

УДК 577.1

СЕЗОННАЯ ДИНАМИКА СОДЕРЖАНИЯ СУММЫ АЛКАЛОИДОВ И СВОБОДНЫХ АМИНОКИСЛОТ В *CARAGANA FRUTEX* (FABACEAE)

©2013 М.Р. Ахметова, Н.И. Федоров, Г.В. Шендель, Я.О. Гуркова

Институт биологии Уфимского научного центра РАН, г. Уфа

Поступила 20.06.2013

Проанализировано содержание суммы алкалоидов и суммы свободных аминокислот в ветвях и листьях *Caragana frutex* в течение вегетационного периода. Наибольшее содержание суммы алкалоидов в растениях выявлено в начале сезонного развития на стадии бутонизации и снижается по мере сезонного развития к концу вегетации, сходный характер имеет и динамика содержания суммы аминокислот. Наибольшее содержание для свободных аминокислот отмечено для аспарагина, глутамина, пролина, аргинина, γ -аминомасляной кислоты.

Ключевые слова: алкалоиды, свободные аминокислоты, *Caragana frutex*, сезонная динамика.

Род *Caragana* Lam. относится к числу обширных родов сем. *Fabaceae* Lindl. и насчитывает 90 видов [1], на территории России он представлен 15 видами [2]. Многие виды этого рода используются в народной и традиционной медицине, так например *Caragana spinosa* (L.) Vahl ex. Hornem. используется как противовоспалительное средство, для лечения острых и хронических заболеваний внутренних органов и систем, нарушений обмена веществ [3], также разработана дерматологическая мазь с экстрактом этого растения [4]. Алкалоиды обнаружены во многих видах рода, но состав и содержание известны только для двух видов – *C. sinica* (Buc'hoz) Rehder и *C. spinosa*. В *C. sinica* обнаружены индольные алкалоиды, растения этого вида также используются в тибетской медицине [5], экстракт этого растения входит в состав кремов и пластырей. В *C. spinosa* содержание алкалоидов варьировало от 1,5-2,0 мг/г и они относятся к производным хинолина [6]. К числу недостаточно исследованных видов этого рода принадлежит карагана кустарниковая (*Caragana frutex* (L.) C. Koch) – небольшой (0,5-1,5 м) сильноветвистый кустарник с прямыми тонкими побегам. Листья с короткими черешками ложно-пальчато-сложные. Вид распространен в южной части Восточно-Европейской равнины и в ряде регионов Азии. Растет среди кустарников в степи и на остепенных лугах, сухих склонах, береговых обрывах и террасах, в светлых лесах и на опушках [7]. В ветвях и листьях *C. frutex* содержатся флавоноиды, сапонины, фенолкарбоновые кислоты, алкалоиды, витамины: С, каротин др. Растения *C. frutex* применяют в народной медицине в виде настоя при экссудативном диатезе. Водный экстракт проявляет антибактериальную активность [8]. В *C. frutex* состав алкалоидов пока не изучен, но известно содержание суммы алкалоидов [9]. Исходя из литературных данных о составе алкалоидов в близких видах (*C. sinica*, *C. spinosa*), можно предположить, что в

C. frutex содержатся или индольные, или хинолиновые алкалоиды [4]. На Южном Урале этот вид широко распространен, и он может быть источником сырья для производства высокоэффективных медицинских препаратов.

Целью нашей работы было изучение динамики содержания суммы алкалоидов, состава и содержания свободных аминокислот в различные фазы развития растений вида *Caragana frutex*.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Объектом исследования был кустарниковый вид *Caragana frutex*. Для изучения сезонной динамики содержания свободных аминокислот и суммы алкалоидов отбирались образцы листьев и молодых ветвей (прироста прошлого и текущего годов) на следующих стадиях сезонного развития: начало бутонизации (набухшие почки листьев), бутонизация, начало плодоношения, конец вегетации. Образцы растений были собраны в Уфимском районе Республики Башкортостан на участке дубняка караганового, приуроченного к плоской вершине холма. Растительный материал высушивали до воздушно-сухого состояния и измельчали до размера частиц 1 мм. Свободные аминокислоты извлекали из сырья 70%-ным этиловым спиртом. Состав и количественное содержание аминокислот определяли на аминокислотном анализаторе Т-339М (Чехия) в системе литиевых буферов. Упаренный экстракт разводили в цитрат-литиевом буфере (рН 2.2) и наносили на ионообменную колонку.

Идентификацию и количественное содержание свободных аминокислот в исследуемых образцах проводили по результатам разделения стандартной смеси аминокислот. Во всех случаях рассчитывали средние значения из трех биологических и трех аналитических повторностей и их стандартные ошибки.

Сумму алкалоидов из растений извлекали методом исчерпывающей экстракции [10]. Для анализа на содержание суммы алкалоидов брали измельченные образцы массой 50г (точная навеска). В качестве экстрагента использовали 70%-ный водный ацетон. Экстракцию повторяли до полного извлечения алкалоидов. Полнота экстракции проверялась качественной реакцией на третичный азот в молекуле алкалоидов с кремневольфрамовой кислотой. Объединенные вы-

Ахметова Миляуша Ринатовна, к.б.н., старший научный сотрудник, e-mail: akhmetova@anrb.ru; Федоров Николай Иванович, д.б.н., зав. лабораторией, e-mail: fedorov@anrb.ru; Шендель Галина Викторовна, научный сотрудник, e-mail: akhmetova@anrb.ru; Гуркова Яна Олеговна, младший научный сотрудник, e-mail: grkv2@yandex.ru.

тяжки фильтровали на воронке Бюхнера, затем ацетон отгоняли на роторном испарителе, остаток подкисляли 3%-ным раствором серной кислоты до pH 1-3, экстрагировали из них дихлорэтаном органические соединения неалкалоидного характера. Водный раствор, содержащий алкалоиды, подщелачивали до pH 9-12 карбонатом натрия или аммиаком. Далее алкалоиды исчерпывающе экстрагировали дихлорэтаном и высушивали с помощью безводного сульфата натрия. Органический растворитель отгоняли сначала на роторном испарителе, затем его остатки удаляли в глубоком вакууме. Доведенный до постоянной массы сухой остаток взвешивали на аналитических весах.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Содержание суммы алкалоидов в ветвях и листьях *C. frutex* варьирует от 0,5-2,6 мг/г (табл.), что выше, чем в *C. spinosa* [6]. Наибольшее содержание суммы алкалоидов в ветвях отмечается на стадии бутонизации в ветвях 2,6 мг/г, что связано с интенсивным ростом и закладкой генеративных органов и снижается по мере сезонного развития. Содержание суммы алкалоидов в листьях достаточно высокое (2,2 мг/г), правда на стадии бутонизации ниже, чем в ветвях, а в фазу начала плодоношения выше, чем в ветвях.

Анализ содержания суммы свободных аминокислот в листьях *C. frutex* показал, что их содержание выше на стадии бутонизации и снижается по мере сезонного развития с 16,84 мг/г до 9,86 мг/г (на стадии начала плодоношения) и, соответственно в ветвях 26,302 мг/г до 7,01 мг/г, что имеет сходный характер с сезонным изменением содержания суммы алкалоидов (табл.).

Что касается содержания свободных аминокислот,

то более 1 мг/г от сухой массы отмечено только для пяти аминокислот: аспарагина, глутамина, пролина, аргинина, γ -аминомасляной кислоты. В молодых ветвях *C. frutex* преобладает аспарагин, который преимущественно образуется при недостатке углеводов в растениях [9]. Две другие аминокислоты – аргинин и пролин – играют роль в устойчивости растений к низким температурам [10, 11]. В молодых ветвях *C. frutex* их содержание выше в начале вегетации, когда еще бывают низкие температуры, и снижается по мере сезонного развития. Достаточно высокое содержание в растениях *C. frutex* имеют также γ -аминомасляная кислота. Содержание γ -аминомасляной кислоты в листьях выше в период интенсивного роста, что, вероятно, связано с тем, что одной из функций γ -аминомасляной кислоты является участие в регуляции роста и развития растений [12]. У зимующих растений аргинин и пролин в сочетании с сахарозой защищают клеточные мембраны от повреждения морозом [11]. Имеется также предположение, что аргинин может приостанавливать гидролиз белков [13], и тем самым способствовать их стабилизации, повышая морозостойкость растения [14]. Кроме того растительные организмы способны корректировать водный потенциал клеток при осмотическом стрессе путем дополнительного синтеза пролина. [15].

Таким образом, по мере вегетационного периода динамика содержания суммы алкалоидов и суммы аминокислот имеют сходный характер, выше в начале сезонного развития в период интенсивного роста и снижается к концу вегетации. Эта закономерность позволяет утверждать, что вышеуказанные аминокислоты связаны с биосинтезом алкалоидов растений вида *C. frutex* в течение вегетационного периода.

Таблица. Содержание свободных аминокислот и суммы алкалоидов от сухой массы в *Caragana frutex*, мг/г

Аминокислоты	Содержание свободных аминокислот и суммы алкалоидов от сухой массы в <i>Caragana frutex</i> , мг/г			
	начало бутонизации	бутонизация	начало плодоношения	конец вегетации
	ветви	листья ветви	листья ветви	ветви
Валин	0,315	0,296 0,184	0,263 0,077	0,046
Лейцин	0,155	0,372 0,077	0,111 0,075	0,008
Лизин	0,242	0,64 0,202	0,383 0,162	0,079
Аспарагиновая кислота	0,09	0,683 0,233	0,66 0,32	0,058
Аспарагин	2,725	2,738 7,238	1,529 5,987	1,075
Глутаминовая кислота	0,095	0,753 0,431	0,222 0,266	0,09
Глутамин	1,468	3,509 5,893	1,613 3,183	0,828
γ -аминомасляная кислота	0,159	1,572 0,241	0,725 0,362	0,016
Гистидин	0,675	0,421 0,71	0,336 0,501	0,267
Пролин	9,372	2,16 6,124	1,819 3	3,302
Изолейцин	0,201	0,45 0,086	0,182 0,092	0,158
Треонин	0,233	0,511 0,271	0,247 0,118	0,062

Серин	0,344	<u>0,868</u> 0,544	<u>0,41</u> 0,207	0,102
Глицин	<u>0,037</u>	<u>0,1</u> 0,134	<u>0,072</u> 0,062	<u>0,044</u>
Аланин	0,213	<u>0,874</u> 0,381	<u>0,632</u> 0,253	0,15
Цистин	<u>0,025</u>	<u>0,034</u> 0,036	<u>0,038</u> 0,017	0,009
Метионин	<u>0,026</u>	<u>0,036</u> 0,047	<u>0,031</u> 0,014	0,029
Аргинин	<u>1,428</u>	<u>0,145</u> 3,289	<u>0,085</u> 0,56	<u>0,398</u>
Тирозин	<u>0,125</u>	<u>0,346</u> 0,116	<u>0,301</u> 0,134	<u>0,099</u>
Фенилаланин	<u>0,136</u>	<u>0,332</u> 0,065	<u>0,201</u> 0,071	<u>0,191</u>
Сумма АК	<u>18,064</u>	<u>16,84</u> 26,302	<u>9,86</u> 15,461	<u>7,011</u>
Сумма алкалоидов	<u>1,7</u>	<u>2,2</u> 2,6	<u>2,2</u> 1,5	<u>0,5</u>

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. <http://www.theplantlist.org/browse/a/leguminosae/caragana/>
2. Чинбантын С. Род *Caragana* Lam. (Систематика, экология, география, история развития и хозяйственное значение): Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. СПб., 1997. 48 с.
3. Блинова К.Ф., Куваева В.Г. Лекарственные растения тибетской медицины Забайкалья // Труды ЛХФИ. Т. XIX: Вопросы фармакогнозии. Вып. 3. Л., 1965. С. 163-178.
4. Gang Ch., Hongfeng L., Jiannong Y., Changqi H. Determination of hypaphorine and oligomeric stilbenes in the root of *Caragana sinica* by capillary electrophoresis with electrochemical detection // Talanta. 2001. V. 54. P. 1067-1076.
5. Jiangsu New Medical College. A Dictionary of Chinese Traditional Drugs, V. 1. Shanghai People's Press, Shanghai, 1977. P. 1402-1403.
6. Сафонов В.В., Кабилов К.Э., Саканян Е.И., Лесиовская Е.Е. Разработка состава, технологии методов анализа дерматологической мази с экстрактом караганы колючей *Caragana spinosa* (L.) Vahl ex. Hornem // Фармация на современном этапе, проблемы и достижения: Сб. науч. тр. ВНИИФ. 2000. Т. 39. Ч. 1. С. 285-288.
7. Иренчий А.М., Мишина С.А. Суммарное содержание биологически активных веществ различных групп в побегах *Caragana spinosa* (L.) Vahl ex. Hornem // Раст. ресурсы. 2004. Вып. 3. С. 96-100.
8. Губанов И. А. и др. 788. *Caragana frutex* (L.) C. Koch – Карагана кустарниковая, или Дереза // Илл. определитель растений Средней России. Т. 2. М.: Товарищество КМК, 2003. С. 233.
9. Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование. Т. 3. Семейства *Hudrangeaceae-Haloragaceae*. Л., 1987. 326 с.
10. Федоров Н.И., Хазиев Ф.Х., Габбасова И.М., Сулейманов Р.Р., Жигунова С.Н., Лугманова М.Р., Михайленко О.И., Гарипов Т.Т. Биологические ресурсы Южного Урала: фундаментальные основы рационального использования. Уфа, 2009. 256 с.
11. Степаненко Б.Н. Органическая химия. М., 1957. 411 с.
12. Пleshков Б.П. Биохимия сельскохозяйственных растений. М.: Колос. 1975. 496 с.
13. Sagisaka S., Araki T. Amino acid pools in perennial plants at the wintering stage and at the beginning of growth // Plant, Cell Physiol. 1983. V. 24. P. 479-494
14. Шуляковская Т.А., Ветчинникова Л.В., Ретин А.В., Шредере С.М. Динамика содержания аминокислот в почках и листьях *Betula pubescens* и *B. pendula* (*Betulaceae*) в течение вегетационного периода // Раст. ресурсы. 2007. Вып. 4. С. 87-94.
15. Bown A.W., Shelp B.J. The metabolism and function of γ -aminobutyric acid // Plant Physiol. 1997. V. 115. N 1. P. 1-5.
16. Shibaoka H., Thimann D.V. Antagonism between kinetin and amino acids. Experiments on the mode of cytokinins // Plant. Physiol. Lancaster. 1970. V. 46. N 1. P. 162-168.
17. Durzan D.I. Nitrogen metabolism of *Picea glauca* Seasonal changes of free aminoacids in buds, shoots, apices and leaves and the metabolism of uniformly labelled C-1- arginine by buds during the onset of dormancy // Can. J. Bot. 1968. V. 46. N 7. P. 909-919.
18. Медведев С.С. Физиология растений. СПб., 2004. 336 с.

THE SEASONAL DYNAMICS OF AMINO ACIDS CONTENT AND TOTAL ALKALOID IN *CARAGANA FRUTEX* (FABACEAE)

©2013 M.R. Akhmetova, N.I. Fedorov, G. V. Shendel, Ya.O. Gurkova

Institute of Biology, Ufa Sci. Centre of RAS, Ufa

Free amino acids content and total alkaloid in branches and leaves of *Caragana frutex*, have been studied during the vegetative period. The highest content of the sum of total alkaloid in plants has been revealed in the beginning of seasonal development. During intensive grows the total alkaloid above accompanied by the high content of the sum of amino acids.

Key words: amino acids, alkaloids, seasonal dynamic, *Caragana frutex*.

Milyausha, Akhmetova, Candidate of Biology, senior researcher, e-mail: akhmetova@anrb.ru; Nikolay Fedorov, Doctor of Biology, head of laboratory, e-mail: fedorov@anrb.ru; Galina Shendel, researcher, e-mail: akhmetova@anrb.ru; Yana Gurkova, junior researcher, e-mail: grkv2@yandex.ru