

музея В. В. Брехову и директору национального парка «Хвалынский» В.А. Савинову.

Работа выполнялась при частичной финансовой поддержке СПбНЦ и Биологического отделения РАН.

Литература

Бобров Г. И. и др. Климатическая карта Саратовской области // Эколого-ресурсный атлас Саратовской области. Саратов, 1996. С. 8-10.

Ваньшин Ю. В. и др. Инженерно-геологическое районирование Саратовской области. // Эколого-ресурсный атлас Саратовской области. Саратов, 1996. С. 6-8.

Лавренко Е. М. Степи СССР // Растительность СССР. М.-Л., 1947. С. 87-90.

Лавренко Е. М. Европейско-сибирская лесостепная область // Геоботаническое районирование СССР. М.-Л. 1947. С.87-90.

Лавренко Е. М. и др. Степи Евразии .Л., 1991. С. 31-51.

Лазарев Л. В. и др. Ландшафтное районирование Саратовской области // Эколого-ресурсный атлас Саратовской области. Саратов, 1996. С. 15-16.

Макаров В. З. и др. Почвенная карта Саратовской области. Саратов. // Эколого-ресурсный атлас Саратовской области. Саратов, 1996. С. 13-14.

Малышева Г.С. , Малаховский П. Д. Зональные и подзональные границы степей на Приволжской возвышенности. //Труды XII съезда русского географического общества. Т.2, СПб., 2005, С. 134-137.

Черепанов С. К. Сосудистые растения России и сопредельных государств. СПб, 1995. 990 с.

УДК 581.192+582.682.4

ЗАВИСИМОСТЬ КАЧЕСТВЕННОГО И КОЛИЧЕСТВЕННОГО СОСТАВА АЛКАЛОИДОВ *CHELIDONIUM MAJUS L.* ОТ УСЛОВИЙ ПРОИЗРАСТАНИЯ.

Н.В. Машурчак, А.С. Кашин

Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского,
410012 Саратов, ул. Астраханская, 83, факс (8452) 24-16-96

Фармакологическое значение растениям *Chelidonium majus L.* (Papaveraceae), прежде всего, определяют биологически активные вещества из группы алкалоидов. Содержание их в растении может достигать 2% от сухого веса (Булатов и др., 1990). К настоящему времени у *C. majus* обнаружено около 20 веществ этой группы, которые можно отнести к трём основным подгруппам изохинолиновых производных: протобербериновым производным (коптизин, берберин), протопиновым алкалоидам (протопин, аллокриптопин) и бензофенантридиновым алкалоидам (хелидонин, хелеритрин, сангвинарин) (Булатов и др., 1990;

Первушкин и др., 1998). Доминирующими алкалоидами в вегетативных органах растений являются коптизин и хелидонин (Ивахно и др., 1995). Количественный и качественный состав алкалоидов в органах растений существенно зависят от условий произрастания (Собирова, 1991) и времени вегетации (Булатов и др., 1990).

Растения *C. majus* широко распространены в Саратовской области (Забалуев, 2000). При этом природно-климатические условия, в которых обитают растения этого вида в пределах области, существенно разнятся. К тому же вид является эвритопным, рудеральным и синантропным, т.е. строго не приурочен к определённым местам обитания.

В данной работе исследовали зависимость качественного и количественного состава алкалоидов в различных органах *C. majus* от условий произрастания и времени вегетации.

Материал и методика

Исследования проводили в вегетационный период 2004 г. в двенадцати естественных популяциях *C. majus*, обитающих в достаточно контрастных природно-климатических условиях. Районы обитания относительно равноудалены (в среднем на 100 км) от г. Саратова в северо-восточном (Базарно-Карабулакский р-н), юго-восточном (Краснокутский р-н), юго-западном (Красноармейский р-н) и северо-западном (Аткарский р-н) направлениях (рис. 1). Наиболее аридные условия существования растений складываются в Краснокутском районе, несколько менее аридные – в Красноармейском районе и, наконец, наименее аридные условия – в Б.-Карабулакском и Аткарском районах.

В Б.-Карабулакском и Аткарском районах исследовали популяции 4 – х типов биотопов: остепненный сосновый бор (ОСБ), широколиственный

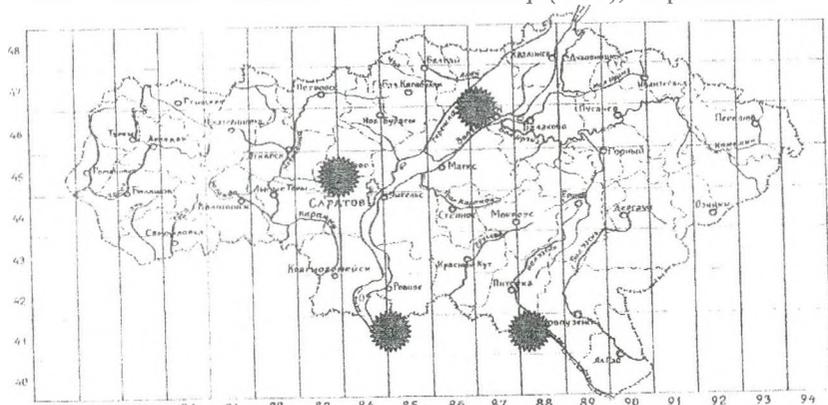


Рис. 1. Местонахождение исследованных популяций *C. majus*: 1 -Б.-Карабулакский; 2 - Аткарский; 3 - Красноармейский; 4 - Краснокутский районы Саратовской области

лес на плакоре (ШЛП), широколиственный пойменный лес (ШПЛ) и антропогенно трансформированная территория (Ант). В Краснокутском и Красноармейском районах исследовали популяции в 2х типах биотопов: широколиственный лес на плакоре и широколиственный пойменный лес.

Изъятие растений из вышеуказанных популяций осуществляли в три срока: весной (10 – 25 мая), ранним летом (1 – 28 июня) и поздним летом (1 – 28 июля). В каждый из сроков в популяции случайным образом изымали тридцать растений второго года жизни. Собранные растения высушивали при температуре 20-30 °С. Растения каждой популяции разделяли на три фракции: корни, стебли, листья, – и перемалывали с помощью мельницы. Для экстракции использовали раствор следующего состава: диэтиловый эфир – хлороформ – аммиак в соотношении 7 : 2,5 : 0,5. С каждой фракции анализировали навеску в один грамм, для экстракции 1 гр сухого вещества использовали 10 мл экстрагирующей смеси. Через сугки отфильтровывали надосадочную жидкость и повторно заливали осадок 10 мл экстрагирующей жидкости. Полученный раствор оставляли настаиваться ещё на 3 часа, после чего отфильтровывали и объединяли надосадочные жидкости с двух повторностей. Полученный экстракт переносили в делительную воронку и добавляли 5 мл 1% соляной кислоты при интенсивном встряхивании. После расслоения солянокислый раствор отбирали в отдельную колбу. К оставшемуся экстракту добавляли 2 мл 1% соляной кислоты. Переносили в делительную воронку при встряхивании, после расслоения солянокислый раствор снова отбирали. Все солянокислые растворы объединяли (Ермаков, Ярош, 1987).

Оставшуюся жидкость подщелачивали 10% раствором гидроксида натрия до pH=12 и экстрагировали дважды двумя мл хлороформа. Смесь упаривали до объёма 1 мл и использовали для определения качественного состава алкалоидов методом тонкослойной хроматографии (ТСХ).

ТСХ проводилась на алюминиевых пластинах «Sorbi fol». В качестве элюента использовалась система растворителей толуол – метанол – 25 %-ный аммиак в соотношении 20 : 5 : 0.2.) (Buzuk et al., 2003). С целью исключения "эффекта дуги" камера насыщалась парами элюента (Кирхнер, 1981).

Обнаружение алкалоидов проводили в УФ-свете, а также с помощью реактива Драгендорфа (Ермаков, Ярош, 1987). Затем рассчитывали Rf.

В качестве веществ-свидетелей использовали берберин и сангвинарин, которые были любезно предоставлены заведующим кафедрой биохимии СГМУ, проф. В.Б. Бородулиным.

Проведен полуколичественный анализ алкалоидов по интенсивности свечения в ультрафиолетовом свете. Интенсивность окраски пятна того или иного алкалоида определена по пятибалльной системе, соответствующей пяти уровням градации концентрации: 1) очень низкая; 2) низкая; 3) средняя; 4) высокая; 5) очень высокая. В статье анализируется динамика изменчивости состава некоторых из доминирующих алкалоидов *C. majus*.

Результаты и обсуждение

Всего на хроматограммах выявлено 21 вещество из группы алкалоидов. Каждому алкалоиду присвоен условный порядковый номер в соответствии с его положением. Берберину соответствует алкалоид 1, сангвинарину – алкалоид 20. Кроме сангвинарина к доминирующим в количественном отношении в частности относятся алкалоиды 16–19.

Сангвинарин на протяжении всего вегетационного периода 2004 года стабильно присутствовал в экстрактах всех фракций. При этом максимальное его содержание было в корнях, значительно более низкое – в стеблях и весьма незначительное – в листьях. В корнях несколько более высокая концентрация отмечена в популяциях остепнённого соснового бора, в остальных типах биотопов фактически не отличалась. В стеблях более высокая концентрация сангвинарина также отмечена в популяциях остепнённого соснового бора при фактической сходности таковой в остальных типах биотопов. В листьях же отмечено незначительно увеличение концентрации от популяций широколиственного пойменного леса к популяциям, произрастающим на антропогенно трансформированной территории (рис. 2).

На протяжении вегетационного периода общее содержание сангвинарина в растениях последовательно увеличивалась во всех исследованных популяциях, достигая максимума в позднелетний период. Весной оно было минимальным в растениях популяций антропогенно трансформированных территорий, а в популяциях остальных типов биотопов фактически не различалось. К позднему же лету оказывалось максимальным в растениях популяций остепнённого соснового бора при незначительности различий в популяциях остальных типов биотопов (рис. 3). Таким образом, наблюдалось более интенсивное накопление сангвинарина в растениях популяций остепнённого соснового бора и максимальная его концентрация к позднему лету в растениях популяций именно этого типа биотопа.

Имели место и различия в содержании сангвинарина в зависимости от районов обитания популяций. Так в экстрактах из стеблей сангвинарин отсутствовал весной в популяциях широколиственного леса на плакоре Б.-Карабулакского и Аткарского районов, а поздним летом – в популяции того же типа биотопа Краснокутского района. Но в экстрактах из листьев встречаемость, а соответственно и концентрация, сангвинарина была очень низкой, независимо от района произрастания.

Весьма сходная картина наблюдалась и в отношении группы алкалоидов, близких по R_f к сангвинарину (алкалоиды 16–19), особенно по алкалоидам 16, 18 и 19. Их концентрация также максимальной была в экстрактах из корней и минимальной – в экстрактах из листьев. Содержание их, за исключением алкалоида 17, в весенних сборах было максимальным в растениях популяций остепнённого соснового бора, и минимальным – в популяциях антропогенно трансформированных

территорий. Оно последовательно, правда, с различной интенсивностью возрастало к позднему лету. Основной прирост их количества был при этом в корнях и менее интен-

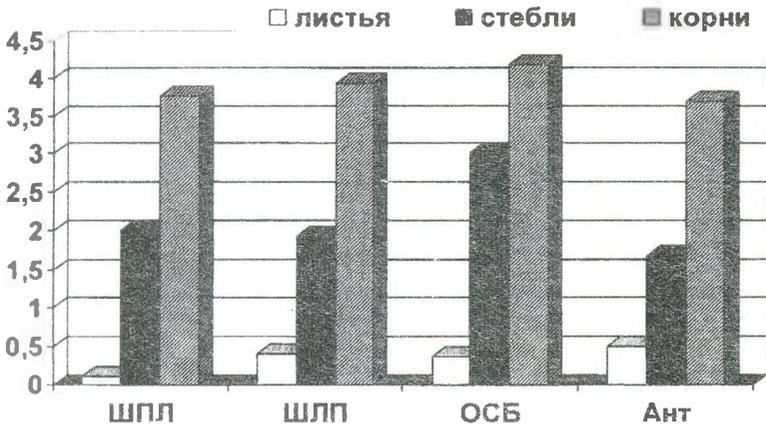


Рис. 2. Динамика изменения концентрации сангвинарина по фракциям. По оси ординат - средний уровень концентрации в условных единицах пятибалльной системы.

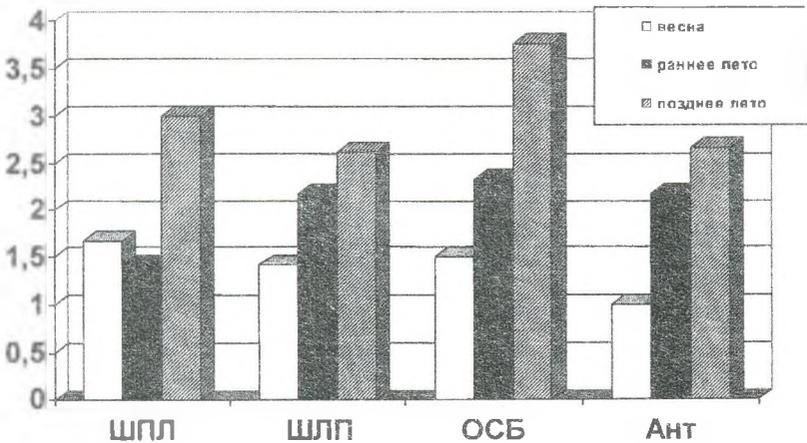


Рис. 3. Динамика изменения концентрации сангвинарина в течение вегетационного периода. По оси ординат - средний уровень концентрации в условных единицах пятибалльной системы.

сивный – в стеблях и листьях. Алкалоид 18 в большей части экстрактов из листьев вообще не обнаруживался на протяжении всего времени вегетации, за исключением экстрактов из раннелетних сборов в популяциях широколиственного пойменного леса из Б.-Карабулакского района и широколиственного леса на плакоре из Б.-Карабулакского и

Краснокутского районов, где отмечена его высокая концентрация. А алкалоид 16 отсутствовал в экстракте весеннего сбора из листьев популяции широколиственного пойменного леса из Аткарского района при довольно низкой концентрации в остальных экстрактах весеннего сбора.

Наиболее противоречивая картина выявлена для алкалоида 17. На протяжении всего вегетационного периода его концентрация была относительно низкой. Во всех районах в экстрактах из растений популяций остепнённого соснового бора и в экстракте весеннего сбора антропогенно трансформированных территорий он полностью отсутствовал.

Таким образом, в растениях *C. majus* концентрация доминирующих алкалоидов, по величине R_f близких к сангвинарину, возрастала от весны к позднему лету. Условия произрастания в остепнённом сосновом бору были более благоприятны для накопления этих алкалоидов. Минимальное содержание их чаще всего было характерно для растений популяций антропогенно трансформированных территорий.

Исследование частично выполнено за счёт средств ведомственной целевой программы «Развитие научного потенциала высшей школы (2006 – 2008 годы)» (проект РНП.2.2.3.1.2435).

Литература

Булатов А.А., Бузук Г.Н., Бузук М.Я. и др. Изменчивость качественного и количественного состава алкалоидов чистотела большого в течение вегетации // Хим.-фармац. журн. 1990. Т. 4, № 5. С. 50-53.

Ермаков А.И., Ярош Н.П. Определение алкалоидов и гликозидов // Методы биохимического исследования растений. Л., 1987. С. 292-348.

Забалуев А.П. Ресурсы лекарственных растений Саратовской области. Саратов, 2000. 144 с.

Ивахно С.Ю., Голованова Л.В., Станиловская Е.В., Кулешова Л.Н. Выделение алкалоидов из чистотела большого // Современные аспекты изучения лекарственных растений: Науч. тр. НИИФ. М., 1995. Т. 34. С. 184-189.

Кирхнер Ю. Тонкослойная хроматография. В 2-х т. Т. 2. М.: Мир, 1981. 523 с.

Первушкин С.В., Сохина А.А., Куркин В.А. и др. Некоторые аналитические и технологические аспекты исследования лекарственного сырья *Chelidonium majus* L. // Растит. Ресурсы. 1998. Т. 34, вып. 1. С. 97 - 103.

Собирова И.С. Изменчивость состава алкалоидов чистотела из различных мест произрастания // Фармация. 1991. № 5. С. 37-40.

Buzuk G. N., Lovkova M. Ya., Sokolova S. M., Tyutekin Yu. V. Genetic Aspects of the Relationship between Isoquinoline Alkaloids and Mineral Elements in Greater Celandine (*Chelidonium majus* L.) // Applied Biochemistry and Microbiology. 2003. Vol. 39, No. 1. P. 37-42.