

Том 15 номер 3(2)

ISSN 1990-5378

2013

**ИЗВЕСТИЯ
САМАРСКОГО НАУЧНОГО ЦЕНТРА
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК**

Главный редактор
В.П. Шорин

www.ssc.smr.ru

Факторы зональной дифференциации ландшафтов Южного Урала и Предуралья	
B.M. Павлейчик	672
Проблемы использования фитопланктона в гидробиологическом мониторинге рек высокоурбанизированных территорий (на примере реки Москвы)	
Д.В. Ростанец, К.П. Хазанова, В.М. Хромов	677
Проблемы утилизации ТБО на полигонах	
Т.А. Трифонова, Н.В. Селиванова, Л.А. Ширкин, О.Г. Селиванов, М.Е. Ильина	685
 БИОЛОГИЧЕСКИЕ РЕСУРСЫ: ФЛОРА	
Соотношение прироста по высоте и по биомассе у кустистых лишайников	
С.Ю. Абдульманова, С.Н. Эктова	688
Изучение антиоксидантной активности липидной фракции трутовика лекарственного (<i>Fomitopsis officinalis</i> (vill.) bond. et sing.)	
А.Ю. Айрапетова, Е.О. Сергеева, Л.С. Ушакова, С.Г. Тираспольская	692
Обзор растительных сообществ железнодорожных насыпей в городах Курской области	
Л.А. Арефьева	695
Состояние ценопопуляций <i>Medicago falcata</i> L. в условиях Центральной Якутии: изменчивость морфологических признаков и стратегия выживания	
Л.Г. Атласова	700
Фармако-технологическое исследование сухого экстракта пепларгии зональной	
Н.В. Благоразумная, И.В. Пицукова, Е.Ю. Благоразумная, А.А. Чахирова, В.А. Чахирова, Л.Н. Дуккардт	703
Ароматические аминокислоты в виноматериалах, шампанских и игристых винах из Дагестана	
О.К. Власова, Т.И. Даудова	706
Летучие вещества в виноматериалах в зависимости от технологии переработки и условий прозраствания винограда	
О.К. Власова, С.А. Масадова, З.К. Бахмуталеева	709
Накопление технологенных радионуклидов различными видами макромицетов в лабораторных условиях	
Д.В. Дементьев, Н.С. Мануковский, А.Я. Болсуновский, Ю.В. Александрова	712
Изучение гидрофильтрной фракции листьев и плодов ореха маньчжурского, прорастающего на юге Приморского края	
О.Г. Зорикова, С.К. Горохова, А.Ю. Маняхин, С.П. Зорикова	716
Динамика демографических характеристик ценопопуляций <i>Agrostis diluta</i> Kргзс., в долине Средней Лены	
В.Е. Кардашевская, Н.Н. Егорова	720
Урожайность съедобных грибов в подзоне средней тайги Кировской области	
Е.А. Лужинина, Т.Л. Егошина	728
Новые данные о растительных сообществах солонцовых почв в степной зоне (Россия и Казахстан)	
Т.М. Лысенко	731
Определение аллинина в надземной части лука медвежьего (<i>Allium ursinum</i>.) методом капиллярного электрофореза	
К.А. Манукян, С.П. Сенченко, Е.В. Компанцева	741

Интродукция шлемника байкальского в условиях юга Приморского края	
А.Ю. Маняхин, С.П. Зорикова, О.Г. Зорикова	744
Ресурсосберегающая технология хвоща полевого травы экстракта жидкого и разработка на его основе стоматологического клея	
Т.Ф. Маринина, Л.Н. Савченко, И.И. Клицина, В.И. Погорелов	748
Гигиеническая оценка влияния средства для полоскания полости рта на основе эфиромасличного растения шалфея сухостепного <i>Salvia tescnicola</i> Kloek. et Pobed. (Lamiaceae)	
Е.А. Млечко, В.А. Сагалаев	751
Использование осей соцветий аралии манчжурской для восстановления липидного обмена при алкогольной интоксикации	
Т.В. Момот, Н.Ф. Кушнерова	754
Роль водных макрофитов в круговороте органического вещества в предгорном озере Большое Миассово (Южный Урал)	
В.А. Мухин, Е.И. Вейсберг, Н.Б. Кунцева, Н.В. Золотарева, Е.Н. Подгавская	758
Исследование фотосинтетической активности растений в зависимости от высотного градиента	
Е.В. Пинякина, А.Т. Маммаев, М.Х-М. Магомедова, М.Ю. Алиева	762
Семейство Ровесниковые в флоре Волго-Уральского региона	
Т.И. Плаксина	765
Изучение индивидуальной изменчивости растений <i>Rhodiola rosea</i> L. в целях отбора ценных генотипов для микроклонального размножения	
И.И. Полетаева, С.О. Володина, В.В. Володин	769
Популяционные стратегии жизни избранных полукустарничков семейства бобовые (Fabaceae) в условиях антропогенного пресса	
Г.Н. Родионова, В.Н. Ильина	776
К предварительным итогам реинтродукции пиона тонколистного (<i>Raeonia tenifolia</i> L.) в природные биотопы Самарской области	
С.А. Розно, И.В. Рузева, А.В. Помогайбин, Л.М. Ковеленова	779
Изучение биохимических показателей <i>Betula pendula</i> Roth. в условиях городской среды	
Е.А. Скочилова, Е.С. Закамская	782
Некоторые аспекты репродуктивной биологии ресурсных видов растений при выращивании на Севере	
О.В. Скрыцкая, Г.А. Волкова, Л.А. Скутченко, Ж.Э. Михович, Г.А. Рубан, К.С. Зайнуллина	785
Характеристика некоторых сортов облепихи, интродуцированных в Ботанический сад Кабардино-Балкарского государственного университета	
Л.Х. Слонов, Т.Л. Слонов, С.Г. Козьминов, А.Ю. Паритов, Т.Х. Гогузиков	790
Особенности ценоотических отношений в одновидовых и смешанных посевах донника жёлтого (<i>Melilotus officinalis</i> L.)	
Е.Б. Смирнова, В.Н. Решетникова, Т.Ю. Макарова, Г.И. Караваева	793
Структура популяции эпифитного лишайника <i>Physcia stellaris</i> (L.) Nyl. на территории города Йошкар-Олы	
Ю.Г. Суетина	796
Дегидратины в почках <i>Betula pendula</i> Roth: особенности сезонной динамики	
Т.Д. Татаринова, А.А. Перк, В.В. Бубякина, А.Г. Пономарев, Л.В. Ветчинникова, И.В. Васильева	799
Состояние ценопопуляций <i>Calamagrostis langsdorffii</i> (Link) Trin. в условиях Лено-Вилюйского междуречья	
А.И. Федорова	802

УДК 50.009

ИЗУЧЕНИЕ ГИДРОФИЛЬНОЙ ФРАКЦИИ ЛИСТЬЕВ И ПЛОДОВ ОРЕХА МАНЬЧЖУРСКОГО, ПРОИЗРАСТАЮЩЕГО НА ЮГЕ ПРИМОРСКОГО КРАЯ

© 2013 О.Г. Зорикова^{1,2}, С.К. Горюхова¹, А.Ю. Маняхин^{1,2}, С.П. Зорикова^{1,2}¹Горнотаежная станция им. В.Л. Комарова ДВО РАН²Владивостокский государственный университет экономики и сервиса

Поступила в редакцию 27.05.2013

Исследован качественный состав гидрофильных фракций листьев и плодов ореха маньчжурского *Juglans mandshurica*, произрастающего на юге Приморского края. Выявленные группы веществ: кумарины, танины, флавоноиды и нафтохиноны устойчиво идентифицируются числовым хроматографическим профилем в течение всего вегетационного периода. Динамика накопления вторичных метаболитов разнонаправлена и не совпадает для различных групп сырья.

Ключевые слова: орех маньчжурский, вторичные метаболиты, динамика накопления, хроматографический профиль

Из всего богатства растительного мира, включающего около 300 тыс. видов высших растений, человек использует только одну сотую часть. Эти растения могут быть применены в виде лекарственных средств, пищевых добавок, окультурены и коммерциализированы. Дальний Восток России является регионом, наиболее перспективным для целенаправленного поиска сырья и создания новых лечебных препаратов. Продукционная флора Дальнего Востока представлена 1710 ботаническими видами растений, из них 1500 видов высших растений, что составляет 48% от числа видов дальневосточной флоры (3100). Из суммарной продукционной флоры выделяется флора лекарственных производителей, включающая 1100 видов. Применение лекарственной флоры Дальнего Востока в официальной медицине не превышает 1% от всего видового состава, плановой заготовке подлежат всего 35 наименований сырья [1]. Исследование уникальной и своеобразной флоры Дальнего Востока России и использование ее представителей в медицине, животноводстве, пищевой промышленности является в настоящее время актуальным.

Одним из активно используемых в медицине является род орех (*Juglans*). Представители этого рода применяются как в западной, так и восточной традиционных лечебных практиках. Данные литературных источников свидетельствуют о широком распространении представителей рода *Juglans*. Род *Juglans* растет в основном в теплоумеренных, субтропических и тропических районах северного

Зорикова Ольга Геннадьевна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, руководитель. E-mail: dyogst@mpu@mail.ru
 Горюхова Светлана Константиновна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник
 Маняхин Артем Юрьевич, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник. E-mail: tma84@mail.ru
 Зорикова Светлана Петровна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник. E-mail: si19@mail.ru

полушария, в южном полушарии орехи встречаются в Андах Южной Америки и Бразилии [2]. За пределами бывшего СССР – Балканский п-ов, Малая Азия, Иран, Афганистан, Юго-восточный Китай, Япония [3].

Juglans mandshurica L. – орех маньчжурский распространен в Приморье и в Приморье. По морскому побережью он достигает района Советской Гавани, в бассейне Амура крайним западным пунктом его произрастания является устье Буреи, северный – устье её притока Нимана, а северо-восточным – село Киселёвка. Маньчжурский орех чистых насаждений не образует, растет в составе смешанных кедрово-широколиственных лесов по долинам рек и на нижних поясах горных склонов до 500–550 м над уровнем моря. Чаще всего он встречается в долинах ильмово-ясеневых насаждений, где на гектаре растет до 20–40 деревьев [4]. Растения рода *Juglans* L. содержат разнообразные группы биологически активных веществ: моносеквины и триптереноиды, и другие азотсодержащие соединения, а также стероиды, в том числе фитостерины, флавоноиды, нафтохиноны и другие производные нафтилина, бензохиноны, диарилгентиноиды, фенольные кислоты, их эфиры, высшие жирные кислоты и алифатические алdehyды установленной структуры. Выделены жирные масла, дубильные вещества, а также эфирное масло и витамины B1, B2, C, PP, (3-каротин) [5]. В эксперименте спиртовой экстракт листьев ореха маньчжурского обладает стресс-протективными свойствами, повышает адаптационно-компенсаторные возможности эндокринной системы, тормозит развитие асцитичной опухоли Эрлиха, повышает число лейкоцитов в периферической крови. Сесквитерпеноиды и диарилгентиноиды проявляют цитотоксическую активность на клетках линии IC и карциномы, таксифолин, афзелин, кверцитрин, мириципридин, 1,2,6-триглюалиглюкопираноза и 1,2,3,6-тетраглюалиглюкопираноза – антикомплементарную

и цитотоксическую, 1-O-[α-L-арабино-фуранозил-(1→6)-β-D-глюкопиранозид] и 1-O-β-D-[6-O-(3",5"-дигидрокси-4"-метокси бензоил)]глюкопиранозид 1,4,8-триглюкозинафта-лина, 5-O-β-D-[6-O-(3",4",5"-тригидроксибен-зол)]глюкопиранозид 4a,5,8-тригидрокси-α-тер-валона активны в отношении ВИЧ-1 [5]. Для анализа содержания вторичных метаболитов в сырье ореха используются методы тонкослойной хроматографии (ТСХ), УФ-спектроскопии, высокоэффективной жидкостной хроматографии [6]. Идентификация биологически активных веществ в растительном сырье относится к необходимым этапам его исследования и стандартизации.

Цель работы: определение основных групп биологически активных веществ гидрофильной фракции листьев и плодов ореха маньчжурского и выявление сезонной динамики накопления вторичных метаболитов в сырье.

Первоначальным этапом изучения извлечений, как любой сложной многокомпонентной системы, является качественная характеристика состава, которая может включать не только идентификацию конкретных индивидуальных соединений, но и получение «отпечатков пальцев» или хроматографических профилей. При этом не предполагается обязательное «привязывание» конкретных химических структур, представленных на хроматографических профилях, сигналов. В настоящей работе для получения профилей использовали ОФ ВЭЖХ. Если рассматривать любую инструментальную хроматограмму как многочленный аналитический сигнал, то она может быть записана в числовом виде совокупности пар значений $tR_i - P_i$, где tR – величины, характеризующие удерживание (относительные времена удерживания tR или индекса удерживания ИУ Ri), P – интенсивности хроматографических сигналов (высоты Hi или площади Si). Подобную форму представления аналитической информации (числовую или графическую) неоднократно предлагали для решения задач различного уровня сложности, как предполагающих, так и не предполагающих идентификацию зарегистрированных компонентов [7]. Для растительных препаратов на монссырьевом основе положение наиболее характерных (обычно наибольше интенсивных) сигналов на хроматограммах

может быть рекомендовано как способ их идентификации [8].

Материалы и методы. Объектом исследования служили листья и плоды ореха маньчжурского *Juglans mandshurica*, выращиваемого в дендрарии Горнотаежной станции ДВО РАН. Образцы сырья были заготовлены в мае-сентябрь 2012 г. Исследование заключалось в качественном и полукачественном определении основных биологически активных соединений. Качественное и количественное определение проводили в извлечениях, полученных экстракцией 40% этанолом, методом обращенофазовой ВЭЖХ на хроматографе Shimadzu LC 10 VP с УФ-детектором, программным обеспечением LC Solution, колонкой Phenomenex Luna C18 (250×4,60 mm 5 micron), предколонкой Phenomenex C18. Использован градиентный режим элюирования смесью ацетонитрил – 0,1% H_3PO_4 . Детектирование проводили при длине волны 270 нм. Определение содержания флавоноидов проводили методом внешнего стандарта с использованием раствора кверцетина концентрации 0,1 мг/мл. Подтверждала идентификацию веществ методом УФ-спектроскопии на спектрометре Shimadzu UV-2501PC в диапазоне длин волн 225–400 нм. Интенсивности хроматографических пиков выражали в виде относительных площадей с последующим сравнением хроматографических профилей экстрактивных веществ различных видов сырья с целью выявления их различий для последующего подтверждения их присутствия в фитопрепаратах.

Результаты и обсуждение. В табл. 1, 2 приведены выборочные данные (опущены неинформативные слабые сигналы) для образцов ежегодных извлечений сырья листьев и плодов в течение вегетационного периода (май–сентябрь). Рассматриваемый полукачественный вариант интерпретации хроматографических профилей в числовом виде применен даже без указания на конкретные соотношения компонентов в сырье. С учетом воспроизводимости относительных времен удерживания (в среднем около ±0,01), главные сигналы на хроматограмме суммарного извлечения позволяют уверенно судить о наличии индивидуальных соединяющихся.

Таблица 1. Хроматографические профили гидрофильных извлечений листьев ореха маньчжурского

1 май		2 июня		3 июля		4 август		5 сентябрь	
tR _{отн}	S _{отн}								
0,064	0,02	0,064	0,03	0,064	0,05	0,064	0,03	0,064	0,04
0,099	0,01	0,099	0,01	0,099	0,08	0,099	0,13	0,099	0,01
-	-	-	-	0,439	0,03	0,441	0,01	0,450	0,05
0,523	0,02	0,523	0,01	0,525	0,01	0,524	0,02	0,525	0,06
1,059	0,03	1,059	0,01	1,059	0,03	1,060	0,03	1,060	0,01
1,349	0,07	1,349	0,02	1,349	0,03	1,349	0,07	1,349	0,07

Как показано в табл. 1 в сырье листьев ореха маньчжурского можно выделить четыре группы веществ с относительными временами удерживания

0,06–0,09; 0,44–0,52; 1,06 и 1,35. Анализ хроматограмм и литературные источники [9, 10] позволяют предполагать, что первая группа веществ

представлена кумаринами, во второй и третьей группах представлены танины и вещества флавоноидной природы и четвертой группе соответствуют нафтохиноны. Одно из веществ флавоноидной природы с относительным временем удерживания 0,44 фиксируется только в июле.

Динамику накопления веществ (рис. 1) в течение вегетационного периода, прослеживали по относительным площадям пиков. Показано, что минимальное количество танинов, флавоноидов и нафтохинонов приходится на июнь, период завязи плодов, далее по сезону их количество несколько возрастает, достигая максимума в июле-августе и снижается в конце вегетационного периода.

Показано, что минимальное количество танинов, флавоноидов и нафтохинонов приходится на июнь, период завязи плодов, далее по сезону их количество несколько возрастает, достигая максимума к концу вегетационного периода, исключая группу флавоноидов, количество которых после максимума в июле-августе к концу сезона снижается. В

количественном отношении преобладают кумарины, содержание которых в листьях возрастает, достигая максимума в августе, и снижается в конце вегетационного периода.

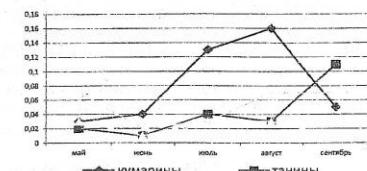


Рис. 1. Динамика накопления веществ в сырье листьев *J. mandshurica* за вегетационный период

В сырье плодов зарегистрированы пики веществ, характеризующиеся теми же относительными временами удерживания, что и в сырье листьев (табл. 2), что позволяет предполагать аналогичный набор вторичных метаболитов, а именно: кумарины, танины, флавоноиды и нафтохиноны.

Таблица 2. Хроматографические профили гидрофильных извлечений плодов ореха маньчжурского

	2	3	4	5
$t_{\text{отн}}$	$S_{\text{отн}}$	$tR_{\text{отн}}$	$S_{\text{отн}}$	$tR_{\text{отн}}$
0,064	0,02	0,064	0,02	0,064
0,099	0,12	0,099	0,07	0,099
0,453	0,09	0,453	0,03	0,452
0,526	0,07	0,526	0,06	0,026
1,060	0,02	1,060	0,01	1,065
1,349	0,07	1,349	0,08	1,349
	1,349	0,07	1,349	0,06

Полуколичественный анализ накопления веществ в сырье плодов (рис.2) показал, что кумарины и танины демонстрируют сходную динамику, причем максимальное количество веществ отмечается в стадии формирования плода (завязи), постепенно снижается почти в 3 раза к августу и возрастает (на 100% - кумарины; 33% - танины) к стадии полной зрелости в сентябре.

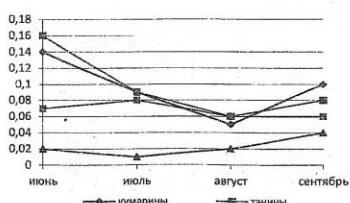


Рис. 2. Динамика накопления веществ в сырье плодов *J. mandshurica* за вегетационный период

Содержание флавоноидов и нафтохинонов в сырье плодов слабо изменяется в течение вегетационного сезона, причем динамика этих групп веществ разнонаправлена. В пробах за июль отмечается минимальное содержание флавоноидов и максимальное – нафтохинонов, обратное соотношение наблюдается в сентябре. Данные, полученные при анализе УФ-спектра (рис. 3) подтверждают вышеописанные результаты. Выраженный максимум спектра при $\lambda=265-280$ нм характеризует наличие кумаринов, второй слабо выраженный максимум 325-340 нм подтверждает присутствие нафтохинонов.

Выходы: проведенные исследования показали, что основными биологически активными веществами гидрофильных фракций листьев и плодов ореха маньчжурского *J. mandshurica*, произрастающего на юге Приморского края, являются кумарины, танины, флавоноиды и нафтохиноны. Выявленные группы веществ устойчиво идентифицируются числовым «хроматографическим профилем» в течение всего вегетационного периода. Динамика накопления вторичных метаболитов разно-

направлена и не совпадает для различных групп сырья. Для сырья листьев максимальное накопление вторичных метаболитов приходится на вторую половину вегетационного сезона (август-сентябрь), плоды ореха маньчжурского наиболее богаты биологически активными веществами в начале развития. Полученные результаты могут использоваться для разработки рекомендаций по заготовке сырьевых листьев и плодов ореха маньчжурского.

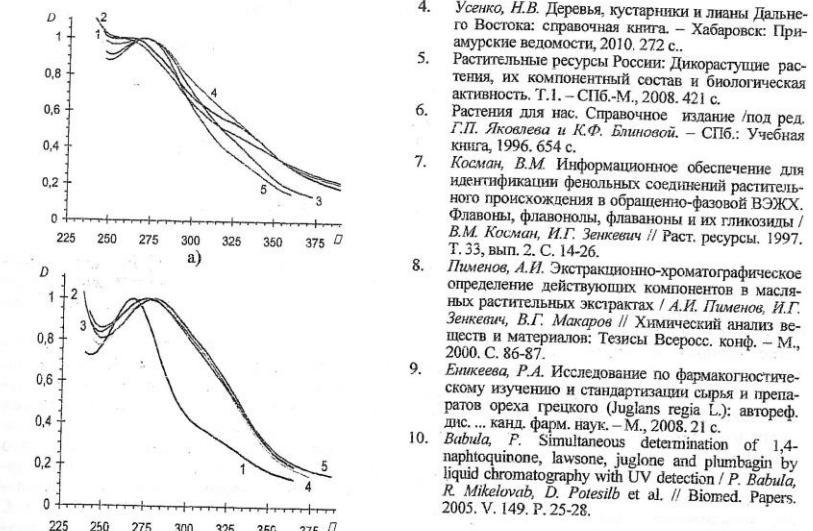


Рис. 3. УФ характеристика сырья листьев (а) и плодов (б) *J. Mandshurica* (1-5 номера проб сырья по времени отбора)

STUDYING OF HYDROPHILIC FRACTION OF LEAVES AND FRUITS OF NUT MANCHURIAN, GROWING IN THE SOUTH OF PRIMORSKIY KRAI

© 2013 O.G. Zorikova^{1,2}, S.K. Gorokhova¹, A.Yu. Manyakhin^{1,2}, S.P. Zorikova^{1,2}

¹Mountain-taiga Station named after V.L. Komarov FEB RAS
²Vladivostok State University of Economy and Service

The qualitative structure of hydrophilic fractions of leaves and fruits of nut of the manchurian *J. mandshurica* growing in the south of Primorskiy Krai is investigated. The revealed groups of substances: benzopyrones, tannins, flavonoids and naphthoquinones are steadily identified by numerical "chromatographic profile" during the whole vegetative period. Dynamics of accumulation the secondary metabolites is multidirectional and doesn't coincide for various groups of raw materials.

Key words: nut manchurian, secondary metabolites, dynamics of accumulation, chromatographic profile

Olga Zorikova, Candidate of Biology, Senior Research Fellow, Chief. E-mail: dvogismp@mail.ru; Svetlana Gorokhova, Candidate of Biology, Senior Research Fellow, Artem Manyakhin, Candidate of Biology, Senior Research Fellow. E-mail: mau84@mail.ru; Svetlana Zorikova, Candidate of Biology, Senior Research Fellow. E-mail: sl19@mail.ru