the developed tablets was determined. Tablets of this composition were obtained. The product quality indicators are determined. The quality indicators of the tablets corresponding to the selected composition were calculated, and the adequacy of the obtained model was evaluated by comparing the calculated and real indicators. It is shown that the calculation error does not exceed 10%, and the proposed optimization model can be used to develop the composition of tablets.

Keywords: *meadow clover, pharmaceutical development, quality by design*

УДК: 615.322 DOI: 10.52101/9785870191003_2021_407

НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕТАБОЛИТЫ *ARTEMISIA JACUTICA* DROB.

к.фарм.н. Дыленова Е. П.[1,2, а)], доцент, к.б.н. Жигжитжапова С. В.[1],
доцент, к.фарм.н. Рандалова Т. Э.[2], профессор, д.х.н. Раднаева Л. Д.[1]

1 - Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Байкальский институт природопользования Сибирского отделения Российской академии наук (БИП СО РАН), Россия, Улан-Удэ, ул. Сахьяновой, д.6, 670047.
2 - Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования “Бурятский государственный университет имени Доржи Банзарова”, Россия, Улан-Удэ, ул. Смолина, д.24а, 670000.
а) автор для переписки – edylenova@mail.ru

Аннотация. Полынь якутская - восточно-сибирский эндемик, широко применяемый в народной медицине Якутии. В связи с высоким содержанием хамазулена эфирное масло обладает выраженным противовоспалительным, антибактериальными, ранозаживляющим свойствами. В данной работе представлена динамика накопления и компонентный состав эфирного масла полыни якутской в различных морфологических частях растения и компонентный состав липидной фракции. Наибольший выход эфирного масла наблюдается из соцветий - 2,11 %. При исследовании компонентного состава эфирного масла цельной надземной части п. якутской обнаружено 34 компонента, представленных моно- и сесквитерпеноидами, причем содержание последних значительно выше, чем монотерпеноидов. Константными соединениями во всех морфологических частях растения являются 1,8-цинеол (0,40-0,53 %), нерил-2-метилбутаноат (2,36-20,92 %), дегидросесквицинеол (0,28-0,53 %), селина-4,11-диен (0,15-0,96 %), γ-эвдесмол (3,94-26,91 %) и хамазулен (7,89-67,75 %). Наибольшее содержание бициклических сесквитерпеноидов наблюдается в листьях и соцветиях, в стеблях же доля ациклических сесквитерпеноидов значительно больше, чем бициклических. Липидная фракция представлена 13 жирными кислотами и углеводородами (алканы, алкены). Доминирующими жирными кислотами являются пальмитиновая, линолевая и олеиновая кислоты.

Ключевые слова: полынь якутская, эфирное масло, морфологическая часть, жирные кислоты, компонентный состав, газо-хромато-масс-спектрометрия.

ВВЕДЕНИЕ

На сегодняшний день в официнальной медицине среди растений рода полынь (далее п.) *Artemisia* L. используется полынь горькая *Artemisia absinthium* L. Она относится к подроду Absinthium, подсекции Absinthium. Однако, известно о широком применении в народной медицине систематически близких видов к п. горькой – п. Сиверса, п. якутская, п. крупноголовчатая и др. [1]. Данные виды морфологически схожи, в связи с чем актуальным является изучение компонентного состава отдельных групп низкомолекулярных метаболитов, что может сыграть значительную роль при идентификации вышеуказанных видов.

Полынь якутская *(Artemisia jacutica* Drob.) - это восточно-сибирский эндемик, широко применяемый в народной медицине Якутии для лечения заболеваний желудочно-кишечного тракта. В связи с высоким содержанием хамазулена эфирное масло обладает выраженным противовоспалительным, антибактериальными, ранозаживляющим свойствами. Данный вид также обладает избирательной антифунгальной активностью и используется при глистных инвазиях у крупного рогатого скота и лошадей [2]. Ранее был определен химический состав п.якутской травы, включающий компонентный состав терпеновых соединений [3], элементный состав [4]. Ввиду узкоареальности полыни якутской химический состав в литературе представлен не в полном объеме, поэтому актуальным остается изучение

низкомолекулярных метаболитов п.якутской. Цель исследования - рассмотреть динамику накопления и компонентный состав эфирного масла полыни якутской в зависимости от морфологической части растения и изучить компонентный состав липидной фракции.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы

Трава полыни якутской, собранная в Еравнинском районе Республики Бурятия, окрестности с. Ширинга в 2019-2020 гг. в фазу цветения.

Методы

Эфирное масло получали из надземной части по ОФС.1.5.3.0010.15 «Определение содержания эфирного масла в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах» (метод 2) с использованием видоизменной насадки Клевенджера. Липидную фракцию получали экстракцией с применением гомогенизатора модифицированным методом Блайя-Дайера [5], с последующим её кислотным метанолизом. Компонентный состав эфирных масел и жирных кислот определяли методом газо-хроматомасс-спектрометрии (ГХ-МС) на газовом хроматографе Agilent 6890 (Agilent Technologies, USA) оснащенном масс-селективным детектором HP 5973N (Hewlett- Packard, USA) и капиллярной колонкой HP-5MS (30 m × 0.25 mm × 0.2 μm; Hewlett-Packard).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Эфирные масла п. якутской представляют собой жидкости темно-синего цвета, выход составляет 0,50-1,36% в пересчете на воздушно-сухое сырье. Нами рассмотрена динамика накопления эфирного масла полыни якутской травы в зависимости от морфологической части растения. Наибольший выход эфирного масла наблюдается из соцветий - 2,11% (в пересчете на воздушно-сухое сырье) и из цельной надземной части - 1,36%, из листьев - 1,10%, наименьший выход из стеблей - 0,45%.

При исследовании компонентного состава эфирного масла цельной надземной части полыни якутской обнаружено 34 компонента, представленных моно- и сесквитерпеноидами, причем содержание последних (93,18%) значительно выше, чем монотерпеноидов (4,14%). Результаты компонентного состава представлены в Таблице 1.

Таблица 1 - Компонентный состав эфирного масла *Artemisia jacutica* Drob. флоры Бурятии

Индекс удерживания J	Компонент	Содержание компонентов, в % от цельного масла*			
		Надземная часть	Листья	Соцветия	Стебли
Монотерпеноиды					
Ациклические монотепеноиды					
991	β-мирцен	0,18			
∑ Ациклических монотерпеноидов		0,18			
Моноциклические монотерпеноиды					
1004	α-фелландрен	0,03			
1024	п-цимол	0,11	0,15		
1058	ᵞ-терпинен	0,18			0,07
1177	терпинеол-4	0,59			
1191	α-терпинеол	0,63			0,11
∑ Моноциклических монотерпеноидов		1,54	0,15		0,18
Бициклические монотерпеноиды					
926	3-туйен	0,04			

932	α-пинен	0,11			
973	сабинен	0,05			
975	β-пинен	0,05			
1000	2-карен	0,12			
1031	1,8-цинеол	2,05	1,91	0,4	0,45
∑ Бициклических монотерпеноидов		2,42	1,91	0,4	0,45
Сесквитерпеноиды					
Ациклические сесквитерпеноиды					
1492	нерилизобутаноат	0,11		1,44	0,66
	неролидол ацетат	0,1			
1579	нерил-2-метилбутаноат	3,64	3	2,36	20,92
1585	нерил-3-метилбутаноат				38,07
1636	нерилпентаноат	6,92			14,13
1604	геранил-2-метилбутаноат	0,69	4,93		2,94
1610	геранил-3-метилбутаноат	2,08			8,54
1721	нерилгексаноат	1,78	2,16		1,31
∑ Ациклических сесквитерпеноидов		15,22	10,09	3,8	86,57
Моноциклические сесквитерпеноиды					
1482	ɣ-куркумен	0,25		0,15	0,1
1485	ар-куркумен				0,26
1513	β-куркумен	0,05			
1553	элемол	0,89			
1688	α-бисаболол		1,03		
∑ Моноциклических сесквитерпеноидов		1,19	1,03	0,15	0,36
1422	кариофиллен				0,13
1456	гумулен	0,06			
1469	9-эпи- кариофиллен	0,61			
1471	дегидросесквицинеол	0,4	0,53	0,28	0,33
1477	селина-4,11-диен	0,96	0,25	0,62	0,15
1496	цис, кадина-1,4-диен	0,08			
1500	бициклогермакрен	0,15			
1553	Δ-аморфен	0,12			
1633	ɣ-эвдесмол	25,39	11,19	26,91	3,94
1644	кариофиллен-4-аль-13	0,7			
1730	хамазулен	47,77	74,86	67,75	7,89
∑ Бициклических сесквитерпеноидов		76,24	86,83	95,56	12,44
Трициклические сесквитерпеноиды					
1392	β-кубебен	0,53			
∑ Трициклических сесквитерпеноидов		0,53			
неидентифицированное соединение		2,6			
∑ Монотерпеноидов		4,14	2,06	0,4	0,63
∑ Сесквитерпеноидов		93,18	97,95	99,51	99,37

**единичные измерения*

При сравнительном анализе компонентного состава различных морфологических групп выявлено, что константными соединениями во всех морфологических частях растения являются 1,8-цинеол (0,40-0,53 %), нерил-2-метилбутаноат (,36-20,92 %),

дегидросесквицинеол (0,28-0,53 %), селина-4,11-диен (0,15-0,96 %), γ-эвдесмол (3,94-26,91 %) и хамазулен (7,89-67,75 %). Анализ полученных данных показывает, что в составе эфирного масла цельной надземной части доминирующими компонентами являются 1,8-цинеол (2,05 %), нерил-2-метилбутаноат (3,64 %), нерилпентаноат (6,92 %), нерилгексаноат (1,78 %), геранил-3-метилбутаноат (2,08 %), γ-эвдесмол (25,39 %) и хамазулен (47,77). Листья и соцветия имеют схожий состав доминирующих компонентов, включающий геранил-2-метилбутаноат (4,93 и 2,36 %, соответственно), γ-эвдесмол (11,19 и 26,91 %) и хамазулен (74,86 и 67,75 %). Наибольшее содержание в двух морфологических частях - бициклических сесквитерпеноидов (86,83-95,56 %). В стеблях же доля ациклических сесквитерпеноидов (86,57 %) значительно больше, чем бициклических (12,44 %).

Также нами исследован компонентный состав липидной фракции полыни якутской флоры Бурятии. Выход суммарных липидов составил 6,04 % в пересчете на воздушно-сухое сырье. Липидная фракция представлена 13 жирными кислотами и углеводородами (алканы, алкены). Состав липидной фракции полыни якутской травы представлен в Таблице 2.

Таблица 2 - Состав липидной фракции *Artemisia jacutica* Drob. флоры Бурятии по данным ГХ/МС, в % от суммы компонентов

Название компонента	Содержание*, %
Насыщенные жирные кислоты	
Миристиновая кислота (14:0)	2,09
Пентадекановая кислота (15:0)	0,48
Пальмитиновая кислота (16:0)	14,02
15-метилгексадекановая кислота (15-CH3, 16:0)	0,41
2-гидрокси-гексадекановая кислота (2-OH, 16:0)	0,30
Стеариновая кислота (18:0)	3,49
Арахидиновая кислота (20:0)	1,17
Бегеновая кислота (22:0)	1,61
Трикозановая кислота (23:0)	0,25
Лигноцериновая кислота (24:0)	1,27
∑ насыщенных жирных кислот	*25,09*
Ненасыщенные жирные кислоты	
Пальмитолеиновая кислота (16:1n9)	1,16
Линолевая кислота (18:1n9,12)	48,61
Олеиновая кислота (18:1n9)	20,18
∑ ненасыщенных жирных кислот	*69,95*
Углеводороды	
Децен-1	0,63
Тридецен-1	0,34
Эйкозан	1,44
Октадекан	0,75
Пентакозан	1,79
∑ углеводородов	*4,95*

**единичные измерения*

Состав насыщенных жирных кислот включает 10 кислот, наибольшее содержание которых приходится на пальмитиновую (16:0) - 14,02 %, стеариновую (18:0) - 3,49 % и миристиновую (14:0) - 2,09 %. В составе ненасыщенных идентифицированы 3 моноеновые жирные кислоты (69,95 %), среди которых доминируют линолевая кислота (48,61 %) и олеиновая кислоты (20,18 %).

ВЫВОДЫ

Таким образом, эфирное масло полыни якутской является богатым источником хамазулена (содержание в эфирном масле выше 40 %), который обладает выраженным противовоспалительным, антибактериальными и ранозаживляющим свойствами. Хамазулен в наибольших количествах накапливается в листьях и соцветиях. Также, полынь якутская является перспективный источник насыщенных и ненасыщенных жирных кислот. Доминирующими кислотами в липидной фракции являются пальмитиновая, линолевая и олеиновая кислоты.

Работа выполнена в рамках программы фундаментальных научных исследований государственных академий наук и при финансовой поддержке гранта БГУ 2021 г.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ханина, М. А. Полыни Сибири и Дальнего Востока (химический состав, систематика, биологическая активность) [Текст]: монография / М. А. Ханина, М. Г. Ханина. - Орехово-Зуево: ГГТУ, 2018. - 246 с.
2. Ханина, М. А. Результаты интродукционного исследования полыни якутской *Artemisia jacutica* Drob. [Текст] / М. А. Ханина [и др.] // Химия растительного сырья. - 1999. - №3. - С.63-78.
3. Randalova, T. E. Comparative analysis of chemical composition of plants of the genus *Artemisia* containing Arglabin of Russian (Buryatia) and Kazakhstan floras [Текст] / T.E. Randalova [et al.] // Czech Chem. Soc. Symp. Ser. – 2015. – Vol. 13. – P. 169-173.
4. Дыленова, Е. П. Микроэлементы-биофилы и тяжелые металлы в *Artemisia frigida* Willd. и *Artemisia jacutica* Drob. [Текст] / Е.П. Дыленова [и др.] // Химия растительного сырья. - 2019. - №4. - С. 199-205.
5. Tykheev, Zh. A. Constituents of Essential Oil and Lipid Fraction from the Aerial Part of *Bupleurum scorzonerifolium* Willd. (Apiaceae) from Different Habitats [Электронный ресурс] / Zh.A. Tykheev [et al.] // Molecules. - 2018. - Vol. 23, Issue 1496. DOI:10.3390/molecules23061496.

LOW-MOLECULAR METABOLITES OF *ARTEMISIA JACUTICA* DROB.

Ph.D. in Pharmacy Dylenova E. P.[1,2 a)],
Associate Professor, Ph.D. in Biology Zhigzhitzhapova S. V.[1],
Associate Professor, Ph.D. in Pharmacy Randalova T. E.[2],
Professor, D.Sc. in Chemistry Radnaeva L. D.[1]

1 - Federal State Budgetary Institution of Science Baikal Institute of Nature Management of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (BINM SB RAS) (Russia, Ulan-Ude, Sakhyanovoy st., 6), 670047

2 - Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Banzarov Buryat State University"

a) corresponding author – edylenova@mail.ru

Abstract. *Artemisia jacutica* is an East Siberian endemic plant which has been widely used in Yakutian folk medicine for the treatment of gastrointestinal diseases. Due to a high level of chamazulene, the essential oil has pronounced anti-inflammatory, antibacterial and wound healing activities. The dynamics of accumulation and composition of essential oils in various morphological parts of plants, composition of lipid fraction have been presented in this paper. The highest volume of essential oils was found in inflorescences - 2.11 %. 34 components were found during the studying of the composition of essential oils from the whole aerial part of Artemisia jacutica. Mostly, they were presented by mono- and sesquiterpenoids, where the volume of sesquiterpenoids were significantly higher than monoterpenoids. 1,8-cineole (0.40-0.53 %), neryl-2-methylbutanoate (2.36-20.92 %), dehydrosesquicineol (0.28-0.53 %), selina-4,11-diene (0.15-0.96 %), γ-eudesmol (3.94-26.91 %) and chamazulene (7.89-67.75 %) were constant compounds in all morphological parts of plant. The highest content of bicyclic sesquiterpenoids was observed in leaves and inflorescences, while in stems the volume of acyclic sesquiterpenoids was much higher than that of bicyclic ones. The lipid fraction contained 13 fatty acids and hydrocarbons (alkanes, alkenes). The dominant fatty acids were palmitic, linoleic and oleic acids.

Keywords: *Artemisia jacutica, essential oils, morphological parts, fatty acids, composition, gas chromatography-mass spectrometry.*

УДК: 615.322: 547.9 DOI: 10.52101/9785870191003_2021_413

ОСОБЕННОСТИ ИДЕНТИФИКАЦИИ ЛЕКАРСТВЕННОГО РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ ВИДОВ РОДА ОРЕХ (*JUGLANS* L.)

Зименкина Н. И., профессор, д.фарм.н. Куркин В. А.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Самара, ул. Чапаевская, д.89, 443099

а) автор для переписки – n.i.zimenkina@samsmu.ru

Аннотация. Лекарственные растения видов рода Орех (*Juglans* L.) семейства *Juglandaceae* являются перспективными видами официнального лекарственного растительного сырья. Препараты указанного лекарственного растительного сырья (ЛРС) оказывают противомикробное, общеукрепляющее действие. Лекарственное растительное сырье представителей рода Орех (*Juglans* L.) не является фармакопейным в России. Учитывая высокую фармакологическую активность, для введения вышеуказанных видов ЛРС в Государственную фармакопею Российской Федерации (ГФ РФ) необходимо проведение комплекса фармакогностических исследований, включая разработку нормативной документации, подтверждающей качество лекарственного растительного сырья. В данной статье обсуждаются результаты сравнительного фармакогностического исследования лекарственного растительного сырья видов рода Орех: ореха грецкого (*Juglans regia* L.), ореха черного (*Juglans nigra* L.) и ореха серого (*Juglans cinerea* L.) в качестве перспективного источника биологически активных соединений для выявления особенностей идентификации лекарственного растительного сырья.

Ключевые слова: *орех, Juglans regia, Juglans nigra, Juglans cinerea, листья, кора, плоды, УФ - спектрофотометрия, тонкослойная хроматография, флавоноиды, стандартизация.*

ВВЕДЕНИЕ

Выявление особенностей идентификации и определения основных групп биологически активных соединений (БАС) лекарственного растительного сырья (ЛРС) необходимо в процессе его стандартизации. На территории РФ культивируется около 8-ми видов растений рода Орех (*Juglans* L.), являющиеся потенциальными источниками БАС [1, 2]. Основными видами, культивируемыми в Европейской части РФ, являются орех грецкий (*Juglans regia* L.), ореха черный (*Juglans nigr*a L.) и ореха серый (*Juglans cinerea* L.).

Как известно, представители рода Орех (*Juglans* L.) являются лекарственным растительным сырьем, обладающим широким спектром фармакологической активности. Сырьё видов рода Орех не является фармакопейным в РФ, несмотря на разнообразие фармакологического действия. Отдельные виды лекарственного растительного сырья представителей рода Орех чаще всего известны в связи с наличием в надземной части различных производных нафтохинона, оказывающих антибактериальную активность, в частности: юглон, гидроюглон, глюкозид гидроюглона [3]. Кроме того, представители рода Орех содержат и другие ценные БАС – липиды, азотистые вещества, углеводы, органические кислоты, флавоноиды и другие фенольные соединения, которые также вносят существенный вклад в фармакологическое действие [1, 4, 5].

На наш взгляд, вклад в основной антимикробный эффект, наряду с нафтохинонами, вносят и другие фенольные соединения, в том числе флавоноиды [6, 7]. В литературных данных для отдельных видов ЛРС видов рода Орех описаны следующие флавоноиды: югланин, гиперозид, кверцетина 3-рамнозид, мирицетин [4, 6].

Необходимо учитывать тот факт, что в сырье, предназначенном для получения водных, спиртовых, спирто-водных извлечений, экстрактов, существует необходимость

идентификации действующих веществ гидрофильной природы, к которым относят флавоноиды данного растения [7, 8].

Цель настоящего исследования заключалась в определении особенностей идентификации лекарственного растительного сырья различных видов рода Орех и выявлении, таким образом, наиболее перспективного в изучении лекарственного растительного сырья.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы. Исследовали различные виды растительного сырья: кору, листья и плоды нескольких представителей рода Орех: ореха грецкого (*Juglans regia* L.), ореха черного (*Juglans nigra* L.) и ореха серого (*Juglans cinerea* L.). Образцы коры были собраны в период сокодвижения (апрель), листья - в период массового цветения (июль), а плоды – в конце августа 2020 года в Ботаническом саду Самарского университета. Сушка сырья проводилась естественным способом под навесом без доступа прямых солнечных лучей до воздушно-сухого состояния. Для проведения анализа получали водно-спиртовые извлечения исследуемого лекарственного растительного сырья для качественной (тонкослойная хроматография) и количественной оценки (спектрофотометрия).

Методы. Для определения биологически активных соединений в различных видах ЛРС представителей рода Орех (*Juglans* L.) использовали метод прямой и дифференциальной спектрофотометрии. Регистрацию УФ-спектров проводили с помощью спектрофотометра «Specord 40» (Analytik Jena, Германия).

Тонкослойную хроматографию осуществляли с использованием хроматографических пластинок «Сорбфил ПТСХ-АФ-А-УФ», капиллярами марки «LactatProfi3000» наносили 0,02 мл водно-спиртовых извлечений исследуемых видов. Рядом наносили 0,01 мл растворы стандартных образцов (СО) мирицитрина (3-О-рамнозид мирицетина), югланина, кверцитрина, гиперозида. Определение проводили в системе хлороформ – этанол – вода (25:18:2). Хроматографическую пластинку помещали в камеру, которую предварительно насыщали в течение 60 минут смесью растворителей и хроматографировали восходящим способом.

Полученную хроматограмму просматривали при дневном свете, в УФ-свете при λ=365 нм с помощью ультрафиолетового облучателя УФО-254/365 (Петролазер, Россия), а также обрабатывали щелочным раствором диазобензолсульфокислоты (ДСК) и 3 % спиртовым раствором алюминия хлорида ($AlCl_3$).

Исследование ЛРС осуществлялось в соответствии с требованиями *ОФС. 1.2.1.1.0003.15 «Спекторофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях», ОФС.1.2.1.2.0003.15 «Тонкослойная хроматография»* ГФ РФ XIV издания [9].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для оценки химического состава листьев рода *Juglans* провели хроматографирование в системе растворителей хлороформ – этанол – вода (25:18:2). В результате ТСХ-анализа нами отмечено, что наиболее информативными являются хроматограммы, просматриваемые при длине волны 365 нм до и после обработки спиртовым раствором алюминия хлорида с дальнейшей обработкой щелочным раствором ДСК.

По результатам проводимых нами хроматографических исследований выявлен ряд особенностей хроматографических профилей изучаемых объектов. При детектировании хроматографических пластинок со спирто-водными извлечениями коры, листьев и плодов ореха черного в видимом и УФ-свете при 365 нм наблюдается наличие широкого спектра фенольных соединений различного состава. Заметно преобладание веществ флавоноидной структуры, выявленных в результате усиления окраски после нанесения спиртового раствора $AlCl_3$. В листьях и коре обнаружены зоны адсорбции темно-коричневого цвета в УФ-свете соединения флавоноидной структуры с высоким содержанием в извлечении. Данное

соединение предположительно является мирицитрином, что подтверждается одинаковой величиной R_f относительно СО мирицитрина: $R_f \approx 0,4$. Кроме того, вторым доминирующим компонентом в листьях ореха черного выявлено соединение с зоной адсорбции желтого цвета, величина R_f которого совпадает с величиной Rf СО кверцитрина ≈ 0,6. Во всех видах ЛРС ореха черного (кора, листья, околоплодники и плоды) выявлены зоны адсорбции желтого цвета в видимом, голубого при детектировании в УФ свете и при обработке спиртовым раствором $AlCl_3$, оранжево-желтого при обработке раствором ДСК. Данные соединения являются предположительно производными нафтохинона. Кроме того, в извлечениях обнаружены другие флавоноидные соединения, предположительно, негликозидной структуры. В сравнительном аспекте видно, что на хроматограммах плодов и околоплодников не выявлены различия в химическом составе (рисунок 1).

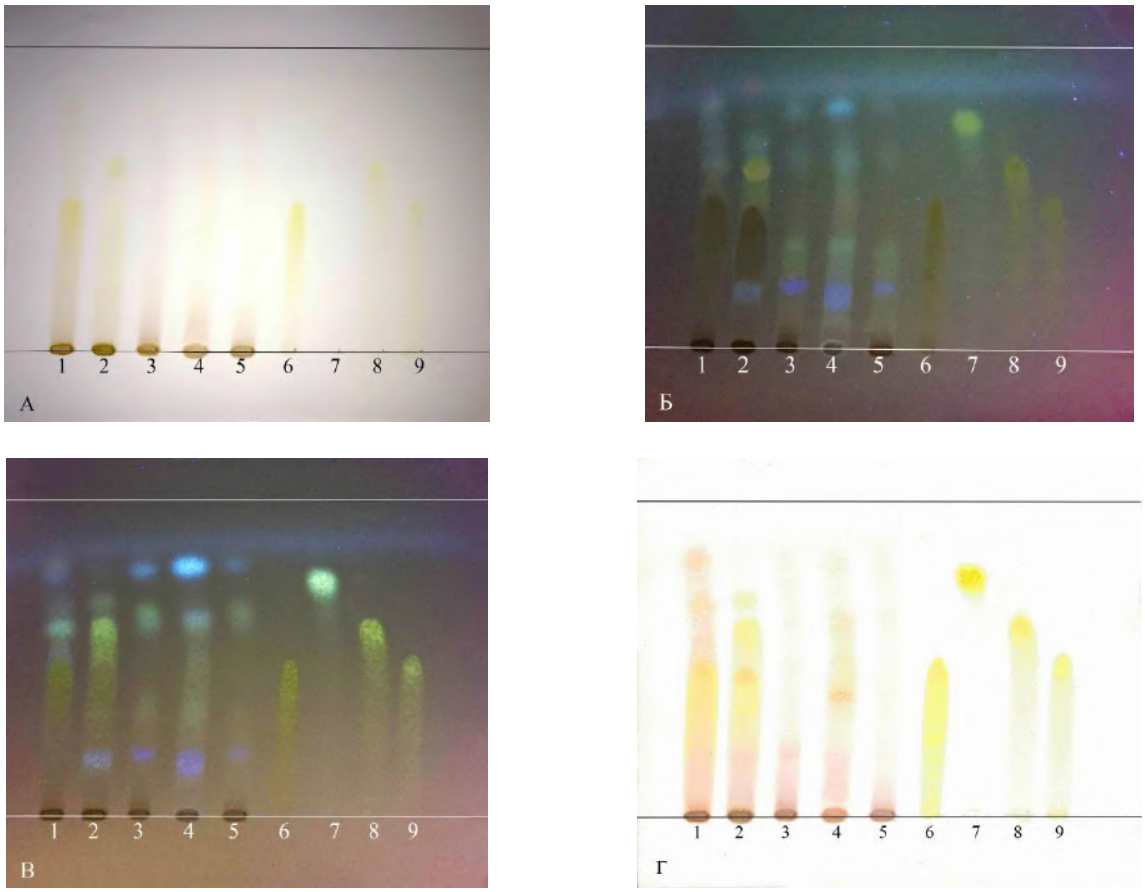


Рисунок 1 – Хроматограмма анализа водно-спиртовых извлечений ЛРС ореха черного (*Juglans nigra* L.) в системе растворителей хлороформ – этанол – вода (25:18:2):
А – детекция в видимом свете; Б – детекция в УФ-свете при длине волны 365 нм;
В – детекция в УФ-свете при длине волны 365 нм после обработки спиртовым раствором хлорида алюминия ($AlCl_3$), Г – детекция после обработки диазобензолсульфокислоты (ДСК)

Обозначения: 1 – 70 % водно-спиртовое извлечение коры; 2 – 70 % водно-спиртовое извлечение листьев; 3 – 70 % водно-спиртовое извлечение плодов; 4 – 70 % водно-спиртовое извлечение околоплодников; 5 – 70 % водно-спиртовое извлечение ядер плодов; 6 – стандартный образец (СО) мирицитрина; 7 – стандартный образец (СО) югланина; 8 – стандартный образец (СО) кверцитрина; 9 – стандартный образец (СО) гиперозида.

При детектировании хроматографических пластинок со спирто-водными извлечениями различных видов лекарственного растительного сырья ореха грецкого в видимом и УФ-свете при 365 нм до и после обработки раствором алюминия хлорида в коре и листьях также выявлены зоны адсорбции, характерные для соединений флавоноидной структуры. В листьях

ореха грецкого интерес представляют зоны адсорбции флавоноида неизвестной структуры, R_f которого приблизительно равен R_f СО кверцитрина. Кроме того, вторым выявленным компонентом является соединение с зоной адсорбции желтого цвета, величина Rf которого совпадает с величиной Rf СО югланина ≈ 0,8. По литературным данным, в извлечениях листьев ореха грецкого должны обнаруживаться зоны адсорбции, соответствующие СО гиперозида. На хроматографических пластинках их локализация не выявлена. (рисунок 2). Также во всех видах ЛРС ореха грецкого (кора, листья, околоплодники и плоды) выявлены зоны адсорбции желтого цвета в видимом, голубого при детектировании в УФ свете и при обработке спиртовым раствором AlCl3, оранжево-желтого при обработке раствором ДСК. Данные соединения являются предположительно производными нафтохинона.

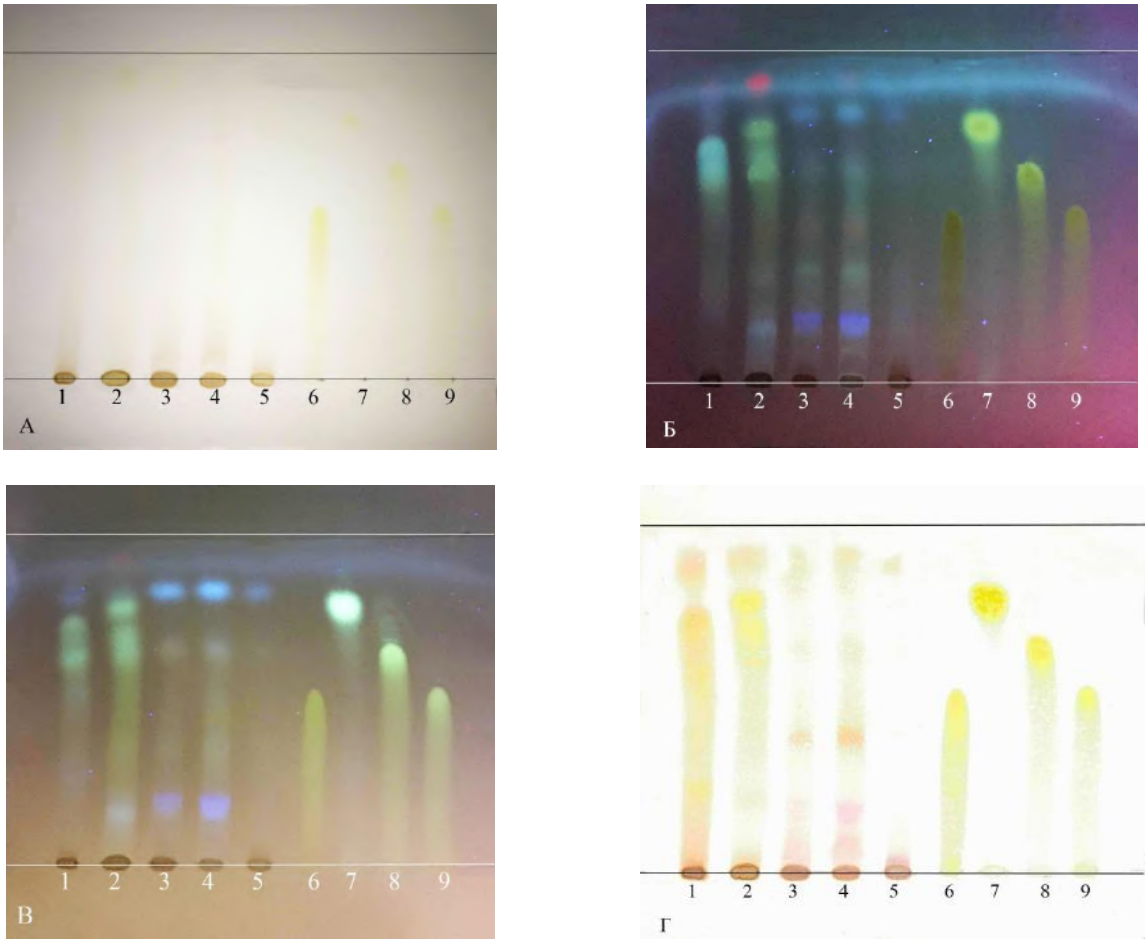


Рисунок 2 – Хроматограмма анализа водно-спиртовых извлечений листьев ореха грецкого (*Juglans regia* L.) в системе растворителей хлороформ – этанол – вода (25:18:2): А – детекция в видимом свете; Б – детекция в УФ-свете при длине волны 365 нм; В – детекция в УФ-свете при длине волны 365 нм после обработки спиртовым раствором хлорида алюминия ($AlCl_3$), Г – детекция после обработки диазобензолсульфокислоты (ДСК)

Обозначения: 1 – 70 % водно-спиртовое извлечение коры; 2 – 70 % водно-спиртовое извлечение листьев; 3 – 70 % водно-спиртовое извлечение плодов; 4 – 70 % водно-спиртовое извлечение околоплодников; 5 – 70 % водно-спиртовое извлечение ядер плодов; 6 – стандартный образец (СО) мирицитрина; 7 – стандартный образец (СО) югланина; 8 – стандартный образец (СО) кверцитрина; 9 – стандартный образец (СО) гиперозида.

При детектировании хроматографических пластинок со спирто-водными извлечениями листьев ореха серого в видимом и УФ-свете при 365 нм до и после обработки раствором алюминия хлорида обнаружено большое количество зон адсорбции, принадлежащих веществам, предположительно, флавоноидной структуры. В листьях ореха серого интерес

представляют зоны адсорбции флавоноида неизвестной структуры, Rf которого приблизительно равен Rf СО кверцитрина ≈ 0,6. Кроме того, вторым выявленным компонентом является соединение с зоной адсорбции желтого цвета, величина Rf которого совпадает с величиной Rf СО югланина. На хроматографических пластинках их локализация не выявлена. (рисунок 2). Также во всех видах ЛРС ореха грецкого (кора, листья, околоплодники и плоды) выявлены зоны адсорбции желтого цвета в видимом, голубого при детектировании в УФ свете и при обработке спиртовым раствором AlCl3, оранжево-желтого и розового в коре ореха серого при обработке раствором ДСК. Данные соединения являются предположительно производными нафтохинона (рисунок 3).

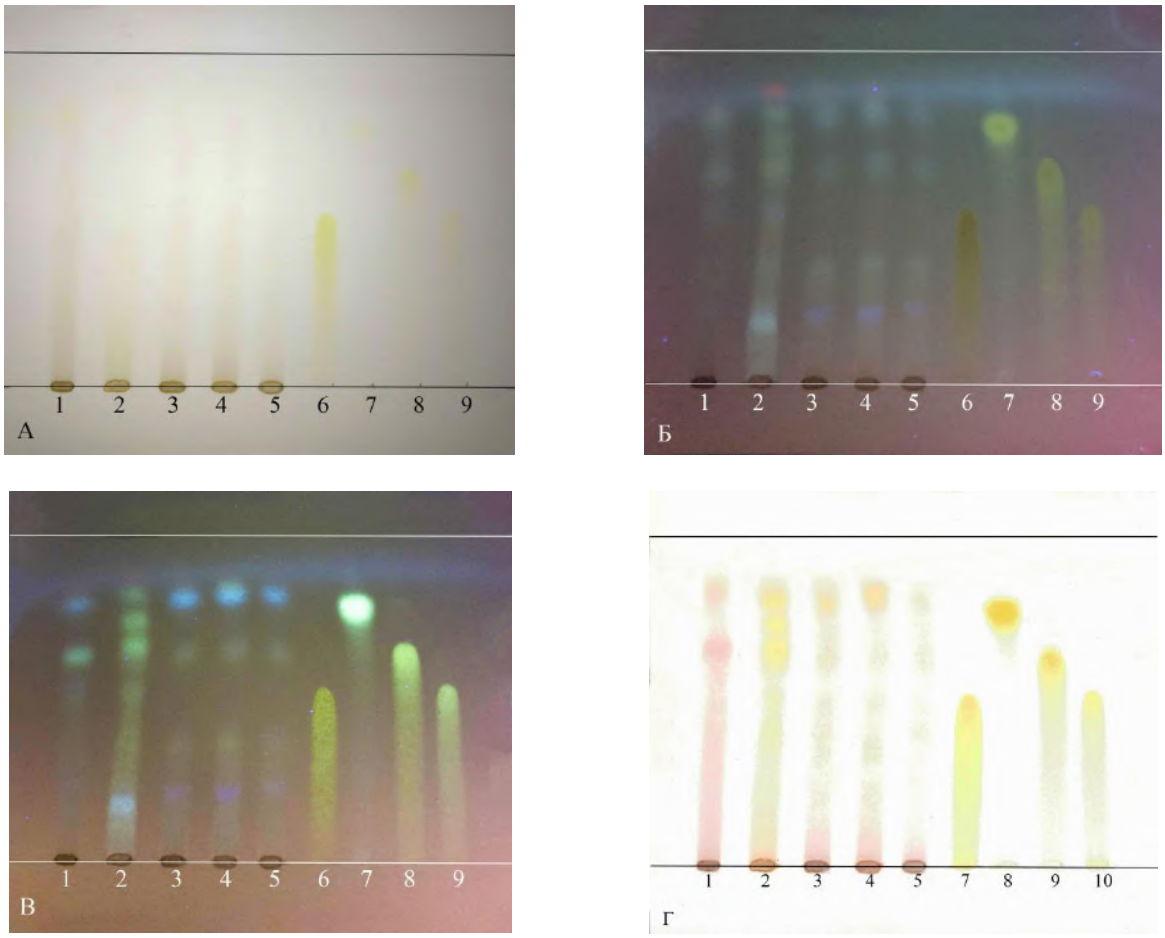


Рисунок 3 – Хроматограмма анализа водно-спиртовых извлечений листьев ореха серого (*Juglans cinerea* L.) в системе растворителей хлороформ – этанол – вода (25:18:2): А – детекция в видимом свете; Б – детекция в УФ-свете при длине волны 365 нм; В – детекция в УФ-свете при длине волны 365 нм после обработки спиртовым раствором хлорида алюминия ($AlCl_3$), Г – детекция после обработки диазобензолсульфокислоты (ДСК)

Обозначения: 1 – 70 % водно-спиртовое извлечение коры; 2 – 70 % водно-спиртовое извлечение листьев; 3 – 70 % водно-спиртовое извлечение плодов; 4 – 70 % водно-спиртовое извлечение околоплодников; 5 – 70 % водно-спиртовое извлечение ядер плодов; 6 – стандартный образец (СО) мирицитрина; 7 – стандартный образец (СО) югланина; 8 – стандартный образец (СО) кверцитрина; 9 – стандартный образец (СО) гиперозида.

По результатам сравнительного изучения электронных спектров водно-спиртовых извлечений, полученных методом прямой УФ-спектрофотометрии из различного ЛРС некоторых видов растений рода Орех (ореха грецкого, ореха черного, ореха серого) были установлены особенности спектральных характеристик указанных видов. При сравнительном изучении кривых электронных спектров коры видов рода Орех выявлена высокая оптическая

плотность в максимумах поглощения у ореха черного. Полученный электронный спектр водно-спиртового извлечения коры ореха черного имеет два максимума поглощения (λ=260 нм и λ=360 нм), что характерно для флавоноидов.

При сравнительном изучении электронных спектров листьев ореха также выявлена наибольшая оптическая плотность в максимумах поглощения у извлечения листьев ореха черного. Полученные электронные спектры листьев ореха черного, грецкого и серого имеют также два максимума поглощения (λ=260 нм и λ=360 нм для листьев ореха черного; λ=280-290 нм и λ=420-430 нм для ореха грецкого и ореха серого), характерные для веществ флавоноидной структуры.

При сравнительном изучении электронных спектров плодов ореха также выявлена наибольшая оптическая плотность в максимумах поглощения у извлечения плодов ореха черного. Определен один максимум поглощения для всех видов плодов ореха – λ=260 нм.

Определено, что в УФ-спектре водно-спиртового извлечений с двумя максимума поглощения наблюдается батохромный сдвиг длинноволновой полосы флавоноидов (рисунок 5). Для коры ореха черного характерно получение дифференциальных спектров с максимумом поглощения 410-416 нм. Изучение УФ-спектров ГСО мирицитрина показало, что выделенный из коры ореха черного флавоноид во многом определяет характер кривой поглощения водно-спиртового извлечения из коры ореха черного, а значит, является диагностически значимым веществом для данного вида сырья. Принимая во внимание тот факт, что максимумы поглощения раствора выделенного флавоноида и водно-спиртового извлечения коры ореха черного находятся в области 416 нм (дифференциальный вариант), целесообразным является определение содержания суммы флавоноидов в пересчете на выделенный флавоноид при длине волны 416 нм.

Изучение УФ-спектров ГСО рутина показало, что раствор данного стандарта в присутствии алюминия хлорида имеет максимум поглощения при длине волны 412 нм (рисунок 6). В УФ-спектре водно-спиртового извлечения из листьев видов рода *Juglans* в дифференциальном варианте обнаруживаются максимумы поглощения при длине волны 412 нм (рисунок 4), который практически соответствует максимуму спиртового раствора рутина. Принимая во внимание тот факт, что максимумы поглощения раствора выделенного флавоноида и водно-спиртового извлечения листьев находятся в области 412 нм (дифференциальный вариант), целесообразным является определение содержания суммы флавоноидов в пересчете на выделенный флавоноид при длине волны 412 нм.

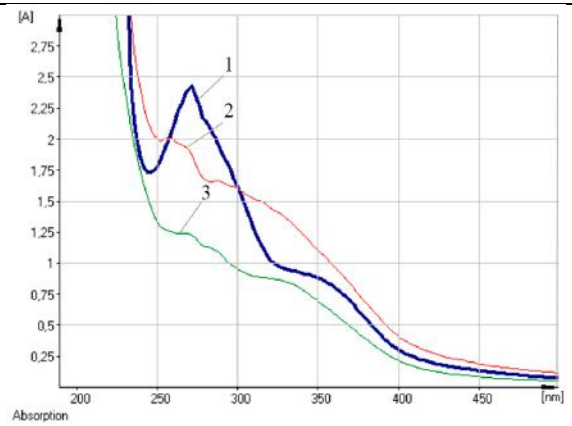
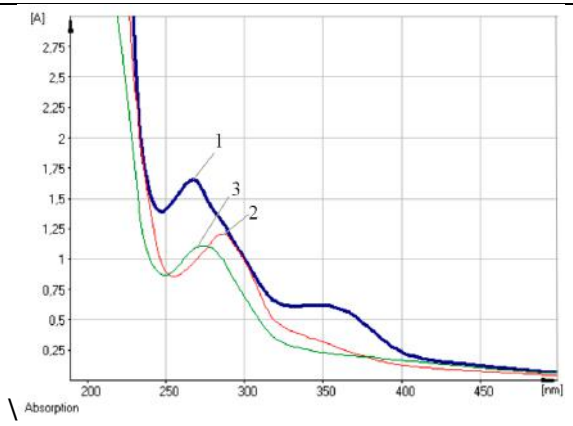
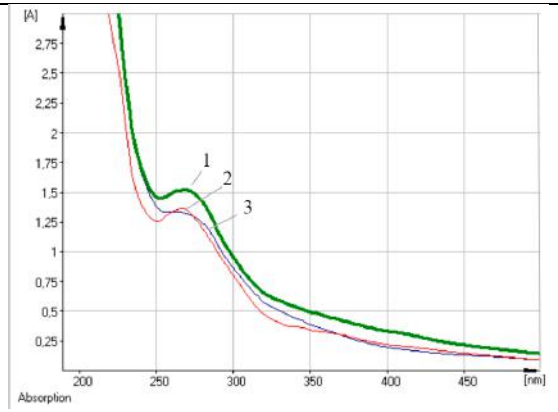
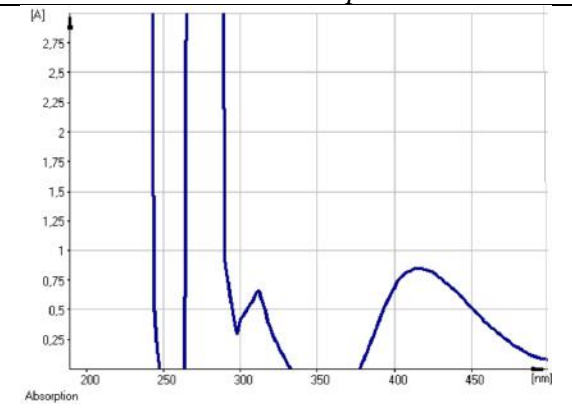
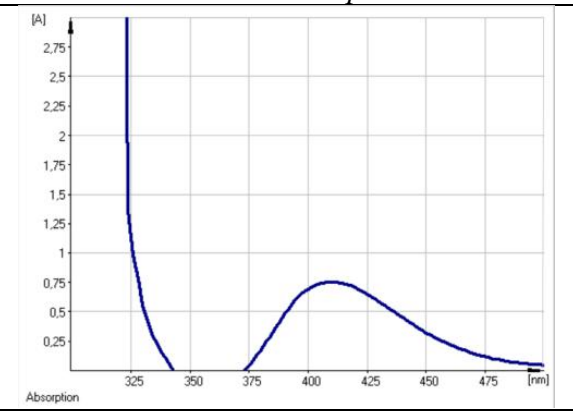
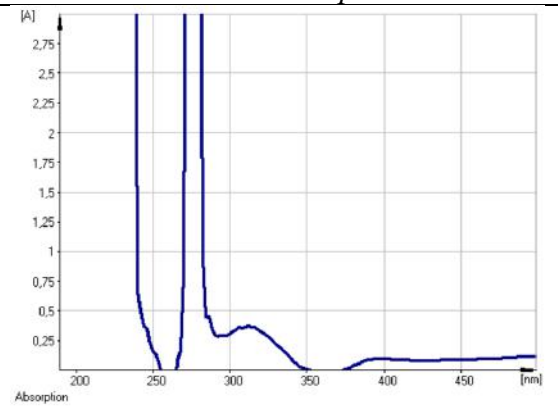
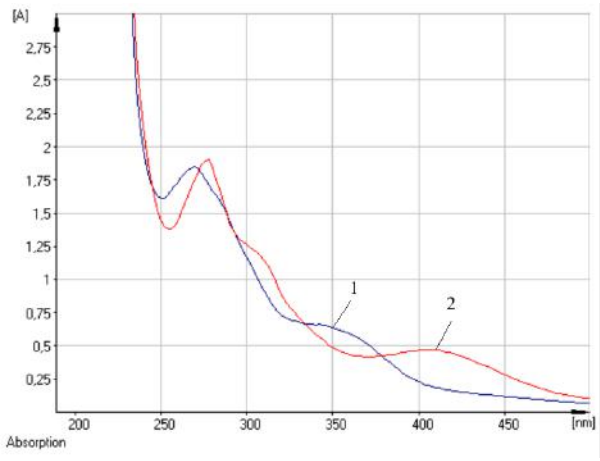
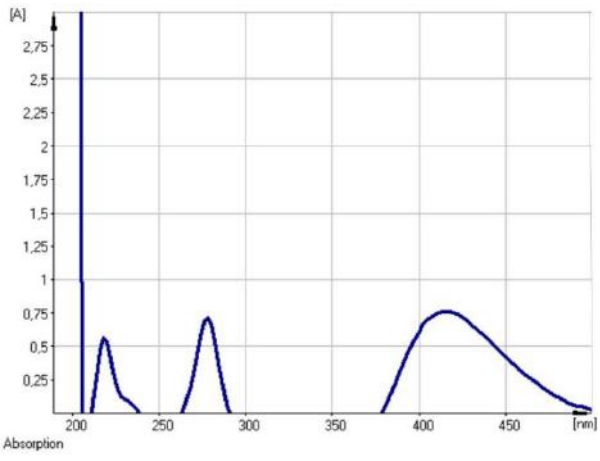
		
Сравнительные электронные спектры растворов водно-спиртового извлечения из коры Обозначения: *1 – раствор извлечения; 2 – раствор извлечения с добавлением алюминия хлорида*	Сравнительные электронные спектры растворов водно-спиртового извлечения из листьев Обозначения: *1 – раствор извлечения; 2 – раствор извлечения с добавлением алюминия хлорида*	Сравнительные электронные спектры растворов водно-спиртового извлечения из плодов Обозначения: *1 – раствор извлечения; 2 – раствор извлечения с добавлением алюминия хлорида*
		
Электронный спектр раствора водно-спиртового извлечения из коры ореха черного (дифференциальный вариант)	Электронный спектр раствора водно-спиртового извлечения из листьев ореха черного (дифференциальный вариант)	Электронный спектр раствора водно-спиртового извлечения из плодов ореха черного (дифференциальный вариант)

Рисунок 4 – Электронные спектры растворов водно-спиртового извлечения из листьев видов рода *Juglans* L.

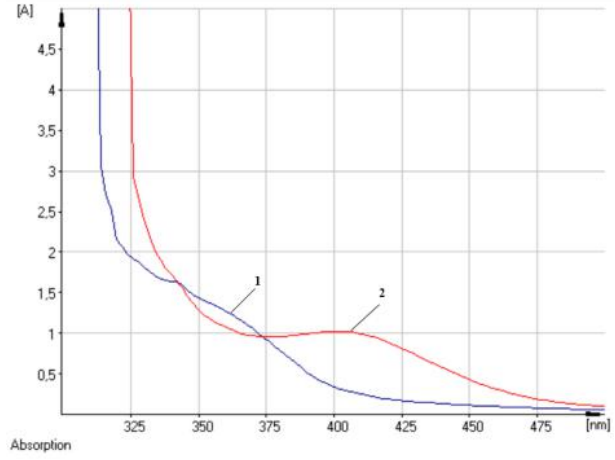


Электронные спектры водно-спиртового извлечения из коры ореха черного.
Обозначения: 1 – раствор извлечения; 2 – раствор извлечения с добавлением алюминия хлорида

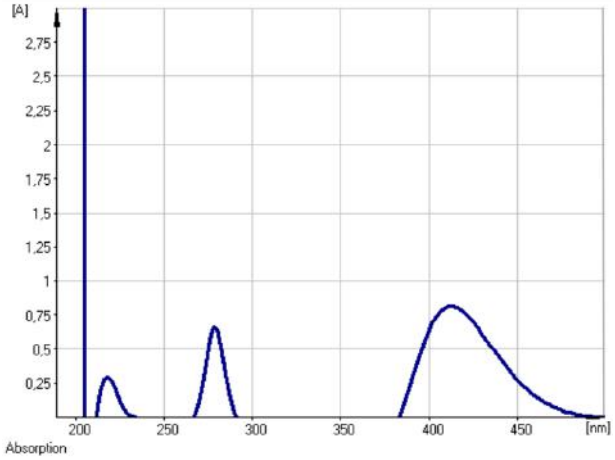


Электронный спектр раствора мирицитрина (дифференциальный вариант)

Рисунок 5 – Электронные спектры растворов водно-спиртового извлечения из коры ореха черного



Электронные спектры водно-спиртового извлечения из листьев ореха черного
Обозначения: 1 – раствор извлечения; 2 – раствор извлечения с добавлением алюминия хлорида



Электронный спектр раствора рутина (дифференциальный вариант)

Рисунок 6 – Электронные спектры растворов водно-спиртового извлечения из листьев ореха черного

По результатам сравнительного спектрального анализа видов ЛРС рода *Juglans* определены особенности кривых поглощения у отдельных представителей видов: коры ореха черного, листьев ореха черного, ореха грецкого и ореха серого. Данные вида лекарственного растительно сырья являются перспективными для дальнейшего изучения.

ВЫВОДЫ

Таким образом, проведенное сравнительное фармакогностическое исследование позволило выявить особенности идентификации видов рода *Juglans:* ореха черного, ореха грецкого, ореха серого. По результатам хроматографических исследований выявлены

особенности хроматографических профилей у отдельных представителей видов рода Орех. Определено, что доминирующим флавоноидом коры и листьев ореха черного является мирицитрин, а преобладающими флавоноидами ореха грецкого и ореха серого являются кверцитрин и югланин. На основании сравнительного исследования электронных спектров водно-спиртовых извлечений ЛРС видов рода Орех определены особенности кривых поглощения отдельных представителей. Полученные электронные спектры водно-спиртовых извлечений коры и листьев ореха черного, а также листьев ореха грецкого и серого имеют два максимума поглощения, что характерно для флавоноидов. При этом для коры ореха черного характерно получение дифференциальных спектров с максимумом поглощения 410-416 нм, как и для выделенного из данного ЛРС флавоноида – мирицитрина. В УФ-спектре водно-спиртового извлечения из листьев видов рода *Juglans* в дифференциальном варианте обнаруживаются максимумы поглощения при длине волны 412 нм, который практически соответствует максимуму спиртового раствора рутина. Полученные данные позволяют использовать данные виды ЛРС для дальнейших исследований и определения особенностей их стандартизации.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Куркин, В. А. Фармакогнозия: учебник для студентов фармацевтических вузов (факультетов) / В. А. Куркин. - 4-е изд., перераб. и доп. Самара: ООО «Офорт»; ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России, 2019. 1278 с.
2. Помогайбин, А. В. Некоторые особенности химического состава и биологической активности листового опада видов рода Орех (*Juglans* L.) при интродукции в среднем Поволжье // Химия растительного сырья. 2002. № 4. С. 43–47.
3. Дайронас, Ж. В. Спектрофотометрическое определение производных юглона в листьях ореха грецкого. / Ж. В. Дайронас, И. Н. Зилфикаров // Современная фармацевтическая наука и практика: традиции, инновации, приоритеты. Пятигорск. – 2011 – С. 113-114.
4. Буданцев, А. Л. Растительные Ресурсы России: Дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность. Т.1. Семейства *Magnoliaceae – Juglandaceace, Ulmaceae, Moraceae, Cannabaceae, Urticaceae* / А. Л Буданцев, Л. М. Беленовская. – СПб.; М.: Товарищество научных изданий КМК – 2008. – С. 181-186.
5. Paudel, P. *Juglans regia* and *J. nigra*, two trees important in traditional medicine: A comparison of leaf essential oil compositions and biological activities / P. Paudel, P. Satyal, N.S. Dosoky, S. Maharjan, W.N. Setzer // Nat. Prod. Commun – 2013. – Vol. 8(10). – P. 1481-1486.
6. Дайронас, Ж. В. Экспериментально-теоретическое исследование лекарственного растительного сырья, содержащего нафтохиноны, и его стандартизация / Диссертация на соискание ученой степени доктора фармацевтических наук. М., 2017. 389 с.
7. Куркина, А. В. Флавоноиды фармакопейных растений: монография [Текст]. Самара: ГБОУ ВПО «СамГМУ Росздрава». 2012. 290 с.
8. Зименкина, Н. И. Сравнительный фитохимический анализ видов рода Орех (*Juglans* L.) / Н. И. Зименкина, В. А. Куркин // Физика и медицина: Создавая будущее: Сборник. – 2019. – № 3. – С. 213-215.
9. Государственная Фармакопея Российской Федерации. XIV издание [Электронный ресурс] // МЗ РФ. Москва, 2018. [Т. 2]. С. 2327–2348. URL: http: //resource. rucml. ru/ feml/pharmacopia/14_2/HTML/513/index. html (Дата обращения 14.08.2020 г.).

FEATURES OF IDENTIFICATION OF MEDICINAL PLANT RAW MATERIALS OF REPRESENTATIVES OF THE GENUS WALNUT (*JUGLANS* L.)

Zimenkina N. I., Professor, D.Sc. in Pharmacy Kurkin V. A.
Samara State Medical University, Samara, ulitsa Chapaevskaya 89, 443099
a) corresponding author – n.i.zimenkina@samsmu.ru

Abstract. Medicinal plants species of the genus Walnut (*Juglans* L.) of the *Juglandaceae* family are promising types of officinal medicinal herbal raw materials. Medicines their medicinal herbal raw materials have an antimicrobial, restorative effect. Medicinal plant raw materials of representatives of *Juglans* are not pharmacopoeial in Russia. Despite the high pharmacological action, we must conduct a complex of pharmacognostic studies, including regulatory documents confirming the quality of medicinal plant materials. It is necessary to the introduction of these types of medicinal products into the State Pharmacopoeia of the Russian Federation. This article is discussed the results of a comparative pharmacognostic study of the medicinal herbal raw materials of the genus *Juglans*: *Juglans regia* L., *Juglans nigra* L. and *Juglans cinerea* L. as a promising source of biologically active compounds to identify features of medicinal plant materials.

Keywords: *walnut, Juglans regia, Juglans nigra, Juglans cinerea, leaves, fructus, bark, spectrophotometric analysis, thin-layer chromatography, flavonoids, standardization. of medicinal plant materials*

УДК: 615.322:543.54 DOI: 10.52101/9785870191003_2021_423

ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ЭКСТРАКТОВ *LESPEDEZA BICOLOR*

Колтыго Е. И. [a)], к. х.н. Шестопалова Н. Б., к. х.н. Фомина Ю. А.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования „Саратовский государственный медицинский университет имени В. И. Разумовского“ Министерства здравоохранения Российской Федерации (Россия, Приволжский федеральный округ, Саратовская область, г. Саратов, ул. Большая Казачья, 112), 410012

а) автор для переписки – lena.grigo2011@mail.ru

Аннотация. В работе приведены данные об исследовании лекарственного растительного сырья Леспедецы двухцветной Российского производителя. Для извлечения биологически активных соединений из сырья использовали метод мацерации с применением 15 разнополярных растворителей. Идентификацию соединений проводили методом тонкослойной хроматографии в элюирующих системах с различной полярностью: этилацетат:уксусная кислота:вода (10:2:2), хлороформ:этилацетат:уксусная кислота (4:10:5). Наибольшее количество флавоноидов извлекается полярными растворителями, в экстрактах обнаруживается до 9 зон адсорбции. В растительном сырье не идентифицированы рутин и кверцетин. Хроматографический анализ лекарственных препаратов «Леспефлан» и «Леспефрил» показал идентичность составов с экстрактами Леспедецы двухцветной 70 % этиловым спиртом, 95 % этиловым спиртом и 50 % водным раствором ацетона. ТСХ профиль может быть применен для стандартизации лекарственного сырья.

***Ключевые слова**: Леспедеца двухцветная, лекарственное растительное сырье, побеги, тонкослойная хроматография, флавоноиды.*

ВВЕДЕНИЕ

Одним из перспективных источников фитопрепаратов считаются растения, содержащие флавоноиды, которые в силу широкого распространения и большого структурного разнообразия в настоящее время находятся в центре внимания исследователей в области фармакогнозии, фармации и медицины. Одним из таких перспективных растений является Леспедеца двухцветная (*Lespedeza bicolor Turcz.*) семейства бобовые (Fabaceae), которая содержит богатый комплекс биологически активных веществ (БАВ) и ценится как в официальной, так и в народной медицине. Побеги растения являются источником флавоноидов: кверцетина, кемпферола, леспедина, изокверцитрина, ориентина, фенолкарбоновых кислот, микроэлементов [1-3].

Леспедеца двухцветная представляет собой прямостоячий кустарник высотой 1-3 м, формирующий мощную корневую систему; стебли достигают 3 см в диаметре. На слегка опушенных ветвях располагаются трехчленные листья, нижняя сторона которых ярко-зеленая и опушенная. Цветки мотыльковые, собранные в пазушные длинные метелки, пурпурного или белого цвета. Плоды представляют односемянной боб [4].

В диком виде Леспедеца двухцветная встречается в Северном Китае, Японии, Корее. На территории России Леспедеца двухцветная произрастает только в Приморье, Забайкалье и Дальнем Востоке.

На основе экстракта выпущены два лекарственных фитопрепарата: «Леспефрил» - раствор для приема внутрь (ЗАО «Вифитех») и «Леспефлан» - экстракт для внутреннего применения (ОАО «Дальхимфарм»), для комплексной терапии латентной и компенсированной стадии хронической почечной недостаточности [5]. Однако в настоящее время имеется только проект ФС Леспедецы двухцветной побеги.

Одним из показателей подлинности лекарственного сырья является проведение хроматографического анализа экстрактов, полученных из воздушно-сухого сырья, и

установление соответствия хроматографическому профилю, указанного в ГФ. Однако для Леспедецы двуцветной в проекте ФС определение подлинности методом ТСХ отсутствует. В связи с этим актуальным является установление ТСХ профиля экстрактов Леспедецы двуцветной и выбора оптимальной хроматографической системы.

Наряду с этим Леспедеца двухцветная остается мало изученным лекарственным растением и перспективным направлением является разработка новых лекарственных форм.

В связи с этим целью исследования явилось хроматографическое изучение экстрактов Леспедецы двухцветной, полученных с применением разнополярных растворителей.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы. В качестве объекта исследования применяли растительное сырье – трава Леспедецы двухцветной (ООО «Старославъ», Нижегородская обл., сбор 2019 г). Сырье измельчали (лабораторная зерновая мельница ЛЗМ (ПП «Альтаир Плюс», Россия) и просеивали через сито с диаметром отверстий 2–4 мм. Лекарственные препараты Леспефрил (ЗАО «Вифитех», рег. № ЛС – 000571, Московская обл., п. Оболенск), Леспефлан (ОАО «Дальхимфарм», рег. № 001865/01-2002, Хабаровский край, г. Хабаровск).

В работе использовали следующие химические реактивы, приобретенные ФГБОУ ВО Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского Минздрава России:

1. ***спирт этиловый 95 %*** *(ПХФК ОАО «Медхимпром», серия 240619, годен до 06.2024, Россия); Водные растворы этилового спирта (10 %, 30 %, 50 %, 70 %) готовили разбавлением 95 % раствора дистиллированной водой;*
2. ***ацетон*** *(АО «Вектон», хч, партия № 12/20, годен 11.2021, Россия; водный раствор ацетона (50%) готовили разбавлением дистиллированной водой;*
3. ***этилацетат*** *(ООО «Компонент-реактив», хч, партия № 28, годен до 09.2021, Россия);*
4. ***хлороформ*** *(ООО «Фаетон», хч, партия № 101, годен до 10.2021, Россия)*;
5. ***гексан*** *(ООО «Компонент-реактив», чда, партия № 42, годен до 08.2021, Россия)*;
6. ***диоксан*** *(ООО «Химмед синтез», хч, партия 20200317, годен до 03.2022, Россия)*;
7. ***бутанол-***1 *(АО «Вектон», хч, партия № 014, годен 11.2021, Россия)*;
8. ***уксусная кислота*** *(ООО «Завод ПКС», хч, партия № 10, годен до 08.2021, Россия)*;
9. ***рутин*** *(PhytoLab, № 89270, партия 66853802, дата выпуска 27.11.2018, ≥ 95 %, Германия*; 0,01% раствор готовили растворением 0,001 г рутина в 10 мл 95 % этилового спирта;
10. ***кверцетин*** *(USP Reference Standard № 1592409, партия R120F0, дата выпуска 11.08.2018, USP$_{TM}$, Китай)*; 0,01 % раствор готовили растворением 0,001 г кверцетина в 10 мл 95 % этилового спирта;
11. ***алюминия хлорид*** *(ООО «Авилон-КомпаниХим», хч, партия № 040919, годен до 09.2021, Россия);* 5 % раствор готовили растворением 2,5 г $AlCl_3$ в 50 мл 50 % раствора этилового спирта.

Методы. Изучение фитохимического состава различных экстрактов Леспедецы двухцветной проводили методом тонкослойной хроматографии. Экстракты из сырья (15 образцов) получали настаиванием с использованием разнополярных растворителей (соотношение «сырье:экстрагент» – 1:10, время выдерживания – 24 часа). Экстракты фильтровали через бумажный фильтр и использовали без дополнительной обработки и разбавления. Тонкослойную хроматографию экстрактов проводили в соответствии с ОФС 1.2.1.2.0003.15 «Тонкослойная хроматография» на хроматографических пластинках TLC Silica gel 60 F_{254}, 20 x 20 cm, (Merck, сер.: 1.05554.0001 (Германия)) в камере хроматографической для вертикального элюирования для пластин 20 x 20 см (ООО «Лабтех», Россия). В качестве

подвижной фазы (ПФ) использовали системы растворителей: (I) этилацетат : уксусная кислота : вода (10 : 2 : 2) и (II) хлороформ : этилацетат : уксусная кислота (4 : 10 : 5), стандартные образцы (СО) – рутин, кверцетин.

Для нанесения проб объемом 10 мкл на ТСХ пластинку использовали аппликатор механический «Sorbfil» (ООО «Машиностроитель», Россия) и микрошприц М-10Н (ООО «Цвет», Россия). Детектирование зон адсорбции проводили с помощью облучателя хроматографического УФС-254/365 (ООО «ИМИД», Россия) до и после опрыскивания 5 % раствором $AlCl_3$ в 50 % этиловом спирте и нагревания в сушильном шкафу (ШС-80-01 СПУ, Россия) в течение 1 мин при 100-105 ºС. В работе использовали весы лабораторные ВЛ-120М (НПП «Госметр», Россия). Все используемое в работе оборудование приобретено ФГБОУ ВО Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского Минздрава России.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для фитохимического анализа широко используется планарная хроматография, позволяющая разделить и идентифицировать различные соединения. Известно, что на процесс хроматографирования влияет состав подвижной фазы. Для разделения веществ фенольной природы в литературе предложены различные элюирующие системы [6]. Для анализа экстрактов нами были выбраны: (I) этилацетат : уксусная кислота : вода (10 : 2 : 2) и (II) хлороформ : этилацетат : уксусная кислота (4 : 10 : 5). Анализ хроматограмм показал, что наилучшее разделение зон адсорбции происходит при использовании наиболее полярной смеси растворителей (I). При использовании ПФ (II) зоны адсорбции сливались, что не позволило определить количество компонентов в экстракте.

Визуальный анализ полученных хроматограмм с применением системы растворителей (I) показал, что наибольшее количество зон адсорбции обнаруживается в экстрактах 70% и 95% растворами этилового спирта и 50% раствором ацетона и составляет 9 зон. Наименьшее количество экстрагируемых веществ наблюдали в диоксане – 3 зоны. В гексановом и хлороформном извлечениях зон адсорбции не было обнаружено. После опрыскивания 5% раствором $AlCl_3$ и облучении УФ светом длины волны 254 нм зоны адсорбции имели оттенки серого цвета. Наиболее полную информацию о компонентном составе можно было получить при просмотре хроматограмм в УФ свете при облучении длиной волны 365 нм, при котором изменялся цвет зон адсорбции.

Так в извлечении 70% этиловом спирте коэффициенты подвижности и цвет зон адсорбции соответствовали: Rf 0,1 – голубой, Rf 0,2 – желтый, Rf 0,22 – желтый, Rf 0,3 – голубой, Rf 0,4 – желтый, Rf 0,7 – желто-зеленый , Rf 0,75 – желто-зеленый, Rf 0,8 – голубой, Rf 0,91 – желтый. В извлечения 95% этиловым спиртом и 50% водным раствором ацетона цвет и расположение зон адсорбции были такими же. Наличие желтого цвета зон адсорбции обусловлено взаимодействием флавоноидов с $AlCl_3$. Сравнение зон адсорбции компонентов экстрактов с зонами адсорбции СО рутина и кверцетина с достаточной степенью достоверности указывает на отсутствии в извлечениях рутина и кверцетина, что подтверждалось при смене ПФ.

При увеличении полярности растворителей-экстрагентов в извлечениях наблюдается тенденция к уменьшению количества извлекаемых компонентов гидрофильной природы. На хроматограмме диоксанового извлечения наблюдали зоны адсорбции с коэффициентом подвижности и цветом соответственно: Rf 0,22 – желтый, Rf 0,35 – желтый, Rf 0,4 – желто-зеленый.

Зоны адсорбции лекарственных препаратов «Леспефлана» и «Леспефрила» по цвету и величине Rf были идентичны между собой и экстрактам 70% этиловым спиртом, 95% этиловым спиртом и 50% водным раствором ацетона.

ВЫВОДЫ

В ходе хроматографического исследования экстрактов, полученных с помощью разнополярных растворителей, было подтверждено наличие флавоноидов в Леспедеце двухцветной. Установлено, что наибольшее количество компонентов извлекается 70 % и 95 % растворами этилового спирта и 50 % раствором ацетона.

Наибольшую эффективность для разделения соединений на хроматограммах имеет система растворителей: этилацетат : уксусная кислота : вода (10 : 2 : 2), которая может быть рекомендована для стандартизации лекарственного сырья.

Полученные данные представляют практический интерес для дальнейшего изучения Леспедецы двухцветной, как источника биологически активных соединений и создания на ее основе новых лекарственных форм.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Куркина А. В. Флавоноиды фармакопейных растений: монография. Самара, 2012. 290 с.
2. Куркин В. А. Фармакогнозия: учебник для студентов фармацевтических вузов (факультетов). Самара, 2016. 1279 с.
3. Большой энциклопедический словарь лекарственных растений: учебное пособие под ред. Г. П. Яковлева. – Санкт-Петербург :СпецЛит. 2015. – 759 с.
4. Сампиев, А. М. Исследование химического состава Леспедецы двухцветной, произрастающей в Краснодарском крае / М. Р. Хочаева, Т. Е. Онбыш, А. А. Парфенюк // Вестник ВГУ, серия: химия, биология, фармация. – 2020. - № 3. - С. 119-126.
5. Государственный реестр лекарственных средств, https://grls.rosminzdrav.ru/Default.aspx , (дата обращения 6.04.2021 г.)
6. Мальцева, А. А. Тонкослойная хроматография в анализе флавоноидов растительных объектов / О. В. Тринеева, А. С. Чистякова, Т. А. Брежнева, А. И. Сливкин, А. А. Сорокина // Фармация. - 2013. - № 1, С. 13-16.

CHROMATOGRAPHIC STUDY OF EXTRACTS LESPEDEZA BICOLOR

Koltygo E. I. [a)], Ph. D. Shestopalova N. B., Ph. D. Fomina Yu. A.
Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education " Saratov State Medical University named after V. I. Razumovsky“ Ministry of Health of the Russian Federation (Russia, Volga Federal District, Saratov region, Saratov, Bolshaya Kazachya str., 112, 410012
a) corresponding author – lena.grigo2011@mail.ru

Abstract. The paper provides data on the study of medicinal plant materials Lespedetsa two-color Russian manufacturer. To extract biologically active compounds from raw materials, the maceration method was used with the use of 15 different polarity solvents. Compounds were identified by thin layer chromatography in elution systems with different polarities: ethyl acetate: acetic acid: water (10: 2: 2), chloroform: ethyl acetate: acetic acid (4: 10: 5). The largest amount of flavonoids is extracted by polar solvents; up to 9 adsorption zones are found in extracts. Rutin and quercetin have not been identified in plant materials. Chromatographic analysis of the drugs "Lespeflan" and "Lespefril" showed the identity of the compositions with extracts of Lespedetsa two-color 70 % ethyl alcohol, 95 % ethyl alcohol and 50 % aqueous solution of acetone. The TLC profile can be used to standardize medicinal raw materials.

Keywords: *Lespedeza bicolor, medicinal plant material, shoots, thin layer chromatography, flavonoids.*

УДК 543.544:547.9:582.929.4 DOI: 10.52101/9785870191003_2021_427

ХРОМАТОГРАФИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ SALVIAAETHIOPISL.

Крымова А. А., Голубева Д. В.[a)]

Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал Федерального государственного бюджетного учреждения высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Пятигорск, пр. Калинина 11, 357532

а) автор для переписки – dashagolubeva72.00@mail.ru

Аннотация.Род Salvia L. – один из крупнейших в семействе яснотковых. Для многих видов шалфея имеются данные по химическому составу и по фармакологической активности, однако по шалфею эфиопскому (*Salviaaethiopis* L.) данных очень мало. Растение известно как один из компонентов сбора по прописи М.Н. Здренко, применяемого ранее в качестве противоопухолевого симптоматического средства. Цель работы заключалась в хроматографической характеристике биологически активных веществ *Salviaaethiopis*L. Разделение веществ в извлечениях из травы шалфея эфиопского осуществляли с помощью метода тонкослойной хроматографии в 7 системах растворителей. В спиртовом извлечении из травы шалфея эфиопского установлено наличие флавоноидов (рутин, кверцетин, гиперозид, лютеолин, лютеолин-7-гликозид) и фенолкарбоновых кислот (хлорогеновая, галловая). В извлечении из сырья, полученном при экстракции n-гексаном, установлено наличие терпеноидов, идентифицированы цинеол, борнеол и α-пинен.

Ключевые слова:*Salviaaethiopis, Lamiaceae, тонкослойная хроматография, флавоноиды, фенолкарбоновые кислоты, терпеноиды.*

ВВЕДЕНИЕ

Известно, что род Salvia L. – один из крупнейших в семействе яснотковых(Lamiaceae).Он объединяет более 900 видов, которые применяются во многих странах мира в различных направлениях: как лекарственные, медоносные, источники эфирного масла, пищевые, инсектицидные, кормовые [1, 2].

Для многих видов шалфея имеются данные, как по химическому составу,так и по видам фармакологической активности, однако это нельзя отнести к *Salvia aethiopis* L. [1].

В четвертом томе сводки «Растительные ресурсы России» (2011г.) достаточно подробно представлен состав эфирного масла шалфея эфиопского, а сведения о других группах биологически активных веществ (БАВ) описаны кратко [3]. Это же относится и к другим литературным источникам [4].

В работах зарубежных ученых имеются сведения, что многие виды фармакологической активности Salvia связаны с полифенольными и терпеноидными соединениями [5]. Они привлекают внимание исследователей, как антиоксиданты, потенциальные средства лечения нейрогенеративных заболеваний; флавоноиды – многообещающие противоопухолевые соединения [6, 7].

Гидроксикоричные кислоты являются индикаторными и действующими веществами многих видов лекарственного растительного сырья (ЛРС) [8].

В литературе для представителей рода Salvia приведены сведения о таких видах фармакологической активности, как противомикробная, противовирусная, противовоспалительная, иммуномодулирующая, гепатопротекторная [9, 10, 11].

Шалфей эфиопский – *Salvia aethiopis* L.– многолетнее травянистое растение высотой до 1 м с густым шерстисто- или паутинисто-войлочным опушением. Почти все листья в прикорневой розетке, короткочерешковые, яйцевидные или эллиптические. Цветки крупные с белым двугубым венчиком, иногда имеют розово-сиреневый оттенок. Произрастает на юге

России, в степях, по сухим склонам гор, на меловых и известковых обнажениях, иногда как сорняк [12].

Растение известно как один из компонентов сбора по прописи М. Н. Здренко, применяемого ранее в качестве противоопухолевого симптоматического средства. Однако в настоящее время этот сбор не выпускается. Помимо сбора М.Н. Здренко из сырья получали настойку для уменьшения ночного потоотделения у больных туберкулезом [13]. Поэтому исследование шалфея эфиопского – актуальная проблема для обоснования его использования в медицине как самостоятельного растения и получения перспективной фармацевтической субстанции растительного происхождения.

Одним из этапов фармакогностического изучения растительного сырья являются качественные реакции и хроматографическое определение основных групп БАВ, которые играют важную роль при решении вопросов стандартизации [14].

Цель данной работы заключалась в хроматографической характеристике биологически активных веществ *Salvia aethiopis* L.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы. Образцы травы шалфея эфиопского для исследования заготавливали на территории Ставропольского края (Андроповский район) и Кабардино-Балкарской Республики (Зольский район). Сырье представляет собой надземную часть шалфея эфиопского, собранную в фазу цветения, начала плодоношения (август 2020 г.). Высушивали сырье воздушно-теневым способом, под навесом, защищенным от попадания прямых солнечных лучей. Упаковку и хранение сырья осуществляли в хорошо проветриваемом, сухом помещении при комнатной температуре. Соблюдались условия для отсутствия вредителей запасов сырья.

Для идентификации БАВ шалфея эфиопского использовали стандартные образцы: лютеолин (Sigma-Aldrich 491-70-3, годен до 01.2022 г.), лютеолин-7-гликозид (Sigma-Aldrich 5373-11-5, годен до 01.2022 г.), кверцетин (Sigma-Aldrich 117-39-5, годен до 01.2022 г.), рутин (Sigma-Aldrich 153-18-4, годен до 01.2022 г.), гиперозид (Sigma-Aldrich 482-36-0, годен до 01.2022 г.), хлорогеновая кислота (Sigma-Aldrich 327-97-9, годен до 12.2021 г.), галловая кислота (Sigma-Aldrich 149-91-7, годен до 12.2021 г.).

В качестве стандартов при определении компонентов эфирного масла применяли 1,8-цинеол (Sigma-Aldrich 470-82-6, годен до 10.2022 г.), борнеол (Sigma-Aldrich 464-45-9 годен до 08.2022 г.) и α-пинен (Sigma-Aldrich 80-56-8 годен до 10.2022 г.). Реактивы, используемые в работе, соответствовали требованиям ОФС.1.3.0001.15 «Реактивы. Индикаторы» [15].

Методы. Разделение веществ в извлечениях из травы шалфея эфиопского осуществляли с помощью метода тонкослойной хроматографии (ТСХ) на пластинках «Сорбфил ПТСХ-АФ-А-УФ» в следующих системах растворителей:

- Система №1: этилацетат – муравьиная кислота – вода (70:15:15);
- Система №2: этилацетат – муравьиная кислота – вода (10:2:3);
- Система №3: хлороформ – спирт метиловый (8:2);
- Система №4: хлороформ – спирт этиловый – вода (14:6:2);
- Система №5: этилацетат – муравьиная кислота – метанол (50:2,5:4);
- Система №6: бензол – этилацетат (7:5);
- Система №7: толуол – этилацетат (93:7).

При проведении статистической обработки результатов руководствовались ОФС.1.1.0013.15 «Статистическая обработка результатов химического эксперимента» [15].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Первый этап работы предусматривал получение извлечений из надземной части шалфея эфиопского для проведения хроматографического исследования.

Для определения фенольных соединений (флавоноидов, гидроксикоричных кислот, кумаринов) 0,5 г сырья измельченного просеивали через лабораторное сито с размером отверстий 2 мм, помещали в колбу со шлифом, прибавляли 20 мл спирта этилового 70%, присоединяли к обратному холодильнику и нагревали на кипящей водяной бане 30 минут. После охлаждения до комнатной температуры, содержимое колбы фильтровали через бумажный фильтр (извлечение 1). Для обнаружения терпеноидов в исследуемом сырье получали извлечение с помощью n-гексана квалификации «х.ч.» методом мацерации в течение 24 часов настаивания при соотношении сырье: экстракт 1:10 и температуре (24 ±1) ºС в колбе со шлифом в темном месте (извлечение 2).

В ходе анализа полученных извлечений методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) для конкретной группы БАВ экспериментально подбирали оптимальные хроматографические системы и способы детектирования зон адсорбции на хроматограммах, позволяющих идентифицировать фенольные соединения и терпеноиды.

Предварительный ТСХ анализ спиртового извлечения из шалфея эфиопского показал наличие значительного количества зон адсорбции фенольных соединений, что затрудняло их идентификацию. Поэтому далее мы получили фракции фенольных соединений при последовательной обработке спиртового извлечения этилацетатом и n-бутанолом.

Алгоритм указанного фрагмента работы включал взятие навески массой 5,0 г, экстракцию спиртом этиловым 70 % при нагревании в колбе с обратным холодильником на кипящей водяной бане в течение 30 мин, упаривание спиртового извлечения, обработку водного остатка гексаном для удаления липофильных веществ и получения очищенной водной фракции фенольных соединений, которую затем последовательно обрабатывали этилацетатом и n-бутанолом. Полученные фракции использовали для идентификации БАВ методом ТСХ в различных системах растворителей (системы №1–5).

Детектирование зон адсорбции фенольных соединений проводили по собственной флюоресценции веществ в УФ-свете (254 и 365 нм) и с помощью проявителей: пары аммиака, 5% спиртовой раствор алюминия хлорида (III).

Вещества идентифицировали по совпадению значений Rf и характеру интенсивности окраски зон адсорбции со стандартными образцами.

Результаты хроматографического разделения фенольных соединений этилацетатной и n-бутанольной фракций шалфея эфиопского в системе №1 представлены в таблицах 1 и 2.

Таблица 1 – Результаты хроматографического разделения этилацетатной фракции шалфея эфиопского

Вещество	Окраска зон адсорбции в УФ-свете			Значение Rf
	До проявления	Пары аммиака	5% $AlCl_3$	
Гиперозид	–	Темно-желтая	Желтая	0,38±0,02
Лютеолин	Темно-коричневая	Коричневая	Желтая	0,54±0,04
Кверцетин	Желтая	Темно-желтая	Желтая	0,85±0,02
Галловая кислота	Темно-серая	Серая	Фиолетовая	0,90±0,03
Хлорогеновая кислота	Голубая	Ярко-голубая	Зеленовато-голубая	0,93±0,02

Таблица 2 – Результаты хроматографического разделения n-бутанольной фракции шалфея эфиопского

Вещество	Окраска зон адсорбции в УФ-свете			Значение Rf
	До проявления	Пары аммиака	5% $AlCl_3$	
Гиперозид	–	Темно-желтая	Желтая	0,40±0,03
Рутин	Темно-коричневая	Желто-коричневая	Желтая	0,55±0,03
Кверцетин	Желтая	Темно-желтая	Желтая	0,65±0,02
Лютеолин-7-гликозид	Желтая	Ярко-желтая	Желтая	0,85±0,01
Галловая кислота	Серая	Темно-серая	Фиолетовая	0,90±0,02

При хроматографировании извлечения 2, из шалфея эфиопского в системе №6 видны 7 зон адсорбции разного цвета со следующими значениями Rf±0,05: 0,48 (коричневая);0,53 (фиолетовая); 0,59 (оранжевая); 0,63 (розовая); 0,74 (коричневая); 0,82 (светло-зеленая);0,89 (красная).

В системе №7 без предварительного насыщения (рекомендация ГФ XIV изд. ФС.2.5.0051.15 «Шалфея лекарственного листья») видны 8 зон адсорбции красного, розового, коричневого, оранжевого, коричневого с серым оттенком, фиолетового цвета.

Значения Rf 0,71±0,05 соответствовали цинеолу; Rf 0,21±0,04 – борнеолу и Rf 0,18±0,05 – α-пинену.

Проявитель – 1% раствор парадиметиламинобензальдегида в концентрированной серной кислоте или раствор анисового альдегида.

Пластинки обрабатывали реактивами, выдерживали в сушильном шкафу при 105 ºС в течение 3 мин., затем просматривали при дневном свете.

Цинеол имел темно синюю окраску, пинен и борнеол – фиолетовую.

ВЫВОДЫ

Таким образом, на основании выполненных экспериментальных исследований методом ТСХ с использованием стандартных образцов сравнения в спиртовом извлечении из травы шалфея эфиопского установлено наличие флавоноидов (рутин, кверцетин, гиперозид, лютеолин, лютеолин-7-гликозид) и фенолкарбоновых кислот (хлорогеновая, галловая).

В извлечении из сырья, полученном при экстракции n-гексаном, установлено наличие терпеноидов. Методом ТСХ с использованием стандартных образцов идентифицированы, цинеол, борнеол и α-пинен.

Использовано 7 хроматографических систем, выбраны оптимальные, предложены условия детектирования фенольных соединений и компонентов эфирного масла.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Кароматов, Н.Д. Шалфей в древневосточной и народной медицине /Н.Д.Кароматов, С.Х. Рахимова // Биология и интегративная медицина. – 2018.– №5. – С. 146-152.
2. Попов, И.В. Современное состояние проблемы использования лекарственного растительного сырья в Северо-Кавказском федеральном округе /И.В.Попов, О.И. Попова // Научно-практическая конференция, посвященная 65-летию факультета промышленной технологии лекарств, материалы научно практической конференции. – 2010. – С. 148-150.
3. Растительные ресурсы России: Дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность./Отв. ред. А.Л. Буданцев–СПБ.; М.: Товарищество научных изданий КМК, – 2011. – Т.4. Семейство Caprifoliaceae –Lobeliaceae. – 629 с.
4. Млечко, Е.А. Исследование антибактериальных свойств эфирного масла шалфея эфиопского (Salvia aethiopis L.) / Е.А.Млечко // Apriori. Серия: Естественныеитехническиенауки. – 2014. – №6. – С. 27.
5. Askari,S.F. IranianSalviaspecies: A phytochemical and pharmacological update /S.F.Askari, R. Avan, Z. Tayarani-Najaran, A. Sahebkare, S. Eghbali // Phytochemistry. – 2021. – Vol. 183.– P. 112619. DOI: 10.1016/j.phytochem.2020.112619
6. Зверев, Я.Ф. Флавоноиды как перспективные природные антиоксиданты /Я.Ф. Зверев, В.М. Брюханов // Бюллетень медицинской науки. – 2017. – № 1 (5). – С. 20-27.
7. Попов, И.В. Маркетинговые и экологические исследования – важные направления в развитии отечественного производства фитопрепаратов /И.В. Попов, О.И. Попова // Известия Самарского научного центра Российской академии наук.– 2010. – Т. 12. – № 1-8. – С. 2091-2093.
8. Леонова, В.Н. Количественное определение суммы фенольных соединений в плодах *Rhus typhina* (L.) /В.Н. Леонова, И.В. Попов, О.И. Попова, В.П. Зайцев // Химия растительного сырья. – 2019. – №1. – С. 225-232.DOI: 10.14258/jcprm.2019014038

9. Kaur,V. Pharmacotherapeuticpotentialofphytochemicals: Implicationsincancerchemopreventionandfutureperspectives / V. Kaur, M. Kumar, A. Kumar, K. Kaur, V.S. Dhillon, S. Kaur // Biomedicine&Pharmacotherapy. – 2018. – Vol. 97. – P. 564-586. DOI:10.1016/j.biopha.2017.10.124
10. Леонова, Г. Н. Ингибирующая активность флавоноидов байкальского шлемника в отношении вируса клещевого энцефалита /Г.Н. Леонова, А.Л. Шутикова, В.А. Лубова, О.С. Майстровская // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2019. – Т. 168. – № 11. – С. 611-614.
11. Попов, И.В. Применение логистического анализа в исследовании организации заготовки дикорастущих видов лекарственного растительного сырья /И.В. Попов // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сборник научных трудов.– Пятигорск, 2011. – С. 815-816.
12. Литвинская, С.А. Флора Северного Кавказа / С.А. Литвинская, Р.А Муртазалиев. – 2013. Изд-во: Фитон+. – 688с.
13. Ларина, В. Н. Острые респираторные вирусные инфекции и грипп: этиология, диагностика и алгоритм лечения /В.Н. Ларина, М.Н. Захарова, В.Ф. Беневская, М.Г. Головко, С.С. Соколов // Русский медицинский журнал. – 2019. – № 9 (1). – С. 18-23.
14. Тохсырова, З.М. Исследование фенольных соединений листьев и побегов розмарина лекарственного (*Rosmarinus officinalis* L.), интродуцированного в ботаническом саду Пятигорского медико-фармацевтического института /З.М.Тохсырова, И.В.Попов О.И. Попова // Химия растительного сырья. – 2018. – № 3. – С. 199-207.DOI: 10.14258/jcprm.2018033733
15. URL: http://femb.ru/femb/pharmacopea.php (дата обращения 22.04.2021)

CHROMATOGRAPHIC CHARACTERISTICS OF BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES OF *SALVIA AETHIOPIS* L.

Krymova A. A., Golubyeva D. V.[a)]

Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – the branch of Volgograd State Medicinal University, Pyatigorsk, Kalinin ave. 11, 357532

a) corresponding author – dashagolubeva72.00@mail.ru

Abstract. Genus Salvia L. – one of the largest in the family Lamiaceae. For many types of sage, there are data on the chemical composition and pharmacological activity, but for the Ethiopian sage (Salvia aethiopis L.), there is very little data. The plant is known as one of the components of the collection according to the prescription of M. N. Zdrenko, previously used as an antitumor symptomatic agent. The aim of the work was to chromatographic characterization of biologically active substances of Salvia aethiopis L. The separation of substances in extracts from the Ethiopian sage herb was carried out using the method of thin-layer chromatography in 7 solvent systems. In the alcohol extraction from the Ethiopian sage herb was found the presence of flavonoids (rutin, quercetin, hyperoside, luteolin, luteolin-7-glycoside) and phenol-carboxylic acids (chlorogenic, gallic). In the extraction from the raw material obtained by extraction with n-hexane was established the presence of terpenoids, identified cineol, borneol and α-pinene.

Keywords: *Salvia aethiopis, Lamiaceae, thin-layer chromatography, flavonoids, phenol-carboxylic acids, terpenoids.*

УДК: 615.454.1 DOI: 10.52101/9785870191003_2021_432

РАЗРАБОТКА СТОМАТОЛОГИЧЕСКОГО ГЕЛЯ НА ОСНОВЕ ЦИТРАТА РАЗВЕТВЛЕННОГО ОЛИГОГЕКСАМЕТИЛЕНГУАНИДИНА

Курносова П. И.[1], Айдакова А. В.[1, 2, a)], к.фарм.н. Шаталов Д. О.[1,2]

1 - Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "МИРЭА - Российский технологический университет", Российская Федерация, Москва, проспект Вернадского, дом 78, 119454

2 - АО «Институт фармацевтических технологий», Российская Федерация, Москва, Сколковское ш., д. 21, 121353

а) автор для переписки – ann.reznikova2012@ya.ru

Аннотация. В статье освещается актуальность проблемы воспалительных заболеваний полости рта, широко распространенных в разных возрастных группах во всем мире, обоснована необходимость поиска и разработки нового высокоэффективного средства с противомикробным действием. Приведены причины возникновения указанных заболеваний, связанные с образованием микробных биопленок. Представлена информация о существующих лекарственных формах и отмечено, что для лечения данной патологии оптимально использование лекарственных средств в форме геля. Описаны положительные свойства полигуанидинов – малотоксичных полимерных производных азотистого основания гуанидина, которые обладают уникальными физико-химическими и биоцидными свойствами. В качестве активного вещества при производстве препаратов с высокой антимикробной активностью для лечения заболеваний полости рта предложено использование цитрата олигогексаметиленгуанидина, имеющего преимущества среди других солей ОГМГ.

Ключевые слова: *цитрат разветвлённого олигогексаметиленгуанидина, стоматологический гель, микробная резистентность, заболевания полости рта.*

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время проблема лечения воспалительных заболеваний полости рта остается актуальной во всем мире. По данным ВОЗ, основанным по статистике 53 стран мира, заболеваемость гингивитом и пародонтитом достигает 80–100 % в различных возрастных группах [1]. Эпидемиологические данные свидетельствуют о высокой актуальности проблемы заболеваний пародонта во всем мире. В связи с чем цель данного исследования состоит в аналитическом обзоре и обобщении литературы по данной тематике, а также в поиске возможности использования нового средства для решения указанной проблемы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Рассмотрена и проанализирована научная литература за последние 10 лет из различных баз данных (Scopus, РИНЦ, PubMed и т.д.).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Причиной развития воспалительных заболеваний полости рта является взаимодействие микробного содержимого и локального тканевого ответа. Входя в состав биопленок, бактерии обретают новые свойства за счет обмена генной информацией между колониями, в частности приобретают большую вирулентность и резистентность к антибактериальным воздействиям. Поэтому местные антисептики должны быть не только эффективны к присутствующим микроорганизмам, но и проникать через биопленку, чтобы иметь непосредственный контакт с находящимися внутри бактериями [2].

В стоматологической практике широко распространены антибактериальные препараты местного действия в различных лекарственных формах (ЛФ). Среди них мягких ЛФ: гели, мази, кремы, пасты, жевательные капсулы, медицинские пластыри.

Одной из наиболее перспективных лекарственных форм является гель. Благодаря полимерной основе он обеспечивает длительное пролонгированное высвобождение ЛС. Гели обеспечивают локальное и равномерное высвобождение активного вещества, создавая необходимую терапевтическую концентрацию в месте приложения. Они легко наносятся на поверхность слизистой оболочки полости рта и хорошо удерживаются на ней [3].

Несмотря на существование множества препаратов с высокой антимикробной активностью, заболевания полости рта до сих пор остаются широко распространенными, поэтому необходима разработка новых, более эффективных средств.

В последнее время одними из наиболее перспективных веществ, отвечающим данным требованиям, являются полигуанидины - синтетические высокомолекулярные производные специфического азотистого основания гуанидина. Полигуанидины значительно эффективнее четвертичных аммониевых соединений, производных фенола и хлорактивных дезинфицирующих препаратов. Они стабильны, неагрессивны, характеризуются высокой антибактериальной и антивирусной активностью, низкой токсичностью и могут проявлять продолжительное биоцидное действие, вызывающее деструкцию биоплёнок, формируемых патогенной микрофлорой. Также в качестве достоинств можно выделить пролонгированность биоцидного действия и стабильность водных растворов [4].

Особый интерес вызывают соли разветвлённого олигогексаметиленгуанидина (ОГМГ), в частности – цитраты - соли лимонной кислоты, которая является одним из основных консервантов и антиоксидантов. Цитраты наименее токсичны среди других солей ОГМГ, обладают широким спектром антимикробного действия, высокой биодоступностью и способностью образовывать пленки. Высокая эффективность и пролонгированное действие дает возможность использования их в качестве фармацевтической субстанции в производстве стоматологического геля для лечения заболеваний полости рта.

Полученные данные позволяют выявить проблему антибиотикорезистентности в стоматологии и обосновать актуальность поиска новых эффективных веществ и создание лекарственных препаратов на их основе. Предложенный в качестве кандидата цитрат разветвленного ОГМГ может быть использован в качестве активного вещества в стоматологических лекарственных препаратах, а именно в гелях.

ВЫВОДЫ

Разработка стоматологического геля на основе цитрата ОГМГ является перспективным направлением, выгодным для дальнейшего вывода продукта на рынок в качестве высокоэффективного лекарственного средства для лечения заболеваний полости рта.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Большедворская, Н. Е. Этиопатогенетические особенности воспалительных заболеваний пародонта / Н. Е. Большедворская, Е. М. Казанкова // Безопасность здоровья человека. – 2017. – № 3. – С. 26–36.
2. Хабадзе, З. С. Заболевание пародонта – местная антисептическая терапия: проблема эффективности. Обзор литературы / З. С. Хабадзе, Ю. А. Генералова, В. С. Шубаева, С. М. Абдулкеримова, Ю. А. Бакаев, О. С. Морданов // Медицинский алфавит. – 2021. – № 2. – С. 24–37.
3. Лосенкова, С.О. Ассортимент лекарственных форм, применяемых в стоматологической практике / С.О. Лосенкова, В.Г. Морозов, П.В. Лосенков, А.В. Евсеев, Ю.В. Гладкая // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. – 2019. – 4. – С. 229–237.
4. Гембицкий, П.А. Способ получения дезинфицирующего средства / П.А. Гембицкий, А.Г. Снежко, Л.С. Кузнецова, В.Т. Пантюшенко, И.В. Пустовалов, В.П. Колбасов, Д.А. Топчиев, З.С. Борисова // Пат. 2122866 РФ; заявл. 13.04.1998; опубл. 10.12.1998. https://www1.fips.ru/registers-doc-view/fips_servlet

DEVELOPMENT OF A DENTAL GEL BASED ON BRANCHED CITRATE OLIGOHEXAMETHYLENGUANIDINE

Kurnosova P. I.[1], Aydakova A. V.[1,2,a)], Cand. Sc. Pharm. Shatalov D. O.[1,2]
1 - Federal State Budget Educational Institution of Higher Education "MIREA-Russian Technological University", Russian Federation, Moscow, prospekt Vernadskogo 78, 1194542
2 - AO "Institute of Pharmaceutical Technologies», Russian Federation, Moscow, Skolkovskoe sh. 21, 121353
a) corresponding author – ann.reznikova2012@ya.ru

Abstract. The article demonstrates the relevance of the problem of inflammatory diseases of the oral cavity, which are widespread in different age groups around the world, the necessity of searching for and developing a new highly effective antimicrobial agent is justified. The causes of these diseases associated with the formation of microbial biofilms are given. Information is provided on the existing dosage forms and it is noted that the use of medicines in the form of a gel is optimal for the treatment of this pathology. The positive properties of polyguanidines – low-toxic polymer derivatives of the nitrogenous base of guanidine, which have unique physicochemical and biocidal properties, are described. As an active substance in the production of drugs with high antimicrobial activity for the treatment of oral diseases, the use of oligohexamethylenguanidine citrate, which has advantages among other salts of OHMG, is proposed.
Keywords: *branched oligohexamethylenguanidine citrate, dental gel, microbial resistance, oral diseases.*

УДК: 615.1 DOI: 10.52101/9785870191003_2021_435

АНАЛИЗ ОТЕЧЕСТВЕННОГО ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО РЫНКА ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ТЕРАПИИ ВУЛЬВИТОВ

Молдаванова А. Ю.[a)], доцент Фадеева Д. А., доцент Малютина А. Ю.

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (Россия, г. Белгород, ул. Победы, 85, 308015)

а) автор для переписки – moldavanova@bsu.edu.ru

Аннотация. Репродуктивное здоровье женского населения России все чаще страдает от гинекологических заболеваний. Воспалительные заболевания органов малого таза являются доминирующими в этой области. Среди заболеваний данной группы выделяется вульвит и вульвовагинит. Патологии опасны своими осложнениями, которые могут привести к таким непоправимым последствиям как бесплодие. Анализ ассортимента российского фармацевтического рынка лекарственных препаратов для терапии вульвитов показал, что наиболее часто используются антибактериальные препараты и антисептики, 33 % и 17 % соответственно. Анализ лекарственных форм выявил, что мягкие лекарственные формы занимают первое место и составляют 47 % от общего числа лекарственных препаратов. Лидерами в данной группе являются суппозитории с долей рынка 87 %, в том числе вагинальных – 62 %. Среди твердых лекарственных форм, которые составляют 33 % от общего количества лекарственных препаратов, наибольшую долю занимают таблетки для внутреннего применения и таблетки вагинальные, в сумме составляющие 48 %. Жидкие лекарственные формы составляют 16 %, внутри группы лидерами являются растворы для внутреннего, наружного и местного применения – 74 %. Лекарственное растительное сырье для терапии вульвитов и вульвовагинитов представлено сборами, составляющие 4% от общей доли рынка лекарственных препаратов.

Ключевые слова: *анализ рынка, ВЗОМТ, вульвит, репродуктивное здоровье, лекарственные формы*

ВВЕДЕНИЕ

Воспалительные заболевания органов малого таза (ВЗОМТ) относятся к числу наиболее распространенных в современном мире. К ним относятся вульвиты, вульвовагиниты, сальпингиты, параметриты, оофориты и другие [1]. Наиболее часто ВЗОМТ развивается как восходящая инфекция из шейки матки или влагалища. Поэтому первой ступенью в развитии заболевания становится вульвит. Вульвит – это воспаление наружных половых органов, слизистой оболочки малых половых губ, преддверия влагалища. Если процесс распространяется на слизистую влагалища, то заболевание переходит в вульвовагинит - воспаление вульвы и слизистой оболочки влагалища [2]. Вследствие того, что инфекция при вульвитах и вульвовагинитах является восходящей, то это может приводить к таким тяжелым последствиям как бесплодие и эктопическая (внематочная) беременность, так как воспаление маточных труб приводит к возникновению спаечного процесса и соответственно их непроходимости, что в будущем затрудняет возможность женщины стать матерью. Анализ ассортимента отечественного рынка лекарственных препаратов для терапии вульвитов поможет выяснить, какие лекарственные препараты и в каких лекарственных формах используются для лечения данного заболевания.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы

Объектами исследования явились официальные источники информации о зарегистрированных и разрешенных к медицинскому применению ЛС в РФ: Государственный

реестр лекарственных средств, Реестр лекарственных средств России, Справочник лекарственных средств Видаль [3,4,5].

Методы

Контен-анализ анализ, группировки, ранжирования, структурный анализ, сравнения.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ был проведен по фармакологическим группам лекарственных средств, действующим веществам и лекарственным формам. Ранее, нами уже были проведены исследования рынка лекарственных препаратов по фармакологическим группам и действующим веществам, используемых в терапии вульвитов. Выяснено, что среди различных групп лекарственных средств лидирующую позицию занимают антибиотики – 33 %, далее, следует за ними группа антисептиков – 17 %. Исходя из анализа групп антибиотиков, используемых для лечения вульвитов, выяснено, что наиболее часто используются антибиотики синтетического происхождения, что составило 51 %, а именно метронидазол с долей на рынке 52 %. Среди группы антисептиков, применяемых для лечения данной патологии, наиболее часто встречаются лекарственные препараты, содержащие повидон-йод, что составило 31 % [6].

В ходе данного исследования был проведен детальный анализ ассортимента лекарственных средств по виду лекарственных форм (ЛФ), представленный на Рисунке 1.

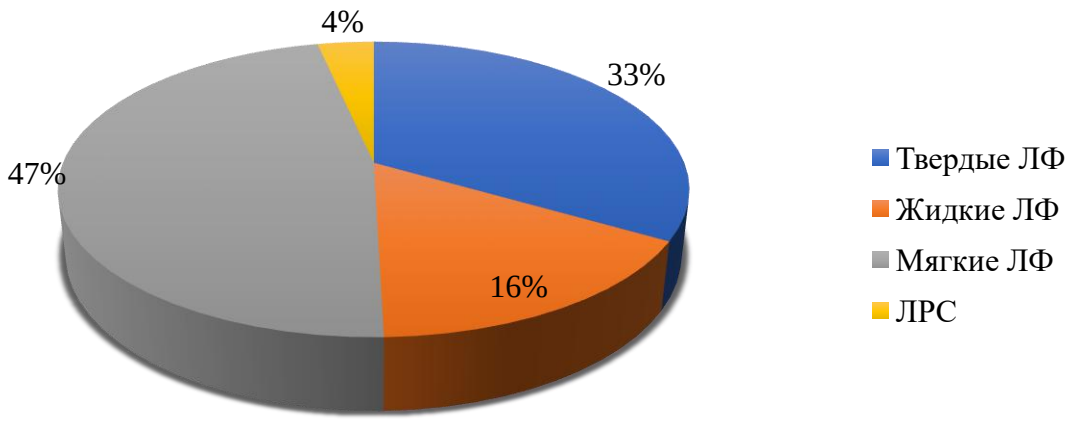


Рисунок 1 – Анализ лекарственных препаратов для лечения вульвитов по группам ЛФ

Установлено, что наибольшую долю рынка занимают мягкие ЛФ - 46,98 %. К ним относятся суппозитории, линименты, гели и кремы. Анализ мягких лекарственных форм представлен на Рисунке 2.

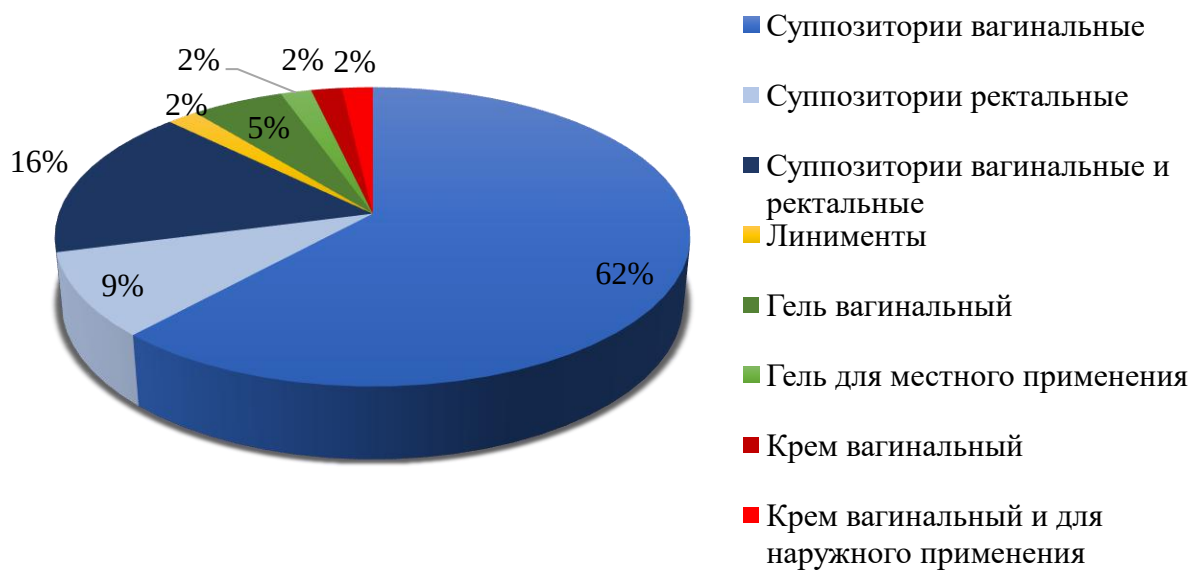


Рисунок 2 – Анализ мягких ЛФ, применяемых для лечения вульвитов

Суппозитории являются наиболее часто используемой ЛФ для лечения вульвитов – 87 %. Среди суппозиториев используются вагинальные, ректальные и применяемые ректально и вагинально. В данном случае именно вагинальные суппозитории являются лидерами в этой области и занимают 62 % общего количества препаратов. За ними следуют суппозитории, используемые и вагинально и ректально – 16 %. Такие ЛФ как гели и кремы незначительно отличаются по количеству и составляют 7 % и 4 % соответственно.

Также, стоит отметить что твердые ЛФ занимают следующую позицию после мягких – 33 %. Детальный анализ данной группы представлен на Рисунке 3.

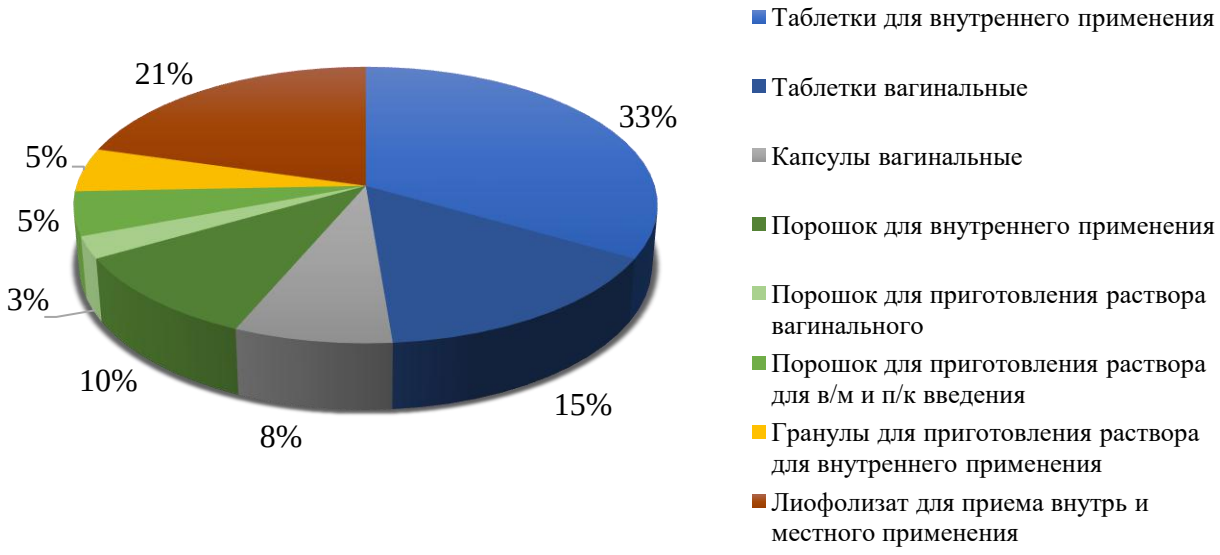


Рисунок 3 – Анализ твердых ЛФ, применяемых для лечения вульвитов

Лидирующими в данной группе ЛФ являются таблетки и составляют 48% от всех твердых ЛФ. Для лечения вульвитов используются таблетки для внутреннего применения и вагинальные, что составляет 33 % и 15 % соответственно. Также к твердым ЛФ относятся лиофилизаты для приготовления растворов для приема внутрь и местного применения и занимают 21 % от общего количества твердых ЛФ. Значительную долю занимают порошки, в

сумме 18 %, среди которых: порошки для внутреннего применения составляют 10 %, порошки для приготовления растворов для внутреннего и вагинального применения 3 %, а порошки для приготовления растворов для внутримышечного и подкожного введения 5 %. Капсулы вагинальные составляют 8 %, а гранулы для приготовления растворов для внутреннего применения 5 %.

Жидкие ЛФ составляют 16 % от общего количества ЛФ, применяемы для лечения вульвитов. Анализ данной группы ЛФ представлен на Рисунке 4.

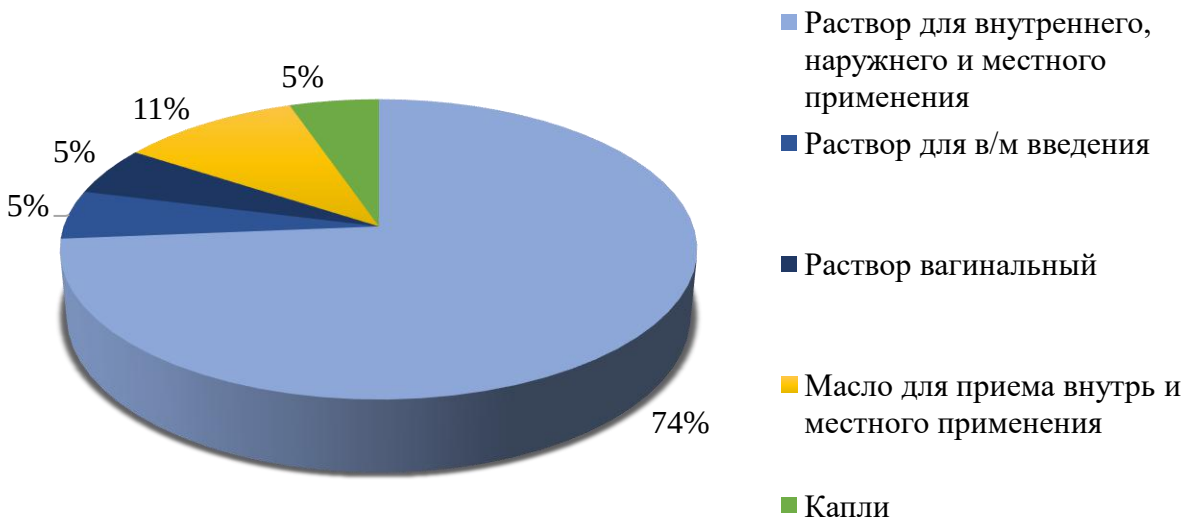


Рисунок 4 – Анализ жидких ЛФ, применяемых для лечения вульвитов

Среди жидких ЛФ лидирующую позицию занимают растворы – 84 % от общего количества препаратов в данной группе. Растворы для внутреннего, наружного и местного применения составляют 74%, а растворы для в/м введения и раствор вагинальный составляют по 5%. Также в этой группе ЛФ присутствует масло для приема внутрь и местного применения и капли, что составляет 11% и 5% соответственно.

Лекарственное растительное сырье занимает 4% от общего количества препаратов, применяемых для лечения вульвитов и в основном представлена растительными сборами для приготовления настоев и отваров для внутреннего, наружного и местного применения.

ВЫВОДЫ

Заболеваемость женщин ВЗОМТ на данный момент является серьезной проблемой. Ведущую роль в возникновении осложнений играют инфекционные и воспалительные заболевания нижних отделов органов малого таза – вульвит и вульвовагинит. Так как инфекция является восходящей, это может привести к бесплодию и внематочной беременности, что представляет серьезную угрозу репродуктивному здоровью женского населения страны. В результате проведенного исследования было обнаружено, что для лечения данной патологии применяется множество лекарственных средств в различных лекарственных формах. Среди общего количества ЛФ лидирующую позицию занимают мягкие ЛФ 47 %. В данной группе ЛФ подавляющее количество составляют суппозитории 87 %, в том числе для вагинального применения – 62 %. Группа твердых ЛФ следует после мягких ЛФ с 33 %. В данной группе таблетки составляют 48 % от всех твердых ЛФ, в том числе таблетки для внутреннего применения и вагинальные, что составляет 33 % и 15 % соответственно. В группе жидких ЛФ, которая составляет 16 % от общего количества лекарственных средств, лидирующую позицию занимают растворы – 84 %. В этой группе растворы для внутреннего, наружного и местного применения составляют 74 %.

Лекарственное растительное сырье, представленное сборами для приготовления настоев и отваров для внутреннего, наружнего и местного применения, составляет 4 % от общего количества лекарственных препаратов для лечения вульвитов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Серов, В. Н. Воспалительные заболевания органов малого таза: диагностические критерии и принципы лечения / В.Н. Серов, Л.В. Дубницкая, В.Л. Тютюнник // РМЖ: Мать и дитя. - 2011. - Т.19, №1. - С. 46 – 51.
2. Бондаренко, А. С. Ролевой статус взаимоотношения врача и пациентки в профилактике гинекологических заболеваний: автореф. дис. на соиск. учен. степ. канд. мед. наук (14.02.05) / Бондаренко Анна Сергеевна; Волгоградский МГУ. - Волгоград, 2015. - 3 с.
3. Государственный реестр лекарственных средств. URL: http://grls.rosminzdrav.ru (дата обращения 10.04.2021)
4. Регистр лекарственных средств. URL:https://www.rlsnet.ru/ (дата обращения 9.04.2021)
5. Справочник лекарственных средств Видаль. URL:https://www.vidal.ru/ (дата обращения 7.04.2021)
6. Молдаванова, А. Ю. Анализ гинекологических заболеваний и ассортимента российского фармацевтического рынка лекарственных препаратов для лечения вульвитов / А.Ю. Молдаванова, В.Э. Иванова // ADVANCED SCIENCE: сборник статей VIII Международной научно-практической конференции. В 2 ч. Ч. 1. – Пенза, 2019. - С 204-208.

ANALYSIS OF THE NATIONAL PHARMACEUTICAL MARKET FOR THERAPY VULVITIS

Moldavanova A. Yu.[a)], Fadeeva D.A., MalyutinA A. Yu.

Federal State Autonomous Higher Education Institution "Belgorod State National Research University" (Russia, Belgorod, Pobedy Street, 85, 308015)

a) corresponding author – moldavanova@bsu.edu.ru

Annotation. The reproductive health of the Russian women's population is increasingly suffering from gynecological diseases. Inflammatory pelvic diseases are dominant in this area. Among the diseases of this group is vulvitis and vulvovaginitis. Pathologies are dangerous for their complications, which can lead to such irreparable consequences as infertility. Analysis of the range of Russian pharmaceutical market drugs for vulvitis therapy showed that the most common use of antibacterial drugs and antiseptics, 33 % and 17 % respectively. Analysis of drug forms revealed that soft drug forms occupy the first place and make up 47 % of the total number of drugs. Leaders in this group are suppository with a market share of 87 %, including vaginal – 62 %. Among the solid drug forms, which make up 33 % of the total number of drugs, the largest share is occupied by tablets for internal use and vaginal tablets, totaling 48 %. Liquid medicinal forms make up 16 %, within the group the leaders are solutions for internal, external and local use – 74 %. Medicinal vegetable raw materials for the therapy of vulvitis and vulvovaginitis are represented by fees that make up 4 % of the total market share of medicines.

Keywords: *market analysis, vulvitis, reproductive health, drug forms*

УДК: 615.322 DOI: 10.52101/9785870191003_2021_440

ИЗУЧЕНИЕ ЧИСЛОВЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ И СОСТАВА СЫРЬЯ *ORIGANUM SYRIACUM* (L.).

Мохамад Раним [a)], к.фарм.н. Мусса Рамадан, д.фарм.н., доцент Суслина С. Н.

Российский Университет Дружбы Народов, Россия, Москва, ул. Миклухо-Маклая, д.6, индекс 117198.

а) автор для переписки – ranimm990@gmail.com

Аннотация. Трава *Origanum syriacum* (L.) (*O.syriacum*) издавна служила источником средств используемых этномедициной для лечения кашля, бактериальных и грибковых инфекций, а также использовалась в качестве пряности повышающей сохранность пищевых продуктов. Изучение химического состава травы *O.syriacum* с помощью качественных реакций в водном и спиртовых извлечениях показало наличие фенольных соединений в частности флавоноидов и дубильных веществ. С помощью хроматографии в тонком слое сорбента детализировано присутствие ключевых флавоноидов. Для разработки технологии выделения БАС ЦФМ травы *O.syriacum* установлены влажность сырья и содержание экстрактивных веществ, извлекаемых водой и спиртом различной концентрации, изучены коэффициенты поглощения экстрагентов с различным содержанием этанола. Полученные данные будут использованы при составлении проектов нормативной документации на сырье *O.syriacum* и разработке технологии экстракционных препаратов.

Ключевые слова: *Origanum syriacum, числовые показатели, флавоноиды, лютеолин, хлорогеновая и кофейная кислоты*.

ВВЕДЕНИЕ

Семейство Lamiaceae и особенно представители рода Origanum богаты флавоноидами и эфирными маслами, их с давних времен применяют в народной медицине. Многообещающие перспективы использования *O.syriacum* в медицинских целях открывают недавние исследования, доказавшие его эффективность в лечении и профилактике многих заболеваний. Данные сравнительных исследований ДНК выявили, что *O.syriacum* принадлежит к группе B, рода Origanum, в которую также входят виды *O.onites* L., *O.dubium* Boiss., *O.majorana* L., которые отличается максимальным содержанием эфирного масла в роду Origanum, а виды *O.onits* и *O.syriacum* наиболее древние виды в разделе [1, 2]. *O.syriacum* произрастает в Сирии, а также в Турции, на Кипре, Ливане, Иордании, Египте, на Синайском полуострове [3, 4, 5]. Многие авторы отмечают, что листья дикорастущего *O.syriacum* в Сирии используются этномедициной благодаря содержанию эфирного масла, основными компонентами которого являются фенольные соединения [6, 7]. *O.syriacum* широко используется для получения средств народной медицины применяемых в терапии всех воспалительных заболеваний, расстройств дыхания и пищеварения, головных болей, ревматизма, диабета и др. В последних исследованиях *O.syriacum* привлекает внимание своей антиоксидантной активностью [8, 9, 10]. Это кладовая веществ для лечения многих болезней, многие исследования указывают на его эффективность в качестве противомикробного средства [11], а также вызывающего сокращение матки [12]. Установлена эффективность эфирного масла *O.syriacum* против инфекций Acanthamoeba [13], также в лечении диабета 2 типа и при нейродегенеративных заболеваниях [14], выявлена ингибирующая активность в отношении холинэстеразы, антиоксидантная и противовоспалительная активность, отмечена эффективность в профилактике и лечении болезни Альцгеймера [15]. Компоненты эфирного масла *O.syriacum* ингибируют рост Aspergillus spp и биосинтез стеригматоцистина (предшественник афлатоксинов) [16]. Отмечены противоопухолевые эффекты некоторых БАС *O.syriacum* [17], в частности спиртовые неочищенные извлечения проявляют активность по отношению к линии клеток аденокарциномы молочной железы человека MCF-7 [18].

Имеются отдельные сведения об антимиграционных эффектах, оказываемых на раковые клетки экстрактами различных видов Origanum, такими как этанольный или метанольный экстракты *O.syriacum*, против линий клеток рака толстой кишки LoVo и SW620 Hurman, или против линии клеток рака молочной железы MDA-MB-231 [17, 19]. Использование *O.syriacum* в немедицинских областях позволило расширить представления о ботанических свойствах, которые могут быть использованы для фармацевтических целей. Так, пищевая инженерия изучает возможность использования *O.syriacum* в качестве консерванта для пищевых продуктов, в частности мяса [20, 21], благодаря высокому содержанию тимола [22]. Многие сельскохозяйственные исследования отмечают возможность использования *O.syriacum* в качестве инсектицида [23, 24, 25, 26], в частности в качестве репеллента от комаров [26, 27]. Опубликованные научные данные о биологической активности комплексов биологически активных соединений (БАС) *O.syriacum*, подтверждают целесообразность его углубленного изучения и применения. Изучение технологических характеристик сырья, таких как насыпная масса, объемная масса, содержание экстрактивных веществ, коэффициенты поглощения экстрагентов сырьем позволит разработать оптимальную технологию получения фитопрепарата.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы

Объектом исследования является трава *O.syriacum*. Цельное сырье заготавливали в течение 2019-2020 гг. в сирийской провинции Тартус: верхушечные облиственные цветоносные побеги длиной до 40 см – в период цветения растений, хорошо развитые листья – до цветения.

Методы

Сушку сырья проводили воздушно-теневым способом (ГФ XIV, «Общие методы анализа») при комнатной температуре с умеренной вентиляцией, разложив в один слой на подстилках и периодически переворачивая. Сырье упаковывали и хранили при комнатной температуре в сухом, хорошо вентилируемом помещении, не зараженном вредителями запасов, не допуская попадания на сырье прямых солнечных лучей. Измельчение высушенных образцов травы *O.syriacum* проводилось на аналитической мельнице IKa A-11. Для определения дисперсного состава частиц измельченное сырье просеивали через ряд сит с отверстиями различных размеров – от 2,50 мм до 0,25 мм. Использованные сита отвечают требованиям ТУ 23.2.2068-89. Оценка фракционного состава сырья O.syriacum (L.) осуществлялась в соответствии со статьей (ГФ XIV) ОФС.1.1.0015.15 «Ситовой анализ».

Изучение коэффициентов поглощения различных экстрагентов (воды, водно-спиртовых смесей различной концентрации) и расходных коэффициентов сырья O.syriacum (L.) проводили по методике, изложенной в ОФС.1.5.3.0012.15 При исследовании коэффициентов поглощения различных экстрагентов сырье заливали растворителями в соотношении 1:10. После экстракции в соответствии с ОФС.1.4.1.0019.15 «Настои и отвары» и ОФС. 1.4.1.0019.15 «Настойки» извлечения фильтровали и шрот отжимали в перфорированном стакане, после чего измеряли объем полученного извлечения. ОФС.1.5.3.0007.15 Определение влажности лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов.

При определении содержания экстрактивных веществ в сырье *O.syriacum* была применена многократная экстракция согласно ОФС.1.5.3.0006.15.

Качественные реакции проведены по общеизвестным методикам, описанным в литературе [28].

В качестве стандартных образцов (СО) для идентификации БАС целевого фрагмента матаболома использованы СО кофейной (CAS 331-39-5), хлорогеновой (CAS 327-97-9) кислот, рутина (CAS 153-18-4), лютеолина (CAS 491-70-3).

Для приготовления образцов извлечений из сырья *O.syriacum:* точную навеску сырья массой около 1,0 г помещают в колбу, добавляют 50 мл 70% спирта, нагревают в течение 1 ч с обратным холодильником на кипящей водяной бане.

Для получения УФ-спектра извлечения в диапазоне 200-400 нм 1 мл образца помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят до метки спиртом 70% и перемешивают. Спектры в УФ- и видимой области спектра регистрировали с помощью спектрофотометра Cary WIN UV (Varian, США) в кюветах с толщиной поглощающего слоя 1 см.

Исследование фенольного состава методом ТСХ проведено на пластинках Merck TLC Silica gel 60 F_{254} в качестве подвижной фазы использовали систему этилацетат – муравьиная кислота – вода в соотношении 8:1:1. На стартовую линию хроматографической пластинки со слоем силикагеля и люминофором (длина волны возбуждения 254 нм) размером 10 х 10 см на алюминиевой подложке (Merck TLC Silica gel 60 F_{254}) наносят по 30 мкл (0,030 мл) извлечения в виде полосы длиной 10 мм и по 5 мкл (0,005 мл) 0,01% растворов СО в 70% спирте в виде точек. Пластинку высушивают на воздухе и помещают в вертикальную хроматографическую камеру, предварительно насыщенную в течение 40 мин смесью растворителей этилацетат – муравьиная кислота – вода в соотношении 8:1:1. Когда фронт растворителей пройдет 10 см, пластинку вынимают, высушивают при комнатной температуре и рассматривают в УФ-свете при длине волны 365 нм и 254 нм.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для разработки методик идентификации ЛРС *O.syriacum* трава были проведены качественные реакции на основные группы БАС. С помощью качественных реакций в водном и спиртовых извлечениях травы установлено наличие основных групп БАС целевого фрагмента метаболома *O.syriacum*, результаты представлены в таблице 1.

Таблица – 1. Результаты определения групп БАС целевого фрагмента метаболома *O.syriacum*

Вид реакции	Результат реакции	Извлечение			
		Вода	Водно-спиртовая смесь, % спирта		
			40	70	90
Флавоноиды					
Цианидиновая проба по Брианту	оранжевое окрашивание	++	++++	+++++	++
С раствором хлорида железа (III)	Черно-зеленое окрашивание	++	++	++	++
Дубильные вещества					
С железоаммониевыми квасцами	Черно-зеленое Окрашивание	++	++	++	++
Сапонины					
Пенообразование	Образование обильной и устойчивой пены	-	-	-	-
с $BaCl_2$	Осадок	-	-	-	-
На Алкалоиды					
Зонненштейна с фосфорномолибденовой кислотой	желтоватый осадок	+	+	+	+

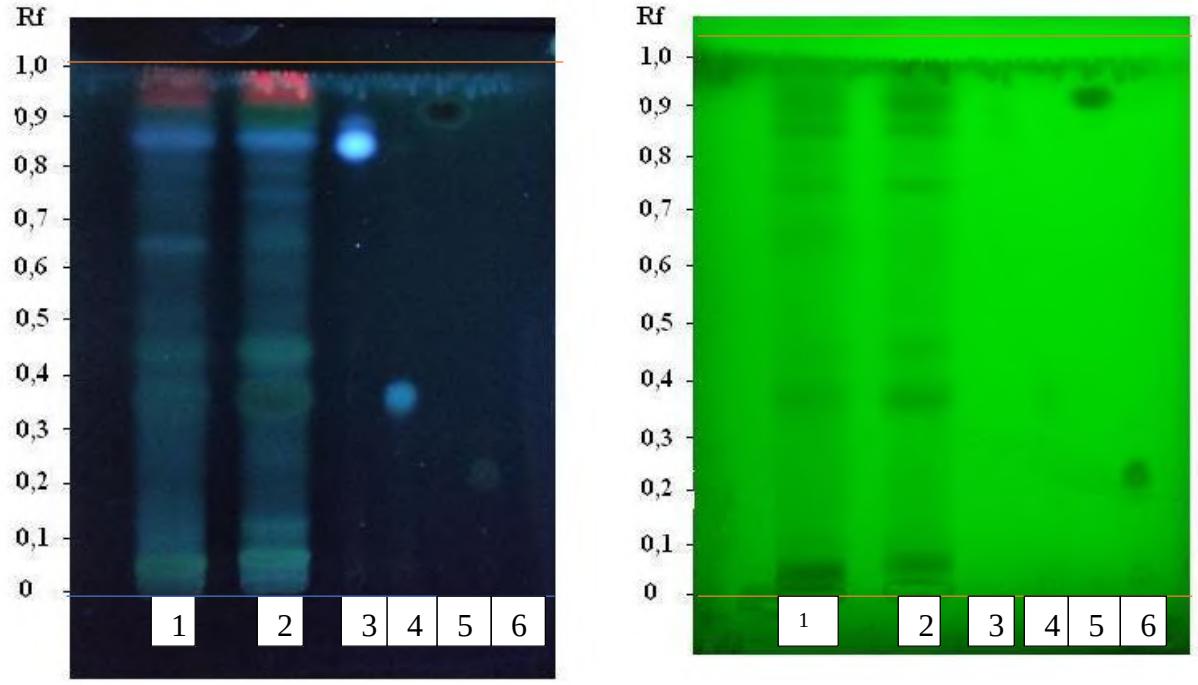
Из данных, представленных в таблице 1, с помощью качественных реакций в проект НД можно включить обнаружение флавоноидов с помощью цианидиновой пробы по Брианту.

Также в качестве способа индентификации ЛРС *O.syriacum* трава и для подтверждения присутствия фенольных соединений возможно использование хроматографии в тонком слое сорбента, результаты представлены на рисунке 1.

На хроматограмме растворов СО в УФ-свете (365 нм) обнаруживаются зоны адсорбции:

- кофейной кислоты голубого цвета с Rf 0,85;
- хлорогеновой кислоты голубого цвета с Rf около 0,40;
- лютеолина желтовато-коричневого цвета с Rf около 0,90;
- рутина коричнево-зеленого или серо-зеленого цвета с Rf около 0,25.

Зоны флавоноидов обнаруживаются также на хроматограмме при просматривании при свете с длиной волны 254 нм в виде пятен серого цвета на зеленом фоне.



Хроматограмма в УФ-365 Хроматограмма в УФ-254

Зоны абсорбции:
1) спиртовое извлечение из листьев; 2) спиртовое извлечение из стеблей;
3) СО кофейная кислота, 4) СО хлорогеновая кислота, 5) СО рутин, 6) СО лютеолин

Рисунок 1 – ТСХ спиртовых извлечений из сырья *O.syriacum*

На хроматограмме испытуемых растворов в УФ – свете обнаруживаются зоны флавоноидов с Rf около 0,05, 0,35, 0,50, 0,60 и 0,9 (лютеолин).

Зоны, которые можно по окраске и флуоресценции отнести к фенолкарбоновым кислотам: с Rf около 0,10, 0,65 и 0,85 (кофейная кислота).

На хроматограммах обнаруживается зона хлорофилла красного цвета на фронте растворителей – с Rf около 0,95. Также присутствует ряд более-менее окрашенных зон серого, голубого и коричневатого цвета.

Хроматограмму опрыскивают 2% раствором алюминия хлорида в 70% спирте и просматривают в УФ-свете 365 нм. Зоны флавоноидов визуализируются в виде пятен с желтой флуоресценцией с Rf около 0,05, 0,35, 0,50, 0,60, а также с Rf около 0,9, которая соответствует СО лютеолина. Таким образом, ЦФМ *O.syriacum* содержит фенольные вещества разных групп.

Также для определения подлинности извлечений из ЛРС *O.syriacum* возможно использование СФМ в диапазоне 200-400 нм, УФ спектр спиртового извлечения из травы *O.syriacum* представлен на рисунке 2.

На УФ – спектре присутствуют максимумы при 285 и 329 нм, что свидетельствует о наличии фенольных соединений (фенолкарбоновые кислоты, дубильные вещества, флавоноиды).

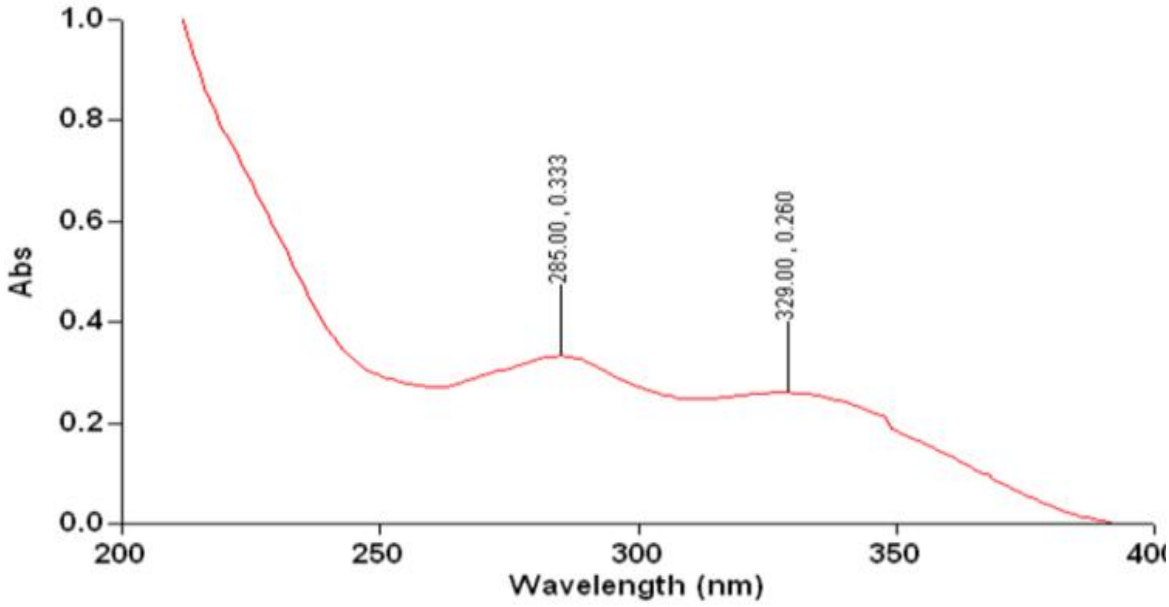


Рисунок 2 - УФ спектр спиртового извлечения из травы *O.syriacum*

Неотъемлемой частью стандартизации ЛРС сырья является определение и установление норм числовых показателей.

Изучен фракционный состав частиц измельченного сырья *O.syriacum,* результаты представлены в таблице 2.

Таблица 2 - Фракционный состав частиц измельченного сырья *O.syriacum*

Частиц на сите с отверстиями размером	Содержание фракции, %
3 мм	43,75 ± 1,50
2мм	27,75 ± 1,20
1мм	17,75 ± 0,50
0,5мм	4,50 ± 0,40
0,1мм	2,34 ± 0,20
Частиц, прошедших сквозь сито 0,1 мм	3,62 ± 0,30

Данные таблицы 2 показывают, что в измельченной высушенной траве *O.syriacum* (L.) наблюдается разброс фракций, однако основную массу (около 70%) составляет фракция, размеры частиц которой больше 2 мм, и около 30% фракция более мелких частиц размером менее 2 мм. В дальнейшем будет изучено влияние размера частиц на полноту выхода БАС ЦФМ и предложена норма этого показателя.

Для получения стандартных извлечений из растительного сырья необходим предварительный расчет сырья и экстрагента, что невозможно без установления коэффициента поглощения. Коэффициенты поглощения измельченной травы были определены для в воды и водно-спиртовых смесей с содержанием спирта 40, 70 и 90%.

Таблица 3 - Коэффициенты поглощения измельченного сырья *O.syriacum*

Экстрагент	Коэффициент поглощения, мл/г
Вода очищенная	2,5 ± 0,1
Спирт этиловый 40%	2,0 ± 0,1
Спирт этиловый 70%	1,85 ± 0,1
Спирт этиловый 90%	1,65 ± 0,1

Как видно из данных таблицы 3, наибольшим коэффициентом поглощения 2,5±0,08мл/г трава *O.syriacum* обладает в случае экстракции водой. В случае спиртоводных вариантов экстрагента 70-90% удерживается примерно в 2 раза меньше растворителя и коэффициент поглощения находится в интервале 1,65-1,85 мл/г.

Одним из важнейших результатов экстрагирования во многих случаях является содержание экстрактивных веществ. Результаты определения экстрактивных веществ в *O.syriacum* переходящих в водно-спиртовые смеси при содержании спирта 0, 40, 70, 90 представлены в таблице 4.

Таблица 4- Содержание экстрактивных веществ в сырье *O.syriacum*

Экстрагент	Содержание экстрактивных веществ, %
Вода очищенная	16,3 ± 0,8
Спирт этиловый 40%	15,6 ± 0,8
Спирт этиловый 70%	12,28 ± 0,8
Спирт этиловый 90%	9,56 ± 0,8

Из данных таблицы видно, что сопоставимо высокий выход (15–16 %) экстрактивных веществ из травы, достигается при экстракции травы *O.syriacum* водой и водно-этанольным раствором с низким содержанием спирта. Содержание же гидрофобных веществ, переходящих в более крепкие спиртоводные смеси, в листьях несколько выше, чем в траве. Таким образом, учитывая уровень содержания экстрактивных веществ в сырье O.syriacum при извлечении их водой и 40 % этанолом, целесообразно использовать для стандартизации показатель «содержание экстрактивных веществ, извлекаемых водой».

ВЫВОДЫ

С помощью качественных реакций изучен химический состава травы *O.syriacum* в водном и спиртовых извлечениях установлено присутствие флавоноидов и дубильных веществ, что может быть использовано для идентификации сырья. Методом хроматографии в тонком слое сорбента детализировано присутствие ключевых флавоноидов лютеолина и рутина, кофейной и хлорогеновой кислот. Для разработки технологии выделения БАС ЦФМ травы *O.syriacum* установлены фракционный состав сырья и содержание экстрактивных веществ, извлекаемых водой и спиртом различной концентрации, изучены коэффициенты поглощения экстрагентов с различным содержанием этанола. Полученные данные будут использованы при составлении проектов нормативной документации на сырье *O.syriacum* и разработке технологии экстракционных препаратов.

БЛАГОДАРНОСТИ

Статья поддержана программой стратегического академического лидерства РУДН.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Lukas, B.Molecular and phytochemical analyses of the genus Origanum L.(Lamiaceae) (Doctoral dissertation, uniwien) / B. Lukas. - University of Vienna. Fakultät für Lebenswissenschaften BetreuerIn: Samuel, Rosabelle -2010. -DOI: 10.25365/thesis.11737 –P.175.

2. Lukas, Brigitte. Complex evolutionary relationships in Origanum section Majorana (Lamiaceae) / B.Lukas, R.Samuel, E.Mader, K.H.C.Başer, H. Duman, J.Novak // Botanical Journal of the Linnean Society -2013 -171(4). - P. 667–686.

3. Farhat, M. Analysis of the Essential Oil Compounds of Origanum Syriacum L/ M. Farhat, J. Héthelyi, B. É. Szarka, Sz. Czigle, Sz // Acta Facultatis Pharmaceuticae Universitatis Comenianae – 2012 - 59(2) – P 6-14.

4. Alma, Mehmet Hakki . Screening chemical composition and in vitro antioxidant and antimicrobial activities of the essential oils from Origanum syriacum L. growing in Turkey/ M.H. Alma, A. Mavi, A. Yildirum, M. Digrak, T. Hiratad // Biological and Pharmaceutical Bulletin - 2003 – 26(12) – P. 1725-1729.

5. Kamel, MS. Monoterpene glucosides from Origanum syriacum / M.S.KAmel, M.H.Assaf, H.A.Hasanean, K.Ahtani, R.Kasai, K.Yamaski // Phytochemistry – 2001. – 58.8 – P. 1149-1152.

6. Al-Kalaldeh, Jelnar Z. Volatile oil composition and antiproliferative activity of Laurus nobilis, Origanum syriacum, Origanum vulgare, and Salvia triloba against human breast adenocarcinoma cells / J.Z. Al-Kalaldeh, R. Abu-Dahab, F.U. Afifi // Nutrition Research - 2010. - 30.4 – P. 271-278.

7. Zgheib, Raviella . Chemometric tools to highlight the variability of the chemical composition and yield of Lebanese Origanum syriacum L. essential oil / R. Zgheib, S. Chaillou, N. Ouaini, A. Kassouf, D. Rutledge, D. El Azzi, M. El Beyrouthy // Chemistry & biodiversity – 2016 – 13(10) – P.1326-1347.

8. Al-Bandak, Ghada . Antioxidant properties and composition of Majorana syriaca extracts / G. Al-Bandak, V. Oreopoulou // European Journal of Lipid science and technology – 2007 – 109(3) – P. 247-255.

9. Gutiérrez-Grijalva, Erick P. Flavonoids and phenolic acids from oregano: occurrence, biological activity and health benefits / E.P. Gutiérrez-Grijalva, M.A. Picos-Salas, N. Leyva-López , M.S. Criollo-Mendoza, G. Vazquez-Olivo ,J.B. Heredia // Plants – 2018 – 7(1).- P.2 - DOI: 10.3390/plants7010002 .PMID: 29278371; PMCID: PMC5874591.

10. Atallah, Shadi . Effects of different irrigation, drying and production scenarios on the productivity, postharvest quality and economic feasibility of Origanum syriacum, a species typically over-collected from the wild in Lebanon /S.Atallah, E.Elsaliby, R.Baalbaki, S.N.Talhouk // Journal of the Science of Food and Agriculture – 2011. – 91.2 – P. 337-343.

11. Lakis, Zeinab.The antimicrobial activity of Thymus Vulgaris and Origanum Syriacum essential oils on snaphylococcus Aureus, Streptococcus pneumonia and Candida Albicans / Z.Lakis, D.Mihele, I.Nicorescuc, V.Vulturescus, D.I. Udeanu // FARMACIA – 2012. – 60(6). P.857-865.

12. Elkomy, A.A. Pharmacodynamics effects of origanum majorana on isolated smooth muscles /A.A.Elkomy, M.G.A. Elsayed , N.M. Abd El-Mageed // BENHA VETERINARY MEDICAL JOURNAL-2014 -27(2)- P.430-436.

13. Niyyati, M. A review of the current research trends in the application of medicinal plants as a source for novel therapeutic agents against Acanthamoeba infections/ M. Niyyati, S. Dodangeh, J. Lorenzo-Morales.//Iranian journal of pharmaceutical research: 2016- IJPR, 15(4), p.893.

14. Hua Siew, Gan. Medicinal plants in management of type 2 diabetes and neurodegenerative disorders. / G.Siew Hua, M.A.Kamal, M.Lima, M.I.Khalil, V.R.Pasupuleti, G.Aliev // Evidence-based Complementary and Alternative Medicine. -2015:Article ID 686872 P.2.

15. Adewusi, E. A. Medicinal plants with cholinesterase inhibitory activity: a review./ E.A.Adewusi, N.Moodley, V.Steenkamp// African Journal of Biotechnology-(2010). - 9(49) –P.8257-8276.

16. Kocić-Tanackov, Sunčica. The inhibitory effect of oregano extract on the growth of Aspergillus spp. and on sterigmatocystin biosynthesis. / S.Kocić-Tanackov, G.Dimić, I.Tanackov, D.Pejin, L.Mojović, J.Pejin//LWT – 2012 -49(1) – P.14-20.

17. Spyridopoulou, Katerina. Extraction, Chemical Composition, and Anticancer Potential of Origanum onites L. Essential Oil / K.Spyridopoulou, E.Fitsiou, E.Bouloukosta, A.Tiptiri-Kourpeti, M.Vamvakias, , A.Oreopoulou, E.Papavassilopoulou, A.Pappa, K. Chlichlia// Molecules -2019- 24(14) – P.12-26.

18. Tuncer, E Antitumor effects of Origanum acutidens extracts on human breast cancer. / E.Tuncer, S.Unver-Saraydin, B.Tepe, S.Karadayi, H.Ozer, K.Karadayi, D.Inan, S.Elagoz, Z.Polat, M.Duman, M.Turan // J BUON – 2013 -18(1) –P.77-85.

19. Ayesh, Basim M. In vitro inhibition of human leukemia THP-1 cells by Origanum syriacum L. and Thymus vulgaris L. extracts / B.M.Ayesh, A.A.Abed, D.M.Faris // National library of medicine – 2014. - doi: 10.1186/1756-0500-7-612. PMID: 25194985; PMCID: PMC4175567.

20. AL-HIJAZEEN, Marwan. Effect of direct adding oregano essential oil (Origanum syriacum L.) on quality and stability of chicken meat patties / M. AL-HIJAZEEN // Food Science and Technology. – 2017. - vol.38 - DOI: 10.1590/1678-457x.17117 . P123-130.

21. Al-Hijazeen, M. Effect of Origanum syriacum L. Essential Oil on the Storage Stability of Cooked Chicken Meat / M.Al-Hijazeen// Braz. J. Poult. Sci - 2019. – 21 (1). P.1-10.

22. Lukas, B. Marjoram versus Oregano: Complex evolutionary relationships in the section Majorana Benth., genus Origanum L.(Lamiaceae). / B. Lukas, R. Samuel, E. Mader, K.H.C. Baser, H. Duman, J.Novak// Botanical Journal of the Linnean Society -2013-171(4)-P.667-686.

23. Karan,Tunay. Chemical Composition and Insecticidal Activity of Origanum syriacum L. Essential Oil Against Sitophilus oryzae and Rhyzopertha dominica/ T. Karan, S.SİMSEK, I.Yildiz, R.Erenler // International Journal of Secondary Metabolite – 2018. – 5(2). –P.87-93.

24. Traboulsi, Abdallah F. Insecticidal properties of essential plant oils against the mosquito Culex pipiens molestus (Diptera: Culicidae). / A.F.Traboulsi, K.Taoubi, S.El-Haj, J.M.Bessiere, S.Rammal // Pest Management Science - (2002) .- 58(5)- P.491-495.

25. Tunc, I. Sensitivity of two greenhouse pests to vapours of essential oils. / I. Tunc, Ş.Şahinkaya //Entomologia experimentalis et applicata -(1998).-86(2)-P. 183-187.

26. Govindarajan, Marimuthu. Acute toxicity and repellent activity of the Origanum scabrum Boiss. & Heldr. (Lamiaceae) essential oil against four mosquito vectors of public health importance and its biosafety on non-target aquatic organisms/ M.Govindarajan, S.Kadaikunnan, N. S. Alharbi, G.Benelli / Environmental Science and Pollution Research -2016 -23(22), P.23228-23238.

27. López, Víctor. Efficacy of Origanum syriacum Essential Oil against the Mosquito Vector Culex quinquefasciatus and the Gastrointestinal Parasite Anisakis simplex, with Insights on Acetylcholinesterase Inhibition / V.López, R.Pavela, C.Gómez-Rincón, F.Les, F.Bartolucci, V.Galiffa, R.Petrelli, L.Cappellacci, F.Maggi, A.Canale, D.Otranto, S.Sut, S.Dall'Acqua, G.Benelli // Molecules-2019. - 24.14: P.25-63. doi: 10.3390/molecules24142563.

28.Коренская, И. М. Фитохимический анализ и стандартизация лекарственного растительного сырья / И. М. Коренская, Н. П. Ивановская, О. А. Колосова, А. А. Мальцева. Воронеж : Издательский дом ВГУ, 2017. - С.78.

STUDY OF NUMERICAL INDICATORS AND COMPOSITION OF ORIGANUM SYRIACUM (L.) RAW MATERIALS

Ranim Mohamad, Ph.D.in Pharmacy Ramadan Mussa, D.Sc. in Pharmacy Suslina S. N.
Peoples Friendship university of Russia, Russia,Moscow, Miklukho-maklaya street,6,117198
a) corresponding author – ranimm990@gmail.com

Abctract. The herb *Origanum syriacum* (L.) (*O. syriacum*) has long served as a source of funds used by ethnomedicine for the treatment of coughs, bacterial and fungal infections, and has also been used as a spice to increase the safety of food products. The study of the chemical composition of the O. syriacum herb using qualitative reactions in aqueous and alcoholic extracts showed the presence of phenolic compounds, in particular flavonoids and tannins. The presence of key flavonoids is detailed by chromatography in a thin layer of sorbent. To develop a technology for the isolation of BAS CFM of the herb *O. syriacum*, the moisture content of raw materials and the content of extractives extracted by water and alcohol of various concentrations were determined, and the absorption coefficients of extractants with different ethanol contents were studied. The data obtained will be used in the preparation of draft regulatory documents for *O. syriacum* raw materials and in the development of technology for extraction preparations.

УДК: 615.32:615.012 DOI: 10.52101/9785870191003_2021_448

СРАВНИТЕЛЬНОЕ СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВОДНО-СПИРТОВЫХ ИЗВЛЕЧЕНИЙ ЛИСТЬЕВ НЕКОТОРЫХ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА *QUERCUS*

Рябов Н. А. [1a)], доцент, к.фарм.н. Рыжов В. М. [1], д.фарм.н., профессор Куркин В. А. [1], Тарасенко Л. В. [1], Жавкина Т. М. [2]

1 – Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Самара, ул. Чапаевская, 89, 443099
2 – Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Самарский национальный исследовательский университет имени академика С.П. Королева» (Самарский университет), Россия, г. Самара, ул. Московское шоссе, д. 34, 443086

а) автор для переписки – ryabov.nikolay.2014@mail.ru

Аннотация. Актуальным направлением современной фармации является расширение сырьевой базы лекарственного растительного сырья, используемого для создания лекарственных препаратов. Представляется интересным изучение видов внутри таксономической группы рода *Quercus* L. Для решения вопросов стандартизации новых видов сырья необходимо проведение комплекса фармакогностических исследований, одним из которых является количественная оценка содержания биологически активных соединений. В статье представлены результаты сравнительного спектрофотометрического анализа суммы флавоноидов в листьях некоторых представителей рода *Quercus*: дуба черешчатого – *Quercus robur* L.; дуба скального – *Quércus pétraea (Mattuschka)* Liebl.; дуба красного – *Quércus rúbra* L.; дуба летний фастигиата – *Quercus robur 'fastigiata'*; дуба монгольского – *Quercus mongolica* Fisch. ex Ledeb.; дуба крупноплодного – *Quercus macrocarpa* Michaux*;* дуба Мюлленберга – *Quercus muehlenbergii* Engelmann. В результате эксперимента определено количественное содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин при длине волны 412 нм. Наибольшее содержание суммы флавоноидов характерно для *Quercus mongolica* – 1,80 % ± 0,05 %, *Quercus pétraea* – 1,70 % ± 0,05 %, и *Quercus muehlenbergii* – 1,56 % ± 0,05 %. Содержание суммы флавоноидов в других представленных видах варьирует от 0,97 % ± 0,03 % – 1,45 % ± 0,04 %. Полученные в ходе эксперимента результаты могут быть использованы для создания нормативной документации для представителей рода Quercus на новый вид ЛРС – листья дуба.
Ключевые слова: *Quercus* L*., листья, флавоноиды, спектрофотомерия, Quercus robur* L., *Quércus pétraea (Mattuschka)* Liebl., *Quércus rúbra* L., *Quercus robur 'fastigiata', Quercus mongolica* Fisch. ex Ledeb., *Quercus macrocarpa* Michaux*, Quercus muehlenbergii* Engelmann.

ВВЕДЕНИЕ

Дуб черешчатый *Quercus robur* L. – многолетнее древесное растение семейства *Буковые* (*Fagaceae*), широко распространенное на территории РФ [1]. Официнальными видами рода *Quercus* L., включенным в фармакопею РФ и ряд зарубежных фармакопей, таких как Европейская и Британская, являются дуб черешчатый *Quercus robur* L. и *Quercus petraea (Matt.)* Liebl [2-4]. Листья представителей рода *Quercus* не применяются в качестве лекарственного растительного сырья (ЛРС), в то время как могут быть использованы как источник флавоноидов [2, 5]. По данным научной литературы известно, что листья дуба обладают богатым химическим составом: в них содержатся вещества фенольной природы – флавоноиды, дубильные вещества и др., что говорит о перспективности дальнейшего изучения сырья и проведения сравнительной оценки количественного содержания суммы флавоноидов в различных видах дуба [5-7].

Целью настоящего исследования являлось проведение сравнительного спектрофотометрического исследования листьев некоторых представителей рода *Quercus* L.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы. Исследования проводились на базе Центра коллективного пользования Института фармации СамГМУ. Материалом исследования являлись листья следующих видов: *Quercus robur* L.; *Quércus pétraea (Mattuschka)* Liebl.; *Quércus rúbra* L.; *Quercus robur 'fastigiata'*; *Quercus mongolica* Fisch. ex Ledeb.; *Quercus macrocarpa* Michaux*; Quercus muehlenbergii* Engelmann [1-2]. Листья представленных видов дуба были заготовлены в Ботаническом саду Самарского Государственного университета с достоверно известных образцов коллекции Ботанического сада г. Самара в период с мая по июль 2020 года [8].

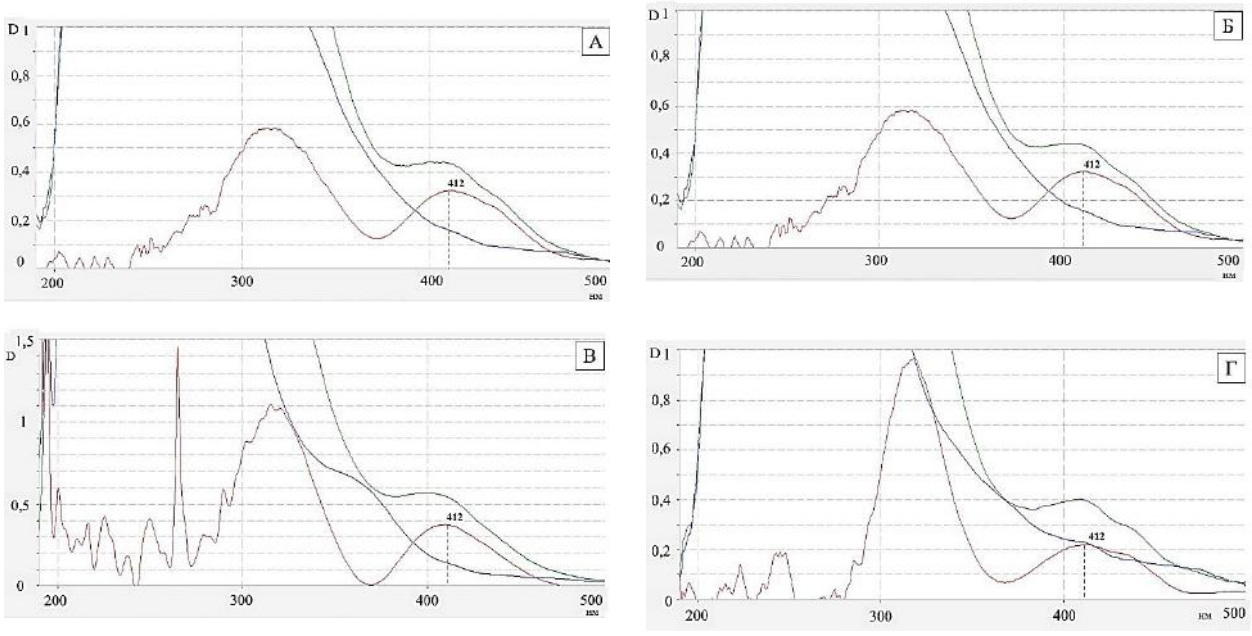
Видовая специфичность, анализируемых объектов подтверждалась при помощи определителей средней полосы России [1]. Объектами исследования являлись также водно-спиртовые извлечения на 70 % спирте этиловом марки ХЧ (спирт этиловый 96 %, ООО «Гиппократ», Россия, г. Самара, серия: 360917).

Методы. Использовался метод прямой и дифференциальной спектрофотометрии, который проводился в соответствии со стандартной фармакопейной методикой ОФС.1.2.1.1.0003.15 «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях» [2].

Спектрофотометрическое исследование проводили для количественной оценки содержания суммы флавоноидов в листьях представителей рода *Quercus* на спектрофотометре – «СФ-2000» (Россия). Использовались кварцевые спектрофотометрические кюветы с толщиной слоя 10 мм. В качестве растворителя и раствора сравнения был использован 95 % спирт этиловый [9].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При анализе спектральных кривых водно-спиртовых извлечений листьев методом прямой и дифференциальной спектрофотометрии было обнаружено сходство максимумов поглощения растворов при длине волны 412 нм, для всех образцов изучаемых видов. Данный максимум поглощения характерен для рутина (кверцетин-3-О-рутинозид), поэтому при количественной оценке суммы флавоноидов в листьях использовался пересчет на данный флавоноид (Рисунок 1А-З) [9].



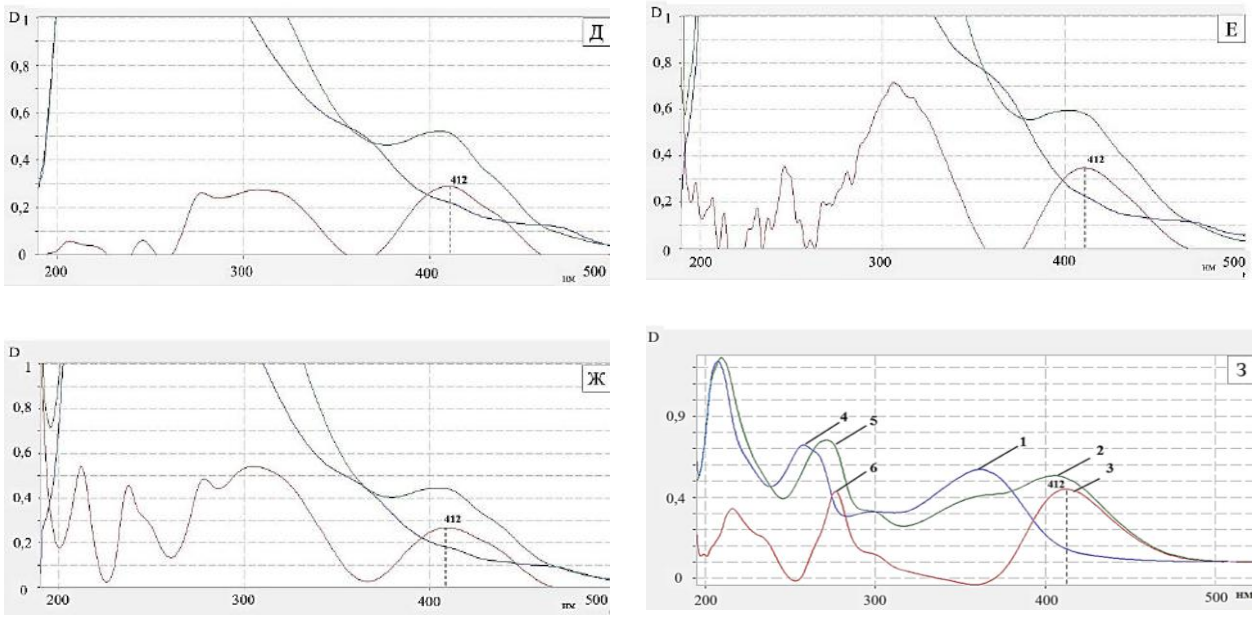


Рисунок 1 - Спектральные кривые поглощения растворов водно-спиртовых извлечения из листьев дуба черешчатого на 70 % спирте этиловом: А – *Quercus robur* L.; Б – *Quércus pétraea (Mattuschka)* Liebl.; В – *Quércus rúbra* L.; Г – *Quercus robur 'fastigiata'*; Д – *Quercus mongolica* Fisch. ex Ledeb.; Е – *Quercus macrocarpa* Michaux*;* Ж – *Quercus muehlenbergii* Engelmann; З - Спектральные кривые водно-спиртовых спиртовых растворов рутина.

Обозначения: 1 – исходный раствор; 2 – раствор с добавлением алюминия хлорида; 3 – дифференциальная кривая; 1,2,3 и 4,5,6 – характерный для рутина батохромный сдвиг коротковолновой и длинноволновой полосы флавоноидов соответственно

При анализе диаграммы сравнения содержания суммы флавоноидов в пересчете на рутин в листьях дуба некоторых представителей рода *Quercus* можно сделать вывод, что общее содержание флавоноидов находится в пределах от 0,97 % ± 0,02 % до 1,8 % ± 0,04 %, что представляет интерес в плане обоснования числового показателя для данного сырья (Рисунок 2).

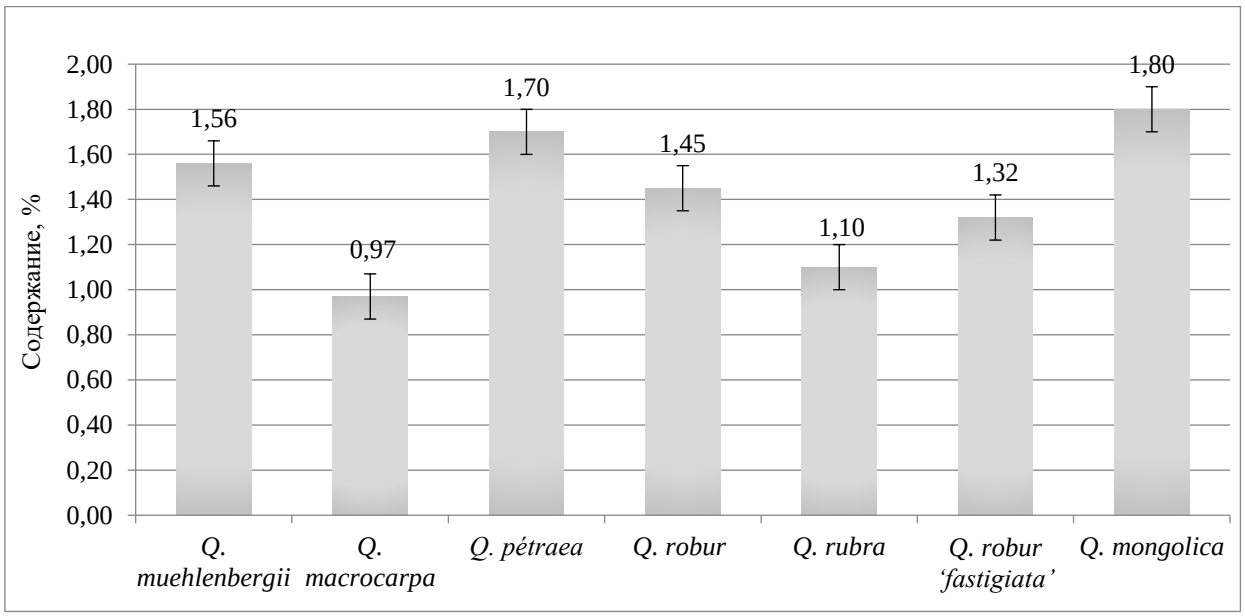


Рисунок 2 - Сравнительная диаграмма содержания суммы флавоноидов в пересчете на рутин в листьях дуба некоторых представителей рода *Quercus*

Таблица 1 - Валидационная оценка экспериментальных данных количественного определения суммы флавоноидов в листьях дуба черешчатого в пересчете на рутин

№	1	2	3	4	5	6	7	8
Показатели метрологической оценки	*f*	$\overline{X}$	S^2	*S*	*P, %*	*t (P, f)*	± *X*	*E, %*
Значение показателя	21	1,42	0,085505	0,2916	95	2,0859	±0,06082	±2,33

В результате проведения метрологической оценки разработанной методики были определены следующие показатели:

Показатели валидационной оценки по следующим показателям: специфичность, линейность, правильность и воспроизводимость. Коэффициент корреляции составил 0,98953 при определении линейности методики для серии растворов рутина (диапазон С % составлял от 0,00880 до 0,03520 мг/мл). Специфичность методики определялась по соответствию максимумов поглощения комплекса флавоноидов листьев представителей рода *Quercus* и рутина с алюминием хлоридом (Таблица 1).

Средний процент восстановления составлял 98 % при определении правильности методики, которую определяли методом добавок: раствор рутина с известной концентрацией (25 %, 50 % и 75 %) добавляли к испытуемому раствору (Таблица 1).

Таким образом, листья некоторых представителей рода *Quercus*: дуба черешчатого, дуба скального, дуба красного, дуба летний, дуба, дуба крупноплодного и дуба Мюлленберга могут рассматриваться как перспективный источник БАС – флавоноидов.

ВЫВОДЫ

Таким образом, было проведено сравнительное спетрофотометрическое исследование листьев дуба представителей рода *Quercus*. Проведена оценка количественного содержания суммы флавоноидов в листьях дуба в пересчете на рутин при длине волны 412 нм методом дифференциальной спектрофотометрии. Наибольшее содержание суммы флавоноидов отмечается для *Quercus mongolica* Fisch. ex Ledeb. – 1,80 % ± 0,04 %, *Quércus pétraea (Mattuschka)* Liebl. – 1,70 % ± 0,04 %, и *Quercus muehlenbergii* Engelmann – 1,56 % ± 0,04 %. Содержание суммы флавоноидов в других представленных видах варьирует от 0,97 % ± 0,02 % – 1,45 % ± 0,03 %.

Полученные в ходе эксперимента результаты могут быть использованы для создания нормативной документации для представителей рода *Quercus* на новый вид ЛРС – листья дуба.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare no obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

СООТВЕТСТВИЕ ПРИНЦИПАМ ЭТИКИ

В данной работе одобрение этического комитета не требовалось.

CONFORMITY TO ETHICS PRINCIPLES

Ethics committee approval was not required in this work.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Маевский, П.Ф. / Флора средней полосы европейской части России. 11-е изд. – М.: Товарищество научных изданий КМК, 2014. – 200 с.
2. Государственная фармакопея Российской Федерации / МЗ РФ. XIV изд. Т. I-IV. М., 2018. [Электронный ресурс] URL: http:// http://femb.ru/femb/pharmacopea.php (дата обращения: 05.10.2020).
3. British Pharmacopoeia / V. III., Herbal Drugs and Herbal Drug Preparations. *Oak Bark*, 2009. – 7203 p.
4. European Pharmacopoeia – 8-th 2013 / «01/2008:1887 corrected 6.0». URL: http://pharmeuropa.edqm.eu (Accessed 6 March 2021).
5. Куркин, В.А. / Фармакогнозия: Учебник для студентов фармацевтических вузов (факультетов). 4-е, перераб. и доп. – Самара: ООО «Офорт», ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России, 2019. – С. 966-969
6. Буданцев, А.Л. / Под ред. Растительные ресурсы России. Дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность. Том. 1. Семейства *Actinidiaceae-Malvaceae, Euphorbiaceae-Haloragaceae*. – Санкт-Петербург, Москва: Товарищество научных изданий КМК, 2009. – 158 с.
7. Şöhretoğlu, D. The polyphenolic profile of Oak (*Quercus*) species: a phytochemical and pharmacological overview / Renda, G. // Phytochem Rev 19. – 2020. p. 1379–1426 https://doi.org/10.1007/s11101-020-09707-3
8. Herbarium Department for Ecology, Botany and Nature Protection Faculty of Biology, Samara University. SMR-1547. URL: http://sweetgum.nybg.org/science/vh/collection-index/collection-index-details/?irn=124749 (Accessed 6 March 2021).
9. Куркина, А.В. Флавоноиды фармакопейных растений: монография. – Самара: ООО «Офорт», ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России, 2012. – С. 38.

COMPARATIVE SPECTROPHOTOMETRIC STUDY OF WATER-ETHANOLIC EXTRACTIONS OF LEAVES OF SOME REPRESENTATIVES OF THE GENUS *QUERCUS*

Ryabov N.A.[1a)], associate professor, Ph.D. in Pharmacy Ryzhov V.M.[1], D.Sc. in Pharmacy, Professor Kurkin V.A.[1], Tarasenko L.V.[1], Zhavkina T.M.[2]

1 – Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Samara State Medical University" of the Ministry of Health of the Russian Federation, Samara, ulitsa. Chapaevskaya, 89, 443099

2 – Samara National Research University, Russia, Samara, Moskovskoye shosse 34, 443086.

a) corresponding author – ryabov.nikolay.2014@mail.ru

Abstract. The actual direction of modern pharmacy is the expansion of the raw material base of medicinal plant raw materials used to create medicines. It seems interesting to study the species within the taxonomic group of the genus *Quercus*. To solve the problems of standardization of new types of raw materials, it is necessary to carry out a complex of pharmacognostic studies, one of which is a quantitative assessment of the content of biologically active compounds. The article presents the results of a comparative spectrophotometric analysis of the total of flavonoids in the leaves of some representatives of the genus *Quercus*: *Quercus robur* L.; *Quércus pétraea*; *Quércus rúbra*; *Quercus robur 'fastigiata'; Quercus mongolica; Quercus macrocarpa; Quercus muehlenbergii*. As a result of the experiment, the quantitative content of the total of flavonoids calculated on rutin was determined at a wavelength of 412 nm. The highest content of the total of flavonoids is characteristic of *Quercus mongolica* – (1,80±0.04) %, *Quercus pétraea* – (1,70±0.04), and *Quercus muehlenbergii* – (1,56±0.04) %. The content of the total of flavonoids in other presented species varies from (0,97±0.02) % – (1,45±0.03) %.

Keywords: *Quercus L., leaves, flavonoids, spectrophotometry, Quercus robur L., Quércus pétraea (Mattuschka) Liebl., Quércus rúbra L., Quercus robur 'fastigiata', Quercus mongolica Fisch. ex Ledeb., Quercus macrocarpa Michaux, Quercus muehlenbergii Engelmann.*

УДК: 615.322: 547.972 +543.544 DOI: 10.52101/9785870191003_2021_454

СТАНДАРТИЗАЦИЯ ЦВЕТКОВ БАРХАТЦЕВ ОТКЛОНЕННЫХ

Савельева А. Е. [a)], доцент, д.фарм.н., Куркина А. В., профессор, д.фарм.н, Куркин В. А.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Российская Федерация, г. Самара, ул. Чапаевская, 89, 443099.

а) автор для переписки – anevsavelieva@gmail.com

Аннотация. Целью исследования является разработка подходов к стандартизации цветков бархатцев отклоненных, заключающихся в определении подлинности данного сырья и количественном определении биологически активных соединений. В результате проведенного сравнительного хроматографического исследования в цветках бархатцев отклоненных различных сортов обнаружено наличие флавоноидов с использованием детекции при длине волны 254 и 366 нм до и после проявления спиртовым раствором алюминия хлорида ($AlCl_3$). С использованием колоночной хроматографии на силикагеле L 40/100 выделено два флавоноидных вещества – патулетин (3,5,7,3’,4’-пентагидрокси-6-метоксифлавон) и патулитрин (7-O-β-D-глюкопиранозид 3,5,7,3’,4’-пентагидрокси-6-метоксифлавона), идентификацию которых проводили с помощью УФ-, ^{1}Н-ЯМР-, ^{13}С-ЯМР-спектроскопии. В системе растворителей хлороформ-этанол-вода (26:16:3) патулетин и патулитрин имеют величины R_f около 0,7 и 0,4 соответственно. Выявлено, что именно патулитрин является доминирующим флавоноидом в цветках бархатцев отклоненных и определяет характер кривой поглощения электронных спектров водно-спиртового извлечения из данного сырья. Обосновано, что при проведении количественного анализа суммы флавоноидов в цветках бархатцев отклоненных целесообразно осуществлять пересчет содержания действующих веществ на доминирующий и диагностически значимый флавоноид - патулитрин. Определено, что содержание суммы флавоноидов в исследуемых образцах цветков бархатцев отклоненных различных сортов варьирует от (4,36±0,02) % до (11,71±0,05) % (в пересчете на патулитрин).

***Ключевые слова**: Бархатцы отклоненные; Tagetes patula L.; цветки; флавоноиды; патулитрин; спектрофотометрия, хроматографический анализ; стандартизация.*

ВВЕДЕНИЕ

Бархатцы отклоненные (*Tagetes patula* L.) – широко известный вид декоративного растения. Известно, в том числе, применение данного вида в народной медицине многих стран [5, 6]. Бархатцы отклоненные являются перспективными источниками биологически активных соединений: простых фенолов, эфирного масла, витаминов (каротиноидов), а также флавоноидов [2-7]. В литературе описаны для цветков бархатцев антимикробное действие, ранозаживляющая и антиоксидантная активность [2, 4, 5]. На наш взгляд, данная фармакологическая активность обусловлена содержанием флавоноидов в данном виде сырья. В связи с чем актуальным является стандартизация цветков бархатцев отклоненных по содержанию в них флавоноидов.

Цель настоящего исследования – разработка подходов к стандартизации цветков бархатцев отклоненных, заключающихся в определении подлинности данного сырья и количественного определения биологически активных соединений – флавоноидов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы. Материалом исследования являлись цветки бархатцев отклоненных (сорта «Мандарин», «Оранжевый чемпион», «Скарлет София», «Оранжевое пламя», «Красная парча», «Малыш гармония» и «Красный герой»), собранные в августе-сентябре 2018 года в Ботаническом саду Самарского университета в период массового цветения и плодоношения растения.

Методы. В качестве метода исследования использовали дифференциальную спектрофотометрию, проведенную по ОФС.1.2.1.1.0003.15 «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях» [1]. Спектральные характеристики водно-спиртовых извлечений оценивали на спектрофотометре «Specord 40» (Analytik Jena AG, Германия) в кюветах с толщиной слоя 10 мм.

Тонкослойную хроматографию (ТСХ), проведенную по ОФС.1.2.1.2.0003.15 «Тонкослойная хроматография», осуществляли с использованием хроматографических пластинок «Сорбфил ПТСХ-АФ-А-УФ» и системах растворителей: хлороформ – этанол – вода (26:16:3), *н*-бутанол – уксусная кислота – вода (4:1:2), хлороформ – этанол (4:1) [1]. Детекцию веществ на хроматограмме осуществляли при дневном свете, в УФ-свете при λ=254 нм и λ=366 нм (до и после проявления раствором алюминия хлорида).

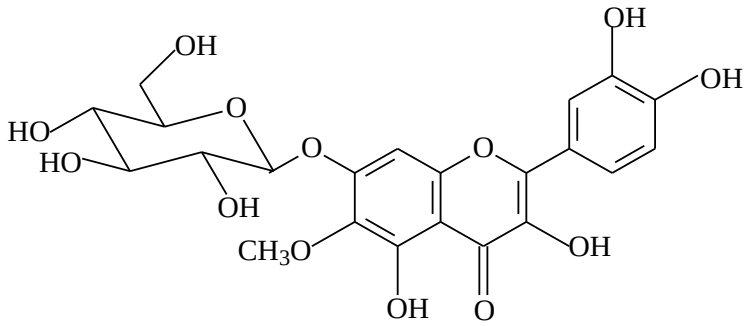
Для выделения флавоноидов использовали колоночную хроматографию, выполненную по ОФС.1.2.1.2.0001.15 «Хроматография», на силикагеле L 40/100 (Чехия) с последующей перекристаллизацией (чистота веществ подтверждалась физико-химическими константами и УФ-спектроскопией). Для этих целей нами было получено извлечение из 150 г цветков бархатцев отклоненных сорта «Оранжевое пламя» с помощью 70 % этилового спирта в соотношении 1:5, которое упаривали под вакуумом, наносили на силикагель L 40/100 и высушивали. В качестве элюентов использовали хлороформ, а также смеси хлороформа и этилового спирта в соотношениях 99:1; 98:3; 97:5, 93:7, 90:10, 85:15, 80:20, 70:30 и 60:40. Элюаты делили на фракции, примерно одинакового объема (по 200 мл), затем упаривали под вакуумом.

Из фракций, полученных элюированием смесью хлороформа и этилового спирта соотношении 60:40, выделили доминирующее вещество с величиной R_f около 0,4, а из фракций, где в качестве элюата выступала смесь хлороформа и этилового спирта в соотношении 93:7, выделили вещество с величиной R_f около 0,7.

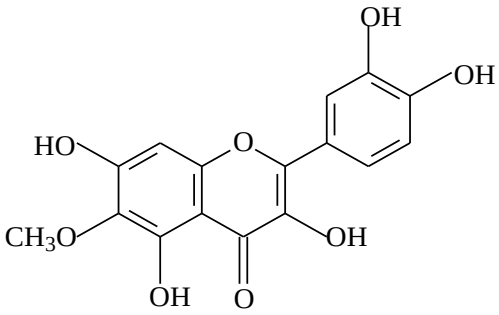
Идентификацию выделенных соединений проводили на основании данных УФ-, ^{1}H-ЯМР-, ^{13}C-ЯМР-спектроскопии. Спектры ЯМР ^{1}H получали на приборе «JNM-ECX 400» (399.78 МГц), спектры ЯМР ^{13}C – на приборе «JNM-ECX 400» (100.52 МГц).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате хроматографических исследований нами были выделены вещества, идентифицированные как патулитрин (1) и патулетин (2) (рисунок 1).



Патулитрин (**1**)



Патулетин (**2**)

Рисунок 1 – Структурные формулы флавоноидов цветков бархатцев отклоненных

Патулитрин (7-О-β-D-глюкопиранозид 3,5,7,3',4'-пентагидрокси-6-метоксифлавона) (**1**). Кристаллическое вещество ярко желтого цвета состава $C_{22}H_{22}O_{13}$ с т. пл. 250-252 ^{0}C (спирт этиловый). УФ-спектр: λ_{max}^{EtOH} 266, 382 нм; + NaOAc 266, 384 нм; + NaOAc + H_3BO_3 272, 400 нм; +$AlCl_3$ 276, 382пл., 443 нм; +$AlCl_3$ + HCl 275, 382пл., 438 нм; + NaOMe 303, 373, 445(пл.) нм.

^{1}H-ЯМР-спектр (399.78 МГц, DMSO-d_6, δ, м.д., J/Гц): 12.47 (1H, с, 5-ОН-группа), 9.48 (3H, уш. с, 3-ОН-группа, 7-ОН-группа и 4’-ОН-группа), 7.70 (1H, д, 2.5 Гц, H-2’), 7.52 (1H, дд, 2.5 и 8.5 Гц, H-6’), 6.92 (1H, с, H-8), 6.88 (1H, д, 8.5 Гц, H-5’), 5,11 (1H, д, J = 7,12, H-1’’ глюкопиранозы), 3,75 (3H, с, OCH_3 при C-6), 3,3-4,6 (6H глюкопиранозы) (Рисунок 2).

^{13}C-ЯМР спектр (126,76 МГц, ДМСО-d_6, δ_C, м.д.): 176.66 (C-4), 156.89 (C-7), 151.94 (C-5), 151.58 (C-9), 148.43 (C-4’), 148.22 (C-3’), 145.49 (C-3), 135.31 (C-6’), 132.32 (C-2’), 122.39 (C-1’), 120.56 (C-6), 116.08 (C-2), 115.93 (C-5’), 104.12 (C-10), 100,64 (C-1’’ глюкозы), 77,75 (C-5’’ глюкозы), 77.20 (C-3’’ глюкозы), 73.72 (C-2’’ глюкозы), 70,08 (C-4’’ глюкозы), 61.15 (C-6’’ глюкозы), 60.86 (CH_3O при C-6) (Рисунок 3).

Патулетин (3,5,7,3’,4’-пентагидрокси-6-метоксифлавон) (**2)**. Кристаллическое вещество ярко желтого цвета состава $C_{16}H_{12}O_8$; т.пл. 265-267 ^{0}C (водный спирт). УФ-спектр: λ_{max}^{EtOH} λ_{max} EtOH 264, 296пл., 378 нм; +NaOAc 268, 382 +NaOAc + H_3BO_3 270, 396; +$AlCl_3$ 274, 381пл., 438 нм; +$AlCl_3$ + HCl 275, 381пл., 436 нм; + NaOMe 328, 368пл.,428(пл.) нм.

^{1}H-ЯМР-спектр (399.78 МГц, DMSO-d_6, δ, м.д., J/Гц): 12.54 (1H, с, 5-ОН-группа), 10.65 (1H, с, 7-ОН-группа), 9.56 (1H, с, 4’-ОН-группа), 9.32 (1H, с, 3-ОН-группа), 7.64 (1H, д, 2.5 Гц, H-2’), 7.50 (1H, дд, 2.5 и 8.5 Гц, H-6’), 6.85 (1H, д, 8.5 Гц, H-5’), 6.48 (1H, с, H-8), 3,73 (3H, с, OCH_3 при C-6) (Рисунок 4).

^{13}C-ЯМР спектр (126,76 МГц, ДМСО-d_6, δ_C, м.д.): 176.56 (C-4), 157.50 (C-7), 152.27 (C-5), 151.84 (C-9), 148.24 (C-4’), 147.46 (C-3’), 145.49 (C-3), 135.31 (C-6’), 132.32 (C-2’), 122.39 (C-1’), 120.56 (C-6), 116.08 (C-2), 115.93 (C-5’), 104.12 (C-10), 60.52 (CH_3O при C-6) (Рисунок 5).

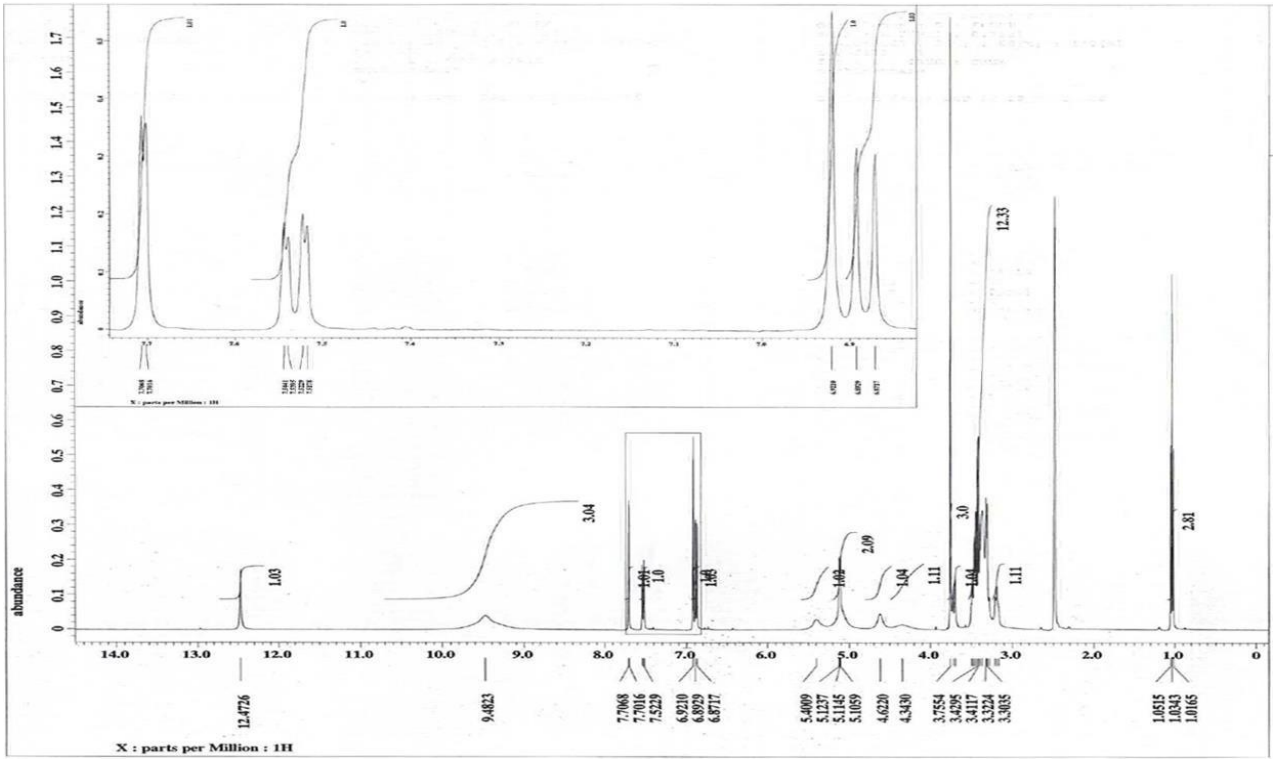


Рисунок 2 - ^{1}H-ЯМР-спектр патулитрина в ДМСО-d_6

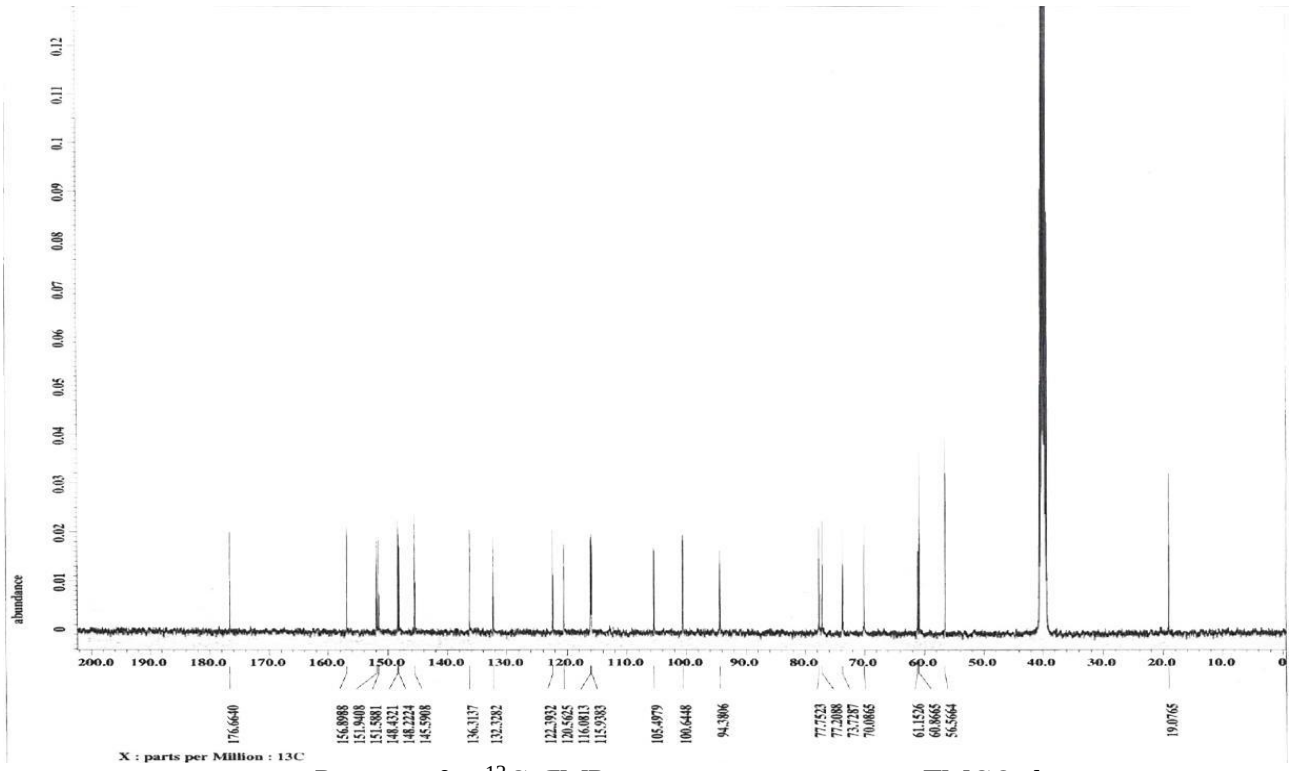


Рисунок 3 – ^{13}C-ЯМР-спектр патулитрина в ДМСО-d_6

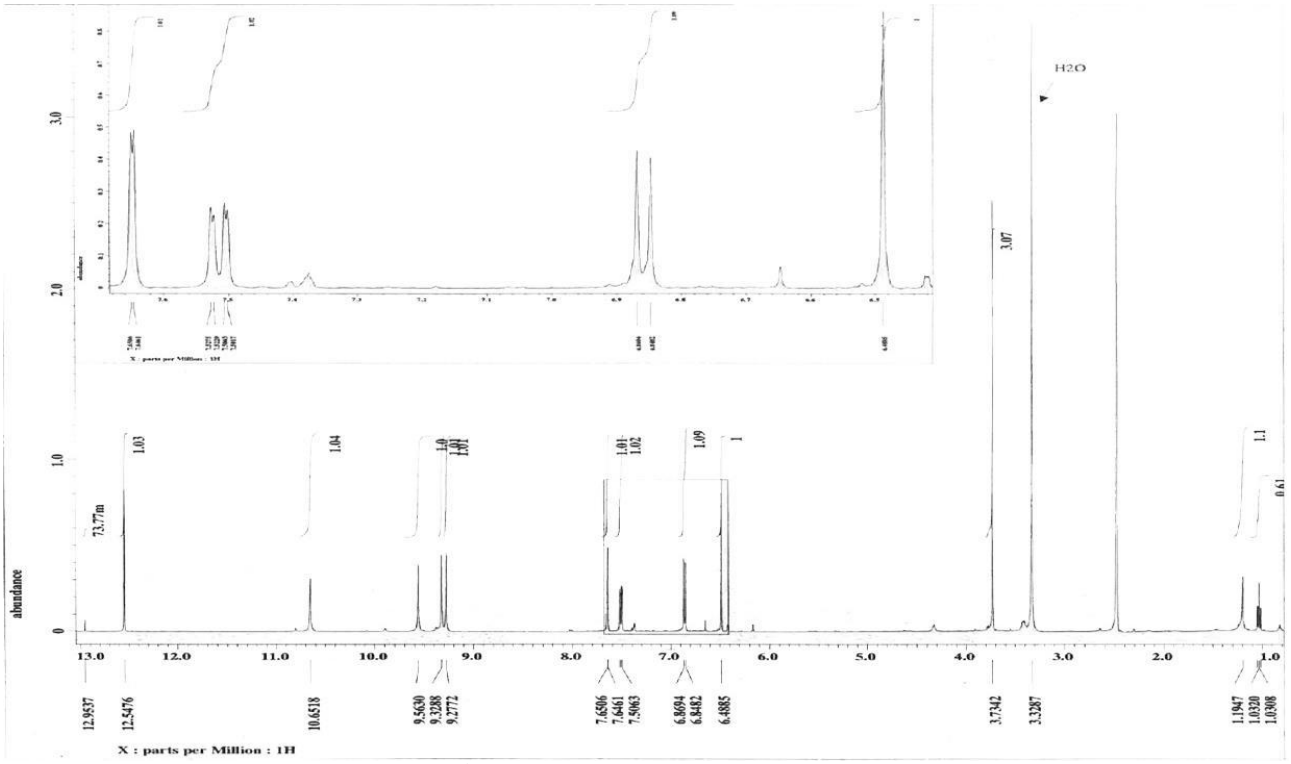


Рисунок 4 – ^{1}H-ЯМР-спектр патулетина в ДМСО-d_6

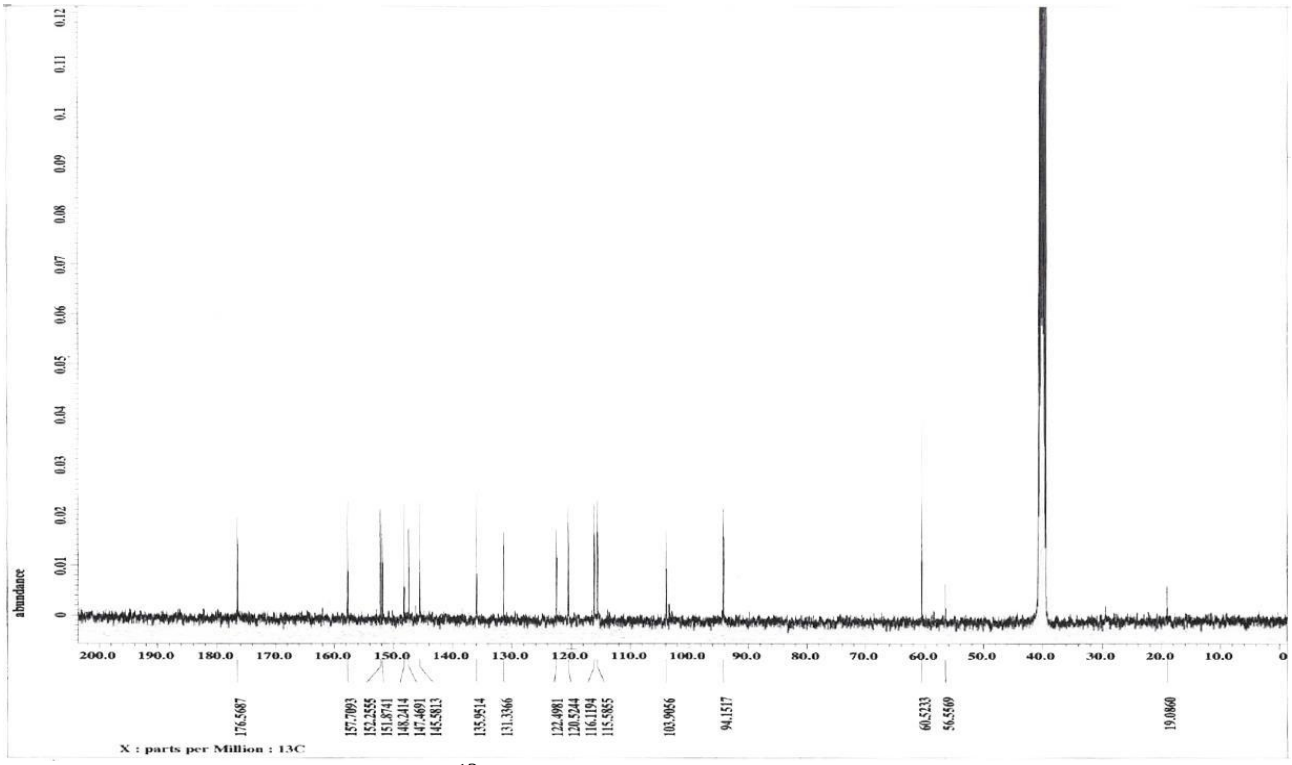


Рисунок 5 – ^{13}C-ЯМР-спектр патулетина в ДМСО-d_6

По результатам проводимых нами хроматографических исследований выявлен ряд особенностей хроматографических профилей изучаемых объектов.

В качестве стандартов использовались не только вещества, выделенные из цветков бархатцев отклоненных, а также кверцетин, описанный ранее для цветков бархатцев отклоненных. Данный флавоноид изучен в качестве потенциального стандартного образца при разработке методики определения подлинности сырья, так как кверцетин имеет значение R_f около 0,7, соответствующее значению R_f патулетина.

Определено, что наиболее информативными являются хроматограммы, полученные в системе растворителей: хлороформ – этанол – вода (26:16:3), просматриваемые при длине волны 366 нм до и после обработки спиртовым раствором $AlCl_3$ (Рисунки 6 и 7).

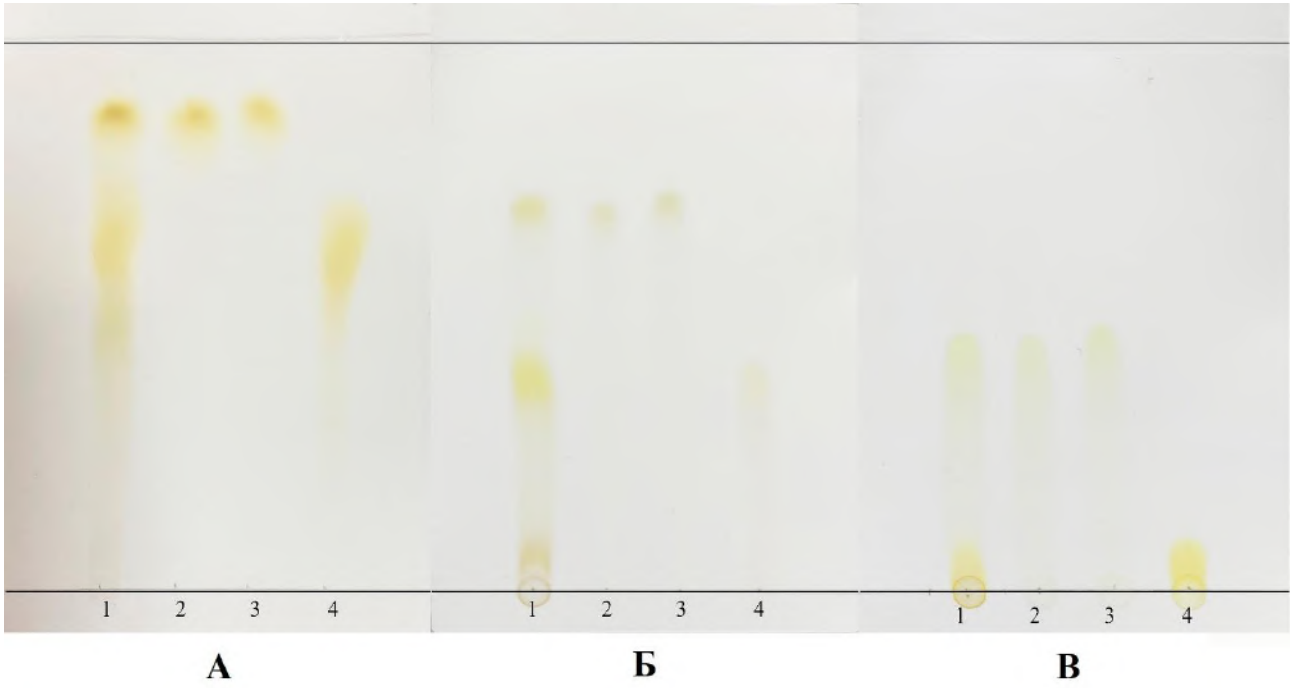


Рисунок 6 – Хроматограмма анализа водно-спиртового извлечения цветков бархатцев отклоненных: А – в системе растворителей *н*-бутанол – уксусная кислота – вода (4:1:2), Б – в системе растворителей хлороформ – этанол – вода (26:16:3), В – в системе растворителей хлороформ – этанол (4:1).

Обозначения: 1 – настойка цветков бархатцев отклоненных сорта «Оранжевое пламя»; 2 – патулетин; 3 – кверцетин; 4 – патулитрин.

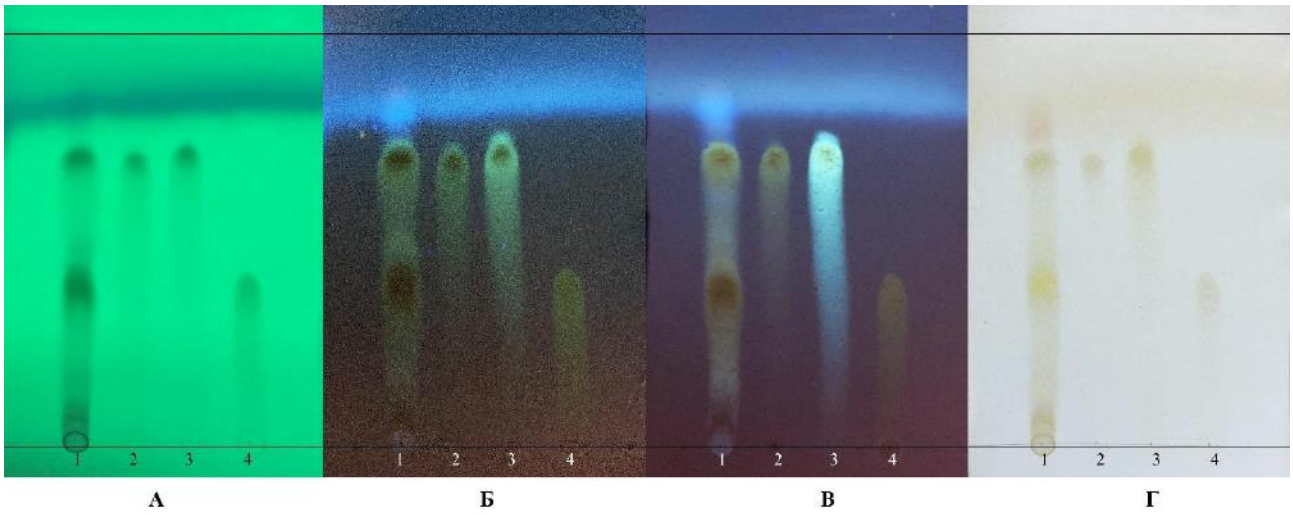


Рисунок 7 – Хроматограмма анализа водно-спиртового извлечения цветков бархатцев отклоненных в системе растворителей хлороформ: этанол: вода (26:16:3): А – детекция в УФ - свете при длине волны 254 нм, Б – детекция в УФ - свете при длине волны 366 нм, В – детекция в УФ - свете при длине волны 366 нм после обработки спиртовым раствором $AlCl_3$, Г – детекция реактивом ДСК

Обозначения: 1 – настойка цветков бархатцев отклоненных сорта «Оранжевое пламя»; 2 – патулетин; 3 – кверцетин; 4 – патулитрин.

Было отмечено, что патулетрин и кверцетин имеют практически одинаковое значение R_f, однако значительно отличаются между собой по окраске свечения при просмотре при длине волны 366 нм – светло-желтая и ярко-зеленая, соответственно (после обработки

спиртовым раствором $AlCl_3$ кверцетина наблюдается усиление флуоресценции и изменения её окраски с желтой на ярко-зеленую) (Рисунок 7).

Нами были проанализированы водно-спиртовые извлечения из цветков бархатцев отклоненных семи различных сортов. Методом ТСХ в присутствии растворов стандартных образцов подтверждено наличие патулетина и патулетрина в извлечениях из всех образцов изучаемых нами сортов (Рисунок 8).

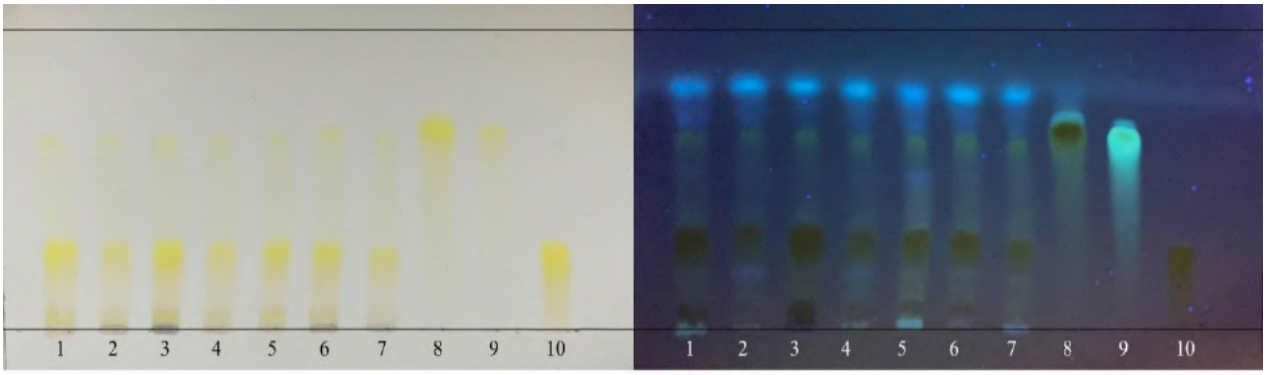


Рисунок 8 – Хроматограмма анализа водно-спиртовых извлечений цветков бархатцев отклоненных различных сортов в системе растворителей хлороформ: этанол: вода (26:16:3): А – до обработки, Б – детекция в УФ - свете при длине волны 366 нм после обработки спиртовым раствором $AlCl_3$.
Обозначения: 1 – сорт «Мандарин»; 2 – сорт «Красный герой»; 3 – сорт «Скарлет София»; 4 – сорт «Оранжевый чемпион»; 5 – сорт «Малыш Гармония»; 6 – сорт «Красная парча»; 7 – сорт «Оранжевое пламя»; 8 – патулетин; 9 – кверцетин; 10 – патулитрин.

С использованием метода ТСХ установлено, что доминирующим флавоноидом во всех сортах цветков бархатцев отклоненных является патулитрин (7-O-β-D-глюкопиранозид 3,5,7,3’,4’-пентагидрокси-6-метоксифлавона) (Рисунок 8).

При изучении спектральных характеристик было выявлено, что именно патулитрин (7-O-β-D-глюкопиранозид 3,5,7,3’,4’-пентагидрокси-6-метоксифлавона) определяет характер кривой поглощения водно-спиртового извлечения из цветков бархатцев отклоненных (Рисунок 9). Определено, что в УФ-спектре водно-спиртового извлечения из цветков бархатцев отклоненных наблюдается батохромный сдвиг длинноволновой полосы флавоноидов, как и в случае патулитрина (Рисунок 9). При этом наблюдается четкая корреляция кривых поглощения водно-спиртового извлечения из цветков и патулитрина и в присутствии спиртового раствора алюминия хлорида (Рисунок 10).

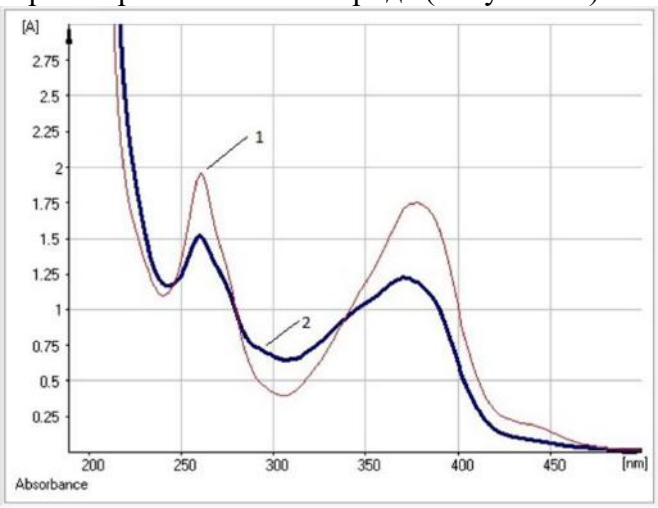


Рисунок 9 – Электронный спектр раствора водно-спиртового извлечения цветков бархатцев отклоненных (1) и патулитрина (2).

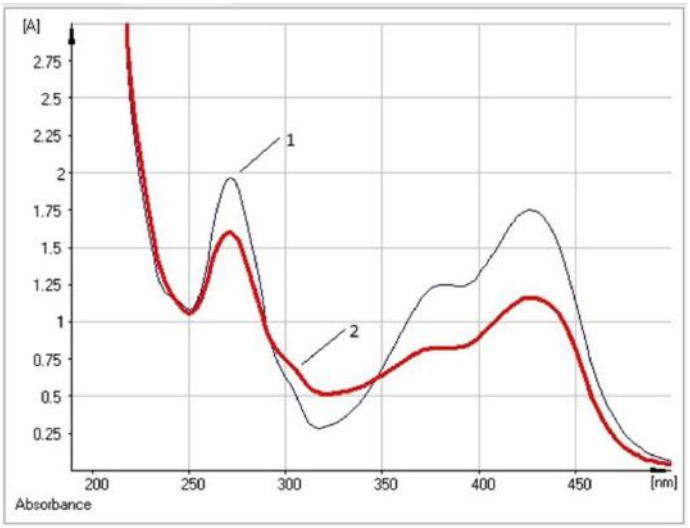


Рисунок 10 – Электронный спектр раствора водно-спиртового извлечения цветков бархатцев отклоненных в присутствии алюминия хлорида (1) и электронный спектр патулитрина в присутствии алюминия хлорида (2).

Дифференциальные кривые электронных спектров раствора водно-спиртового извлечения из цветков бархатцев отклоненных имеет максимум в области 428-434 нм (Рисунок 11), который практически соответствует максимуму поглощения спиртового раствора патулитрина (дифференциальный вариант) (Рисунок 12).

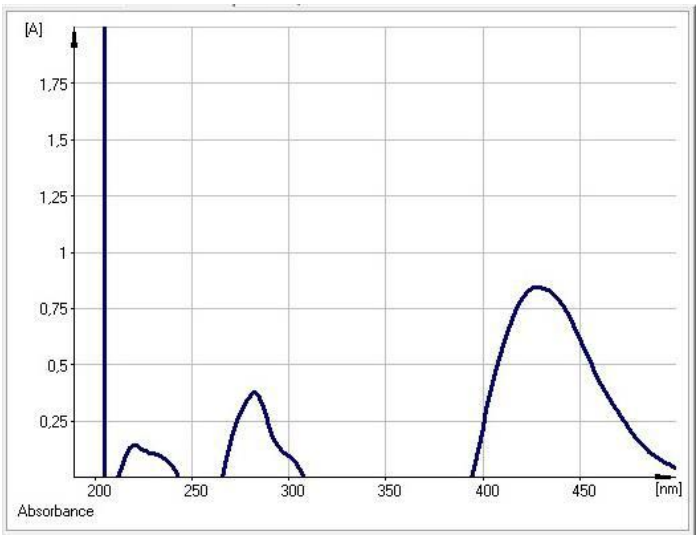


Рисунок 11 – Электронный спектр раствора водно-спиртового извлечения цветков бархатцев отклоненных (дифференциальный вариант).

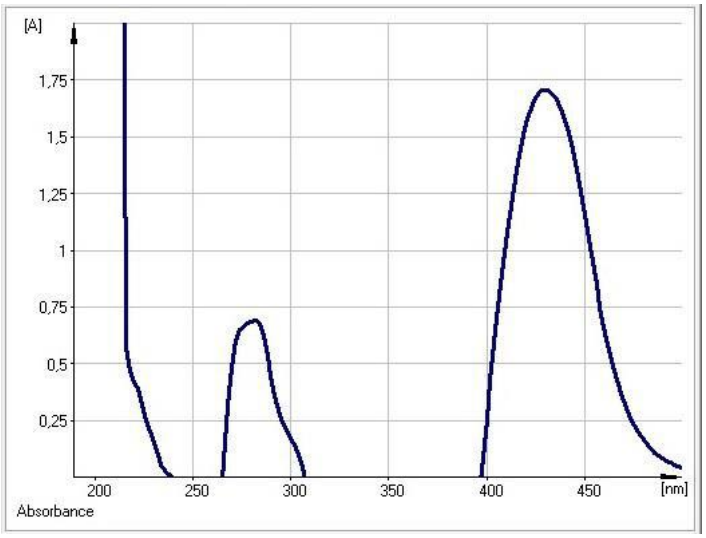


Рисунок 12 – Электронный спектр раствора патулитрина (дифференциальный вариант).

Следовательно, целесообразным является при проведении количественного анализа цветков бархатцев отклоненных осуществлять пересчёт суммы флавоноидов в сырье на патулитрин.

Результаты спектрофотометрического определения количественного содержания флавоноидов в цветках бархатцев отклоненных различных сортов представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Содержание суммы флавоноидов в цветках различных сортов бархатцев отклоненных (*Tagetes patula* L.)

№ п/п	Сорт	Содержание суммы флавоноидов в пересчете на патулитрин и абсолютно сухое сырье, %
1.	*T. patula* L. «Мандарин»	11,71 ± 0,05
2.	*T. patula* L. «Оранжевое пламя»	9,39± 0,03
3.	*T. patula* L. «Красный герой»	8,25± 0,03
4.	*T. patula* L. «Оранжевый чемпион»	7,51± 0,03
5.	*T. patula* L. «Скарлет София»	7,21± 0,03
6.	*T. patula* L. «Красная парча»	6,21± 0,03
7.	*T. patula* L. «Малыш Гармония»	4,36± 0,02

Определено, что содержание суммы флавоноидов в исследуемых образцах цветков бархатцев отклоненных различных сортов варьирует от (4,36±0,02) % до (11,71±0,05) %. Однако содержание суммы флавоноидов в цветках бархатцев отклоненных сорта «Малыш Гармония» значительно ниже, чем у других исследуемых нами сортов (4,36±0,02 %). В связи с этим, следует рекомендовать в качестве нижнего предела содержания суммы флавоноидов в цветках бархатцев отклоненных значение не менее 4,0 %, причем в пересчете на доминирующий и диагностически значимый флавоноид - патулитрин.

Метрологические характеристики разработанной методики свидетельствуют о том, что ошибка единичного определения содержания суммы флавоноидов в цветках бархатцев отклоненных с доверительной вероятностью 95 % составляет ±3,86 %.

ВЫВОДЫ

1. Проведенное сравнительное хроматографическое исследование позволило выявить наличие флавоноидов (патулетина и патулитрина) в водно-спиртовых извлечениях из цветков бархатцев отклоненных семи различных сортов.

2. Наиболее информативными являются хроматограммы, полученные в системе растворителей: хлороформ – этанол – вода (26:16:3), просматриваемые при длине волны 366 нм до и после обработки спиртовым раствором алюминия хлорида.

3. Кверцетин целесообразно использовать в качестве стандартного образца в методике определения подлинности цветков бархатцев отклоненных методом ТСХ, так как этот флавоноид имеет значение R_f 0,70, соответствующее значению R_f патулетина, являющегося наряду с патулитином диагностически значимым компонентом сырья данного растения.

4. С использованием колоночной хроматографии из цветков бархатцев отклоненных выделены патулетин (3,5,7,3’,4’-пентагидрокси-6-метоксифлавон) и патулитрин (7-О-β-D-глюкопиранозид 3,5,7,3’,4’-пентагидрокси-6-метоксифлавона), идентифицированные на основании данных УФ-, ^{1}Н-ЯМР-, ^{13}С-ЯМР-спектроскопии.

5. Определено, что содержание суммы флавоноидов в цветках исследуемых сортов бархатцев отклоненных варьирует от (4,36±0,02) % до (11,71±0,05) %.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Государственная фармакопея Российской Федерации / МЗ РФ. XIV изд. Т. I-IV. М., 2018. [Электронный ресурс] URL: http:// http://femb.ru/femb/pharmacopea.php (дата обращения: 05.03.2021).

2. Ломкина, Е.М., Влияние экстракта бархатцев на заживление ран при сахарном диабете / Е. М. Ломкина, Н. М. Червонная, Э. Т. Оганесян // Фармация. – 2016. – Т. 65. – № 3. – С. 37-39.

3. Малюгина, Е. А. Определение количественного содержания основных биологически активных компонентов в соцветиях *Tagetes patula* L. / Е. А. Малюгина, А. В. Мазулин, Г. П. Смойловская // Научные труды Sworld. – 2015. – Т. 18. – № 2 (39). – С. 48-52.

4. Папаяни, О.И., Изучение химического состава и антимикробной активности сухого экстракта из цветков бархатцев распростертых (*Tagetes patula* L.) / О. И. Папаяни, И. В. Духанина, Е. О. Сергеева // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2012. – Т. 14. – № 5 (3). – С. 745-747.

5. Подгорная, Ж. В. Исследование цветков бархатцев распростертых (Tagetes patula L.) с целью получения биологически активных соединений [Текст]: дис. … канд. фармац. наук : 15.00.02 : защищена 16.12.2008 / Подгорная Жанна Валериевна. – Пятигорск, 2008 – 190 с. – 04200901589.

6. Червонная, Н. М. Аминокислотный и элементный состав извлечения из соцветий бархатцев распростертых (*Tagetes patula* L.), полученного 40 % спиртом этиловым / Н. М. Червонная // Традиционная и инновационная наука: история, современное состояние, перспективы: межд. конф. Пятигорск. – 2017. – С. 134-138.

7. Червонная, Н.М. О содержании фенольных соединений в соцветиях бархатцев распростертых (*Tagetes patula* L.) / Н. М. Червонная, О. А. Андреева, С. Л. Аджиахметова, Э. Т. Оганесян // Химия растительного сырья. – 2018. – № 3. – С. 91-98.

THE STUDY OF THE FLAVONOIDS OF FLOWERS OF SPREADING MARIGOLD

Saveleva A. E. [a)], associate professor, D.Sc. in Pharmacy Kurkina A.V.,
Professor, D.Sc. in Pharmacy Kurkin V.A.
Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Samara State Medical University» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Russian Federation, Samara, ulitsa Chapaevskaya 89, 443099
a) corresponding author – anevsavelieva@gmail.com

Abstract. The aim of the study is to develop methods of standardization of marigold flowers rejected, consisting in determining the identity of this raw material and the quantitative determination of biologically active compounds. As a result of a comparative chromatographic study, the presence of flavonoids was detected upon detection at a wavelength of 254 and 366 nm before and after reaction with an alcohol solution of aluminum chloride. Using column chromatography on silica gel L 40/100, two flavonoid substances were isolated patuletin (3,5,7,3',4'-pentahydroxy-6-methoxyflavone) and patulitrin (7-O-β-D-glucopyranoside of 3,5,7,3', 4' - pentahydroxy-6-methoxyflavone), which have been identified by UV -, ^{1}H-NMR -, ^{13}C-NMR-spectroscopy and mass-spectrometry, as well as acid hydrolysis. In the solvent system chloroform- ethanol -water (26:16:3) R_f values of patuletin and patulitrin are about 0.7 and 0.4, respectively. It was found that patulitrin is the main flavonoid in the flowers of spreading marigold and determines the character of the absorption curve of the electronic spectra of water-alcohol extraction from this raw material. During the quantitative analysis of the total flavonoids in the flowers of spreading marigold, it is necessary to recalculate the content of active substances to the dominant and diagnostically significant flavonoid patulitrin. It was determined that the content of the total flavonoids in the studied samples of flowers of different varieties of the spreading marigold varies from (4.36±0.02) % to (11.71±0.05) % (calculated on patulitrin).

Keywords: *Spreading marigold; Tagetes patula L.; flowers; flavonoids; patulitrin; spectrophotometry; chromatographic analysis; standardization.*

УДК: 665.52/.54+ 579.017.7 DOI: 10.52101/9785870191003_2021_465

ВЛИЯНИЕ ЭФИРНЫХ МАСЕЛ *ARTEMISIA ABSINTHIUM* И *HUMULUS LUPULUS* НА ДИНАМИКУ МИТОХОНДРИАЛЬНОГО МЕМБРАННОГО ПОТЕНЦИАЛА КЛЕТОК *S. CEREVISIAE*

Семитко И. С.[1, a)], Anastasiia Bekhter[2], доцент, к.б.н. Чещевик В. Т. [1],
профессор, д.б.н. Krzysztof Śmigielski[2]

1 - Полесский государственный университет (Республика Беларусь, г. Пинск, ул. Днепровской флотилии 23), 225710
2 - Лодзинский технический университет (Республика Польша, Лодзь, ул. Żeromskiego 116), 90-924

а) автор для переписки – semitcko.i@yandex.ru

Аннотация. Эфирные масла обладают различной биологической активностью, в том числе воздействуют на структурные компоненты клетки. Они способны легко проникать в клетку и влиять на ее жизнедеятельность, повышают текучесть и проницаемость мембран митохондрий, тем самым способствуя индукции апоптоза. Митохондрии являются основным источником энергии в клетке и участвуют в регуляции многих клеточных функций. Изучение механизма воздействия эфирных масел на митохондрии может послужить основой для создания новых лекарственных препаратов, реализующих свое действие на уровне митохондрий. Получение эфирных масел полыни горькой и хмеля обыкновенного осуществляли методом гидродистилляции с использованием модифицированного аппарата Деринга. Качественный и количественный состав определяли с помощью газовой хромато-масс-спектрометрии. Методом проточной цитофлуориметрии исследовали влияние эфирных масел на уровень митохондриального мембранного потенциала клеткок *Saccharomyces cerevisiae* на логарифмической и стационарной фазах роста с применением зонда родамин 123. Протонофорное действие эфирных масел изучали в диапазоне концентраций (от 10 - 500 мкМ). В качестве стандартного протонофора использовали FCCP (карбонилцианид-4-трифторметокси-фенилгидразон). Преобладающим компонентом эфирного масла полыни горькой является мирцен (содержание 20 %). Преобладающим компонентом в эфирном масле хмеля обыкновенного являлся гумулен (содержание 21 %). При воздействии эфирного масла хмеля обыкновенного наблюдали увеличение процента клеток с деполяризованными митохондриями при повышении его концентрации, но в отличии от эфирного масла полыни горькой, эффект проявлялся на более низких концентрациях.

***Ключевые слова**: эфирное масло, митохондрии, мембранный потенциал, Saccharomyces cerevisiae, Artemisia absinthium, Humulus lupulus, проточная цитофлуориметрия*.

ВВЕДЕНИЕ

Эфирные масла представляют собой сложные смеси различных химических соединений (терпенов, спиртов, альдегидов, кетонов и др.) с различными механизмами биологического действия, которые могут быть обусловлены синергистическими или аддитивными свойствами составляющих эфирных масел [1].

Для эфирных масел продемонстрированы противовоспалительная, антимикробная, противоопухолевая, антипролиферативная, противопаразитарная и антигрибковая активности. Большим преимуществом применения эфирных масел в качестве биологически активных веществ является тот факт, что они лишены долгосрочного генотоксического эффекта [2,3].

Одной из основных клеточных мишеней действия эфирных масел являются митохондрии [4]. Митохондрии играют ключевую роль в регуляции важнейших клеточных функций, обеспечивают клетку энергией, участвуют в клеточной сигнализации, регуляции кальциевого гомеостаза и определяют жизнедеятельность клетки [5]. Эфирные масла

изменяют текучесть мембран митохондрий, которые становятся аномально проницаемыми, что приводит к утечке активных форм кислорода, цитохрома С, ионов кальция и белков, что приводит к окислительному стрессу и биоэнергетической дисфункции. Повышенная проницаемость наружных и внутренних митохондриальных мембран приводит к гибели клеток в результате апоптоза или некроза [1]. Так, например, цимол не изменяет потребление кислорода дыхательной цепью, но уменьшает потенциал митохондриальной мембраны, снижает скорость фосфорилирования аденозиндифосфата и стимулирует потребление кислорода после фосфорилирования аденозинадифосфата [6]. В то же время практически отсутствуют данные о влиянии функционального состояния митохондрий клеток на реализацию биологических эффектов эфирных масел.

В эфирном масле полыни горькой преобладающие компоненты относятся к терпеновым углеводородам [13]. Известно, что монотерпены проходят через клеточную стенку и цитоплазматические мембраны, что приводит к нарушению мембраны, увеличению мембранной текучести и уменьшению активности встроенных в мембрану ферментов. В свою очередь, циклические терпеновые углеводороды способны накапливаться в мембране, что приводит к нарушению их целостности [7]. Противогрибковая активность терпеноидов обычно связана с наличием гидроксильных групп. Карвакрол и тимол, полученные из п-цимена, вызывают повреждение клеточной мембраны в результате взаимодействия со стеролами и, в частности, с эргостеролом, что обуславливает их противогрибковую активность [8,9]. Тимол структурно аналогичен карвакролу, но с отличающимся положением гидроксильной группы. Также, как и эвгенол, тимол взаимодействует с эргостеролом, вызывая повреждение клеточной мембраны [11].

Гумулен, также известный как α-кариофиллен, является изомером β-кариофиллена с раскрытым циклом, полученный из эфирного масла хмеля обыкновенного. Тем не менее, он также обладает мощной противовоспалительной активностью, равной дексаметазону, и является эффективным анальгетиком при местном, пероральном или аэрозольном применении. Гумулен стимулирует образование активных форм кислорода и может использоваться как противоопухолевый агент, вызывающий апоптоз раковых клеток [12].

Несмотря на широкое применение в пищевой промышленности и медицине, данных об влиянии эфирных масел полыни горькой и хмеля обыкновенного на митохондрии эукариотических клеток незначительно. Эфирные масла полыни горькой и хмеля обыкновенного обладают широким спектром использования в различных направлениях клинической медицины. Примером может служить применение этих эфирных масел в качестве седативных препаратов при неврологических заболеваниях, а также активное использование в ароматерапии. Данные эфирные масла входят в состав популярных лечебных препаратов доступных на территории стран СНГ («Ново-Пассит», «Седавит», «Невромед»).

В связи с выше сказанным, эфирные масла могут послужить основой для создания новых эффективных лекарственных средств, например, противоопухолевого действия. При этом они характеризуются отсутствием токсических и мутагенных побочных эффектов для здоровых тканей.

Целью данного исследования явилось установление механизмов биологического действия эфирных масел на мембранный потенциал в зависимости от функционального состояния митохондрий клеток. В качестве объекта исследования использовали культуру клеток *Saccharomyces cerevisiae*, для которой характерно переключение метаболизма с активного дыхания митохондрий на брожение с активацией гликолиза в зависимости от присутствия в среде кислорода, что сходно с метаболизмом опухолевых клеток. Биологические эффекты на уровне митохондрий исследовали для эфирных масел полыни горькой (*Artemisia absinthium)* и хмеля обыкновенного (*Humulus lupulus)*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы: Пептон, дрожжевой экстракт (Laboratorios CONDA, Испания), вода бидистиллированная (полученную с помощью системы сверхчистой воды miliQ), сульфат аммония, глюкоза (Реахим, Россия), L-глутамат, диметилсульфоксид (DMSO), зонд родамин 123, карбонилцианид-4-трифторметокси-фенилгидразон (FCCP) (Sigma Aldrich, St Louis, США). Использовали сырье полыни горькой (*Artemisia absinthium)* (Zakład Zielarski Kawon-Hurt Nowak Sp. J., Польша, 03.2020), шишки хмеля обыкновенного (*Humulus lupulus*) (Zakład Konfekcjonowania Ziół FLOS Elżbieta i Jan Głąb, Польша, 01.2021).

***Методы*:** Получение эфирного масла проводили методом гидродистиляции с использованием модифицированного аппарата Деринга. В колбу емкостью 2000 $см^3$ помещали 100 г измельченного в мелкую фракцию (0,25-0,50 мм) сырья и заливали его дистиллированной водой до 2/3 объема. Колбу помещали в колбонагреватель. Сконденсированная жидкость, состоящая из воды и мелких капель эфирного масла, спускалась по спиралевидной трубке помещенной внутрь обратного холодильника и попадала в приемник для сбора эфирного масла. Процесс гидродистилляции в стадии кипения продолжался не менее 3 ч. Отбор эфирного масла осуществляли с использованием шприца с длинной иглой. Во избежание погрешностей гидродистилляция проводилась в трехкратном повторении для каждого вида исследуемого сырья.

Компонентный состав эфирных масел определяли с помощью газового хроматографа Trace GC Ultra сопряженным с DSQ II Mass Spectrometer с детектором ионизации MS-FID splitter (Thermo Fisher Scientific, США). Неполярная капиллярная колонка (60 м × 0,25 мм × 0,25 мкм), активная фаза Rtx-1 1 ms Restek. Анализ был выполнен при следующих температурных параметрах: начальная температура 50 ° С на протяжении 3 минут, далее температура повышалась на 4 °С/мин до 310 °С. Газ-носитель – гелий с постоянным давлением 300 кПа. Объем пробы эфирного масла *Artemisia absinthium* – 0,5 мкл, эфирного масла *Humulus lupulus* – 0,3 мкл. Компонентный состав полученных эфирных масел определяли путем сравнения их масс-спектра со спектрами базы данных NIST MS Search 2.0 и по индексу удержания в колонке.

Культивирование клеток дрожжей *S. cerevisiae* в условиях брожения осуществляли с использованием питательной среды следующего состава: 1% дрожжевой экстракт, 2% пептон, 2% глюкоза. Для засева питательной среды использовали маточную культуру клеток дрожжей с количеством клеток 10^8. Культуру клеток инкубировали в термостате при температуре 30 °С.

Измерение оптической плотности клеток *S. cerevisiae* проводили на длине волны 600 нм (спектрофотометр Cary Varian 50, Австралия). В качестве пробы сравнения использовали стерильную жидкую питательную среду, на которой проводили культивирование клеток дрожжей. Оптическую плотность клеток дрожжей вычисляли по следующей формуле (1):

$$\Delta D_{600} = Dк^{600} - Dcp^{600}, \quad (1)$$

где ΔD_{600} – оптическая плотность клеток дрожжей;

$Dк^{600}$ – оптическая плотность бульонной культуры клеток дрожжей;

Dcp^{600} – оптическая плотность стерильной среды.

Для исследования мембранного потенциала митохондрий клеток *S. cerevisiae* использовали метод проточной цитофлуориметрии (BD FACSCanto™ II, США) с использованием в качестве флуоресцентного зонда родамин 123 в концентрации 5 мкМ, время инкубации 30 минут при 30 °С. В качестве разобщителя окислительного фосфорилирования использовали карбонилцианид-4-(трифторметокси) фенилгидразон (FCCP) в концентрации 9 мкМ (1 мин). Для исследования биологического действия на мембранный потенциал митохондрий культуры клеток *S. cerevisiae* использовали эфирное масло полыни горькой и хмеля обыкновенного в концентрациях от 10 до 500 мкМ. До момента добавления флуоресцентного красителя инкубацию проводили в течении 30 мин при температуре 30 °С в буфере следующего состава: L-глутаминовая кислота, сульфат аммония, глюкоза.

Статистический анализ проводили методами вариационной статистики при помощи однофакторного дисперсионного анализа (one-way ANOVA) с последующим сравнением данных экспериментальных групп с группой контроля, используя тест Даннета. Различия между исследованными группами признавались статистически достоверными при $p < 0,05$. Результаты представлены как средние арифметические ± стандартная ошибка среднего (SEM). Статистическая обработка проведена с использованием программы статистического анализа GraphPad Prism7.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Процентный выход эфирного масла полыни горькой и хмеля обыкновенного составил (0,323 ± 0,022) % и (0,29 ± 0,025) % соответственно. В эфирном масле полыни горькой методом ГХ-МС было обнаружено 146 компонентов, из которых идентифицировано 50 компонентов, массовая доля которых составляет 95 %. Преобладающим компонентом является мирцен, его содержание достигало 20 %. Также наблюдали высокое содержание сабинена и сабинил ацетата в среднем до 10 %. Содержание компонентов линалоол, β-туйон, β-кариофиллен, гермакрен D, хамазулен, геранил-α-терпинен и геранил-р-цимол в среднем не превышает 1,5 %. Полученные данные были сопоставлены с данными из литературных источников представлены в Таблице 1 [13, 14, 15].

Таблица 1 – Сравнение компонентного состава эфирного масла полыни горькой с литературными данными

Компонентный состав	Эфирное масло из *Artemisia absinthium*	
	Литературные данные [%]	Экспериментальные данные [%]
α- Пинен	3,8 ± 1,433	0,175 ± 0,175
Сабинен	**17 ± 4,953**	**10,31 ± 1,260**
β-Мирцене	**16,96 ± 7,274**	**17,51 ± 1,010**
1,8 - Цинеол	**12,56 ± 4,894**	0,245 ± 0,065
р-Цимен	1,96 ± 0,855	0,9 ± 0,160
β-Туйон	**12,56 ± 7,336**	4,085 ± 1,265
(Z)-Мироксид	3,72 ± 3,258	0,665 ± 0,285
Линалоол	**13,2 ± 3,056**	2,67 ± 0,450
β-Кариофиллен	1,44 ± 0,339	3,07 ± 0,150
Терпинен-4-ол	5,72 ± 2,557	1,025 ± 0,155
Сабинил ацетат	**36,72 ± 17,76**	**9,785 ± 2,205**
α-Терпинеол	2,48 ± 0,819	0,125 ± 0,015
Хризантенилацетат	**21,44 ± 9,307**	0,405 ± 0,085
Кариофиллен оксид	0,92 ± 0,309	0,785 ± 0,645
Карвакрол	0,88 ± 0,684	-*
α-Бисабол	1,68 ± 0,720	0,615 ± 0,005
Миристицин	0,88 ± 0,384	-*

** -компонент не обнаружен.*

Совпадение по максимальному содержанию компонентов эфирного масла наблюдается у сабинена, β-мирцена и сабинил ацетата. По сравнению с литературными данными, в экспериментальных данных значительно понижено процентное содержание действующих компонентов. Два компонента, карвакрол и миристицин, не были обнаружены. Отклонения от литературных данных обусловлено влиянием на химический состав эфирного масла региона произрастания полыни горькой [13].

В эфирном масле хмеля обыкновенного было обнаружено – 132 компонента, из которых был определен 31 компонент, массовая доля которых составляет 91 %. Преобладающим компонентом в эфирном масле хмеля обыкновенного являлся гумулен,

который присутствовал в концентрации от 11 % до 21 %. Также были определены компоненты (мирцен и кариофилен), содержание которых не превышает 10 %. Гумулен эпоксид II, кариофиллен оксид, β-кариофиллен, геранил изобутират, γ-кадинен, 4-деценовая кислота, α-мирцен, δ-кадинен имеют процентное содержание в исследуемом образце, не превышающее 1,5 % от общего числа компонентов. Полученные данные также были сопоставлены с данными из литературных источников представлены в Таблице 2[16, 17, 18, 19].

Таблица 2 – Сравнение компонентного состава эфирного масла хмеля обыкновенного с литературными данными

Компонентный состав	Эфирное масло из *Humulus lupulus*	
	Литературные данные [%]	Экспериментальные данные [%]
α-Пинен	0,125 ± 0,125	0,565 ± 0,125
β- Пинен	0,845 ± 0,225	0,36 ± 0,150
Мирцен	**32,88 ± 3,865**	**2,185 ± 0,775**
Лимонен	0,445 ± 0,155	-*
Линалоол	0,54 ± 0,120	0,465 ± 0,065
Гераниол	0,17 ± 0,170	-*
α-Копен	0,29 ± 0,030	0,91 ± 0,140
Кариофиллен	**7,615 ± 1,005**	**3,575 ± 1,105**
α-Гумулен	**20,11 ± 5,170**	**16,2 ± 4,810**
β-Селинен	0,29 ± 0,110	-*
α-Селинен	0,555 ± 0,015	0,755 ± 0,155
α-Кадинен	0,195 ± 0,035	-*
у-Кадинен	1,15 ± 0,030	1,8 ± 0,270
δ-Кадинен	1,655 ± 0,005	1,12 ± 0,030
Муруолен	0,645 ± 0,155	0,855 ± 0,855
Кариофиллен оксид	0,815 ± 0,435	3,45 ± 0,190
β-Фарнезен	**9,775 ± 0,915**	-*
Изобутил изобутират	0,165 ± 0,165	-*

* - *компонент не обнаружен.*

Исследуемое эфирное масло хмеля обыкновенного значительно отличается по компонентному и количественному составу от литературных данных. Так, содержание основных компонентов (мирцен, кариофиллен, α-гумулен) снижено в 15, 2 и 1,3 раза, соответственно. Компоненты В-фарнезен и изобутил изобутират не были обнаружены.

При воздействии эфирного масла полыни горькой на дрожжевые клетки наблюдали увеличение доли клеток с деполяризованными митохондриями в общей популяции на обеих фазах роста представлено на Рисунке 1. При повышении концентрации эфирного масла (500 мкМ) проявлялся эффект сопоставимый с эффектом FCCP.

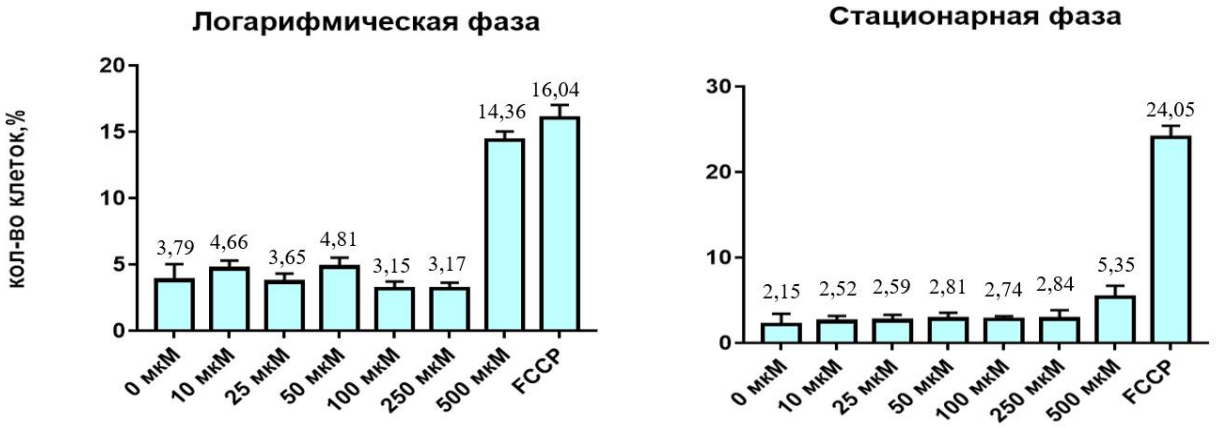


Рисунок 1– Доля клеток *S. cerevisiae* с деполяризованными митохондриями при воздействии эфирного масла *Artemisia absinthium*

На логарифмической фазе роста при повышении концентрации эфирного масла, наблюдали увеличение процента клеток с деполяризованными мембранами митохондрий в 3,5 раза в сравнении с контролем, что практически было сопоставимо с эффектом FCCP. На стационарной фазе показанная концентрационная зависимость была выражена в незначительной степени. Так, при максимальной концентрации исследуемого эфирного масла полыни горькой (500 мкМ) количество деполяризованных клеток увеличивается в 2,5 раза, а у FCCP этот показатель возрастает в 11 раз по сравнению с контрольной группой. При более низких концентрациях эфирного масла эффект не наблюдается, так как компонент эфирного масла вероятнее всего специфически не взаимодействует с комплексами электрон-транспортной системы и ферментными системами матрикса митохондрий. Эффект при концентрации 500 мкМ на обеих фазах вероятно обусловлен значительным накоплением компонентов эфирного масла во внутренней мембране митохондрий, что приводит к изменению физико-химических свойств мембраны (текучесть, вязкость). Изменение физико-химических свойств мембраны косвенно оказывает влияние на активность комплексов электрон-транспортной цепи, которые встроены во внутреннюю мембрану митохондрий в результате изменения их конформации и активности самих комплексов.

При воздействии эфирного масла хмеля обыкновенного наблюдали рост доли клеток с деполяризованными митохондриями при повышении концентрации эфирного масла, но в отличии от эфирного масла полыни горькой, эффект проявляется уже на более низких концентрациях представлено на Рисунке 2.

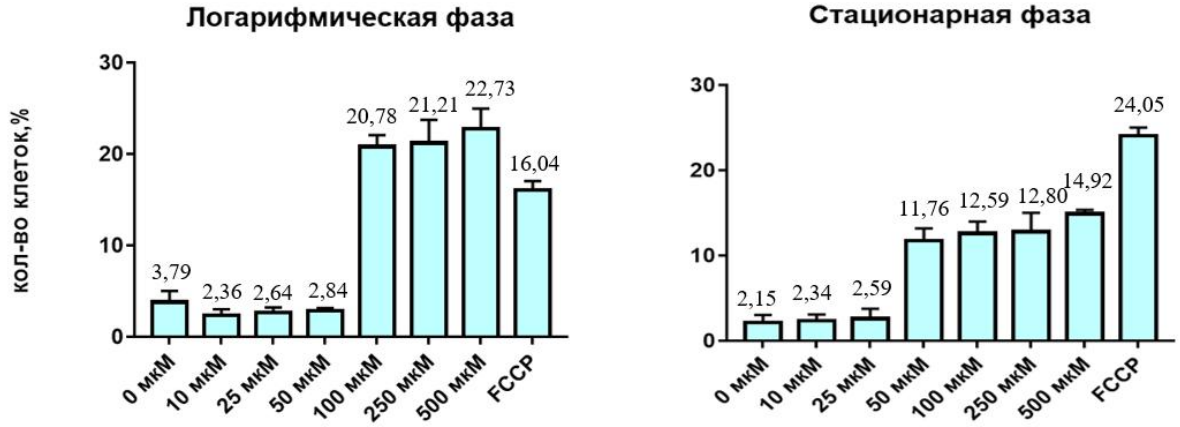


Рисунок 2 – Доля клеток *S. cerevisiae* с деполяризованными митохондриями при воздействии эфирного масла *Humulus lupulus*

На логарифмической фазе роста наблюдали увеличение процента клеток с деполяризованными митохондриями в 5,5 раз при концентрации эфирного масла 100 мкМ, в то время как в случае с FCCP процент деполяризованных клеток увеличивался только в 4 раза. На стационарной фазе наблюдали увеличение числа клеток с деполяризованными митохондриями начиная с концентрации 50 мкМ. Так, при этой концентрации исследуемого эфирного масла количество клеток с деполяризованными митохондриями увеличивается в 5,3 раза, а у FCCP этот показатель возрастает в 11 раз по сравнению с контрольным образцом. Также, как и в случае с эфирным маслом полыни, эффект на мембранный потенциал на стационарной фазе при воздействии эфирного масла хмеля обыкновенного был выражен слабее по сравнению с логарифмической фазой.

Следует отметить, что биологическое действие на мембранный потенциал митохондрий клеток дрожжей было более выражено в случае эфирного масла хмеля обыкновенного, чем у эфирного масла полыни горькой, что обусловлено различием в компонентном составе биологически активных веществ. Кроме того, вследствие того, что при сопоставимых концентрациях FCCP и эфирного масла, каких-либо изменений при действии эфирных масел в клетке не происходит, можно говорить о том, что эфирное масло хмеля обыкновенного также, как и эфирное масло полыни горькой не обладает протонофорным эффектом.

Появление деполяризованных клеток дрожжей при действии эфирных масел свидетельствует о нарушении митохондриального потенциала и работы митохондрий в целом, что обусловлено нарушением физико-химических свойств мембран митохондрий и, как следствие, сопровождается нарушением активности ферментативных комплексов дыхательной цепи митохондрий. В свою очередь, снижение активности комплексов приводит к наблюдаемому снижению мембранного потенциала митохондрий при действии эфирных масел. При повреждении митохондрий происходит выход цитохрома С, запускающего каспазы, которые играют важную роль в процессах апоптоза. Полученные результаты свидетельствуют о перспективном использовании эфирных масел полыни горькой и хмеля обыкновенного в таргетной терапии злокачественных новообразований.

ВЫВОДЫ

Биологическое действие эфирных масел обусловлено их компонентным составом, который зависит от биологического вида и региона произрастания растений. Эффекты эфирных масел на мембранный потенциал митохондрий определяется их компонентным составом и фазой роста культуры дрожжей клеток. В случае эфирного масла хмеля обыкновенного биологический эффект на мембраны митохондрий был выражен в большей степени. Механизмом биологического действия эфирных масел на мембраны митохондрий является нарушение активности комплексов дыхательной цепи митохондрий в большей степени, чем изменение проницаемости мембраны для протонов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Bakkali, F. Cytotoxicity and gene induction by some essential oils in the yeast *Saccharomyces cerevisiae* / F. Bakkali, S. Averbeck, et al. // J. Mutation Research.- 2005. - P. 1-13.
2. Lin, J. Chemical composition, antimicrobial and antitumor activities of the essential oils and crude extracts of Euphorbia macrorrhiza / J. Lin, et al. // Molecules. - Vol. 17 (5). – 2012. – P. 5030-5039.
3. Cecchini, M.E. Nanoemulsion of Minthostachys verticillata essential oil. In-vitro evaluation of its antibacterial activity / M.E. Cecchini, C. Paoloni, et al. // J. Heliyon. – 2021. – Vol.7(1): e05896. – P. 1-8.
4. Bakkali, F. Biological effects of essential oils – A review / F. Bakkali, S. Averbeck, et al. // J. Food Chem. – 2008. – Vol. 46. – P. 446-475.

5. Duchen, M. R. Mitochondria in health and disease: perspectives on a new mitochondrial biology / M. R. Duchen // Mol Aspects Med. - 2004. - Vol. 25, № 4. - P. 365-451.

6. Custódio, J. B. The essential oils component p-cymene induces proton leak through Fo-ATP synthase and uncoupling of mitochondrial respiration / J. B. Custódio, M. V. Ribeiro, F. S. Silva [et.al.] // Journal of experimental pharmacology – 2011. – Vol. 3. – P. 69-76.

7. Perrone, G.G. Reactive oxygen species and yeast apoptosis / G.G. Perrone, SX Tan, IW Dawes // J. Biochim Biophys Acta. – 2008. – Vol.1783(7). – P.1354-1368

8. Malizia, R. A. Essential Oil of Hop Cones (*Humulus lupulus L.*)/ R.A. Malizia [et al.]// Journal of Essential Oil Research. - 2014. - Vol.12. - P. 122-126

9. Martínez-Reyes I. TCA Cycle and Mitochondrial Membrane Potential Are Necessary for Diverse Biological Functions / I. Martínez-Reyes, L. P. Diebold, H. Kong //J. Mol Cell. – 2016. – Vol. 61. – P. 199-209.

10. Nance, M. R. Volatile components of aroma hops (*Humulus lupulus L.*) commonly used in beer brewing. Nance, M.R., Setzer, // W.N. Journal of Brewing and Distilling. - 2011. - N 2. - P.16 -22.

11. Nunnari, J. Mitochondria: In Sickness and in Health / J. Nunnari, A. Suomalainen. // Cell. – 2012. – Vol.148. – P. 1145-1159.

12. Hartsel, J. A. Cannabis sativa and Hemp / J. Hartsel, J. Eades, et.al. // Nutraceuticals – 2016. – P. 735 - 754.

13. Mohammadi, A. Seasonal variation in the chemical composition, antioxidant activity, and total phenolic content of *Artemisia absinthium* essential oils / A. Mohammadi, et.al. // Pharmacognosy research – 2014. – Vol. 7 – P. 329-334

14. Llorens-Molina, J. A. Variability of essential oil composition of wormwood (*Artemisia absinthium L.*) affected by plant organ./ J.A. Llorens-Molina [et al.]// Journal of Essential Oil Research. - 2017. - Vol. 29. - P. 11-21

15. Obistioiu, D. Chemical characterization by GC-MS and in vitro activity against *Candida albicans* of volatile fractions prepared from *Artemisia dracunculus*, *Artemisia abrotanum*, *Artemisia absinthium* and *Artemisia vulgaris* / D. Obistioiu [et.al.] // Chem Cent J.- 2014. N.8(1):6 – P. 1-11

16. Kobus-Cisowska, J. Composition and In Vitro Effect of Cultivars of *Humulus lupulus L*. Hops on Cholinesterase Activity and Microbial Growth / J. Kobus-Cisowska [et al.]// Nutrients. - 2019. N.11(6) - P.1377

17. Malizia, R. A. Essential Oil of Hop Cones (*Humulus lupulus L.*)/ R. A. Malizia [et al.]// Journal of Essential Oil Research. - 2014. - Vol.12. - P. 122-126

18. Olsovska, J. *Humulus lupulus L*. (HOPS) - A Valuable source of compounds with be active effects for future therapies / J. Olsovska [et al.] // Mil. Med. Sci. Left. (Com. A dead. Listy). - 2016. - Vol.85(1). - P.19-30

19. Leonardi, M. Characterisation of four popular Polish hop cultivars/ M. Leonardi [et al.]// International Journal of Food Science and Technology. - 2013. - N 48. - P. 1770-1774

INFLUENCE OF ESSENTIAL OILS OF *ARTEMISIA ABSINTHIUM* AND *HUMULUS LUPULUS* ON THE DYNAMICS OF THE MITOCHONDRIAL MEMBRANE POTENTIAL OF *S. CEREVISIAE* CELLS

Semitko I.S.[1,a)] , Bekhter A.[2], Ph.D.in Biological Sciences Cheshchevik V.T. [1], Prof. Ph.D., D.Sc. in Biological Sciences Śmigielski K.[2]

1-Polessky State University (Belarus, Pinsk, Dneprovskoy flotilii, 23), 225710

2- Lodz University of Technology,(Poland, Lodz, Żeromskiego 116) 90-924

a) corresponding author – semitcko.i@yandex.ru

Abstract. Essential oils have significant biological activity, including the effect on structural components. They are able to easily penetrate into the cell and influence its vital activity, increase the fluidity and permeability of mitochondrial membranes, thereby contributing to the induction of apoptosis. Mitochondria are the main agent in the cell and are involved in the regulation of many functions. Studying the mechanism of the effect of essential oils on the level of mitochondria can serve as a basis for the creation for new drugs, realizing their action at the level of mitochondria. The getting of essential oils of wormwood and hops was carried out by hydrodistillation using a modified Dering apparatus. The qualitative and quantitative composition of essential oils was determined using gas chromatography-mass spectrometry. Using flow cytometry, the effect of essential oils on the level of mitochondrial membrane potential of *Saccharomyces cerevisiae* cells at logarithmic and stationary growth phases was investigated using a rhodamine 123 probe. The protonophore effect of essential oils was studied at concentrations (from 10 - 500 μM). FCCP (carbonyl cyanide-4-trifluoromethoxy-phenylhydrazone) was used as a standard protonophore. The predominant component of the essential oil of wormwood is myrcene (content 20 %). The predominant component of common hop essential oil was humulene (content 21 %). Under the influence of the common hop essential oil, an increase in the percentage of cells with depolarized mitochondria was observed with an increase in its concentration, but in contrast to the essential oil of wormwood, the effect is already manifested at lower levels.

***Keywords**: essential oil, mitochondria, mitochondrial membrane potential, Saccharomyces cerevisiae, Artemisia absinthium, Humulus lupulus, flow cytometry.*

УДК 615.322:615.072 DOI: 10.52101/9785870191003_2021_474

СТАНДАРТИЗАЦИЯ СУХОГО ЭКСТРАКТА ЛИСТЬЕВ ПЛЮЩА ОБЫКНОВЕННОГО

Солодухина А. А.[a)], доцент, к.фарм.н. Брежнева Т. А., профессор, д.фарм.н. Сливкин А. И.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Воронежский государственный университет», Российская Федерация, Воронеж, Университетская площадь, д.1, 394018

а) автор для переписки – ania.soloduhina@yandex.ru

Аннотация. В настоящее время достаточно остро стоит проблема создания новых лекарственных препаратов растительного происхождения, которая может быть решена путем повышения качества существующих и внедрения новых фитопрепаратов. Плющ обыкновенный (*Hedera helix* L., сем. *Araliaceae*) на протяжении десятилетий привлекает внимание исследователей как растение, содержащее тритерпеновые сапонины, потенциально обеспечивающие широкий спектр фармакологической активности, но нашедшее применение, в основном, в качестве отхаркивающего, муколитического средства. Растение не является официнальным в России, хотя получило официальный статус в ряде зарубежных стран, в связи с чем становятся актуальными исследования по стандартизации сухого экстракта листьев плюща обыкновенного с перспективой включения в Государственную фармакопею Российской Федерации. Целью данного исследования являлось определение ряда показателей, характеризующих качество сухого экстракта листьев плюща обыкновенного и необходимых для его стандартизации. В ходе исследования проведены качественные реакции на основную группу биологически активных веществ в сухом экстракте листьев плюща обыкновенного – сапонины; определен ряд показателей, характеризующих качество сухого экстракта и необходимых для его стандартизации и формирования раздела «Испытания» разрабатываемой нормативной документации на фармацевтическую субстанцию растительного происхождения «Плюща обыкновенного листьев экстракт сухой».

Ключевые слова: *плющ обыкновенный, листья, сапонины, сухой экстракт, стандартизация*

ВВЕДЕНИЕ

Проблема создания новых лекарственных препаратов растительного происхождения является одной из ключевых в современной фармации и медицине и может быть решена за счет повышения качества существующих и внедрения новых лекарственных растительных препаратов. Количество растений, используемых в качестве лекарственных, очень велико, но лишь незначительная их часть признана официнальной и входит в современную фармакопею.

Среди биологически активных веществ растительного происхождения, обладающих отхаркивающей и муколитической активностью, важное место занимают растения, содержащие тритерпеновые сапонины. Одним из таких растений является плющ обыкновенный (*Hedera helix* L., сем. *Araliaceae*), обладающий широким спектром фармакологической активности. Растение не является официнальным в России, хотя получило официальный статус в ряде зарубежных стран [1].

В этом случае актуальность приобретают исследования по стандартизации сухого экстракта листьев плюща обыкновенного с перспективой внедрения в официнальную медицину и включения в Государственную фармакопею РФ.

Целью исследования являлось определение ряда показателей, характеризующих качество сухого экстракта листьев плюща обыкновенного и необходимых для его стандартизации.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы. Объектом исследования являлся сухой экстракт, полученный методом перколяции навески измельченных (размер частиц 0,2-0,5 мм) высушенных листьев плюща обыкновенного, заготовленных с репродуктивных побегов летом 2019 г. в Крыму, десятикратным количеством экстрагента (спирт этиловый 40%-й), последующим выпариванием, высушиванием полученного экстракта и доведением инертным наполнителем (лактоза) до исходной массы навески. Условия экстрагирования были выбраны в соответствии с предшествующими исследованиями по подбору оптимальных условий экстрагирования биологически активных веществ из листьев плюща обыкновенного [2].

Методы. Основные показатели качества полученного сухого экстракта листьев плюща обыкновенного определяли в соответствии с требованиями ОФС.1.4.1.0021.15 ГФ XIV «Экстракты» [3].

Определение внешних признаков сухого экстракта проводили визуально.

Определение потери в массе при высушивании осуществляли в соответствии с требованиями ОФС.1.2.1.0010.15 «Потеря в массе при высушивании» путем высушивания точной навески экстракта в течение 2 часов при температуре 100-105^{0}С до постоянной массы и последующего взвешивания [3].

Насыпной объем сухого экстракта листьев плюща обыкновенного определяли в соответствии с требованиями раздела «Определение насыпного объема» ОФС.1.4.2.0016.15 «Степень сыпучести порошков» на приборе для вибрационного уплотнения порошков 545 Р-АК-3 (Мариупольский завод технологического оборудования, Украина) [3].

Определение гранулометрического состава сухого экстракта проводили согласно ОФС.1.1.1.0015.15 «Ситовой анализ». Фракции выделяли с помощью комплекта фармакопейных сит (размер ячеек 3 мм, 2 мм, 1 мм, 0,5 мм, 0,2 мм) (ООО «Вибротехник», РФ) [3].

Пробу для определения содержания тяжелых металлов подготавливали и исследовали согласно методике 2д, указанной в ОФС.1.5.3.0009.15 «Определение содержания тяжелых металлов и мышьяка в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах», на аналитическом комплексе на базе атомно-абсорбционного спектрометра МГА-915МД (ООО «Люмэкс», РФ). [3].

Качественное определение сапонинов в сухом экстракте листьев плюща обыкновенного проводили с использованием общепринятых качественных реакций [4], а также методом тонкослойной хроматографии по методике, разработанной Л.А. Яковишиным с соавторами [5].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты определения ряда показателей качества сухого экстракта листьев плюща обыкновенного приведены в Таблице 1.

Таблица 1 – Показатели качества сухого экстракта листьев плюща обыкновенного

Наименование показателя	Методы	Требования к показателям качества	Характеристика образца
Описание	Визуально	-	Светло-коричневый порошок с размером частиц до 0.5 мм со специфическим запахом и

			горьковатым вкусом
Потеря в массе при высушивании, %	ОФС.1.2.1.0010.15 Потеря в массе при высушивании (способ 1)	Не более 5,00	2,70±0,01
Насыпной объем, г/см^3	ОФС.1.4.2.0016.15 Степень сыпучести порошков, раздел «Определение насыпного объема»	-	1,05±0,01
Гранулометрический состав, %	ОФС.1.1.1.0015.15 Ситовой анализ	-	Более 0,5 мм – 0,3%±0,01; от 0,2 до 0,5 мм – 46,63%±0,03; до 0,2 мм – 50,52%±0,01
Тяжелые металлы, %	ОФС.1.5.3.0009.15 Определение содержания тяжелых металлов и мышьяка в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах (метод 2д) ОФС.1.4.1.0021.15 Экстракты	Не более 0,01	0,0052±0,0005
Подлинность сапонинов	1. Качественные реакции	1. Реакция на пенообразование 2. Реакция Сальковского (хлороформ + серная кислота) - органический слой темно-оранжевого цвета 3. 1% спиртовой раствор холестерина - помутнение раствора	Соответствует
	2.ОФС.1.2.1.2.0003.15 Тонкослойная хроматография	После обработки хроматограммы 0,2 % спиртовым раствором параоксибензальдегида в 1М серной кислоте обнаруживаются зоны абсорбции малинового (стероидные	

		агликоны), розового (производные олеаноловой кислоты), фиолетового (производные хедерагенина) цветов	

Таким образом, был определен ряд показателей качества сухого экстракта листьев плюща обыкновенного, необходимых для его стандартизации.

ВЫВОДЫ

Проведены исследования по стандартизации сухого экстракта листьев плюща обыкновенного с перспективой внедрения его в официнальную медицину и включения в Государственную фармакопею РФ.

Проведены качественные реакции на сапонины в сухом экстракте листьев плюща обыкновенного, определен ряд показателей, характеризующих его качество и необходимых для стандартизации и формирования раздела «Испытания» разрабатываемой нормативной документации на фармацевтическую субстанцию растительного происхождения «Плюща обыкновенного листьев экстракт сухой».

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. European pharmacopoeia - 8th edition. Published 15 July 2013 [Электронный ресурс]. Режим доступа: http://www.fptl.ru/biblioteka/farmakopei/evropeyskaya_farmakopeya_8_vol-1.pdf (Дата обращения: 20.03.2021).

2. Солодухина, А. А. Подбор оптимальных условий экстрагирования биологически активных веществ из листьев плюща обыкновенного / А. А. Солодухина, Т. А. Брежнева, А. И. Сливкин // Современные тенденции развития технологий здоровьесбережения (ФГБНУ ВИЛАР, 17-18 декабря 2020 г.). - Москва, 2021 г. - с.280-286.

3. Государственная Фармакопея Российской Федерации. – XIV изд.: в 4 т. [Электронный ресурс] М.: Министерство Здравоохранения Российской Федерации, 2018. – Режим доступа: http://www.femb.ru/feml (Дата обращения 20.03.2021).

4. Ладыгин, Е. Я. Химический анализ лекарственных растений: учебное пособие для фармацевтических вузов /Е. Я. Ладыгин, Л. Н. Сафронич и др. - М.: Высшая школа, 1983 - 176 С.

5. Яковишин, Л. А. Сапонины фитокомплекса «Хедерикс +» / Л. А. Яковишин, В. И. Гришковец, Е.Н. Корж // Ученые записки Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского «Биология, химия». - 2015. - Т. 1 (67). № 4. - С. 163-169.

STANDARDIZATION OF THE IVY'S LEAVES DRY EXTRACT

Solodukhina A. A.[a)], Associate Professor, Ph.D. in Pharmacy Brezhneva T. A,
Professor, D.Sc. in Pharmacy Slivkin A. I.
Voronezh State University Russian Federation, Voronezh, Universitetskaya square, 1, 394018
a) corresponding author – ania.soloduhina@yandex.ru

Abstract. Currently, the problem of creating new herbal medicines is quite acute, which can be solved by improving the quality of existing and introducing new herbal medicines. Common ivy (*Hedera helix* L., *Araliaceae*) has attracted the attention of researchers for decades as a plant containing triterpene saponins, potentially providing a wide range of pharmacological activity, but found application mainly as an expectorant, mucolytic agent. The plant is not official in Russia, although it received an official status in a number of foreign countries, in connection with which studies on the standardization of dry extract of ordinary ivy leaves with the prospect of inclusion in the State Pharmacopoeia of the Russian Federation are becoming relevant. The purpose of this study was to determine a number of indicators characterizing the quality of dry extract of common ivy leaves and necessary for its standardization. In the course of the study, qualitative reactions were carried out for the main group of biologically active substances in the dry extract of ordinary ivy leaves - saponins; determined a number of indicators characterizing the quality of the dry extract and necessary for its standardization and the formation of the "Tests" section of the developed regulatory documentation for the pharmaceutical substance of plant origin "Ivy leaf dry extract".
Keywords: *ivy, leaves, saponins, dry extract, standardization.*

УДК:111.111 DOI: 10.52101/9785870191003_2021_479

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА КОЛИЧЕСТВЕННОГО СОДЕРЖАНИЯ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ *APIUM GRAVEOLENS* L., СПОСОБСТВУЮЩИХ СНИЖЕНИЮ МАССЫ ТЕЛА

Сурбеева Е. С.

Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет, Российская Федерация, г. Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, лит.А, 197376
bazanova.elizaveta@pharminnotech.com

Аннотация. Методом ВЭЖХ было изучено количественное содержание хлорогеновой кислоты, кемпферола и рутина в черешках сорта «Малахит» и листьях сорта «Нежный» сельдерея пахучего (*Apium graveolens* L.). Исходя из данных литературы, анализируемые соединения играют значительную роль в коррекции избыточного веса, так как способствуют уменьшению массы тела и уровня липидов в плазме крови. Установлено, что количественное содержание всех целевых компонентов превалирует в сельдерее листовом, а мажоритарным веществом является кемпферол (1,05 %). По результатам анализа листья сельдерея пахучего можно позиционировать как потенциальный источник биологически активных веществ для профилактики и лечения ожирения. При этом, разнообразие сортов сельдерея листового делает актуальным поиск оптимального сорта для применения в медицине.

Ключевые слова: *сельдерей пахучий, фенольные соединения, ВЭЖХ, избыточная масса тела, ботанические формы*

ВВЕДЕНИЕ

Согласно данным всемирной организации здравоохранения [1], на 2016 год зарегистрировано более 1,9 миллиарда людей старше 18, имеющих избыточный вес. Среди них 641 миллион человек страдает от ожирения. Одним из основных осложнений данной патологии являются кардиоваскулярные заболевания, при возникновении которых важно следить за уровнем липидов в крови во избежание сердечно-сосудистых событий. Масштабность данной патологии обуславливает актуальность поиска биологически активных веществ (БАВ) растительного происхождения, а также их сырьевых источников, фармакологическая активность которых направлена на коррекцию избыточной массы и уменьшение липидного профиля плазмы крови.

Данные литературы [2] о влиянии различных классов соединений на динамику ожирения и уровень липидов в крови, отмечают активность фенольных соединений в отношении данной патологии. Кемпферол и другие флавоноиды [3] уменьшают гипергликемию, инсулинорезистентнось и кумуляцию липидов в печени. Для хлорогеновой кислоты [4] и рутина [5] отмечается способность снижать вес тела, массу печени и жировой ткани, а также размер адипоцитов. Помимо этого, хлорогеновая кислота [4] способствуют снижению уровня триглицеридов и холестерина в плазме крови, а рутин [5] снижает уровень глюкозы в крови и подавляет воспаление жировой ткани, вызванное пальмитиновой кислотой. Поэтому поиск сырьевых источников данных соединений обуславливает актуальность исследований растительного сырья.

Сельдерей пахучий (*Apium graveolens,* L.) представляет собой двулетнее травянистое растение семейства *Apiaceae* и относится к пищевой культуре, широко распространенной в Российской Федерации и имеющей значительные и легко возобновляемые сырьевые запасы. Сельдерей существует в трех ботанических формах (корневой, черешковый и листовой), которые, согласно Государственному реестру селекционных достижений, допущенных к использованию [6], суммарно представлены 65 различными сортами (31 сорт корневого, 34 - черешкового и листового). Данные сорта отличаются урожайностью и стрессоустойчивостью к различным факторам окружающей среды. Согласно данным литературы [7], компонентный

состав сельдерея включает различные фенольные соединения: хлорогеновую и кофейную кислоты, апигенин, лютеолин, кемпферол и др. Ранее нами методом ВЭТСХ был установлен компонентный состав фенольных соединений. Показано, что сельдерей корневой, сельдерей черешковый сорта «Малахит» и сельдерей листовой сорта «Нежный» содержат хлорогеновую, сиреневую и салициловую кислоты, а также кемпферол, рутин и апигенин. Сравнительный анализ разных сортов сельдерея листового («Паскаль», «Юта», «Захар» и «Бодрый») установил [8] наличие в них хлорогеновой и салициловой кислот, кемпферола, рутина и апигенина. Помимо этого, нами было отмечено, что компонентный состав сортов «Нежный» и «Паскаль» отличаются от сортов «Захар» и «Юта», которые примерно схожи. Данных о сравнительной количественной оценки фенольных соединений в разных ботанических формах и сортах сельдерея в литературных источниках нет. Фармакологическая активность сельдерея, согласно исследованиям [9], направлена на уменьшение массы тела и печени, а также снижение уровня липидов и глюкозы в крови, что коррелирует с данными литературы по химическому составу фенольных соединений.

Таким образом, сельдерей пахучий можно позиционировать как потенциальный источник БАВ для коррекции массы тела.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы. В качестве объектов исследования использовали сельдерей черешковый сорта «Малахит» и сельдерей листовой сорта «Нежный». Листья заготавливали в Питомнике лекарственных растений ФГБОУ ВО СПХФУ (пос. Лемболово, Всеволожский район, Ленинградская область) в августе-сентябре 2020 года, черешки приобретали в торговой сети г. Санкт-Петербурга (по информации на упаковке страна происхождения – Россия, период заготовки – сентябрь 2020). Свежее сырье высушивали методом естественной воздушно-теневой сушки с соблюдением правил сушки эфиромасличного сырья (толстый слой сырья, частое переворачивание).

Методы. Извлечения из сырья сельдерея массой около 2,0 г (точная навеска) получали методом трехкратной экстракции (10мл-10мл-5мл) в течение 30 минут, в качестве растворителя использовали спирт этиловый 70 % (номер паспорта МЦ0000001338, срок годности - бессрочный). Полученные растворы фильтровали в мерную колбу на 25 мл и доводили до метки этанолом 70 %.

Для приготовления растворов стандартных образцов (СО) использовали хлорогеновую кислоту (EP CRS, партия 3, годен до 02.22., EDQM, Ph. Eur 10.0), рутин (рутозида тригидрат EP CRS, партия 4, годен до 09.21., EDQM, Ph. Eur 10.0), кемпферол (вторичный фармацевтический стандартный образец, партия №SA00550580, годен до 06.21, Sigma Aldrich). Растворы СО готовили в концентрациях 1,07 мг/мл – хлорогеновая кислота, 0,05 мг/мл – кемпферол, 0,1 мг/мл – рутин (растворитель – этанол 96 %) и использовали для построения калибровочного графика.

Анализ извлечений проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) на приборе Prominence LC-20 (Shimadzu, Япония) по валидированной методике. Условия анализа приведены в Таблице 1.

Таблица 1 – Параметры хроматографического анализа

Детектор	Диоидно-матричный
Колонка	«SUPELCOSIL» LC-18 (250 х 4,6, сорбент 5 мкм)
Скорость потока элюента	1 мл/мин
Температура	40 °С
Объем вводимой пробы	10 мкл
Элюент:	

компонент А	Вода для хроматографии (получена с использованием системы для подготовки воды Sartorius Arium Mini, Россия)
компонент В	Ацетонитрил («gradient grade for liquid chromatography», Fisher Chemical, годен до 10.2021, партия 1873683, Merck) с содержанием трифторуксусной кислоты 0,1 % («осч», годен до 09.21, партия 9263783, Merck)

Градиент

Время (мин)	Скорость потока (мл/мин)	Концентрация компонента А (%)	Концентрация компонента В (%)
0,01	1,00	95	5
5,00	1,00	95	5
45,75	1,00	0	100
50,00	1,00	0	100
60,00	1,00	95	5
65,00	1,00	95	5

Содержание конкретного соединения в сырье сельдерея в процентах (X) и пересчете на абсолютно сухое сырье вычисляли по формуле:

$$X = \frac{\text{C x 25000 x 100 x 100}}{V\ \text{пр x a x (100}-\text{W)}}$$, где

C – содержание конкретного фенольного соединения, найденное по калибровочному графику, мкг;

V пр – объем вводимой пробы, мкл;

a – масса навески сырья, мкг;

W – потеря в массе при высушивании

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Хроматограммы СО и калибровочные графики представлены на рисунках 1-3.

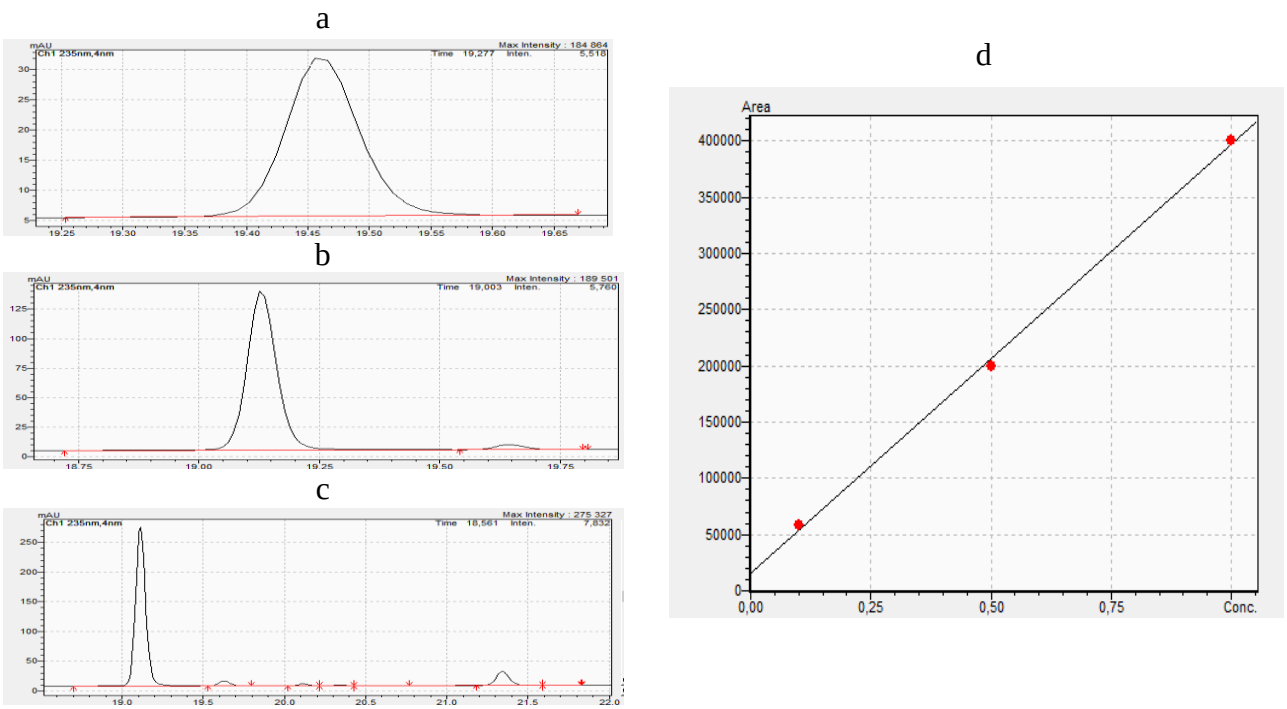


Рисунок 1 – построение калибровочного графика для рутина; хроматограммы СО рутина: a – C = 0,1 мкг; b – C = 0,5 мкг; c – C = 1 мкг; d – калибровочный график.

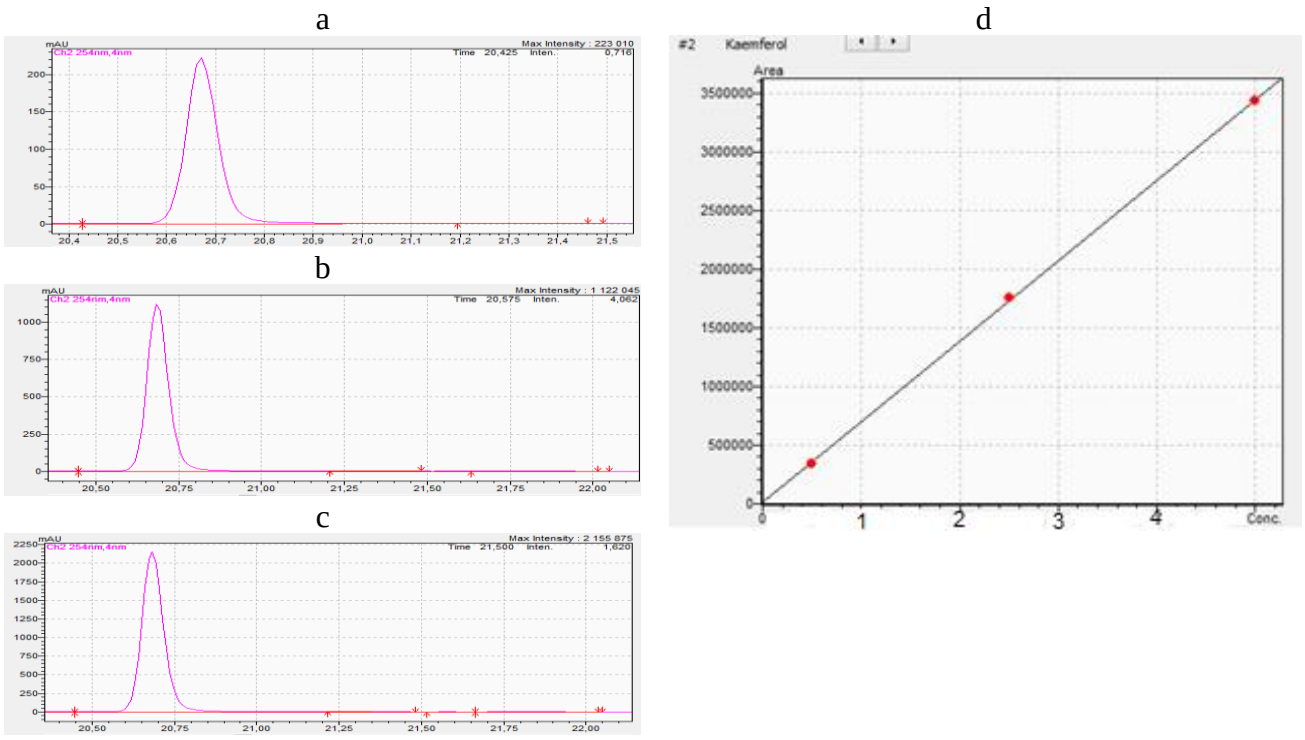


Рисунок 2 – построение калибровочного графика для кемпферола; хроматограммы СО кемпферола: a - C = 0,5 мкг; b – C = 2,5 мкг; c – C = 5 мкг; d – калибровочный график

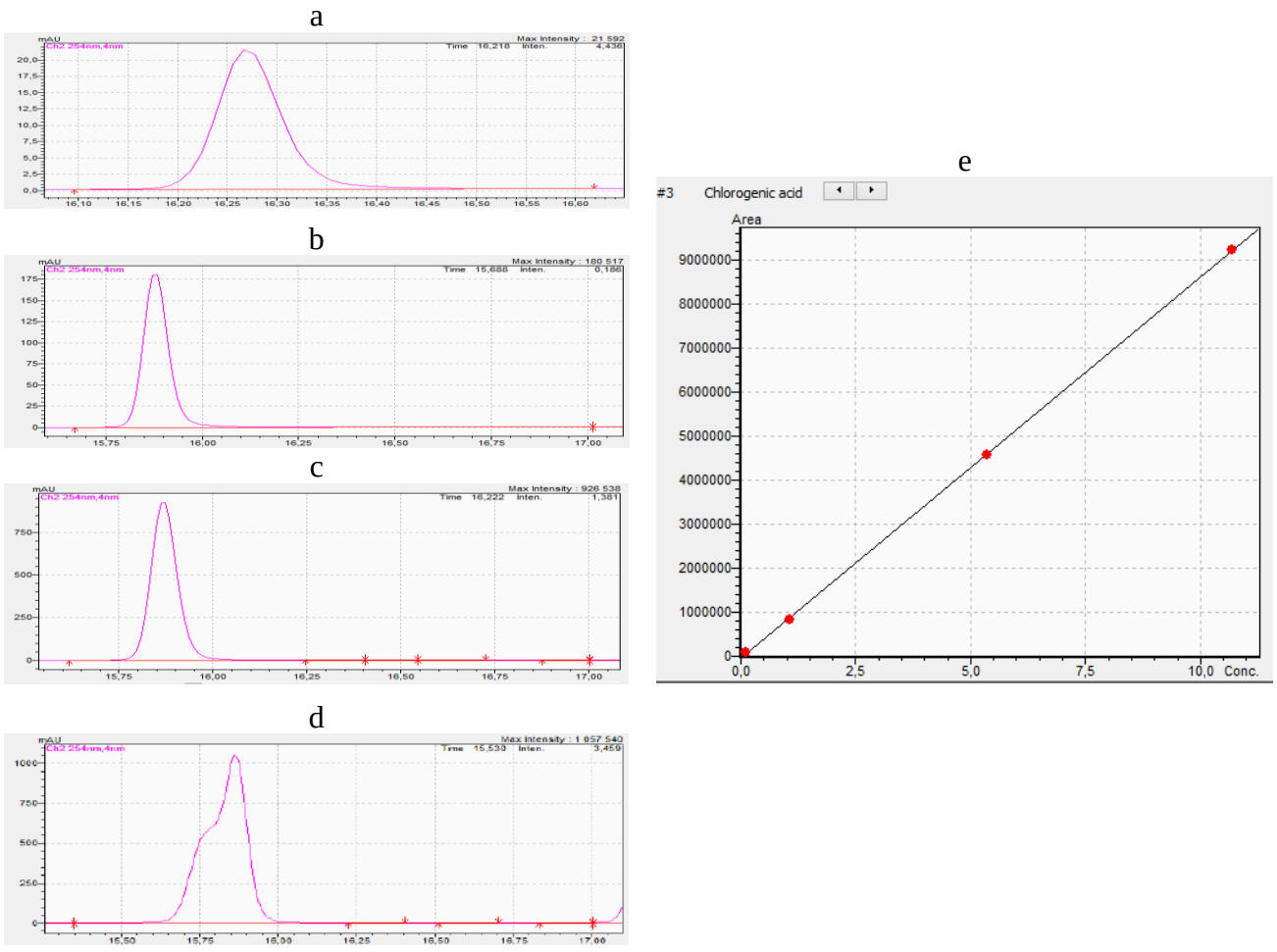


Рисунок 3 – построение калибровочного графика для хлорогеновой кислоты; хроматограммы СО хлорогеновой кислоты: a - C = 0,107 мкг; b – C = 1,07 мкг; c – C = 5,35 мкг; d – C = 10,7 мкг; e - калибровочный график

Результаты изучения фенольных соединений сельдерея пахучего представлены на рисунках 4-5 и в таблице 2.

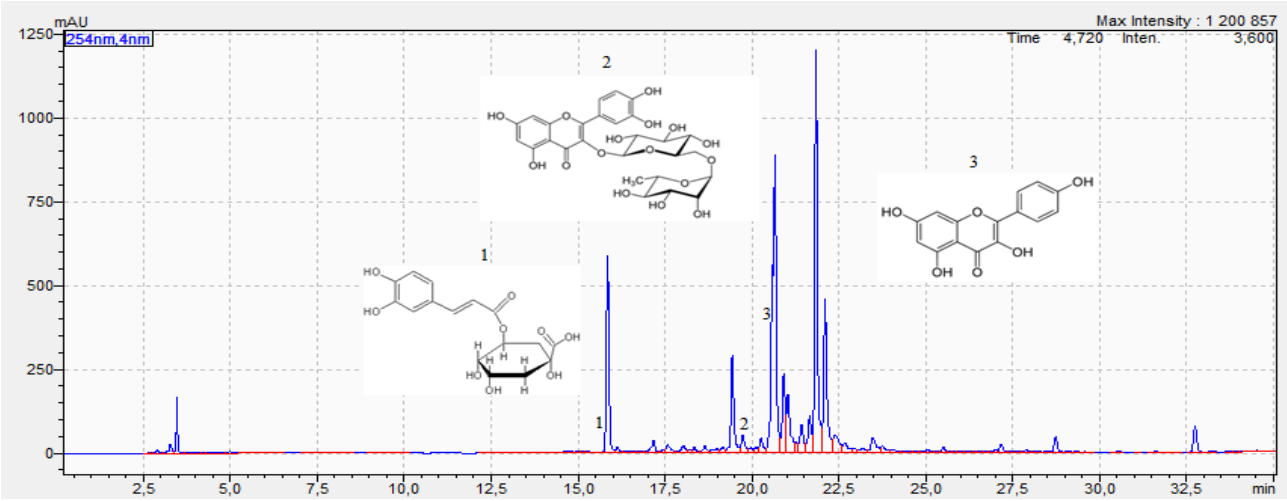


Рисунок 4 – Хроматограмма извлечения из листьев сельдерея пахучего (сорт «Нежный»): 1 – хлорогеновая кислота; 2 – рутин; 3 – кемпферол

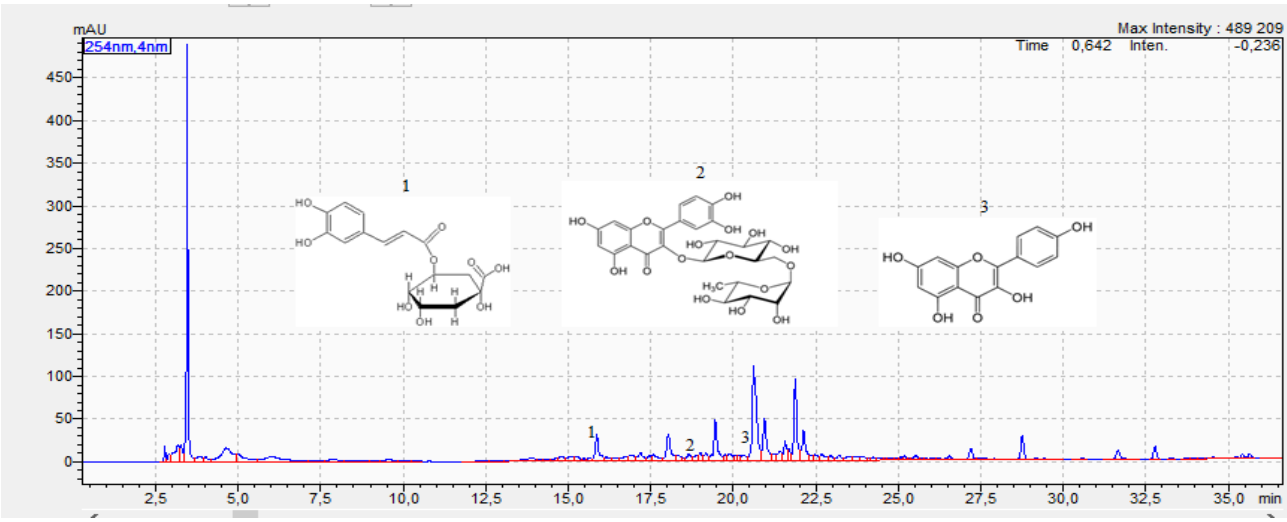


Рисунок 5 – Хроматограмма извлечения из черешков сельдерея пахучего (сорт «Малахит»): 1 – хлорогеновая кислота; 2 – рутин; 3 – кемпферол

Таблица 2 – Результаты количественного определения фенольных соединений в сырье сельдерея пахучего

Анализируемое сырье	Фенольное соединение	Время удерживания	Концентрация, найденная по калибровочному графику, мкг	Содержание в сырье сельдерея, %
Сельдерей листовой (сорт «Нежный»)	Рутин	19,16	0,406 ± 0,011	0,05
	Кемпферол	20,66	8,990 ± 0,418	1,05
	Хлорогеновая кислота	15,85	3,054 ± 0,167	0,4
Сельдерей черешковый (сорт «Малахит»)	Рутин	19,18	0,207 ± 0,011	0,03
	Кемпферол	20,614	1,346 ± 0,050	0,2
	Хлорогеновая кислота	15,87	0,335 ± 0,005	0,04

Как видно из результатов, представленных на рисунках 4-5 и в таблице 2, накопление всех целевых соединений превалирует в сельдерее листовом и значительно превышает аналогичные показатели в черешках. Причем в максимальной концентрации (1,05%) накапливается кемпферол.

ВЫВОДЫ

Таким образом, исходя из результатов анализа, сельдерей листовой можно позиционировать как оптимальную ботаническую форму сельдерея пахучего для разработки пищевых добавок для диетического питания и коррекции избыточной массы тела. При этом, разнообразие сортов делает актуальным поиск сорта для медицинского применения, накопление целевых соединений в котором будет максимально.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают благодарность научным сотрудникам кафедры фармакогнозии ФГБОУ СПХФУ – Анастасии Понкратовой и Андрею Уэйли за помощь в проведении экспериментальной части работы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ожирение и избыточный вес / Всемирная организация здравоохранения. URL: https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight (дата обращения: 02.04.2021)
2. Sun, N.N. Natural Dietary and Herbal Products in Anti-Obesity Treatment / N.N. Sun, T.Y Wu., C.F. Chau // Molecules. – 2016. – 21(10). – 1351.
3. Kawser, H. M. Molecular Mechanisms of the Anti-Obesity and Anti-Diabetic Properties of Flavonoids / H. M. Kawser, A. Dayem, J. Han ect. // International journal of molecular sciences. –2016. –17(4). – 569.
4. Wang, Z. Chlorogenic acid alleviates obesity and modulates gut microbiota in high-fat-fed mice / Z. Wang, K.L. Lam, J. Hu ect. // Food science & nutrition. – 2019. – 7,2. – 579-588.
5. Gao, M. Rutin suppresses palmitic acids-triggered inflammation in macrophages and blocks high fat diet-induced obesity and fatty liver in mice / M. Gao, Y. Ma, D. Liu // Pharmaceutical research. – 2013. – 30(11). – 2940-2950.
6. Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию. Том 1. Сорта растений. / ФГБУ Государственная комиссия Российской Федерации по испытанию и охране селекционных достижений. URL: https://gossortrf.ru/wp-content/uploads/2020/03/FIN_reestr_dop_12_03_2020.pdf (дата обращения: 05.04.2021)
7. Al-Asmari A.K. An Updated Phytopharmacological Review on Medicinal Plant of Arab Region: Apium graveolens Linn. / A. K. Al-Asmari, M.T. Athar, S.G, Kadasah // Pharmacognosy Reviews. – 2017. – 11(21). – 13-18.
8. Сурбеева, Е. С. Сравнительная идентификация фенольных соединений разных сортов сельдерея пахучего листового / Е. С. Сурбеева, И. И. Тернинко // Современные достижения фармацевтической науки в создании и стандартизации лекарственных средств и диетических добавок, содержащих компоненты природного происхождения (НФаУ, 02.04.2021). – Харьков, 2021. – 185-186.
9. Cho, B.O.Anti-obesity effects of a mixed extract containing Platycodon grandiflorum, Apium graveolens and green tea in high-fat-diet-induced obese mice / B.O. Cho, J. Choi, H.J. Kang ect. // Experimental and Therapeutic Medicine. – 2020. – 19(4). – 2783-2791.

COMPARATIVE ASSESSMENT OF THE QUANTITATIVE CONTENT OF PHENOLIC COMPOUNDS OF *APIUM GRAVEOLENS* L., PROMOTING WEIGHT LOSS

Professor, D.Sc. in Pharmacy Terninko I. I., Surbeeva E. S.[a)]
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University; 14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
a) corresponding author – bazanova.elizaveta@pharminnotech.com

Abstract. HPLC was used to study the quantitative content of chlorogenic acid, kaempferol and rutin in the stalks of the "Malakhit" variety and the leaves of the "Nezhnyj" variety of celery (Apium graveolens L.). Based on the literature data, the analyzed compounds play a significant role in the correction of body weight, since they contribute to a decrease in body weight and the level of lipids in blood plasma. It was found that the quantitative content of all target components prevails in leaf celery, and the majority substance is kaempferol (1.05%). According to the analysis results, celery leaves can be positioned as a potential source of biologically active substances for the prevention and treatment of obesity. At the same time, the variety of varieties of leaf celery makes it relevant to search for the optimal variety for use in medicine.

***Keywords**: apium graveolens, phenolic compound, HPLC, overweight, botanical forms*

УДК:111.111 DOI: 10.52101/9785870191003_2021_486

ИЗУЧЕНИЕ ОТДЕЛЬНЫХ КЛАССОВ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ТРАВЕ *ORTHILIA SECUNDA L.*

доцент, д.фарм.н. Тернинко И. И., Лёзина А. В.[a)], Романова М. А.

Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет, Российская Федерация, г. Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 14, 197376

а) автор для переписки – alena.lezina@pharminnotech.com

Аннотация. Целью работы являлось изучение отдельных классов фенольных соединений (флавоноидов и фенологликозидов) в траве ортилии однобокой *Orthila secunda L.* Исследование проводили с помощью современных физико-химических методов анализа, таких как высокоэффективная тонкослойная хроматография (ВЭТСХ) и высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ). Материалом для изучения служила трава ортилии однобокой *Orthila secunda L*, заготовленная в различных эколого-фитоценотических зонах в разное время. Установлено наличие в лекарственном растительном сырье ортилии однобокой 3 / 2 флавоноидов (кемпферол, гиперозид / кемпферол, гиперозид и мирицетин) в зависимости от места заготовки, арбутина и галловой кислоты. Наличие арбутина в траве дополнительно подтверждено методом ВЭЖХ. На основе полученных данных можно предположить, что трава ортилии однобокой обладает высокой антиоксидантной способностью, что обуславливает ее применение в лечении различных патологий. Дальнейшие исследования будут направлены на количественное определение вышеуказанных компонентов.

Ключевые слова: *фитохимический скрининг, ортилия однобокая, фенольные соединения, флавоноиды, ВЭТСХ.*

ВВЕДЕНИЕ

Ортилия однобокая *Orthila secunda L.* (матка боровая) - многолетние травянистое растение, принадлежащее к семейству Вересковые (*Ericaceae*), на протяжении многих лет используется в этнофармакологии Сибири, Кавказа, Дальнего Востока для лечения различных патологий. В научной литературе описаны ее противовоспалительный, ранозаживляющий, диуретический и кровоостанавливающий эффекты [1, 2]. В народной медицине применяется трава ортилии в виде настоек, отваров и настоев. Особое применение ортилия находит в лечении гинекологических заболеваний воспалительного характера. Используется при нарушениях менструального цикла, эндометритах, эрозии шейки матки, сальпингитах, аденекситах, кольпитах [3]. На фармацевтическом рынке представлена в виде биологически активных добавок (БАД). Разнообразие фармакологических эффектов ЛРС ортилии однобокой обусловлено комплексом биологически активных веществ (БАВ), входящих в ее состав. Из литературных источников [4, 5] известно, что трава ортилии однобокой содержит витамины, соединения терпеновой природы, органические кислоты и комплекс разнообразных фенольных соединений (дубильных веществ, флавоноидов и др.). Но данные о маркерных соединениях и их количественном содержании и, как следствие, подходах к стандартизации недостаточны и требуют комплексного подхода. Все вышесказанное обуславливает перспективность данного исследования.

Таким образом, **целью работы** было изучение отдельных классов фенольных соединений (флавоноидов и фенологликозидов) травы ортилии однобокой *Orthila secunda L*), аготовленной в различных экологи-фитоценотических условиях произрастания с установлением маркерных компонентов с помощью методов ВЭТСХ и ВЭЖХ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы. Объектом исследования служило воздушно-сухое лекарственное растительное сырье (ЛРС) - трава ортилии однобокой *Orthila secunda L.* - из 3 разных мест

обитания: Казахстан (Северный Казахстан, район Кокшетау, август 2018 года); Тюменская область (заготовка июль-август 2019 года); Пермский край (заготовка июль 2019 года).

Методы. Высокоэффективная тонкослойная хроматография осуществлялась с помощью прибора CAMAG с УФ-кабинетом (пластины Merck HPTLC silica gel 60 F154, 20×10). Нанесение проб осуществляли полуавтоматическим аппликатором Linomat 5. Элюировали пластины в автоматической камере CAMAG Automatic Developing Chamber (ADC2). Фиксацию изображений проводили на спектроденситометре CAMAG Scanner 3.

Высокоэффективную жидкостную хроматографию проводили на приборе Prominence LC-20 (Shimadzu, Япония) с диодноматричным детектором SPD-M20A, колонка Phenomenex CH0-5171 (250×4.6 мм, 5 мкм). Температура термостата колонки 30°C, объем вводимой пробы 20 мкл. Скорость потока элюента 1,2 мл/мин. Подвижная фаза - метанол: вода в соотношении 10:90. Регистрация поглощения осуществлялась при длине волны 280 нм. Обработку результатов проводили с помощью программы LabSolution. Обнаружение арбутина осуществляли по валидированной методике, приведенной в Европейской Фармакопее 10.0 [6].

Растворы стандартных образцов (СО) флавоноидов и фенольных гликозидов готовили растворением СО *рутина* (рутозида тригидрат EP CRS, партия 4, годен до 09.21., EDQM, Ph. Eus 10.0), *кверцетина* (вторичный фармацевтический стандартный образец, партия №BCCC7854, годен до 11.2021, Sigma Aldrich), *кемпферола* (вторичный фармацевтический стандартный образец, партия №SA00550580, годен до 06.21, Sigma Aldrich), *лютеолина* (аналитический стандартный образец, партия №BCCC5332, годен до 07.2022, Sigma Aldrich), *гиперозида* (вторичный фармацевтический стандартный образец, партия № SA00340291, годен до 08.2021, Sigma Aldrich), *циннарозида* (аналитический стандартный образец, партия № BCCC0975,годен до 07.2022, Sigma Aldrich), *мирицетина* (особо чистый ≥96.0% методом ВЭЖХ, партия № BCCC1735, годен до 06.2021, Sigma Aldrich), *апигенина* (особо чистый ≥95.0% методом ВЭЖХ, партия №BCCC0074, годен до 07.2022, Sigma Aldrich), *арбутина* (аналитический стандартный образец, партия №3-SYQ-69-1, годен до 10.2021, Sigma Aldrich), *галловой кислоты* (сертифицированный стандартный образец, TraceCERT®, партия №BCCC0553, годен до 11.2021, Sigma Aldrich) и *гидрохинона* (вторичный фармацевтический стандартный образец, партия №SA00340113, годен до 06.202, Sigma Aldrich) в этаноле 96% («хч», Гатчинский спиртовый завод, номер паспорта МЦ0000001338, бессрочный). Концентрации полученных растворов приведены в таблице 1.

Таблица 1 - Концентрации растворов СО фенольных соединений

Наименование СО	**Концентрация, мг/мл**
Флавоноиды	
Рутин	0,1
Кверцетин	0,1
Кемпферол	0,05
Лютеолин	0,1
Гиперозид	0,01
Циннарозид	0,1
Мирицетин	0,41
Апигенин	0,1
Фенольные соединения и их гликозиды	
Арбутин	5
Галловая кислота	2,0
Гидрохинон	2,5

Идентификацию флавоноидов, арбутина, гидрохинона и галловой кислоты проводили в водно-спиртовых извлечениях (экстрагент спирт этиловый 70%). Около 5 г (точная навеска) измельченной травы (размер частиц, проходящих сквозь сито с диаметром отверстия 7 мм)

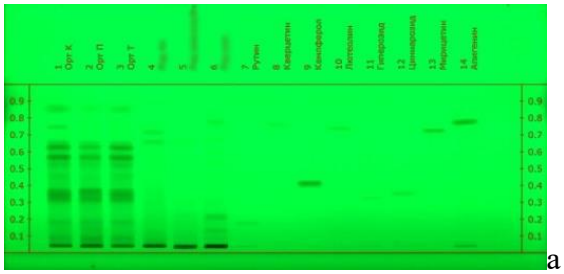
помещали в круглодонную колбу со шлифом, экстрагировали этанолом 70% в соотношении 1:4 с обратным холодильником на кипящей водяной бане в течение часа. Затем колбу охлаждали и извлечение фильтровали через бумажный фильтр. Процесс экстрагирования повторяли. Водно-спиртовые извлечения объединяли, отстаивали в холодильнике 24 часа, после чего отфильтровывали.

Идентификацию флавоноидов проводили в системе этилацетат : толуол: муравьиная кислота: вода (16:4:3:2) (все растворители «хч», производства ЗАО «Вектон», партия 36, годен до 09.21, партия 14, годен до 08.21 и партия 7, годен до 02.2022 соответственно). Объем наносимой пробы составлял для извлечений 10 мкл, для растворов СО - 5 мкл. Прохождение фронта растворителей составляло 90%. Детекцию пятен на хроматограмме осуществляли в фильтрованном УФ-свете при 254 и 366 нм. Сравнивали показатели удерживания (Rf), окраску, размер и форму пятна.

Идентификацию арбутина, галловой кислоты и гидрохинона устанавливали в системе этилацетат: муравьиная кислота: вода (88:6:6). На хроматографическую пластину наносили по 5 мкл исследуемого извлечения и по 20 мкл растворов СО. Прохождение фронта - 90%. Детекцию пятен осуществляли аналогично флавоноидам.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На рисунке 1 приведены хроматограммы флавоноидов ортилии однобокой (в УФ-свете при λ= 254 и 366 нм, соответственно).


a

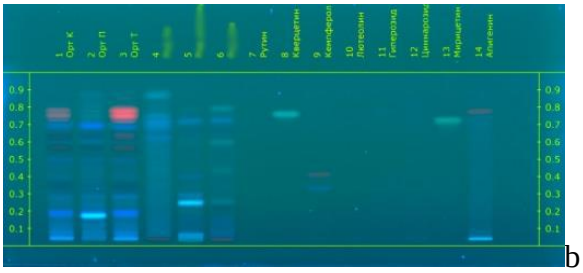

b

Рисунок 1 – ВЭТСХ-анализ флавоноидов (детекция a - при λ= 254 нм, b - при λ= 366 нм)

Параметры удерживания пятен на хроматограммах приведены в таблице 2.

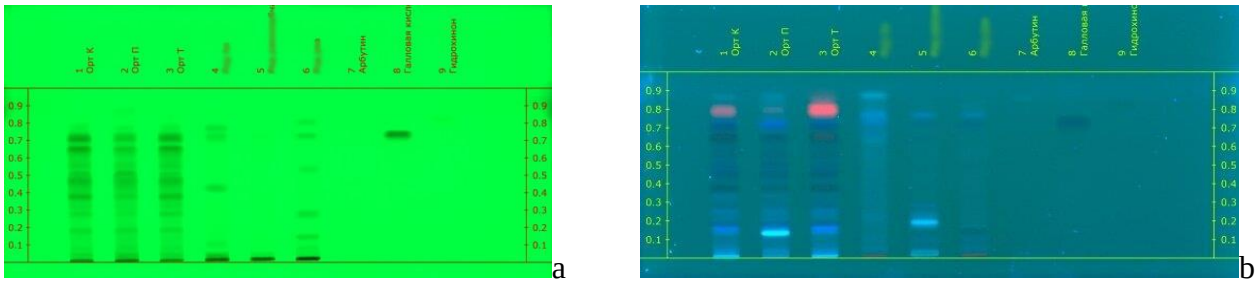
Таблица 2- Хроматографическая оценка флавоноидов в траве ортилии однобокой

№ трека на хроматограмме	Исследуемый раствор/пятна	Окраска зон адсорбции		Rf
		УФ-свет (254 нм)	УФ-свет (366 нм)	
1	Спирто-водное извлечение ортилии однобокой (Казахстан)			
	Пятно 1	Серая	Голубая	0,17
	Пятно 2	**Серая**	**Синяя**	**0,33**
	Пятно 3	**Темно-серая**	**Голубая**	**0,4**
	Пятно 4	Серая	Синяя	0,46
	Пятно 5	Серая	Синяя	0,51
	Пятно 6	Темно-серая	Темно-синяя	0,56
	Пятно 7	Темно-серая	Синяя	0,62
	Пятно 8	**Серая**	**Желтая**	**0,72**
	Пятно 9	Серая	Темно-синяя	0,85
2	Спирто-водное извлечение ортилии однобокой (Пермь)			
	Пятно 1	Серая	Светло-голубая	0,16
	Пятно 2	**Серая**	**Синяя**	**0,33**

	Пятно 3	**Темно-серая**	**Голубая**	**0,41**
	Пятно 4	Серая	Синяя	0,46
	Пятно 5	Серая	Синяя	0,5
	Пятно 6	Темно-серая	Синяя	0,61
	Пятно 7	-	Голубая	0,72
3	Спирто-водное извлечение ортилии однобокой (Тюмень)			
	Пятно 1	Серая	Голубая	0,17
	Пятно 2	**-**	**Синяя**	**0,33**
	Пятно 3	**Серая**	**Голубая**	**0,41**
	Пятно 4	-	Синяя	0,46
	Пятно 5	-	Синяя	0,51
	Пятно 6	-	Синяя	0,56
	Пятно 7		Синяя	0,61
	Пятно 8		Голубая	0,72
7	Рутин	Серая	-	0,17
8	Кверцетин	-	Желтая	0,76
9	**Кемпферол**	**Темно-серая**	**Голубая**	**0,41**
10	Лютеолин	-	-	-
11	**Гиперозид**	**-**	**Синяя**	**0,32**
12	Циннарозид	Серая	Синяя	0,35
13	**Мирицетин**	**Серая**	**Желтая**	**0,72**
14	Апигенин	Серая	Темно-синяя	0,77

По данным рисунка 1 и таблицы 2 сделано заключение, что в ЛРС ортилии однобокой, заготовленной в Казахстане, содержатся кемпферол, гиперозид и мирицетин. В траве оритилии, заготовленной в Пермском крае и Тюменской области установлено наличие кемпферола и гиперозида.

Хроматограммы изучения фенольных соединений и их гликозидов приведены на рисунке 2. Характеристика параметров удерживания приведены в таблице 3.



a b

Рисунок 2 – ВЭТСХ-анализ фенольных соединений (детекция а - при λ= 254 нм, b - при λ= 366 нм)

Таблица 3 - Хроматографическая оценка фенольных соединений и их гликозидов в траве ортилии однобокой

№ трека на хроматограмме	Исследуемый раствор/пятна	Окраска зон адсорбции		Rf
		УФ-свет (254 нм)	УФ-свет (366 нм)	
1	Спирто-водное извлечение родиолы четырехлепестной			
	Пятно 1	Светло-серая	Синяя	0,20
	Пятно 2	Серая	Синяя	0,27
	Пятно 3	Серая	Темно-синяя	0,35
	Пятно 4	Серая	Синяя	0,45
	Пятно 5	Серая	Синяя	0,5
	Пятно 6	Серая	Синяя	0,55
	Пятно 7	Темно-серая	Синяя	0,68
	Пятно 8	**Серая**	**Синяя**	**0,74**
	Пятно 9	-	Розовая	0,8
	Пятно 10	**-**	**Желтая**	**0,88**
2	Спирто-водное извлечение родиолы разнозубчатой			
	Пятно 1	Светло-серая	Синяя	0,2
	Пятно 2	Серая	Синяя	0,27
	Пятно 3	Серая	Темно-синяя	0,35
	Пятно 4	Серая	Синяя	0,45
	Пятно 5	Серая	Синяя	0,51
	Пятно 6	Серая	Синяя	0,55
	Пятно 7	Темно-серая	Синяя	0,68
	Пятно 8	**Темно-серая**	**Синяя**	**0,73**
	Пятно 9	-	Желтая	0,8
	Пятно 10	**-**	**Желтая**	**0,88**
3	Спирто-водное извлечение родиолы розовой			
	Пятно 1	Светло-серая	Синяя	0,2
	Пятно 2	Серая	Синяя	0,27
	Пятно 3	Серая	Темно-синяя	0,35
	Пятно 4	Серая	Синяя	0,45
	Пятно 5	Серая	Синяя	0,51
	Пятно 6	Серая	Синяя	0,55
	Пятно 7	Темно-серая	Синяя	0,68
	Пятно 8	**Серая**	**Синяя**	**0,73**
	Пятно 9	-	Розовая	0,8
	Пятно 10	**-**	**Желтая**	**0,88**
7	**Арбутин**	**-**	**Желтый**	**0,89**
8	**Галловая кислота**	**Серая**	**Синяя**	**0,73**
9	Гидрохинон	-	Синяя	0,81

По результатам исследования фенольных соединений и их гликозидов, было установлено, что трава ортилии однобокой разных мест произрастания содержит арбутин и галловую кислоту.

Дополнительно наличие арбутина было подтверждено методом ВЭЖХ. Время удерживания СО арбутина (12,68), совпало со временем удерживания одного из компонентов исследуемого извлечения (12,74) (рисунок 3).

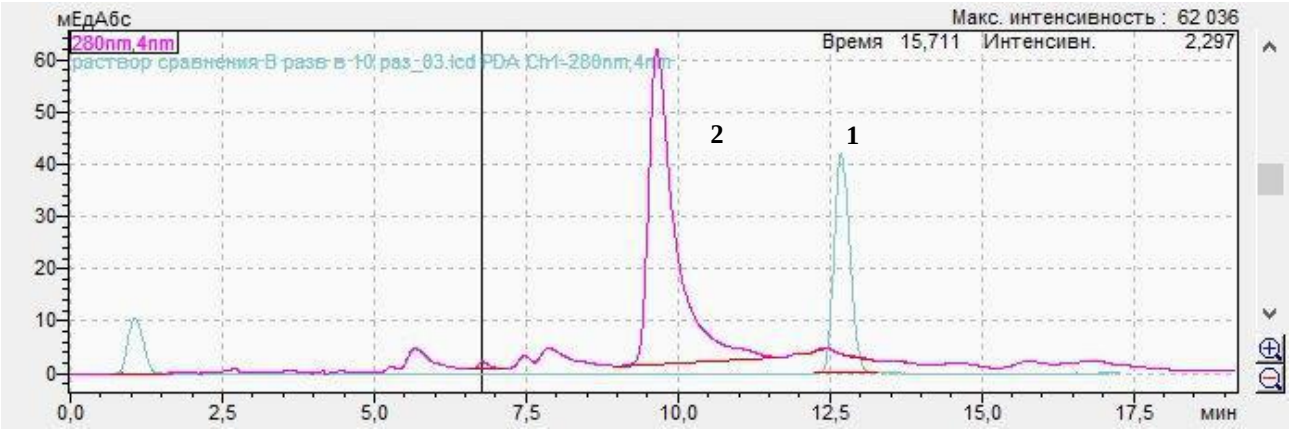


Рисунок 3 - Хроматограмма СО арбутина (1) и извлечения из травы ортилии однобокой (2)

ВЫВОДЫ

В ходе исследования были подобраны оптимальные условия для проведения идентификации отдельных классов фенольных соединений (флавоноидов и фенольных гликозидов) в траве ортилии однобокой методом высокоэффективной тонкослойной хроматографии. Установлено, что ортилия однобокая, заготовленная в северной части Казахстана, отличается от ЛРС, заготовленного в Пермском крае и Тюменской области и имеет более многокомпонентный состав флавоноидов. Установлено, что маркерными соединениями травы ортилии вне зависимости от места заготовки являются арбутин и галловая кислота, а также кемпферол и гиперозид.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают благодарность старшему преподавателю кафедры фармацевтической химии ФГБОУ ВО СПХФУ, к.фарм.н., Крысько Марине Валерьевне за помощь в проведении отдельных элементов экспериментальной части работы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Фадеева, Н. И. Сравнительная оценка эффективности разных фитопрепаратов, содержащих ортилию однобокую *(Orthília secúnda)*, в лечении хронического эндометрита/ Н. И. Фадеева, О. В. Ремнева, С. Д. Яворская, А. О. Скоропацкая // Бюллетень медицинской науки. - 2017. - №7. - С. 43-46.
2. Comparative phylogeography of two related plant species with overlapping ranges in Europe, and the potential effects of climate change on their intraspecific genetic diversity/ Beatty G.E., Provan, J. // BMC Evolutionary Biology.- 2011.- №11.- p. https://doi.org/10.1186/1471-2148-11-29 (Дата обращения 08.04.2021)
3. Ботоева, Е. А. Фитотерапия воспалительных заболеваний женских половых органов // Acta Biomedica Scientifica. - 2011. - №1-2. С. 31 – 34.
4. Устенова, Г.О. Правила сбора, заготовки и хранения лекарственного растения ортилии однобокой (*Orthilia secunda*) / Г.О. Устенова, А.Л. Ахелова, А.А. Нурланова, А.Н. Рузуванова // Вестник КазНМУ. - 2018.- №1. - С. 345-347
5. Ботоева, Е. А. О химико-фармакологической характеристике фитосредств, использованных для экспериментальной фармакотерапии повреждений матки // Вестник Бурятского Государственного университета. - 2011. - №12. - С. 147-153.
6. The European Pharmacopoeia (Ph. Eur.) 10th Edition. URL: https://pheur.edqm.eu/home (Дата обращения: 08.04.2021)

STUDY OF SEPARATE CLASSES OF PHENOLIC COMPOUNDS IN THE HERB *ORTHILIA SECUNDA L.*

Associate professor, D.Sc. in Pharmacy Terninko I., Lezina A., Romanova M.
Saint Petersburg State University of Chemistry and Pharmacy, Russian Federation, St. Petersburg, st. Professors Popov, 14, 197376
a) corresponding author – alena.lezina@pharminnotech.com

Abstract. The aim of this work was to study individual classes of phenolic compounds (flavonoids and phenol glycosides) in the herb of orthilia one-sided *Orthila secunda L.* The study was carried out using modern physicochemical methods of analysis, such as high-performance thin-layer chromatography (HPTLC) and high-performance liquid chromatography (HPLC). The material for the study was *Orthila secunda L.* grass, harvested in different ecological-phytocenotic zones at different times. The presence of one-sided 3/2 flavonoids (kaempferol, hyperoside / kaempferol, hyperoside and myricetin) in the medicinal herbal raw materials of orthylium was found to be one-sided, depending on the place of preparation, arbutin and gallic acid. The presence of arbutin in the herb was additionally confirmed by HPLC. Based on the data obtained, it can be assumed that the herb of orthilia one-sided has a high antioxidant capacity, which determines its use in the treatment of various pathologies. Further research will focus on quantifying the above components.
Keywords: *phytochemical screening, Orthilia secunda, phenolic compounds, flavonoids, HPTLC.*

УДК: 615.322:543.54 DOI: 10.52101/9785870191003_2021_493

ФЕНОЛЬНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ *GLEDITSIA TRIACANTOS* L., ПРОИЗРАСТАЮЩЕЙ НА ТЕРРИТОРИИ САРАТОВСКОЙ ОБЛАСТИ

к.х.н. Шестопалова Н. Б. [a)], к. х.н. Фомина Ю. А.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Саратовский государственный медицинский университет имени В. И. Разумовского» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Российская Федерация, г. Саратов, ул. Большая Казачья, д. 112, 410012

а) автор для переписки – shestopalovanb@yandex.ru

Аннотация. В работе приведены результаты анализа экстрактов листьев, шипов, бобов и цветков Гледичии обыкновенной (*Gleditsia triacantos* L), произрастающей в Саратовской области, выполненные с помощью тонкослойной хроматографии. В результате исследования экстрактов, полученных с помощью разнополярных растворителей, обнаружено 7 соединений, относящихся к гликозидам флавонов и флавонолов и 2 соединения – к гидроксикоричным кислотам. Состав морфологических частей растения различен: в экстрактах листьев обнаружено наибольшее количество фенольных соединений – 7, в цветках – 6, шипах и створках бобов – 5; в семенах фенольных соединений не обнаружено. Впервые полученные данные по сравнительному анализу экстрактов различных морфологических частей Гледичии обыкновенной и соответствующие ТСХ профили водно-спиртовых извлечений представляют практический интерес для дальнейшего систематического изучения данного вида, как перспективного источника биологически активных веществ.

Ключевые слова: Гледичия обыкновенная, *Gleditsia triacantos* L. флавоноиды, фенилпропаноиды, тонкослойная хроматография.

ВВЕДЕНИЕ

Фенольные соединения, содержащиеся в растениях, относятся к наиболее распространенному и многочисленному классу вторичных метаболитов, обладающих различной биологической активностью: антиоксидантной, противораковой, ангиопротекторной, противовоспалительной, гепато- и гастропротекторной, противовирусной, антибактериальной и др. [1-6]. Большой интерес представляют растения, содержащие биогенетически родственные соединения – фенилпропаноиды и флавоноиды, которые могут присутствовать в экстрактах растений и обуславливать синергетический фармакологический эффект [7-9].

В настоящее время одним из актуальных направлений является изучение химического состава растений, интродуцированных в России, которые издавна применялись в народной медицине на территории ареала произрастания. Таким перспективным источником биологически активных соединений (БАС) являются виды рода Gleditsia L. (семейство Fabaceae), которые широко использовались на протяжении веков в традиционной медицине различных стран: Китая, Кореи, Болгарии и Северной Америки [10, 11].

Исследования химического состава и биологической активности различных экстрактов видов Gleditsia L., проводимые *in vivo* и *in vitro*, показали их высокий биологический потенциал, обусловленный наличием тритерпеновых сапонинов, стеролов, флавоноидов, алкалоидов, фенолов и их производных [12].

На территории Саратовской области произрастает вид Гледичия обыкновенная или Гледичия трехколючковая (*Gleditsia triacantos* L.), которая с середины XX века была интродуцирована в связи с проведением агролесомелиоративных работ по борьбе с засухой и созданием лесозащитных полос. Несмотря на высокий потенциал БАС, содержащихся в *Gleditsia triacantos* L., химический состав растений, произрастающих на юге Поволжья практически не изучен.

Для оценки состава БАС широко применяется фитохимический анализ извлечений разнополярными экстрагентами из растительного сырья с последующей идентификацией отдельных соединений методом планарной хроматографии [13]. Полученные хроматограммы растительных экстрактов представляют так называемый «хроматографический профиль», являющийся уникальным для каждого растения, который служит его «отпечатком пальца» (fingerprint) [14].

В связи с этим целью работы явилось проведение хроматографического анализа экстрактов различных частей вида *Gleditsia triacantos* L., произрастающей на территории Саратовской области и определение ТСХ-профиля фенольных соединений.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы. В качестве объектов исследования использовали воздушно-сухое растительное сырье (листья, цветки, шипы, бобы) Гледичии обыкновенной (*G. triacanthos*), заготовленные в июне 2019 и 2020 гг. в Энгельсском районе Саратовской области. Высушенное сырье измельчали (лабораторная зерновая мельница ЛЗМ (ПП «Альтаир Плюс», Россия) и просеивали через сито с диаметром отверстий 2-4 мм.

В работе использовали следующие химические реактивы, приобретенные ФГБОУ ВО Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского Минздрава России:

12. ***спирт этиловый 95 %*** *(ПХФК ОАО «Медхимпром», серия 240619, годен до 06.2024, Россия); Водные растворы этилового спирта (10 %, 30 %, 50 %, 70 %) готовили разбавлением 95 % раствора дистиллированной водой;*
13. ***ацетон*** *(АО «Вектон», хч, партия № 12/20, годен 11.2021, Россия; водный раствор ацетона (50 %) готовили разбавлением дистиллированной водой;*
14. ***этилацетат*** *(ООО «Компонент-реактив», хч, партия № 28, годен до 09.2021, Россия);*
15. ***хлороформ*** *(ООО «Фаетон», хч, партия № 101, годен до 10.2021, Россия)*;
16. ***гексан*** *(ООО «Компонент-реактив», чда, партия № 42, годен до 08.2021, Россия)*;
17. ***диоксан*** *(ООО «Химмед синтез», хч, партия 20200317, годен до 03.2022, Россия)*;
18. ***бутанол***-1 *(АО «Вектон», хч, партия № 014, годен 11.2021, Россия)*;
19. ***уксусная кислота*** *(ООО «Завод ПКС», хч, партия № 10, годен до 08.2021, Россия)*;
20. ***метанол*** *(ООО «Химмед синтез», осч, A17D51X, партия 1958/19, годен до 09.2021, Россия)*;
21. ***муравьиная кислота*** *(ООО «Фаетон», ч, партия № 104, годен до 10.2021, Россия)*;
22. ***рутин*** *(PhytoLab, № 89270, партия 66853802, дата выпуска 27.11.2018, ≥ 95 %, Германия*; 0,01 % раствор готовили растворением 0,001 г рутина в 10 мл 95 % этилового спирта;
23. ***кверцетин*** *(USP Reference Standard № 1592409, партия R120F0, дата выпуска 11.08.2018, USP$_{TM}$, Китай)*; 0,01 % раствор готовили растворением 0,001 г кверцетина в 10 мл 95 % этилового спирта;
24. ***кофейная кислота*** *(Sigma-Aldrich, № C0625, партия SLCC6298, дата выпуска 16.05.2019, ≥ 98 %, Германия)*; 0,01 % раствор готовили растворением 0,001 г кофейной кислоты в 10 мл 95 % этилового спирта;
25. ***галловая кислота*** *(Sigma-Aldrich, № 27645, партия BCC4491, годен до 04.2023, ≥ 99 %, Германия)*; 0,01 % раствор готовили растворением 0,001 г галловой кислоты в 10 мл 95 % этилового спирта;
26. ***аминоэтиловый эфир дифенилборной кислоты*** *(Sigma-Aldrich, № D9754, партия BCCC5729, дата выпуска 16.12.2019, ≥ 97 %, Германия)* ***(ЭДФБК)***; 1 % раствор в 95 %. этиловом спирте готовили растворением 1,0 г аминоэтилового эфира дифенилборной кислоты в 100 мл спирта 95 %;

27. ***полиэтиленгликоль 400*** *(ООО «Компонент-реактив», ч, партия № 10, годен до 11.2021, Россия)* ***(ПЭГ400)***; 5 % раствор в 95 % этиловом спирте готовили растворением 5 мл полиэтиленгликоля (ПЭГ) 400 в 100 мл спирта 95 %.

Методы. Изучение фитохимического состава различных частей Гледичии обыкновенной проводили методом тонкослойной хроматографии. Экстракты из листьев, шипов, створок, семян и цветков (20 образцов) получали настаиванием с использованием разнополярных растворителей (соотношение «сырье : экстрагент» – 1 :10, время выдерживания – 24 часа). Экстракты фильтровали через бумажный фильтр и использовали без дополнительной обработки и разбавления. Тонкослойную хроматографию экстрактов проводили в соответствии с ОФС 1.2.1.2.0003.15 «Тонкослойная хроматография» на хроматографических пластинках TLC Silica gel 60 F_{254}, 20 x 20 cm, (Merck, сер.: 1.05554.0001 (Германия)) в камере хроматографической для вертикального элюирования для пластин 20 x 20 см (ООО «Лабтех», Россия). В качестве подвижной фазы (ПФ) использовали систему этилацетат : муравьиная кислота : уксусная кислота : вода (100 : 11 : 11 : 26) [15], стандартные образцы (СО) – рутин, кверцетин, галловая и кофейная кислоты.

Для нанесения проб объемом 10 мкл на ТСХ пластинку использовали аппликатор механический «Sorbfil» (ООО «Машиностроитель», Россия) и микрошприц М-10Н (ООО «Цвет», Россия). Детектирование зон адсорбции проводили с помощью облучателя хроматографического УФС-254/365 (ООО «ИМИД», Россия) до и после опрыскивания последовательно 1 % раствором ЭДФК и ПЭГ400 и нагревания в сушильном шкафу (ШС-80-01 СПУ, Россия) в течение 1 мин при 100-105 ºС. В работе использовали весы лабораторные ВЛ-120М (НПП «Госметр», Россия). Все используемое в работе оборудование приобретено ФГБОУ ВО Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского Минздрава России.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На хроматограмме после опрыскивания ЭДФБК и ПЭГ 400, облучения УФ-светом с длиной волны 365 нм зоны адсорбции соединений фенольной природы имеют типичную флуоресценцию, которая зависит от структуры соединений [15]. На хроматограмме СО обнаруживали оранжево-желтую зону адсорбции рутина (Rf 0,40), желто-оранжевую зону кверцетина (Rf 0,99), ярко голубую флуоресцирующую зону кофейной кислоты (Rf 0,97), синюю зону галловой кислоты (Rf 0,95). При просмотре в видимом свете соответствующие зоны адсорбции имели цвет: желтая – рутин, желто-зеленая – кверцетин, серые зоны – галловая и кофейная кислоты. При облучении УФ светом с длиной волны 264 нм зоны адсорбции имели практически не различимые человеческим глазом оттенки серого цвета.

Хроматограммы экстрактов, полученных из различных частей Гледичии обыкновенной, отличались количеством, цветом и интенсивностью зон адсорбции, что отчетливо проявлялось только при облучении УФ светом с длиной волны 365 нм. Схема хроматограммы представлена на Рисунке 1.

Анализ хроматограммы экстрактов листьев Гледичии показал, что наибольшее количество веществ фенольной природы извлекается полярными растворителями и проявляется в виде желтых и зеленовато-желтых зон, расположенных между зонами адсорбции рутина и кверцетина. На хроматограмме испытуемых водных, водно-этанольных, водно-ацетоновых, уксуснокислых, метанольных экстрактов листьев обнаруживали 7 зон адсорбции: три зоны желтого цвета с Rf 0,49, 0,60 и 0,78, две зоны зеленовато-желтого цвета с Rf 0,68 и 0,86, одна зона ярко-голубого цвета с Rf 0,55, одна зона голубого цвета с Rf 0,88. Согласно [15] ярко-желтые зоны адсорбции предположительно могут принадлежать монгликозидам флавонов апигенина и лютеолина, а желто-зеленые – гликозидам изорамнетина и кемпферола. Ярко-голубая флуоресцирующая зона по цвету и интенсивности совпадает с кофейной кислотой, относящейся к гидроксикоричным кислотам. Низкая подвижность в данной хроматографической системе соединения, содержащегося в экстрактах, позволяет высказать предположение о наличии хлорогеновой кислоты. Аналогичный ТСХ

профиль фенольных соединений наблюдали в извлечениях диоксаном, бутаноле и этилацетате. Однако низкая интенсивность флуоресценции зон адсорбции указывает на незначительное содержание фенольных соединений. В гексановом и хлороформном извлечениях фенольных соединений не обнаружено.

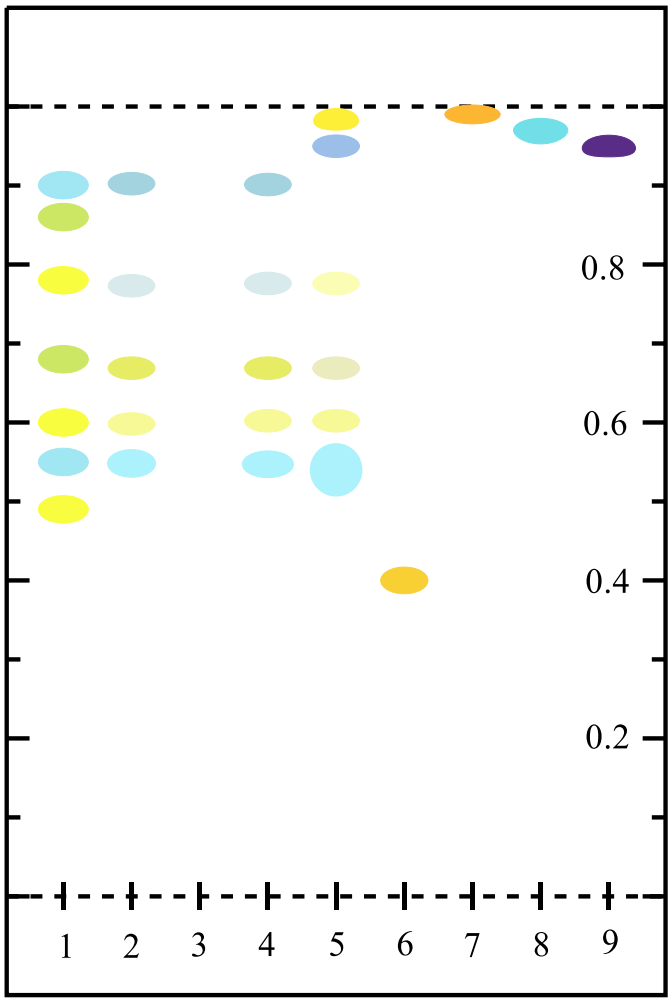


Рисунок 1 - Схема хроматограммы этанольных (70 %) экстрактов различных частей Гледичии обыкновенной: 1 – экстракт листьев; 2 – экстракт створок бобов; 3 – экстракт семян; 4 – экстракт шипов; 5 – экстракт цветков; 6 – СО рутина; 7 – СО кверцетина; 8 – СО кофейной кислоты; 9 – СО галловой кислоты

На хроматограмме 70% этанольных экстрактов шипов и створок бобов обнаруживали 5 зон адсорбции: интенсивно флуоресцирующая зона ярко-голубого цвета с Rf 0,55, принадлежащие предположительно хлорогеновой кислоте, голубые зоны с Rf 0,76 и 0,90, желтая и желто-зеленая зоны с Rf 0,60 и 0,67 соответственно. Ярко желтые зоны адсорбции с Rf 0,51 и 0,76, характерные для листьев, отсутствовали. На хроматограмме проявлялись зоны адсорбции по цвету и положению, соответствующие другим соединениям, содержащимся в листьях, но с гораздо меньшей интенсивностью.

На хроматограмме спиртового извлечения из цветков обнаруживали 6 зон адсорбции, среди которых зона с Rf 0,55 ярко голубого цвета предположительно хлорогеновой кислоты имеет самую высокую интенсивность флуоресценции. Отличительной особенностью компонентного состава экстракта цветков явилось наличие в верхней части хроматограммы на уровне кверцетина зоны интенсивно желтого цвета с Rf 0,95, не совпадающего с цветом зоны адсорбции кверцетина, а также голубой флуюоресцирующей зоны с Rf 0,92. Другие зоны, находящиеся на хроматограмме на уровне аналогичных в листьях, отличались малой интенсивностью.

ВЫВОДЫ

На основании проведенного ТСХ анализа установлено наличие флавоноидов и фенилпропаноидов, содержащихся в различных частях Гледичии обыкновенной (*Gleditsia triacantos* L.), произрастающей в Саратовской области.

ТСХ профили фенольных соединений Гледичии обыкновенной являются индивидуальными и характеристическими и могут быть использованы как хроматографические «отпечатки» для идентификации и стандартизации растительного сырья.

Полученные данные представляют большой практический интерес для дальнейшего изучения растений вида *Gleditsia triacantos* L., произрастающей в Саратовской области, как потенциального источника биологически активных фенольных соединений.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Malekia, S. J. Anti-inflammatory effects of flavonoids / S. J. Malekia, J. F. Crespo, B. Cabanillas // Food Chemistry. – 2019. – V. 299, 125124.

2. Wan, L. Protective effects of plant-derived flavonoids on hepatic injury / L. Wan, J-G. Jiang // Journal of Functional Foods. – 2018. – V. 44. – P. 283–291.

3. Oteiza, P. I. Flavonoids and the gastrointestinal tract: Local and systemic effects / P. I. Oteiza, C. G. Fraga, D. A. Mills, D. H. Taft // Molecular Aspects of Medicine. – 2018. – V. 61. – P. 41-49.

4. Perez-Vizcaino, F. Flavonols and cardiovascular disease / F. Perez-Vizcaino, J. Duarte // Molecular Aspects of Medicine. – 2010. – V. 31, № 6. – P. 478–494.

5. Raffa, D. Recent discoveries of anticancer flavonoids / D. Raffa, B. Maggio, M. V. Raimondi, F. Plescia, G. Daidone // European Journal of Medicinal Chemistry. – 2017. – V. 142. – P. 213-228.

6. Зверев, Я. Ф. Флавоноиды как перспективные природные антиоксиданты / Я. Ф. Зверев, В. М. Брюханов // Бюллетень медицинской науки. – 2017. – № 1(5). – С. 20-27.

7. Куркина А. В. Флавоноиды фармакопейных растений: монография. – Самара, 2012. – 290 с.

8. Куркин В. А. Фармакогнозия: учебник для студентов фармацевтических вузов (факультетов). – Самара, 2016. – 1279 с.

9. Большой энциклопедический словарь лекарственных растений: учебное пособие под ред. Г. П. Яковлева. – Санкт-Петербург: СпецЛит, 2015. – 759 с.

10. Сальникова, Н. А. Химический состав и фармакологические свойства растений рода Gleditsia L. (обзор литературы) / Н. А. Сальникова, М. А. Самотруева, Д. А. Коновалов // Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». – 2019. – № 3. – С. 87–96.

11. Кароматов, И. Д. Медицинское значение Gleditsia triacanthos L. / И. Д. Кароматов, К. Ш. Джумаев, Ш. Х. Собиров // Биология и интегративная медицина. – 2016. – № 1. – С. 156-160.

12. Jian-Ping, Z. Gleditsia species: an ethnomedical, phytochemical and pharmacological review / Z. Jian-Ping, T. Xin-Hui, Y. Yong-Xun, L. Qing-Xin, W. Qun, C. Li-Ping, L. Hui-Liang, Z. Wei-Dong // Journal of Ethnopharmacology. – 2016. –V. 178. – P. 155-171.

13. Корулькин, Д. Ю. Природные флавоноиды / Д. Ю. Корулькин, Ж. А. Абилов, Р. А. Музычкина, Г. А. Толстиков. – Новосибирск: Академическое изд-во 'Гео", 2007. – 232 с.

14. Морозов, С. В. Проблемы комплексного химического профилирования лекарственных растений / С. В. Морозов, Н. И. Ткачева, А. В. Ткачев // Химия растительного сырья. – 2018. – № 4. – С. 5-28.

15. Wagner, H. Plant Drug Analysis. A Thin Layer Chromatography Atlas / H. Wagner, S. Bladt, V.Rickl. – Springer, 2001. – 384 p.

PHENOLIC COMPOUNDS OF GLEDITSIA TRIACANTOS L. GROWING IN THE TERRITORY OF THE SARATOV REGION

Ph.D. in Chemistry Shestopalova N. B. [a)], Ph.D. in Chemistry Fomina Yu. A.
Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Saratov State Medical University named after V. I. Razumovsky" of the Ministry of Health of the Russian Federation, Russian Federation, Saratov, st. Bolshaya Kazachya, 112, 410012
a) corresponding author – shestopalovanb@yandex.ru

Abstract. The paper presents the results of the analysis of extracts of leaves, thorns, beans and flowers of Gleditsia triacantos L, growing in the Saratov region, performed using thin layer chromatography. As a result of the study of extracts obtained with the help of different polarity solvents, 7 compounds were found that belong to glycosides of flavones and flavonols, and 2 compounds - to hydroxycinnamic acids. The composition of the morphological parts of plants is different: the largest number of phenolic compounds was found in the number of leaves - 7, in flowers - 6, thorns and pods of beans - 5; no phenolic compounds were found in seeds. For the first time, data on the comparative analysis of extracts of different morphological parts. Ordinary and corresponding TLC profiles of aqueous-alcoholic extracts are of practical interest for further study of this species as a promising source of biologically active substances.
Keywords: *Gleditsia triacantos L. flavonoids, phenylpropanoids, thin layer chromatography.*

УДК 612.581.311.2 DOI: 10.52101/9785870191003_2021_499

ИССЛЕДОВАНИЕ СОДЕРЖАНИЯ САПОНИНОВ В РАЗЛИЧНЫХ ВИДАХ РОДА *CRATAEGUS* L.

Шубина Т. В., Павлова А. А., Хисматуллина А. А., Гусакова В. А.,
профессор, д.фарм.н. Хасанова С. Р.[a)], профессор, д.фарм.н. Кудашкина Н. В.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Россия, г. Уфа, ул. Ленина, 3, 450008

а) автор для переписки – svet-khasanova@yandex.ru

Аннотация. В статье представлено исследование по содержанию сапонинов в некоторых видах *Crataegus* L. Исследуемые виды рода *Crataegus* L. интродуцированы в условиях Республики Башкортостан и не являются официнальными. Изучали содержание производных олеаноловой кислоты в 20 видах *Crataegus* L. Для исследования использовался спектрофотометрический метод. При исследовании УФ-спектров перспективными оказались 9 видов рода *Crataegus* L.. Было определено содержание сапонинов в пересчете на олеаноловую кислоту. Содержание сапонинов составило от 0,42 % до 2,02 % в зависимости от исследуемого вида. Наиболее перспективными видами по содержанию сапонинов стали боярышник сливолистный, боярышник крупносемянный, боярышник крупноколючковый, боярышник волжский, боярышник Дугласа, боярышник холмовой и боярышник Бланшара. Эти виды выбраны нами для дальнейших исследований.

***Ключевые слова*:** *Crataegus* L.*, тритерпеновые сапонины, олеаноловая кислота, УФ-спектры, спектрофотометрия*

ВВЕДЕНИЕ

Использование лекарственных растений в комплексной терапии и профилактике имеет ряд преимуществ: биологически активные вещества растений легче усваиваются организмом имеют большую биодоступность. При рациональной комбинации растительных средств с другими препаратами, возможности эффективной терапии значительно расширяются, так как сложность состава комплекса биологически активных веществ растения обеспечивает разносторонний эффект, при минимальном риске побочных явлений.

Род *Crataegus* L. относится к семейству розоцветные (Rosaceae), распространенных преимущественно в умеренных районах северного полушария, главным образом в Северной Америке, а также Евразии. На территории России встречается около 50 дикорастущих видов боярышника и около 90 видов интродуцированных. Наиболее широкое применение как источник лекарственного сырья являются плоды и цветки боярышника кроваво-красного, боярышника колючего, боярышника даурского и боярышника Королькова. В фармакопейных статьях «Боярышника плоды» и «Боярышника цветки» входят 14 видов *Crataegus* L. Несмотря на такое большое количество используемых разрешенных видов, сырьевая база боярышников является не достаточной, так как они не образуют заросли. Поэтому изучение интродуцированных видов *Crataegus* L. для расширения отечественной растительной сырьевой базы является одной из актуальных задач современной фармации [2].

Целью исследования стало изучение содержания сапонинов в 20 интродуцированных видах рода *Crataegus* L. и выявление из них наиболее перспективных видов для внедрения в научную медицину.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы. Объектами исследования стали листья 20 видов рода *Crataegus* L. , собранные на территории Ботанического сада, г. Уфа. Сырье было заготовлено в 2020 году в

период цветения растений. Листья были высушены воздушно-теневым способом и хранились в сухом, защищённом от света месте.

Методы. Для количественного определения сапонинов использовали метод спектрофотомерии [1]. Сапонины извлекали из навески воздушно-сухого сырья экстракцией этанол:ацетат (1:4), с последующим осаждением подкисленной водой (pH=1,0). Осадок отфильтровывали и растворяли в смеси аммиачный буфер – вода (1:1). У полученных извлечений измеряли УФ-спектры в диапазоне от 190 до 250 нм. Наличие максимума поглощения при 210 нм свидетельствует о присутствии олеаноловой кислоты. Оптическую плотность измеряли при длине волны 210 нм. В качестве раствора сравнения использовали смесь аммиачный буфер – вода (1:1).

Содержание сапонинов в пересчете на олеаноловую кислоту и абсолютно сухое сырье в процентах вычисляли по формуле:

$$X = \frac{A \cdot 10 \cdot 10 \cdot 100}{311 \cdot m \cdot (100-W)},$$

A - оптическая плотность исследуемого раствора;

311- удельный показатель поглощения олеаноловой кислоты;

m - навеска сырья, г;

W – потеря в массе при высушивании сырья, %

Измерения производили на спектрофотометре SHIMADZU UV 1800 (Япония).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При исследовании УФ-спектров изучаемых видов рода *Crataegus* L. максимум поглощения при 210 нм наблюдался у 9 из 20 исследуемых видов, что свидетельствует о присутствии сапонинов:боярышника канадского, боярышника зеленомясого, боярышника холмового, боярышника Дугласа, боярышника волжского, боярышника Бланшара, боярышника крупноколючкового, боярышника крупносемянного, боярышника сливолистного. У данных видов было определено содержание сапонинов в пересчете на олеаноловую кислоту (n=5). Результаты приведены в порядке убывания процентного содержания сапонинов в таблице 1.

Таблица 1 - Результаты количественного определения сапонинов

№	Вид боярышника	Содержание сапонинов, %
1	Боярышник сливолистный (*Crataegus prunifolia* Poir).	2,02±0,07
2	Боярышник крупносемянный (*Crataegus macrosperma* Ashe),	1,96±0,11
3	Боярышник крупноколючковый (*Crataegus macracantha* L.)	1,74±0,06
4	Боярышник волжский (*Crataegus volgensis* Pojark.)	1,64±0,11
5	Боярышник Дугласа (*Crataegus douglasii* Lindl.)	1,38±0,05
6	Боярышник холмовой (*Crataegus collina* Chapm.)	1,38±0,03
7	Боярышник Бланшара (*Crataegus irrasa* Sarg. var. *blanchardi* Sarg.)	1,35±0,08
8	Боярышник зеленомясый (*Crataegus chlorosarca* Maxim.)	0,68±0,03
9	Боярышник канадский (*Crataegus canadensis* Chapm.)	0,42±0,01

Содержание сапонинов составило от 0,42 % до 2,02 % в зависимости от исследуемого вида. Наименьшее содержание наблюдалось в *Crataegus canadensis* Chapm. и *Crataegus chlorosarca* Maxim. Наибольшее содержание сапонинов наблюдалось в таких видах, как *Crataegus prunifolia* Poir. и *Crataegus macrosperma* Ashe. Наиболее перспективными видами

по содержанию сапонинов являются *Crataegus macrosperma* Ashe, *Crataegus prunifolia, Crataegus macracantha* L., *Crataegus volgensis* Pojark., *Crataegus douglasii* Lindl., *Crataegus collina* Chapm., *Crataegus irrasa* Sarg. var. *blanchardi* Sarg.

ВЫВОДЫ

Исходя из проведенных исследований можно сделать следующие выводы:

1. Олеаноловая кислота не является преобладающим сапонином во всех растениях рода *Crataegus* L. и накапливается неравномерно.
2. Перспективными источниками для дальнейших фитохимических исследований являются боярышник сливолистный, боярышник крупносемянный, боярышник крупноколючковый, боярышник волжский, боярышник Дугласа, боярышник холмовой и боярышник Бланшара.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Мироненко, Н. В. УФ-спектрофотометрическое определение тритерпеновых сапонинов – производных олеаноловой кислоты / Н. В.Мироненко, Т. А. Брежнева, В. Ф. Селеменев // Химия растительного сырья. - 2011. - №3.- С. 153–157.

2. Трофимова, С. В. Фармакогностическое изучение листьев боярышника кроваво-красного *Crataegus sanguinea* Pall. из флоры Башкортостана: дис. … канд. фарм. наук: 14.04.02 / Трофимова Светлана Валерьевна. - Пермь, 2014. - 164 с.

STUDY OF SAPONIN CONTENT IN VARIOUS SPECIES OF THE GENUS *CRATAEGUS* L.

Shubina T. V., Gainetdinova A. A., Khismatullina A. A., Gusakova V. A.,
professor, D. Sc. Khasanova S. R., professor, D. Sc. Kudashkina N. V.
Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Bashkir State Medical University" of the Ministry of Health of the Russian Federation, Russia, Ufa, Lenin st., 3, 450008,
a) corresponding author – svet-khasanova@yandex.ru

Abstract. The article presents a study on the content of saponins in some species of *Crataegus* L. The studied species of the genus *Crataegus* L. introduced in Bashkortostan and are not official. The content of oleanolic acid derivatives in 20 species of *Crataegus* L. was studied. The spectrophotometric method was used for the study. In the study of UV spectra, 9 species of the genus **Crataegus** L. were promising. The content of saponins in terms of oleanolic acid was determined. The content of saponins ranged from 0.42% to 2.02%, depending on the studied species. The most promising species for the content of saponins were *Crataegus macrosperma* Ashe, *Crataegus prunifolia, Crataegus macracantha* L., *Crataegus volgensis* Pojark., *Crataegus douglasii* Lindl., *Crataegus collina* Chapm., *Crataegus irrasa* Sarg. var. *blanchardi* Sarg. These species are selected by us for further research.

Keywords: *Crataegus L., triterpene saponins, oleanolic acid, UV-spectrum, spectrophotometry*

УДК: 547.91:577.1 DOI: 10.52101/9785870191003_2021_502

ФЕРОЦИНИН – ХЕМОТАКСОНОМИЧЕСКИЙ МАРКЕР ВИДОВ *FERULA* L.

Академик НАН РК, д.х.н., профессор Адекенов С. М.[a)], Мантлер С. Н., Жаканов М. М., доктор PhD Адекенова Айгерим С.

АО «Международный научно-производственный холдинг «Фитохимия», Республика Казахстан, Караганда, ул. М. Газалиева, 4, 100009

а) автор для переписки – info@phyto.kz

Аннотация. Целью данной работы является химическое изучение 6 видов растений рода *Ferula* L., произрастающих на территории Республики Казахстан, на содержание сложных эфиров терпеноидов и ароматических кислот. Установлено, что экстракция 96 %-ным этанолом обеспечивает количественный (до 20 %) выход сумм экстрактивных веществ из корней 6 видов ферул, произрастающих в Республике Казахстан. Оценка методами тонкослойной и высокоэффективной жидкостной хроматографии сумм экстрактивных веществ свидетельствует о наличии в 6 видах ферул сложного эфира терпеноидного спирта и ароматической кислоты – ферулцинина. При хроматографическом разделении сумм экстрактивных веществ из 6 видов ферул выделен ферулцинин, кристаллическая структура которого впервые изучена методом рентгеноструктурного анализа и его структурные данные депонированы в Кембриджской базе кристаллографических данных.

Ключевые слова: *Ferula, экстракция, хроматографическое разделение, сложные эфиры, ферулцинин.*

ВВЕДЕНИЕ

В мировой флоре насчитывается около 180 видов растений рода *Ferula* L., большинство из которых обладает целебными свойствами [1-4]. Некоторые виды ферулы используются в качестве специй, известны как источник камеди, используемой в народной медицине в качестве глистогонных, антисептических, спазмолитических, мочегонных, отхаркивающих средств.

Растения данного рода являются богатым источником биологически активных соединений и характеризуются, в основном, наличием сесквитерпенов (каротаны, гваяны, гермакраны, гумуланы и химахаланы), терпеновых кумаринов, сесквитерпеновых лактонов и сложных эфиров [1-4]. На основе сложных эфиров терпеноидных спиртов и ароматических кислот из видов *Ferula* разработаны ряд препаратов эстрогенного действия: паноферол для применения в птицеводстве, тефэстрол – для применения в акушерско-гинекологической практике, а также ферулен, протол и тенэстрол [5].

За последнее десятилетие исследователями проведено химическое изучение *Ferula tenuisecta* Eug. Korov. [5], *Ferula oopoda* (Boiss. & Buhse) Boiss. [6], *Ferula hermonis* Boiss. [1, 7], *Ferula pseudalliacea* Rech.f. [8], *Ferula varia* (Schrenk) Trautv. [9], *Ferula ovina* (Boiss.) Boiss. [10].

Как правило ферулы, продуцирующие сложные эфиры, не содержат терпеноидных кумаринов и сесквитерпеновых лактонов, т.е. в определенном виде содержится только одна группа соединений. Химическая неоднородность некоторых внутриродовых таксонов рода *Ferula* L. свидетельствует о необходимости критического пересмотра их систематики.

На территории Казахстана произрастает 48 видов растений рода *Ferula* L., из них 16 – эндемичных [11]. Химический состав многих казахстанских видов ферул изучен слабо.

Целью данной работы является химическое изучение корней 6 видов растений рода *Ferula* L., произрастающих на территории Республики Казахстан, на содержание сложных эфиров терпеноидных спиртов и ароматических кислот.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы

Объектом исследования являются корни *Ferula akitschkensis* B. Fedtsch. ex Koso-Pol. (ферула акичкенская), *Ferula ferulaeoides* (Steud.) Eug. Kor. (ферула феруловидная), *Ferula kelleri* Koso-Pol. (ферула Келлера), *Ferula krylovii* Korovin (ферула Крылова), *Ferula ovina* Boiss. (ферула овечья), *Ferula songarica* Pall. ex Spreng (ферула джунгарская), собранные в 2018-2019 годах в Алматинской, Карагандинской, Восточно-Казахстанской областях Республики Казахстан. Выкопанные корни очищали от почвы, промывали водой и разрезали на куски длиной 10-20 см и шириной 2-3 см, сушили в хорошо проветриваемых помещениях.

Рабочие стандартные образцы (метчики или свидетели): фероцинин, имеет состав $C_{23}H_{30}O_4$, т.пл. 105.6-107.1°C (петролейный эфир-этилацетат), $[\alpha]_D^{20}$ -100° (с 0.2; хлороформ).

Такие суммы экстрактивных веществ не содержат высокополярных соединений, мешающих определению (флавоноиды и их гликозиды, гликозиды кумаринов, оксиароматические кислоты и др.).

Методы

Выделение экстрактивных веществ. В 10 л колбу загружали 2 кг высушенных, измельченных корней изучаемого вида *Ferula* L., заливали 8 л этанола, кипятили на водяной бане в течение 2 ч. Жидкий экстракт сливали, процесс экстракции повторяли дважды при аналогичных условиях. Экстракты объединяли, растворитель отгоняли на ротационном испарителе Rotavaror 3 (Buchi) под вакуумом до объема 2 л, разбавляли 1 л воды (соотношение экстракт: вода = 2:1) и обрабатывали четырехкратно диэтиловым эфиром (4´1 л). Эфирные извлечения объединили и обработали последовательно 5%-ным раствором сода и 5%-ным раствором едкого калия. Щелочной раствор подкислили до слабокислой реакции и выделившиеся компоненты извлекли исчерпывающе диэтиловым эфиром. Эфирный слой промыли до нейтральной реакции, высушили сульфатом натрия и растворитель отогнали на ротационном испарителе Rotavapor 3 (Buchi) под вакуумом. Остаток выдерживали 6-8 час. в вакуум-сушильном шкафу (40 мм рт. ст.; 25-30° С). Получили вязкие смолы янтарного цвета (фенольная фракция). Для каждого вида ферулы получены прозрачные желтовато-коричневые смолки, которые исследовались методами тонкослойной и высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Фероцинин. Фенольную фракцию (24 г) поместили на колонку с силикагелем (105х3,5 см) и элюировали вещества системой петролейный эфир-этилацетат (2:1), собирая фракции по 400 мл. Фракции 15-33 объединили, растворитель отгоняли на ротационном испарителе Rotavaror 3 (Buchi) под вакуумом досуха и к остатку добавили горячий гексан. Выпавшие кристаллы отделили, получили 2,4 г вещества состава $C_{23}H_{30}O_4$, M^+370, т.пл.107-108° (гексан), $[\alpha]_D^{20}$197° (c 1,0; бензол).

УФ-спектр (λ_{max}^{EtOH}): 206, 217, 249 и 292 нм (lgε 4.35; 4.32; 4.11; 3.74).

ИК-спектр (υ_{max}^{KBr}): 3530, 3451, 3078, 3025, 2966, 2957, 2938, 2867, 2854, 1785, 1701, 1649 $см^{-1}$.

Спектр ЯМР ^1H (500 МГц, $CDC1_3$, м.д., J/Гц): 7.62 (1H, дд, J = 8.0, 2.0, H-6'), 7.56 (1H, д, J = 2.0, H-2'), 6.94 (1H, д, J = 8.0, H-5'), 5.95 (1H, д, J = 16, H-3), 5.51 (1H, д, J = 16, H-2), 5.42 (1H, т, J = 8.0, H-7), 4.95 (1H, м, H-10), 4.93 (1H, д, J = 2.0, H-14b), 4.84 (1H, д, J = 2.0, H-14a), 3.93 (3H, с, H-7'), 2.47-2.39 (2H, м, H-5b, 9b), 2.30 (1H, дт, J = 13.0, 4.5, H-5a), 2.24-2.15 (3H, м, H-6a, 6b, 9a), 1.91 (1H, уш.д, J = 15, H-11b), 1.85 (1H, дд, J = 15.0, 6.5, H-11a), 1.61 (3H, с, H-15), 1.12 (3H, с, H-12), 1.04 (3H, с, H-13).

Спектр ЯМР ^{13}C (125 МГц, $CDC1_3$, м.д.): 35.29 (C-1), 142.57 (C-2), 125.85 (C-3), 146.21 (C-4), 31.37 (C-5), 30.25 (C-6), 129.35 (C-7), 130.99 (C-8), 47.73 (C-9), 71.53 (C-10), 52.23 (C-11), 22.50 (C-12), 30.66 (C-13), 114.18 (C-14), 17.56 (C-15), 123.07 (C-1'), 111.73 (C-2'), 148.15 (C-3'), 149.93 (C-4'), 114.04 (C-5'), 124.06 (C-6), 56.17 (C-7'), 165.55 (C-8').

Щелочной гидролиз фероцинина. Вещество (1,5 г) растворили в 25 мл 1,5%-ного водно-метанольного раствора едкой щелочи и нагревали на водяной бане 7 час. По окончании

реакции гидролизат разбавили водой, обработали эфиром, эфирный раствор промыли водой, высушили, растворитель отогнали. Маслянистый остаток (0,8 г) пропустили через колонку с силикагелем (44х2 см), элюируя вещество смесью петролейный эфир-этилацетат. Получили 0,65 г бесцветных кристаллов, $C_{15}H_{24}O$, т.пл. 82-83° (гексан), $[\alpha]_D^{20}$-192,5° (*c* 1,3; бензол).

УФ-спектр (λ_{max}^{EtOH}): 244 нм (lgε 4,44 нм).

ИК-спектр (υ_{max}^{KBr}): 3200-3500, 3080, 1648, 910; 1600, 970, 895, 840 см$^{-1}$**.**

ПМР-спектр (500 МГц, **CDCl3, δ, м.д.,** J/Гц**): 1.07** (с, 3Н); 0.97 (с, 3Н), 1.45 (с, 3Н) 3.48 (м, $J_{1/2}$ = 18.0, 1Н); 5.17 (т, J =7.5, 1Н); 4.72 и 4.78 (д, J =2.0, по 1Н); 5.32 и 5.74 (д, J=16.0, по 1Н).

Из кислой части гидролизата, после подкисления раствором серной кислоты, получили 0,55 г вещества состава $C_8H_8O_2$, т.пл. 206-207° (водный спирт), по пробе смешения и ИК-спектру идентифицированного с ванилиновой кислотой.

Хроматография. Для тонкослойной хроматографии (восходящая) применяли пластины Silufol R-UV254. Системы растворителей: петролейный эфир-этилацетат (95:5); петролейный эфир-этилацетат (4:1) и петролейный эфир-этилацетат-этанол (5:4:0,5).

Проявляли терпеноидные кумарины и сложные эфиры 10% раствором КОН в этаноле и ДАСК по Кирби-Берри (Хайс, Мацек, 1962). Универсальным для определяемых веществ проявителем оказался 1 % раствор ванилина в конц. HCl (Tyihak et al., 1963).

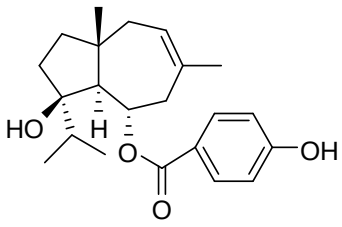
Тонкослойную хроматографию проводили с использованием стандартных образцов-метчиков.

Высокоэффективную жидкостную хроматографию (ВЭЖХ) высокого давления исследуемых образцов проводили методом обращено-фазовой на приборе Hewlett Packard Agilent 1100 Series в изократическом режиме при следующих условиях: аналитическая колонка 4.6´150 мм, сорбент Zorbax SB-C_{18} 5 мкм, подвижная фаза метанол (100%), скорость 0,5 мл/мин, температура колонки комнатная, детектирование при длине волны 217 нм, объем вводимой пробы 20 мкл. Обсчет данных производили с использованием программного обеспечения ChemStation.

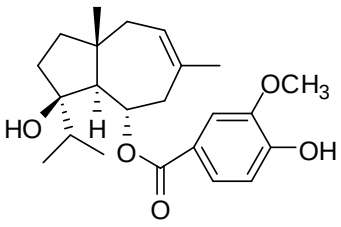
Аналитические методы. Состав фракций и индивидуальных веществ контролировали методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) на пластинах Silufol в смеси петролейный эфир-этилацетат (4:1) с использованием 0,5% $KMnO_4$ в 0,5% H_2SO_4 в качестве проявляющего агента, а также с помощью ультрафиолетового анализатора ZF-20d при 254 и 365 нм. Температуры плавления определяли на приборе «Optimelt-100». ИК-спектры снимали на спектрофотометре «Avatar 360» в таблетках KBr, УФ-спектры – на приборе «Cary 60». ЯМР-спектры образцов снимали на спектрометре Jeol «JNM-ECA 500» в дейтерохлороформе.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

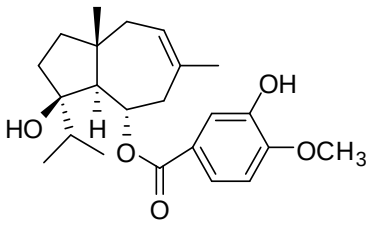
Растения рода *Ferula* L. биосинтезируют большое количество разнообразных бимолекулярных производных терпеноидов и представляют интерес как источники для их выделения. Так, корни ферул содержат сесквитерпеновые лактоны, терпеноидные кумарины и сложные эфиры терпеноидных спиртов, для извлечения которых используется экстракция органическими растворителями (этанолом, ацетоном, смесью этанол-гексан). Терпеноидные спирты выделены в свободном виде из различных видов ферул. Довольно часто они встречаются в них и в составе сложных эфиров в виде производных моноциклических (тип гермакрана и гумулана) и бициклических (тип каротана, химачалана, камфана и гваяна) сесквитерпенов с различными этерифицирующими кислотами (ванилиновая, изованилиновая, ангеликовая, тиглиновая, вератровая, параоксибензойная, 3,4-диоксибензойная, триметоксибензойная и уксусная). К ним относятся, например, ферутинин (1), теферин (2), ферутин (3), на основе которых разработана технология производства субстанции эстрогенного действия [5]; лансеродиол *п*-гидроксибензоат (4) и лансеротриол *п*-гидроксибензоат (5) [6], 14-(4'-гидроксибензоилокси) даук-4,8-диен (6), обладающий антибактериальной активностью [1].



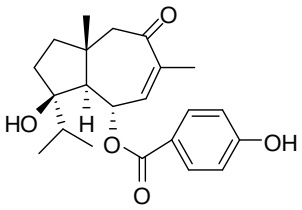
(**1**)



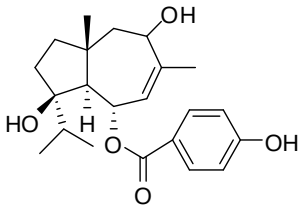
(**2**)



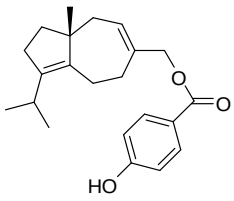
(**3**)



(**4**)



(**5**)



(**6**)

Нами проведено химическое изучение сумм экстрактивных веществ из *Ferula akitschkensis* B. Fedtsch. ex Koso-Pol., *Ferula ferulaeoides* (Steud.) Eug. Kor., *Ferula kelleri* Koso-Pol., *Ferula krylovii* Korovin, *Ferula ovina* Boiss., *Ferula songarica* Pall. ex Spreng.

Сухие измельченные корни ферул трехкратно экстрагировали 96%-ным этанолом при соотношении сырье:экстрагент 1:4, температуре 70-75°С в течение 2 часов. Экстракты объединяли, растворитель упаривали под вакуумом на ротационном испарителе до определенного объема, разводили водой в соотношении 2:1 и обрабатывали диэтиловым эфиром четырехкратно. Эфирные извлечения объединили и обработали последовательно 5%-ным раствором соды и 5%-ным раствором едкого калия. После подкисления щелочного раствора, компоненты извлекали исчерпывающе диэтиловым эфиром. После подкисления щелочного раствора, компоненты извлекали исчерпывающе диэтиловым эфиром. После упаривания органического слоя получали очищенную сумму экстрактивных веществ, которую хроматографировали на колонке с силикагелем марки КСК. Колонку элюировали последовательно смесями петролейный эфир-этилацетат с увеличением концентрации последнего (100:0 → 90:10). Результаты химического изучения 6 видов рода *Ferula* L. представлены в таблице.

Таблица – Результаты химической оценки корней 6 видов ферул на содержание фероцинина

Вид сырья (корни)	Место сбора	Масса СЭВ, г	Выход СЭВ, %	Содержание фероцинина по данным ТСХ	Количественное содержание фероцинина по данным ВЭЖХ, %
1	2	3	4	5	6
1. Ферула Келлера (*Ferula Kelleri* Koso-Pol.)	ущелье Ушконыр Карасайского района Алматинской области	250	12,5	+	8,89%
2. Ферула акичкенская (Ferula akitschkensis B. Fedtsch. ex Koso-Pol.)	село Таужолы Карасайского района Алматинской области	380	19,0	+	0,07%

Продолжение таблицы

1	2	3	4	5	6
3. Ферула метельчатая (Ferula ferulaeoides (Steud.) Korovin)	пустыня Бетпакдала Жанааркинского района Карагандинской области	390	19,5	+	3,24%
4. Ферула Крылова (*Ferula krylovii* Korovin)	Зайсанская впадина Восточно-Казахстанской области	350	17,5	+	0,21%
5. Ферула джунгарская (*Ferula songarica* Pall. ex Spreng)	окрестности города Сарканда Алматинской области	400	20,0	+	0,72%
6. Ферула овечья (*Ferula ovina* Boiss.)	пойма реки Талгар Талгарского района Алматинской области	260	13,0	+	5,54%

Примечание: (+) – наличие фероцинина; (-) - отсутствие фероцинина

При этом, из суммы экстрактивных веществ 6 видов ферул элюированием колонки системой растворителей петролейный эфир-этилацетат (96:4) выделено белое кристаллическое вещество с брутто-формулой $C_{23}H_{30}O_4$, т.пл 105.6-107.1°С (петролейный эфир-этилацетат) и $[\alpha]_D^{20}$ –100° (с 0.2, $CHCl_3$).

В ИК-спектре (υ, KBr, $см^{-1}$) соединения (7) присутствуют полосы поглощения, характерные для гидроксильной группы при 3530, 3451 $см^{-1}$, связей -С-Н в области 3078, 3025, 2966, 2957, 2938, 2867, 2854 $см^{-1}$, карбонила сложного эфира при 1785 $см^{-1}$, кето-группы в области 1701 $см^{-1}$, двойной связи при 1649 $см^{-1}$, ароматического кольца при 1600 и 1510 $см^{-1}$.

В УФ-спектре (λ, нм) соединения (7) имеются максимумы поглощения при 206 (lg ε 1.050), 217 (lg ε 0.990), 249 (lg ε 0.624) и 292 нм (lg ε 0.258), характерные для ароматического ядра, двойным связям.

В спектре ПМР сигналы олефиновых протонов проявляются в виде дублетов при 5.51 и 5.95 м.д. с КССВ 16 Гц, а сигналы протонов двойной связи – при 4.84 и 4.93 м.д. с КССВ 2 Гц, сигналы протонов Н-12 и Н-13 метильных групп отмечаются в области 1.04 и 1.12 м.д.

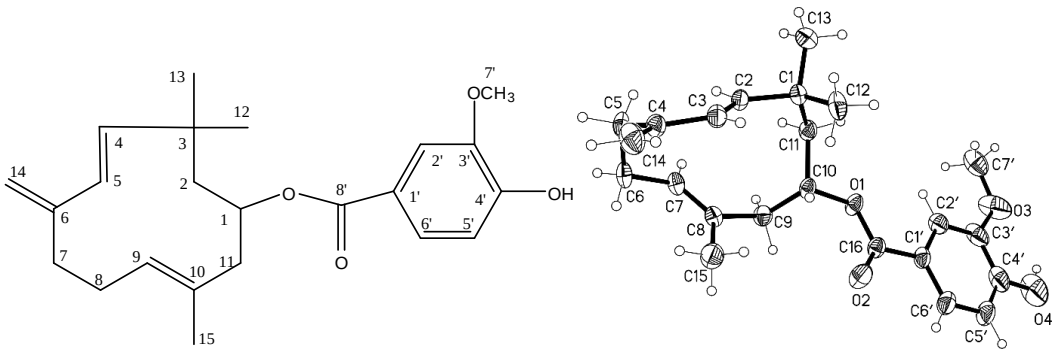


Рисунок - Пространственное строение молекулы фероцинина (7)

По данным спектров ИК-, УФ-, ЯМР ^1H и ^{13}C, DEPT, COSY, HMQC, HMBS, физико-

химическим константам вещество (7) идентифицировано как фероцинин (7), выделенный ранее из *Ferula ceratophylla Regel et Schmalh. и Ferula kelleri Koso-Pol. [12, 13]*.

Стереохимия кристаллической структуры молекулы фероцинина (7), выделенного из ферул, впервые изучена рентгеноструктурным методом и его структурные данные депонированы в Кембриджской базе кристаллографических данных под номером CCDC 1978204 [13]. При этом установлено, что кроме водородных связей в кристалле сложного эфира гумуланового спирта и ванилиновой кислоты (7), образованными димерными парами H1OH…O4 2.53 Å, O4…O4 3.006(5) Å, наблюдается H…π взаимодействие атома H5’ с центром π-системы фенильного фрагмента соседней молекулы.

ВЫВОДЫ

Таким образом, оценка суммы экстрактивных веществ из корней шести видов ферул свидетельствует о наличии в феруле Келлера, ф. акичкенской, ф. метельчатой, ф. Крылова, ф. джунгарской фероцинина – сложного эфира терпеноидного спирта гумулановой структуры и ванилиновой кислоты.

При этом установлено, что экстракция 96 %-ным этанолом обеспечивает количественный (до 20%) выход сумм экстрактивных веществ из корней 6 видов ферул. При хроматографическом разделении сумм экстрактивных веществ из шести видов *Ferula* L. выделен фероцинин, кристаллическая структура которого впервые изучена методом рентгеноструктурного анализа и его структурные данные депонированы в Кембриджской базе кристаллографических данных.

Можно полагать, что при исследовании одних и тех же видов ферул из различных мест произрастания и в разные фазы вегетации в каждом из них, вероятно, будут обнаружены три основные группы природных соединений: терпеноидные кумарины, сложные эфиры и сесквитерпеновые лактоны, но одна из них может быть преобладающей в количественном отношении.

Фероцинин может рассматриваться в качестве хемотаксономического маркера видов *Ferula* L.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена по грантовому проекту № AP09260624, финансируемого Комитетом науки Министерства образования и науки Республики Казахстан.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование; Семейства Rutaceae-Elaeagnaceae. – Л.: Наука, 1988. - С. 110-122.

2. Mohammadhosseini M., Venditti A., Sarker S.D., Nahar L., Akbarzadeh A. The genus Ferula: ethnobotany, phytochemistry and bioactivities – a review// Industrial Crops and Products. 2019. Vol. 129. P.350–394.

3. Salehi M., Naghavi M.R., Bahmankar M. A review of Ferula species: Biochemical characteristics, pharmaceutical and industrial applications, and suggestions for biotechnologists // Industrial Crops and Products. – 2019. – Vol. 139:111511. doi: 10.1016/j.indcrop.2019.111511.

4. Boghrati Z., Iranshahi M. Ferula species: A rich source of antimicrobial compounds // Journal of Herbal Medicine. – 2018. -Vol. 16:100244 doi:10.1016/j.hermed.2018.10.009.

5. Маматханова М.А., Халилов Р.М., Котенко Л.Д., Маматханов А.У. Разработка технологии получения субстанции тенэстрола эстрогенного действия из надземной части *Ferula tenuisecta* // Химия растительного сырья. - 2018. - №1. - С.269-276.

6. Ul Abidin S.Z., Parveen A., Khan R., Ahmad M., Khan I.A., Ali Z. Chemical constituents from *Ferula oopoda* (Boiss. & Buhse) Boiss.// Biochemical Systematics and Ecology. - 2018. - Vol. 78. - P.49–51.

7. Geroushi A., Auzi A.A., Elhwuegi A.S., Elzawam F., Elsherif A., Nahar L., Sarker S.D.

Antiinflammatory sesquiterpenes from the root oil of *Ferula hermonis* // Phytotherapy Research. – 2010. - Vol. 25, No 5. - P. 774–777.

8. Dastan D., Salehi P., Ghanati F., Gohari A.R., Maroofi H., Alnajar N. Phytotoxicity and cytotoxicity of disesquiterpene and sesquiterpene coumarins from *Ferula pseudalliacea* // Industrial Crops and Products. - 2014. - Vol. 55. - P.43–48.

9. Kurimoto S., Suzuki K., Okasaka M., Kashiwada Y., Kodzhimatov O.K., Takaishi Y. New sesquiterpene lactone glucosides from the roots of *Ferula varia* // Phytochemistry Letters. 2012. Vol. 5, No 4. P.729–733.

10. Khasanova K.I., Eshbakova K.A., Turgunov K.K., Tashkhodzhaev B., Aisa, H.A. α- and γ-Apienes, ferovinal and ferocin from *Ferula ovina* // Chem. Nat. Compd. – 2020. - Vol. 56, No 3. - P.395–399.

11. Сафина Л.К., Пименов М.Г., Ферулы Казахстана, Алма-Ата, Наука,1984, 160 с.

12. Golovina L.A., Nikonov G.K. Esters of *Ferula ceratophylla*// Chem. Nat. Compd. - 1977. - Vol. 13, No 5. - P.591–592.

13. Adekenov S.M., Kishkentayeva A.S., Zhakanov M.M., Bagryanskaya I.Yu. 3-methoxy-4,5-methylenedioxypropiophenone and ferocinin from *Ferula kelleri*// Chem. Nat. Compd. - 2020. - Vol. 56, No 5. - P.767-769.

FEROCININ - A CHEMOTAXONOMIC MARKER OF *FERULA* L. SPECIES

Academician of NAS RK, Doctor of Chemical Sciences, Professor Adekenov S.M.[a)], Mantler S.N., Zhakanov M.M., PhD Adekenova Aigerim S.

JSC “International Research and Production Holding “Phytochemistry”, Republic of Kazakhstan, Karaganda, M.Gazaliev str. 4, 100009

a) corresponding author – info@phyto.kz

Abstract. The aim of this work is a chemical study of 6 plant species of the genus *Ferula* L., growing in the territory of the Republic of Kazakhstan, for the content of esters, terpenoids and aromatic acids. It has been established that extraction with 96% ethanol provides a quantitative (up to 20%) yield of the sums of extractive substances from the roots of 6 species of *Ferula* L. growing in the Republic of Kazakhstan. Evaluation by thin layer chromatography and high performance liquid chromatography of the sums of extractive substances indicates the presence of an ester of terpenoid alcohol and aromatic acid - ferocinin in 6 species of *Ferula* L. During the chromatographic separation of the sums of extractive substances from 6 species of *Ferula* L., ferocinin was isolated, the crystal structure of which was studied for the first time by X-ray diffraction analysis, and its structural data were deposited in the Cambridge Crystallographic Database.

***Keywords**: Ferula, extraction, chromatographic separation, esters, ferocinin.*

УДК: 54.062 DOI: 10.52101/9785870191003_2021_509

ПОИСК НОВЫХ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ И ТЕХНОЛОГИЙ ИХ СИНТЕЗА

Ахмедова Д. А.[1,2, a)], Айдакова А. В. [1,2], Иванов И. С.[1,2], к.фарм.н. Шаталов Д. О.[1], Королева Ю. А.[1], Азарова Ю. А.[1]

1 - Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "МИРЭА - Российский технологичес кий университет", Российская Федерация, Москва, проспект Вернадского, дом 78, 119454

2 - АО «Институт фармацевтических технологий», Российская Федерация, Москва, Сколковское ш., д. 21, 121353

а) автор для переписки – akhmedova.diana.a@gmail.com

Аннотация. В статье представлена актуальность синтеза соединений с противомикробным действием в связи с распространением по всему миру микробной резистентности. Предложен и обоснован инновационный способ синтеза перспективного соединения класса алкиленгуанидинов, а именно олигогексаметиленгуанидин гидрокарбоната. Микрофлюидная технология имеет ряд преимуществ по сравнению с классическим методом (в объемном реакторе) и ее применение в синтезе олигогексаметиленгуанидин гидрокарбоната позволит получить соль с высокой степенью чистоты, что даст возможность на ее основе синтезировать различные соли олигогексаметиленгуанидина (гидросукцинат, гидроцитрат, гидросалицилат и тд.) для применения в качестве фармацевтических субстанций согласно Государственной Фармакопее РФ издание XIV, что увеличит линейку веществ с биологической активностью, а также лекарственных препаратов на их основе.

Ключевые слова: *гидрокарбонат разветвлённого олигогексаметиленгуанидина, ОГМГ-ГК, микрофлюидные технологии, микробная резистентность.*

ВВЕДЕНИЕ

На сегодняшний день, одной из самых актуальных проблем в фармацевтической отрасли является развитие резистентности у микроорганизмов к антимикробным веществам, что, в свою очередь, обуславливает потребность в повышении дозы и концентраций активных фармацевтических субстанций и вместе с этим приводит к повышению рисков воздействия на организм. Основной причиной резистентности является нерациональное и (или) бесконтрольное применение противомикробных средств [1]. Для решения этой проблемы была определена государственная политика по предупреждению и ограничению распространения устойчивости микроорганизмов к противомикробным препаратам, химическим и биологическим средствам в Российской Федерации [2]. В связи с вышеизложенным на начальном этапе целью исследования является литературный анализ соединений, проявляющих антимикробное действие, а также выбор и обоснование технологий их синтеза.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.

Рассмотрены научные исследования за последние 10 лет из различных баз данных (Scopus, Medline, РИНЦ, PubMed и т.д.) методом литературного анализа.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Большой интерес вызывают активные вещества, относящиеся к классу алкиленгуанидинов. Различные соединения класса гуанидинов – твёрдые, термически стабильные вещества без цвета и запаха, легко растворяются в воде, сочетают свойства биоцида, флокулянта, катионного полиэлектролита и ПАВ; стабилизируют материалы в отношении био- и окислительной деструкции, старения; хорошо совмещаются с другими

полимерами, легко подвергаются химической модификации, сохраняя, при этом, биоцидные свойства [3,4].

Одним из перспективных соединений данного класса, в силу низкой токсичности и высокой эффективности являются синтетически низкомолекулярные производные олигогексаметиленгуанидинов (ОГМГ). Благодаря наличию гуанидинового звена, несущего положительный заряд, и являясь поликатионом, указанные соединения могут существовать в форме органического основания или солей с различными неорганическими или органическими кислотами (гидрохлориды, гидроцитраты, гидросалицилаты, гидросукцинаты и пр.). Именно за счёт положительного заряда реализуется их механизм действия, инициируемый протонированием молекулы гуанидина, вследствие чего заряд равномерно распределяется по молекуле и обуславливает биоцидные свойства. Считается, что олигогуанидины, благодаря своим биоцидным свойствам, способны подавлять деятельность широкого класса микроорганизмов, вирусов и грибов, воздействуя как на аэробную, так и на анаэробную микрофлору, а также вызывать деструкцию биопленок, образованных патогенной микрофлорой [5].

В России в конце 1960-х гг. П.А. Гембицким был предложен наиболее простой способ получения солей ОГМГ - классический способ синтеза ОГМГ гидрохлорида (ОГМГ-ГХ) или ОГМГ гидрокарбоната (ОГМГ - ГК), заключающийся в олигоконденсации исходных мономеров — гексаметилендиамина и гидрохлорида гуанидина / гидрокарбоната гуанидина, соответственно, в объемном реакторе [3]. Далее из этих соединений возможно получать другие соли разветвлённого ОГМГ. Итогом было не только долгое время проведения синтеза, но и низкое качество полученных солей, характеризующееся неоднородностью по молекулярно-массовым характеристикам и высоким количеством остаточных мономеров. Следовательно, соли разветвлённого ОГМГ, полученные таким способом, имеют качество, неудовлетворяющее требованиям Государственной Фармакопеи XIV, и требуют дополнительного этапа – очистки [5, 6].

В качестве решения вышеизложенного предлагается инновационная технология синтеза ОГМГ-ГК – микрофлюидика. Микрофлюидная система – это компактное устройство, которое оперирует небольшим количеством жидкости (нано/микролитровыми объёмами), используя каналы с размерами десятки - сотни микрон. Течение в таких каналах, как правило, ламинарное, перенос масс осуществляется посредством диффузии. Использование даже простых микрофлюидных устройств существенно повышает эффективность научных исследований [7, 8].

Преимущества микрофлюидного синтеза: большое соотношение реакционной площади к объёму; низкие расходы материалов; исключается неравномерность скорости протекания процесса; смешивание происходит в ламинарном режиме; контроль температуры и времени пребывания по всему объёму реактора; уменьшенное время проведения реакции; кинетический контроль олиго- и полимеризации; безопасность процесса [9].

Таким образом, обоснована актуальность и необходимость поиска новых классов соединений с бактерицидным действием в связи с распространением резистентности у микроорганизмов. По данным литературы актуальным направлением для дальнейшего исследования являются соединения класса гуанидина, а именно – соли олигоалкиленгуанидина. Метод микрофлюидной технологии в синтезе ОГМГ - ГК по сравнению с классическим методом (в объемном реакторе), предложенный в данной статье, позволит получить продукт высокой степени чистоты и даст возможность использовать его в качестве исходного компонента для синтеза других солей ОГМГ, что расширит линейку биологически активных соединений с противомикробной активностью и лекарственных препаратов на их основе.

ВЫВОДЫ

По данным проведенных научных исследований методом литературного анализа было выяснено, что перспективными соединениями, проявляющие антимикробную активность к широкому классу патогенных микроорганизмов, а также имеющие низкий класс токсичности, являются производные олигоалкиленгуанидина. Выбор микрофлюидной технологии в синтезе солей ОГМГ позволит улучшить и сократить процесс синтеза и получить на выходе соединения с достаточной степенью чистоты для их применения в качестве фармацевтической субстанции.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Намазова-Баранова Л.С. Антибиотикорезистентность в современном мире / Намазова-Баранова Л.С., Баранов А.А. // Педиатрическая фармакология. – 2017. - №14 (5). – С. 341-354.

2. Распоряжение Правительства РФ от 25 сентября 2017 г. № 2045-р «Стратегия предупреждения распространения антимикробной резистентности в Российской Федерации на период до 2030 года».

3. Воинцева, И. И., Полигуанидины – дезинфекционные средства и полифункциональные добавки / И.И. Воинцева, П.А.Гембицкий // М.: ЛКМ-пресс. – 2009. – 304 с.

4. Zhou Z.X., Damage of Escherichia coli membrane by bactericidal agent polyhexamethylene guanidine hydrochloride: Micrographic evidences/ D.F. Wei, Y. Guan, A.N. Zheng, J.J. Zhong, J. Appl. // Microbiol. – 2010. – 108. – 898 c.

5. Шаталов Д.О. Опыт и перспективы развития использования синтетических антимикробных веществ / Д.О. Шаталов, С.А. Кедик, Е.С. Жаворонок, А.В. Айдакова, И.С. Иванов, А.С. Евсеева, С.В. Беляков, С.И. Бирюлин, А.В. Коваленко, Е.Н. Михайленко // Все материалы. Энциклопедический справочник. – 2016. – 8. – 14 с.

6. Шаталов, Д. О. Способ получения солей разветвлённого олигогексаметиленгуанидина, имеющих степень чистоты, достаточную для их применения в качестве фармацевтической субстанции / Д. О. Шаталов, С. А. Кедик, С. В. Беляков, И. С. Иванов, А. В. Айдакова, И. П. Седишев // Пат. RU 2729421 C1, 15.07.2019.

7. Гербст А. Микрореакторы и нанотехнологии /А. Гербст. // Био- и нанотехнологии. - 2012. - № 3. - С. 78 – 88.

8. Matthew B., The Hitchhiker’s Guide to Flow Chemistry / M. B. Plutschack, B. Pieber, K.Gilmore, H. Peter // Chem. Rev. – 2017. – 117. – 18 с.

9. Ivanov, I.S. An effective method for preparation of high purity oligohexamethylene guanidine salts / I.S. Ivanov, D.O. Shatalov, S.A. Kedik, Sedishev, I.P. S.V. Beliakov, K.N. Trachuk, V. V. // Komarova, Tonk. Khim. Tekhnol. = Fine Chem.Technol. – 2020. - 15(3). – pp. 31 - 38.

УДК 615.457.451.012/.014 DOI: 10.52101/9785870191003_2021_512

СРЕДСТВА С ПРОПОЛИСОМ И ЭКСТРАКТОМ МЕЛОНЕЛЛЫ ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ СЕЗОННЫХ ВСПЫШЕК ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ ГРИППА И ОРВИ

Емшина А. Р.[1], доцент, к.фарм.н. Петрова В. В.[1, a)], профессор, д.фарм.н. Шикова Ю. В.[1,2]

1 – Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Министерства здравоохранения Российской Федерации, Респ. Башкортостан, г. Уфа, ул. Ленина, д. 3, 450008

2 - Государственное автономное научное учреждение «Институт стратегических исследований Республики Башкортостан», Респ. Башкортостан, г. Уфа, ул. Кирова, д. 15, 450008

а) автор для переписки – petrovaviki@yandex.ru

Аннотация. Целью данного исследования является поиск нового лекарственного препарата с прополисом и экстрактом мелонеллы для профилактики сезонных вспышек заболеваемости гриппа и ОРВИ. Показатели заболеваемости инфекционными этиологиями остаются высокими из года в год, следовательно вопросы предотвращения распространения инфекций стоят остро и актуальны на сегодняшний день. В данной работе мы провели исследование противомикробной активности мазей с прополисом и экстрактом мелонеллы. В результате были отмечены широкий спектр биологического и лечебного действия средства, а также отсутствие развития резистентности микроорганизмов к действующими веществам препарата. Дальнейшее исследование данного состава перспективно в области применения такой мази в качестве неспецифической меры профилактики гриппа и ОРВИ.

Ключевые слова: *грипп, ОРВИ, коронавирусная инфекция, мазь, пчеловодство, прополис, профилактика, экстракт личинок большой восковой моли, экстракт мелонелл.*

ВВЕДЕНИЕ

Наиболее частыми заболеваниями инфекционной этиологии справедливо считаются вирусные заболевания респираторного тракта, которые также являются самой распространенной патологией не только среди взрослых, но и детей, достигая 80-90%. Число зарегистрированных случаев заболеваемости гриппом и острыми респираторными вирусными инфекциями (ОРВИ) на территории Российской Федерации достигает около 45 млн каждый год, из этого количества почти 18 млн - это дети. В таком случае страдает в одинаковой степени и здоровье населения, и экономика страны. Вопреки приобретенной репутации коронавирусной инфекции в списке самых опасных заболеваний она встречается лишь на 17-ой позиции. На пьедестале «лидеров-убийц» же находятся пневмония, туберкулез и гепатит В. В 2020 году больше 7,6 тыс. человек ежедневно становились жертвами этих заболеваний со смертельным исходом. Ишемическая болезнь сердца (ИБС) и инсульт вызвали более 50% зарегистрированных случаев внезапной смертности в мире. На сегодняшний день они так и не спустились с лидирующих мест. В условиях пандемии новой коронавирусной инфекции COVID-19 другие опасные заболевания уже не кажутся такими страшными, но забывать о существовании ОРВИ в настоящее время очень опрометчиво [8].

На сегодняшний день базовыми способами лечения острой респираторной вирусной инфекции являются симптоматическая терапия, а также терапия с применением ингибиторов включения вируса в клетки и препаратов интерферона. К сожалению, большой проблемой, которую невозможно игнорировать, является проблема высокой резистенции микроорганизмов к антибиотикам в связи с их частым неконтролируемым применением в

случаях неграмотного самолечения. Как следствие в последнее время стали больше делать акцент именно на предотвращении заражением гриппом и ОРВИ, а именно профилактике[2].

Как известно, вирусы передаются в большей степени воздушно-капельным путем. При попадании в организм человека инфекция попадает в первую очередь на эпителиальные клетки респираторного тракта, где и происходит заражение. Следовательно, чтобы этого не произошло, необходимо клетки защитить. В таком случае является полностью обоснованной разработка нового комбинированного лекарственного препарата с продуктами пчеловодства в качестве мази, непосредственно наносимой местно в виде аппликаций в каждый носовой проход, что будет служить профилактикой гриппа и ОРВИ.

Данный препарат не зарегистрирован, а находится на стадии разработки и изучения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы: спиртовый экстракт прополиса (ТУ 64-0307-11-91), экстракт мелонеллы (Galleria mellonella) (Авторское свидетельство СССР № 1284229, А 61К 35/04. 1989. «Способ получения биологически активного продукта из личинок большой восковой моли»).

Методы: на кафедре фармацевтической технологии с курсом биотехнологии БГМУ были проведены исследования, по разработке состава мази "Антивир" с экстрактом мелонеллы и экстрактом прополиса, где исследовался состав экстракта мелонеллы на предмет антимикробной активности [3].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Действие препарата и его фармакологические эффекты обуславливаются входящими в состав компонентами - спиртовыми экстрактами прополиса 5% и личинками большой восковой моли 5% (экстракт мелонеллы). Экстракт мелонеллы полученный из личинок большой восковой моли обладает широким спектром биологической лечебной активности, практически не токсичен. В экстракте мелонеллы обнаружена высокая антиоксидантная активность, которая и определяет многие его лечебные эффекты [1]. Прополис представляет собой продукт пчеловодства, который пчелы вырабатывают после переработки собранных с растений клейких веществ. В его составе обнаружены различные минеральные соли, органические кислоты, витамины, аминокислоты и биологически активные вещества, обладающие противомикробной активностью. Среди них встречаются смолы, флавоны, ароматические вещества, а также коричная и бензойная кислоты, отличающиеся бактерицидными и вирostатическими действиями. Значительным преимуществом применения прополиса является отсутствие развития резистентности штаммов микроорганизмов, так как он включает в себя большое количество различных действующих веществ и его состав непостоянен, потому что зависит от сезона, места расположения улья и растений, использованных пчелами для сбора клейких веществ. Бактерицидная активность прополисосодержащих препаратов обнаружена в отношении всех патогенных микроорганизмов, в том числе штаммов резистентных к антибиотикам [5].

Почти все вирусы имеют иммуносупрессивное действие, так как угнетают активность нейтрофилов и моноцитарных фагоцитов, а также они способны вызвать аллергическую реакцию, образуя токсические иммунные комплексы [4]. Помимо яркого антимикробного действия прополис повышает местный иммунитет, улучшает обмен веществ и способствует повышению регенеративной способности тканей. Также входящие в состав прополиса фенолы обладают антиоксидантным эффектом, то есть защищают ткани от вредного воздействия перекисных соединений и свободных радикалов, которые образуются в ходе разрушения клеток, пораженных вирусами, от чего возникает воспаление и отек слизистой носа. Помимо всего прочего отмечено анестезирующее действие прополиса, таким образом, он при воспалительных процессах в полости носа уменьшает выраженность болевых ощущений [6].

Несомненно вызывает интерес и химический состав экстракта личинок большой восковой моли. В нем отмечено не только большое количество моно- и дисахаридов,

свободных аминокислот, но и биологически активных веществ, производимых пчелами, способных активировать и стимулировать рост и развитие клеток. Преимуществами препарата являются его активность, низкая токсичность и отсутствие нежелательных побочных эффектов, в отличие от многих фармако- и химиопрепаратов. При применении данного экстракта (в форме «Бальзама доктора Рачкова») наблюдается улучшение микроциркуляции, восстановление структуры клеток, а также уменьшение ломкости сосудов. Помимо этого доказаны антиоксидантное действие и широкий спектр биологического и лечебного действия [7]. Отмечено, что если в состав мази добавить сополимер стирола с малеиновым ангидридом в количестве 2%, то наблюдается усиление действия активных компонентов экстрактов, то есть явление синергизм.

В состав мази также входит компонент Кремофор RH 40 (3%), который представляет собой уникальное по природной структуре вещество, схожее одновременно с липофильным и с гидрофильным слоем клетки. Благодаря своим свойствам он способен расщепить биологически активные вещества экстрактов до наноразмеров и обволакивать их, образуя нанокапсулу, следовательно, обеспечивается ускоренный перенос компонентов в глубокие слои слизистой и клетку [1,6]. Введение в состав мази масла кокосового пищевого (10%) обеспечивает пластичность состава мази, смягчает слизистую оболочку носа [6].

ВЫВОДЫ

Проблема гриппа и других ОРВИ комплексная и очень сложная по своему решению, исходя из этого, целесообразно постоянно проводить своевременную и эффективную профилактику. Использование предложенных в данной работе продуктов пчеловодства в виде мази - перспективное направление в фармации, целью которого станет создание новой лекарственной формы для неспецифической профилактики данных патологий.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Епифанова, А. В. Влияние кремофора на высвобождение активных веществ в интраназальной мази / А. В. Епифанова, Ю. В. Шикова, В. А. Лиходед // Сборник научных трудов по материалам международной заочной научно-практической конференции «Теоретические и прикладные проблемы науки и образования в 21 веке» - часть 6. - Тамбов, 2012. - с. 47-48.
2. Епифанова, А. В. К вопросу профилактики сезонных вспышек заболеваемости гриппа и других ОРВИ / А. В. Епифанова, Ю. В. Шикова // Сборник материалов XIX Российского национального конгресса «Человек и лекарство» - Москва, 2012. - с. 373-374.
3. Епифанова, А. В. Разработка состава и технологии лекарственных средств с продуктами пчеловодства : диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук / Епифанова Алина Валерьяновна. – Уфа, 2015. – 278 с.
4. Жукова, Л. Дифференциальный диагноз, лечение и профилактика острых респираторных вирусных инфекций / Л. Жукова // Врач. – 2010. – № 10. – С. 2-6.
5. Шикова, Ю.В. Использование продуктов пчеловодства в разработке составов лекарственных средств / Ю. В. Шикова, В. А. Лиходед, С. Б. Бахтиярова, Р. А. Зарипов, Ю. Л. Баймурзина, А. В. Епифанова, М. В. Мельников // Материалы всероссийской научно-практической конференции «Роль науки в инновационном развитии сельского хозяйства. Инновационные технологии. Основа конкурентоспособности сельского хозяйства» - Уфа -2010. - с. 255-258.
6. Шикова, Ю. В. Продукты пчеловодства в профилактике сезонных вспышек заболеваемости гриппом и ОРВИ / Ю. В. Шикова, А. Г. Маннапов, Р. А. Зарипов // Пчеловодство. – 2020. – № 5. – С. 50-51.
7. Апитерапия. Пособие для врачей / А. К. Рачков, М. А. Рачкова. URL: http://apismf.ru/poleznoe/80-apiterapiya-ak-rachkov-ma-rachkova (дата обращения 01.04.2021)
8. ВОЗ обнародовала статистику смертности от заболеваний в мире/ Кронколит. URL: https://kronkolit.pro/voz-obnarodovala-statistiku-smertnosti-ot-zabolevaniy-v-mire/ (дата обращения: 21.03.2021)

УДК 615.074 DOI: 10.52101/9785870191003_2021_515

ОБОСНОВАНИЕ ВЫБОРА СОСТАВА КОМБИНИРОВАННОГО РАСТИТЕЛЬНОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА СЕДАТИВНОГО ДЕЙСТВИЯ

Хажжар. Ф. [a)], профессор, д.фарм.н. Потанина О. Г.

Российский университет дружбы народов, (Россия, Москва, ул. Миклухо-Маклая, д.6), 117198
а) автор для переписки – phfadyhajj@gmail.com

Аннотация. В работе представлено обоснование состава комбинированного растительного лекарственного средства седативного действия. Проанализированы существующие составы седативного действия, зарегистрированные как лекарственные средства и биологически активные добавки к пище (БАД). Охарактеризованы выбранные фармакопейные виды лекарственного растительного сырья травы пустырника, плодов боярышника и корневища с корнями синюхи голубой. Выбранный трехкомпонентный состав не перегружен изобилием компонентов, исключает синтетические добавки, не содержит корневищ с корнями валерианы. В то же время включает компоненты по седативной активности превосходящие валериану. На основе выбранного состава в дальнейшем будут проведены исследования по разработке технологии капсул с тиксотропной жидкостью седативного действия.

Цель: подготовить обоснование выбора состава комбинированного растительного лекарственного средства седативного действия с помощью поисково-информационных исследований.

Ключевые слова: *Rhizoma cum radicibus Polemonii, Polemonium caeruleum L., Herba Leonuri, Leonurus quinquelobatus Gilib., Leonurus cardiac L., Fructus Crataegi, Crataégus spp., синюха голубая, пустырник пятилопастной, пустырник сердечный, боярышник виды**,** седативный эффект, лекарственные растительные средства, биологически активные добавки к пище, БАД.*

ВВЕДЕНИЕ

По данным Всемирной организации здравоохранения за 2012 год, более 350 миллионов человек страдают бессонницей, которая мешает нормальной жизнедеятельности. Эффективность современных седативных препаратов не превышает 70%. Почти треть пациентов, страдающих бессонницей, реагирует на применяемые препараты, что вызывает интенсивный поиск новых препаратов. Поэтому очень многообещающим направлением является использование лекарственных растений в качестве источников комбинированных лекарственных средств. Несмотря на то, что существует относительно широкий перечень препаратов для профилактики и лечения неврологических расстройств, важность разработки и внедрения новых, более эффективных и безопасных средств по-прежнему остается актуальной. В связи с этим особый интерес представляют лекарственные препараты растительного происхождения, как средства проявляющие хорошую эффективность и имеющие меньше побочных эффектов [1].

Ассортимент лекарственных растительных средств в настоящее время довольно широкий. Зарегистрированы комбинированные растительные лекарственные средства, обладающие седативным действием: «Корвалол», «Кардиовален», «Валемидин», «Броменвал», «Релаксозан», «Персен» и др. Однако большинство из них включают настойку или экстракт валерианы, к которой у некоторых людей бывает непереносимость или привыкание. Ряд прописей содержат компоненты синтетического происхождения [2].

В настоящее время на фармацевтическом рынке применяются следующие БАДы, зарегистрированные в России и представленные в Таблице 1 [3].

Таблица 1. - Биологически активные добавки к пище на основе боярышника, пустырника, синюхи голубой.

Название	Состав/Активные субстанции	Лекарственная форма
Сироп боярышника с пустырником и мелиссой форт"	Корневища с корнями валерианы, трава зверобоя, цветки боярышника	Сироп
Комплекс экстрактов боярышника и красного винограда	Экстракты боярышника и красного винограда	Капсулы
Сироп из плодов боярышника и рябины с витамином С с фруктозой	Плоды боярышника, плоды рябины, витамин С, фруктоза	Сироп
Сироп из плодов шиповника и боярышника с витамином С	Плоды шиповника, плоды боярышника, витамин С	Сироп
Сироп боярышника с шиповником	Плоды боярышника, плоды шиповника	Сироп
Комплекс экстрактов валерианы и пустырника	Экстракт валерианы, экстракт пустырника	Капсулы
Бальзам безалкогольный серии "Сибирский прополис" "Серебряный"	Мед горный, прополис, экстракт мелонеллы, трава эхинацеи, цветки календулы, курильский чай, плоды шиповника, трава чабреца, плоды брусники, красный корень, плоды облепихи, корни синюхи, лист смородины, хвоя кедра, корень дягиля.	Бальзам
Напиток безалкогольный - бальзам "Серебряный" серии "Сибирский прополис"	Мед горный, прополис, экстаркт мелонеллы, трава шиповника, трава чабреца, плоды брусники, красный корень, плоды облепихи, корни синюхи, лист смородины, хвоя кедра, корень дягиля, трава герани луговой.	Бальзам
Бальзам а/д норма" ("a/d norma")	Трава и корни астрагала шертистоцветкого, плоды рябины черноплодной, плоды, цветки и листья боярышника кроваво-красного, цветки, листья лабазника вязолистого, трава, корни с корневищами синюхи голубой; водная вытяжка: трава и корни астрагала шертистоцветкого, трава сушеницы болотной; рутин; дигидрокверцетин	Бальзам
"Нерво-вит"	Корневища с корнями валерианы лекарственной, порошок корневищ с корнями синюхи, экстракт пустырника пятилопастного, экстракт мелиссы лекарственной, кислота аскорбиновая.	Таблетки
"Бальзам "Кучерла" (Вечерний)" серии "Долина свободы"	Плоды черемухи, плоды рябины, цветки липы сердцевидной, листья бадана толстолистного, трава горца птичьего, цветки ромашки аптечной, цветки боярышника кроваво-красного, трава репешка обыкновенного, трава чабреца, трава душицы обыкновенной, соплодия хмеля	Бальзам

	обыкновенного, трава зверобоя продырявленного, цветки лаванды колосковой, трава патринии сибирской, трава синюхи голубой	
"Валемидин® плюс",	Валерианы лекарственной корневищ с корнями, мяты перечной листья, пустырника сердечного трава, боярышника кроваво-красного плоды, синюхи голубой трава или корневища с корнями	Сироп
«Здоровый сон».	Экстракт синюхи голубой (трава), экстракт ромашки аптечной (цветки), экстракт пиона степного (корень), экстракт пустырника пятилопастного, экстракт мяты перечной, экстракт хмеля обыкновенного (соплодия).	Капсулы
"Стресс релиф (stress relief)"	Экстракт корней синюхи голубой, l-тирозин, витамин РР (никотинамид), таурин, инозит (витамин В8), экстракт травы пустырника пятилопастного, калия хлорид, экстракт шишек хмеля обыкновенного, экстракт корневищ с корнями валерианы лекарственной, экстракт травы мелиссы лекарственной, фосфатидилхолин (из соевого лецитина), витамин а (ретинола ацетат), витамин В5 (кальция пантотенат), экстракт цветков ромашки аптечной, экстракт корней солодки голой, витамин В12 (цианокобаламин), витамин В6 (пиридоксина гидрохлорид), витамин В2 (рибофлавин), витамин В1 (тиамина гидрохлорид), витамин Д (холекальциферол), витамин В9 (фолиевая кислота), d-биотин (витамин В7).	Капсулы
«Кордексин» («cordexin»).	Экстракты корня и травы синюхи голубой, экстракт плодов барбариса обыкновенного, экстракт листьев малины, экстракт исландского мха (цетрария исландская), экстракт мать-и-мачехи, экстракт сосновых почек, экстракт цветков гвоздики, экстракт корня имбиря, экстракт семян кардамона, экстракт травы манжетки обыкновенной, экстракт листьев стевии, экстракт семян черного тмина, экстракт костуса (saussurea).	Бальзам
"Ночной"	Корневища с корнями валерианы лекарственной, триптофан, корневища с корнями синюхи голубой, листья мяты перечной, трава мелиссы лекарственной	Таблетки

Данные таблицы свидетельствуют, что большинство БАД включают корневища с корнями валерианы, довольно большую часть составляют БАД, включающие помимо растительных субстанций, вещества синтетического происхождения.

Поэтому была поставлена задача разработать лекарственное средство седативного действия, без использования корневищ с корнями валерианы и синтетических компонентов. Анализ потенциальных видов лекарственного растительного сырья показал перспективным к

использованию комбинацию, включающую корневища с корнями синюхи голубой, траву пустырника и плоды боярышника.

Целью настоящей работы было подготовить обоснование выбора состава комбинированного растительного лекарственного средства седативного действия с помощью поисково-информационных исследований.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для достижения цели использовались различные литературные источники, включая официальные государственные реестры лекарственных средств и БАД. Был проведен документальный и систематический анализ информации. Проанализированы электронные источники: Web of Science, Scopus, PubMed, E-Library, Cyberleninka, поисковые системы (Google Scholar).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для дальнейших исследований были выбраны корневища с корнями синюхи голубой, трава пустырника и плоды боярышника. Все перечисленные виды лекарственного растительного сырья являются фармакопейными, что в дальнейшем должно значительно облегчить проведение их стандартизации.

Состав травы пустырника представлен флавоноидами (производные апигенина: космосиин, квинквелозид; производные кверцетина: рутин, кверцитрин, изокверцитрин, гиперозид, кверцимеритрин), иридоидами (гарпагид, ацетилгарпагид, аюгол, аюгозид, галирозид), фенольными кислотами (кофейная кислота), эфирным маслом (около 0.03-0.25 %). Растение богато аскорбиновой кислотой, каротином. солями К, Са, Мо, алкалоидами (леонурин, леонуридин) [4-5].

Плоды боярышника включают флавоноиды (производные кверцетина: кверцетин, кверцитрин, ацетилвитексин, витексин, пиннатифитин), оксикоричные кислоты (кофейная, хлорогеновая), тритерпеновые соединения (урсловая и олеаноловая кислоты), каротиноиды, пектины, сахара (от 4 до 11 %), жирные кислоты, дубильные вещества, фитостерины, винная и лимонная кислоты, аскорбиновую кислоту (до 90 мг), витамин Е (2 мг), микро- и макроэлементы и другие биологически активные вещества [6, 7, 8].

В состав корневищ с корнями синюхи голубой входят тритерпеновые пентациклические сапонины группы β-амирина (полемониозиды, 20-30 %), агликоны которых представлены преимущественно эфирами высокогидроксилированных тритерпеновых спиртов (лонгиспиогенола, AR_1-барригенола, R_1-барригенола, камеллиагенина Е и др.) и уксусной, тиглиновой, ангеликовой, α-метилмасляной, пропионовой, изобутиловой кислот. Кроме того, включают органические кислоты, жирное и эфирное масло, смолы (до 1,3 %), кумартин, флавоноиды, немного крахмала и следы эфирного масла, железо, серебро, цинк, барий, кадмий, алюминий [9, 10].

Согласно Государственной Фармакопеи Российской Федерации XIV издания плоды боярышника стандартизуют по сумме флавоноидов в пересчете на гиперозид (не менее 0,04 %); трава пустырника - по сумме флавоноидов (не менее 0,2 %); корневища с корнями синюхи голубой – по сумме тритерпеновых сапонинов в пересчете на β-эсцин (не менее 10 %) [11].

В современной медицине из плодов боярышника готовят настойку, отвар и экстракт жидкий. Жидкий экстракт плодов входит в состав препартов «Кардиовален», «Ново-Пассит», настойка – в состав препарата «Валоседан», также включчен в состав препарата «Кедровит». Трава пустырника применяется для получения настоя и настойки; входит в состав успокоительных сборов и сбора М. Н. Здренко, лекарственных средств: «Корвалол Нео», «Корвалол Фито», бальзам «Московия». Из корневищ с корнями синюхи голубой получают отвар, входит в состав сборов, лекарственного препарата «Валемидин» [2, 3, 6].

Исследуемые растения проявляют в различной степени седативный эффект. Кроме того, трава пустырника оказывает гипотензивное воздействие и понижает выраженность невротических симптомов при гипертонической болезни [12]. В сборах трава пустырника успешно применяется при лечении депрессивных состояний [13]. Отмечено, что успокаивающее свойство пустырника превосходит таковые валерианы в два раза [14]. Используют траву пустырника в качестве седативного средства, взамен препаратов валерианы и совместно с ними, при повышенной нервной возбудимости, сердечно-сосудистых неврозах и начальных стадиях гипертонической болезни [9].

Как правило, состояние нервного возбуждения сопровождается неблагоприятными изменениями со стороны сердечно-сосудистой системы, поэтому введение в состав плодов боярышника целесообразно для профилактики подобных нарушений. Плоды боярышника широко применяются в кардиологической практике в качестве кардиотонического средства. Определено, что плоды боярышника оказывают антиаритмическое, кардиологическое действие, улучшают коронарное кровообращение. Применяют при функциональных расстройствах сердечной деятельности, сердечной недостаточности, при начальных формах гипертонии, аритмии, ангионеврозах, бессоннице [15, 16].

Корневища с корнями синюхи голубой применяются в медицине как отхаркивающее, седативное, гипотензивное средство при болезнях сердечно-сосудистой системы (гипертензия, кардионевроз, вегетососудистая дистония, стенокардия, инфекциях (туберкулез легких, коклюш, дизентерия), болезни дыхательной системы (бронхит, очаговая пневмония, бронхоэктазия), болезни пищеварительной системы (язвенная болезнь желудка и 12-перстной кишки) и др. Установленное успокаивающее действие синюхи на нервную систему по силе эффективнее валерианы в 8-10 раз. Синюха снижает артериальное давление и улучшает обмен веществ. Препараты из синюхи применяют при нервных заболеваниях, а также как седативное средство, при бессоннице, эпилепсии [17, 18].

ВЫВОДЫ

Таким образом, состав, включающий плоды боярышника, траву пустырника и траву синюхи голубой, является перспективным для разработки седативного лекарственного средства. Выбранный трехкомпонентный состав не перегружен изобилием компонентов, исключает синтетические добавки, не содержит корневищ с корнями валерианы. В то же время включает компоненты по седативной активности превосходящие валериану. Все выбранные компоненты включены в ГФ РФ, что в дальнейшем упростит исследования по стандартизации. На основе выбранного состава в дальнейшем будут проведены исследования по разработке технологии капсул с тиксотропной жидкостью седативного действия.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Bosткевеч С.А., Целебные растения и эферные масла. – Екатеринбург: М Пещ промсть, 2012. – 172 с.
2. Государственный реестр лекарственных средств: https://grls.rosminzdrav.ru/GRLS.aspx.
3. Реестр свидетельств на сайте Евразийской Экономической Комиссии / Электронный ресурс: https://portal.eaeunion.org/sites/odata/_layouts.
4. Маевский, П. Ф. Флора средней полосы европейской части России. – Москва: Товарищество научных изданий КМК, 2016. – 636 с.
5. Макаров, В. Г. Экспериментальное и клиническое изучение влияния препарата иридол на центральную нервную систему / А. Е. Александрова, А. Н. Шиков. // Экспр и клин фарм. –2016.– 69. – С. 23-25.
6. Алексеева, Г. М. Фармакогнозия. Лекарственное сырье растительного и животного происхождения. – Спб: СпецЛит, 2013.-847.
7. Jeong, Y. J. Differential inhibition of oxidized LDL-induced apoptosis in human endothelial cells treated with different flavonoids. / Y. J. Choi. // Br. J. Nutr . – 2015. – 93. – С.581-591.

8. Куркин, В. А. Флавоноиды фармакопейных растений. – Самара: Офорт, 2012. 290 с.
9. Куркин, В. А. Фармакогнозия. – Самара: Офорт, 2017. - 1239 с.
10. Белов, Н. В. чистотел и другие народные лекарственные растения в большой энциклопедии траволечения./ С.В.Календула. Минск: Мн АСТ Харвест , 2005 . -249 с.
11. Государственная фармакопея Российской Федерации XIV, том IV. Москва: Министерство здравоохранения Российской Федерации, 2018. -6359 с.
12. Shikov, A. N. Effect of Leonurus cardiac oil extract in patients with arterial hypertension accompanied by anxiety and sleep disorders. / O. N. Pozharitskaya. // Phytother. Res. –2011. – 25(4). – С. 540-543.
13. Бурчинский, С. Г. Depressive and dysthymic disorders in psychosomatic diseases and ways of their pharmacological correction. // Практикуючий лікар. – 2015. – 4. – С. 51-56.
14. Данилов, С. А. Сравнительное изучение нейропротекторной активности препаратов пустырника. / С.Ю. Штрыголь, Д. И. Дмитриевский, А. Н. Комиссаренко, // Клінічна фармація. – 2011. – 15. – С.64-68.
15. Рыжкова, Н. П. Лекарственные растения от А до Я. Ростов н/Д : Феникс, 2006.– 416 с.
16. Кароматов, И. Дж. Фитотерапия. руководство для врачей. Бухара: ИД Кароматов, 2012. – 820 с.
17. Самылина, И. А. Боярышник (Crataegus): возможности медицинского применения./ А. А. Сорокина, Н. В. Пятигорская // Фарматека . – 2010. – 8. – С 83–85.
18. Orhan, I. E. Phytochemical and pharmacological activity profile of *Crataegus oxyacantha* L. (hawthorn) // Med. Chem. – 2016. – 18. – С 23–25.

JUSTIFICATION FOR THE CHOICE OF THE COMPOSITION OF THE COMBINED HERBAL DRUG OF SEDATIVE ACTION

Hajjar F[1, a)]., D.Sc. in Pharmacy Potanina O[1].

1- Peoples' Friendship University of Russia (RUDN) University, (Russia, Moscow, str. Miklukho-Maklaya, building.6k2), 117198

a) corresponding author – phfadyhajj@gmail.com

Abstract. The paper presents the rationale for the composition of sedative herbal medicinal product. The compositions with sedative action, registered as medicines and biologically active food additives (BAA), have been analyzed. The selected pharmacopoeial species of medicinal plant raw materials including *Herba Leonuri, Fructus Crataegi* and *Herba Polemonii* are characterized. The selected three-component composition is not overloaded with components, excludes synthetic additives, does not contain Rhizomata cum radicibus Valerianae. At the same time, it includes two components in sedative activity superior to Valeriana. Based on the selected composition, further studies will be carried out to develop the capsules technology with a thixotropic sedative liquid.

Aim: to prepare a rationale for the composition of sedative herbal medicinal product employing recently published sources and information research.

Keywords: *Rhizoma cum radicibus Polemonii, Polemonium caeruleum L., Herba Leonuri, Leonurus quinquelobatus Gilib., Leonurus cardiac L., Fructus Crataegi, Crataégus spp., синюха голубая, пустырник пятилопастной, пустырник сердечный, боярышник виды, sedative, herbal remedies, biologically active food additives.*

УДК: 615.1:633.81 DOI: 10.52101/9785870191003_2021_521

ИССЛЕДОВАНИЕ ЭКСТРАКТА БЕССМЕРТНИКА ТЯНЬ-ШАНЬСКОГО (*HELICHRYSUM THIANSCHANICUM* REGEL.) МЕТОДОМ ЭНЕРГОДИСПЕРСИОННОЙ РЕНТГЕНОВСКОЙ СПЕКТРОСКОПИИ

д.м.н. Шарофова М. У. [1,3, a)], доцент, к.б.н. Трумпе Т. Е.[2],
д.х.н. Нуъмонов С. Р. [1,3], Рахмонов Р.У. [1,3], д.м.н. Миршохи М. [1,3]

1- Институт медицины Авиценны и фармакологии, Республика Таджикистан, г.Душанбе, ул. Ойгул, 45, 734000
2- ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений», Россия, г. Москва, ул. Грина, дом 7, стр. 1, 117216
3- Центр исследования инновационных технологий при Национальной Академии наук Таджикистана, Республика Таджикистан, г.Душанбе, ул. Айни, 299/3, 734025
а) автор для переписки – mijgona72@mail.ru

Аннотация. В республике Таджикистан в медицинской практике со времён Авиценны широко используется лекарственное растение – бессмертник тянь-шаньский (*Helichrysum thianschanicum* Regel.). Ранее, в опубликованных нами работах, были представлены результаты по экспериментальному изучению влияния настоя и экстракта цветков и листьев бессмертника тянь-шаньского, собранных в Дарвазском районе (2400м над уровнем моря) Республики Таджикистан, при инсулинорезистентности и аллоксангидратовом диабете у разных видов лабораторных животных. При проведении экспериментов, у всех животных были выявлены положительные изменения показателей, отражающие состояние углеводного, липидного и белкового обменов. В следствие чего, представлялся определённый научный интерес в объяснении полученных положительных результатов, путём изучения элементного состава бессмертника тянь-шаньского (*Helichrysum thianschanicum* Regel.) с помощью высокоэффективных, современных инструментальных методов обнаружения макро- и микроэлементов в живых тканях растения, определяющих особенности их «мизаджа» (натуры).

Ключевые слова: *экстракт цветков и листьев бессмертника тянь-шаньского (Helichrysum thianschanicum Regel.), сахарный диабет, метод энергодисперсионной рентгеновской спектроскопии, макро- и микроэлементы, ацидоз.*

ВВЕДЕНИЕ

Приоритетной задачей современной медицины является сохранение здоровья общества и профилактика болезней. Исследование и разработка растительных лекарственных препаратов для лечения социально-значимых заболеваний, в число которых включается и сахарный диабет (СД), приобретает всё большую актуальность в наши дни.

К сожалению, на сегодняшний день лекарственно-пищевые растения практически не используются врачами и пациентами при лечении СД [1-3], что связано, в том числе и недостаточной изученностью содержания активных веществ и возможных механизмов действия. Не проведено изучение лекарственных растений, применяемых в медицинской системе Авиценны на экспериментальных моделях сахарного диабета, не изучено влияние их активных компонентов на ферменты участвующие в формировании и обмене веществ с использованием энзимных методов на предмет проявления различных эффектов с учётом высокой полиорганотропности.

Известно, что при диабете также нарушаются функции печени, что сопровождается изменениями не только углеводного обмена, но и нарушениями метаболизма липидов и печеночных ферментов.

Опираясь на учение Авиценны о диабетогенезе, где диабет описывается как почечное заболевание и возникает в результате изменения «мизаджа» (натуры) больного в «холодную» (ацидную) сторону, а также подчёркивается необходимость терапии не только почек, но и печени, мы уделили особое внимание метаболическим изменениям биохимических показателей, отражающих функциональную активность, прежде всего этих органов. Необходимо отметить, что Авиценна подчёркивал важность лечения печени при диабете, особо указывая врачу: «Знай, если ты ошибёшься при (лечении) печени, то твоя ошибка перейдёт на сосуды и затем на (всё) тело».

Как показали результаты нашего исследования, комплекс антидиабетического и метаболизм-корректирующего действия экстракта цветков и листьев бессмертника тянь-шаньского (*Helichrysum thianschanicum* Regel.) в опытах на животных с экспериментальным диабетом и предиабетом, проявляют значительный терапевтический эффект через 2 недели внутрижелудочного введения, улучшая функциональную активность печени, почек и отдельных ферментов [4,5]. По данным А.С.Никитиной с соавторами (2017) «биогенная аккумуляция и средний химический состав растительных организмов являются их систематическим признаком» [6], следовательно, терапевтическая значимость растений и фитосредств, богатых щелочными элементами, не вызывает сомнений.

Целью нашего исследования явилось изучение микроэлементного состава экстракта цветков и листьев бессмертника тянь-шаньского (*Helichrysum thianschanicum* Regel.) с использованием метода энергодисперсионной рентгеновской спектроскопии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы исследования

Растворы растительного экстракта, супернатанты и гомогенаты бессмертника тянь-шаньского (Helichrysum thianschanicum Regel.).

Методы определения

Использование различных вариаций энергодисперсионной рентгеновской спектроскопии как метода качественного химического анализа представляется на сегодняшний день одним из наиболее высокоэффективных, современных инструментальных методов обнаружения элементов в живых тканях.

Исследование по определению содержания микроэлементов методом энергодисперсионной рентгеновской спектроскопии (EDX) со сканирующим электронным микроскопом (SEM) было проведено на базе Университета Сорбонны (Париж Cité-Paris 7, клиника Lariboisière, INSERM U965, 75010 Paris, France).

Подготовка и исследования экстрактов всех собранных и высушенных частей (цветки и листья) бессмертника тянь-шаньского измельчали с использованием аппарата для измельчения. Порошки хранили в специальных контейнерах, в которых они были отправлены на исследование в Университет Сорбонны (Париж Cité-Paris 7, клиника Lariboisière, INSERM U965, 75010 Paris, France).

Экстракцию растения проводили с использованием раствора этанола (10 г растительного порошка в 100 мл 70%-го спирта) и выдерживали в условиях темноты в течение 3 недель в специальном аппарате (с периодическим помешиванием). Растворы порошков центрифугировали (5000 об/мин в течение 30 минут) для выделения супернатантов. Растворы растительного экстракта высушивали и использовали для анализа металлов (элементов).

Для осаждения по 10-20 мкл каждого образца помещали в мультиячеечные пластины (рисунок 1a). Затем пластины оставляли для высушивания и подготовки к анализу. Пластины покрывали углеродным слоем во избежание чрезмерного перегревания (рисунок 1b), далее использовался спектроскоп EDX (Zeiss Ultra 55 FEGSEM, со сканирующим электронным микроскопом GEMIN, S260 CAMBRIDGE) (рисунок 1c), для выявления состава образца. Для каждого образца измеряли от двух до трёх зон. По окончании измерений данные были выражены в виде атомных и массовых процентов.

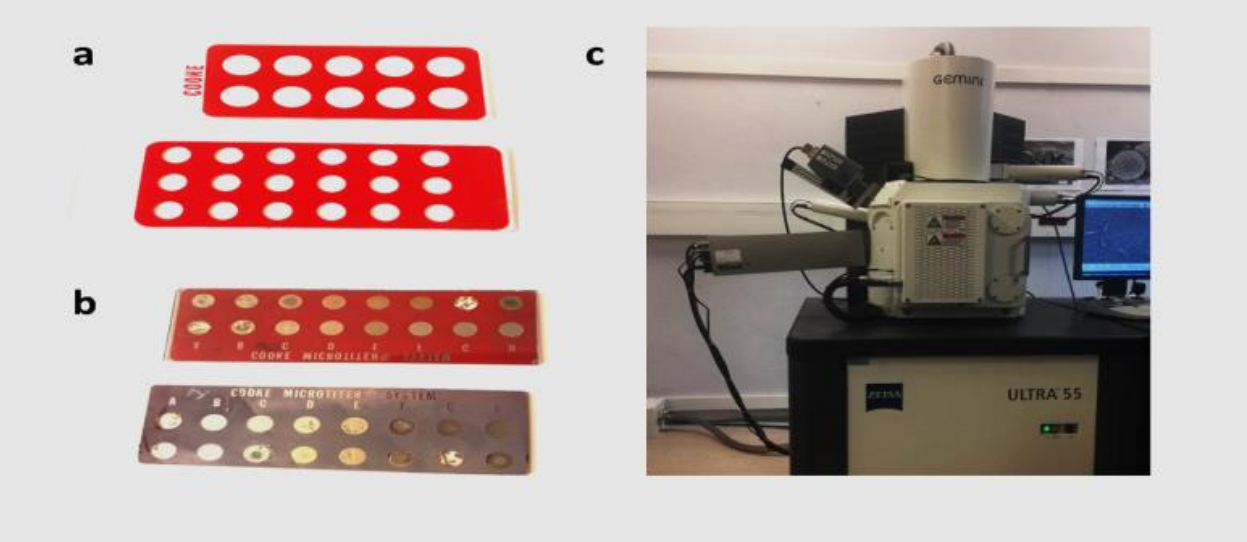


Рисунок - 1. a) мультиячеечные пластины; b) пластины с образцами; c) спектроскоп EDX

Энергодисперсионный рентгеновский анализ (EDX) представляет собой рентгеновский метод, используемый для идентификации элементного состава материалов. Для проведения наших исследований система EDX была прикреплена к сканирующему электронному микроскопу (SEM). Необходимо отметить, что участки исследования выбираются аппаратом автоматически. В растительном гомогенате бессмертника, были выявлены макро- и микроэлементы, определяющие особенности их «мизаджа» (натуры).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Известно, что макро- и микроэлементы могут играть важную роль в ферментативных реакциях, участвуя в качестве катализаторов. Мы предприняли анализ возможных взаимосвязей между свойствами «мизаджа» (натуры) лекарственно-пищевого растения и содержанием в нём щелочных элементов, таких как калий, кальций и магний, которые участвуют в физиологических процессах обеспечения гомеостаза организма. Следует подчеркнуть, что цель нашей работы не преследовала проведения точного количественного элементного анализа.

При энергодисперсионной рентгеновской спектроскопии на представленных микрофотографиях образцов бессмертника тянь-шаньского (*Helichrysum thianschanicum* Regel.), на выделенных участках (рисунках 2а, 2б), произведенных на глубине 100 и 200 микрометров (μm), наряду с элементами–органогенами (кислород, углерод, фосфор, азот) и кремнием, макроэлементом повышающим прочность и стрессоустойчивость растения, отмечалось наличие пиков элементов щелочных и щелочно-земельных металлов: калия, кальция и магния, интенсивность сигналов которых показана на спектрограммах (рисунках 2а, 2б).

Соотношение процентного содержания идентифицированных элементов в изученных образцах экстракта *Helichrysum thianschanicum* Regel. (HTR) представлены на спектрограммах на рис. 2а, 2б и таблицы. Определение массового процентного содержания эссенциальных элементов в образцах HTR при энергодисперсионной рентгеновской спектроскопии преобладающими элементами составило в процентах для: калия 2.66±0.02, кальция 0.25±0.00 и магния 0.14±0.00. При исследовании выявлено повышенное процентное содержание калия по сравнению с остальными элементами в данном образце в соотношении K>Ca>Mg.

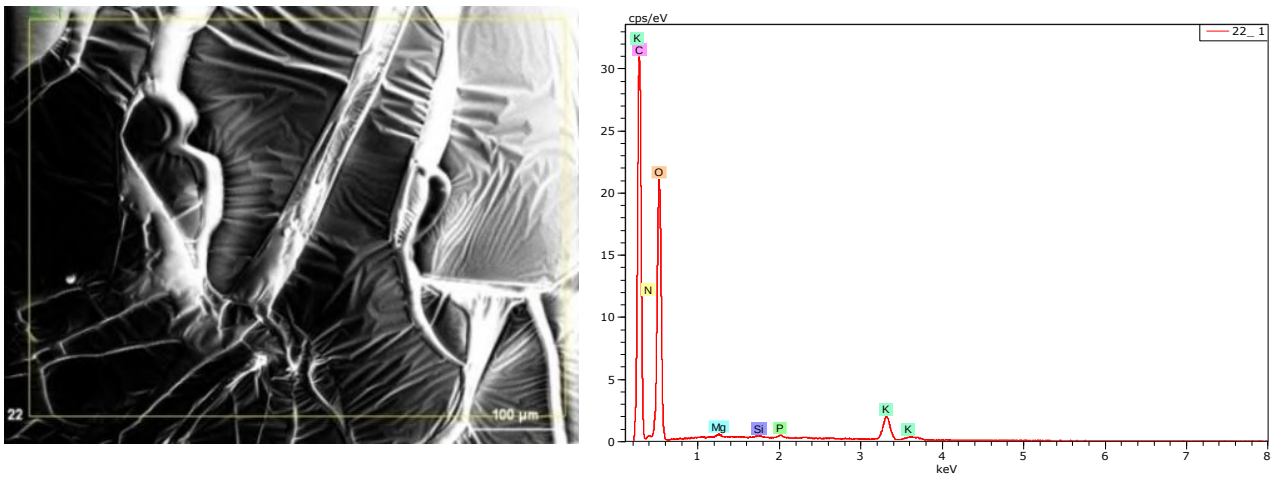


Рисунок 2 - а) Микрофотография (масштаб 100 µm) и спектрограмма образца бессмертника тянь-шаньского

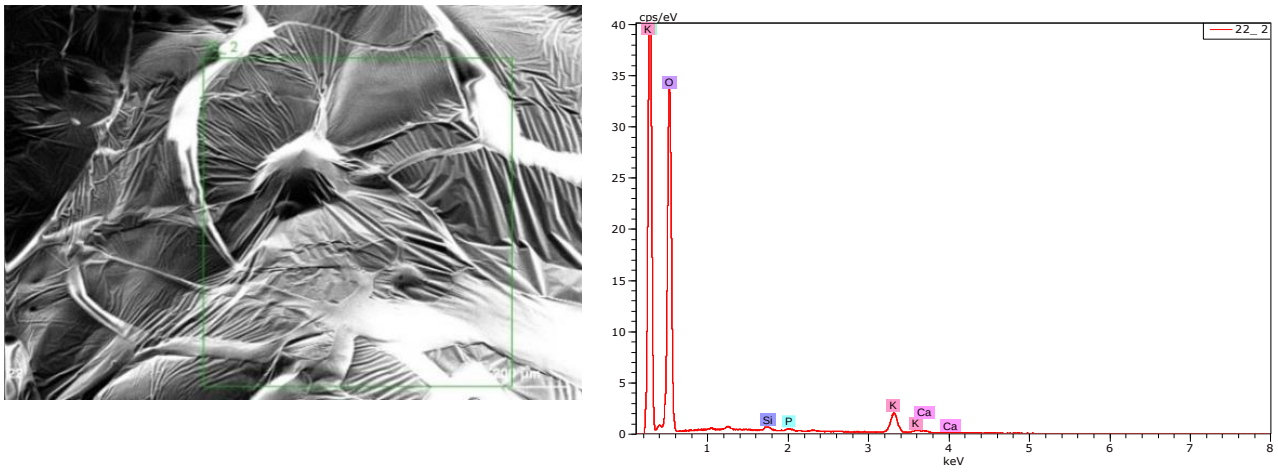


Рисунок 2 - б) Микрофотография (масштаб 200 µm) и спектрограмма образца бессмертника тянь-шаньского

Таблица – Массовое процентное содержание макро- и микроэлементов в составе образца бессмертника тянь-шанского

Спектры и значения образца HTR	Массовое процентное содержание (Mass percent, %) макро- и микроэлементов							
	C	N	O	Si	P	Mg	K	Ca
Спектр _ 1	0.00	0.28	21.01	0.07	0.13	0.14	2.64	-
Спектр _ 2	0.00	-	30.16	0.24	0.14	-	2.68	0.25
Среднее значение (Mean value)	0.00	0.28	25.58	0.15	0.14	0.14	2.66	0.25
Сигма - стандартное отклонение (Sigma)	0.00	0.00	6.47	0.12	0.01	0.00	0.03	0.00
Среднеквад-ратическое отклонение (Sigma mean)	0.00	0.00	4.57	0.08	0.01	0.00	0.02	0.00

По итогам исследований и анализа содержания щелочных элементов в изученных нами образцах бессмертника, высокое содержание щелочных и щелочно-земельных элементов может характеризовать наличие «горячего мизаджа» (ощелачивающего свойства) у растения. Мы обнаружили строгую корреляцию между количеством магния и свойствами «мизаджа» (натуры) растения, о которых сообщал Авиценна [7]. В настоящее время известно, что более 300 ферментов требуют присутствия ионов магния для активации их каталитического действия, включая все ферменты, использующие/синтезирующие АТФ или нуклеотиды для синтеза ДНК и РНК [8,9]. Регуляция баланса ионов кальция для физиологического функционирования и построения костной ткани, процессов возбудимости нервной системы, сократимости мышц, активизации ряда кальций-зависимых ферментов и гормонов, как в норме, так и в патогенезе СД, имеет важное значение для корректировки метаболических нарушений. Отмеченное высокое содержание элемента калия (таблица) основного или важнейшего биогенного элемента состава всех клеток, особенно растительного мира, обладающего ощелачивающими свойствами, играет немаловажную биологическую роль в поддержании всех физиологических и коррекции патологических процессов в организме, что весьма существенна.

Более того, в изученных нами образцах с использованием EDX/SEM-спектроскопии не были обнаружены токсичные элементы, которые нормированы Государственной Фармакопеей XIV издания (ГФ РФ, 2018). Следует также отметить, что отсутствие тяжёлых металлов в собранных нами образцах на территории Республики Таджикистан можно объяснить благополучными экологическими условиями мест произрастания лекарственных растений.

ВЫВОДЫ

В изученных образцах экстракта из цветков и листьев бессмертника тянь-шаньского (*Helichrysum thianschanicum* Regel.), отобранного из перечня лекарственных средств, рекомендованных Авиценной для лечения диабета, отмечалось высокое содержание элементов, обладающих ощелачивающими свойствами. Применяя тактику терапии «противоположное-противоположным», Абу Али ибн Сина назначал ощелачивающие, имеющие «горячий мизадж» (ощелачивающие) средства при диабете для уравновешивания изменённого «мизаджа» (натуры).

Наличие в исследуемом экстракте значительного содержания ощелачивающих элементов говорит о возможности применения бессмертника тянь-шаньского (*Helichrysum thianschanicum* Regel.) для метаболизм-корректирующего действия состояния ацидоза при диабете и других неинфекционных заболеваний.

БЛАГОДАРНОСТЬ

Авторы выражают благодарность профессору, д.м.н. Масъуду Миршохи за организацию в проведении и получения данных по образцам растений на базе Университета Сорбонны (Париж Cité-Paris 7, клиника Lariboisière, INSERM U965, 75010 Paris, France).

Авторы выражают благодарность профессору, д.б.н. Илье Раскину (Rutgers University, USA) и профессору, д.б.н. Вячеславу Душенкову (CUNY Hostos community college, USA) за научную поддержку и предоставленные возможности в рамках взаимного сотрудничества (Fogarty International Center of the National Institutes of Health, Award No. D43TW009672).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Дедов, И. И. Консенсус совета экспертов Российской Ассоциации эндокринологов по инициации и интенсификации сахароснижающей терапии у больных сахарным диабетом 2 типа / И.И. Дедов, М.В.Шестакова, А.С.Аметов, М.Б. Анциферов, Г.Р. Галстян, А.Ю. Майоров, А.М. Мкртумян, Н.А. Петунина, О.Ю. Сухарева // Сахарный диабет. – 2011. – Т. 4. – С. 6-17.

2. Дедов, И. И. Сахарный диабет–опаснейший вызов мировому сообществу / И.И. Дедов // Вестн. РАМН. – 2012. – № 1. – С. 7-13.
3. Дедов, И. И. Инновационные технологии в лечении и профилактике сахарного диабета и его осложнений / И.И. Дедов // Сахарный диабет.– 2013. – Т. 3. – С. 2-10.
4. Шарофова, М. У. Изучение антидиабетических свойств бессмертника тянь-шаньского при экспериментально вызванной инсулинорезистентности / М.У. Шарофова, Ш.С. Сагдиева, С.Дж. Юсуфи, С.Р. Нуъмонов // Сборник трудов международной научной конференции «От растения до лекарственного препарата», ФГБНУ ВИЛАР. – Москва, 2020. – С. 420-425.
5. Шарофова, М. У. Изучение антидиабетических свойств бессмертника тянь-шанского при экспериментальном диабете / М.У. Шарофова, Ш.С. Сагдиева, С.Дж. Юсуфи, С.Р. Нуъмонов, Р.У. Рахмонов, Е.В. Ферубко, И.А. Лупанова || Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2021. – №2. – Т. 24. – С. 42-48.
6. Никитина, А. С. Элементный состав побегов розмарина лекарственного (Rosmarinus officinalis L.), интродуцированного в ботаническом саду Пятигорского медико-фармацевтического института / А.С. Никитина, З.М. Тохсырова, О.И. Попова // Фармация и фармакология. – 2017. – №6. – Т. 5.– С. 581-588.
7. Sharofova, M. Molecular approach to determine the hot and cold temperaments in plants according Avicenna concepts, the role of magnesium / M.Sharofova, I.Aldybiat, Sh.Sagdieva, N.Burkhonova, Yu.Nuraliev, F. Rahimi, M. Mirshahi // Vestnik Avitsenny [Avicenna Bulletin]. – 2018. –V. 20(4). – P.421-6. Available from: http:// dx.doi.org/10.25005/2074-0581-2018-20-4-421-426.
8. Parsiegla, G. The structure of human DNase I bound to magnesium and phosphate ions points to a catalytic mechanism common to members of the DNase I-like superfamily / G. Parsiegla, C. Noguere, L. Santell, R.A. Lazarus, Y.Bourne // Biochemistry. – 2012. –V.51(51). –P.10250-8. doi: 10.1021/bi300873f.
9. Elnatan, D. Calcium binding to a remote site can replace magnesium as cofactor for mitochondrial Hsp90 (TRAP1) ATPase activity / D.Elnatan, D.A. Agard // J. Biol Chem. –2018. –31. –293(35). – P.13717-13724. doi: 10.1074/jbc. RA118.003562.

STUDY OF THE EXTRACT OF THE *HELICHRYSUM THIANSCHANICUM REGEL.* BY THE METHOD OF ENERGY DISPERSION X-RAY SPECTROSCOPY

D.Sc. in Medicine Sharofova M.U.[1,3, a)], Associate Professor, Ph.D. in Biology Trumpe T.E.[2], D.Sc. in Chemistry Numonov S.R.[1,3], Rahmonov R.U.[1,3], D.Sc. in Medicine Mirshahi M.[1,3]

1-Institute of Avicenna's Medicine and Pharmacology, Tajikistan, Dushanbe, Oygul str., 45, 734000

2-All-Russian Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants, Russia, Moscow, Grina str.,7, building, 1, 117216

3-Center for Research of Innovative Technologies at the National Academy of Sciences of Tajikistan, Tajikistan, Dushanbe, Ayni str., 299/3, 734025

a) corresponding author – mijgona72@mail.ru

Abstract. Since the time of Avicenna, a medicinal plant has been widely used in the Republic of Tajikistan in medical practice - *Helichrysum thianschanicum* Regel. Earlier in our publications, we presented the results of an experimental study of the effect of the infusion and extract of flowers and leaves of *Helichrysum thianschanicum* Regel., collected in the Darvaz region (2400 m above sea level) of the Republic of Tajikistan, for insulin resistant and alloxanhydrate diabetes in different types of laboratory animals. During the experiments, all animals showed positive changes in indicators reflecting the state of carbohydrate, lipid and protein metabolism.As a consequence, there was a certain scientific interest in providing an explanation for the positive results obtained, by studying the elemental composition of *Helichrysum thianschanicum* Regel. by performing highly effective, modern instrumental methods for detecting macro and microelements in living tissues of a plant, which determines their characteristics "mizaj" (nature).

Keywords: *extract of flowers and leaves of Helichrysum thianschanicum Regel., diabetes mellitus, energy dispersive X-ray spectroscopy, macro and microelements, acidosis.*

УДК: 615.454.1 DOI: 10.52101/9785870191003_2021_528

ИССЛЕДОВАНИЕ ПО ВЫБОРУ ОСНОВЫ ФИТОТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО ГЕЛЯ С АЛЬГИНАТОМ НАТРИЯ

Архангельская А. А. [a)], к.х.н. Шестопалова Н. Б., к.х.н. Фомина Ю. А.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования „Саратовский государственный медицинский университет имени В. И. Разумовского“ Министерства здравоохранения Российской Федерации (Россия, Приволжский федеральный округ, Саратовская область, г. Саратов, ул. Большая Казачья, 112), 410012

а) автор для переписки – kotech@mail.ru

Аннотация. В работе представлены результаты разработки гелевых композиций, содержащих альгинат натрия в качестве гелеобразователя, ПЭО 400, ПЭО 1500 и глицерина в качестве пластификаторов. Разработаны композиции флавоноидсодержащих гелей и оценена степень высвобождения активной фармацевтической субстанции (рутин) методом диффузии в желатиновый гель. Установлено, что состав и соотношение компонентов влияют на равномерное распределение и высвобождение рутина из гелевой основы. Оптимальной композицией было выбрано соотношение ПЭО 1500 : ПЭО 400 : АЛГ : вода = 4.2 : 10 : 1 : 34.8, для которого наблюдали наилучшее высвобождение. Показано влияние соотношения ПЭО 1500 : ПЭО 400 на высвобождение рутина. Разработанные составы основ гелей с альгинатом натрия являются перспективными для создания лекарственных препаратов.

***Ключевые слова**: Гель, альгинат натрия, флавоноид, рутин, основа геля.*

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время для профилактики и комплексного лечения различных заболеваний широко используются лекарственные формы, содержащие лекарственные растительные вещества. Современные лекарственные средства выпускаются в виде широкого спектра лекарственных форм (ЛФ), выбор которых имеет значение для эффективной фармакотерапии различных заболеваний.

Среди многообразия представленных на рынке ЛФ, особое место занимают гели, обладающие рядом преимуществ: широким спектром путей введения; высокой эффективностью вследствие повышенной биодоступности действующих веществ; возможностью введения в ЛФ веществ гидрофильного и гидрофобного характера.

Следует отметить, что большинство гелевых композиций содержит в основе синтетические полимеры. Известно, что природные полимеры с фармакологической активностью могут одновременно выступать как гелеобразователи, так и иметь собственный фармакологический эффект, а в сочетании с фитокомпонентами могут усиливать воздействие на организм человека.

Перспективными соединениями с этой точки зрения являются соли альгиновой кислоты, подвергающиеся гелеобразованию и при определенных условиях образующие гидрогели. Известно, что гели альгинатов безопасны, обладают антибактериальным, смягчающим и увлажняющим действием. Технологическим преимуществом является отсутствие необходимости нагревания для гелеобразования и относительная кислотоустойчивость [1].

Одним из перспективных направлений является создание гелей, содержащих природные полисахариды и биологически активные соединения, полученные из лекарственного растительного сырья. Одними из распространенных веществ растительного происхождения, характеризующихся высокой терапевтической эффективностью и низкой токсичностью являются флавоноиды, среди которых особое место занимает рутин,

обладающий ангиопротекторным и капилляроукрепляющим действием, а также проявляющим антиоксидантные свойства.

Целью настоящей работы явилось исследование по выбору основы геля, содержащего альгинат натрия и флавоноид рутин.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы. В работе использовали следующие химические реактивы, приобретенные ФГБОУ ВО Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского Минздрава России:

1. **Полиэтиленоксид 400** (ООО «Компонент-реактив», ч, партия №10, годен до 11.2021, Россия);
2. **Полиэтиленоксид 1500** ООО «Компонент-реактив», ч, партия №10, годен до 11.2021, Россия);
3. **Альгин натрия** (Шаньдун Цэицзин груп Корпорейшен, ч, партия 20071601, годен до 20.07.2022 г., Китай);
4. **Глицерин** (ЗАО «Ласкрафт», субстанция-жидкость, серия 130519, годен до 06.2024 г., Россия);
5. **Желатин** (ООО «ТД-холдинг», пищевой, марка П-11, годен до 10.2021 г., Россия);
6. **Хлорид натрия** (АО «Востоквит», субстанция, серия 071219-01, годен до 01.2025 г., Россия);
7. **Калия хлорид** (ООО «МЗХР», субстанция для приготовления стерильных лекарственных форм, серия 200319, годен до 03.2022г., Россия);
8. **Кальция хлорид** (АО «Химический завод им. Л.Я. Карпова», субстанция для изготовления стерильных и нестерильных лекарственных форм, серия 36, годен до 03.2023 г., Россия);
9. **Железо (III) хлорид** (ЗАО «Купавнареактив», чда, партия 40, годен до 10.2021 г., Россия);
10. **Рутин** (Сычуань Гуансун Фармасьютикал Ко., Лтд., субстанция-порошок, серия RU190602, годен до 09.06.2022 г., Китай).

Методы. Биофармацевтическую оценку высвобождения рутина из модельных гелей определяли методом диффузии в гель. Для экспериментов *in vitro* применяли 3 % желатиновый гель, приготовленный на стандартном растворителе (натрия хлорида 8,9 г; калия хлорида – 0,3 г; кальция хлорида – 0,33 г; дистиллированной воды до 1000 мл). Полученный раствор объемом 25 мл разливали в чашки Петри, диаметром (ГОСТ 23932-90). Через 24 часа в сформировавшемся геле металлическим сверлом с диаметром 8 мм (Bochem, Германия) вырезали диски; в образовавшиеся лунки вносили испытуемые образцы гелей массой 0,3 г. Степень высвобождения препарата из лекарственной формы фиксировали по диаметру окрашенной зоны, которая образовывалась при взаимодействии рутина со специально подобранным индикатором – 10 % раствором хлорида железа (III), который вводили в процессе приготовления геля. Готовую систему выдерживали 24 часа при температуре 18-20°С, после этого замеряли диаметры с помощью штангенциркуля окрашенных в синий цвет зон вокруг каждой лунки соответствующего геля [2,3].

В работе использовали весы лабораторные ВЛ-120М (НПП «Госметр», Россия), водяную баню (Баня четырехместная водяная LOIP LB-140 (ТБ-4), ЗАО «Лабораторное Оборудование и Приборы» г. Санкт-Петербург, Россия). Все используемое в работе оборудование приобретено ФГБОУ ВО Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского Минздрава России.

Все полученные данные обрабатывались методом математической статистики с помощью Microsoft Excel 2010.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На основании контент-анализа номенклатуры ассортимента Российского фармацевтического рынка лекарственные препараты в виде гелей представлены 213 торговыми наименованиями [4]. По показателю «Пути введения» выделяют 10 способов применения, среди которых наибольший удельный вес (более 82 %) занимает лекарственная форма «Гели для наружного применения» (в т.ч. местного) (Рисунок 1).

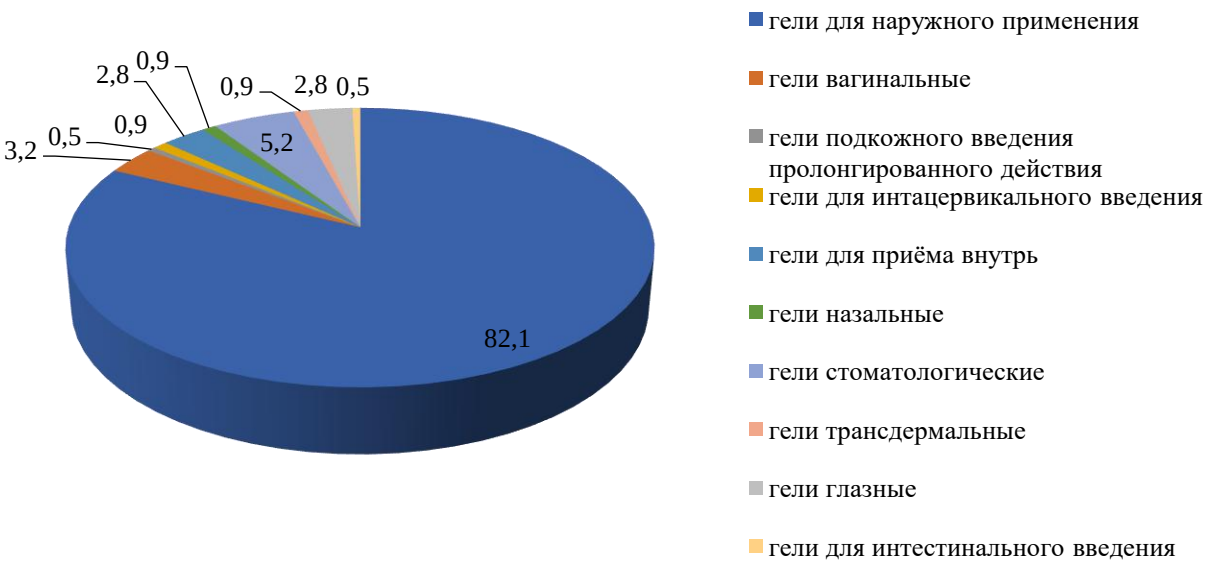


Рисунок 1- Удельный вес зарегистрированных гелей по показателю «Пути введения» (% от общего количества торговых наименований гелей)

Исследование ассортимента лекарственных препаратов, представленных лекарственной формой гель, по «Дате государственной регистрации» показало, что гели, как лекарственная форма, впервые были зарегистрированы на отечественном фармацевтическом рынке в 2007 году.

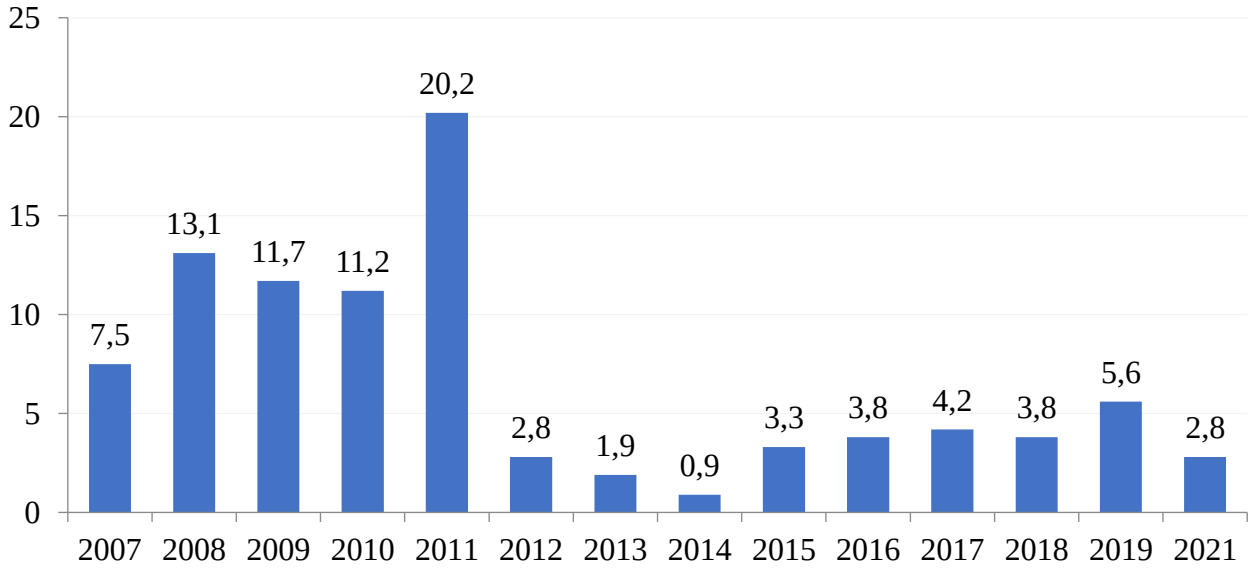


Рисунок 2 – Доля зарегистрированных гелей за период 2007 – 2021 гг. (% от общего количества торговых наименований гелей)

Представленные на диаграмме данные (Рисунок 2) свидетельствуют об активной разработке и регистрации лекарственных форм в виде геля, только за 3 месяца 2021 года зарегистрировано 2,8 % от общего числа гелей, указанных в государственном реестре лекарственных средств (ГРЛС).

Также было установлено, что в качестве гелеобразователя в основном применяется Карбомеры и эфиры метилцеллюлозы. Данные о применении в зарегистрированных лекарственных препаратах природных полисахаридов отсутствуют.[4]

Для создания гелевых композиций были выбраны альгинат натрия (АЛГ, вязкость 1000) в качестве гелеобразователя; полиэтиленоксиды (ПЭО) 400 и 1500, глицерин – пластификаторы. В качестве модельного флавоноидсодержащего компонента применяли рутин, широко распространенный в различных лекарственных растениях, обладающий антибактериальными, противовоспалительными, ранозаживляющими, антиоксидантными и успокаивающими свойствами. [5,6]

Было разработано 22 гелевые композиции основ с различным соотношением компонентов, для которых на первом этапе оценивали органолептические свойства, определяли однородность, отсутствие пузырьков, вязкость, pH.[7]

После проведенных технологических исследований для дальнейшего изучения было выбрано 8 композиций основ, представленных в Таблице 1.

Таблица 1 – Состав исследуемых гелевых композиций

Ингредиент	№ состава, соотношение ингредиентов							
	15	16	17	18	19	20	21	22
ПЭО 1500	4,2	2,5	1	1	4,2	2,5	1	1
ПЭО 400	10	10	2,33	4	10	10	2,33	4
Альгинат натрия	1	1	1	1	1	1	1	1
Глицерин	5	5	5	5	-	-	-	-
Вода	29,8	31,5	40,67	39	34,8	36,5	45,67	44

Известно, что создание лекарственных препаратов представляет собой многоуровневый процесс, одним из важнейших составляющих которого является биофармацевтические исследования.

Используя различные сочетания вспомогательных веществ, можно регулировать силу и продолжительность терапевтического действия геля, регулировать биодоступность действующих веществ. При создании лекарственного препарата с высокой терапевтической активностью должны быть оценены способность действующего вещества к высвобождению из геля.[8]

Для оценки степени высвобождения действующего вещества проводили биофармацевтические исследования полученных гелей, используя метод диффузии в желатиновый гель. Модельные гелевые образцы с рутином (0,0025 г на каждый образец) готовили в лабораторных условиях по общепринятой технологии. Результаты эксперимента по изучению высвобождения рутина из исследуемых гелевых составов представлены в виде соответствующей диаграммы на Рисунке 3 [9].

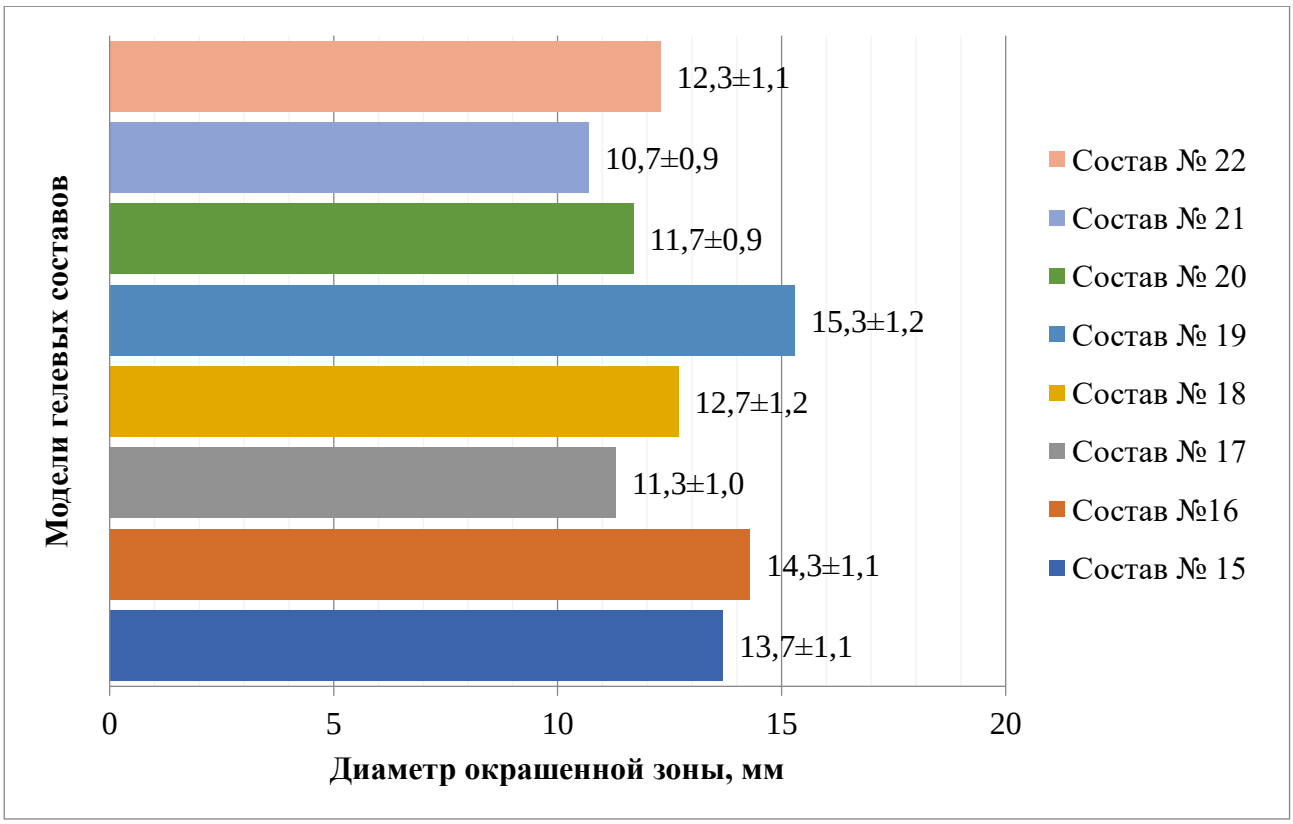


Рисунок 3 – Результаты высвобождения рутина из моделей гелевых составов

Как видно из представленных данных о средних значениях диаметров окрашенных зон, степень высвобождения рутина уменьшается в следующем ряду: состав №19 >состав №16 > состав №15 > состав №18 > состав №22 > состав №20 > состав №17> состав №21. Измерения проводили в пятикратных повторениях и обрабатывали методом математической статистики. Ошибка измерения не превышала 10 %.

Установлено, что состав и соотношение компонентов влияют на равномерное распределение и высвобождения рутина из гелевой основы. Оптимальной композицией основы было выбрано соотношение ПЭО 1500: ПЭО 400: АЛГ: вода = 4,2:10:1:34,8, для которого наблюдали наилучшее высвобождение. Установлено влияние соотношения ПЭО 1500 : ПЭО 400 на высвобождение рутина. При изменении пропорций компонентов в сторону увеличения ПЭО 1500 для сохранения фармацевтико-технологических свойств фитогеля и сохранения динамики высвобождения необходимо добавление глицерина.

ВЫВОДЫ

В ходе проведенного исследования было установлено, что по данным государственного реестра лекарственных средств с 2007 года зарегистрировано 213 торговых наименований лекарственных форм в виде геля. Из них наибольшее количество представлено гелями для наружного (местного) применения (82%). Практически отсутствуют лекарственные гели на основе субстанций растительного происхождения.

Разработаны 22 композиции гелевых основ, содержащих альгинат натрия (вязкость 1000) в качестве гелеобразователя; полиэтиленоксиды (ПЭО) 400 и 1500, глицерин – пластификаторы. Оценены технологические свойства разработанных основ для введения рутина.

По результатам проведенных биофармацевтических исследований методом диффузии в желатиновый гель для 8 композиций определена степень высвобождения рутина из гелевой основы.

Таким образом, разработанные составы основ гелей с альгинатом натрия представляет интерес для дальнейшего исследования и создания лекарственных препаратов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Быковский, С. Н. Фармацевтическая разработка: концепция и практические рекомендации. Научно-практическое руководство для фармацевтической отрасли/ С. Н. Быковский, И. А. Василенко, Н. Б . Демина, И. Е. Шохин, О. В. Новожилов, А. П. Мешковский, О. Р. Спицкий – М.: Изд-во Перо, 2015. – 472 с.
2. Сампиев, А.М. Биофармацевтические аспекты исследований в области создания мягких лекарственных форм/ А.М. Сампиев, Е.Б. Никифорова, Н.А. Давитавян, Д.А. Исмагилова//Здоровье и образование в XXI веке. – 2019. –№2. – С. 42-52.
3. Ароян, М.В. Исследования по выбору основы для геля на основе сухого экстракта донника лекарственного/ М.В. Ароян, А.О. Иртегова, И.Е. Каухова// Роль метаболомики в совершенствовании биотехнологических средств производства (ФГБНУ ВИЛАР 6 – 7 июня 2019 г.). - г. Москва, 2019 г. – С. 558-560.
4. Государственный реестр лекарственных средств [Электронное издание]. Режим доступа: https://grls.rosminzdrav.ru/default.aspx
5. Макиева, М.С. Определение осмотической и адсорбционной активности *in vitro* мазевых композиций на основе со2-экстракта лимонника китайского семян/ М.С. Макиева, Ю.А. Морозов// Фармация и фармакология. – 2014. - №6 (7). – С. 42-47.
6. Алексеев, К.В. Фармацевтическая технология. Мази/ К.В. Алексеев, Е.В. Блынская, С.А. Кедик – М.; СПб.: ЗАО «ИФТ», 2014 – 584 с.
7. Государственная фармакопея РФ XIV изд. [Электронное издание]. Режим доступа: http://www.femb.ru/femb/pharmacopea.php
8. Сампиев, А.М Современные достижения в разработке и применения инновационных лекарственных средств/ А.М. Сампиев, Е.Б. Никифорова, Н.А. Давитавян//Новые технологии. – 2012. - №2. – 247-254 с.
9. Меньшутина, Н. В. Инновационные технологии и оборудование фармацевтического прозводства/ Н. В. Меньшутина, Ю. В. Мишина, С. В. Алвес – М.: Бином, 2012. – 328с.

RESEARCH ON SELECTING THE BASIS OF PHYTOTHERAPY GEL WITH SODIUM ALGINATE

Arkhangelskaya A. A. [a)], Ph.D. in chemistry Shestopalova N. B., Ph.D. in chemistry Fomina Yu. A. Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Saratov State Medical University named after V. I. Razumovsky" of the Ministry of Health of the Russian Federation (Russia, Volga Federal District, Saratov Region, Saratov, Bolshaya Kazachya St., 112), 410012

a) corresponding author – kotech@mail.ru

Abstract. The paper presents the results of the development of gel compositions containing sodium alginate as a gelling agent, PEO 400, PEO 1500, and glycerol as plasticizers. Compositions of flavonoid-containing gels have been developed and the degree of release of an active pharmaceutical substance (rutin) by diffusion into a gelatin gel has been estimated. It was found that the composition and ratio of the components affect the uniform distribution and release of rutin from the gel base. The optimal composition was the ratio PEO 1500: PEO 400: ALG: water = 4.2: 10: 1: 34.8, for which the best release was observed. The effect of the ratio PEO 1500: PEO 400 on the release of rutin is shown. The developed compositions of the bases of gels with sodium alginate are promising for the creation of drugs.

Keywords: *Gel, sodium alginate, flavonoid, rutin, gel base.*

УДК: 615.322(476) DOI: 10.52101/9785870191003_2021_534

АНАЛИЗ АССОРТИМЕНТА ПРОДУКЦИИ РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ БЕЛОРУССКИХ ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ

профессор, д.б.н., Гурина Н. С., Курс И. Л. [a)], Тоцкая П. Д.

Учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет», Республика Беларусь, г. Минск, проспект Дзержинского, д. 83, 220116

а) автор для переписки – zaecf5@mail.ru

Аннотация. Продукция растительного происхождения пользуется спросом у населения Республики Беларусь, таким образом, возникает потребность в изучении номенклатуры данного сегмента рынка. Цель работы: выявить основные тенденции использования различных видов растительного сырья белорусскими предприятиями при производстве лекарственных средств растительного происхождения (ЛСРП) и биологически активных добавок (БАД) к пище в виде сырья россыпью и фильтр-пакетов, а также фиточаев. В результате анализа данных Единого реестра свидетельств о государственной регистрации, Государственного реестра лекарственных средств Республики Беларусь, каталогов номенклатуры товаров белорусских предприятий, осуществляющих производство продукции растительного происхождения, было установлено, что белорусскими предприятиями зарегистрировано 184 ЛСРП и 68 БАД к пище, а также выпускается 72 вида фиточаев. При производстве ЛС и БАД к пище, предприятия предпочитают использовать один вид растительного сырья, фиточаи же преимущественно имеют многокомпонентный состав. В процессе производства предприятия Республики Беларусь используют 82 наименования растительного сырья, 66 из которых являются фармакопейными. Наиболее широко номенклатура используемого растительного сырья представлена ООО НПК БИОТЕСТ (64 вида). Самым популярным видом растительного сырья среди белорусских производителей, осуществляющих производство продукции растительного происхождения, являются шиповника плоды, используемые в 49 видах продукции. Данные, полученные в ходе исследования, могут быть использованы белорусскими производителями для рационализации номенклатуры выпускаемой продукции растительного происхождения. Актуальной областью исследований в дальнейшем является изучение сектора заготовки и культивирования лекарственных растений на предприятиях Республики Беларусь, а также изучение особенностей спроса потребителей на продукцию растительного происхождения.

Ключевые слова: *лекарственные средства растительного происхождения, биологически активные добавки к пище, фиточай.*

ВВЕДЕНИЕ

По данным Всемирной организации здравоохранения ЛСРП, БАД к пище на основе растительного сырья и фиточаи применяются в рамках оказания медико-санитарной помощи миллионами людей во всем мире. Это обусловлено финансовой доступностью, относительной безопасностью действия и широким диапазоном фармакологической активности таких средств [1]. В странах Европы распространенность фитотерапии как метода лечения варьирует от 5,9 до 48,3% назначений врача [2]. Однако стоит отметить, что совокупность лекарственных растений в производстве продукции растительного происхождения на территории Республики Беларусь как самостоятельный субъект исследований практически не выделен, в обзоре литературы основные исследования проводятся по конкретным видам растений либо конкретным фитопрепаратам. Таким образом, актуальным является исследование номенклатуры продукции растительного происхождения, выпускаемой белорусскими предприятиями. Цель работы: выявить основные тенденции использования различных видов растительного сырья белорусскими предприятиями при производстве ЛСРП и БАД к пище в виде сырья россыпью и фильтр-пакетов, а также фиточаев.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы - данные Единого реестра свидетельств о государственной регистрации [3], «Государственного реестра лекарственных средств Республики Беларусь [4], каталогов номенклатуры товаров белорусских предприятий [5-9], осуществляющих производство продукции растительного происхождения (по состоянию на 12.02.2021).

Методы – аналитический и статистический. Обработка данных производилась с помощью пакета программного обеспечения Microsoft Office Excel 2013.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Основными предприятиями на территории Республики Беларусь, осуществляющими производство ЛСРП, БАД к пище в виде сырья россыпью, фильтр-пакетов и фиточаев являются: ООО НПК БИОТЕСТ, ООО «Падис`С», ООО «Калина», ЗАО «БелАсептика», КСУП «Совхоз «Большое Можейково». В результате анализа нами было установлено, что белорусскими предприятиями зарегистрировано 184 ЛСРП и 68 БАД к пище в виде сырья россыпью и фильтр-пакетов, а также данные предприятия производят 72 наименования фиточаев. Данные по ассортименту выпускаемой продукции растительного происхождения представлены на Рисунке 1. Все пять предприятий осуществляют производство ЛСРП. БАД на основе растительного сырья выпускают ООО «Калина», ООО НПК БИОТЕСТ и КСУП «Совхоз «Большое Можейково». Производство фиточаев осуществляют ООО «Калина», ООО НПК БИОТЕСТ и ЗАО «БелАсептика». Самый широкий ассортимент продукции растительного происхождения представлен на предприятии ООО «Калина» (111 наименований). Наибольшее количество лекарственных средств (ЛС) на основе лекарственного растительного сырья (ЛРС) зарегистрировано предприятием ООО НПК БИОТЕСТ (61), БАД к пище предприятием ООО «Калина» (44). По 24 наименования фиточаев выпускают ООО «Калина», ООО НПК БИОТЕСТ и ЗАО «БелАсептика». В ходе анализа состава продукции растительного происхождения было установлено, что среди ЛС и БАД к пище преобладают монокомпонентные формы, а среди фиточаев – многокомпонентные.

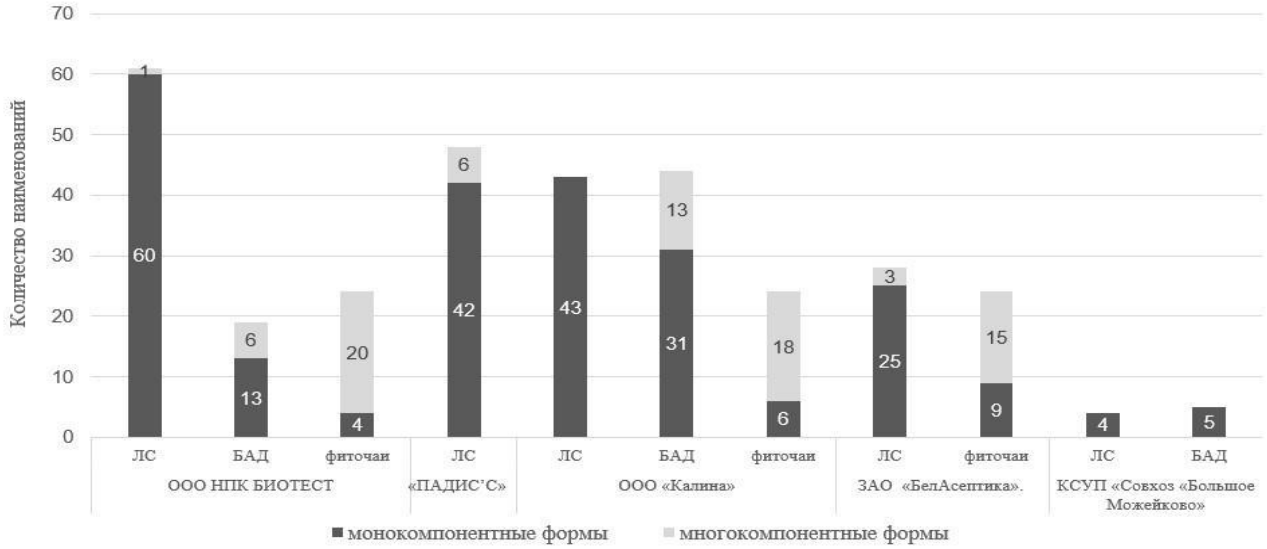


Рисунок 1 – Ассортимент продукции растительного происхождения белорусских производителей

В ходе анализа ассортимента продукции растительного происхождения производителей Республики Беларусь по составу (данные представлены на Рисунке 2) было установлено, что в процессе производства данные предприятия используют 82 вида растительного сырья, 66 из которых являются фармакопейными. ООО НПК БИОТЕСТ в производстве продукции растительного происхождения использует самую широкую номенклатуру растительного сырья (64 вида), большинство из них используется для производства ЛСРП (45). 13 видов ЛРС от всей номенклатуры растительного сырья

используются данным предприятием исключительно для производства ЛС, по 8 БАД и фиточаев. ООО «Калина» использует 55 видов сырья, значительная часть которых используется как для производства БАД (40), так и ЛСРП (31). ЗАО «БелАсептика» производит продукцию растительного происхождения на основе 38 видов растительного сырья: 28 видов используется для производства ЛС, 18 – фиточаев. Предприятие ООО «Падис`С» специализируется на производстве ЛС в виде сырья россыпью и фильтр-пакетах. Данное предприятие использует номенклатуру из 32 видов ЛРС. КСУП «Совхоз «Большое Можейково» использует в производстве только 5 видов растительного сырья.

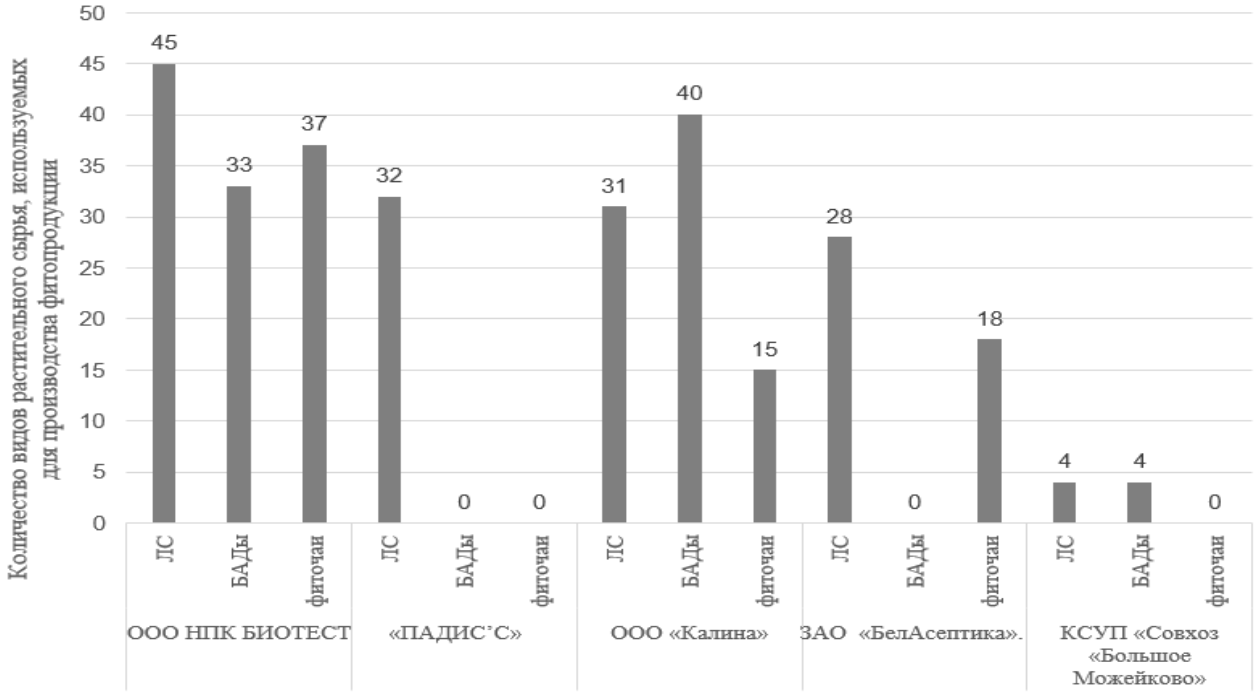


Рисунок 2 – Номенклатура растительного сырья, используемого белорусскими предприятиями в производстве продукции растительного происхождения

Следует отметить, что лишь 3,7 % номенклатуры используемого растительного сырья применяется всеми пятью предприятиями для производства продукции растительного происхождения (Таблица 1). К данным видам сырья относятся ромашки цветки, ноготков цветки и пустырника трава. Большинство же видов растительного сырья используется одним (30,5 %), двумя (25,6 %) или тремя (24,4 %) предприятиями. Невысокая доля применения одинаковых видов растительного сырья на всех пяти предприятиях обусловлена узким ассортиментом КСУП «Совхоз Большое Можейково»: номенклатура данного предприятия ограничена пятью видами растительного сырья. Средняя частота использования растительного сырья составляет 2,37:1 (количество предприятий на 1 вид растительного сырья).

Таблица 1- Использование различных видов растительного сырья белорусскими предприятиями в производстве продукции растительного происхождения

Количество предприятий, использующих растительное сырье	Количество видов растительного сырья	Доля (%)
1 предприятие	25	30,5
2 предприятия	21	25,6
3 предприятия	20	24,4
4 предприятия	13	15,8
5 предприятий	3	3,7
Итого	**82**	**100**

В ходе исследования нами были определены 10 видов растительного сырья, представленные в составе наибольшего количества наименований продукции растительного происхождения. Данные по номенклатуре наиболее часто используемого растительного сырья представлены в Таблице 2. 54,6 % ассортимента продукции растительного происхождения на основе данных видов растительного сырья составляют фиточаи, 25,3 % - ЛСРП, 20,1 % - БАД к пище.

Таблица 2 - ТОП-10 видов растительного сырья, используемого в производстве продукции растительного происхождения белорусскими предприятиями

№	Вид сырья	Количество наименований продукции растительного происхождения, в производстве которой применяется растительное сырье	Количество наименований ЛСРП, в производстве которых применяется растительное сырье	Количество наименований БАД к пище, в производстве которых применяется растительное сырье	Количество наименований фиточаев, в производстве которых применяется растительное сырье	Количество предприятий, использующих данный вид растительного сырья
1	шиповника плоды	49	5	11	33	4
2	ромашки цветки	46	10	12	24	5
3	мяты перечной листья	44	10	8	26	4
4	мелиссы листья	24	4	3	17	4
5	чабреца ползучего трава	22	5	4	13	4
6	ноготков цветки	21	7	2	12	5
7	кипрея трава	19	0	1	18	3
8	крапивы листья	16	11	5	0	4
9	тысячелистника трава	14	9	4	1	4
1	череды трава	14	7	4	3	4

Самым популярным видом растительного сырья среди белорусских производителей, осуществляющих производство продукции растительного происхождения, являются шиповника плоды. Данный вид сырья используется для производства 49 наименований продукции растительного происхождения, большинство из них представлены в форме фиточаев (24). Стоит отметить такие виды растительного сырья как ромашки цветки, мяты перечной листья, мелиссы листья, которые также используются для производства значительной доли ассортимента продукции растительного происхождения (46, 44 и 24 наименования соответственно). Хотелось бы отметить тот факт, что такой вид растительного сырья как пустырника трава, который используется в производстве всеми пятью предприятиями представлен лишь 8 наименованиями продукции растительного происхождения и поэтому в ТОП-10 включен не был.

25 видов растительного сырья используется в производстве продукции растительного происхождения только одним из предприятий. Такие виды растительного сырья как березы листья, козлятника лекарственного трава, лабазника вязолистного трава, лапчатки кустарниковой побеги, лофанта трава, облепихи плоды, овса трава, ольхи кора, полыни горькой трава, тмина плоды, шлемника байкальского корни используются в производстве только ООО «Калина»; бузины черной цветки, девясила корневища и корни, змеевика корневища, лапчатки корневища, репешка аптечного трава, сабельника болотного корневища с корнями, синюхи голубой корневища с корнями, сенны листья, чага, эвкалипта листья - ООО НПК БИОТЕСТ; бадана корневища, иссопа трава - ЗАО «БелАсептика»; сосны почки, эрвы шерстистой трава - «Падис`С».

ВЫВОДЫ

1. Производство продукции растительного происхождения в виде сырья россыпью и фильтр-пакетов на территории РБ осуществляют ООО НПК БИОТЕСТ, «Падис`С», ООО «Калина», ЗАО «БелАсептика», КСУП «Совхоз «Большое Можейково».

2. Белорусскими предприятиями зарегистрировано 184 ЛСРП и 68 БАД к пище в виде сырья россыпью и в фильтр-пакетах, а также выпускается 72 вида фиточаев. При производстве ЛС и БАД, предприятия предпочитают использовать один вид растительного сырья, фиточаи преимущественно имеют многокомпонентный состав, это может быть обусловлено применением более простой процедуры допуска на рынок комбинированных фиточаев по сравнению с ЛСРП и БАД к пище.

3. В процессе производства белорусские предприятия используют 82 наименования растительного сырья, 66 из которых являются фармакопейными. Наиболее широко номенклатура используемого растительного сырья представлена ООО НПК БИОТЕСТ (64 вида).

4. Самым популярным видом растительного сырья среди белорусских производителей, осуществляющих производство продукции растительного происхождения, являются шиповника плоды, используемые в 49 видах продукции растительного происхождения. Популярность использования данного вида сырья может быть обусловлена минимальным количеством побочных эффектов и возможностью применения с раннего возраста.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Стратегия ВОЗ в области народной медицины. URL: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/92455/9789244506097_rus.pdf?sequence=11&isAllowed=y (дата обращения: 05.02.2021).

2. CAM use in Europe – The patients' perspective. Part I: A systematic literature review of CAM prevalence in the EU. URL: https://cam-europe.eu/wp-content/uploads/2018/09/CAMbrella-WP4-part_1final.pdf (дата обращения: 05.02.2021).

3. Единый реестр свидетельств о государственной регистрации. URL: https://portal.eaeunion.org/ru-ru/public/main.aspx (дата обращения: 12.02.2021).
4. Государственный реестр лекарственных средств Республики Беларусь. URL: https://www.rceth.by/Refbank/reestr_lekarstvennih_sredstv/results (дата обращения: 23.01.21).
5. Каталог продукции предприятия КСУП «Совхоз «Большое Можейково». URL: https://www.mozheikovo.by/produktsiya (дата обращения: 12.02.2021).
6. Каталог продукции предприятия ООО «Калина». URL: https://oookalina.by/katalog (дата обращения: 12.02.2021).
7. Каталог продукции предприятия ООО НПК БИОТЕСТ. URL: https://www.biotest.by/products/ (дата обращения: 12.02.2021).
8. Каталог продукции предприятия «Падис`С». URL: http://www.padiss.by/botanicus/catalogue.html (дата обращения: 12.02.2021).
9. Каталог продукции предприятия ЗАО «БелАсептика». URL: https://belaseptika.by/catalog/ (дата обращения: 12.02.2021).

ANALYSIS OF THE ASSORTMENT OF PRODUCTS OF PLANT ORIGIN OF BELARUSIAN MANUFACTURERS

Professor, D.Sc. in Biology, Gurina N. S., Kurs I. L. [a)], Totskaya P. D.
Educational institution «Belarusian State Medical University», Republic of Belarus, Minsk, Dzerzhinskiy Avenue, h. 83, 220116
a) corresponding author – zaecf5@mail.ru

Abstract. Products of plant origin are in a highly demand in the Republic of Belarus, so there is a necessity to study this market segment. The work purpose is to identify the main trends in the use of various types of plant raw materials by Belarusian enterprises in the manufacturing of plant medicinal product (PMP), biologically active food additives (BAFA) in bulk and filter bags, herbal teas. The data of the Unified Register of Certificates of State Registration, the State Register of Medicines of the Republic of Belarus, catalogues of Belarusian enterprises show that 184 PMP and 68 BAFA are registered and 72 herbal teas are produced. PMP and BAFA are preferred to be one-component, while herbal teas are mainly multicomponent. 82 of plants are used, 66 of which are pharmacopoeial. LLC «NPK BIOTEST» represents the most extensive nomenclature of plants (64 types). The most popular type of plant raw materials is rosehip fruit, used in 49 types of products of plant origin. The obtained data can be used by Belarusian producers to rationalize the nomenclature of manufactured products of plant origin. Future study of collecting and cultivation of medicinal plants at Belarusian enterprises, as well as the study of the characteristics of consumer demand for phytoproducts will be held.

Keywords: *plant medicinal product, biologically active food additives, herbal tea.*

УДК: 547.973 DOI: 10.52101/9785870191003_2021_540

БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ МЕТОКСИЛИРОВАННЫЕ ФЛАВОНОИДЫ ИЗ *AJANIA FRUTICULOSA* (LEDEB.) POLJAK

Байсаров Г. М.[1, а)], Сыздыкова Д. М.[1], Нуркадыров Д. К.[1], Маслова О. В.[2], академик НАН РК, д.х.н., профессор Адекенов С. М. [1]

1 - АО «Международный научно-производственный холдинг «Фитохимия», Республика Казахстан, г. Караганда, ул. М. Газалиева, 4, 100009
2 - ТОО «Центр фитотерапии», Республика Казахстан, г. Караганда, микрорайон Степной-3, 2
а) автор для переписки – info@phyto.kz

Аннотация. В плане комплексной химической переработки лекарственного сырья аянии кустарничковой *Ajania fruticulosa* (Ledeb.) Poljak изучены фенольные соединения из этанольного экстракта надземной части (бутоны, цветочные корзинки, листья), после выделения эфирных масел. Хроматографическим разделением суммы экстрактивных веществ выделены и идентифицированы метоксилированные флавоноиды: артемизетин (5-гидрокси-3,6,7,3’,4’-пентаметоксифлавон) и кастицин (5,3’-дигидрокси-3,6,7,4’- тетраметоксифлавон), структуры которых установлены по данным ИК-, УФ-, ЯМР-спектроскопии. Данные флавоноиды отличаются наличием различных заместителей в положении С-3’. При биологическом скрининге *in vitro* на культуре клеток HepG2, выявлено, что артемизетин при концентрациях 3.0 и 5.0 мкг/мл на культуре клеток HepG2 проявляет гепатопротекторную активность. Кастицин из данного вида растения выделен впервые, обладает противовоспалительной, противоопухолевой и иммуномодулирующей активностями.
Ключевые слова *Ajania fruticulosa (Ledeb.) Poljak, метоксилированные флавоноиды, артемизетин, кастицин, гепатопротекторная, противовоспалительная, противоопухолевая, иммуномодулирующая активности.*

ВВЕДЕНИЕ

Распространение растений рода *Ajania (*Аяния*)* семейства *Asteraceae* (*Астровые*) характерно для флоры Средней Азии, Казахстана и Монголии. На территории Республики Казахстан произрастают два вида аяний: *Ajania fruticulosa* (Ledeb.) Poljak (аяния кустарничковая) и *Ajania fastigiata* (C.Winkl.) Poljak (аяния пучковая) [1]. Большой интерес для химического изучения представляет *Ajania fruticulosa* (Ledeb.) Poljak, ранее из которой выделены и идентифицированы в основном тритерпеноиды, стероиды, эфирные масла, сесквитерпеновые лактоны, флавоноиды [2-6].

Фенольный состав *Ajania fruticulosa* (Ledeb.) Poljak, собранной на территории Монголии, исследован Беленовской Л.М. с соавторами [6]. Обнаружены оксифлавоны 5,3',4'-триокси-3,6,7-триметоксифлавон, артемизетин, аксилларин.

Ajania fastigiata (C.Winkl.) Poljak содержит в своем составе велутин, кверцетин и фастигенин [7].

Сумма экстрактивных веществ и индивидуальные соединения *Ajania fruticulosa* (Ledeb.) Poljak проявляют противоопухолевую, спазмолитическую, сосудорасширяющую, антибактериальную, фунгицидную, антагонистическую активность и ингибируют ферменты фосфатазы и ксантиноксидазы [2-4,8].

Эфирное масло аянии кустарничковой является действующим началом новой ранозаживляющей и антибактериальной мази «Аяфрол» [9]. Основным компонентом эфирного масла аянии кустарничковой является сесквитерпен хамазулен.

Целью данной работы является химическое изучение надземной части (бутоны, цветочные корзинки, листья) сырья аянии кустарничковой, после выделения эфирных масел, и определение биологической активности выделенных компонентов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы. Объектом исследования является надземная часть (бутоны, листья, цветы) *Ajania fruticulosa* (Ledeb.) Poljak, собранная в период цветения в окрестностях Доголан горы Абралы Восточно-Казахстанской области. Для выделения экстрактивных веществ использовали сырье аянии кустарничковой, после извлечения из него эфирных масел.

Для выделения суммы экстрактивных веществ проведена трехкратная экстракция 96 %-ным этанолом 2 кг надземной части (бутоны, цветочные корзинки, листья) *Ajania fruticulosa* (Ledeb.) Poljak, после извлечения эфирных масел. Этанольные извлечения объединяли, упаривали под вакуумом. Полученную сумму экстрактивных веществ растворяли в 500 мл этилового спирта при нагревании до 50 °С, затем добавляли в полученный гомогенный раствор 250 мл дистиллированной воды, нагретой до 70 °С. Интенсивно перемешивали. Через 24 часа сливали декантацией через складчатый фильтр, целевое вещество переходит в фильтрат. Осадок повторно растворяли в этиловом спирте при нагревании до 50 °С, процедура обработки повторяется дважды. Фильтрат собирали, объединяли, затем извлекали хлороформом (3*100мл). Хлороформные экстракты объединяли и упаривали на роторном испарителе. Получили 75 г хлороформного извлечения аянии кустарничковой. Полученную сумму экстрактивных веществ хроматографировали на колонке с силикагелем, используя в качестве элюентов бензол:этилацетат в различных соотношениях. При элюировании системой бензол-этилацетат (20:1) выделили вещество **1** состава $C_{20}H_{20}O_8$, с т. пл. 158-161 °С (этилацетат) с выходом 0.05 % (в расчете на воздушно-сухое сырье). При элюировании системой бензол-этилацетат (20:3) выделено вещество **2** состава $C_{19}H_{18}O_8$, с т. пл. 178-181 °С (этилацетат) с выходом 0.01 % (в расчете на воздушно-сухое сырье).

Артемизетин (1). Кристаллическое вещество желтого цвета состава $C_{20}H_{20}O_8$, с т. пл. 158-161 °С (этилацетат) с выходом 0.05 % (в расчете на воздушно-сухое сырье). ИК-спектр, $см^{-1}$: 3001 (OH), 2951, 2925 (OCH_3), 1646 (C=O), 1589, 1557, 1490, 1474 (C=C ароматического кольца). УФ-спектр (λ, нм, lgε, EtOH): 255 (4,5), 272 (4,45), 348 (4,56).

Спектр ЯМР ^1H (500 МГц, δ, м.д., J/Гц, $CDCl_3$): 6,48 (1H, с, H-8); 6,97 (1H, д, J=8,5, H-5'); 7,67 (1H, д, J=2,1, H-2'); 7,71 (1H, дд, J=8,5 и 2,1, H-6'); 3,95 (3H, с, OCH_3); 3,96 (6H, с, OCH_3); 3,91 (3H, с, OCH_3); 3,84 (3H, с, OCH_3). Спектр ЯМР ^{13}C (125,7 МГц, δ, м.д., J/Гц, $CDCl_3$): 155,90 (C-2); 138,90 (C-3); 178,96 (C-4); 151,47 (C-5); 133,36 (C-6); 158,86 (C-7); 90,43 (C-8); 152,40 (C-9); 106,66 (C-10); 122,96 (C-1'); 111,93 (C-2'); 151,48 (C-3'); 148,85 (C-4'); 111,32 (C-5'); 122,24 (C-6'); 56,09; 56,17; 56,42; 60,28; 60,97 (OCH_3).

Кастицин (2). Кристаллическое вещество желтого цвета состава $C_{19}H_{18}O_8$, с т. пл. 178-181 °С (этилацетат) с выходом 0.01% (в расчете на воздушно-сухое сырье). ИК-спектр, ν, $см^{-1}$: 3356 (OH), 2928 (OCH_3), 1657 (C=O), 1590, 1560, 1516, 1459 (C=C ароматического кольца). УФ-спектр, λ_{max}/ нм (lgε): 258 (4,58), 352 (4,66). Спектр ЯМР ^1H (C_5D_5N, 500 МГц, δ, м.д.): 6,79 (1H, с, H-8); 7,29-7,31 (1H, т, J=2.0, H-2'); 7,84 (1H, дд, J=8,5 и 2,0, H-6'); 7,89 (1H, д, J=8.5, H-5') 3,95 (3H, с, OCH_3); 3,94 (3H, с, OCH_3); 3,79 (3H, с, OCH_3); 3,78 (3H, с, OCH_3). Спектр ЯМР ^{13}C (C_5D_5N): 156,4 (C-2); 138,5 (C-3); 179,12 (C-4); 152,4 (C-5); 132,6 (C-6); 159,2 (C-7); 91,2 (C-8); 153,1 (C-9); 106,6 (C-10); 128,5 (C-1'); 116,6 (C-2'); 148,3 (C-3'); 151,4 (C-4'); 112,4 (C-5'); 121,5 (C-6'); 60,4; 59,8; 56,2; 55,7 (OCH_3).

Методы. Объектом исследования является надземная часть (бутоны, листья, цветы) *Ajania fruticulosa* (Ledeb.) Poljak, собранная в период цветения в окрестностях Доголан горы Абралы Восточно-Казахстанской области. Для выделения экстрактивных веществ использовали сырье аянии кустарничковой, после извлечения из него эфирных масел.

Для выделения суммы экстрактивных веществ проведена трехкратная экстракция 96 %-ным этанолом 2 кг надземной части (бутоны, цветочные корзинки, листья) *Ajania fruticulosa* (Ledeb.) Poljak, после извлечения эфирных масел. Этанольные извлечения объединяли,

упаривали под вакуумом. Полученную сумму экстрактивных веществ растворяли в 500 мл этилового спирта при нагревании до 50 °С, затем добавляли в полученный гомогенный раствор 250 мл дистиллированной воды, нагретой до 70 °С. Интенсивно перемешивали. Через 24 часа сливали декантацией через складчатый фильтр, целевое вещество переходит в фильтрат. Осадок повторно растворяли в этиловом спирте при нагревании до 50 °С, процедура обработки повторяется дважды. Фильтрат собирали, объединяли, затем извлекали хлороформом (3*100мл). Хлороформные экстракты объединяли и упаривали на роторном испарителе. Получили 75 г хлороформного извлечения аянии кустарничковой. Полученную сумму экстрактивных веществ хроматографировали на колонке с силикагелем, используя в качестве элюентов бензол:этилацетат в различных соотношениях. При элюировании системой бензол-этилацетат (20:1) выделили вещество **1** состава $C_{20}H_{20}O_8$, с т. пл. 158-161 °С (этилацетат) с выходом 0.05 % (в расчете на воздушно-сухое сырье). При элюировании системой бензол-этилацетат (20:3) выделено вещество **2** состава $C_{19}H_{18}O_8$, с т. пл. 178-181 °С (этилацетат) с выходом 0.01 % (в расчете на воздушно-сухое сырье).

Артемизетин (1). Кристаллическое вещество желтого цвета состава $C_{20}H_{20}O_8$, с т. пл. 158-161 °С (этилацетат) с выходом 0.05 % (в расчете на воздушно-сухое сырье). ИК-спектр, $см^{-1}$: 3001 (OH), 2951, 2925 (OCH_3), 1646 (C=O), 1589, 1557, 1490, 1474 (C=C ароматического кольца). УФ-спектр (λ, нм, lgε, EtOH): 255 (4,5), 272 (4,45), 348 (4,56).

Спектр ЯМР ^1H (500 МГц, δ, м.д., J/Гц, $CDCl_3$): 6,48 (1H, с, H-8); 6,97 (1H, д, J=8,5, H-5'); 7,67 (1H, д, J=2,1, H-2'); 7,71 (1H, дд, J=8,5 и 2,1, H-6'); 3,95 (3H, с, OCH_3); 3,96 (6H, с, OCH_3); 3,91 (3H, с, OCH_3); 3,84 (3H, с, OCH_3). Спектр ЯМР ^{13}C (125,7 МГц, δ, м.д., J/Гц, $CDCl_3$): 155,90 (C-2); 138,90 (C-3); 178,96 (C-4); 151,47 (C-5); 133,36 (C-6); 158,86 (C-7); 90,43 (C-8); 152,40 (C-9); 106,66 (C-10); 122,96 (C-1'); 111,93 (C-2'); 151,48 (C-3'); 148,85 (C-4'); 111,32 (C-5'); 122,24 (C-6'); 56,09; 56,17; 56,42; 60,28; 60,97 (OCH_3).

Кастицин (2). Кристаллическое вещество желтого цвета состава $C_{19}H_{18}O_8$, с т. пл. 178-181 °С (этилацетат) с выходом 0.01% (в расчете на воздушно-сухое сырье). ИК-спектр, ν, $см^{-1}$: 3356 (OH), 2928 (OCH_3), 1657 (C=O), 1590, 1560, 1516, 1459 (C=C ароматического кольца). УФ-спектр, λ_{max}/ нм (lgε): 258 (4,58), 352 (4,66). Спектр ЯМР ^1H (C_5D_5N, 500 МГц, δ, м.д.): 6,79 (1H, с, H-8); 7,29-7,31 (1H, т, J=2.0, H-2'); 7,84 (1H, дд, J=8,5 и 2,0, H-6'); 7,89 (1H, д, J=8.5, H-5') 3,95 (3H, с, OCH_3); 3,94 (3H, с, OCH_3); 3,79 (3H, с, OCH_3); 3,78 (3H, с, OCH_3). Спектр ЯМР ^{13}C (C_5D_5N): 156,4 (C-2); 138,5 (C-3); 179,12 (C-4); 152,4 (C-5); 132,6 (C-6); 159,2 (C-7); 91,2 (C-8); 153,1 (C-9); 106,6 (C-10); 128,5 (C-1'); 116,6 (C-2'); 148,3 (C-3'); 151,4 (C-4'); 112,4 (C-5'); 121,5 (C-6'); 60,4; 59,8; 56,2; 55,7 (OCH_3).

ИК-спектры регистрировали в таблетках с KBr на Фурье-спектрометре «Avatar 360 ESP». УФ-спектры поглощения записаны на спектрометре «Cary 60 UV-Vis» в растворах C_2H_5OH. Спектры ЯМР регистрировали на спектрометрах «Bruker DRX-500» и «JNM-ECA 500» (^1H, 500.13 МГц; ^{13}C, 125.7 МГц). Температуры плавления определяли на приборе «Hund Wetzlar». Контроль за ходом разделения индивидуальных соединений осуществляли методом тонкослойной хроматографии на пластинках "Sorbfil" ПТСХ-АФ-А-УФ с использованием систем (петролейный эфир-этилацетат, 1:1); проявители: УФ-свет, 3 %-ный раствор хлористого алюминия).

Количественное содержание соединений определяли методом ВЭЖХ с помощью хроматографа Hewlett Packard Agilent 1100 Series в изократическом режиме, используя в качестве подвижной фазы ацетонитрил - вода в соотношении 50:50. Скорость подачи элюента 0.5 мл/мин. Стальная колонка 150 х 4.6 мм. Сорбент Zorbax SB-C_{18}, размер частиц 5 мкм. Температура колонки 25°С. Объем вводимой пробы 20 мкл.

Для изучения **гепатопротекторной активности (*in vitro*)** использовали культуру клеток HepG2 в 96 луночных планшетах. В качестве гепатотоксического агента использовали тетрахлорметан (CCl_4), который добавляли во все лунки в концентрации 0.10 %. Препарат

сравнения гепатопротектор растительного происхождения «Карсил» в той же концентрации, что и исследуемые образцы. Оптическую плотность регистрировали при длине волны 492 нм на спектрофотометре «StarFax 2100». Оценку результатов теста МТТ проводили путем сопоставления оптической плотности в опытных и контрольных лунках.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Сырье надземной части (бутоны, цветочные корзинки, листья) аянии кустарничковой после выделения эфирных масел трехкратно экстрагировали 96 %-ным этиловым спиртом. Экстракты объединяли, фильтровали, упаривали на ротационном испарителе под вакуумом. После водно-спиртовой обработки и хлороформного извлечения сумму экстрактивных веществ хроматографировали на колонке с силикагелем марки КСК, в качестве элюентов использовали бензол, бензол-этилацетат в различных соотношениях. При элюировании системой бензол-этилацетат (20:1) выделили вещество 1 состава $C_{20}H_{20}O_8$, с т. пл. 158-161 °С (этилацетат) с выходом 0.05% (в расчете на воздушно-сухое сырье).

В ИК-спектре соединения имеются полосы поглощения, характерные гидроксильной группе в области 3001 $см^{-1}$, метокси-группам при 2951 $см^{-1}$, 2925 $см^{-1}$, карбонильной группе в области 1646, $см^{-1}$ двойным связям ароматического ядра при 1589, 1557, 1490, 1474 $см^{-1}$. В УФ-спектре наблюдаются максимумы поглощения в области (λ_{max}/нм (lgε)) 255 (4,5), 272 (4,45), 348 (4,56), характерные для карбонильной группы, сопряженной с эндоциклической двойной связью, и ароматическим ядрам.

В спектре ПМР молекулы (1) наблюдаются сигнал протона при С-8, который наблюдаются в виде синглета в области 6.48 м.д. Сигналы протонов метоксильных групп наблюдаются в виде синглетов в области 3.84-3.96 м.д. Сигналы протонов Н-2’ и Н-5’ отмечаются в виде дублетов в области 7,67 и 6,97 м.д. с константами спин-спинового взаимодействия 2,1 и 8,5 Гц соответственно. Протон Н-6’ взаимодействует с протонами Н-2’, Н-5’ и его сигнал наблюдается в виде дублета дублетов в области 7,71 м.д. с константами спин-спинового взаимодействия 2,1 и 8,5 Гц.

В спектре ЯМР ^{13}C молекулы (1) имеются сигналы 20 углеродных атомов. Сигнал, характерный С-4 карбонильной группы, находится в области 178.96 м.д. Сигнал С-8 проявляется при 90,43 м.д., то есть в более сильном поле, чем сигналы других углеродных атомов ароматического кольца А.

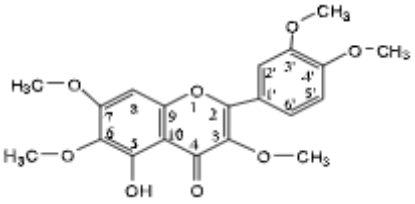
При элюировании системой бензол-этилацетат (20:3) выделено вещество **2** состава $C_{19}H_{18}O_8$, с т. пл. 178-181 °С (этилацетат) с выходом 0.01% (в расчете на воздушно-сухое сырье).

В ИК-спектре соединения (2) отмечаются полосы поглощения при 3356 $см^{-1}$, характерной для гидроксильной группы, в области 2928 $см^{-1}$ - метокси группе, в области 1657 $см^{-1}$ - карбонильной группы, при 1590, 1560, 1516 и 1459 $см^{-1}$ - двойных связей ароматического кольца. В УФ-спектре наблюдаются максимумы поглощения в области (λ_{max}/ нм (lgε)) 258 (4,58), 352 (4,66), характерные для карбонильной группы, сопряженной с эндоциклической двойной связью, и ароматическим ядрам.

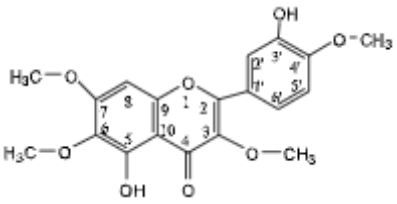
В спектре ПМР молекулы (2) сигнал протона при С-8 отмечается в виде синглета в области 6.79 м.д. Сигналы протонов метоксильных групп наблюдаются в виде синглетов в области 3.78-3.95 м.д. Сигнал протона Н-2’ представлен в виде триплета в области 7,29-7,31 м.д. Сигнал протона Н-5’ наблюдается в виде дублета в области 7,95 м.д. с константой спин-спинового взаимодействия 8,5 Гц. Протон Н-6’ взаимодействует с протонами Н-2’, Н-5’ и его сигнал наблюдается в виде дублета дублетов в области 7,84 м.д. с константами спин-спинового взаимодействия 2,0 и 8,5 Гц.

В спектре ЯМР ^{13}C молекулы (2) имеются сигналы 19 углеродных атомов. Сигнал, характерный С-4 карбонильной группы, наблюдается в области 179.12 м.д. Сигнал С-8 проявляется при 91,2 м.д., то есть в более сильном поле, чем сигналы других ароматического кольца А.

На основании данных ИК-, УФ-, ЯМР- спектроскопии и в сравнении с литературными данными [6,10] вещество (1) идентифицировано как 5-гидрокси-3,6,7,3',4'-пентаметоксифлавон – артемизетин, вещество (2) идентифицировано как 5,3’- дигидрокси-3,6,7,4’- тетраметоксифлавон – кастицин [11], который выделен впервые из данного вида растения. Кастицин обладает противовоспалительной, противоопухолевой и иммуномодулирующей активностями [12].



1



2

При сопоставлении строения флавоноидов артемизетина (1) и кастицина (2) установлено, что данные флавоноиды отличаются наличием различных заместителей в положении С-3’, а именно у артемизетина (1) - метоксильная группа, а у кастицина (2) - гидроксильная группа.

По данным ВЭЖХ в сравнении со стандартным образцом выявлено, что содержание артемизетина в исследуемом сырье составляет 0,42 %, а после извлечения эфирных масел его количество увеличивается до 1,38 %, а при извлечении хлороформом составляет 4,44 % в пересчете на экстракт.

Биологическая активность. Для соединения **1** нами изучена гепатопротекторная активность в условиях *in vitro* на культуре клеток HepG2. В качестве препарата-сравнения использовали гепатопротектор растительного происхождения «Карсил». Полученные при биоскрининге данные приведены в таблице 1. По результатам исследования выявлено, что артемизетин (**1**) при концентрациях 3.0 и 5.0 мкг/мл обладает гепатопротекторным действием на культуре клеток HepG2.

Таблица 1. Гепатопротекторная активность артемизетина (**1**)

Образцы	А, оптическая плотность (достоверность различий P=0.05)	
	С= 5.0 мкг/мл	С=3.0 мкг/мл
Артемизетин (**1**)	0.356±0.003	0.356±0.003
Контроль	0.396±0.025	0.396±0.025
CCl_4	0.381±0.010	0.364±0.011
Карсил	0.355±0.008	0.347±0.007

ВЫВОДЫ

Таким образом, в плане комплексной химической переработки сырья аянии кустарничковой исследован состав спиртового экстракта данного вида, после выделения эфирных масел. При этом выделены и идентифицированы флавоноиды артемизетин (**1**) и кастицин (**2**) с выходами 0.05 % и 0.01 % соответственно. При этом флавоноид кастицин из данного вида растения выделен впервые. Строение соединений установлено на основании данных ЯМР ^{1}H-, ^{13}C-, ИК- и УФ-спектров.

При определении биологической активности образцов флавоноидов, выявлено гепатопротекторное действие артемизетина при концентрациях 3.0 и 5.0 мкг/мл на культуре клеток HepG2.

Кастицин обладает противовоспалительной, противоопухолевой и иммуномодулирующей активностями.

Работа выполнена по проекту №0125-ГК-18, финансируемого АО «Фонд науки».

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Флора Казахстана / Под ред. Н.В. Павлова. - Алма-Ата: 1966.- Т. 9. - С. 71-72.
2. Khan A. M., Biological and phytochemical investigations on *Ajania fruticulosa* / Azizuddin, Atta-ur-Rahman, Choudhary M. I., Tareen R. B. // Chemistry of Natural Compounds. -2011.-Vol. 47. - P. 807-809. DOI: 10.1007/s10600-011-0067-2.
3. Liang J.-Y. Chemical Constituents and Insecticidal Activities of *Ajania fruticulosa* Essential Oil / Guo S.-S., You C.-X., Zhang W.-J., Wang C.-F., Geng Z.-F., Zhang J. // Chemistry & Biodiversity. – 2016. – Vol. 13. – P. 1053–1057. doi:10.1002/cbdv.201500377
4. Liang J.-Y., Chemical constituents from the aerial parts of *Ajania fruticulosa*. / Lu P.-Y., Ning A.-Q., Yang Y.-Y., Shao Y.-Z., Xu J. // Biochemical Systematics and Ecology. - 2020. – Vol. 92. – P. 104-108. doi:10.1016/j.bse.2020.104124
5. Кушекова Н.Д. Микроволновая экстракция *Ajania fruticulosa* (Ledeb.) Poljak / Рязанцев О.Г., Атажанова Г.А.1, Адекенов С.М. // В сб: Новые достижения в химии и химической технологии растительного сырья. – Барнаул: 2014. – С. 268-269.
6. Беленовская Л.М. Флавоноиды *Ajania fruticulosa* / Маркова Л.П., Надежина Т.П., Лигаа У.У.// Химия природных соединений. - 1977.- № 4. - С. 575 – 576.
7. Chumbalov T. K. Flavonoids of *Ajania fastigiata* / Glyzin V. I., Zhubaeva R. A. // Chemistry of Natural Compounds. – 1974. – Vol.10. – P. 814.
8. Jun-Yu Liang. Antagonistic activity of essential oils and their main constituents extracted from *Ajania fruticulosa* and *A. potaninii* against *Ditylenchus destructor* / Yan Liu ,Xin-Xin Zhang, Li-Juan Zhang, Yan Chen, Yuan Li, Hui Zhang, Wei-Bao Kong, Shu-Shan Du // Nematology. - 2018. - Vol. 20, № 10. - P. 911-916. DOI:10.1163/15685411-00003185.
9. Патент РК 31388. Ранозаживляющая мазь "Аяфрол" на основе эфирного масла аянии кустарничковой *Ajania fruticulosa* (Ledeb.) Poljak / Атажанова Г. А., Жабаева А. Н., Адекенов С.М. Опубл. 29.07.2016, бюл. № 8
10. Martins A. *In vitro* Antitumoral Activity of Compounds Isolated from *Artemisia gorgonum* Webb / Mignon R., Bastos M., Batista D., Neng N. R., Nogueira J. M. F., Rauter A. P. // Phytotherapy Research. – 2014. – Vol. 28. – P. 1329–1334. doi:10.1002/ptr.5133
11. Gao Xue Isolation, identification and cytotoxic activity analysis of polymethoxylated flavonoids from *Vitex rotundifolia* fruit / Chen Gang // Journal of Plant Resources and Environment. – 2015. - Vol. 24, №.2. – P.118-120.
12. Chan E. W. C., Casticin from *Vitex* species: a short review on its anticancer and anti-inflammatory properties / Wong S. K., Chan, H. T. // Journal of Integrative Medicine. – 2018. – Vol. 16. – P. 147–152.

BIOLOGICALLY ACTIVE METOXYLATED FLAVONOIDS OF *AJANIA FRUTICULOSA* (LEDEB.) POLJAK

PhD Doctoral student Baisarov G. M.[1, a)], Master's student Syzdykova D. M.[1],
Master Nurkadyrov D.K.[1], Master Maslova O.V.[2],
Academician of NAS RK , Doctor of Chemical Sciences, Professor Adekenov S.M. [1]
[1]JSC "International Research and Production Holding "Phytochemistry", Republic of Kazakhstan, Karaganda, M. Gazaliev str., 4, 100009
[2]LLP "Center of Phytotherapy", Republic of Kazakhstan, Karaganda, Stepnoy-3, 2
a) corresponding author – info@phyto.kz

Abstract. In terms of complex chemical processing of medicinal raw materials of *Ajania fruticulosa* (Ledeb.) Poljak, phenolic compounds from the ethanol extract of the aerial part (buds, flower baskets, leaves) were studied after the isolation of essential oils. By chromatographic separation of the sum of extractive substances the following methoxylated flavonoids were isolated and identified: artemisetin (5-hydroxy-3,6,7,3',4'-pentamethoxyflavone) and casticin (5,3'-dihydroxy-3,6,7,4'-tetramethoxyflavone), the structures of which were established according to the data of IR-, UV-, NMR-spectroscopy. These flavonoids are distinguished by the presence of various substituents at the C-3' position. In *in vitro* biological screening on HepG2 cell culture, it was revealed that artemisetin at concentrations of 3.0 and 5.0 μg/ml on HepG2 cell culture exhibits hepatoprotective activity. Casticin from this plant species was isolated for the first time, has anti-inflammatory, antitumor and immunomodulatory activities.

Keywords *Ajania fruticulosa (Ledeb.) Poljak, methoxylated flavonoids, artemisetin, casticin, hepatoprotective, anti-inflammatory, antitumor and immunomodulatory activities.*

.

УДК 615.454 DOI: 10.52101/9785870191003_2021_547

ИССЛЕДОВАНИЯ ПО РАЗРАБОТКЕ СУППОЗИТОРИЕВ ГИПОРАМИНА

к.фарм.н. Качалина Т. В.[a)], Малышева Н. А., к.фарм.н. Куляк О. Ю.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений», ФГБНУ ВИЛАР, адрес (Россия, Москва, улица Грина 7, стр 1), 117216.

а) автор для переписки – kachalina_tat@bk.ru

Аннотация. Целью настоящей работы является разработка оптимального состава и технологии изготовления лекарственной формы в виде суппозиториев гипорамина. В ходе комплексных исследований была определена растворимость гипорамина в различных растворителях, произведен выбор основы и эмульгатора с целью увеличения биодоступности субстанции. Для устранения явления коалесценции суппозиторной массы, были проведены исследования, включающие изменение технологических параметров получения лекарственной формы, увеличение количества эмульгатора и введение в состав суппозиториев метилцеллюлозы и кремния диоксида коллоидного (аэросила) в качестве загустителей. В результате экспериментальных исследований разработан оптимальный состав и технология получения лекарственной формы суппозиториев гипорамина, представляющих интерес для практического здравоохранения. Статья публикуется в соответствие с тематикой научных исследований FNSZ-2019-0010.

Ключевые слова: *суппозитории, гипорамин, вспомогательные вещества*

ВВЕДЕНИЕ

Лекарственные формы на основе сухих экстрактов растительного происхождения обладают большим диапазоном фармакологического действия благодаря содержанию комплекса биологически активных веществ. При этом они отличаются малой токсичностью и хорошей переносимостью. Такие свойства характерны также для гипорамина, разработанного в ФГБНУ ВИЛАР, и обладающего противовирусной активностью [1,2].

В настоящее время в связи с широким распространением вирусных заболеваний и огромному количеству людей вовлекаемых в эпидемический процесс разработка препаратов противовирусного действия является весьма актуальной.

Целью настоящей работы является разработка оптимального состава и технологии изготовления лекарственной формы в виде суппозиториев гипорамина.

Новизна исследования состоит в отсутствии в отечественной медицинской практике суппозиториев, содержащих гипорамин для лечения вирусных заболеваний, в том числе, гриппозных. Разработка представляет интерес для практического здравоохранения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы

1 - **гипорамин** (партия 100920, годен до 09.2024, АО «Фармцентр ВИЛАР», ФС 000220-180917, изм №1 от 15.10.18.) был приобретен ФГБНУ ВИЛАР.

2 - **вазелиновое масло** (партия 26, годен до 01.11.2023, Россия, ГОСТ 3164-78 изм 1-2) был приобретен ФГБНУ ВИЛАР;

3 - **твердый жир тип А** (Hardfat, партия 0000380794, годен до 10.2022, «IOI oleoGmbH» Германия, Ph. Eur.) был приобретён ФГБНУ ВИЛАР;

4 - **витепсол W-35**(Witepsol W-35, партия 711341, годен до 11.2023, «IOI oleoGmbH» Германия, Ph. Eur.,) был приобретён ФГБНУ ВИЛАР;

5 - **полисорбат 80** (твин 80, Radiamuls sorb 2157, партия OE70911C01, годен до 11.09.2022, Oleon, Ph. Eur. 8.0, USP29) был приобретён ФГБНУ ВИЛАР;
6 - **сорбитана моностеарат** (Span-60, партия 10/12/19, годен до 12.21, Sigma-Aldrich, США, Ph. Eur) был приобретён ФГБНУ ВИЛАР;
7 - **пропиленгликоль** (партия F820Garpd2, годен до 10.2022, Германия, Ph.Eur, USP) был приобретен ФГБНУ ВИЛАР;
8 - **вода очищенная** (ФС.2.2.0020.18) была получена в ФГБНУ ВИЛАР;
9 - **сорбитана стеарат** (TEGO SMS MB, партия YF 34879, годен до 02.2023, Evonik Industries AG, Германия, Ph.Eur) был предоставлен ФГБНУ ВИЛАР;
10- -**ПЭГ-40 стеарат**.(TEGO ACID S 40 P, партия SA 312367, годен до 02.2023, Evonik Industries AG, Германия, Ph.Eur) был предоставлен ФГБНУ ВИЛАР;
11 – **полиэтиленгликоль** (ПЭГ-1500, партия deg4250308, годен до 02.06.2022, Clariant, Германия, Ph. Eur., USP) был приобретен ФГБНУ ВИЛАР:
12 – **полиэтиленгликоль** (ПЭГ-400, партия deg4205922, годен до 02.05. 2022, Clariant, Германия, Ph. Eur., USP) был приобретен ФГБНУ ВИЛАР;
13 – **моноглицериды дистилированные** (МГД, партия 003452, годен до 02.2023, ОАО «Нижегодский жировой комбинат», Россия, ТУ 9145-357-0034623-2003 с изм. 1 и 2) был предоставлен ФГБНУ ВИЛАР;
14 - **метилцеллюлоза -10**0 (метилцеллюлоза водорастворимая МЦ-100, партия 155012244, годен до 03.2022, Zhongbao Chemicals Co., LTD Китай, Ph. Eur., USP) был приобретен ФГБНУ ВИЛАР;
15 – **ланетт** (Lanett SX Cetearyl Alcohol (and) Sodium Lauryl Sulfate (and) Sodium Cetearyl Sulfate, партия SVAE 09457, годен до 07.2022, BASF, Германия, Ph. Eur., USP) был приобретен ФГБНУ ВИЛАР;
16 - **кремния диоксид коллоидный** (Aerosil® 200 Pharma партия 155103119, годен до 11.2021, Evonik, Германия, Ph. Eur. USP) был предоставлен ЗАО «ФПК ФармВИЛАР»;
17 - **кремния диоксид коллоидный** (Aerosil® 380 Pharma партия 168101119, годен до 11.2021, Evonik, Германия, Ph. Eur. USP) был предоставлен ЗАО «ФПК ФармВИЛАР».

Методы

В работе использовались следующие методы:
- определение растворимости согласно ОФС.1.2.1.0005.15 «Растворимость»;
- проведение теста «Растворение», согласно ОФС.1.4.2.0014.15 «Растворение для твердых дозированных лекарственных форм» для суппозиториев на гидрофильной основе и ОФС.1.4.2.0015.15 «Растворение для суппозиториев на липофильной основе»;
- определение показателей качества согласно ОФС.1.4.1.0013.15 «Суппозитории»

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На начальном этапе разработки необходимо было изучить растворимость гипорамина в различных растворителях. Изучение растворимости – это один из важнейших первоначальных этапов разработки при выборе компонентного состава для лекарственных форм. Лекарственный препарат, имеющий в своем составе биологически активное вещество в виде раствора, как правило, обладает лучшей биодоступностью. Гипорамин представляет собой облепихи крушиновидной листьев экстракт сухой, разработанный в ФБГНУ ВИЛАР из листьев Облепихи крушиновидной (*Hippophae rhamnoides* L.) семейства Лоховые *Elaeagnaceae* [3].

Для проведения эксперимента были использованы следующие растворители: вода очищенная, полиэтиленоксид 400, пропиленгликоль, твин-80, а также смеси растворителей: ПЭГ400: вода в соотношении 1:3, пропиленгликоль : вода в соотношении 1:1 и 3:1, твин-80:вода в соотношениях 1:10 и 1:1. Результаты опытов представлены в таблице 1.

Как видно из представленных в таблице 1 данных, наилучший показатель растворимости гипорамина наблюдался в образце с системой растворителей пропиленгликоль:вода 1:1 при нагревании. Данная система растворителей была выбрана для технологии получения суппозиториев гипорамина.

Таблица 1 - Растворимость гипорамина в различных растворителях

Растворитель	Температура, °С	Растворимость гипорамина
Вода очищенная	20	Растворим
Вода очищенная	60	Легко растворим
Твин-80:вода 1:1 и 1:10	20	Мало растворим
Твин-80:вода 1:1 и 1:10	60	Мало растворим
ПЭГ-400	20	Практически не растворим
ПЭГ-400:вода 3:1	20	Практически не растворим
ПЭГ-400:вода 3:1	60	Мало растворим
Пропиленгликоль	20	Практически не растворим
Пропиленгликоль:вода 3:1	20	Умеренно растворим
Пропиленгликоль:вода 1:1	20	Легко растворим
Пропиленгликоль:вода 1:1	60	Легко растворим

Принимая во внимание необходимость рационального выбора вспомогательных веществ и технологических приемов, обеспечивающих эффективное действие введенного в лекарственный препарат активного вещества, представлялось целесообразным изучить возможность использования при разработке суппозиториев гипорамина липофильных, гидрофильных и дифильных основ. С целью выбора оптимального состава суппозиториев, содержащих гипорамин, были изготовлены экспериментальные образцы на различных основах [4]. Составы экспериментальных образцов суппозиториев представлены в Таблице 2.

Таблица 2 - Составы экспериментальных образцов суппозиториев

Компоненты, г	№ состава				
	1	2	3	4	5
Гипорамин ФС 000220-180917	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050
Вазелиновое масло ФС 2.2.004.15	-	-	0,075	0,075	-
Пропиленгликоль Ph. Eur..	0,104	0,104	-	-	0,104
Вода очищенная ФС.2.2.0020.18	0,100	0,100	-	-	0,100
ПЭГ400 Ph. Eur.	-	-	-	-	0,175
ПЭГ1500 Ph. Eur.	-	-	-	-	1,571
Твердый жир Тип А Ph. Eur.	1,746	-	1,875	-	-
Витепсол W-35 Ph. Eur.	-	1,746	-	1,875	
Масса суппозитория	2,000	2,000	2,000	2,000	2,000

Оценка качества разработанных суппозиториев первоначально проводилась по показателю «Описание» согласно ОФС.1.4.1.0013.15. и по степени высвобождения гипорамина, согласно ОФС.1.4.2.0014.15 «Растворение для твердых дозированных лекарственных форм», для

суппозиториев на гидрофильной основе и ОФС.1.4.2.0015.15 «Растворение для суппозиториев на липофильной основе». Результаты анализа представлены в Таблице 3.

Таблица 3 - Результаты анализа образцов гипорамина

№ состава	1	2	3	4	5
Степень высвобождения гипорамина, %	55,38±0,03	52,34±0,03	54,70±0,02	49,40±0,01	54,51±0,05
Описание	соответ.	соответ.	соответ.	соответ.	Не соответ.

Согласно результатам представленным в таблице, образец 5, содержащий ПЭГ 400:ПЭГ 1500 1:9, не соответствовал требованиям ГФ XIV по показателю «Описание». Кроме того, по некоторым литературным данным, спиртосодержащие основы несовместимы с таннинами и обладают дегидратирующим действием, вследствии чего могут вызывать раздражение слизистой кишечника в месте введения суппозитория [5].

С целью увеличения биодоступности гипорамина были составлены прописи, по которым были изготовлены экспериментальные образцы с различными эмульгаторами [6]. Предложенные вновь составы представлены в Таблице 4.

В результате визуального контроля по показателю «Описание» отвечали требованиям ОФС.1.4.1.0013.15 «Суппозитории» ГФ XIV РФ следующие образцы:

Образец 4,5 (с содержанием TEGO SMS 3% и 4% соответственно); образец 6 (с содержанием TEGO ACID S 40 P 3 %); №№ 9,10,11,13,15 и 16 (с содержанием СПЕНа-60 Sigma 3 %, СПЕНа-60 «Аромашка» 3 %, СПЕНа-60 Sigma» 2 %, СПЕНа-60 «Аромашка» 2 %, СПЕНа-60 «Аромашка 1 % и СПЕНа-60 «Аромашка 4% соответственно) и №12 с содержанием СПЕНа-60 Sigma 3 % и Твина-80 0,3 %.

Проведен анализ вышеуказанных прописей по тесту «Растворение», результаты которого представлены в Таблице 5.

Таблица 5 - Степень высвобождения гипорамина из суппозиториев, содержащих различные эмульгаторы

№ состава	4	5	6	9	10	11	12	13	15	16
Степень высвобождения гипорамина, %	45,53 ±0,03	58,32 ±0,02	44,56 ±0,01	65,65 ±0,02	76,22 ±0,03	46,76 ±0,01	67,27 ±0,01	50,53 ±0,03	47,9 ±0,01	48,86 ±0,02

Таким образом, образец 10, содержащий СПЕН-60 в качестве эмульгатора имел лучшие значения по показателю «Описание» и степени высвобождения гипорамина из суппозиториев В процессе наработки образцов данного состава наблюдалось явление коалесценции суппозиторной массы, с целью устранения которого был проведен комплекс исследований, направленных на изменение технологических параметров получения суппозиториев (время гомогенизации на диспергаторе Ultra Turrax), увеличение количества эмульгатора и введение в состав суппозиториев метилцеллюлозы и кремния диоксида коллоидного (аэросила) в качестве загустителей. Усовершенствованные составы суппозиториев представлены в Таблице 6.

Таблица 4 - Составы суппозиториев гипорамина, содержащих различные эмульгаторы

№ образца	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
Гипорамин	0, 050	0, 050	0, 050	0, 050	0, 050	0, 050	0, 050	0, 050	0, 050	0, 050	0, 050	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050
Вода очищенная	0,060	0,060	0,060	0,060	0,060	0,060	0,060	0,060	0,060	0,060	0,060	0,060	0,060	0,060	0,060	0,060
Пропиленгликоль	0,062	0,062		0,062	0,062	0,062	0,062	0,062	0,062	0,062	0,062	0,062	0,062	0,062	0,062	0,062
Твин - 80	0,004						0,020	0,006				0,060		0,040		
Эмульсионый воск	0,100	0,100														
Lanett			0,140													
TEGO SMS				0,06	0,08											
TEGO ACID S 40 P						0,06										
Спен-60 Sigma		0,060							0,060		0,040				0,020	0,08
Спен-60 «Аромашка										0,060		0,060	0,040			
Вазелиновое масло														0,075		
Твердый жир Тип А	1,724	1,668	1,750	1.768	1,748	1,768	1,808	1,822	1,768	1,768	1,788	1,708	1,788	1,713	1,808	1,748
Масса суппозитория	2,000	2,000	2,000	2,000	2,000	2,000	2,000	2,000	2,000	2,000	2,000	2,000	2,000	2,000	2,000	2,000

Таблица 6 - Составы суппозиториев гипорамина, содержащие спен-60 и аэросил

Компоненты, г	№ состава				
	1	2	3	4	5
Гипорамин, ФС 000220-180917	0, 050	0, 050	0, 050	0, 050	0, 050
Вода очищенная ФС.2.2.0020.18	0,030	0,030	0,030	0,030	0,053
Пропиленгликоль, Ph.Eur.	0,031	0,031	0,031	0,031	0,031
Спен 60 Ph.Eur.	0,080	0,080	0,080	0,080	0,080
Аэросил 200 Ph.Eur.	0,11	-	0,078	0,090	-
Аэросил 380 Ph.Eur.	-	0,110	-	-	-
Метилцеллюлоза Ph.Eur.	-	-	-	-	0,050
Твердый жир Тип А Ph.Eur.	1,699	1,699	1,731	1,719	1,736
Масса суппозитория	2,000	2,000	2,000	2,000	2,000

В результате внесенных изменений явление коалесценции суппозиторных масс наблюдалось только при изготовлении образца 5, содержащего метилцеллюлозу. В образцах 1-4, содержащих аэросил явление коалесценции не наблюдалось. Было проведено количественное определение гипорамина в образцах состава 1-4. Результаты определения представлены в таблице 7.

Таблица 7 - Количество гипорамина определенное в суппозиториях, содержащих спен-60 и аэросил

№ состава	1	2	3	4
Содержание гипорамина , %	81,79±0,03	81,09±0,02	80,48±0,03	82,62±0,03

Как видно из представленой таблицы, максимальное количество гипорамина содержится в образце 4, который был выбран в качестве окончательного варианта.

Состав суппозиториев гипорамина, г

Гипорамин *ФС000220-180917*	0,050
Вода очищенная *ФС.2.2.0020.18*	0,030
Пропиленглтколь Ph.Eur.	0,031
Спен-60 *Ph.Eur.*	0,080
Аэросил 200 Pharma *Ph.Eur.*	*0,090*
Твердый жир, тип А *Ph.Eur.*	1,719
Масса суппозитория	2,000

Технология изготовления суппозиториев гипорамина состоит из следующих стадий:

- получение раствора гипорамина в смеси пропиленгликоль:вода (1:1);
- ведение аэросила в раствор гипорамина;
- добавление смеси гипорамина с аэросилом в расплавленную основу, при постоянном перемешивании на якорной мешалке в течениие 30 минут;
- розлив суппозиторной массы в контурные ячейковые упаковки.

ВЫВОДЫ

В результате экспериментальных исследований была определена растворимость гипорамина, произведен выбор основы и эмульгатора с целью увеличения биодоступности субстанции. Устранено явление коалесценции суппозиторной массы введением в нее кремния диоксида колоидного (аэросил). Разработан оптимальный состав и технология получения лекарственной формы суппозиториев гипорамина противовирусного действия, представляющих интерес для практического здравоохранения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Вичканова, С. А., Клинические исследования гипорамина в качестве противовирусного средсва/ Крутикова Н.М.//Практическая фитотерапия- М., 2005.- №3,С.16-20.
2. Крепкова, Л. В. Некоторые аспекты токсикологического изучения лекарственных препаратов, созданных на основе лекарственного растительного сырья/ Бортникова В. В., Сокольская Т. А.//Фундаментальные исследования. - 2013, том 2, №. 9, С. 36-40.
3. Ферубко, Е. В. Использование фитопрепаратов ФГБНУ ВИЛАР в медицине/ Трумпе Т.Е., Курманова Е.Н.//Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2016, том 19, №. 6, С. 11-15.
4. Прокущенко, Н. В. Выбор и изучение основы для создания суппозиториев антигистаминного действия/ Жилякова Е. Т.//Фармация и фармакология. – 2014. том 2, №. 6 (7).
5. M. Besharati Effect of Tannin-Binding Agents (Polyethylene Glycol and Polyvinylpyrrolidone) Supplementation on in vitro Gas Production Kinetics of Some Grape Yield Byproducts/ A. Taghizadeh //International Scholarly Research Newwork, V. 2011.
6. Нагорная, Н. А. Изучение влияния концентрации поверхностно-активных веществ на высвобождение винпоцетина из ректальных суппозиториев / Гладышев В.В., Кечин И.Л., Нагорный В.В.//Научные ведомости.-Фармация. 2013. № 25 (168), выпуск 24, С. 203-206.

RESEARCH ON THE DEVELOPMENT OF HYPORAMINE SUPPOSITORIES

PhD, Kachalina T.V., Malysheva N.A., PhD, Kulyak O.U.

All-Russian Scientific Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants, FGBNU VILAR, (7 Grina Street, building 1, Moscow, Russia), 117216

a) corresponding author – kachalina_tat@bk.ru

Abstract. The aim of this work is to develop the optimal composition and manufacturing technology of the dosage form in the form of hyporamine suppositories. In the course of complex studies, the solubility of hyporamine in various solvents was determined, the choice of a base and an emulsifier was made in order to increase the bioavailability of the substance. To eliminate the phenomenon of coalescence of the suppository mass, studies were conducted, including changes in the technological parameters of obtaining the dosage form, an increase in the amount of emulsifier and the introduction of methylcellulose and silicon dioxide colloidal (aerosil) as thickeners into the suppositories. As a result of experimental studies, the optimal composition and technology for obtaining the dosage form of hyporamine suppositories, which are of interest for practical health care, has been developed .

Keywords: *suppositories, hyporamine, auxiliary substance*

ДОКЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ НОВЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

УДК 615:615.014:615.4 DOI: 10.52101/9785870191003_2021_554

ВЛИЯНИЕ СУХОГО ЭКСТРАКТА PADUS GRAYANAE MAXIM НА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ВНУТРЕННИХ ОРГАНОВ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ

доцент, д.фарм.н. Исмаилов И. З.[1, a)], профессор, д.м.н. Зурдинов А. З.[2], доцент, к.м.н. Сабирова Т. С.[3]

1 - Институт химии и фитотехнологий НАН Кыргызской Республики, Кыргызстан, Бишкек, проспект Чуй 265, 720071.
2 - Кыргызско-Российский Славянский университет, Кыргызстан, Бишкек, ул. Киевская 44, 720000.
3 - Кыргызская государственная медицинская академия, Кыргызстан, Бишкек, ул. Ахунбаева 92, 720020

а) автор для переписки – ism-isa@mail.ru

Аннотация. В статье приведены результаты изучения влияния сухого экстракта Padus Grayanae Maxim на морфофункциональное состояние внутренних органов 112 аутбредных крыс массой 125 – 200 г. в ходе изучения хронической токсичности. Сухой экстракт Padus Grayanae Maxim, стандартизованный по содержанию биологически активных веществ – хлорогеновой (не менее 0,24%) и кофейной (не менее 0,025%) кислот, вводили крысам в желудок 1 раз в сутки утром за 2 часа до приема пищи с помощью атравматического зонда в дозах 300 мг/кг, 600 мг/кг и 900 мг/кг в течение 1 и 3 месяцев. После завершения эксперимента животных умерщвляли цервикальной дислокацией, внутренние органы фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина, микроскопировали гистологические препараты, которые окрашенные гематоксилин-эозином. Установлено, что введение исследуемого фитоэкстракта в изученных дозировках в течение 1 и 3 месяцев не оказывало местнораздражающего действия на желудочно-кишечный тракт, не приводило к развитию дистрофических, деструктивных, очаговых склеротических изменений в паренхиматозных клетках и строме внутренних органов. Отмечалось увеличение кровенаполнения внутренних органов. В органах, содержащих лимфоидные фолликулы, наблюдалось увеличение их площади и появление реактивных центров, лучше всего это проявилось у животных, получавших фитоэкстракт в дозе 600 мг/кг в течение 1 месяца.

Ключевые слова: *фитопрепараты, сухой экстракт Padus Grayanae Maxim, хроническая токсичность, гистологическое исследование.*

ВВЕДЕНИЕ

Фармакологическая эффективность и безопасность препаратов растительного происхождения активно изучалась и продолжается исследоваться, интенсивно расширяется их ассортимент. В 2019 году объем мирового рынка фитопрепаратов оценивался в $83 млрд, при этом аналитики ожидают что к 2030 году объем рынка препаратов, изготовленных на основе лекарственных растений, сможет достичь $550 млрд, при среднегодовом темпе роста на уровне 18,9%. Растущее гериатрическое население в сочетании с ростом осведомленности людей о преимуществах лекарств растительного происхождения сегодня действует в пользу увеличения доли рынка препаратов гербальной медицины. По сравнению с синтетическими препаратами фитопрепараты обладают рядом отличительных особенностей: содержат, как правило, несколько биологически активных веществ, которые определяют основное

фармакологическое действие препаратов; обладают широким спектром фармакологического действия; качество и эффективность лекарств природного происхождения во многом зависит от технологии их получения [1-8].

В Кыргызской Республике в течение ряда лет проводилось изучение фармакогностических, фитохимических особенностей, фармакологических свойств и технологии получения готовых лекарственных форм препаратов из надземных частей Padus Grayanae Maxim, сем. розоцветных, произрастающей на юге Японии и интродуцированной в Ботаническом саду НАН Кыргызской Республики. По результатам проведенных исследований получены патент Патент на изобретение Кыргызской Республики: Патент № 20170100.1 «Способы получения сухого экстракта из надземных частей Padus Grayana Maxim» [9].

Цель настоящего исследования – изучить влияние сухого экстракта Padus Grayanae Maxim на морфофункциональное состояние внутренних органов экспериментальных животных в ходе изучения хронической токсичности.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы. При проведении исследований использовалась субстанция сухого экстракта Padus Grayanae Maxim, стандартизованная в соответствии с требованиями Европейской Фармакопеи 6-го издания, по содержанию биологически активных веществ – хлорогеновой (не менее 0,24 %) и кофейной (не менее 0,025 %) кислот; потеря массы при высушивании - не более 6 %; содержание тяжелых металлов – не более 0,01 %.

Методы. Доклиническое изучение сухого экстракта Padus Graynae Maxim проводилось в соответствии с «Правилами доклинической оценки безопасности фармакологических средств (GLP)», «Руководством по проведению доклинических исследований лекарственных средств [10]. Изучение токсичности сухого экстракт Padus Grayanae maxim в условиях хронического эксперимента проводилось на 112 аутбредных крысах массой 125 – 200 г. Животные были разделены на 8 групп:

I – контрольные животные; II – животные, которым вводился сухой экстракт в дозе 300 мг/кг массы тела в течение 1 месяца; III – крысы данной группы получали сухой экстракт в дозе 600 мг/кг массы тела в течение 1 месяца; IV – крысы данной группы получали сухой экстракт в дозе 900 мг/кг массы тела в течение 1 месяца; V - контрольные животные; VI – животные, получавшие сухой экстракт в дозе 300 мг/кг массы в течение 3 месяцев; VII – крысы, которым вводился сухой экстракт в дозе 600 мг /кг массы в течение 3 месяцев; VIII – крысы, которым вводился сухой экстракт в дозе 900 мг /кг массы в течение 3 месяцев. Водный раствор изучаемого препарата и вода очищенная вводились крысам в желудок 1 раз в сутки утром за 2 часа до приема пищи с помощью атравматического зонда.

После завершения экспериментов по изучению хронической токсичности животных умерщвляли цервикальной дислокацией. Животные были подвергнуты полной некропсии с оценкой поверхности тела, мест инъекций, черепной, грудной, брюшной полостей и их содержимого. Внутренние органы: печень, селезёнку, желудок, кишечник, сердце, почки и легкие фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина. Из фиксированных органов готовили гистологические препараты, которые окрашивали гематоксилин-эозином и микроскопировали.

Исследование гистологических препаратов проводили при помощи светооптического микроскопа Leica DM LS (Германия) при увеличении 200 и 400. Микрофотографирование проводили при помощи цифровой фотокамеры Leica DC320 (Германия).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При просмотре гистологических препаратов изучаемых органов животных из контрольной группы и группы, получавшей сухой экстракт экстракт Padus Grayanae Maxim в дозе 300 мг/кг в течение 1 месяца установлено, что введение фитоэкстракта не вызывало особых изменений в структурах изученных органов. Исключение составили органы, где

имелась лимфоидная ткань (легкие, селезенка и тимус), в которых имело место увеличение количества лимфоцитов в структурах.

При анализе гистологических препаратов изучаемых органов животных из контрольной группы и группы животных, получавшей сухой экстракт Padus Grayanae Maxim в дозе 600 мг/кг в течение 1 месяца, в легких в стенке бронхов увеличились в размерах лимфоидные фолликулы. Они занимали значительные пространства, заходя в подслизистую оболочку. В сердце отмечалось расширение сосудов и наполнение их кровью.

В органах пищеварительной системы в желудке слизистая оболочка у крыс опытной группы не отличалась от контрольных животных.

В отделах тонкого кишечника слизистая оболочка не изменена. В толще стенки тонкого и толстого кишечника у животных, получавших изучаемый фитоэкастракт, залегают лимфоидные фолликулы больших размеров, занимая слизистую, подслизистую оболочки и местами проникая в мышечную оболочку. Реактивные центры таких фолликулов увеличены (Рисунки 1-4).

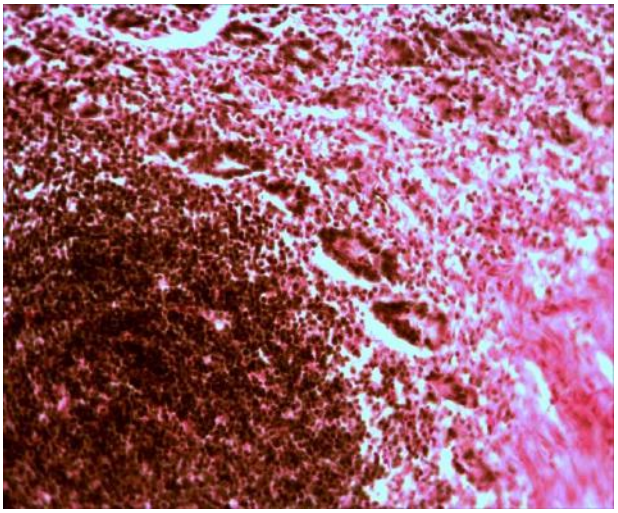


Рисунок 1 - Лимфоидный фолликул в слизистой оболочке тонкого кишечника интактной крысы. Окраска: гематоксилин-эозин. Ув.Ок.7.Об.20.

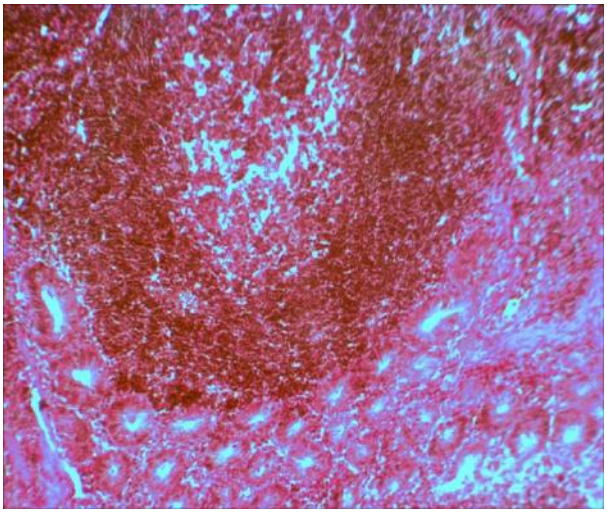


Рисунок 2 - Огромный лимфоидный узелок в толще стенки тонкого отдела кишечника крысы опытной группы. Окраска: гематоксилин-эозин. Ув.Ок.7.Об.10.

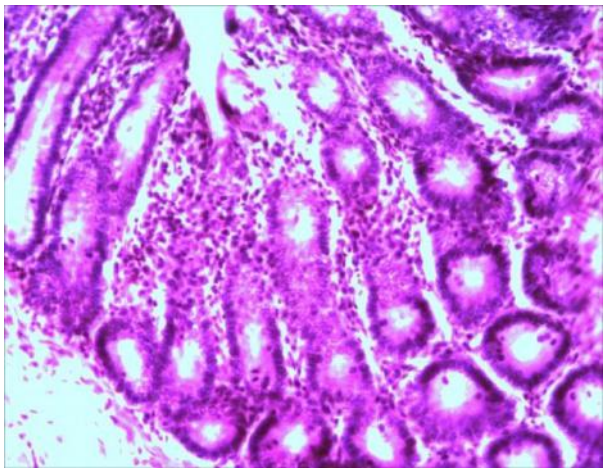


Рисунок 3 - Толстый кишечник интактной крысы. Слизистая и подслизистая оболочки. Окраска: гематоксилин-эозин. Ув. Ок.7. Об.20.

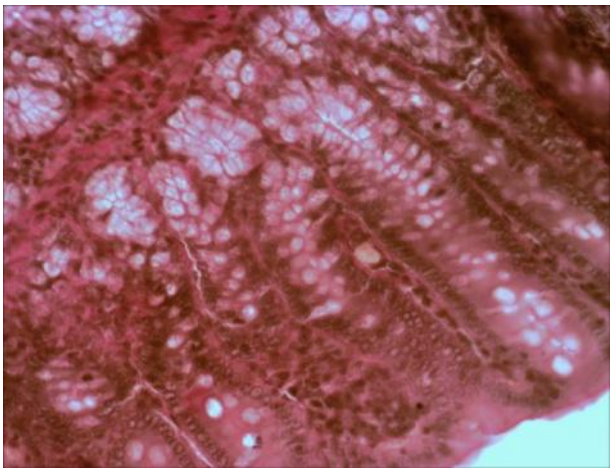


Рисунок 4 - Отдел толстого кишечника крысы опытной группы, видны крипты, строма слизистой оболочки инфильтрирована лимфоцитами. Окраска: гематоксилин-эозин. Ув .Ок.7 Об.20.

Печень и поджелудочная железа сохраняли свое обычное строение. В селезенке и тимусе отмечалось увеличение площади лимфоидной ткани.

При гистологическом исследовании строения органов экспериментальных животных, получавших сухой экстракт Padus Grayanae Maxim в дозе 900 мг/кг, в сердце, печени, почках, надпочечниках выявлялись расширенные кровеносные сосуды, заполненные кровью. Нарушений морфологического строения в указанных органах не выявлено.

В органах дыхательной системы в стенке бронхов обнаружены лимфоидные фолликулы больших размеров, расположенные во всех оболочках мелких бронхов (Рисунки 5, 6).

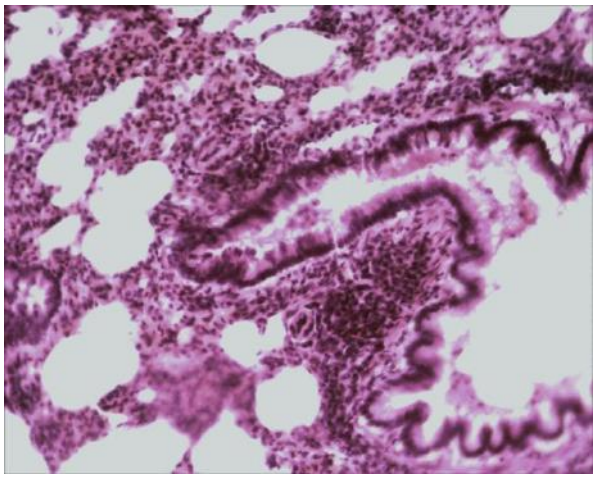


Рисунок 5 - Легкое интактной крысы. Лимфоидные фолликулы в слизистой оболочке. Окраска: гематоксилин-эозин. Ув. Ок.7. Об.20.

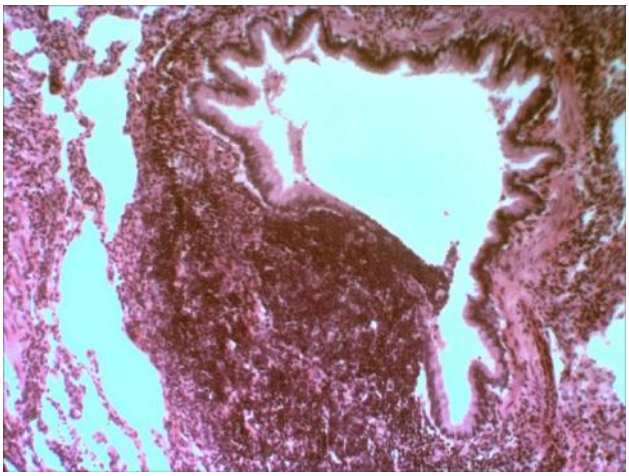


Рисунок 6 - Лимфоидный узелок значительных размеров в стенке бронха крысы опытной группы. Окраска: гематоксилин-эозин. Ув. Ок.7 Об.10.

В органах пищеварительной системы у животных опытной группы в желудке выявлена инфильтрация лимфоцитами собственной пластинки слизистой оболочки. В тонком кишечнике отмечалось некоторое истончение структур слизистой оболочки, неглубокие крипты, ворсинки небольших размеров. В толстом кишечнике большие скопления лимфоидных фолликулов - пейеровы бляшки. В собственной пластинке слизистой между криптами расположены скопления лимфоцитов (Рисунки 7, 8).

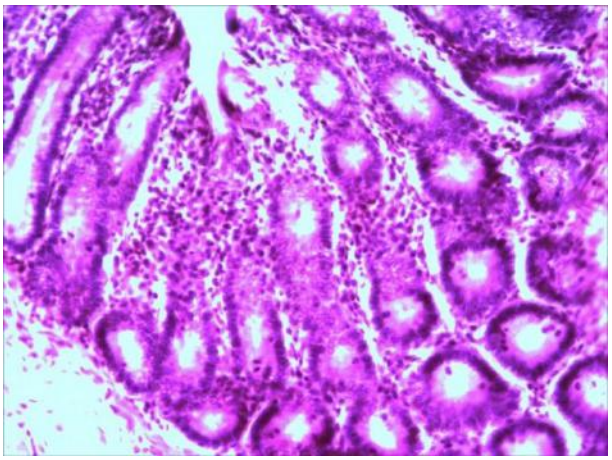


Рисунок 7 - Толстый кишечник интактной крысы. Слизистая и подслизистая оболочки. Окраска: гематоксилин-эозин. Ув. Ок.7. Об.20.

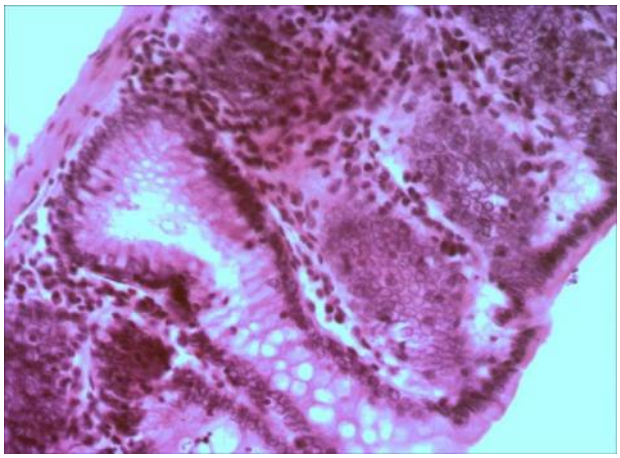


Рисунок 8 - Слизистая оболочка толстого кишечника крысы опытной группы. Лимфоидный узелок и инфильтрация собственной пластинки лимфоцитами. Окраска: гематоксилин-эозин. Ув. Ок.7. Об.40.

В селезенке обнаружено большое количество лимфоидных узелков, в центре которых лежат активные центры размножения.

В тимусе сглажена граница между корковым и мозговым веществом. Выявляется большое количество лимфоцитов, как в корковом, так и в мозговом слое.

Таким образом, результаты исследования морфофункционального состояния внутренних органов крыс, получавших сухой экстракт Padus Grayanae Maxim в дозе 900 мг/кг в течение одного месяца не выявили существенных нарушений их структуры. Реакция на введение изучаемого фитоэкстракта в указанной дозировке в сравнении с группой животных, получавших фитоэкстракт в дозе 600 мг/кг, проявлялась более выраженным кровенаполнением органов. В легких увеличились скопления лимфоидных узелков в стенке мелких бронхов. В органах пищеварительной системы (желудок, отделы тонкого и толстого кишечника) усилилась активность лимфоидной ткани, как в фолликулах, так и в собственной пластинке слизистой оболочки.

У животных, получавших изучаемый фитоэкстракт в дозе 300 мг/кг в течение 3 месяцев, в органах пищеварительной системы, дыхательной и кроветворной системы отмечалось увеличение лимфоидной ткани, инфильтрация лимфоцитами стромы органов (Рисунки 9, 10).

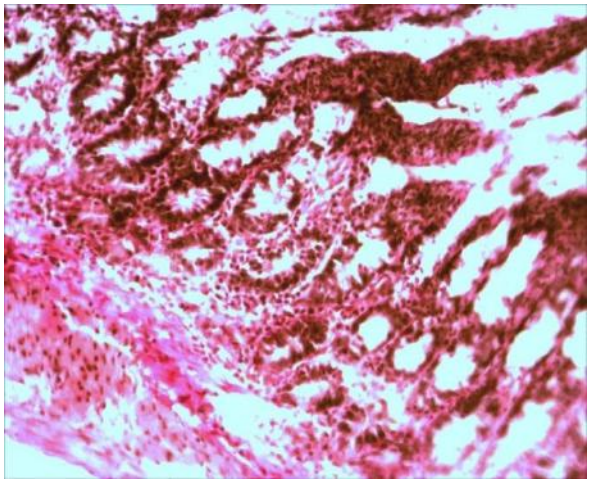


Рисунок 9 - Слизистая оболочка тонкого кишечника интактной крысы. Видны ворсинки и крипты. Окраска: гематоксилин-эозин. Ув. Ок.7. Об.20.

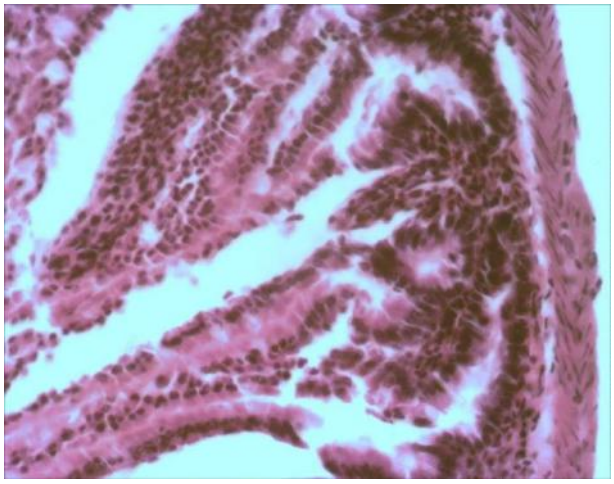


Рисунок 10 - Слизистая оболочка тонкого кишечника крысы опытной группы. Инфильтрация стромы лимфоцитами. Окраска: гематоксилин-эозин.Ув. Ок.7.Об.20.

В селезенке лимфоидные узелки увеличивались в размерах, реактивные центры были раздражены**.** В тимусе граница коркового и мозгового слоев не определялась.

В желудке выявлено утолщение слизистой оболочки, в тонком кишечнике уменьшение глубины крипт и истончение ворсинок (Рисунки 11, 12).

Изучение морфофункционального состояния внутренних органов у животных, которым сухой экстракт Padus Grayanae Maxim вводили в дозе 600 мг/кг в течение 3 месяцев позволило установить, что в исследованных органах патологических изменений не обнаружено. В органах, содержащих лимфоидные фолликулы, наблюдалось увеличение их объема и появление активных реактивных центров.

В органах пищеварительной системы, в желудке было отмечено утолщение слизистой оболочки, а в тонком кишечнике - истончение слизистой. В отделах тонкого и толстого кишечника наблюдалось увеличение лимфоидной ткани и инфильтрация лимфоцитами собственной пластинки слизистой.

В тимусе выявлялась стертая граница слоев. Во всех исследованных органах наблюдалось значительное расширение кровеносных сосудов.

В селезенке отмечались огромные лимфоидные узелки с реактивными центрами, уменьшение площади красной пульпы.

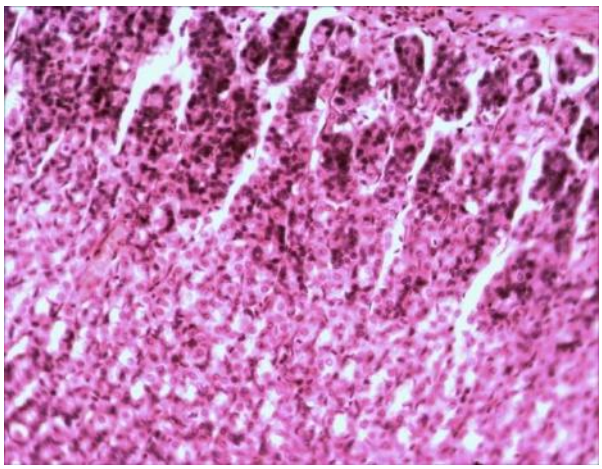


Рисунок 11 - Слизистая оболочка желудка интактной крысы. Окраска: гематоксилин – эозин. Ув. Ок.7. Об.20.

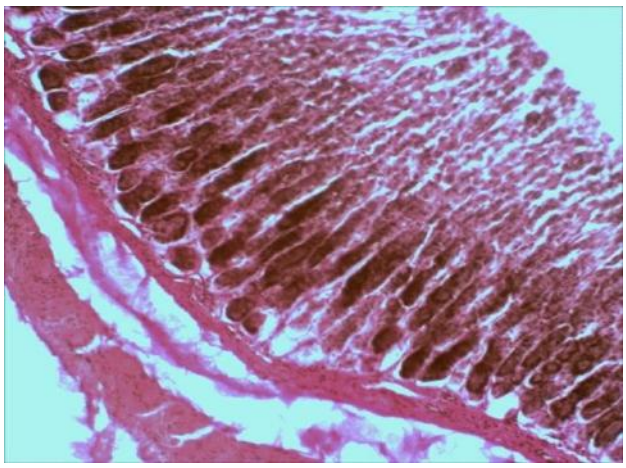


Рисунок 12 - Утолщение слизистой оболочки желудка у крысы опытной группы. Окраска: гематоксилин - эозин. Ув.Ок.7. Об.10.

При микроскопическом исследовании внутренних органов экспериментальных животных, которым вводили сухой экстракт Padus Grayanae Maxim в дозе 900 мг/кг в течение 3 месяцев, показало, что в исследованных органах патологических изменений также не обнаружено.

Как и у животных, получавших изучаемый экстракт в дозах 300 и 600 мг/кг, в органах, содержащих лимфоидные фолликулы, наблюдалось увеличение их площади и появление реактивных центров. Особенно наглядно это было выражено в селезенке (Рисунки 13, 14), лимфоидных фолликулах пищеварительной трубки и в стенке бронхов.

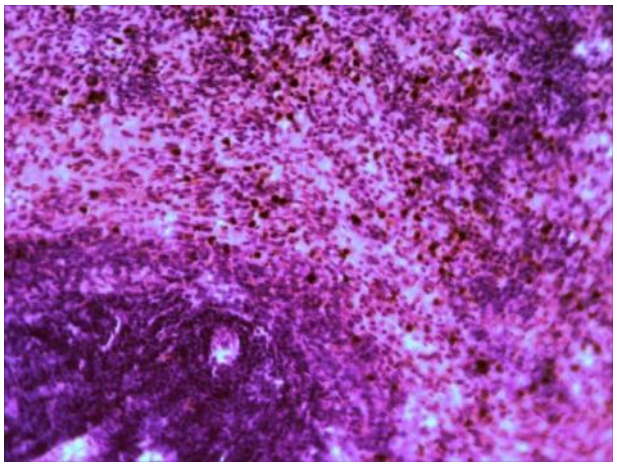


Рисунок 13 - Селезенка интактной крысы. Корковое и мозговое вещество селезенки. Окраска: гематоксилин-эозин. Ув.Ок.7.Об.10.

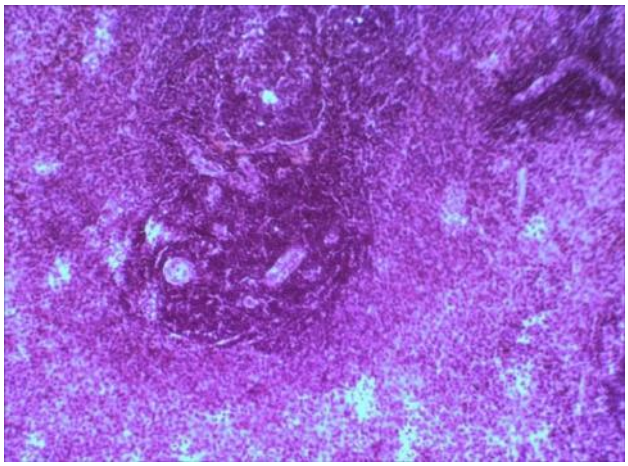


Рисунок 14 - Увеличенные в размерах сливающиеся лимфоидные фолликулы селезенки у крысы опытной группы. Окраска: гематоксилин-эозин. Ув.Ок.7.Об.10.

Кровеносные сосуды во всех изученных органах были значительно расширены и заполнены кровью (Рисунки 15-18).

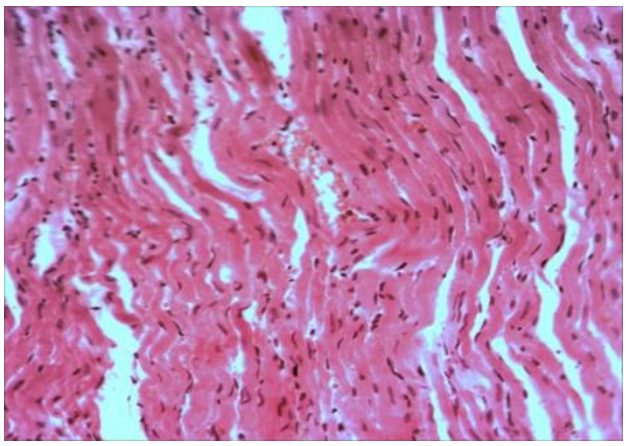


Рисунок 15 - Миокард интактной крысы. Окраска: гематоксилин-эозин. Ув.Ок.7.Об.20.

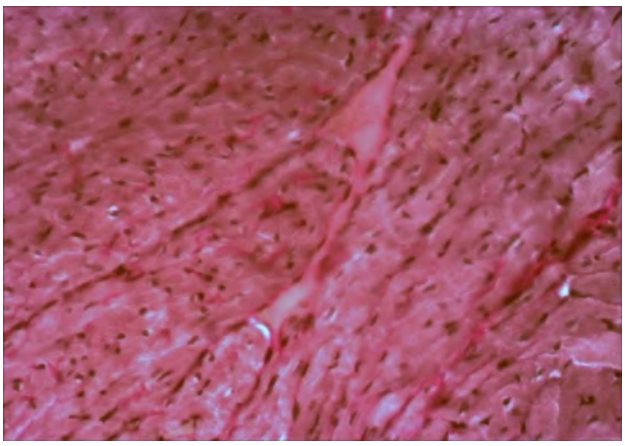


Рисунок 16 - Расширенные сосуды в миокарде сердца крысы опытной группы. Окраска: по Ван Гизон.Ув.Ок.7.Об.20.

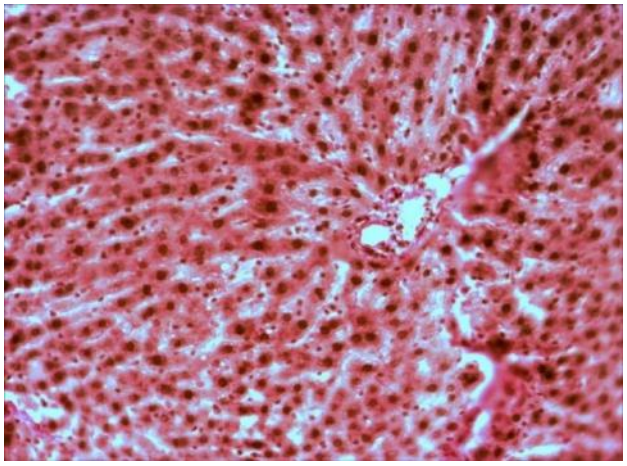


Рисунок 17 - Печень интактной крысы. Видны печеночные перекладины, образованные гепатоцитами, между ними синусоидные капилляры. Окраска: гематоксилин-эозин. Ув. Ок.7.Об.20.

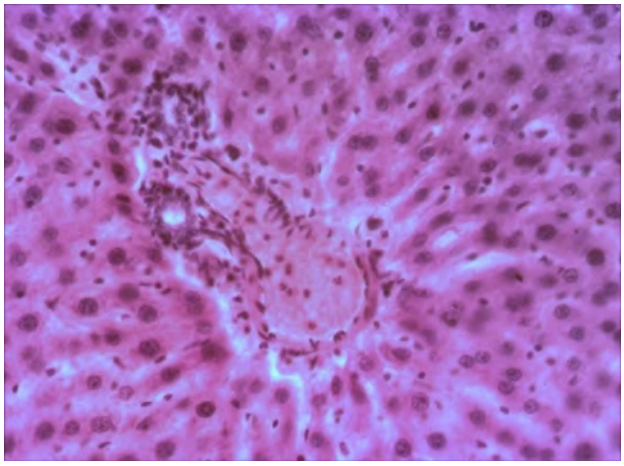


Рисунок 18 - Печень крысы опытной группы. Расширенные сосуды печени, лимфоидная инфильтрация по ходу сосуда. Окраска: гематоксилин-эозин. Ув.Ок.7.Об.40.

ВЫВОДЫ

По результатам гистологических исследований по изучению влияния сухого экстракта *Padus Grayanae* Maxim на морфофункциональное состояние внутренних органов экспериментальных животных можно сделать следующие выводы:

1. Внутрижелудочное введение исследуемого фитоэкстракта в изученных дозировках в течение 1 и 3 месяцев не оказывало местнораздражающего действия на пищевод, желудок и кишечник.
2. Не зарегистрировано развития дистрофических, деструктивных, очаговых склеротических изменений в паренхиматозных клетках и строме внутренних органов при введении сухого экстракта Padus Grayanae Maxim в исследованных дозах.
3. Реакция на введение изучаемого фитоэкстракта проявлялась увеличением кровенаполнения внутренних органов. В органах, содержащих лимфоидные фолликулы, наблюдалось увеличение их площади и появление реактивных центров.
4. При морфологическом исследовании стимулирующее действие изучаемого фитоэкстракта на функцию лимфоидной ткани лучше всего проявилось у животных, получавших его в дозе 600 мг/кг в течение 1 месяца.

5. Результаты экспериментов позволяют предположить наличие иммунотропной активности изученного фитопрепарата.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Самбукова, Т. В. Перспективы использования фитопрепаратов в современной фармакологии / Т. В. Самбукова, Б. В. Овчинников, В. П. Ганопольский и др. // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2017. – Т. 15, № 2. – С. 56-63.
2. Исмаилов, И. З. Разработка и применение иммуномодуляторов на современном этапе: проблемы и перспективы / И. З. Исмаилов, А. З. Зурдинов, Т. С. Сабирова // Науч. журн. – 2017. – № 1 (14). – С. 83-87.
3. Объем мирового рынка фитопрепаратов к 2030 году достигнет $550 млрд. URL:https://pharmprom.ru/obem-mirovogo-rynka-fitopreparatov-k-2030-godu-dostignet-550-mlrd/ (дата обращения 15.04.2021)
4. Селимзянова, Л. Р. Фитотерапия: современное состояние вопроса / Л. Р. Селимзянова, Е. А. Вишнёва, М. В. Федосеенко, Е. А. Промыслова // Педиатр. фармакология. – 2016. – Т. 13, № 5. – С. 488-493.
5. Щулькин, А. В. Современные аспекты фитотерапии / А. В. Щулькин, И. В. Черных, Н. М. Попова, Е. Н. Якушева // Фармация. – 2016. – № 6. – С. 3-6.
6. Монографии ВОЗ о лекарственных растениях, широко используемых в Новых независимых государствах (ННГ). Женева: ВОЗ, 2010. – 240 с. URL: http://apps.who.int/medicinedocs/en/d/Js17534ru/. (дата обращения 10.04.2021)
7. Малышко М.А., Корсун Е.В. Фитотерапия в современной жизни Минска // Современные проблемы фитотерапии и травничества: Материалы 3-го Международного съезда фитотерапевтов и травников. – М., 2013. – С. 169–174.
8. Булаев В.М., Ших Е.В., Сычев Д.А. Безопасность и эффективность лекарственных растений. – М.: Практ. мед., 2013. – 271 с. [
9. Исмаилов, И. З. Способ получения сухого экстракта из надземных частей Padus Grayanae Maxim / И. З. Исмаилов А. З. Зурдинов, Т. С. Сабирова Патент КР № 20170100.1
10. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / под ред. А.Н. Миронова. – М.: Гриф и К, 2012. – Ч. 1. – 944 с.

EFFECT OF PADUS GRAYANAE MAXIM DRY EXTRACT ON THE MORPHOFUNCTIONAL STATE OF THE INTERNAL ORGANS OF EXPERIMENTAL ANIMALS

Associate professor, D.Sc. in Pharmacy Ismailov, I. Z.1, a),
professor, D.Sc. in Medicine Zurdinov A. Z.2,
associate professor, Ph.D. in Medicine Sabirova T. S.3
1 - Institute of chemistry and bicotechnology of the NAS of the Kyrgyz Republic, Kyrgyzstan, Bishkek, Chui Avenue 265, 720071.
2 - Kyrgyz-Russian Slavic University. Kyrgyzstan, Bishkek, Kievskaya str. 44, 720000.
3 - Kyrgyz state medical Academy. Kyrgyzstan, Bishkek, Akhunbaeva str. 92, 720020
a) corresponding author – ism-isa@mail.ru

Abstract. The article presents the results of studying the effect of Padus Grayanae Maxim dry extract on the morphofunctional state of the internal organs of 112 outbred rats weighing 125-200 g. During the study of chronic toxicity. Dry extract of Padus Grayanae Maxim, standardized for the content of biologically active substances-chlorogenic (at least 0.24%) and caffeic (at least 0.025%) acids, was injected into the stomach of rats 1 time a day in the morning 2 hours before meals using an atraumatic probe in doses of 300 mg/kg, 600 mg/kg and 900 mg/kg for 1 and 3 months. After the experiment was completed, the animals were killed by cervical dislocation, the internal organs were fixed in a 10% solution of neutral formalin, and histological preparations stained with hematoxylin-eosin were microscoped. It was found that the administration of the studied phytoextract in the studied dosages for 1 and 3 months did not have a local irritating effect on the gastrointestinal tract, did not lead to the development of dystrophic, destructive, focal sclerotic changes in parenchymal cells and stroma of internal organs. There was an increase in blood filling of internal organs. In organs containing lymphoid follicles, an increase in their area and the appearance of reactive centers was observed, this was best manifested in animals receiving phytoextract at a dose of 600 mg/kg for 1 month.
Keywords: *phytopreparations, Padus Grayanae Maxim dry extract, chronic toxicity, histological examination.*

УДК 615; 616.33; 616.34; 615.243 DOI: 10.52101/9785870191003_2021_563

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ СВОЙСТВ ЭКСТРАКТА ТРАВЫ ДИКОРАСТУЩЕГО ЦИКОРИЯ ОБЫКНОВЕННОГО (*CICHORIUM INTYBUS* L.) *IN VIVO*

к.б.н. Лупанова И.А.[1a)], к.м.н. Ферубко Е.В.[1], Курманова Е.Н.[1], к.фарм.н. Сайбель О.Л.[1], профессор, д.м.н. Николаев С.М.[2]

1 - ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений», Россия, г. Москва, ул. Грина, дом 7, стр. 1, 117216
2 – ФГБУН «Институт общей и экспериментальной биологии» СО РАН, Россия, г. Улан-Удэ, ул. Сахьяновой, д. 6, 670047
а) автор для переписки – lupanova@vilarnii.ru

Аннотация

Цикорий обыкновенный (*Cichorium intybus* L.) - двулетнее или многолетнее травянистое растение семейства Астровые (*Asteraceae*). Согласно данным литературы и нашим исследованиям, экстракты надземной части цикория обыкновенного обладают иммуномодулирующей, гепатопротекторной, противовоспалительной, антиоксидантной активностью. В ФГБНУ ВИЛАР разработан способ получения экстракта из травы дикорастущего цикория обыкновенного. В рамках оценки общих фармакологических свойств данного экстракта проведено изучение его противовоспалительной активности в дозе 100 мг/кг в сравнении с препаратом Калефлоном (100 мг/кг) в условиях опытов *in vivo*. Антиэкссудативная активность субстанции изучена с применением моделей формалинового и каррагенинового отеков, а также пролиферативная активность - с применением модели гранулематозного воспаления. Исследование показало, что экстракт обладает антиэкссудативной активностью, снижая степень экссудации, индуцированную флогогенными агентами, и антипролиферативной активностью. Антиэкссудативное и антипролиферативное действие исследуемой субстанции сопоставимо с действием препарата сравнения. На основании полученных результатов, экстракт травы дикорастущего цикория обыкновенного является перспективным объектом для дальнейшего фармакологического изучения с целью создания на его основе лекарственного средства.

Ключевые слова: экстракт травы дикорастущего цикория обыкновенного (*Cichorium intybus* L.), противовоспалительные свойства, флогогенные агенты, модели острого экссудативного воспаления, модель гранулематозного воспаления.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время для профилактики и лечения различных заболеваний наряду с синтетическими препаратами широко используются лекарственные средства природного происхождения, основную долю которых составляют препараты на основе вторичных метаболитов растений. Востребованность лекарственных растительных препаратов обуславливает поиск новых источников получения фармацевтических субстанций.

Перспективным объектом исследования является цикорий обыкновенный (*Cichorium intybus* L.) - двулетнее или многолетнее травянистое растение семейства Астровые (*Asteraceae*). Сырье данного растения описано в Китайской фармакопее, а также широко применяется в народной и традиционной медицине разных стран. Согласно данным литературы и нашим исследованиям, экстракты надземной части цикория обыкновенного обладают иммуномодулирующей, гепатопротекторной, противовоспалительной, антиоксидантной активностью [1-4], что определяет целесообразность его детального изучения для дальнейшего внедрения в практическую медицину.

В ФГБНУ ВИЛАР разработан и запатентован способ получения сухого экстракта из травы дикорастущего цикория обыкновенного [4]. В рамках оценки общих

фармакологических свойств данного экстракта проведено изучение его противовоспалительной активности.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы

1 - объект исследования - сухой экстракт травы дикорастущего цикория обыкновенного, основными соединениями которого являются вещества фенольного характера (производные гидроксикоричной кислоты, оксикумарины, флавоноиды). Содержание суммы фенольных соединений в пересчете на цикориевую кислоту составляет 8,1±0,37 %

2 - препарат сравнения (ПС) - лекарственный препарат растительного происхождения Калефлон (таблетки, ЗАО «ВИФИТЕХ»), обладающий противовоспалительным действием.

3 – формалин (ООО «ХИММЕД», Россия)

4 - каррагенина (Sigma Aldrich, USA)

Методы

Изучение противовоспалительных свойств объекта исследования проведено в дозе 100 мг/кг.

Все исследования *in vivo* были проведены на крысах *Wistar* обоего пола с исходной массой тела 160-180 г. Объект исследования (сухой экстракт травы дикорастущего цикория обыкновенного) и препарат сравнения (Калефлон) вводили лабораторным животным внутрижелудочно через зонд в дозе 100 мг/кг.

Животные содержались в виварии на стандартном рационе. Перед началом эксперимента животные находились на карантине 14 дней. Доклинические исследования лекарственных препаратов выполняли согласно Решению Совета ЕЭК от 03.11.2016 №81 «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики ЕАЭС», Национальному стандарту Российской Федерации ГОСТ 33044-2014 «Принципы надлежащей лабораторной практики», «Руководству по проведению доклинических исследований лекарственных средств» (2012 г.). Исследования одобрены биоэтической комиссией.

Антиэкссудативную активность экстракта изучали на модели формалинового отека. Животные были разделены на 3 группы: контрольная, опытные I и II. Животные контрольной группы получали *per os* воду очищенную на фоне острого асептического воспаления; животным опытной группы I вводили изучаемый экстракт. Животные II опытной группы получали препарат сравнения. Острую воспалительную реакцию (отек) воспроизводили субплантарным введением в заднюю правую конечность крысы 0,1 мл 2 % водного раствора формалина [5]. Исследуемый экстракт вводили *per os* за 3 часа до введения флогогенного агента, а также через 5 и 18 часов после инициации воспаления животным I и II опытных групп в виде водной взвеси в объеме 10 мл/кг. ПС вводили по аналогичной схеме. Животные контрольной группы в равном объеме и одинаковом режиме получали воду очищенную. Выраженность отека оценивали через 24 часа онкометрическим методом по изменению объема лапы. Оценку антиэкссудативного эффекта проводили по формуле 1:

$$\% \text{ угнетения отёка} = (Рк - Ро) / (Рк \times 100) \quad (1)$$

где Рк – разность масс лапок с отёком и без отёка у животных контрольной группы;

Ро - разность масс лапок с отёком и без отёка у животных опытной группы [5].

Антиэкссудативную активность экстракта изучали на модели каррагенинового отека. Животные были разделены на 3 группы: контрольная, опытные I и II. Животные контрольной группы получали *per os* воду очищенную на фоне острого асептического воспаления; животным опытной группы I вводили экстракт цикория в виде водной взвеси в объеме 10 мл/кг. Животные II опытной группы получали препарат Калефлон по аналогичной схеме. Острое асептическое воспаление воспроизводили путем субплантарного введения в заднюю правую конечность крысы 0,1 мл 1 % раствора каррагенина. Субстанцию цикория вводили животным *per os* в течение 7 дней и за 1 час до введения флогогенного агента; животным контрольной группы – воду очищенную в эквивалентном объеме по аналогичной схеме. Через 3 часа после индукции воспаления оценивали выраженность воспалительной реакции

онкометрическим методом по изменению объема лапы. Оценку антиэкссудативного эффекта проводили по формуле 1.

Пролиферативная активность экстракта изучена на модели гранулематозного воспаления. Крысам, находящимся под эфирным наркозом, в асептических условиях подкожнно в область спины имплантировали стерильный ватный шарик массой 25 мг, после чего рану послойно ушивали [5]. Животные были разделены на 3 группы: контрольная, опытные I и II. Животные контрольной группы получали *per os* воду очищенную на фоне хронического гранулематозного воспаления; животным опытной группы I вводили экстракт цикория в виде водной взвеси в объеме 10 мл/кг. Животные II опытной группы получали ПС Калефлон. На 8-е сутки после операции ватные шарики с образовавшейся вокруг них грануляционной тканью извлекали, взвешивали и высушивали до постоянной массы при 60 °С. Пролиферативную реакцию оценивали по разнице между массой высушенной гранулемы и исходной массой ватного шарика. Экссудативную реакцию оценивали по разнице между массой сырой и высушенной гранулемы. О пролиферативной активности исследуемого экстракта судили по разности масс сухих гранулем животных опытных и контрольной групп.

Для статистической обработки полученных цифровых данных использовали пакет прикладных программ Statistica version 13. Проверку вариационных рядов на нормальность распределения проводили с помощью критерия Колмогорова-Смирнова. Для оценки значимости различий выборок, имеющих нормальное распределение, применяли параметрический t-критерий Стьюдента. Вычисляли среднее значение (M) и стандартную ошибку среднего (m). Различия между сравниваемыми значениями считали достоверными при уровне вероятности 95% и более ($p \leq 0,05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты изучения антиэкссудативной активности субстанции из травы дикорастущего цикория обыкновенного (*Cichorium intybus* L.) с применением модели формалинового отека представлены в Таблице 1.

Таблица 1 – Результаты влияния субстанции цикория на степень экссудации при «формалиновом» отеке у белых крыс

Группы животных, n=10	Изменение объема лапы, мл	Степень угнетения отека, %
Контрольная	0,42±0,020	–
Опытная I	0,24±0,017*	43
Опытная II	0,27±0,018*	34

Примечание – здесь и далее - достоверность различий по сравнению с контролем при $p<0,05$

Результаты исследования показали, что экстракт цикория в дозе 100 мг/кг угнетает отек лапы белых крыс на 43% по сравнению с контролем. У животных, получавших ПС Калефлон, отмечалось снижение величины формалинового отека на 34% по сравнению с таковым показателем в контроле.

Таким образом, введение экстракта цикория в условиях модели формалинового отека оказывает достоверно выраженное противовоспалительное действие.

Результаты влияния исследуемого экстракта на степень экссудации при каррагениновом отеке у белых крыс представлены в Таблице 2.

Таблица 2 – Результаты влияния экстракта цикория на степень экссудации при каррагениновом отеке у белых крыс

Группы животных, n=10	Изменение объема лапы, мл	Степень угнетения отека, %
Контрольная	0,59±0,045	-
Опытная I	0,37±0,036*	37
Опытная II	0,40±0,032*	32

Как видно из результатов, представленных в таблице 2, введение животным экстракта цикория способствовало уменьшению отека на 37% по сравнению с показателем в контрольной группе животных.

Таким образом, в условиях моделей острого экссудативного воспаления установлено, что предварительное введение сухого экстракта травы цикория обыкновенного препятствует развитию формалинового и каррагенинового отеков конечности белых крыс и превосходит противовоспалительный эффект препарата сравнения.

Результаты изучения пролиферативной активности экстракта цикория на модели гранулематозного воспаления представлены в Таблице 3.

Таблица 3 – Результаты влияния экстракта цикория на пролиферативное воспаление у белых крыс

Группы животных, n=10	Масса гранулемы, мг		Расчетная величина массы гранулемы, характеризующая воспаление, мг	
	сырая (M_1)	Высушенная (M_2)	экссудативная фаза (M1-M2)	пролиферативная фаза (M_2-M_0)
Контрольная	1057,6±37,71	194,2± 11,32	863,0	169,2
Опытная I	675,2±41,12*	115,1±10,12*	560,1	90,1
Опытная II	721,3±32,28*	110,1±9,11*	611,2	85,1

Полученные данные показывают, что на 8-е сутки после имплантации под кожу спины крыс ватного шарика вокруг него развивается гранулематозное воспаление.

У животных опытной группы, получавших экстракт цикория в дозе 100 мг/кг, масса сырой гранулемы на 36,3 % была меньше, чем у животных контрольной группы. Использование ПС Калефлон способствовало снижению массы гранулемы на 31,8 % по сравнению с контролем. Таким образом, сухой экстракт травы дикорастущего цикория обыкновенного в условиях пролиферативного воспаления оказывает антиэкссудативное и антипролиферативное действие, сопоставимое с препаратом сравнения.

ВЫВОДЫ

Полученные результаты свидетельствуют о том, что сухой экстракт травы дикорастущего цикория обыкновенного (*Cichorium intybus* L.) обладает антиэкссудативной активностью, снижая степень экссудации, индуцированную флогогенными агентами, и антипролиферативной активностью на модели гранулематозного воспаления.

Наличие противовоспалительных свойств экстракта будет служить дополнительным положительным эффектом к основному фармакологическому действию и расширит возможности применения данного лекарственного средства растительного происхождения в медицине.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Hepatoprotective effect of *Cichorium intybus* L., a traditional Uighur medicine, against carbon tetrachloride-induced hepatic fibrosis in rats. / Guo-Yu Li, Jing-Kai Gu. // World J Gastroenterol. – 2014. – V.20(16). – P. 4753-4760. DOI: 10.3748/wjg.v20.i16.4753
2. Phytochemical Compounds of *Cichorium intybus* by Exploring its Antioxidant and Antidiabetic Activities / Kanj D., Raafat K., El-Lakany A., Baydoun S., Aboul-Ela M. // Pharmacognosy Journal. - 2019. – Vol. 11. – P. 248-257. DOI: 10.5530/pj.2019.11.39
3. J. Hamdard Therapeutic potential of *Cichorium intybus* in lifestyle disorders: a review // Asian J. Pharm Clin Res. - Vol 9(3). - 2016. – P. 20-25.
4. Патент № 2710270 Российская Федерация, МПК A61K 36/28 (2006.01), A61P 37/02 (2006.01), B01D 11/02 (2006.01). Средство, обладающее иммуномодулирующей активностью и способ его получения : №2019125854 : заявл. 16.08.2019 : опубл. 25.12.2019 / Сайбель О.Л., Даргаева Т.Д., Радимич А.И., Дул В.Н., Николаев С.М., Хобракова В.Б., Мизина П.Г., Сидельников Н.И.
5. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / Часть первая / Под ред. А. Н. Миронова. – Москва: Гриф и К, 2012 – 944 с.

EXPERIMENTAL STUDY OF THE ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITY OF THE HERB DRY EXTRACT *CICHORIUM INTYBUS* L.) *IN VIVO*

Ph.D. (Biol.) Lupanova I. A.[1a)], Ph.D. (Med.), Ferubko E. V. [1], Kurmanova E.N.[1], Ph.D. (Pharm.), Saibel O. L.[1], Professor, Doctor of Medicine Nikolaev S. M.[2]

1 – All-Russian Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants, Moscow, Russia

2 – Institute of General and Experimental Biology, Siberian branch of RAS, Ulan-Ude, Russia

a) corresponding author – lupanova@vilarnii.ru

Abstract. In traditional medicine *Cichorium intybus* L. roots are used for diseases of the gallbladder, liver, kidneys, to improve digestion, increase appetite, externally for skin diseases. *Cichorium intybus* L. overground part is used as a means of stimulating the appetite, improving digestion and has the choleretic, astringent, diuretic, anti-inflammatory and antimicrobial effect. It has been developed the method for obtaining an extract from the wild-growing *Cichorium intybus* L. overground part. As part of an in-depth preclinical study of this extract it was studied the antiexudative activity of the dry extract of wild-growing *Cichorium intybus* L. overground part using the formalin and carrageenan edema models and the proliferative activity using the granulomatous inflammation model. The study showed that the *Cichorium intybus* L. extract has antiexudative activity, reducing the degree of exudation induced by phlogogenic agents, and antiproliferative activity in the model of granulomatous inflammation. The antiexudative and antiproliferative effects of the test extract are comparable to the effect of the comparison drug Kaleflon. Based on the results, the dry extract from the wild-growing *Cichorium intybus* L. overground part is a promising object for further pharmacological study to create a herbal medicinal product.

***Keywords*:** *extract of wild-growing Cichorium intybus L. overground part, anti-inflammatory activity, phlogogenic agents, acute exudative inflammation models, granulomatous inflammation model.*

УДК 615.9: 615.322 DOI: 10.52101/9785870191003_2021_568

ВЛИЯНИЕ ЦИКОРИЯ ОБЫКНОВЕННОГО (*CICHORIUM INTYBUS* L.) ЭКСТРАКТА СУХОГО НА ПОСТНАТАЛЬНОЕ РАЗВИТИЕ ПОТОМСТВА КРЫС

к.б.н. Бабенко А. Н.[a)], к.б.н. Крепкова Л. В., к.б.н. Лемясева С. В., Кузина О. С.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений», Россия, Москва, ул. Грина, д.7, стр.1, 117216

а) автор для переписки – babenko@vilarnii.ru

Аннотация. Проведено изучение влияния цикория обыкновенного (*Cichorium intybus* L.) травы экстракта сухого (ЦОТЭС) на потомство крыс в постнатальном периоде развития при введении его в желудок самкам с 6 по 19 день беременности в дозах 100, 500, 1000 мг/кг. Показано, что изучаемый экстракт не влиял на динамику массы тела беременных крыс и выживаемость потомства. Динамика массы тела крысят опытных групп на протяжении первых 3-х недель жизни находилась на уровне контроля. Исключением явилось снижение массы тела крысят IV группы на 4-е сутки постнатального развития, которая в последующие периоды наблюдения восстанавливалась до контрольного показателя. У крысят всех опытных групп наблюдалась задержка физического развития, выражающаяся в замедлении сроков обрастания шерстью и раскрытия глаз по сравнению с контролем. Введение цикория обыкновенного травы экстракта сухого в дозах, превышающих суточную терапевтическую в 5 и 10 раз (500 и 1000 мг/кг) вызывало снижение скорости созревания сенсорно-двигательных рефлексов в тестах «отрицательный геотаксис» и «избегание обрыва». К 30 дню постнатального развития эмоционально-двигательная активность и способность к координации движений крысят в тесте «открытое поле» всех опытных групп находились на уровне контрольных показателей. Лекарственных препараты, содержащие цикория обыкновенного травы экстракт сухой не следует назначать в период беременности.

***Ключевые слова**: цикория обыкновенного (Cichorium intybus* L.*) травы экстракт сухой, крысята, постнатальный период развития*

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время одной из актуальных задач фармацевтической науки в Российской Федерации является создание и внедрение новых лекарственных средств в медицинскую практику, в том числе лекарственных препаратов из растительного сырья. По данным ВОЗ почти 80% населения Земли в пределах организации первичной медико-санитарной помощи применяют в основном препараты растительного происхождения. Особый интерес вызывают иммуномодуляторы растительного происхождения. Они не только эффективно повышают адаптационные возможности организма, но и восстанавливают его нарушенные в процессе частых заболеваний функциональные возможности. Благодаря сочетанию активных компонентов, растительные лекарственные средства способны обеспечивать многоплановое воздействие на организм (иммуностимулирующее, противовоспалительное, антимикробное, противовирусное и др.), что создает условия для комплексного и полифункционального воздействия с лечебной и профилактической целью как на пораженный болезнью орган, так и на весь организм в целом [1,2].

В этом отношении особый интерес представляет цикорий обыкновенный (*Cichorium intybus* L.) − многолетнее травянистое растение семейства астровые (*Asteraceae*), которое широко распространено в умеренном климатическом поясе на территории Европейской части России, а также на Кавказе, Алтае, в Западной Сибири. Цикорий обыкновенный имеет богатую историю применения в народной медицине. В научной литературе широко представлены

материалы по исследованию химического состава, фармакологических свойств и безопасности лекарственных средств, созданных на основе корня этого растения. Фармакологические и токсикологические исследования лекарственных средств на основе травы цикория обыкновенного в настоящее время ограничены. Научные данные о возможности применения таких средств при беременности отсутствуют [2].

Из надземной части цикория обыкновенного (*Cichorium intybus* L.) дикорастущего, заготовленного в Рязанской области в 2019 году в Центре химии и фармацевтической технологии ФГБНУ ВИЛАР получен и стандартизован сухой экстракт. В экспериментах на животных доказана его иммуномодулирующая, антиоксидантная, гепатопротекторная, гипотриглицеридемическая активность, которая обусловлена наличием в его составе следующих веществ: оксикумарины (эскулетин и цикориин); гидроксикоричные кислоты (цикориевая, хлорогеновая, кафтаровая, изохлорогеновая А, кофейная); флавоноиды (изокверцетин, астрагалин и рутин) [3-5]. В ранее проведенных исследованиях было установлено, что сухой экстракт, полученный из надземной части дикорастущего растения является малотоксичным веществом [6].

Целью настоящего исследования являлось изучение развития потомства, родившегося от крыс, получавших цикория обыкновенного травы экстракт сухой во время беременности.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы − эксперименты проведены на крысах *Wistar*, полученных из питомника ФГБНУ ВИЛАР, в соответствии с «Руководством по проведению доклинических исследований лекарственных средств», 2012 г. Цикория обыкновенного травы экстракт сухой (ЦОТЭС) вводили в желудок крысам *Wistar* с 6 по 19 дни беременности в дозах 100, 500 и 1000 мг/кг (II-IV группы, n=11, n=11, n=10), максимальная из которых, в 10 раз превышала суточную терапевтическую. Контролем (I группа, n=14) служили животные, получавшие воду в эквивалентных объемах.

Методы − в течение беременности еженедельно учитывали прирост массы тела беременных крыс, а затем оценивали физическое состояние родившегося потомства с 1-ого по 30-й день жизни. На 1, 4, 7, 14 и 21 сутки учитывали прирост массы тела крысят и их выживаемость. Скорость созревания сенсорно-двигательных рефлексов крысят в период вскармливания оценивали в тестах: на 7-8 дни жизни переворачивание на плоскости, «отрицательный геотаксис», «избегание обрыва», «открытое поле» (30 день). В опытах обследовалось все потомство. Статистическую обработку результатов проводили с помощью программного обеспечения Statistica version 13, используя в качестве единицы наблюдения помет. Для оценки значимости различий применяли t-критерий Стьюдента. Различия между сравниваемыми значениями считали достоверными при уровне вероятности 95 % и более ($p<0,05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Введение цикория обыкновенного травы экстракта сухого в желудок крысам-самкам с 6-го по 19-й день беременности в дозах 100, 500 и 1000 мг/кг не нарушало прирост их массы тела, который к 20 дню беременности соответственно составил 29,9 %, 35,8 % и 31,3 %, по сравнению с 31,8 % в контроле (Рисунок 1).

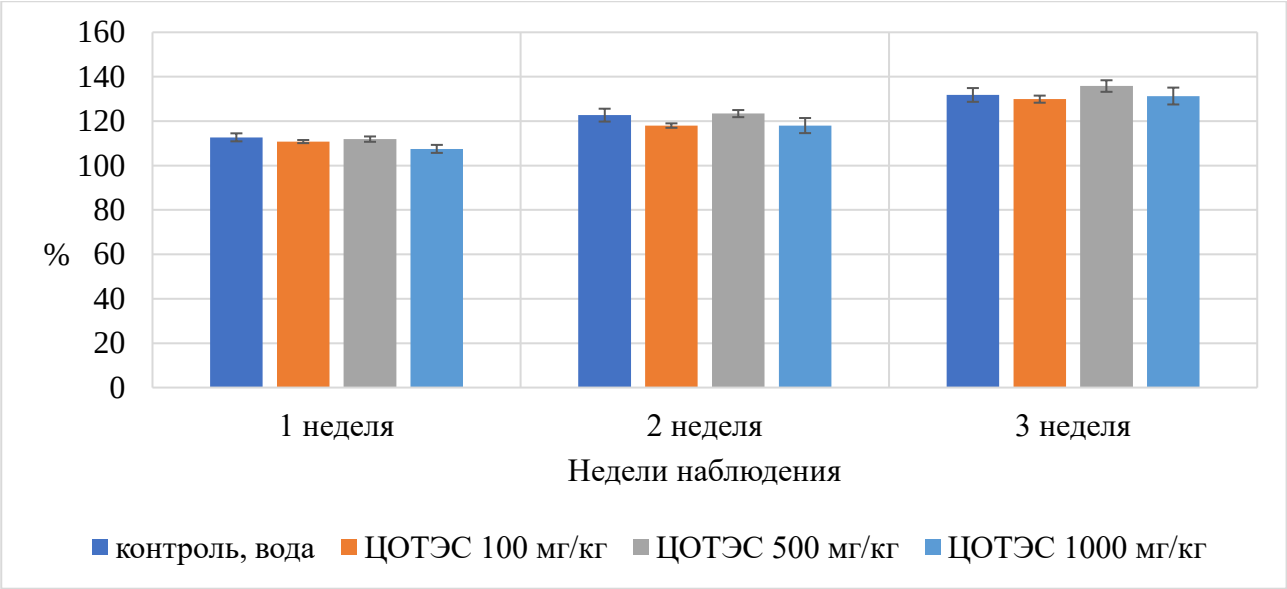


Рисунок 1 – Динамика массы тела беременных крыс (в % к исходной), получавших ЦОТЭС с 1 по 19 дни беременности

Установлено, что в испытанных дозах ЦОТЭС не изменял продолжительность беременности крыс и количество новорожденных крысят в помете, среднее число которых во II-IV группах, соответственно составило – (7,8±0,6); (6,5±0,9); (7,2±0,7) и статистически значимо не отличалось от показателя в контроле – (7,5±0,8). Выживаемость крысят во всех исследуемых группах в течение 21 дня наблюдения составила 100 %. Динамика массы тела подопытных крысят во все сроки исследования (1,4,7,14 и 21-е сутки) также статистически значимо не отличалась от контрольных показателей. Исключением явилось однократное снижение массы тела крысят, получавших во внутриутробном периоде развитии исследуемый экстракт в максимальной испытанной дозе (1000 мг/кг), на 4-е сутки жизни, которое в последующие периоды наблюдения восстанавливалось до контрольного уровня (Рисунок 2).

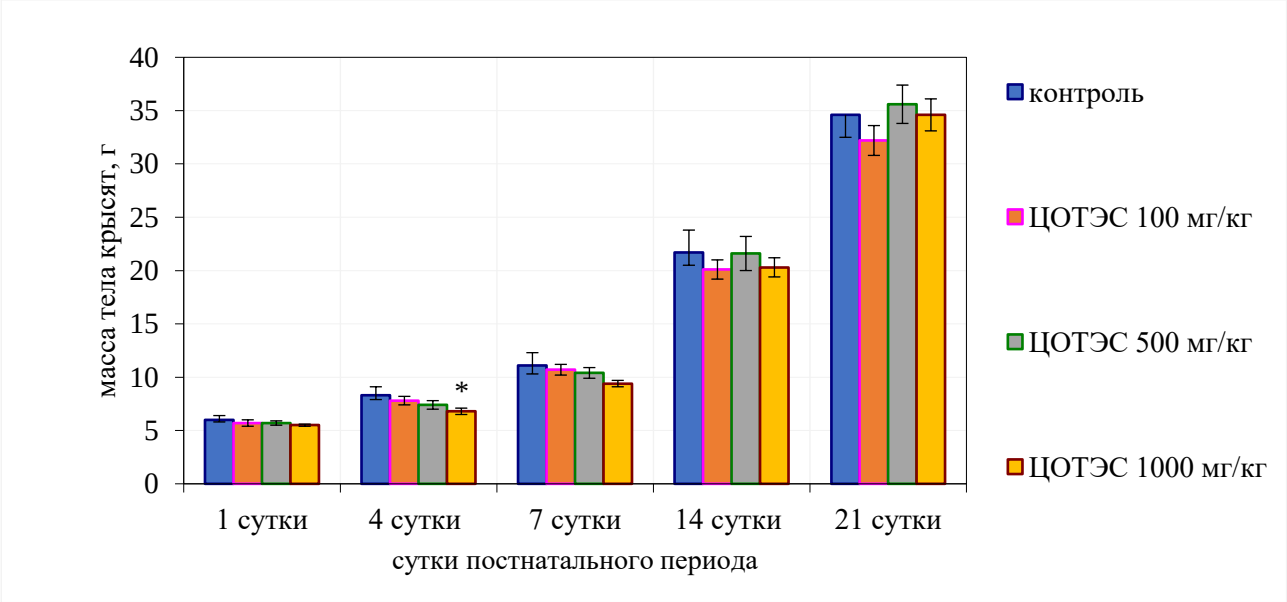


Рисунок 2 – Динамика массы тела крысят (г)
Примечание: - достоверность различий с контролем при p<0,05*

Введение цикория обыкновенного травы экстракта сухого крысам-самкам с 6 по 19 день беременности в дозах 100, 500 и 1000 мг/кг вызывало задержку некоторых показателей

физического развития полученного потомства, по сравнению с контролем. Открытие глаз у всех животных контрольной группы наблюдали в среднем на 15-16 сутки, у 34,3% крысят II-ой, 50% III-ей и 43,1% IV - ой групп − на 18-20 сутки постнатального периода развития. У этих же крысят на 3-ей неделе жизни наблюдали редкий шерстный покров, который в контрольной группе отмечали лишь у 4% потомства. К 6 неделе постнатального периода развития крысята II –IV групп полностью обрастали шерстью.

Отлипание ушных раковин у крысят опытных групп происходило в те же сроки (2-3 день), что и у контрольных.

Исследование формирования у потомства сенсорно-двигательных рефлексов показало, что у крысят, подвергавшихся в период внутриутробного развития действию цикория обыкновенного травы экстракта сухого в дозах 500 и 1000 мг/кг, наблюдали замедление времени выполнения рефлексов «отрицательный геотаксис» и «избегание обрыва» по сравнению с контролем, что может свидетельствовать о возможном нарушении вестибулярной функции и координации движений у крысят. Полученные результаты, по-видимому, являются проявлением седативного действия исследуемого экстракта, которое подтверждено у половозрелых животных в хроническом эксперименте и данными литературы [7]. К 30 дню наблюдения у крысят II - IV групп эмоционально-двигательные реакции и способность к тонкой координации движений в тесте «открытое поле» находились на уровне контроля (Таблица 1).

Таблица 1 - Исследование сенсорно-двигательных рефлексов, эмоционально-двигательных реакций и координации у крысят

Исследуемые показатели		Группы животных, дозы, мг/кг			
		I.Контроль, вода	II.ЦОТЭС 100 мг/кг	III.ЦОТЭС 500 мг/кг	IV.ЦОТЭС 1000 мг/кг
Время избегания обрыва, сек.		6,8±0,8	6,5±0,6	10,5±1,5*	15,2±2,1*
Отрицательный геотаксис (принятие исходного положения), сек.		13,1±1,1	16,1±1,7	20,2 ±2,3*	20,8±1,9*
«Открытое поле»	Двигательная активность (число пересекаемых квадратов) за 3 минуты	43,2±2,9	47,9±3,5	47,5±2,6	45,1±2,9
	«Норковый» рефлекс (количество заглядываний в норку) за 3 минуты	1,85±0,45	2,30±0,44	1,85±37	1,45±0,29
	Груминг	0,75±0,10	1,05±0,15	0,15±0,13	1,00±0,15
	Эмоциональность (количество дефекаций)	1,95±0,41	2,20±0,37	2,00±0,60	1,7±0,50
	Вертикальный компонент (количество стоек) за 3 минуты	0,10±0,10	0,05±0,05	0,60±0,31	0,35±0,22

*Примечание: * - достоверность различий с контролем P<0,05*

Таким образом, введение цикория обыкновенного травы экстракта сухого крысам-самкам с 6 по 19 день беременности в дозах 100, 500 и 1000 мг/кг не влияло на динамику массы тела беременных крыс, продолжительность беременности, количество новорожденных крысят в помете, их массу тела и выживаемость на протяжении первых трех недель жизни. Изучаемый экстракт при введении крысам в течение беременности в дозах, превышающих суточную в 5 и 10 раз, по-видимому проникая через плаценту, вызывал задержку физического развития

крысят, удлиняя сроки открытия глаз и обрастания шерстью, а также формирования сенсорно-двигательных рефлексов на 7-8 сутки постнатального периода развития. К 30 дню жизни показатели эмоционально-двигательных реакций у крысят опытных групп соответствовали контрольным.

ВЫВОДЫ

1. Цикория обыкновенного травы экстракт сухой при введении в течение беременности (с 6 по 19 день) крысам-самкам в дозах 100, 500, 1000 мг/кг вызывал задержку физического развития у полученного потомства (открытие глаз, покрытие шерстью) в ранние сроки постнатального развития, а в 5- и 10–кратных терапевтических дозах (500 и 1000 мг/кг), удлинял время выполнения рефлексов «отрицательный геотаксис» и «избегание обрыва».

2. По завершении подсосного периода показатели физического развития, эмоционально-двигательных реакций и способности к тонкой координации движений у крысят всех опытных групп соответствовали контролю.

3. Лекарственные препараты, созданные на основе цикория обыкновенного травы экстракта сухого, не следует назначать в период беременности.

Исследования выполнены в соответствии с НИР ФГБНУ ВИЛАР по теме: «Проведение доклинических исследований отдельных фракций, субстанций и лекарственных препаратов из лекарственного растительного сырья» шифр АААА-А20-120061890023-8, номер темы FNSZ - 2019-0009.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Авдеева, Е. В. Иммуномодулирующие фитопрепараты: спрос и предложение / Е. В. Авдеева, В. А. Куркин // Ремедиум. Журнал о российском рынке лекарств и медицинской технике. – 2007. - №3. – С.26-28.

2. Janda, K. The Common Cichory (*Cichorium intybus* L.) as a Source of Extracts with Health-Promoting Properties-A Review. K. Janda, I. Gutowska, M. Geszke-Moritz, K. Jakubczyk /Molecules.-2021 Mar 23.-;26(6):1814. doi: 10.3390/molecules26061814.

3. Сайбель, О. Л. Изучение фенольных соединений травы цикория обыкновенного (*Cichorium intubus* L.) / О. Л. Сайбель, Т. Д. Даргаева, К. А. Пупыкина // Башкирский химический журнал. – 2016. - Т.23.-№ 1.- С.53-58.

4. Сайбель, О. Л. Оценка антиоксидантной активности травы цикория обыкновенного (*Cichorium intubus* L.) / О. Л. Сайбель, Т.Д. Даргаева, К. А. Пупыкина, И. В. Петрова, Р. Р. Фархутдинов // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН.– 2017.- Т.2. - № 2(114). - С.85-88.

5. Elgengaihi, S. Hepatoprotective Efficacy of *Cichorium intybus* L. Extract Against Carbon Tetrachloride-induced Liver Damage in Rats /A.T. Mossa, A.A. Refaie, D.J. Aboubaker D. J // Diet Suppl. – 2016.-13(5):570-84. doi: 10.3109/19390211.2016.1144230.

6. Кузина, О. С. Токсичность цикория обыкновенного (*Cichorium intybus* L.) травы экстракта сухого при однократном введении / О.С. Кузина, М.В. Боровкова, С.В. Лемясева, О.Л. Сайбель // Сб. науч. тр. Международ. науч. конф. «От растения до лекарственного препарата» (ФГБНУ ВИЛАР).– Москва, 2020.– С.395-399.

7. Зузук, Б. М. Цикорий дикий (Цикорий обыкновенный) *Cichorium intybus* L. (Аналитический обзор) / Б.М. Зузук, Р.В. Куцик // Провизор. – 2002.- №22.

INFLUENCE OF CHICORY (*CICHORIUM INTYBUS* L.) DRY EXTRACT ON POSTNATAL DEVELOPMENT OF RAT OFFSPRING

PhD in Biology Babenko A. N. [a)], PhD in Biology Krepkova L. V.,
PhD in Biology Lemyaseva S. V., Kuzina O. S.
Federal State Budgetary Scientific Institution "All-Russian research institute of medicinal and aromatic plants", Moscow, Russia, Grina str., h.7, b. 1, 117216
a) corresponding author – babenko@vilarnii.ru

Abstract. The study of the effect of *Cichorium intybus* L. dry extract (DECI) on the offspring of rats in the postnatal period of development when it was introduced into the stomach of females from the 6th to the 19th day of pregnancy in doses of 100, 500, 1000 mg/kg was carried out. It was shown that the studied extract did not affect the dynamics of body weight of pregnant rats and the survival of offspring. The dynamics of the body weight of the experimental group of rats during the first 3 weeks of life was at the control level. The exception was a decrease in the body weight of group IV rats on the 4th day of postnatal development, which in subsequent periods of observation was restored to the control indicator. In all experimental groups of rats, there was a delay in physical development, which is expressed in a slowdown in the timing of overgrowth and eye opening compared to the control. The introduction of chicory dry extract in doses exceeding the daily therapeutic dose by 5 and 10 times (500 and 1000 mg / kg) caused a decrease in the rate of maturation of sensory-motor reflexes in the tests "negative geotaxis" and "cliff avoidance". By the 30th day of postnatal development, the emotional and motor activity and the ability to coordinate the movements of the rat pups in the "open field" test of all experimental groups were at the level of the control indicators. Medications containing chicory dry extract must not be prescribed during pregnancy.
Key words: *Cichorium intybus* L.*, dry herb extract, rat pups, postnatal period of development*

УДК: 615.9:615.322 DOI: 10.52101/9785870191003_2021_574

ИССЛЕДОВАНИЕ ГИПОЛИПИДЕМИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ВИНОГРАДА КУЛЬТУРНОГО (*VITIS VINIFERA* L.) ЛИСТЬЕВ КРАСНЫХ ЭКСТРАКТА СУХОГО

к.б.н. Лемясева С. В.[a)], к.б.н. Крепкова Л. В., к.б.н. Бортникова В. В., к.б.н. Бабенко А. Н., Кузина О. С., к.фарм.н. Дул В. Н.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений», Россия, г. Москва, ул. Грина, дом 7, стр. 1, 117216

а) автор для переписки – lemyaseva.svetlana@yandex.ru

Аннотация. В статье представлены результаты изучения гиполипидемической активности винограда культурного листьев красных экстракта сухого при введении нормолипидным крысам и с экспериментально воспроизведенной гиперлипидемией, вызванной внутрибрюшинным введением Твина-80. Введение Твина-80 вызывало статистически достоверное увеличение содержания ЛПНП, триглицеридов, глюкозы и снижение содержания ЛПВП в сыворотке крови крыс, а также повышение уровня общего холестерина относительно контроля. Исследуемый экстракт в дозе 500 мг/кг и референтный препарат Вазоспонина в дозе 100 мг/кг статистически значимо снижали содержание ЛПНП, триглицеридов и глюкозы в сыворотке крови крыс по сравнению с моделью патологии и восстанавливали исследуемые показатели липидного обмена до уровня контроля. Установлено гипотриглицеридемическое и гипогликемическое действие исследуемого экстракта в дозе 500 мг/кг. Полученные результаты дают основание для дальнейшего изучения винограда культурного листьев красных экстракта сухого на других экспериментальных моделях гиперлипидемии с целью расширения показаний к его клиническому применению.

Ключевые слова: *виноград культурный (Vitis vinifera* L.*), экстракт сухой, модель гиперлипидемии, крысы*

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время отмечается повышенный интерес к растительному сырью, как источнику новых биологически активных компонентов лекарственных средств, а также для получения стандартизованных лекарственных препаратов с доказанной эффективностью и безопасностью. Комплекс биологически активных веществ, содержащихся в растениях, обусловливает широкий спектр их фармакологической активности. Лекарственные растительные препараты вызывают меньше нежелательных побочных реакций и могут применяться длительно в гериатрии и педиатрии.

На протяжении нескольких лет в ФГБНУ ВИЛАР проводились научно-исследовательские работы по созданию отечественного лекарственного средства на основе винограда культурного (*Vitis vinifera L.*) листьев красных, в результате которых был получен экстракт сухой, обладающий венотонизирующим и ангиопротекторным действием, проявляющий низкую токсичность [1-5].

В ранее проведенном эксперименте при 30-дневном введении в желудок кроликам капсул, содержащих сухой экстракт винограда листьев красных, установлено их гиполипидемическое действие [6]. Полученные результаты инициировали новые экспериментальные исследования, целью которых явилось изучение гиполипидемической активности винограда культурного листьев красных экстракта сухого (ВКЛКЭС) на модели экспериментальной гиперлипидемии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы - объектом данного исследования являлся винограда культурного листьев красных экстракт сухой (ВКЛКЭС), полученный в Центре химии и фармацевтической технологии ФГБНУ ВИЛАР, имеющий в составе вещества фенольной природы (флавоноиды, фенолкарбоновые кислоты, танины), ресвератрол, аминокислоты, макро- и микроэлементы, преобладающими по количественному содержанию из которых являются кальций и марганец. Исследуемый экстракт стандартизирован по сумме фенольных соединений в пересчете на рутин, содержание которого не менее 6 % [5].

Изучение гиполипидемической активности ВКЛКЭС проведено на 62 половозрелых клинически здоровых крысах *Wistar* (самцы) согласно «Руководству по проведению доклинических исследований лекарственных средств» (2012) [7] и Правилам лабораторной практики в Российской Федерации в двух сериях экспериментов: на нормолипидных крысах и на модели экспериментальной гипертриглицеридемии. Животные были получены из питомника ФГБНУ ВИЛАР и содержались в контролируемых и стандартных условиях вивария. Эксперименты на животных проводили с соблюдением правовых и этических норм обращения с животными в соответствии с правилами, принятыми Европейской Конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей (Страсбург, 1986). Дизайн эксперимента был рассмотрен и одобрен биоэтической комиссией ФГБНУ ВИЛАР.

В первой серии опытов 30 нормолипидных крыс-самцов с первоначальной массой тела 200-220 г. распределяли на 3 группы по 10 животных в каждой: I - контроль (вода); II - ВКЛКЭС, доза 100 мг/кг; III - ВКЛКЭС, доза 500 мг/кг (соответственно 10- и 50-кратная терапевтические). ВКЛКЭС вводили в желудок крысам в течение 30-ти дней в виде 2 и 5 % водных растворов, приготовленные *ex tempore*. Контрольные животные получали воду в эквивалентных объемах. Во второй серии опытов 32 крыс с первоначальной массой тела 400-500 г. распределяли на 4 группы по 8 животных в каждой: I-ая группа являлась контролем (вода); II-ая группа получала однократно внутрибрюшинно твин -80 в дозе 200 мг/100 г массы тела (модель патологии); животным III-ей группы до введения твина-80 в течение 14 дней вводили в желудок ВКЛКЭС в дозе 500 мг/кг; IV-ая группа до введения твина-80 в течение 14 дней получала в желудок референтный гиполипидемический препарат растительного происхождения Вазоспонин в дозе 100 мг/кг (суточная терапевтическая доза).

Методы - у подопытных животных, предварительно на ночь лишенных корма, брали пробы периферической крови; во второй серии опытов кровь брали через 8 часов после введения твина-80. Исследование биохимических показателей (содержание общего холестерина, глюкозы, липопротеидов высокой плотности, липопротеидов низкой плотности, триглицеридов) сыворотки крови определяли на автоматическом биохимическом анализаторе крови URIT-8030 фирмы Urit Medical Electronic (Китай) с использованием наборов фирмы «Human», Германия.

Статистическую обработку полученных результатов проводили методом вариационной статистики с применением t - критерия Стьюдента. Достоверность различий с контролем считали при $P<0,05$. Статистические данные обрабатывали с помощью лицензионной программы Statistica version 13.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Введение ВКЛКЭС в желудок нормолипидемическим крысам в течение 30 дней (первая серия опытов) дозозависимо снижало содержание триглицеридов в сыворотке крови крыс, статистически значимо − при введении максимальной испытанной дозы, 500 мг/кг. Отмечена также тенденция к снижению уровня общего холестерина и к повышению уровня липопротеидов высокой плотности в сыворотке крови крыс II и III групп относительно контроля (Таблица 1).

Таблица 1 - Показатели липидного обмена нормолипидемических крыс-самцов, получавших ВКЛКЭС в течение 30 дней

Исследуемые показатели			
Общий холестерин, ммоль/л	Липопротеиды высокой плотности, ммоль/л	Липопротеиды низкой плотности, ммоль/л	Триглицериды, ммоль/л
I. Контроль, вода			
1,53±0,06	0,97±0,03	0,43±0,01	0,71±0,07
II. ВКЛКЭС, 100 мг/кг			
1,43±0,06	1,03±0,08	0,41±0,01	0,63±0,07
III. ВКЛКЭС, 500 мг/кг			
1,41±0,04	1,27±0,16	0,40±0,02	0,51±0,06*

*Примечание: * - достоверность различий с контролем (P<0,05)*

Результаты этих исследований послужили основанием для дальнейшего изучения гиполипидемической активности ВКЛКЭС с использованием модели гипертриглицеридемии, индуцированной однократным внутрибрюшинным введением крысам-самцам Твина-80 [7].

Введение Твина-80 вызывало статистически достоверное увеличение содержания ЛПНП, триглицеридов, глюкозы и снижение содержания ЛПВП в сыворотке крови крыс, а также некоторое повышение уровня общего холестерина относительно контроля.

Профилактическое введение ВКЛКЭС в дозе 500 мг/кг и референтного препарата Вазоспонина в дозе 100 мг/кг в желудок крысам в течение 14 дней до введения Твина-80 статистически значимо снижало содержание ЛПНП, триглицеридов и глюкозы в сыворотке крови крыс по сравнению с моделью патологии и восстанавливало исследуемые показатели липидного обмена до уровня контроля. При этом гипотриглицеридемическое действие было более выражено у Вазоспонина, а гипогликемическое – у исследуемого экстракта. Введение ВКЛКЭС и Вазоспонина в испытанных дозах способствовало повышению уровня ЛПВП относительно показателей II группы (модель патологии) до уровня в контроле, при этом статистически значимое повышение исследуемого показателя отмечали у животных III группы (Таблица 2).

Таблица 2 - Показатели липидного и углеводного обменов крыс-самцов, получавших профилактически ВКЛКЭС

Исследуемые показатели				
Общий холестерин, ммоль/л	Липопротеиды высокой плотности, ммоль/л	Липопротеиды низкой плотности, ммоль/л	Триглицериды, ммоль/л	Глюкоза, ммоль/л
I. Контроль, вода				
1,56±0,09	0,73±0,03	0,58±0,04	0,68±0,03	5,23±0,21
II. Твин-80				
1,83±0,10	0,57±0,03*	0,84±0,03*	0,95±0,04*	5,95±0,13*
III. ВКЛКЭС, доза 500 мг/кг				
1,75±0,08	0,72±0,02^{+}	0,61±0,03^{+}	0,73±0,03^{+}	4,76±0,25^{+}
IV. Вазоспонин, 100 мг/кг				
1,62±0,07	0,62±0,03	0,62±0,03^{+}	0,62±0,07^{+}	5,08±0,20^{+}

Примечание: - достоверность различий показателей модели патологии (Твин-80) по сравнению с контрольной группой P<0,05;*

$^{+}$ - достоверность различий показателей опытных групп (III и IV) по сравнению с моделью патологии (Твин-80) P<0,05.

Таким образом, при введении ВКЛКЭС нормолипидемическим крысам и с экспериментально воспроизведенной гиперлипидемией, установлено его гипотриглицеридемическое и гипогликемическое действие в дозе 500 мг/кг. Выявленная активность, по-видимому, обусловлена наличием в исследуемом экстракте полифенолов, которые по данным литературы, проявляют антиоксидантную, гипохолестеринемическую и антидиабетическую активность, а также гепато-, кардио- и нейропротекторные свойства. Лекарственные средства, содержащие полифенолы широко используются в терапии метаболического синдрома, сочетающего гипертонию, диабет, гиперлипидемию, а также сердечно-сосудистые заболевания и инсульт [8,9]. Кроме того, ресвератрол, входящий в состав ВКЛКЭС, в условиях системного введения снижает агрегацию тромбоцитов, индуцированную у кроликов гиперхолестеринемической диетой; уменьшает площадь атеросклероза и размер тромба, вызванного лазерным повреждением эндотелия у мышей с гиперхолестеринемией [10,11].

ВЫВОДЫ

1. ВКЛКЭС проявляет гиполипидемическую активность у нормолипидемических крыс и на модели гипертриглицеридемии.

2. Полученные результаты дают основание для дальнейшего изучения ВКЛКЭС на других экспериментальных моделях гиперлипидемии с целью расширения показаний к его клиническому применению.

Исследования выполнены в соответствии с НИР ФГБНУ ВИЛАР по теме: «Проведение доклинических исследований отдельных фракций, субстанций и лекарственных препаратов из лекарственного растительного сырья» шифр АААА-А20-120061890023-8, номер темы FNSZ - 2019-0009.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Дул, В. Н. Изучение состава фенольных веществ красных листьев винограда культурного (*Vitis vinifera* L.) методом ВЭЖХ / В. Н. Дул, Т. Д. Даргаева, Я. Ф. Копытько, Т. А. Сокольская // Вопросы обеспечения качества лекарственных средств. - 2014. - №3. - С.33-36.

2. Ферубко, Е. В. Исследование биологической активности винограда культурного листьев красных экстрактов сухих с применением специфических ферментных биотест-систем в условиях *in vitro* / Е. В. Ферубко, И. А. Лупанова, В. К. Колхир, Т. А. Сокольская // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. - 2014. - № 10. - С. 23–26.

3. Бабенко, А. Н. Экспериментальное токсикологическое изучение сухого экстракта красных листьев винограда культурного (*Vitis vinifera* L.) / А. Н. Бабенко, О. П. Дмитриева, А. А. Дыдыкина // Материалы VII Всероссийской научно-практической конференции «Беликовские чтения». - Пятигорск, 2019. - С.3-11.

4. Бабенко, А. Н. Доклиническое изучение лекарственного средства, созданного на основе винограда листьев красных / А. Н. Бабенко, М. В. Боровкова, О. С. Кузина // Сб. тезисов докладов V Междисциплинарной конференции «Молекулярные и биологические аспекты химии, фармацевтики и фармакологии». - Судак, Крым, РФ. - 15-18 сентября 2019. - С.7.

5. Дул, В. Н. Виноград культурный – *Vitis vinifera* L. Новый источник макро- и микроэлементов // Вестник ВГУ, серия: география, геоэкология. – 2010. - №2 – С. 76-78.

6. Крепкова, Л. В. Доклиническое изучение безопасности капсул, созданных на основе винограда листьев красных экстракта сухого / Л. В. Крепкова, В. В. Бортникова, О. С. Кузина, М. В. Боровкова, М. А. Джавахян // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2018.– №11. – С.45-50.

7. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. – М.: Гриф и К., –2012. – с. 445-452.

8. Тараховский, Ю. С. Флавоноиды: биохимия, биофизика, медицина / Ю. С. Тараховский, Ю. А. Ким, Б. С. Абдрасилов, Е. Н. Музафаров [отв. ред. Е.И. Маевский]. - Пущино: Synchrobook, 2013. - 310 с.
9. Барабой, В. А. Фенольные соединения виноградной лозы: структура, антиоксидантная активность, применение / В. А. Барабой // Biotechnologia Acta. – 2009. - Т. 2 № 2.− С. 67−69.
10. Моисеева, А. М. Фитоалексин ресвератрол: методы определения, механизмы действия, перспективы клинического применения / А. М. Моисеева, Н. В. Железняк, А. Г. Генералова, Д. В. Моисеев // Вестник фармации. - 2012. - № 1(55). - С. 63−73.
11. Johnson, W. D. Subchronic oral toxicity and cardiovascular safety pharmacology studies of resveratrol, a naturally occurring polyphenol with cancer pre-ventive activity / W. D. Johnson, R. L. Morrissey, A. L. Usborne, I. Kapetanovic, J. A. Crowell, M. Muzzio, D. L. McCormick // Food Chem Toxicol. - 2011. - V. 49. - № 12. - P. 3319−3327.

STUDY OF HYPOLIPIDEMIC ACTIVITY THE DRY EXTRACT OF RED LEAVES CULTIVATED *VITIS VINIFERA* L.

Ph.D. in Biology Lemyaseva S. V.[a)], Ph.D. in Biology Krepkova L. V.,
Ph.D. in Biology Bortnikova V. V., Ph.D. in Biology Babenko A. N., Kuzina O. S.,
Ph.D. in Pharmacy Dul V. N.
Federal State Budgetary Scientific Institution «All-Russian Scientific Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants», Moscow, Grin str. 7 b.1, 117216
a) corresponding author – lemyaseva.svetlana@yandex.ru

Abstract. The article presents the results of studying the hypolipidemic activity of the dry extract of red leaves *Vitis vinifera* L. when administered to normolipid rats and experimentally reproduced hyperlipidemia caused by intraperitoneal administration of Tween-80. The introduction of Tween-80 caused a statistically significant increase in the content of LDL, triglycerides, glucose and a decrease in the content of HDL in the serum of rats, as well as an increase in the level of total cholesterol relative to the control. The studied extract at a dose of 500 mg / kg and the reference preparation Vasosponin at a dose of 100 mg / kg statistically significantly reduced the content of LDL, triglycerides and glucose in the blood serum of rats in comparison with the pathology model and restored the studied parameters of lipid metabolism to the control level. Its hypotriglyceridemic and hypoglycemic effect was established of the investigated extract at a dose of 500 mg / kg. The results obtained provide a basis for further study of the dry extract on other experimental models of hypercholesterolemia in order to expand the indications for its clinical use.
Key words: *Vitis vinifera* L., *dry extract, model of hyperlipidemia, rats*

УДК: 615.242 DOI: 10.52101/9785870191003_2021_579

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ НА СОСТОЯНИЕ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ПОЛОСТИ РТА

Руда О. Р.[a)]

Российский Университет Дружбы Народов, Медицинский институт кафедра пропедевтики стоматологических заболеваний, Россия, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, 6, 117198

а) автор для переписки – oxaruda@yandex.ru

Аннотация. В настоящее время применение лекарственных средств растительного происхождения положительно влияет на стоматологическое здоровье пациентов, способствуя улучшению состояния полости рта. Средства, полученные из лекарственных растений, имеют ряд преимуществ: меньшая токсичность, более редкое проявление аллергических реакций, а также хорошая переносимость пациентами независимо от возраста. В ходе проведенного исследования были получены результаты динамического наблюдения за состоянием слизистой оболочки, а также уровня гигиены полости рта среди обследуемых молодого, среднего и пожилого возраста. Спустя 6 месяцев после регулярного применения основных и дополнительных средств индивидуальной гигиены полости рта, содержащих лекарственные вещества растительного происхождения, наблюдается снижение количества образования зубного налёта, а также снижение уровня кровоточивости дёсен. Проведение санитарно-профилактических мероприятий, информирование и мотивация пациента к следованию рекомендациям специалиста способствуют улучшению клинической ситуации, а также снижает вероятность развития таких стоматологических заболеваний как гингивит и пародонтит.

Ключевые слова: *лекарственные растения, стоматология, профилактика, гингивит, пародонтит.*

ВВЕДЕНИЕ

Мониторинг стоматологического здоровья является важной составляющей комплекса профилактических мероприятий [1]. Своевременное лечение лёгких форм стоматологических заболеваний, а также предупреждение развитие патологии не только твёрдых тканей зубов, но и слизистой оболочки ротовой полости на ранних этапах способствует предотвращению осложнений.

Актуальность:

Своевременное информирование пациентов о необходимости использования препаратов, имеющих в своём составе лекарственные средства растительного происхождения для лечения, профилактики и предотвращения дальнейшего развития патологии слизистой оболочки полости рта воспалительного характера имеет большое значение для благоприятного прогноза состояния стоматологического здоровья в будущем[2,3].

Актуальность также обуславливается большим количеством исследований в источниках научной литературы, посвящённых изучению воздействия лекарственных растительных средств на слизистую оболочку ротовой полости [4].

Применение препарата «Фармадонт», разработанного в НИЦ ММА им. И.М. Сеченова и имеющего в составе экстракты алоэ настоящего (*Aloe vera* L.)., зверобоя продырявленного (*Hypericum perforatum* L.), подорожника большого (*Plantago major* L.), ромашки аптечной (*Matricaria chamomilla* L.,), валерианы лекарственной (*Valeriana officinalis* L.) и арники горной (*Arnica montana* L.) Прямоугольные коллагеновые пластины, пропитанные экстрактами лекарственных растений способствуют повышению эффективности местного лечения и

профилактики воспаления дёсен, являясь неотъемлемой частью этиопатогенетической терапии заболеваний пародонта [5].

Такое лекарственное растение, как алое настоящее (*Aloe vera* L.), обладает противовоспалительными, антимикробными, противодиабетическими и иммуностимулирующими свойствами. Например, для профилактики кариеса зубов и заболеваний пародонта используется гель, который содержит оптимальную концентрацию алоэ вера. Экстракт алое настоящего имеет в своём составе фолиевую кислоту, каротины, холин, K, Ca, Mg, Zn, Cu, данные химические составляющие способствуют поддержанию здорового состояния слизистой оболочки ротовой полости [6].

Лекарственные средства растительного происхождения успешно применяются в стоматологической практике в России и за рубежом. Это связано с их комплексным воздействием на ткани пародонта при лечении воспалительно-деструктивных заболеваний. Большое значение имеет доступность этих средств, простота применения и отсутствие побочных эффектов. Экстракты ромашки аптечной (*Matricaria chamomilla* L.,), зверобоя продырявленного (*Hypericum perforatum* L.), мяты перечной (*Mentha piperita L.*), эхинацеи пурпурной (*Echinacea purpurea* L.) и многих других лекарственных растений нашли широкое применение в стоматологии [7].

Цель: изучение действия лекарственных средств растительного происхождения, входящих в состав зубных паст и дополнительных средств гигиены, на состояние слизистой оболочки полости рта среди обследуемых пациентов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ:

Материалы

На базе кафедры пропедевтики стоматологических заболеваний МИ РУДН в условиях стоматологического кабинета обследовано 60 пациентов. Возраст пациентов, принявших участие в исследовании составил 18 - 74 года.

Обследуемые разделены по группам согласно классификации Всемирной Организации Здравоохранения (ВОЗ): 20 человек молодого возраста (18–44), 20 человек среднего возраста (45-59) и 20 человек пожилого возраста (60-74).

Пациентами было дано добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

Методы

1. Стоматологическое обследование пациентов с применением индексной оценки.

В ходе первого этапа стоматологического осмотра фиксировались показатели индекса гигиены полости рта OHI-S ((J.C.Green, J.R.Vermillion,1964), а также индекса PMA (папиллярно-маргинально-альвеолярный индекс), характеризующего состояние слизистой оболочки дёсен.

Определение показателей индекса OHI-S было осуществлено следующим образом: в ходе исследования вестибулярных (11,16,26,31) и оральных (36,46) поверхностей зубов отмечалось наличие зубного налёта и зубного камня. Показатели подсчитывались согласно интерпретации: 0-нет налета/камня; 1-налет/наддесневой зубной камень покрывает не более 1/3 поверхности зуба; 2-налет/наддесневой зубной камень покрывает менее 2/3 поверхности зуба; 3-налет/наддесневой зубной камень покрывает 2/3 поверхности зуба.

Индекс зубного налёта (ИЗН)/ наддесневого зубного камня (ИЗК) = (сумма показателей каждого зуба)/(6).

Упрощённый индекс гигиены (УИГ) = ИЗН + ИЗК. Значения: 0-0,6 – хороший; 0,7-1,6 – средний; 1,7 – 2,5 плохой; >2,6 – очень плохой уровень гигиены.

С помощью паппилярно-маргинально-альвеолярного индекса (PMA) определялся уровень тяжести гингивита среди обследуемых. Была произведена оценка состояния слизистой оболочки десен в области всех зубов и подсчитана по формуле: PMA= (сумма полученных показателей (бааллы)/(3 х число зубов обследуемого)х 100%. Критерии оценки:

0-отсутствие воспаления; 1- воспаление сосочка; 2-воспаление сосочка и края десны; 3-воспаление маргинальной и альвеолярной десны. Значения: <30% – легкая степень тяжести гингивита; 31-60% – средняя степень тяжести; >61% – тяжелая степень [8].

Через 6 месяцев проведено повторное обследование для наблюдения ситуации в динамике.

2. Анкетирование. Пациентам было предложено ответить на вопросы о частоте применения лекарственных средств растительного происхождения для поддержания стоматологического здоровья, а также об изменении состояния слизистой оболочки полости рта в течение последних 6 месяцев : «Улучшилось ли состояние слизистой оболочки полости рта после рекомендации использовать лекарственные средства растительного происхождения во время чистки зубов?», «Отмечается ли уменьшение кровоточивости дёсен спустя 6 месяцев после начала исследования?». Полученная информация была обработана методом статистического анализа.

3. Санитарно-просветительская работа.

Важная особенность первого этапа исследования - информирование пациентов о необходимости использования дополнительных средств гигиены, содержащих лекарственные средства растительного происхождения, во время чистки зубов.

Во втором этапе исследования осмотр каждого пациента завершался проведением профилактической беседы, содержащей информацию о стоматологическом здоровье согласно клинической ситуации каждого обследуемого, а также разъяснением возникших в ходе лечения вопросов.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

По результатам проведенных осмотров наблюдается ряд изменений показателей индексной оценки в начале исследования (I этап) и через 6 месяцев (II). Данные динамики показателей индексов отражены в таблице 1.

Таблица 1 – Показатели индексов OHI-S и PMA в группах обследуемых молодого, среднего и пожилого возраста

Возраст	Молодой		Средний		Пожилой	
Этап	I	II	I	II	I	II
Индекс OHI-S	0,8 баллов	0,7 баллов	2 балла	1,5 балла	2,3 балла	1,7 баллов
Индекс PMA	40%	35%	45 %	40 %	56 %	56 %

Спустя 6 месяцев после проведённой санитарно-просветительской работы, а также рекомендаций по применению дополнительных средств гигиены полости рта, содержащих лекарственные средства растительного происхождения, наблюдается снижение показателя индекса OHI-S, что свидетельствует о меньшем количестве образования зубного налёта в группах обследуемых. Наибольший прогресс наблюдается среди пациентов группы пожилого возраста (на 0,6 баллов).

Наблюдается снижение уровня кровоточивости дёсен среди пациентов молодого (35%) и среднего (40%) возраста. В группе пациентов пожилого возраста значение индекса PMA осталось на прежнем уровне и составило 56% Отсутствие динамики данного показателя среди пациентов пожилого возраста объясняется наличием возрастных изменений в тканях пародонта, таких как истончение эпителиального слоя клеток, снижение ороговения, а также потеря эластичности [9].

2. Анкетирование.

По результатам проведённого первого этапа анкетирования, только 28 % (17 человек) из всех опрошенных использовали зубную пасту, содержащую лекарственные средства растительного происхождения. Тип данного средства индивидуальной гигиены имеет в

составе экстракты таких лекарственных растений, как календула лекарственная (*Calendula officinalis* L.), ромашка аптечная (*Chamomilla matricaria* L.), дуб черешчатый (*Quercus robur* L.). 20 % (12 человек) участников исследования не были осведомлены о положительном влиянии лекарственных средств растительного происхождения в составе индивидуальных средств гигиены на слизистую оболочку ротовой полости.

В ходе анкетирования через 6 месяцев после начала исследования 85 % (51 человек) опрошенных пациентов групп молодого, среднего и пожилого возраста отметили улучшение состояния слизистой оболочки полости рта после рекомендации использовать лекарственные средства растительного происхождения во время чистки зубов. Данные представлены на рисунке 1.

Рисунок 1 - Результаты опроса о состоянии слизистой оболочки полости рта пациентов всех возрастных групп спустя 6 месяцев после начала исследования

При этом 80 % (48 человек) отметили снижение степени кровоточивости дёсен спустя полгода после начала исследования. Данные представлены на рисунке 2.

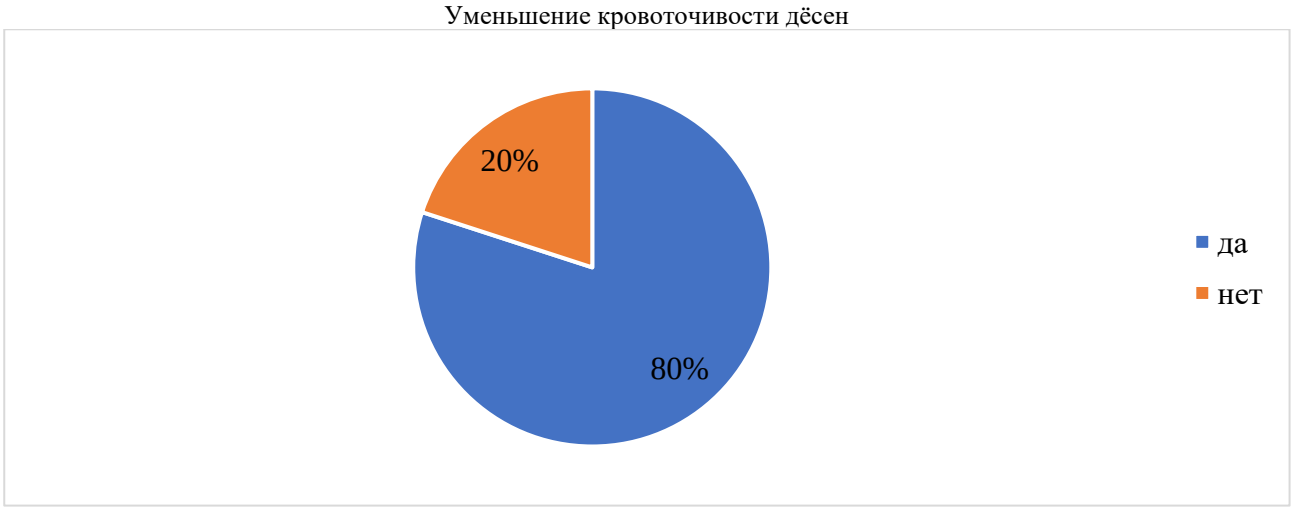


Рисунок 2 – Данные о наличии кровоточивости дёсен среди обследуемых групп молодого, среднего и пожилого возраста

Наблюдается положительная динамика состояния слизистой оболочки полости рта во втором этапе исследования.

3. В ходе профилактической беседы, сопровождающей каждый визит пациента, даны рекомендации, содержащие полезные советы о правильных методиках рациональной гигиены полости рта, а также использования дополнительных средств гигиены.

ВЫВОДЫ

1. Спустя 6 месяцев после начала исследования при использовании лекарственных средств растительного происхождения во время индивидуальной гигиены полости рта наблюдается улучшение показателей уровня гигиены полости рта в группах молодого, среднего и пожилого возраста группах, а также снижение уровня кровоточивости в группах среднего и молодого возраста.

2. Применение основных и дополнительных стоматологических средств гигиены, содержащих лекарственные средства растительного происхождения, влияет на улучшение состояния слизистой оболочки полости рта.

3. В процессе лечения необходимо уделять большое внимание мотивации пациента, а также разъяснению важности производимых манипуляций. Санитарно-профилактическая работа способствует повышению мотивации пациента следовать рекомендациям врача-стоматолога.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Razumova, S. N. Dental propaedeutics: cariology. Definitions.Classifications. Instruments. Principles of treatment / V. S. Bulgakov, E. V. Velichko, M. M. Kurashov, A. S. Brago, A. S. Manvelyan, K. V. Sudarenko, R. M. Bragunova, L. M. Khaskhanova, Y. S. Kozlova, N. M. Razumov, S. N. Tikhonova, O. I. Volovikov, A. D. Fomina // Москва: РУДН, 2019.-92.

2. Разумова, С.Н. Современные методы профилактики стоматологических заболеваний / А. С. Браго, Л. М. Хасханова, С. Н. Тихонова, Байт Саид О. // Медицинский Алфавит, 2018. - Т.3. - №24 – С.69.

3. Razumova, S.N., Prevalence of dental caries and gingivitis among 1st and 2nd year dental students / E.V. Velichko, S. N. Tikhonova, D. V. Serebrov, Yu. L. Vasiliev, E. V. Ivanova // Indo American Journal of Pharmaceutical Sciences. 2018 Т. 5 № 9 С. 9270-9274

4. Абдурахманова, С. А. Обзор современных фитопрепаратов, применяемых в лечении воспалительных заболеваний пародонта / С. А. Абдурахманова, Г. С. Рунова // Российская стоматология. – 2018. – Т. 11. – № 4. – С. 37-41. – DOI 10.17116/rosstomat20181104137

5. Тимошин, А. В. Опыт использования коллагеновых фитопластин при лечении катаральных форм гингивита / А. В. Тимошин, А. В. Севбитов, В. В. Платонова // Журнал научных статей Здоровье и образование в XXI веке. – 2019. – Т. 21. – № 6. – С. 77-81. – DOI 10.26787/nydha-2226-7425-2019-21-6-77-81.

6. Fani M, Kohanteb J. Inhibitory activity of Aloe vera gel on some clinically isolated cariogenic and periodontopathic bacteria. / J Oral Sci. 2012;54(1):15-12. https://doi.org/10.2334/josnusd.54.15

7. Руманова, А. И. Возможности применения лекарственных растительных препаратов для местного лечения воспалительно-деструктивных заболеваний пародонта и слизистой оболочки рта / М. О. Нагаева, А. Р. Мамедханова, Е. П. Качко // Университетская медицина Урала. – 2017. – Т. 3. – № 2(9). – С. 85-89..

8. Боровский Е.В. Терапевтическая стоматология / Иванов В.С., Банченко Г.В., Вагнер В.Д. – М.: «Медицинское информационное агенство», 2004. – С. 125.

9. Юшманова Т.Н., Особенности стоматологического статуса и лечение заболеваний полости рта у лиц пожилого возраста / Давыдова Н.Г., Скрипова Н.В., Драчев С. // Экология человека. – 2007. – № 9. – С. 12-17.

STUDY OF THE EFFECT OF HERBAL MEDICINES ON THE CONDITION OF THE ORAL MUCOSA

Ruda O. R.

RUDN University , Medical Institute, Department of propaedeutics of dental diseases, Russia , Moscow , Mikluho-Maklaya street , 6, 117198

a) corresponding author – oxaruda@yandex.ru

Abstract. Currently, the use of herbal medicines has a positive effect on the level of dental health of patients. Products derived from medicinal plants have several advantages: lower toxicity, rarer manifestation of allergic reactions, as well as good tolerance to patients regardless of age. During the study, the results of dynamic monitoring of the state of the mucous membrane, as well as the level of oral hygiene among young, middle-aged and elderly subjects were obtained. After 6 months after regular use of basic and additional personal hygiene products of the oral cavity containing medicinal substances of plant origin, there is a decrease in the amount of plaque formation, as well as a decrease in the level of bleeding gums. Carrying out sanitary and preventive measures, informing and motivating the patient to follow the recommendations of a specialist contribute to improving the clinical situation.

Keywords: *medicinal plants, dentistry, prevention, gingivitis, periodontitis.*

УДК: 615.9:615.322 DOI: 10.52101/9785870191003_2021_585

ТОКСИЧНОСТЬ ЦИКОРИЯ ОБЫКНОВЕННОГО (*CICHORIUM INTYBUS* L.) КУЛЬТИВИРУЕМОГО ТРАВЫ ЭКСТРАКТА СУХОГО НА ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ РАЗНОГО ВОЗРАСТА

Кузина О. С.[a)], Боровкова М. В., к.б.н. Бабенко А. Н., к. фарм.н. Сайбель О. Л., к.б.н. Крепкова Л. В.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений», Россия, г. Москва, ул. Грина, дом 7, стр. 1, 117216

а) автор для переписки – oskt@list.ru

Аннотация. В статье приведены результаты изучения «острой» токсичности цикория обыкновенного (*Cichorium intybus* L.) культивируемого травы экстракта сухого, с содержанием суммы фенольных соединений 11%, на лабораторных животных разного вида и возраста. Установлено, что изучаемый экстракт при однократном введении лабораторным животным, как в желудок, так и внутрибрюшинно, является малотоксичным веществом. $ЛД_{50}$ при внутрижелудочном введении экстракта мышам и крысам обоего пола составила более 16000 мг/кг, а при парентеральном введении − 7094− 9465 мг/кг. Стареющие животные (12-месячные мыши и крысы) в 1,4-1,6 раза оказались более чувствительны к действию цикория обыкновенного культивируемого травы экстракта сухого по сравнению с молодыми половозрелыми животными. Полулетальная доза (7174±345) мг/кг исследуемого экстракта для неполовозрелых животных (3-недельные крысята) находилась на уровне аналогичных показателей у молодых половозрелых животных (7094−7901 мг/кг). При назначении лекарственных препаратов, содержащих цикория обыкновенного культивируемого травы экстракт сухой, пациентам пожилого возраста необходимо учитывать их большую чувствительность.

Ключевые слова: *Cichorium intybus* L. *культивируемый, экстракт сухой, крысы и мыши разного возраста, острая токсичность,* $ЛД_{50}$

ВВЕДЕНИЕ

Лекарственные растения и созданные на их основе лекарственные средства широко используются современной медициной в составе комплексной терапии для лечения самых различных заболеваний. Цикорий обыкновенный (*Cichorium intybus* L.), обладая богатым составом биологически активных веществ и большой сырьевой базой, является перспективным растением для создания новых лекарственных средств. Корни и надземная часть цикория содержат: флавоноиды, кумарины, гидроксикоричные кислоты, макро- и микроэлементы, витамины. Сухой экстракт, полученный из надземной части дикорастущего растения, является малотоксичным веществом [1].

Использование дикой и культурной форм цикория в качестве лекарственного и пищевого растения известно со времен Древнего Рима и Египта. В России цикорий обыкновенный начали культивировать с конца 18 века в Ярославской губернии в основном для нужд кофе-цикорного производства, а с начала 20 века корневой цикорий использовался также как ценное сырье для производства спирта [2]. В настоящее время корни культивируемого растения используются для нужд пищевой промышленности, а его надземная часть может служить источником получения биологически активных веществ [3].

Фенольный комплекс травы культивируемого цикория сходен по составу вторичных метаболитов с дикорастущим растением, но в нем преобладают гидроксикоричные кислоты и практически отсутствую оксикумарины: эскулетин и цикориин. В траве цикория обыкновенного культивируемого подтверждено присутствие кафтаровой, хлорогеновой, изохлорогеновой А и цикориевой кислот, а также изокверцетина. Доминирующим

соединением среди вторичных метаболитов растения, является цикориевая кислота, которая обладает гипогликемической активностью, проявляет гепатопротекторное и противовирусное действие. Для водных извлечений из травы культивируемого цикория на животных подтверждена антиоксидантная активность [4,5].

В Центре химии и фармацевтической технологии ФГБНУ ВИЛАР из травы культивируемого цикория обыкновенного (*Cichorium intybus* L.) получен экстракт сухой для создания на его основе нового лекарственного средства.

Одним из требований по проведению доклинических исследований новых лекарственных средств является оценка токсичности изучаемого вещества при однократном введении лабораторным животным. Целью данной работы было изучение «острой» токсичности цикория обыкновенного культивируемого травы экстракта сухого на лабораторных животных разного вида и возраста для определения его токсикологической характеристики.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы − цикория обыкновенного (*Cichorium intybus* L.) культивируемого травы экстракт сухой, содержащий сумму фенольных соединений 11% в пересчете на цикориевую кислоту [6].

Изучение «острой» токсичности выполнено на двух видах лабораторных животных разного возраста, полученных из питомника ФГБНУ ВИЛАР: 60 мышах линии *BALB/c* (половозрелые самцы и самки с массой тела 18-20 г - возраст 3 месяца; самцы с массой тела 45-50 г - возраст 12 месяцев) и на 86 крысах *Wistar* (половозрелые самцы и самки с массой тела 200-220 г - возраст 3 месяца и 350 - 400 г - возраст 12 месяцев; 45-50 г неполовозрелые 3-недельные крысята).

Методы − эксперименты на животных проведены согласно стандартным операционным процедурам (СОП); в соответствии с правилами, принятыми Европейской Конвенцией "О защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей» (Strasbourg, 1986) и «Руководством по проведению доклинических исследований лекарственных средств" (2012 г). Дизайн эксперимента был одобрен биоэтической комиссией ФГБНУ ВИЛАР.

Из животных были сформированы группы по 5-6 особей в каждой.

В условиях «острого» эксперимента приготовленные *ex tempore* 60% водные суспензии экстракта цикория вводили однократно парентерально или одно- и двукратно в желудок в объемах 0,23-5,30 мл на животное, которые являлись максимально физиологически допустимыми для введения мышам и крысам. Диапазон доз при внутрибрюшинном введении экстракта составил 1500-11000 мг/кг и per`os 9,0-16,0 г/кг.

Критериями оценки интоксикации служили количество и сроки гибели животных, картина острого отравления, которую регистрировали в дозах близких к $ЛД_{50}$ при внутрибрюшинном введении и в максимально допустимых дозах при введении в желудок. За экспериментальными животными наблюдали в течение 14 дней, отмечая общее состояние животных и фиксируя: отклонения в поведении, внешнем виде, двигательной активности, реакции на внешние раздражители. Для определения параметров токсичности исследуемого экстракта использовали метод пробит-анализа Литчфилда и Уилкоксона. Для оценки значимости различий применяли t-критерий Стьюдента. Различия между сравниваемыми значениями считали достоверными при $P<0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

После двукратного внутрижелудочного введения цикория обыкновенного культивируемого травы экстракта сухого в дозах до 16000 мг/кг у самцов и самок мышей и крыс 3-месячного возраста наблюдали однотипные признаки интоксикации: гиподинамию, диспноэ, сон. Через два часа после введения исследуемого экстракта у животных признаки

острой интоксикации исчезали: они были подвижны, активно поедали корм, нормализовалась частота и глубина дыхательных движений. В течение всего времени наблюдения ни одно животное не погибло. Введение более высоких доз технически не представлялось возможным, поэтому значение $ЛД_{50}$ при введении изучаемого экстракта в желудок половозрелым мышам и крысам 3-месячного возраста не было определено.

При однократном внутрибрюшинном введении культивируемого цикория обыкновенного травы экстракта сухого трехмесячным мышам обоего пола в дозах до 5000 мг/кг признаков острого отравления не регистрировали. При увеличении дозы исследуемого экстракта до 7000-9000 мг/кг через минуту после его введения у всех животных наступало снижение двигательной активности, через 5-6 минут – диспноэ, адинамия, сон. Первая гибель мышей зарегистрирована через 35 минут после введения указанного экстракта и наблюдалась в течение первых суток. Установлены следующие показатели $ЛД_{50}$ для мышей данной возрастной группы: (7830±342) мг/кг (самцы) и (9465±472) мг/кг (самки).

Однократное внутрибрюшинное введение цикория обыкновенного культивируемого травы экстракта сухого трехмесячным крысам обоего пола в тех же дозах, что и мышам данного возраста, в первые 5-10 минут, вызывало схожую картину «острого» отравления, отмеченную у мышей, однако регистрировали её в более отдаленные сроки наблюдения: первая гибель животных наступала через 3 часа после введения исследуемого экстракта и продолжалась в течение четырех суток. Среднесмертельная доза для крыс-самцов составила (7094±491) мг/кг, самок – (7901±398) мг/кг.

Таким образом, результаты изучения острой токсичности цикория обыкновенного (*Cichorium intybus* L.) культивируемого травы экстракта сухого при внутрижелудочном и внутрибрюшинном введении половозрелым мышам и крысам 3-месячного возраста свидетельствуют о том, что не установлено статистически достоверных различий по показателям $ЛД_{50}$ у подопытных животных в зависимости от вида и пола. Согласно ГОСТ 12.1.007-76, исследуемый экстракт относится к 4 классу токсичности (малотоксичным веществам) [7].

Известно, что чувствительность человека и животных к действию ксенобиотиков, в том числе к лекарственным препаратам, меняется в зависимости от возраста. «Развивающийся организм человека и животных отличается от взрослого организма незрелостью строения и функционирования многих органов и систем» [8], продолжающимся их непрерывным ростом и развитием, особенностями обменных процессов, как отдельных систем, так и организма в целом. Наступающие с возрастом функциональные и структурные изменения органов, систем и целого организма, как известно, характеризуются большими индивидуальными различиями. С увеличением возраста происходит снижение функций основных систем организма, в том числе эндокринных желез, что приводит к уменьшению всех видов обмена веществ (белковый, углеводный, жировой и минеральный). Снижение метаболизма обусловлено ухудшением доставки кислорода и питательных веществ к тканям организма. Кроме того, с возрастом меняется способность организма приспосабливаться к обычным факторам среды [9]. Возрастные изменения могут существенно изменять специфическую активность и токсичность фармакологических веществ.

Учитывая возможные индивидуальные изменения чувствительности животных к токсическому действию исследуемого вещества, для его более полной токсикологической характеристики проведены дополнительные исследования по определению параметров токсичности у молодых и стареющих животных.

После однократного внутрибрюшинного введения цикория обыкновенного культивируемого экстракта сухого стареющим мышам-самцам в возрасте 12 месяцев наблюдали сходную картину интоксикации, описанную выше у молодых (3-месяца) мышей, но первые признаки острого отравления отмечали раньше: через 30-40 секунд и при введении более низких доз − 4000-5500 мг/кг. Первая гибель животных наступала через 30 минут после

инъекции экстракта и продолжалась в течение последующих пяти суток. Среднесмертельная доза для мышей этой группы составила (4790±517) мг/кг (Таблица 1).

Таблица 1 - Параметры «острой» токсичности (мг/кг) цикория обыкновенного культивируемого травы экстракта сухого при внутрибрюшинном введении мышам линии *BALB/c*

пол	возраст	$ЛД_{16}$	$ЛД_{50±m}$	$ЛД_{84}$
♀	3 мес.	8048	9465±472	10882
♂	3 мес.	6804	7830±342	8856
♂	12 мес.	3327	4790±517****	6253

*Примечание: **** - достоверность различий относительно группы мышей-самцов 3-месячного возраста, P<0,02*

Аналогичные результаты по оценке токсичности цикория обыкновенного культивируемого травы экстракта сухого получены и при однократном внутрибрюшинном введении стареющим самцам и самкам крыс в возрасте 12 месяцев. Первую гибель животных отмечали через 10 минут после введения экстракта в дозах 4000-6000 мг/кг. $ЛД_{50}$ для крыс самцов этой возрастной группы составила 4461±703; для самок – 5487±673 мг/кг.

Однократное внутрибрюшинное введение исследуемого экстракта крысятам 3-недельного возраста в дозах близких к среднесмертельной для молодых половозрелых (3 месяца) крыс − 6000-8000 мг/кг, наблюдали те же симптомы острого отравления, что и у взрослых животных: адинамию и сон. Через час после введения максимальной дозы (8000 мг/кг) отмечали двигательное возбуждение крысят и вокализацию, через 1,5 часа − помутнение роговицы. Первую гибель крысят регистрировали через 6 часов от начала введения экстракта и в течение последующих двух суток (Таблица 2).

Таблица 2 - Параметры «острой» токсичности (мг/кг) цикория обыкновенного культивируемого травы экстракта сухого при внутрибрюшинном введении крысам

Пол животных	возраст	$ЛД_{16}$	$ЛД_{50±m}$	$ЛД_{84}$
♂	3 мес.	5467	7094±491	8722
	12мес.	2536	4461±703***	6367
♀	3 мес.	6581	7901±398	9220
	12 мес.	3645	5487±673***	7328
♂ и ♀	3 нед.	6138	7174±345	8210

Примечание: *** - достоверность различий относительно группы крыс-самцов и самок 3-месячного возраста, P<0,01

Анализ полученных результатов показал, что параметры $ЛД_{50}$ у стареющих животных (12-месячные мыши и крысы) в 1,4-1,6 раза были ниже, чем у молодых половозрелых (3-месяца) животных, что свидетельствует о большей чувствительности стареющих мышей и крыс к действию цикория обыкновенного культивируемого травы экстракта сухого по сравнению с молодыми животными. Полулетальная доза для неполовозрелых животных соответствовала уровню аналогичного показателя у молодых половозрелых животных.

Полученные данные необходимо учитывать при проведении клинических исследований лекарственных средств, содержащих исследуемый экстракт, у пациентов пожилого и детского возраста.

ВЫВОДЫ

1. При одно- и двукратном внутрижелудочном введении цикория обыкновенного (*Cichorium intybus* L.) культивируемого травы экстракта сухого, содержащего сумму фенольных соединений 11% в пересчете на цикориевую кислоту, показатели $ЛД_{50}$ для половозрелых мышей и крыс составили более 16000 мг/кг, а при парентеральном введении − 7094− 9465 мг/кг.

2. Согласно ГОСТ 12.1.007-76 цикория обыкновенного (*Cichorium intybus* L.) культивируемого травы экстракт сухой относится к малотоксичным веществам.

3. Стареющие животные (12-месячные мыши и крысы) в 1,4-1,6 раза более чувствительны к действию цикория обыкновенного культивируемого травы экстракта сухого по сравнению с молодыми половозрелыми животными.

4. Полулетальная доза (7174±345 мг/кг) исследуемого экстракта для неполовозрелых животных (3-недельные крысята) находилась на уровне аналогичных показателей у молодых половозрелых животных (7094−7901 мг/кг).

5. При назначении лекарственных препаратов, содержащих цикория обыкновенного культивируемого травы экстракт сухой, пациентам пожилого возраста необходимо учитывать их большую чувствительность к действию исследуемого лекарственного средства.

Исследования выполнены в соответствии с НИР ФГБНУ ВИЛАР по теме: «Проведение доклинических исследований отдельных фракций, субстанций и лекарственных препаратов из лекарственного растительного сырья» шифр АААА-А20-120061890023-8, номер темы FNSZ - 2019-0009.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Кузина О.С. Токсичность цикория обыкновенного (*Cichorium intybus* L.) травы экстракта сухого при однократном введении / М.В. Боровкова, С.В. Лемясева, О.Л. Сайбель О.Л. // Сб. науч. тр. Международ. науч. конф. «От растения до лекарственного препарата» (ФГБНУ ВИЛАР).– Москва, 2020.– С.395-399.

2. Вьютнова О.М. История и распространение культуры цикория // ОвощиРоссии. – 2016.– № 1(30). – С.52-53.

3. Perović J. Chicory (Cichorium intybus L.) as a food ingredient - Nutritional composition, bioactivity, safety, and health claims: A review/ Šaponjac V. Tumbas, J. Kojić, J. Krulj, D.A. Moreno, C. García-Viguera, M. Bodroža-Solarov, N. Ilić//Food Chem.− 2021. №336. P.127676.

4. Сайбель О. Л. Сравнительное фитохимическое изучение надземной части дикорастущего и культивируемого растения (*Cichorium intybus* L.) / А.И. Радимич, Г.В. Адамов, Т.Д. Даргаева // Химия растительного сырья. – 2020.– № 3.– С.187-195.

5. Katarzyna Janda. The Common Cichory (*Cichorium intybus* L.) as a Source of Extracts with Health-Promoting Properties-A. Review /Gutowska Izabela, Geszke-Moritz Małgorzata, Jakubczyk Karolina // Molecules. – 2021.− №26(6).− P.1814.

6. Migliorini AA Red Chicory (Cichorium intybus) Extract Rich in Anthocyanins: Chemical Stability, Antioxidant Activity, and Antiproliferative Activity In Vitro/ C.S. Piroski, T.G. Daniel, T.M. Cruz, G.B. Escher, M.A. Vieira do Carmo, L. Azevedo, M.B.Marques, D. Granato, N.D. Rosso //J Food Sci. 2019 84(5). P. 990-1001.

7. Березовская И.В. Классификация химических веществ по параметрам острой токсичности при парентеральных способах введения // Хим.-фарм. журнал. – 2003. –Т. 37, № 3.– С.32-34.

8. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая.- М:Гриф и К, 2012.- С. 41-50.

9. Красоткина И.Н. Биоритмы и здоровье. Серия: Здоровый образ жизни/ И.Н. Красоткина. – Москва: СПб. [и др.] : Питер, 2015. – 224 с.

TOXICITY OF CHICORY (*CICHORIUM INTYBUS* L.) DRY EXTRACT FROM THE AERIAL PART OF THE CULTIVATED PLANT ON LABORATORY ANIMALS OF DIFFERENT AGES

Kuzina O. S. [a)], Borovkova, M. V., PhD (Biol.). Babenko A. N., PhD (Pharm.) Saybel O. L., PhD (Biol.) Krepkova L. V.

Federal state budgetary scientific institution "All-Russian research institute of medicinal and aromatic plants", Russia, Moscow, Grina street, h. 7, b. 1, 117216

a) corresponding author – oskt@list.ru

Annotation. The article presents the results of the study of the "acute" toxicity of chicory (*Cichorium intybus* L.) dry extract (CDE) from the aerial part of the cultivated plant, with a total content of phenolic compounds of 11%, on laboratory animals of different species and ages. It was found that the studied extract, when administered once to laboratory animals, both in the stomach and intraperitoneal, is a low-toxic substance. LD_{50} with intragastric administration of the extract to mice and rats of both sexes was more than 16,000 mg/kg, and with parenteral administration − 7094− 9465 mg/kg. Aging animals (12-month-old mice and rats) were 1,4-1,6 times more sensitive to the action of CDE compared to young sexually mature animals. The semiannual dose (7174±345 mg / kg) of the test extract for immature animals (3-week-old rat pups) was at the level of similar indicators in young sexually mature animals (7094-7901 mg/kg). When prescribing medications containing CDE, elderly patients should take into account their greater sensitivity.

Keywords: *Cichorium intybus* L., *cultivated, dry extract, rats and mice of different ages, acute toxicity, LD_{50}*

УДК: 615.9:615.322 DOI: 10.52101/9785870191003_2021_591

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ИММУНОТОКСИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ТИРЕОТРОПНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ ИЗ РАСТЕНИЙ

Боровкова М. В. [a)], к.б.н. Бортникова В. В., Кузина О. С., к.б.н. Бабенко А. Н.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений», Россия, г. Москва, ул. Грина, дом 7, стр. 1, 117216

а) автор для переписки – borovkova_65@mail.ru

Аннотация. В статье отражены результаты изучения влияния зюзника европейского (*Lycopus europaeus* L.) травы и лапчатки белой (*Potentilla alba* L) корневищ и корней экстрактов сухих на иммунитет клинически здоровых лабораторных животных в рамках проведения доклинических токсикологических исследований. Установлено, что экстракт лапчатки белой не влиял на клеточный иммунитет, но оказывал стимулирующее действие на показатели гуморального иммунного ответа у мышей линии *CBA/Lac* при внутрижелудочном введении в дозах 3 и 30 мг/кг, причем более выраженный эффект наблюдался в терапевтической дозе 3 мг/кг. Зюзника европейского экстракт сухой не влиял на первичный иммунный ответ у мышей, но при различных схемах введения стимулировал эффекторы клеточного иммунитета мышей линии *CBA/Lac* в дозах 10 и 100 мг/кг. Изученные экстракты лапчатки белой и зюзника европейского, нормализирующие функцию щитовидной железы, оказывали стимулирующее действие на иммунную систему экспериментальных животных, что является дополнительным положительным эффектом при их применении у пациентов с патологией щитовидной железы, имеющих сниженный иммунитет.

Ключевые слова: *Potentilla alba* L., *Lýcopus europaéus* L., *экстракт сухой, иммунотоксичность.*

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время отмечается неуклонный рост заболеваний щитовидной железы, тяжесть течения и широкий спектр клинических проявлений которых, обусловлены различными патогенетическими факторами [1]. Развитие дисфункций щитовидной железы – мультифакторный процесс, связанный как с внешними факторами окружающей среды, так и с генетическими. Наряду с этим выявлен целый ряд специфических зобогенных факторов, среди которых наиболее значимыми являются низкий уровень потребления йода, недостаток селена, дефицит белка в питании, курение, и т.д. [2,3].

Изменения функции щитовидной железы приводят к развитию вторичных иммунодефицитых состояний, при этом отмечается снижение общей резистентности организма за счет изменений в системе клеточного и гуморального иммунитета: снижение синтеза иммуноглобулинов, нарушение количественного и качественного состава лимфоцитов и их функциональной активности [4].

При лечении патологий щитовидной железы тиреоидными гормонами изменяется функциональная активность иммунной системы и отдельных популяций иммунокомпетентных клеток. Так тироксин − гормон щитовидной железы, оказывает стимулирующее влияние на фагоцитарную активность лейкоцитов и цитотоксические функции лимфоцитов периферической крови. Влияние лекарственных препаратов из растений, применяемых при терапии заболеваний щитовидной железы, на иммунитет мало известно [5].

В связи с этим актуальным явилось изучение влияния тиреотропных лекарственных растительных средств на функциональное состояние иммунной системы экспериментальных животных. Работа выполнена с использованием биоколлекции ФГБНУ ВИЛАР (УНУ).

Целью исследования явилась доклиническая оценка иммунотоксичности лекарственных средств, созданных на основе зюзника европейского (*Lycopus europaeus* L.) травы и лапчатки белой (*Potentilla alba* L.) корневищ и корней в связи с разработкой лекарственных препаратов на их основе, и перспективой использования их для лечения тиреоидных патологий.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы − в работе использовали сухие экстракты, полученные в отделе фитохимии ФГБНУ ВИЛАР: лапчатки белой экстракт сухой (ЛБЭС), представляющий собой аморфный порошок светло-коричневого цвета с розоватым оттенком, стандартизованный по сумме фенольных соединений в пересчете на (+)-катехин, содержание которых в образце составило 48 % [6] и зюзника европейского экстракт сухой (ЗЕЭС), представляющий собой аморфный гигроскопичный порошок коричневого цвета, стандартизованный по сумме фенольных соединений в пересчёте на розмариновую кислоту, содержание которой составило не менее 15,0 % [7, 8].

Эксперименты выполнены на мышах линии *CBA/Lac* (самцы, масса тела 18-20 г), полученных из питомника филиал «Андреевка» ФГБУН НЦБМТ ФМБА, Московской области. Животных содержали в стандартных условиях вивария со свободным доступом к воде и корму. Экспериментальные группы животных формировали методом случайной выборки с учетом массы тела животного. Исследования проводились согласно требованиями Европейской Конвенцией "О защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей» (Strasbourg, 1986), а также стандартным операционным процедурам (СОП). План эксперимента был одобрен биоэтической комиссией ФГБНУ ВИЛАР.

Методы − исследования были проведены в соответствии с «Руководством по проведению доклинических исследований лекарственных средств», 2012 г. Выбор экспериментальных доз осуществлен с учетом терапевтических доз, установленных в ранее проведенных фармакологических экспериментах: для лапчатки белой экстракта сухого рекомендована суточная терапевтическая доза ≈ 3 мг/кг, для зюзника европейского экстракта сухого − ≈ 10 мг/кг. В данном исследовании мышам линии *CBA/Lac* исследуемые экстракты вводили внутрибрюшинно и внутрижелудочно в дозах: ЛБЭС − 3 и 30 мг/кг в виде 0,03% и 0,3 % водных растворов, ЗЕЭС − 10 и 100 мг/кг в виде 0,1% и 1,0% водных растворов (соответственно суточная и 10-ти кратная суточная терапевтическая) приготовленных *ex tempore.* Контрольные животные получали эквивалентные объемы изотонического раствора NaCl.

Влияние изучаемых препарата на гуморальный иммунитет (на В-клеточное звено иммунитета) оценивали по тесту генерации антителообразующих клеток (АОК) в селезенке и титру гемагглютининов в сыворотке крови у мышей, иммунизированных внутрибрюшинным введением эритроцитов барана (ЭБ) в оптимальной иммуногенной дозе ($5x10^7$) клеток на мышь после пятидневного внутрижелудочного введения. На 5-е сутки после иммунизации животных декапитировали и в суспензии клеток селезенки определяли число АОК методом локального гемолиза в модификации Cunningham, а в сыворотке крови – титр гемагглютининов в реакции гемагглютинации, поставленной в микротитраторе Такачи. Реакция основана на способности антител, содержащихся в сыворотке крови иммунизированных животных, агглютинировать эритроциты барана, используемые в качестве антигена. Титр антител (наибольшее разведение сыворотки, при котором наблюдается отчетливая агглютинация ЭБ) выражали величиной log2T.

Действие исследуемых экстрактов на состояние Т-клеточного иммунитета исследовали по тесту индукции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) на мышах линии *CBA/Lac.*

Для постановки реакции ГЗТ мышей I – V групп (n=50) иммунизировали подкожным введением в межлопаточную область эритроцитов барана в дозе ($2x10^8$) клеток на мышь. Мышам II и III групп за сутки до иммунизации ЭБ (день «-1») внутрибрюшинно вводили ЛБЭС в дозах 3 и 30 мг/кг и ЗЕЭС в дозах 10 и 100 мг/кг соответственно. Мышам IV и V групп исследуемые экстракты в тех же дозах вводили внутрибрюшинно через 24 часа после инъекции антигена (ЭБ, день «+1»). Контрольные мыши (I группа) получали внутрибрюшинно соответствующие количества 0,9% раствора NaCl по схеме (ЭБ, день «+1»). На 5-е сутки после иммунизации все животные получали субплантарно в левую заднюю лапу разрешающую инъекцию ЭБ в дозе ($7 x10^8$) клеток на мышь в объеме 50 мкл (опытная лапа). В подушечку контрольной лапы вводили 50 мкл 0,9 % раствора NaCl. Оценку реакции ГЗТ проводили через 24 часа после разрешающей инъекции ЭБ путем измерения величины отека лапок с последующим расчетом индекса реакции (ИР).

Полученные результаты подвергали статистической обработке с помощью программного обеспечения Statistica version 13 методом вариационной статистики с применением t - критерия Стьюдента. Различия между сравниваемыми значениями считали достоверными при уровне вероятности 95 % и более ($p<0,05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При исследовании влияния лапчатки белой экстракта сухого на процессы антителообразования установлено, что исследуемый экстракт повышал показатели гуморального иммунного ответа у мышей. Количество АОК, как в абсолютных значениях, так и при расчете на 10^6 спленоцитов в группе животных, получавших ЛБЭС в дозе 3 мг/кг, был значительно выше, чем в контроле. Результаты исследований свидетельствуют, что титр гемагглютининов (log2T) возрастал, особенно при введении дозы 3 мг/кг. При определении титра гемагглютининов в сыворотке крови мышей установлено, что ЛБЭС повышал в 2,4 раза исследуемый показатель при введении дозы 3 мг/кг и несколько меньше в 1,7 раз в дозе 30 мг/кг (Таблица 1).

Таблица 1 - Показатели гуморального иммунного ответа мышей линии *CBA/Lac* при пятидневном внутрижелудочном введении лапчатки белой экстракта сухого

Группа животных	Показатели иммунного ответа		
	Абсолютное число АОК на одну селезенку	Количество АОК на 10^6 спленоцитов	Титр гемагглюти-нинов (log2T)
I. Контроль, NaCl 0,9%	258000±17000	1952±127	32,0±4,1
II. ЛБЭС, 3 мг/кг	360000±22000*	3079±139*	76,8±15,0*
III. ЛБЭС, 30 мг/кг	305000±27000	2586±129*	54,4±9,6*

Примечание: * - *достоверность различий с контролем (P<0,05)*

Введение ЗЕЭС в дозах 10 и 100 мг/кг в желудок мышам, иммунизированных ЭБ, не влияло на показатели гуморального иммунного ответа. Титр гемагглютининов в сыворотке крови мышей, получавших ЗЕТЭС в испытанных дозах, так же не имел статистически достоверных различий по сравнению с контролем: 56,0±10,1; 48,0±3,5 (опыт) и 68,8±10,4 (контроль).

Таким образом, представленные данные свидетельствуют о том, что из двух изученных экстрактов, стимулирующим влиянием на гуморальный иммунный ответ мышей линии *CBA/Lac* обладал ЛБЭС.

При исследовании влияния лапчатки белой экстракта сухого на клеточно-опосредованную реакцию ГЗТ установлено, что исследуемый экстракт не потенцировал

индекс реакции ГЗТ у мышей лини *CBA/Lac*, тогда как ЗЕЭС стимулировал эффекты клеточного иммунитета мышей лини *CBA/Lac* при однократном введении в дозах 10 и 100 мг/кг и при различных схемах введения (Таблица 2).

Таблица 2 - Индекс реакции ГЗТ мышей линии *CBA/Lac*, получавших внутрибрюшинно зюзника европейского экстракт сухой

Группа животных	Индекс реакции
I. Контроль, 0,9% NaCl, день «+1»	30,8±4,1
II. ЗЕТЭС, 10 мг/кг, день «-1»	40,9±2,2*
III. ЗЕТЭС, 100 мг/кг, день «-1»	42,7±2,6*
IV. ЗЕТЭС, 10 мг/кг, день «+1»	37,3±2,6
V. ЗЕТЭС, 100 мг/кг, день «+1»	45,4±2,0*

Примечание: * - *достоверность различий с контролем (P<0,05)*

Таким образом, результаты экспериментальных исследований показали, что 5-кратное внутрижелудочное введение лапчатки белой экстракта сухого в дозах 3 и 30 мг/кг вызывало стимуляцию первичного иммунного ответа у мышей линии *CBA*, причем более выраженный эффект наблюдался в терапевтической дозе 3 мг/кг. При различных схемах введения исследуемый экстракт не влиял на клеточный иммунитет.

Анализ результатов экспериментальных исследований выявил, что при различных схемах введения ЗЕТЭС стимулировал эффекторы клеточного иммунитета мышей линии *CBA/Lac* в дозе 10 мг/кг и 100 мг/кг.

ВЫВОДЫ

1. Лапчатки белой (*Potentilla alba* L.*)* экстракт сухой не влиял на клеточный иммунитет, но оказывал стимулирующее действие на показатели гуморального иммунного ответа у мышей линии *CBA/Lac* при внутрижелудочном ведении в дозах 3 и 30 мг/кг, причем более выраженный эффект наблюдался в терапевтической дозе 3 мг/кг.

2. Зюзника европейского (*Lycopus europaeus* L.) экстракт сухой не влиял на первичный иммунный ответ у мышей, но при различных схемах введения стимулировал эффекторы клеточного иммунитета мышей линии *CBA/Lac* в дозах 10 мг и 100 мг/кг.

3. Изученные экстракты лапчатки белой и зюзника европейского, нормализирующие функцию щитовидной железы, оказывали стимулирующее действие на иммунную систему экспериментальных животных, что является дополнительным положительным эффектом при их применении у пациентов с патологией щитовидной железы, имеющих сниженный иммунитет.

Исследования выполнены в соответствии с НИР ФГБНУ ВИЛАР по теме: «Проведение доклинических исследований отдельных фракций, субстанций и лекарственных препаратов из лекарственного растительного сырья» шифр АААА-А20-120061890023-8, номер темы FNSZ - 2019-0009.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Klecha, A. J. Experimental evidence pointing to the bidirection interaction between the immune system and the thyroid axis / A.J. Klecha, A.M. Genaro, A.E. Lisionek // Internat. J. Immunopharmacol. – 2001. «От растения до лекарственного препарата» (ФГБНУ ВИЛАР).– Москва, 2020.– № 22.– Р.491-500.

2. Мельниченко, Г. А. Осведомленность населения России о йододефицитных заболеваниях и способах их профилактики /Г.А. Мельниченко, Е.А. Трошина, Н.М. Платонова, П.О. Савчук, М.С. Якунчикова // Клиническая и экспериментальная тиреоидология. – 2016. − № 12(3). – С. 25-30.
3. Каминский, А. В. Клинические возможности применения лапчатки белой в профилактике и лечении патологии щитовидной железы / А.В. Каминский, И.А. Киселева, Е.В. Теплая // Эндокринология: новости, мнения, обучение. – 2014. – № 1. – С.69.
4. Манчук, В. Т. Состояние иммунного статуса и активности НАД (Ф) – зависимых дегидрогеназ лимфоцитов крови у больных диффузным токсическим зобом / В.Т. Манчук, С.Г. Шагарова, А.А. Савченко, С.А. Догадин // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2010. – № 6 (76). – С.67-69.
5. Бортникова, В. В. Исследование иммунотоксических и аллергизирующих свойств лапчатки белой *(POTENTILLA ALBA L.)* экстракта сухого / В.В. Бортникова, Л.В. Крепкова, Т.А. Гуськова, П.Г. Мизина // Токсикологический вестник.− 2018. − №4. − С.15-19. https://doi.org/10.36946/0869-7922-2018-4-15-19
6. Бурова, А. Е. Разработка методик качественного и количественного определения фенольных соединений в сухом экстракте лапчатки белой (Potentilla alba L.)/ А. Е. Бурова, А. И. Мешков, О. Л. Сабель // Мат. V науч.-практ. конф. «Современные аспекты использования растительного сырья и сырья природного происхождения в медицине». – 2017. – С.59-62.
7. Шелухина, Н. А. Изучение химического состава зюзника европейского (*Lycopus europaeus* L.) / Н.А. Шелухина, А.А. Савина, В.И. Шейченко, Т.А. Сокольская, В.А. Быков // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2010. – Т. 11. – С. 7-11.
8. Шелухина, Н. А. Изучение химического состава травы зюзника европейского (*Lycopus europaeus* L.) / Н.А. Шелухина, А.А. Савина, В.И. Шейченко, В.И. Осипов, Т.А. Сокольская, В.А. Быков, О.Ф. Ласская // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. –2011. –№3. – С.6-9.

EXPERIMENTAL STUDY OF THE IMMUNOTOXIC PROPERTIES OF THYROTROPIC DRUGS FROM PLANTS

Borovkova, M. V. [a)], PhD in Biology Bortnikova V.V**.,** Kuzina O. S.,
PhD in Biology Babenko A. N.,
Federal state budgetary scientific institution "All-Russian research institute of medicinal and aromatic plants", Russia, Moscow, Grina street, h. 7, b. 1, 117216
a) corresponding author – borovkova_65@mail.ru

Abstract. The results of the study of the effect of the *Lycopus europaeus* L. herb and *Potentilla alba* L. rhizomes and roots of dry extracts on the immunity of clinically healthy laboratory animals in the framework of preclinical toxicological studies are reflected in the article. It was found that the extract of *Potentilla alba* L. did not affect cellular immunity, but had a stimulating effect on the parameters of the humoral immune response in *CBA/Lac* mice, when administered intragastrically at doses of 3 and 30 mg/kg, and a more pronounced effect was observed at a therapeutic dose of 3 mg/kg. *Lycopus europaeus* dry extract did not affect the primary immune response in mice, but under different administration schemes it stimulated the effectors of cellular immunity in *CBA/Lac* mice at doses of 10 and 100 mg/kg. The studied extracts of *Potentilla alba* L. and *Lycopus europaeus* L., normalizing the function of the thyroid gland, had a stimulating effect on the immune system of experimental animals, which is an additional positive effect when used in patients with thyroid pathology, who have reduced immunity.
Keywords: *Potentilla alba* L., *Lycopus europaeus* L., *dry extract, immunotoxicity*

УДК 574/577 DOI: 10.52101/9785870191003_2021_596

ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКОГО ИММОБИЛИЗАЦИОННОГО СТРЕССА И 1-О-АЛКИЛ-ГЛИЦЕРОЛОВ НА ЖИРНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ СЕЛЕЗЕНКИ КРЫС

Перевозников И.Е.[1,a)], к.м.н. Полещук Т. С.[2], к.б.н. Веланский П. В.[3]

1 - ФГАОУ ВО «Дальневосточный федеральный университет». Российская Федерация, Приморский край, г. Владивосток, о. Русский, п. Аякс, 10. Почтовый индекс: 690922.
2 - ФГБОУ ВО Тихоокеанский государственный медицинский университет Минздрава России. Российская Федерация, Приморский край, г. Владивосток, Океанский просп., 165. Почтовый индекс: 690002.
3 - Национальный научный центр морской биологии имени А. В. Жирмунского Дальневосточного отделения Российской академии наук. Российская Федерация, Приморский край, г. Владивосток, ул. Пальчевского, 17. Почтовый индекс: 690041.
а) автор для переписки – ilyaperevoznikov@gmail.com

Аннотация. Алкилглицеролы (АГ) являются уникальными природными соединениями с большим потенциалом применения в фармакологической отрасли. Они являются предшественниками фосфолипидов и плазмалогенов, а также выполняют множество жизненно важных функций в организме. В данной статье исследуется влияние алкилглицеролов и хронического иммобилизационного стресса на состав ацильных и алкенильных групп липидов селезенки крыс. Значительных колебаний концентраций жирных кислот (ЖК) и жирных альдегидов (ЖА) обнаружено не было. Таким образом, селезенка слабо чувствительна к воздействию упомянутых факторов. В заключительной части дается сравнение полученных результатов с данными предшествующих исследований, рассматривавших эффект, оказываемый АГ и стрессовым воздействием на другие органы крыс.

Ключевые слова: 1-О-алкил-глицеролы, жирные кислоты, жирные альдегиды, хронический иммобилизационный стресс, селезенка, иммунитет.

ВВЕДЕНИЕ

Алкилглицеролы являются уникальными природными соединениями с большим потенциалом применения в фармакологической отрасли. Они стимулируют гемопоэз, ингибируют рост опухолевых клеток, подавляют рост некоторых видов патогенных микроорганизмов и ускоряют восстановление окислительного статуса (количества синтезируемых ферментов) [1]. Известно, что АГ также способны оказывать иммуностимулирующий эффект - активизировать цитотоксические макрофаги, что усиливает гуморальный иммунный ответ. В связи с этим предполагается, что алкилглицеролы могут использоваться в составе профилактических и медицинских препаратов при стрессовых состояниях [2]. Кроме того, АГ являются предшественниками плазмалогенов. Создание на их основе препаратов для использования в плазмалоген-замещающей терапии представляет большие перспективы [3].

Целью данного исследования является изучение влияния 1-0-алкилглицеролов на липидный состав селезенки крыс, участвовавших в эксперименте. Селезенка была выбрана в качестве объекта эксперимента, как орган, играющий значительную роль в регуляции иммунного гомеостаза и формировании иммунного ответа [4, 5]. Одновременно с этим исследовалось влияние на селезенку хронического иммобилизационного стресса. Это сложное динамическим состояние, нарушающее равновесие различных гуморальных факторов и оказывающее значительное влияние на иммунный ответ организма в целом.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Биологические объекты

Для исследования использовались 16 особей крыс (линия Wistar rats), разделенных на 3 группы. При исследовании влияния хронического иммобилизационного стресса на липидный состав селезенок, одна группа подвергалась его воздействию регулярно (группа Stress), вторая группа вкупе со стрессом получала кормовые добавки из командорского кальмара (*Berryteuthis magister*) (группа АГ+Stress), а третья была контрольной и получала добавки, но не подвергалась стрессу (группа АГ). Командорский кальмар является объектом многотоннажного промысла и отличается крайне высоким содержанием 1-О-алкил-2,3-диацилглицеринов (АДАГ) в липидах пищеварительной железы [6]. Стрессовое воздействие осуществлялось посредством фиксации крыс в иммобилизационной камере по два часа ежедневно в течение 15 дней. Кормление АГ производилось 1 раз в день, из расчета 200 мг/кг массы тела. Все процедуры с животными были одобрены этическим комитетом Национального научного центра морской биологии им. А.В. Жирмунского Дальневосточного отделения Российской академии наук в соответствии с Руководством по содержанию и использованию лабораторных животных (Institute for Laboratory Animal Research, USA).

Реактивы

В ходе эксперимента использовались следующие реактивы: хлороформ, метанол, бензол, серная кислота, гексан. Все растворы имели степень очистки – хч и произведены по ГОСТ 6995-77. Для тонкослойной хроматографии использовались пластинки с силикагелем Sorbfil 9x12 см.

Экстракция липидов

Извлеченные селезенки помещались в хлороформ-метанол (2:1, об/об). Хранение осуществлялось при температуры не более -5 °С. Экстракцию липидов проводили по методу Фольча, используя смесь хлороформ-метанол (2:1, об/об). Образцы гомогенизировались, после чего их центрифугировали и отбирали жидкую фазу. Экстракт отмывали водой и отбирали нижнюю фракцию хлороформа. После этого ее упаривали на роторном испарителе и растворяли в хлороформе.

Приготовление МЭЖК

Для получения метиловых эфиров жирных кислот (МЭЖК) и диметилацеталей (ДМА) приготавливалась метилирующая смесь: 2 % раствор серной кислоты в метаноле. Из растворенного в хлороформе образца отбиралось 100 мкл, которые переносились в пробирку для метилирования и упаривались на роторном испарителе. К остатку добавлялось 500 мкл метилирующей смеси. После этого образец инкубировали при 94°С в течение 1ч. Продукты метилирования извлекали жидкостной экстракцией гексаном (3 раза по 200мкл) и разделяли методом тонкослойной хроматографии в бензоле. Участки силикагеля, содержащие полосы МЭЖК и ДМА собирали в воронку и промывали хлороформом. Полученные образцы упаривали и перерастворяли в гексане.

Анализ и обработка результатов

Анализ состава МЭЖК и ДМА проводили методом газовой хроматографии на хроматографе модели Shimadzu GC-2010 с пламенно-ионизационным детектором на колонке Supelcowax 10 (30м × 0,25мм, толщина неподвижной фазы 0,25 мкм). Параметры хроматографирования: температура детектора, испарителя и колонки составляла 240, 240 и 200 °С, соответственно, линейная скорость газа-носителя (гелия) – 35см/сек. Анализ полученных данных осуществлялся с помощью программного обеспечения Lab Solution.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В Таблице 1 представлены данные по количественному анализу ЖК в селезенке трех участвовавших в эксперименте групп крыс. Главные жирные кислоты во всех образцах - пальмитиновая (16:0), стеариновая (18:0), олеиновая (18:1n-9), линолевая (18:2n-6) и

арахидоновая (20:4n-6). Их содержание превышает 10%, однако значительных различий между образцами из всех трех групп не наблюдается.

Таблица 1 – Состав жирных кислот общих липидов селезенки трех экспериментальных групп крыс (в % от суммы всех ЖК)

Тривиальное название ЖК	Липидная формула	Среднее значение, %		
		АГ	АГ+Stress	Stress
Пальмитиновая	16:0	23,93±1,22	23,52±0,75	23,24±0,59
Пальмитолеиновая	16:1n-7	0,81±0,23	0,64±0,26	0,82±0,20
Стеариновая	18:0	14,66±1,28	15,37±1,17	14,95±1,07
Олеиновая	18:1n-9	11,87±1,83	11,59±2,30	12,89±1,64
Вакценовая	18:1n-7	2,88±0,06	2,98±0,13	2,91±0,09
Линолевая	18:2n-6	14,50±1,51	15,02±2,54	14,12±1,20
Арахидоновая	20:4n-6	15,95±1,82	15,88±2,17	15,60±1,55
Докозатетраеновая	22:4n-6	1,82±0,16	1,85±0,29	1,81±0,26
Докозапентаеновая	22:5n-3	1,90±0,46	1,79±0,24	2,18±0,56
Докозагексаеновая	22:6n-3	1,55±0,22	1,49±0,30	1,57±0,15
Нервоновая	24:1n-9	0,97±0,07	0,96±0,23	1,04±0,09

** В таблице приведены только ЖК, содержание которых составляло не менее 0.8%*

Среди жирных альдегидов наибольшее содержание характерно для 16:0, 18:0 и 18:1n-9. Данные по содержанию главных ЖА представлены в Таблице 2. Определенные различия наблюдаются только в концентрациях 16:0 ЖА содержание которого несколько ниже в группе Stress, по сравнению с другими. Содержание остальных жирных кислот не подвержено значительным изменениям.

Таблица 2 - Состав жирных альдегидов общих липидов селезенки трех экспериментальных групп крыс (в % от суммы всех ЖА)

Липидная формула	Среднее значение, %		
	АГ	АГ+Stress	Stress
16:0	39,32±3,19	40,26±3,79	32,13±4,75
17:0	1,59±0,10	1,70±0,17	1,73±0,09
18:0	23,38±1,52	24,34±1,73	24,99±2,21
18:1n-9	10,33±0,79	11,50±2,28	12,10±0,68
18:1n-7	4,74±0,45	5,41±0,53	5,92±0,70
18:2n-6	3,06±0,24	3,15±0,19	3,21±0,30
20:0	0,99±0,18	0,88±0,12	1,01±0,06
20:2n-6	0,91±0,11	0,87±0,09	0,87±0,02

**В таблице приведены только ЖА, содержание которых составляло не менее 0.8 %*

Полученные результаты свидетельствуют о том, что селезенка слабо чувствительна к хроническому иммобилизационному стрессу. Влияние АГ, входивших в рацион питания крыс, также не сильно сказалось на липидном составе клеток селезенки. В предшествующей работе [2], тему которой продолжает нынешнее исследование, было показано, что АГ способны оказывать защитное действие на слизистую желудка, и увеличивать вес надпочечников при стрессе. Диета, обогащенная АГ, может приводить к увеличению уровня плазмалогенов в эритроцитах, почках, печени и сердце [7]. Также известно, что алкилглицеролы оказывают значительный эффект на липидный состав печени. В этом случае наблюдается увеличение соотношения 16:0ДМА/16:0МЭЖК, что доказывает включение в биосинтез плазмалогенов химилового спирта (С16:0). Актуальность и важность этих результатов связана с возрастным снижением активности биосинтеза плазмалогенов, что вызывает падение их уровня в нервных

тканях у пожилых людей. Такие изменения наиболее ярко выражены у пациентов с признаками болезни Альцгеймера [6]. В связи с этим, возможность разработки лекарственных препаратов на основе природных АГ, способных компенсировать недостаток плазмалогенов в организме, представляется весьма перспективной.

Слабая эффективность влияния алкилглицеролов на липидный состав селезенки по сравнению с печенью может быть связана с усиленной фильтрационной активностью последней. Из полученных результатов следует, что степень влияния АГ варьируется в зависимости от исследуемого органа крысы.

ВЫВОДЫ

Селезенка слабо подвержена влиянию хронического иммобилизационного стресса, колебания в содержании ЖК незначительны. Влияние алкилглицеролов на ее липидный состав не выявлено.

Таким образом, полученные данные говорят о необходимости продолжать исследования влияния 1-0-алкиглицеролов на липидный состав различных органов крыс. Это позволит улучшить понимание механизмов работы данный соединений и конкретизирует сферы потенциального использования лекарственных препаратов на их основе.

БЛАГОДАРНОСТИ

Хочется выразить особую благодарность Ермоленко Екатерине Владимировне, а также Андрею Борисовичу Имбсу за помощь в подготовке статьи.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Karaman, Y.K. Effect of 1-O-alkylglycerols from sea hydrobionts on the metabolic status of rats with alimentary dyslipidemia / Y.K. Karaman, T.P. Novgorodtseva, T.A. Gvozdenko, S.P. Kasynov // Functional Foods in Health and Disease. - 2013. - Vol. 3. - P. 103–110.
2. Poleschuk, T.S. Protective action of alkylglycerols under stress / T.S. Poleschuk, R.M. Sultanov, E.V. Ermolenko, L.V. Shulgina, S.P. Kasyanov // The International Journal on the Biology of Stress. - 2019. - ISSN: 1025-3890 (Print) 1607-8888.
3. Braverman, N. E. Functions of plasmalogen lipids in health and disease / N. E. Braverman, A. B. Moser // Biochim. Biophys. Acta. – 2012. – Vol. 1822. – P. 1442- 1452.
4. Gee, K. Spleen Organoid Units Generate Functional Human and Mouse Tissue-Engineered Spleen in a Murine Model / K. Gee, M.A. Isani, A. Fode, K.M. Maselli, S.M. Zuber, K.L. Fowler, A.I. Squillaro, L-M.A. Nucho, T.C. Grikscheit // Tissue Engineering. - 2020. – Vol. 26. – P. 411-418.
5. Di Sabatino, A. Post-splenectomy and hyposplenic states / A. Di Sabatino, R. Carsetti, G.R. Corazza // Lancet. - 2011. – V. 378. – P. 86-97.
6. Ермоленко, Е.В. Состав, биологическая активность и способ выделения 1-О-алкил-глицеринов из кальмара и морских звезд / Е.В. Ермоленко // Диссертация на соискание ученой степени к.б.н. Владивосток. - 2016. - 116 с.
7. Broniec, A. Interactions of plasmalogens and their diacyl analogs with singlet oxygen in selected model systems / A. Broniec, R. Klosinski, A. Pawlak, M. Wrona-Krol, D. Thompson, T. Sarna // Free Radical Biologyand Medicine. - 2011. – Vol. 50. – P. 892–898.

EFFECT OF CHRONIC IMMOBILIZATION STRESS AND 1-0-ALKYLGLYCEROLS ON FATTY ACID COMPOSITION OF RAT'S SPLEEN

Perevoznikov I. E., [1, a)] Cand. Sc. (Medicine) Poleschuk T.S., [2] Cand. Sc. (Biology) Velansky P.V.[3]
1 - Federal Autonomous Educational Institution of Higher Education "Far Eastern Federal University". Russian Federation, Primorsky Krai, Vladivostok, Russian island, Ajax village, 10. 690922.
2. Federal State-Funded Educational Institution of Higher Education "Pacific State Medical University of the Ministry of Health of Russia". Russian Federation, Primorsky Krai, Vladivostok, Okeansky prospect, 165. 690002.
3 - A. V. Zhirmunsky National Scientific Center of Marine Biology, Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences. Russian Federation, Primorsky Krai, Vladivostok, st. Palchevsky, 17. 690041.
a) corresponding author – ilyaperevoznikov@gmail.com

Abstract. Alkylglycerols (AGs) are unique natural compounds with great potential for use in the pharmaceutical industry. They are precursors of phospholipids and plasmalogens and perform many vital functions. This article investigates the effect of alkylglycerols and chronic immobilization stress on the composition of acyl and alkenyl groups of rat spleen lipids. Significant fluctuations in concentration of fatty acids and fatty aldehydes were not detected. Thus, the spleen is weakly sensitive to the effects of these factors. In conclusion, it is given a comparison of the results obtained with preliminary studies, considering the effect of AGs and stress on other organs of rats.
Keywords: *1-O-alkyl-glycerols, fatty acids, fatty aldehydes, chronic immobilization stress, spleen, immunity.*

УДК: 615.616-008.8-097.591.166.1 DOI: 10.52101/9785870191003_2021_601

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ВОДНОГО ЭКСТРАКТА ЯРУТКИ ПОЛЕВОЙ НА ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ И БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ САМЦОВ КРЫС

профессор, д.б.н. Фархутдинов Р. Г.[a)], доцент, к.б.н. Федорова А. М., Никифорова М. Д., Ахмадиев П. А.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Башкирский государственный университет", Россия, г.Уфа, ул. Заки Валиди, 32, 450076

а) автор для переписки – frg2@mail.ru

Аннотация. Для лечения и профилактики «мужских» заболеваний успешно применяются препараты на основе растительного сырья. Поиск растений, имеющих большой ресурсный потенциал и оценка их влияния на мужскую репродуктивную сферу является актуальной задачей. В ходе изучения влияния водного экстракта ярутки полевой на физиолого-биохимические показатели самцов крыс Wistar, были выполнены: поведенческий тест, оценка подвижности сперматозоидов самцов крыс и определение уровня содержания тестостерона. С помощью теста «открытое поле», модифицированного под «площадку зоосоциальных предпочтений» было установлено, что после применения водного экстракта ярутки полевой процептивные и рецептивные половые мотивации увеличились. Применение водного экстракта ярутки полевой положительно влияло на уровень содержания тестостерона у самцов крыс. В половом поведении у крыс у опытных групп (после 21-дневного применения настоя ярутки полевой) относительно групп контроля повысились рецептивные (латентный период первого подхода к самке, количество «эмоциональных» подходов и общее время ухаживания) и процептивные (количество покрытий) половые мотивации. Было установлено, что до курсового применения водного экстракта ярутки полевой у самцов крыс Wistar отсутствовали подвижные сперматозоиды. После курсового применения экстракта доля малоподвижных сперматозоидов составила 64 %.

Ключевые слова: *Ярутка полевая, Thlaspi arvense, половое поведение, поведенческий тест "открытое поле", подвижность сперматозоидов, тестостерон.*

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность. Исследования Европейской ассоциации урологов подтвердили факт увеличения уроандрологических заболевания среди мужского населения в мире. Не менее 60-75 % из них страдает различными видами простатита [1]. Доброкачественная гиперплазия предстательной железы диагностируется у 30 % мужчин старше 40-50 лет, у 65 % в возрастной группе 51-60 лет, у 80-90 % мужчин в группе 70-80 лет. [2]. Половые нарушения у мужчин, в частности, эректильные нарушения наблюдаются у около 52 % мужчин в возрасте от 40 до 70 лет и имеют разную степень выраженности нарушения эрекции [3].

За последние годы увеличился спрос на лекарственные средства на основе растений, рекомендуемых для профилактики и лечения «мужских» болезней. Фитопрепараты и БАДы на основе лекарственных растений содержат сложные комплексы биологически активных веществ (БАВ), которые более родственны человеческому организму по своей природе, нежели синтетические препараты, эффект которых складывается из суммы множественных воздействий всех веществ на органы и функциональные системы организма. Для них характерна относительная безопасность действия, так как химическая природа растительных препаратов позволяет легко включаться в биохимические процессы человека, оказывая многостороннее, мягкое, умеренное действие даже при длительном применении [4, 5]. Простатопротекторы составляют основу современных патогенетически обоснованных схем

своевременной и адекватной фармакологической коррекции структурных и функциональных нарушений предстательной железы [2].

Арсенал лекарственных растений применяемых в традиционной медицине для лечения заболеваний у мужчин представлен в основном фитоадаптогенами (женьшень, родиола розовая, левзея сафроловидная др.) [5]. Однако, к сожалению, большинство из них имеют малый ресурсный потенциал на территории России. В литературе описывается положительное воздействие БАВ ярутки полевой *Thlaspi arvense* L. на болезни мужской половой сферы [2, 4]. Ярутка полевая используется как пищевое растение и является сорняком [1, 5]. Поиск растений, имеющих потенциал к культивированию на территории нашей страны, и оценка их влияния на мужскую репродуктивную сферу является актуальной задачей.

Целью работы стало изучение влияния водного экстракта ярутки полевой на поведенческие и физиолого-биохимические показатели самцов крыс, связанные с репродуктивной сферой.

Для достижения поставленной цели были выполнены следующие задачи:

1) исследовать половое поведение самцов крыс с помощью теста «открытое поле», модифицированное под «площадку зоосоциальных предпочтений»;

2) провести оценку подвижности сперматозоидов самцов крыс;

3) определить методом иммуноферментного анализа уровень содержания тестостерона у самцов крыс;

Объектами исследования в данной работе являются крысы самцы Wistar.

Предмет исследования - воздействие водного экстракта ярутки полевой на поведенческие и физиолого-биохимические показатели самцов крыс Wistar.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Отбор крыс

Опыты проводились на крысах самцах Wistar [7] в возрасте 1,5 года, которые содержались в стандартных условиях вивария кафедры физиологии и общей биологии БашГУ. Разделение крыс на группы (по 5 крыс в каждой) проведено по массе тела 225 – 275, 290 - 340, 340 – 360, 360 - 400 г. Крысы опытных и контрольных групп содержались при 12-часовом световом дне на стандартном рационе с брикетированным кормом, при свободном доступе к воде и пище. В проведении поведенческих тестов были использованы эстрирующие самки крысы Wistar в возрасте 6 месяцев.

В течение 21 дня контрольной группе вводили в дозе 1 мл/кг 0,9%-й водный раствор натрия хлорида (NaCl), испытуемой группе вводили водный экстракт травы ярутки полевой (*Thlaspi arvense*) (изготовитель «Травы Башкирии» ТУ 9700-004-0088418944-12, дата изготовления 30.10.2019). Водный настой ярутки полевой готовили следующим образом: точную навеску (2 г) заливали кипящей дистиллированной водой, настаивали в течение 15-20 мин, процеживали, охлаждали до комнатной температуры и доводили до 200 мл. Настой в объеме 1 мл/кг в течение 21 суток вводили через зонд в желудок подопытных животных.

Все опыты проведены в строгом соответствии с существующими общепринятыми международными принципами гуманного обращения с лабораторными животными (директива совета Европейского Союза от 24.11.1986 г., 86/609/EEC)

Поведенческий тест

После 21 дневного приема водного настоя травы ярутки проводился поведенческий тест. Половое поведение у опытных и контрольных (в паре с интактными эстрирующими самками) самцов крыс было исследовано в установке «открытое поле», модифицированной под «площадку зоосоциальных предпочтений» (ПЗП). Установка ПЗП представляла собой круглую арену с бортиками, разделенную непрозрачными пластиковыми перегородками на 4 отсека, соединяющихся в центре. В первом, втором и третьем отсеках были размещены соответственно: поилка кормушка с зерном, пластиковый домик. Четвертый отсек установки

был свободным, испытуемый самец был помещен в него за 20 мин до начала испытания. Позже испытуемая крыса-самка была помещена в центральную часть.

Наблюдения за самцом после подсадки самки вели в течение 60 мин. Отмечено: процептивные половые мотивации (латентный период первого «эмоционального» подхода самца к самке, время от подсадки самки до первого проявления самцом элементов «ухаживания», таких как облизывание, обнюхивание и груминг); количество «эмоциональных» подходов самца к самке; длительность половой активности (общий период времени, затраченного самцом на «ухаживание» за самкой и ее покрытие) и рецептивные половые мотивации - количество покрытий [7].

2. ***Оценка сперматозоидов по характеру подвижности***

Для получения эякулята крысу наркотизируют 5%-ным раствором тиопентала-натрия внутримышечно. Затем животное фиксируют путем привязывания конечностей и расположения на плоской поверхности. Суспензию сперматозоидов получали при продольном разрезании придатка семенника крысы и полученную суспензию клеток анализировали в камере Горяева с использованием микроскопа Микмед – 5 (Ломо, Россия) с увеличением 400Х [10]. Проводился подсчёт сперматозоидов в 5 больших квадратах камеры Горяева, расположенных по диагонали (для получения более точного результата при неравномерном распределении клеточных элементов).

Характеристика групп подвижности сперматозоидов проводилась по 4-балльной системе: группа А - прогрессивно подвижные (прямолинейное поступательное движение со спиральным вращением вокруг своей оси) сперматозоиды; группа В - вялое, почти не прогрессирующее движение (медленное прямолинейное движение); группа С - «дергающиеся» на месте сперматозоиды (колебательное, местное движение, когда есть движение хвоста, но не происходит перемещения сперматозоидов, либо движение по круговой траектории); группа D - отсутствие движения [10].

3. ***Иммуноферментное определение концентрации тестостерона в сыворотке крови***

Для определения содержания уровня тестостерона у самцов крыс Wistar использовали набор реагентов «Тестостерон – ИФА - Бест» (ТУ9398-599-23548172-2016, годен до 22.02.2020, РУ № РЗН 2017/6135 от 23.08.2017, Вектор-Бест, Россия). Метод определения основан на одностадийном твердофазном конкурентном иммуноферментном анализе с использованием моноклональных антител к тестостерону. В лунках планшета при добавлении тестируемого образца происходит конкурентное связывание сывороточного тестостерона и тестостерона, конъюгированного с пероксидазой, моноклональными антителами к тестостерону, находящихся на внутренней поверхности лунок.

Количество связавшегося конъюгата определяли по цветной реакции с использованием субстрата пероксидазы - перекиси водорода и хромогена - тетраметилбензидина. Интенсивность окрашивания обратно пропорциональна концентрации тестостерона в анализируемом образце. Измерение оптической плотности проводилось с помощью анализатора иммуноферментных реакций УНИПЛАН (АИФР-01, ТУ 9443-001-35924433-2005, 01.2016 г., Россия) при длине волны равной 450 нм.

На основании результатов измерения рассчитывается среднее арифметическое значений оптической плотности в лунках с анализируемыми образцами [10].

4. ***Метод статистической обработки данных***

Полученные данные были обработаны с использованием пакета компьютерных программ «Excel», STATISTICA 10.0, были рассчитаны средние значения и стандартные отклонения, достоверность различий с контролем считали при $p<0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

1. Поведенческий тест

Поведенческие тесты позволяют исследовать поведенческую активность животных, тревожность животного, скорость ориентировочных реакций, когнитивные функции в условиях острой стрессовой ситуации [11].

Из результатов исследований, представленных в Таблице 1, видно, что у крыс Wistar относительно групп контроля в половом поведении крыс самцов у опытных групп (после 21-дневного применения настоя ярутки полевой) повышались рецептивные и процептивные половые мотивации.

У крыс Wistar в процептивном половом поведении у опытных самцов отмечено сокращение на 26,4 % латентного периода первого «эмоционального» подхода к интактной крысе самке, увеличение количества таких «эмоциональных» подходов на 17,8 % и повышение длительности периода «ухаживания» за самками на 29,9 %. В то же время, в рецептивном половом поведении у данной группы опытных самцов наблюдалось повышение количества покрытий самок на 70,48 %.

Таблица 1. Показатели половой мотивации у крыс-самцов Wistar (тест «открытое поле», модифицированное под «площадку зоосоциальных предпочтений», в течение 60 мин. наблюдений в паре с интактными крысами-самками (M ± m)

Группа	Латентный период первого подхода к самке, с	Количество «эмоциональных» подходов к самке, шт	Общее время ухаживания, с	Количество покрытий, шт
Контроль	6,6±1,8	24,2±1,02	716,4±90,3	0,8±0,1
Опыт	4,8±1,3	29,4±1,3	1022,6±174,4*	2,7±0,2

* - обозначены различия при p<0,05

2. Оценка подвижности сперматозоидов

При проведении микроскопического анализа эякулята у человека определяют характеристики клеточных элементов спермы: количество сперматозоидов, подвижность сперматозоидов, морфологические характеристики сперматозоидов, количество и типы лейкоцитов, количество и типы незрелых клеток сперматогенеза и пр. [12]. Известно, что у лиц в возрасте 20-30 лет намного выше доля живых и активно подвижных сперматозоидов, чем у лиц в возрасте 40-50 лет. И наоборот, число неподвижных сперматозоидов выше у лиц в возрасте от 40-50 лет, чем у лиц в возрасте 20-30 лет [13]. По данным литературы возраст крыс в 18 месяцев соответствует примерно 45 человеческим годам [14].

Как видно из табл. 2, до начала введения водного настоя в опытной группе самцов крыс и в контрольной группе наблюдали только неподвижные сперматозоиды (группа D). После 21-дневного курса водного настоя ярутки было установлено наличие сперматозоидов из группы B и C. Доля неподвижных сперматозоидов сократилась до 35 %.

Таблица 2 - Среднее число различных типов сперматозоидов контрольной и опытной групп крыс Wistar

	число различных типов сперматозоидов	
	контроль	Опыт
A	0±0	0,00±0
B	0±0	0,40±0,04
C	0±0	64,19±6,35*
D	100,00±0	35,41±3,38*

* - обозначены различия при p<0,05

3. Иммуноферментное определение концентрации тестостерона в сыворотке крови

В таблице 3. представлены результаты иммуноферментного анализа, демонстрирующего содержание тестостерона в крови у самцов крыс до и после курсового использования водного настоя ярутки полевой. После курсового приема водного настоя ярутки у крыс Wistar не было установлено достоверного повышения концентрации тестостерона в крови крыс-самцов (таб. 1).

Таблица 3. Содержание тестостерона в крови у крыс Wistar в контрольной и опытной группах

Группа	Содержание тестостерона, нмоль/л
Контроль	2,96±0,46
Опыт	3,09±0,86

ВЫВОДЫ

Таким образом, при изучении влияния курсового приема водного настоя ярутки полевой на физиолого-биохимические показатели самцов крыс Wistar с помощью модифицированного теста «площадка зоосоциальных предпочтений», было установлено, что у подопытных животных увеличились процептивные и рецептивные половые мотивации. В половом поведении у самцов крыс относительно групп контроля повысились половые мотивации (латентный период первого подхода к самке, количество «эмоциональных» подходов, общее время ухаживания и количество покрытий).

Введение водного настоя ярутки полевой в дозе 1 мл/кг положительно влияет на проявление и увеличение количества подвижных сперматозоидов в эякуляте, однако содержание тестостерона в крови у самцов крыс Wistar достоверно не изменилось. Следовательно, остается неизвестным механизм, благодаря которому происходила активация подвижности сперматозоидов. Необходимы дополнительные эксперименты на животных другого возраста, определение содержания гормонов, которые также вовлечены в процесс контроля и регуляции мужской репродуктивной сферы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Павлов В.Н., Фитотерапия и мужское здоровье / В.Н. Павлов, Л.М. Кутлияров, А.В. Хайретдинов, О.В. Костарев, Р.Г. Фархутдинов, З.Р. Хисматулина, А.Я. Крюкова // Уфа: Травы Башкирии, 2008. - 32 с.
2. Андрияненков А. В. Изучение фармакологической эффективности густых экстрактов ярутки полевой и эспарцета песчаного на модели доброкачественной гиперплазии предстательной железы у крыс / А.В. Андрияненков // ScienceRise. - 2015. - Т.10. - №4 (15). - С.46-51.
3. Хасанов А.Г., Фитотерапия в урологии / А.Г. Хасанов, К.А. Пупыкина, Н.В. Кудашкина, А.Р. Гильмутдинов, С.Р. Хасанова, Р.И. Сафиуллин, И.Р. Мусин, Р.Г. Фархутдинов // Уфа: Травы Башкирии, 2011. - 88 с.
4. Галимов, Ш.Н. Азбука мужского здоровья / Ш. Н. Галимов, Д.С. Громенко, В. Л. Юлдашев, Р. Г. Фархутдинов, Э. Ф. Галимова // Уфа: ДизайнПолиграфСервис, 2009. - 24 с.
5. Барнаулов, О.Д. Фитотерапия при импотенции: обзор лекарственных растений и их композиций, применяемых для профилактики и лечения нарушений репродуктивных функций у мужчин/ О. Д. Барнаулов – СПб.: Изд-во Н.-Л., 2012. – 416 с.
6. Кирилюк, А. А. Особенности влияния пищевых продуктов и их компонентов на фармакологическую активность лекарственных средств / А. А. Кирилюк, Т. Л. Петрище // Современные проблемы здравоохранения и медицинской статистики. - 2017. - №1. - С.51-64.
7. Западнюк, И. П. Лабораторные животные / И.П. Западнюк, В.И. Западнюк, Е.А. Захария, Б.В. Западнюк– Киев: Вища школа, 1983. – 383 с.

8. Гетманенко, А. Ю. Исследование полового поведения и сперматогенеза у крыс-самцов с экспериментальным дефицитом магния / А. Ю. Гетманенко, Л. И. Бугаева, А. А. Спасов, С. А. Лебедева, Е. А. Кузубова, М. С. Мальцев // Вестник ВолгГМУ. – 2016. - №4 (60).- С.20-24.
9. Методы экспериментального исследования по установлению порогов действия промышленных ядов на генеративную функцию с целью гигиенического нормирования. URL: http://www.libussr.ru/doc_ussr/usr_9365.htm (дата обращения 27.03.2021)
10. Романов, А. С. Характеристика миграционной активности сперматозоидов потомства самок крыс с экспериментальным хроническим поражением печени / А. С. Романов // Вестник Челябинского государственного университета. – 2008.- №4 (426). - С.84-87.
11. Набор реагентов для иммуноферментного определения концентрации тестостерона в сыворотке крови. Инструкция по применению. – «ВЕКТОР-БЕСТ», Новосибирск. – 2014. - 22 с.
12. Юдицкий, А. Д. Поведенческие реакции у экспериментальных животных с различной прогностической устойчивостью к стрессу в тесте «открытое поле» / А. Д. Юдицкий, А. А. Пермяков, Е. В. Елисеева, Т. П. Щепина, Л. С. Исакова // Вестник Удмурского университета. - Биология. Науки о Земле. - 2014. - №4. – С. 72-82.
13. Евдокимов, В. В. Анализ параметров эякулята у мужчин в различных возрастных группах / В. В. Евдокимов, О. Б. Жуков, Е. В. Бабушкина // Андрология и генитальная хирургия. – 2016. – Т.17. - С. 65-67.
14. Гелашвили, О. А. Вариант периодизации биологически сходных стадий онтогенеза человека и крысы / О. А. Гелашвили// Саратовский научно-медицинский журнал. - 2008. - № 4. - С. 125-126.

STUDYING THE INFLUENCE OF WATER EXTRACT OF FLUE TO PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL INDICATORS OF MALE RATS

Professor, D.Sc. in Biology Farhutdinov R. G.[a)],
assistant professor, Ph.D. in Biology Fedorova A.M., Nikiforova M.D, Ahmadiev P.A.
Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Bashkir State University", Russia, Ufa, st. Zaki Validi, 32, 450076
a) corresponding author – frg2@mail.ru

Abstract. For the treatment and prevention of "male" diseases, preparations based on herbal raw materials are successfully used. The search for plants with great resource potential and the assessment of their impact on the male reproductive sphere is an urgent task. In the course of studying the effect of an aqueous extract of the field lamb on the physiological and biochemical parameters of male Wistar rats, the following were performed: a behavioral test, an assessment of the sperm motility of male rats and a determination of the testosterone level. Using the "open field" test, modified for the "site of zoosocial preferences", it was found that after the application of an aqueous extract of the field yarp, the receptive and receptive sexual motivations increased. The use of an aqueous extract of the field longline had a positive effect on the level of testosterone in male rats. In the sexual behavior of rats in the experimental groups (after 21 days of using the field infusion) relative to the control groups, receptive (latency period of the first approach to the female, the number of “emotional” approaches and the total courtship time) and procedural (number of coatings) sexual motivations increased. It was found that before the course application of an aqueous extract of the field yarp in male Wistar rats, there were no motile spermatozoa. After the course application of the extract, the proportion of sedentary spermatozoa was 64 %.
***Keywords**: Pennycress, Thlaspi Arvense, sexual behavior, behavioral test "Open Field", Sperm Motility, Testosterone.*

УДК: 577.19 DOI: 10.52101/9785870191003_2021_607

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЖЕЛТОГО ТЕТРАЗОЛИЯ В ИССЛЕДОВАНИИ ЦИТОТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ РАСТЕНИЙ

к.б.н. Кабанов Д. С.[a)], Китаева М. П., д.мед.н. Федотчева Т. А.

ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений, Россия, г. Москва, ул. Грина, д.7, стр. 1, 117216

а) автор для переписки – kabanovd1@rambler.ru

Аннотация. В настоящем мини-обзоре представлен анализ современных литературных данных по исследованию цитотоксичности жидких экстрактов растений колориметрическим методом с использованием желтого тетразолия или бромида 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолия (МТТ). Результаты работы позволили сформировать протокол исследования наиболее подходящий для выявления цитотоксического действия экстрактов растений методом МТТ, улучшающий качество исследования и позволяющий адекватно интерпретировать полученные данные. Предложено проводить замену среды инкубации клеток до добавления раствора МТТ и определять собственную способность экстрактов растений восстанавливать МТТ. В работе обсуждается вклад природных флавоноидов в восстановление МТТ жидкими экстрактами растений.

***Ключевые слова**: цитотоксическое действие, линейные опухолевые клетки человека, флавоноиды, полифенольные соединения, бромид 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолия.*

ВВЕДЕНИЕ

Биологически активные вещества (БАВ) растений являются, по-прежнему, основными компонентами разрабатывающихся лекарственных препаратов. Среди БАВ наиболее перспективными для фармакологии и медицины являются полифенольные соединения: флавоноиды и таннины, некоторые из которых проявляют выраженное цитостатическое, противовоспалительное и бактерицидное действие [1–3].

Изучение цитотоксического действия БАВ растений является одним из первых этапов их доклинического исследования. Наиболее часто острая и отсроченная цитотоксичность определяются через 6 ч и через 24 ч соответственно после экспозиции нормальных, нетрансформированных клеток, таких как полиморфноядерные нейтрофилы, моноциты и лимфоциты к исследуемым соединениям. Использование иммортализованных опухолевых клеточных линий человека позволяет выявлять не только цитотоксичность БАВ растений, но и их цитостатическое действие [4, 5].

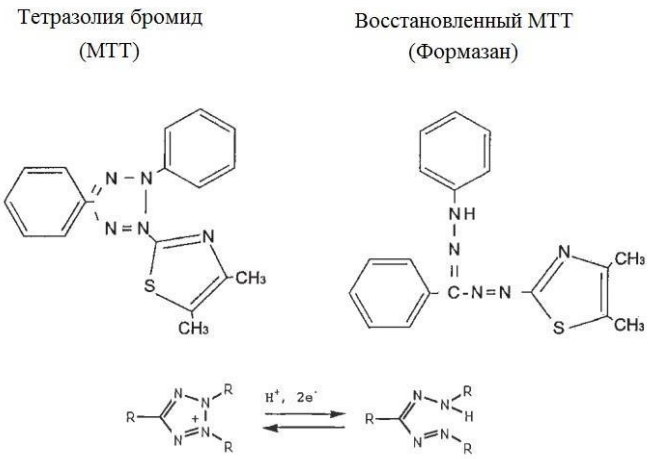


Рисунок 1 - Структура МТТ и соответствующей формы формазана [6, 7]

Колориметрический метод оценки метаболической активности клеток с помощью желтой соли бромида 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолия или МТТ (тиазолил синий тетразолия бромид, желтый тетразолий) является классическим методом для массового скрининга цитотоксичности БАВ растений. Неполярная молекула МТТ имеет положительный заряд. Это способствует эндоцитозу МТТ живыми клетками. В клетках МТТ вовлекается в биохимические процессы клеточного метаболизма и восстанавливается в формазан-МТТ фиолетового цвета с максимумом светопоглощения при 570 нм (рисунок 1) [6, 7]. Апробация нами классического протокола исследования цитотоксичности методом МТТ с использованием опухолевых клеточных линий K-562 и HeLa (биологическая коллекция ФГБНУ ВИЛАР) показала, что эти клетки активно восстанавливают МТТ в формазан-МТТ (2 ч) (рисунок 2 А–В). Увеличение времени инкубации лейкемических K-562 клеток с МТТ до 6 ч приводит к образованию множества иглоподобных кристаллов формазана-МТТ, разрушающих клетки (рисунок 2 Г). Нами также проведено исследование цитотоксичности жидких экстрактов из листьев растений, представителей рода Cornus. Анализ предварительных результатов обнаружил необходимость коррекции протокола исследования.

Высокие значения оптической плотности (ОП) при длине волны 570 нм (A_{570}), полученные при исследовании цитотоксичности методом МТТ соответствуют высокому содержанию в образце формазана-МТТ, что свидетельствует о высокой метаболической активности клеток. Высокие значения ОП при A_{570}, полученные после инкубации клеток с БАВ растений указывают на их слабое цитотоксическое действие [6, 7]. Исследования последних лет показали, что на восстановление МТТ в формазан-МТТ может влиять множество факторов, которые необходимо учитывать при разработке протокола исследования цитотоксичности БАВ растений и интерпретации полученных данных. В связи с этим, настоящая работа посвящена выявлению и систематизации факторов, влияющих на восстановление МТТ в формазан-МТТ и разработке протокола исследования цитотоксичности жидких экстрактов, полученных из растений для исследования методом МТТ.

Фактор 1. Роль концентрации D-глюкозы в питательной среде.

Восстановление МТТ в митохондриях происходит в присутствии сукцината. В сукцинат-зависимом восстановлении МТТ участвуют оксидоредуктаза – сукцинатдегидрогеназа (комплекс II), интегральный энзим внутренней мембраны митохондрий, а также цитохром С. Помимо сукцината в восстановление МТТ могут вовлекаться и другие доноры электронов, такие как NADH и цитоплазматический коэнзим NAD(P)H. Электрон-транспортные системы, зависящие от NADH и NAD(P)H обнаружены в микросомах и внешней мембране митохондрий. В случае NADH, электроны порождаются при комплексе I с участием NADH-цитохрома b_5 внешней мембраны митохондрий. Т.о. восстановление МТТ в формазан-МТТ является следствием интегрированной работы нескольких метаболических систем клетки. Ингибиторы электрон-транспортной цепи митохондрий, такие как цианид, азид или ротенон, в некоторых случаях, усиливают восстановление МТТ клетками. Цитохалазин В и 2-дезоксиглюкоза ингибируют поступление D-глюкозы внутрь клеток и т.о. подавляют восстановление МТТ [8]. Связанная с плазматической мембраной NADPH оксидаза, возможно, тоже участвует в продукции формазана-МТТ. Формазан-МТТ нерастворим в воде. Он аккумулируется в эндосомах и лизосомах и затем транспортируется к поверхности клетки. Формазан-МТТ может депонироваться в компартментах эндоплазматического ретикулума, цитозоле и плазматической мембране, указывая на клеточные сайты восстановления МТТ. В связи с этим, восстановление МТТ клетками может отражать рейтинг гликолитической продукции NAD(P)H. Опухолевые клетки обнаруживают высокие рейтинги гликолиза даже в присутствии кислорода (аэробный гликолиз). Повышенная синтетическая активность (анаболизм) активно пролиферирующих опухолевых клеток, вызывает усиленное поглощение питательных веществ и истощение питательной среды значительно быстрее в сравнении с нормально пролиферирующими и дифференцирующимися клетками [6, 7].

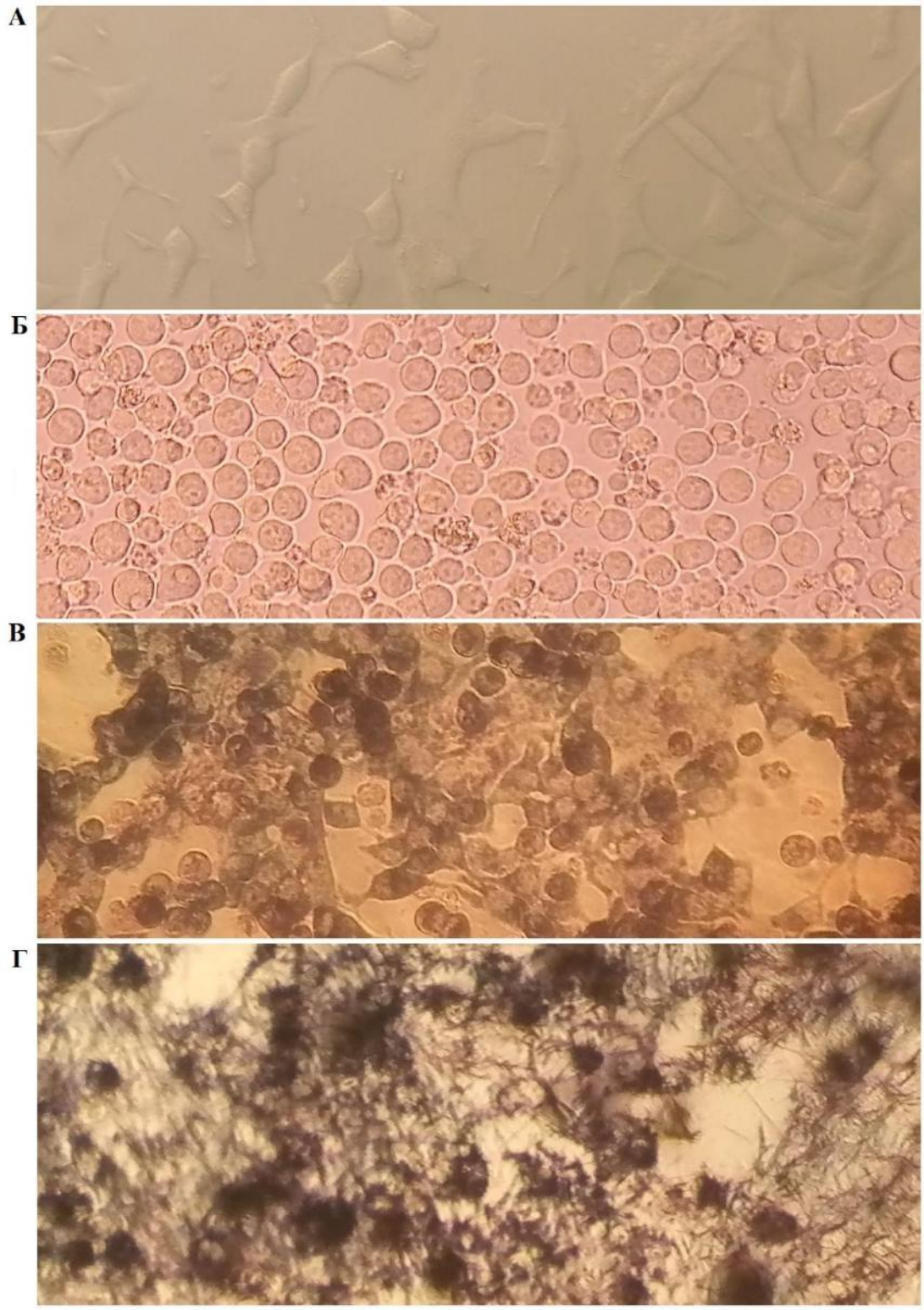


Рисунок 2 – Световая микроскопия в проходящем свете:
морфология опухолевых клеток HeLa (А) и К-562 (Б); продукция формазана-МТТ клетками К-562 (В); клетки К-562, разрушенные игловидными кристаллами формазана-МТТ (Г). Клетки HeLa и К-562 культивировали в культуральных флаконах соответственно в среде DMEM или RPMI-1640, обогащенных фетальной сывороткой телят (10 %), в течение 72 ч при 37 °С и 5 %-ом содержании CO_2 (А и Б). Затем в культуральные флаконы с клетками добавляли 1 мл раствора МТТ (5 мг/мл) и инкубировали 2 ч (В) или 6 ч (Г) при 37 °С и 5 %-ом содержании CO_2

Снижение концентрации D-глюкозы в питательной среде при длительной инкубации клеток, интенсивно метаболизирующих D-глюкозу, подавляет способность клеток

восстанавливать МТТ. Например, клетки SN12K1 карциномы почки в течение 96 ч метаболизируют до 90% D-глюкозы, тогда как XF-498 клетки глиобластомы только 15%. При этом в период от 24 ч до 48 ч происходит снижение в 4-е раза способности SN12K1 клеток восстанавливать МТТ при их 100% жизнеспособности. Снижение концентрации D-глюкозы в среде инкубации наиболее сильно сказывается на уровнях NADH, которые снижаются в течение 24 ч. Снижение уровней NAD(P)H в клетках наблюдается позднее. В течение 96 ч клетки аденокарциномы толстого кишечника HT-29 и легких HOP-62 метаболизируют менее 50% D-глюкозы. В противоположность, клетки меланомы M19MEL, не мелкоклеточной аденокарциномы легких EKVX, аденокарциномы яичника OVCAR5, XF-498 и миелоидной лейкемии K-562 – более 50%. Снижение способности восстанавливать МТТ наблюдается у некоторых клеточных культур с увеличением их возраста. Уменьшение содержания D-глюкозы в среде инкубации отрицательно влияет на способность клеток восстанавливать МТТ, давая ложно положительный цитотоксический эффект исследуемого соединения. Следовательно, замена среды инкубации перед добавлением МТТ строго необходима у клеток наиболее активно метаболизирующих D-глюкозу. Для сохранения единообразия проведения исследования представляется целесообразным всегда менять питательную среду до добавления МТТ. Особенно важно проводить замену среды при проведении исследований в течение нескольких длительных периодов, т.е. в течение 24 ч, 48 ч и 72 ч [7, 9].

Фактор 2. Роль pH среды в восстановлении МТТ. В процессе жизнедеятельности клеток происходит снижение pH среды инкубации [10]. Кислотный pH модифицирует абсорбционный спектр катионного формазана и может вызывать полное исчезновение абсорбции при A_{575} [6, 11]. Этот факт является важным аргументом для замены питательной среды перед добавлением МТТ к клеткам [10].

Фактор 3. Вклад компонентов питательной среды в восстановление МТТ. Аскорбиновая и дигидролипоевая кислоты, цистеин, глутатион, глутатион S-трансфераза и токоферолы восстанавливают МТТ. Альбумин сыворотки крови связывает МТТ и ведет к ошибочно позитивным результатам цитототоксичности при исследовании методом МТТ. Присутствие этих соединений в составе питательных сред может объяснять происхождение внеклеточных кристаллов формазана-МТТ [6]. Эти результаты указывают на необходимость позитивного контроля – питательная среда и раствор МТТ при исследовании цитотоксичности методом МТТ.

Фактор 4. Редокс-активные компоненты экстрактов растений. Современные исследования показали, что экстракты из некоторых растений способны восстанавливать МТТ в отсутствии клеток [9, 12]. Например, экстракты из плодов *Ligustrum lucidum* W.T Aiton, корня *Rheum palmatum* L., травы *Salvia chinensis* Benth и побегов *Uncaria rhynchophylla* Miq. Jacks все восстанавливают МТТ. Менее активны в исследовании МТТ экстракты из листьев *Artemisia argyi* H. Lev. & Vaniot, травы *Duchesnea indica* Andrews Teschem и плодов *Gleditsia sinensis* Lam. Экстракты из корней *Anemarrhena asphodeloides* Bunge и *Rubia cordifolia* Maxim. Kitam. не восстанавливают МТТ в отсутствии клеток [12]. Экстракт из травы *Hypericum perforatum* DC восстанавливает МТТ активнее в сравнении с экстрактом из корневища *Cimicifuga racemosa* L. При максимальной концентрации 1 мг/мл экстракты из плодов *Vitex agnus-castus* L. и из листьев *Ginkgo biloba* L. проявляют очень слабую способность восстанавливать МТТ [9]. Из представленных результатов следует, что для выявления потенциальной способности экстракта растения восстанавливать МТТ, протокол исследования должен включать позитивный контроль – питательная среда, экстракт растения и раствор МТТ. В случае выявления способности экстракта растения восстанавливать МТТ, замена питательной среды перед добавлением МТТ строго необходима [9].

Природный полифенол маллотоксин (роттлерин, 20 μM), выделенный из кожуры зрелых плодов *Mallotus philippensis* Lam. восстанавливает МТТ и оказывает выраженное цитостатическое действие. Маллотоксин подавляет пролиферацию MCF-7 клеток эпителиоподобной инвазивной аденокарциномы протоков молочной железы человека.

Гидрофобная природа маллотоксина позволяет молекуле проникать внутрь клеток. Молекула маллотоксина имеет пять фенольных гидроксильных групп, способных быть донорами протонов. Механизм действия маллотоксина, как предложено авторами, связан с его влиянием на потенциал внутренней мембраны митохондрий (разобщение окисления и фосфорилирования), усилением транспорта электронов и повышением активности дегидрогеназ, поглощением кислорода и окислением NADH, что и маскирует его цитотоксический (цитостатический, апоптогенный) эффект в исследовании МТТ [13].

Полифенол ресвератрол (3,4′,5-тригидрокси-*транс*-стильбен) восстанавливает МТТ только при высоких концентрациях (50–100 μM) и в течение длительного периода инкубации с МТТ (8–24 ч). При низких концентрациях ресвератрол (5–20 μM, 24 ч) стимулирует пролиферацию клеток лимфобластной лейкемии человека CEM-C_7H_2, достигая максимальных значений через 48 ч. При более высоких концентрациях 60–100 μM наблюдается выраженное цитотоксическое действие ресвератрола (24 ч). Клетки CEM-C_7H_2, обработанные низкими концентрациями ресвератрола, растут медленнее, чем контрольные клетки. Эти медленно растущие клетки обнаруживают повышенную способность восстанавливать МТТ, что не связано с количеством пролиферирующих клеток, а обусловлено, повышением метаболической активности у медленно растущих клеток [14].

Флавоноиды. Флавоноид кемферол (3,4′,5,7-тетрагидроксифлавон, флавонол), подобно маллотоксину, восстанавливает МТТ и проявляет цитостатическое действие, индуцируя сдвиг баланса про- и анти-апоптозных внутриклеточных белков в сторону апоптоза. Кемферол вызывает задержку клеточного цикла в фазе G1 и G2/M в клетках толстой кишки человека и ингибирует инвазию клеток рака молочной железы. Механизм анти-пролиферативного действия кемферола, вероятно, связан с его способностью подавлять поступление D-глюкозы в клетки [1, 9, 15, 16].

Кверцетин, полигидроксилированный флавонол восстанавливает МТТ и проявляет выраженное цитостатическое действие. Он вызывает задержку G2/M фазы клеточного цикла у клеток сквамозной эзофагальной карциномы, подавляет аэробный гликолиз в опухолевых клетках и их пролиферацию, а также оказывает про-апоптозное действие и угнетает ангиогенез. Кверцетин проявляет плейотропное действие на многие типы опухолевых клеток, включая клеточные линии рака желудка, толстой кишки, молочной железы, яичников, эпидермиса, печени, поджелудочной железы, карциномы головы и шеи человека [1, 17]. Необходимо отметить, что флавонол кверцетин более сильный восстановитель МТТ, чем флавонон лютеолин [14, 18].

Флавоноид лютеолин (флавон) не взаимодействует с МТТ [19]. Лютеолин подобно кверцетину подавляет пролиферацию опухолевых клеток, но не обнаруживает этого эффекта при исследовании цитотоксичности методом МТТ [18]. Механизм цитостатического действия лютеолина может быть связан с его способностью подавлять активность фактора транскрипции NF-κB, индуцировать апоптоз клеток и ингибировать ангиогенез [1].

С помощью трипанового синего показано, что ингибитор тирозинкиназ изофлавон генистеин подавляет пролиферацию неопластических линий клеток человека, таких как MCF-7 и Т-клеточной лейкемии (Jurkat), причем последняя линия клеток наиболее чувствительна к действию этого изофлавона. Генистеин ингибирует G2/M фазу клеточного цикла, подавляет активность NF-κB, проявляет про-апоптозное действие, повышает объем клеток и количество митохондрий. Генистеин подавляет процесс метастазирования. Генистеин усиливает восстановление МТТ клетками. Необходимо отметить, что именно с индукцией апоптоза связывают цитостатическое действие кверцетина, лютеолина, кемферола, генистеина и (–) эпигаллокатехин галлата (EGCG) [1, 11].

Способность флавоноидов восстанавливать МТТ может объясняться их структурой, а именно наличием С-3 гидроксильной группы (С кольцо). У изофлавона генистеина С-3 гидроксильная группа замещена, что снижает способность генистеина выступать в качестве восстановителя. Подобно, флаванол кверцетин (флавоноид) восстанавливает МТТ, тогда как

флавонон нарингин (флавоноид) не имеет этой активности [14]. Флавон апигенин (флавоноид) не взаимодействует с МТТ [19]. Производное кумарина – куместрол (бензофуранокумарин) практически не способен восстанавливать МТТ [9, 18]. Полифенол куркумин (1,7-бис-(4-гидрокси-3-метоксифенил)-1,6-гептадиен-3,5-дион) является слабым восстановителем МТТ по сравнению с флавонолом кверцетином [14]. Димерный процианидин и катехины, которые гидроксилированы по положению С-3 очень хорошо взаимодействуют с МТТ [19]. Эти результаты показывают, что высокое содержание флавонолов, флаван-3-олов и антоцианидинов в экстрактах лекарственных растений обусловливает восстановление МТТ в отсутствии клеток.

ВЫВОДЫ

Анализ современных литературных данных позволил разработать протокол наиболее подходящий для исследования цитотоксического действия жидких экстрактов растений методом МТТ. Показано, что замена питательной среды перед добавлением раствора МТТ к клеткам обеспечивает преемственность результатов, полученных в исследовании цитотоксичности экстрактов растении при их длительном воздействии (24 ч, 48 ч и 72 ч). В качестве позитивных контрольных образцов следует использовать следующие варианты: питательная среда и раствор МТТ; питательная среда, экстракт растения и раствор МТТ. Способность экстракта растения восстанавливать МТТ в отсутствии клеток является косвенным доказательством его антиоксидантной активности. Применение нескольких методов для оценки цитотоксического действия экстрактов растений позволит сделать более точное заключение о цитотоксичности исследуемого экстракта растения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Зверев Я.Ф. Противоопухолевая активность флавоноидов // Бюллетень сибирской медицины. 2019. Т. 18(2). С. 181–194. DOI: 10.20538/1682-0363-2019-2-181-194.
2. Singh S., Sharma B., Kanwar S.S., and Kumar A. Lead phytochemicals for anticancer drug development // Front Plant Sci. 2016. 7(1667). DOI: 10.3389/fpls.2016.01667.
3. Blacher E., Levy A., Baruch B.B., Green K.D., Garneau-Tsodikova S., Fridman M., and Stein R. Targeting CD38 in the tumor microenvironment; a novel approach to treat glioma // Can Cell Microenviron. 2015. 2. e486. DOI: 10.14800/ccm.486.
4. Яковлев Д.С., Султанова К.Т., Золотова Е.А., Гасайниева А.Г., Спасов А.А. Оптимизация МТТ-теста для определения цитотоксичности новых химических соединений на клеточной линии MCF-7 // Волгоградский научный журнал. 2020. Т. 1. С. 58–61. DOI: 10.24412/1995-7225-2020-1-58-61.
5. Perumal P.O., Mhlanga P., Somboro A.M., Amoako D.G., Khumalo H.M., and Khan R.M. Cytoproliferative and anti-oxidant effects induced by tannic acid in human embryonic kidney (HEK-293) cells // Biomolecules. 2019. 9(12). 767. DOI: 10.3390/biom9120767.
6. Stockert J.C., Horobin R.W., Colombo L.L., and Blazquez-Castro A. Tetrazolium salts and formazan products in Cell Biology: viability assessment, fluorescence imaging, and labeling perspective // Acta Histochem. 2018. 120(3). P. 159–167. DOI: 10.1016/j.acthis.2018.02.005.
7. Hayon T., Dvilansky A., Shpilberg O., and Nathan I. Appraisal of the MTT-based assay as a useful tool for predicting drug chemosensitivity in leukemia // Leuk Lymphoma. 2003. 44(11). P. 1957–1962. DOI: 10.1080/1042819031000116607.
8. Sylvester P.W. Optimization of the tetrazolium dye (MTT) colorimetric assay for cellular growth and viability // Methods Mol Biol. 2011. 716. P. 157–158. DOI: 10.1007/978-1-61779-012-6_9.
9. Bruggisser R., Von Daeniken K., Jundt G., Schaffner W., and Tullberg-Reinert H. Interference of plant extracts, phytoestrogens and antioxidants with the MTT tetrazolium assay // Planta Med. 2002. 68(5). P. 445–448. DOI: 10.1055/s-2002-32073.

10. Трухан И.С. Питательная среда как ключевой фактор культивирования клеток млекопитающих // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2018. № 12-1. С. 165–172.
11. Sims J.T., and Plattner R. MTT assays cannot be utilized to study the effects of STI571/GLEEVEC on the viability of solid tumor cell lines // Cancer Chemother Pharmacol. 2009. 64(3). P. 629–633. DOI: 10.1007/s00280-009-1004-y.
12. Shoemaker M., Cohen I., and Campbell M. Reduction of MTT by aqueous herbal extracts in the absence of cell // J Ethnopharmacol. 2004. 93(2-3). P. 381–384. DOI: 10.1016/j.jep.2004.04.011.
13. Maioli E., Torricelli C., Fortino V., Carlucci F., Tommassini V., and Pacini A. Critical appraisal of the MTT assay in the presence of rottlerin and uncouplers // Biol Proced Online. 2009. 11. P. 227–240. DOI: 10.1007/s12575-009-9020-1.
14. Bernhard D., Schwaiger W., Crazzolara R., Tinhofer I., Kofler R., and Csordas A. Enhanced MTT-reducing activity under growth inhibition by resveratrol in CEM-C7H2 lymphocytic leukemia cells // Cancer Lett. 2003. 195(2). P. 193–199. DOI: 10.1016/s0304-3835(03)00157-5.
15. Zhou Y., Zheng J., Li Y., Hu D.P., Li S., Chen Y.M., and Li H.B. Natural polyphenols for prevention and treatment of cancer // Nutrients. 2016. 8(8). E515. DOI: 10.3390/nu 8080515.
16. Kim K.Y., Jang W.Y., Lee J.Y., Jung D.Y., Ko J.Y., Yun Y.H., and Kim Y.H. Kaempherol activates G2-checkpoint of the cell cycle resulting in G2-arrest and mitochondria-dependent apoptosis in human acute leukemia Jurkat T cells // J Microbiol Biotechnol. 2016. 26(2). P. 287–294. DOI: 10.4014/jmb.1511.11054.
17. Srivastava S., Somasagara R.R., Hedge M., Tadi S.K., Srivastava M., Choudhary B., and Raghavan S.C. Quercetin, a natural flavonoid interacts with DNA, arrests cell cycle and causes tumor regression by activating mitochondrial pathway of apoptosis // Sci. Rep. 2016. 6. DOI: 10.1038/srep 24049.
18. Peng L., Wang B., and Ren P. Reduction of MTT by flavonoids in the absence of cells // Colloids Surf B Biointerfaces. 2005. 45(2). P. 108–111. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2005.07.014.
19. Wisman K.N., Perkins A.A., Jeffers M.D., and Hagerman A.E. Accurate assessment of the bioactivities of redox-active polyphenolics in cell culture // J Agric Food Chem. 2008. 56(17). P. 7831–7837. DOI: 10.1021/jf8011954.

YELLOW TETRAZOLE FOR CYTOTOXIC ASSAY OF PLANT BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES

Ph.D. in Biology Kabanov D.S.[a)], Kitaeva M.P., and Doc.Med.Sci., Fedotcheva T.A.
All-Russian Scientific Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants, 117216, Moscow, Grina Street 7, building 1, Russia
corresponding author – kabanovd1@rambler.ru

Abstract. In this mini-review we have discussed the known advantages and artifacts arising when cytotoxic effect of plant extract was assessed by reduction of 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT assay) to formazan by living cells. Based on acquired data the protocol of MTT assay has been adopted for cytotoxicity measurement of plant extracts. We are in complete agreement with notion that conditioned medium should be replaced by freshly one before addition of MTT solution. In addition, MTT assay may be useful tool for preliminary study of plant extract for its antioxidant capacity. The impact of flavonoids in MTT reduction by plant extract is also discussed.

***Keywords**: cytotoxicity, human tumor cell lines, flavonoids, polyphenolic compounds, 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide.*