

**ИССЛЕДОВАНИЕ МАЛАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ  
ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ СЕМЕЙСТВА ГРЕЧИШНЫЕ**

© 2015 А.В. Воронин, Д.Е. Редкокашин, И.Ф. Шаталаев

Самарский государственный медицинский университет

Статья поступила в редакцию 29.10.2015

В данной статье приводятся данные по изучению изоферментного спектра и относительной активности молекулярных форм малаздегидрогеназы сырья лекарственных растений семейства Гречишные методом электрофореза в 7,5% полиакриламидном геле, а также изучается корреляция относительной активности малаздегидрогеназы и флавоноидов горца птичьего и горца перечного. *Ключевые слова:* малаздегидрогеназа, молекулярные формы, электрофорез, флавоноиды, горец птичий, горец перечный, гречишные

Горец птичий (*Polygonum aviculare* (L.), сем. гречишные – *Polygonaceae*), горец перечный (*Polygonum hydropiperis* (L.), сем. гречишные – *Polygonaceae*) являются фармакопейными растениями и применяются в традиционной и народной медицине [3]. Данное обстоятельство обусловлено широким спектром фармакологической активности. Препараты на основе лекарственного растительного сырья представленных растений обладают диуретическим, кровоостанавливающим, обезболивающим и противовоспалительным действием [4]. Выраженность фармакологического действия лекарственного растительного сырья напрямую связана с содержанием биологически активных веществ в заготовленном сырье [3]. Количество биологически активных соединений в лекарственном сырье может значительно варьировать как в зависимости от процессов заготовки, сушки, так и от активности ферментов [1]. Оксидоредуктазы – это ключевой класс ферментов, катализирующий реакции, лежащие в основе процесса биологического окисления [7]. Таким образом, исследование оксидоредуктаз лекарственных растений семейства гречишные представляет собой интерес для понимания окислительных процессов, протекающих в клетках растений, и роли ферментов в накоплении биологически активных веществ в заготавливаемом сырье [6, 7].

Целью исследования является изучение изоферментного спектра малаздегидрогеназы и влияния ее активности на содержание флавоноидов в лекарственном растительном сырье семейства

Гречишные, что позволит в перспективе обосновать оптимальные условия сушки лекарственного растительного сырья горца птичьего и горца перечного с целью максимальной сохранности биологически активных веществ.

Для достижения цели решались следующие конкретные задачи:

- определение структурных особенностей (изоферментного спектра) и относительной активности молекулярных форм малаздегидрогеназы в лекарственном растительном сырье горца птичьего и горца перечного;

- установление зависимости «активность малаздегидрогеназы – содержание действующих веществ группы флавоноидов».

В качестве объектов исследования использовались образцы воздушно-сухого лекарственного сырья травы горца птичьего и горца перечного, высушенные при температуре 30 °С, а также образцы промышленной заготовки, высушенные при температуре 60 °С.

Для выявления структурных особенностей малаздегидрогеназы, фракционного состава неспецифических белков применяли метод электрофореза в 7,5% полиакриламидном геле [5, 6]; количественное определение флавоноидов в исследуемых образцах проводили методом спектрофотометрии [3].

Во всех образцах сухого лекарственного растительного сырья вне зависимости от условий сушки активность малаздегидрогеназы не выявлялась.

Исследуемые образцы сырья выдерживали в условиях повышенной влажности при температуре 20°С в течение 120 час [5].

В образцах сырья горца птичьего наблюдали следующие особенности проявления активности малаздегидрогеназы:

- после 24 часов экспозиции в условиях повышенной влажности в образцах воздушно-сухого сырья отмечали две активные зоны, отличающиеся по относительной электрофоретической

---

Воронин Александр Васильевич, кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры химии фармацевтического факультета. E-mail: dimtmi2000@mail.ru

Редкокашин Дмитрий Евгеньевич, ассистент кафедры химии фармацевтического факультета.

E-mail: redkokashin@inbox.ru

Шаталаев Иван Федорович, доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой химии фармацевтического факультета.

подвижности: МДГ-1 и МДГ-2. В зоне активности МДГ-1 находится одна молекулярная форма с ОЭП=0,65. Зона активности МДГ-2 представлена тремя молекулярными формами, причем относительная активность молекулярной формы с ОЭП=0,44 составляет 71,3%.

В образцах сырья горца птичьего промышленной сушки после аналогичной экспозиции активность малатдегидрогеназы не выявлялась:

- после 72 часов экспозиции в условиях повышенной влажности – в воздушно-сухом сырье отмечали также две активные зоны, каждая из которых представлена одной молекулярной формой: МДГ-2 с значением ОЭП=0,41 и высокомолекулярная МДГ-3 с ОЭП=0,21. Преобладает активность МДГ-2 – значение относительной активности составляет около 99%.

В образцах промышленной сушки после экспозиции 72 часов малатдегидрогеназа выявляется в виде зоны МДГ-2, представленной одной молекулярной формой (ОЭП=0,39).

При выдерживании образцов сырья горца птичьего в условиях повышенной влажности в течение 120 часов: для воздушно-сухого сырья также отмечали две активные зоны МДГ-2 и высокомолекулярную МДГ-3. Каждая зона была представлена одной молекулярной формой со значениями ОЭП 0,2 и 0,53; при этом значительно преобладала активность МДГ-2 – значение относительной активности 96%.

В образцах промышленной сушки при аналогичной экспозиции отмечали две зоны активности МДГ-2 и МДГ-3, в каждой зоне по одной молекулярной форме со значениями ОЭП, близкими значениям ОЭП для образцов воздушно-сухого сырья. Относительная активность МДГ-2 составляла 38,3%, МДГ-3 – 61,7%, т.е. наблюдалось значительное снижение активности МДГ-2.

Таким образом, изоферментные спектры малатдегидрогеназы горца птичьего в образцах воздушно-сухого сырья и сырья промышленной сушки после экспозиции в условиях повышенной влажности в течение 120 часов были практически идентичными, однако для сырья промышленной сушки характерно существенное преобладание активности высокомолекулярной МДГ-3.

Для образцов сырья горца перечного отметили следующие закономерности структурной организации МДГ.

После 24 часов экспозиции в условиях повышенной влажности в образцах воздушно-сухого сырья отмечали одну активную зону МДГ-3, представленную одной молекулярной формой с ОЭП=0,2. К 72 часам экспозиции выявлялось две активных МДГ-2 и МДГ-3. При этом МДГ-2 включает три молекулярных формы, относительная активность молекулярной формы с ОЭП=0,5 составляла 54%, и она характеризуется как основная. Активная зона МДГ-3 включала одну молекулярную форму со значением ОЭП 0,14 и

невысокой относительной активностью.

После экспозиции 72 часов зона активности МДГ-2 была представлена одной молекулярной формой с ОЭП 0,45; высокомолекулярная МДГ-3 также представлена одной молекулярной формой, активность которой преобладает над активностью МДГ-2.

В образцах лекарственного растительного сырья горца перечного промышленной сушки активность малатдегидрогеназы начинает проявляться после 120 час экспозиции в условиях повышенной влажности. На электрофореграммах образцов отмечается активная зона МДГ-3 с одной молекулярной формой (ОЭП=0,18).

Для малатдегидрогеназы горца перечного в образцах воздушно-сухого сырья характерна гетерогенность: выявляются две активные зоны МДГ-2 и МДГ-3, при этом в зоне МДГ-2 обнаруживается до трех молекулярных форм. Малатдегидрогеназа горца перечного в образцах промышленной сушки представлена только одной высокомолекулярной формой МДГ-3.

Изменение изоферментного спектра и смещение активности в область высокомолекулярных форм МДГ можно объяснить двумя причинами: либо в ходе выдерживания растительного сырья во влажной среде происходит ассоциация олигомеров, так как известно, что МДГ является олигомерным ферментом [6]; либо выдерживание в условиях повышенной влажности способствует извлечению при пробоподготовке образцов высокомолекулярных форм МДГ [7].

Литературные данные свидетельствуют о том, что активизация МДГ-3 характерна для большинства растений после цветения и вплоть до их отмирания [6, 7]. Высокая активность МДГ-3 указывает на преобладание процессов окисления малата и в целом на мобилизацию окислительных процессов, что может оказывать влияние на уровень вторичных метаболитов, к числу которых относятся многие группы действующих веществ лекарственных растений (например, флавоноиды) [6, 7].

В проводимом исследовании исходили из предположения, что относительная активность МДГ-3 в сырье изучаемых горцев определяется режимом сушки [1, 3, 6]. Нами был проведен корреляционный анализ между двумя параметрами «относительная активность МДГ-3» и «содержание суммы флавоноидов» для образцов травы горцев птичьего и перечного.

Использовали непараметрический корреляционный анализ – определяли коэффициент Спирмена R (рекомендованный для количественных переменных, закон распределения которых не известен или не является нормальным [2]); программа Statistica 6.0.

Результаты корреляционного анализа представлены в таблицах 1 и 2:

Значение коэффициента Спирмена -0,81 свидетельствует о том, что для лекарственного сырья

**Таблица 1.** Относительная активность МДГ-3 и содержание суммы флавоноидов в сырье горца птичьего

Горец птичий				
Воздушно-сухое сырье		Промышленная сушка		Коэффициент Спирмена R
ОА МДГ-3, %	Содержание флавоноидов, %	ОА МДГ-3, %	Содержание флавоноидов, %	
4,4	7,73	61,7	3,33	-0,81

**Таблица 2.** Относительная активность МДГ-3 и содержание суммы флавоноидов в сырье горца перечного

Горец перечный				
Воздушно-сухое сырье		Промышленная сушка		Коэффициент Спирмена R
ОА МДГ-3, %	Содержание флавоноидов, %	ОА МДГ-3, %	Содержание флавоноидов, %	
61,4	1,78	100,0	1,07	-0,43

горца птичьего существует сильная корреляция ( $|R| \geq 0,75$ ) между относительной активностью МДГ-3 и содержанием суммы флавоноидов. Наблюдается закономерность: при высоком уровне активности МДГ-3 в растительном сырье снижается содержанием суммы флавоноидов.

Для растительного сырья горца перечного характерна аналогичная закономерность, однако, характер корреляции по общепринятой классификации относится к умеренной – величина коэффициента Спирмена  $-0,43$  ( $0,25 \leq |R| \leq 0,75$ ).

Таким образом, подтверждается предположение о взаимосвязи характера активности МДГ в исследуемом лекарственном растительном сырье и содержанием суммы флавоноидов.

Показатель относительной активности МДГ-3 в траве горца птичьего и горца перечного может быть использован как маркер оптимального режима сушки вышеуказанного растительного сырья. В перспективе с использованием данного показателя возможно будет предложить рекомендации по режиму сушки и хранения лекарственного растительного сырья, обеспечивающему сохранность действующих веществ – флавоноидов.

Таким образом, на основании вышеизложенного можно сделать следующие выводы:

- в лекарственном растительном сырье – горца птичьего трава и горца перечного трава – выявлены молекулярные формы фермента малатдегидрогеназы: для горца птичьего – три активные зоны МДГ-1, МДГ-2 и высокомолекулярная МДГ-3; для горца перечного – две активные зоны – МДГ-2 и высокомолекулярная МДГ-3;

- изоферментные спектры малатдегидрогеназы горца птичьего в образцах воздушно-сухого сырья и сырья промышленной сушки после экспозиции в условиях повышенной влажности в течение 120 час практически идентичны: представлены МДГ-2 (одна молекулярная форма) и МДГ-3 (одна молекулярная форма). Однако для

сырья промышленной сушки характерно существенное преобладание активности высокомолекулярной МДГ-3;

- для малатдегидрогеназы горца перечного в образцах воздушно-сухого сырья характерна гетерогенность: выявляются две активные зоны МДГ-2 и МДГ-3, при этом в зоне МДГ-2 обнаруживается до трех молекулярных форм. Малатдегидрогеназа горца перечного в образцах промышленной сушки представлена только одной высокомолекулярной формой МДГ-3;

- для лекарственного растительного сырья – горца птичьего трава и горца перечного трава при различных способах сушки установлена закономерность: при высоком уровне относительной активности МДГ-3 в растительном сырье снижается уровень содержания суммы флавоноидов.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Волончук С.К. Энергосберегающие технологии переработки растительного сырья / С.К. Волончук, А.Н. Сапожников, Л.П. Шорникова // Ползуновский вестник. 2011. № 2/1. С. 166–171.
2. Гмурман В.Е. Теория вероятностей и математическая статистика: Учебное пособие для вузов. Москва: Высшая школа, 2004. 479 с.
3. Куркина А.В. Флавоноиды фармакопейных растений: Монография. Самара: ООО «Офорт», ГОУ ВПО «СамГМУ Росздрави». 2012. 262 с.
4. Лекарственные растения Государственной Фармакопеи. Фармакогнозия / В.А. Ермакова; под ред. И.А. Самылиной, В.А. Северцева. М.: АНМИ, 2003. 534 с.
5. Стручкова И.В. Теоретические и практические основы проведения электрофореза белков в полиакриламидном геле: Электронное учебно-методическое пособие / И.В. Стручкова, Т.А. Кальясова. - Нижний Новгород, 2012.
6. Шаталаев И.Ф. Методы выявления молекулярных форм некоторых оксидоредуктаз микроорганизмов активного ила / И.Ф. Шаталаев, М.М. Телитченко // Гидробиологический журнал. 1992. № 2. С.

70–74.  
7. Юдина Р.С. Генетика и феногенетика малатдеги-

дрогеназы растений // Вестник ВОГиС. 2010. Т. 14.  
№ 2. С. 243–254.

### RESEARCH OF MALATE DEHYDROGENASE IN POLYGONACEAE MEDICINAL PLANTS

© 2015 A.V. Voronin, D.E. Redkokashin, I.F. Shatalaev

Samara State Medical University

This article contains research of isoenzyme's spectrum and the relative activity of malate dehydrogenase of Polygonaceae medicinal plants by electrophoresis in 7, 5% polyacrylamide gel. The research describes the correlation between the relative activity of malate dehydrogenase and the content of flavonoids in herbs of *Polygonum aviculare* and *Polygonum hydropiper*.

*Key words:* malate dehydrogenase, molecular forms, electrophoresis, flavonoids, *Polygonum aviculare*, *Polygonum hydropiper*, Polygonaceae

---

*Alexander Voronin, Candidate of Pharmacy, Associate Professor of Pharmaceutical Faculty Chemistry Department.*

*E-mail: dimmu2000@mail.ru*

*Dmitry Redkokashin, Assistant of Pharmaceutical Faculty Chemistry Department. E-mail: redkokashin@inbox.ru*

*Ivan Shatalaev, Doctor of Biology, Professor, Head of Pharmaceutical Faculty Chemistry Department.*