

## ВИДЫ СЕМЕЙСТВА *GENTIANACEAE* - ПЕРСПЕКТИВНЫЕ ИСТОЧНИКИ ЭКДИСТЕРОИДОВ, КСАНТОНОВ И ИРИДОИДОВ

Мунхжаргал Н., Зибарева Л.Н., Эбель А.Л., Ляшевская Н.В., Шульц Э.Э., Унжакова М.Н.,  
Тенгереева Г.Г., Кузнецова О.В., Слободчакова Е.К.

Проанализировано распространение видов семейства Горечавковых на территории Сибири и Русского Алтая. В работе приведены результаты скрининга видов на присутствие фитоэкдистероидов, ксантонов и иридоидов. Впервые выявлено 12 продуцентов экдистероидов в родах *Anagallidium*, *Comastoma*, *Gentiana*, *Swertia*. Проведена сравнительная оценка содержания экдистероидов в них.

### ВВЕДЕНИЕ

Разнообразные фармакологические свойства экдистероидов, ксантонов и иридоидов, выявленные в последнее время, побуждают исследователей к поиску растений, содержащих их в значительных количествах. Выявление экдистероидсодержащих видов все чаще ведется путем химического изучения родовых комплексов *Stemmacantha* Cass [1] *Serratula* L. [2], *Silene* L. [3-5].

Горечавковые (*Gentianaceae*) - крупное семейство цветковых растений; в нем насчитывается 900 видов, относящихся к 80 родам, в Сибири встречается 41 вид Горечавковых. На территории Русского Алтая произрастает 29 видов. Большинство горечавковых Алтая относится к сборному роду Горечавка (*Gentiana* L. s.l.). Некоторые систематики [6] считают целесообразным подразделять р. *Gentiana* на несколько более мелких родов. Так, во флоре Алтая имеются представители следующих «мелких» родов: *Ciminalis* (9 видов), *Comastoma* (4 вида), *Dasystephana* (4 вида), *Gentianella* (4 вида), *Calathiana* (1 вид), *Gentianopsis* (1 вид). Остальные горечавковые Русского Алтая относятся к родам *Lomatogonium* (2 вида), *Swertia* (2 вида), *Anagallidium* (1 вид), *Halenia* (1 вид). Большинство горечавковых Алтая однолетние растения. Многолетниками являются всего 8 видов (все представители р. *Dasystephana*, оба вида р. *Swertia* *Calathiana uniflora*, *Ciminalis grandiflora*).

Ранее в процессе изучения химического состава видов Горечавковых было установлено наличие иридоидов и алкалоидов в *Gentiana macrophylla* Pall, *Gentiana decumbens* L., *Lomatogonium carinthiacum* (Wulf) Reichenb. В надземной части указанных видов идентифицированы такие алкалоиды как генцианин [7] и генцианидин [8]. Флавоноиды представлены гликозидированными формами [9, 10]. Наиболее полно исследован фенольный комплекс *Lomatogonium carinthiacum* и выявлены флавоны: лютеолин и его 7-О-глюкозид, изовитексин, свертизин и др., ксантоны и секоиридоидный гликозид свертимарин.

Набор БАВ обуславливает биологическую активность экстрактов этих видов Горечавковых. Так настой из надземной части *G. macrophylla* стимулирует функциональную активность желудка собак [11], обладает противовоспалительным и ранозаживляющим действием, особенно при ожогах и обморожениях [12]; отвар сокращает время свертывания цитратной плазмы крови и повышает проницаемость сосудов брыжейки крыс [13]. Благодаря кровоостанавливающему действию надземная часть *G. macrophylla* вошла в рецептуру гемостатических отваров, приведенных в «Большом Агинском жоре». Препараты из *L. carinthiacum* оказывают выраженное стимулирующее действие на желчеобразовательные и желчевыделительные функции печени, на этом основании они отнесены к группе стимуляторов функции печени. Настой и отвар надземной части *Swertia obtuse* L. используется при воспалительных заболеваниях печени, как средство возбуждающее аппетит, обладающее тонизирующим, антигельминтным, противохолерическим свойствами [14].

В литературе имеются сведения об изучении 10 видов семейства *Gentianaceae* на присутствие экдистероидов. Обнаружены они были в *Gentiana kuroo*, *G. saponaria*, *G. saxosa* [15], в то время как в других - *Gentiana grandiflora* Laxm, *Swertia obtuse* Ledeb. [16], *Gentiana algida*, *G. cruciata* [17, 18], *G. scabra* var. *Buergeri* [19], *Helena corniculata* (L.) Cornaz [20] не выявлены.

Целью настоящей работы является поиск перспективных продуцентов экдистероидов, ксантонов и иридоидов в семействе *Gentianaceae*.

Объектами исследования явились произвольно выбранные виды различных родов семейства *Gentianaceae* флоры Русского Алтая.

Для качественного и количественного определения фитоэкдистероидов измельченное воздушно-сухое сырье трехкратно экстрагировали 70% этанолом на водяной бане при 60° С. Объединенные водно-этанольные экстракты концентрировали с помощью ротационного испарителя. Качественный и количественный анализ экдистероидов проводили хроматоспектрофотометрическим методом [21]. Обнаружение соединений в образцах осуществляли методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) на пластинках Сорбтон UV-254 нм.

Хроматографирование проводили в системе: хлороформ - этанол (3:1). Проявление хроматограмм осуществляли опрыскиванием ванилин-серным реактивом. Количественное определение 20Е в экстрактах осуществляли хроматоспектрофотометрическим методом. Пластинку с закрепленным слоем силикагель-окись алюминия-гипс (10:7:0,5) хроматографировали в системе растворителей хлороформ-этанол-ацетон (5:3:1). Элюировали фитоэктистероиды с сорбента этанолом при непрерывном встряхивании. Оптическую плотность отфильтрованного элюата измеряли на спектрофотометре СФ-46 в диапазоне 240-246 нм на фоне элюата холостого опыта.

Нами изучены виды семейства *Gentianaceae* флоры Русского Алтая. Результаты качественного и количественного определения 20Е исследованных видов приведены в таблице.

Из полученных данных следует, что выявлено 12 эктистероидсодержащих видов, в которых впервые установлено присутствие эктистероидов. Вопреки сложившемуся мнению, что встречаемость продуцентов эктистероидов в произвольно выбранных видах низка и составляет 5-6% от общего числа изучаемых видов, в нашей работе этот показатель весьма высок.

Большую часть видов можно отнести к сверх-концентраторам эктистероидов. Особенно высокими уровнями характеризуются следующие виды: *Anagallidium dichotomum*, *Comastoma azurea*, *Gentiana macrophylla*, *Gentiana sibirica*, *Gentiana squarrosa*. Удалось обнаружить эктистероиды в *Swertia obtuse*, ранее считавшимся отрицательным видом, т.е. не синтезирующим эти стероиды. Причем, концентрации искоемых соединений в одноименных видах варьируют в широком диапазоне в зависимости от места произрастания. Такое влияние на содержание БАВ, в том числе и эктистероидов, отмечалось ранее для растений и других семейств - *Caryophyllaceae*, *Asteraceae* и др. Окончательное утверждение о присутствии эктистероидов будет правомочным после выделения индивидуальных соединений, получения масс-, ЯМР- спектров, определения их физико-химических свойств.

На содержание ксантонов была исследована *Swertia obtuse* L. Воздушно-сухое сырье экстрагировали последовательно 96-, 40% - этанолом и водой (в каждом случае двухкратно). Спирт отгоняли на ротационном испарителе, а водные остатки шести извлечений объединяли и концентрировали. После удаления липофильных веществ гексаном и хлороформом был получен экстракт. 1г экстракта растворяли в 100 мл 70% этанола. 1 мл полученного спиртового раствора элюировали на колонке с окисью алюминия (масса сорбента 3 г, степень активности II) 25 мл 70% этанола.

Таблица

Результаты скрининга видов и содержание эктистероидов

№ п/п	Название растений	Содержание эктистероидов, % на сух. сырье	Место произрастания
1	<i>Anagallidium dichotomum</i> (L.) Griseb.	3.1	Окр. с. Чибит, луг вдоль берега реки
2	<i>Comastoma azurea</i> Bunge.	3.5	Южно-Чуйский хребет, р. Акал
3	<i>Comastoma tenella</i> Rottb.	1.5	Южно-Чуйский хребет, р. Акал
4	<i>Dasystephana algida</i>	0.2	Среднее течение р. Талду-Апр
5	<i>Gentiana algida</i> Pall.	-	Верховье р. Ортпых
		0.2	Южно-Чуйский хребет, р. Акал
		0.5	Долина р. Чуя
7	<i>Gentiana atrata</i>	0.6	Среднее течение р. Кокоря
8	<i>Gentiana barbata</i> Froel.	0.3	Онгуйдский район, перевал Чике Томан
		0.2	Кош-Агачский район, долина р. Талдура
		1.0	Верховье р. Сибистый
		2.3	Пойма р. Чуя
		0.1	Курайский хребет, верх. Орталык
11	<i>Gentiana nutans</i> Bunge.	-	Кош-Агачский район, долина р. Талдура
		2.2	Кош-Агачский район р. Кызылгеном.
		1.2	Долина р. Чуя
13	<i>Gentiana squarrosa</i> Ledeb.	2.3	Идро, луговая степь
14	<i>Lomatogonium carinthiacum</i> (Wulf) Reichenb.	-	Южно-Чуйский хребет, р. Акал
		0.2	Озеро Каракол
		1.5	Семинский перевал

Очищенный на колонке экстракт исследовали методом электронной спектроскопии и ТСХ. УФ спектр,  $\lambda_{max}$ . (EtOH), нм: 222 пл., 276; Rf – 0,55 (пластинки Сорбтон UV – 254 нм; система растворителей ацетон-хлороформ-вода (16:4:1)). Согласно [22] приведенные данные могут указывать

на содержание в экстракте ксантонов, окончательное утверждение этого возможно после выделения индивидуальных соединений и исследования их методами ЯМР- и масс-спектроскопией.

*G. macrophylla* исследовалась на содержание иридоидов. Экстракцию воздушно-сухого сырья (корней и надземной части) проводили последовательно: гексаном (корни), петролийным эфиром (надземная часть), *трет*-бутил-метиловым эфиром (МТБЭ), этилацетатом (ЭА), этанолом, 80% водным изопропанолом в каждом случае трехкратно в течение трех часов. После хроматографического разделения на колонки силикагеля из МТБЭ- и ЭА- экстрактов было выделено вещество: Тпл – 133° С, УФ-спектр,  $\lambda_{\max}$ . (H<sub>2</sub>O), нм: 240, 275, 320, 480, которое с помощью метода ЯМР-спектроскопии (спектр <sup>1</sup>H-ЯМР (CD<sub>3</sub>OD), ( $\delta$ , м. д., J, Гц.): 2,84 т(1H, H<sup>3'</sup>, J 9.5), 3,06 м (1H, H<sup>5'</sup>), 3,20 м (1H, H<sup>9</sup>), 3,21 т (1H, H<sup>4'</sup>, J 9.5), 3,59 м (1H, H<sup>6'</sup>), 3,83 м (1H, H<sup>6'</sup>), 4,17 д (1H, H<sup>1'</sup>, J 7.9), 4,67 м (1H, H<sup>2'</sup>), 4,83 м (1H, H<sup>7'</sup>), 4,91 м (1H, H<sup>7'</sup>), 5,12 м (1H, H<sup>10'</sup>), 5,15 м (1H, H<sup>10'</sup>), 5,5 м (1H, H<sup>6'</sup>), 5,57 д (1H, H<sup>1'</sup>, J 1,8), 5,66 м (2H, H<sup>8'</sup>), 7,30 с (1H, H<sup>3'</sup>); спектр ЯМР <sup>13</sup>C (CD<sub>3</sub>OD + CDCl<sub>3</sub>), ( $\delta$ , м. д.): 46,2 (C<sup>9</sup>), 62,5 (C<sup>6</sup>), 70,5 (C<sup>7</sup>), 71,1 (C<sup>4</sup>), 74,1 (C<sup>2'</sup>), 75,9 (C<sup>3'</sup>), 78,4 (C<sup>5'</sup>), 98,1 (C<sup>1'</sup>), 99,8 (C<sup>1</sup>), 104,5 (C<sup>4</sup>), 116,6 (C<sup>6</sup>), 118,6 (C<sup>10</sup>), 126,8 (C<sup>5</sup>), 134,3 (C<sup>8</sup>), 150,4 (C<sup>3</sup>), 165,8 (C<sup>11</sup>)) было идентифицировано как иридоид генциопикрозид. Содержание генциопикразида в корнях *G. macrophylla*, заготовленных в черте г. Горно-Алтайска превышает 3%.

Генциопикразид – важнейший компонент некоторых лекарственных фитопрепаратов китайской, японской и корейской медицины. *G. macrophylla* Горного Алтая может быть его перспективным источником.

### Литература

1. Балтаев У.А. Фитоэкдизоны растений рода *Rhaponticum* Ludw. Автореф. канд. дис. Ташкент, 1988.
2. Новосельская И.Л. Фитоэкдизоны растений рода *Serratula*: Автореф. дис. ...канд. хим. наук. Ташкент, 1977. 23 с.
3. Саатов З. Экдистероиды растений сем. *Caryophyllaceae, Labiatae, Compositae*: Автореф. дис. докт. хим. наук. Ташкент, 1993. 36 с.
4. Зибарева Л.Н. Фитоэкдистероиды растений семейства *Caryophyllaceae*. Автореф. дис. докт. хим. наук. Новосибирск, 2003. 31 с.
5. Zibareva L., Volodin V., Saatov Z., Savchenko T., Whiting P., Lafont R., Dinan L. Distribution of phytoecdysteroids in the *Caryophyllaceae* // *Phytochemistry*. 2004. V. 64. N. 2. P. 499-517.
6. Зуев В.В. Горечавковые Сибири (эволюция, филогения). Новосибирск, 1991. 111 с.
7. Карпович В.Н. Фотохимическое исследование забайкальских видов горечавковых // *Вопросы фармакогнозии: Тр. ЛХФИ*. 1960. Т. 12, вып. 1. С. 201-208.
8. Plouvier V., Farve-Bonvin J. Les iridoïdes et secoiridoïdes; repartition, structure, propriétés, biosynthèse // *Phytochemistry*. 1971. Vol. 10, №8, P. 1697-1722.
9. Галинская В.Д. Содержание флавоноидов в некоторых сибирских видах горечавковых (род *Gentiana* L., *Swertia obtusa* Ledeb.) // *Растительные ресурсы Сибири и их использование*. Новосибирск, 1978. С. 50-56.
10. Минаева В. Г. Флавоноиды в онтогенезе растений и их практическое использование. Новосибирск, 1978. С. 255.
11. Галинская В.Д., Гельфман А.Е., Действие настоев горечавки крупнолистной на функциональное состояние желудка // *Исследование лекарственных препаратов природного и синтетического происхождения: Матер. межвуз. науч. конф. Томск, 1975. С. 77-79.*
12. Фруентов Н.К. Лекарственные растения Дальнего Востока. Хабаровск, 1972. С. 398.
13. Хапкин И.С. Изучение биологической активности тибетского кровоостанавливающего сбора «Тхаший тханг»: Автореф. канд. дис. Владивосток, 1985. С. 24.
14. Волкова З.А., Забродина Н.В. Красная книга Челябинской области: животные, растения, грибы (электронный ресурс) - [www.redbook.ru](http://www.redbook.ru)
15. Dinan L., Savchenko T. and Whiting P. (2001) The distribution of phytoecdysteroids in plants. *Cellular and Molecular Life Sciences* 58, 1121-1132.
16. Ревина Т.А., Ревушкин А.С., Ракитин А.В. Экдистероидсодержащие виды во флоре Горного Алтая // *Раст. ресурсы*. 1988. вып.4. С. 565-569.
17. Чадин И.Ф. Экдистероидсодержащие растения Европейского северо-востока России. Автореф. канд. дис. Сыктывкар, 2001. С. 25.
18. Volodin V., Chadin I., Whiting P., Dinan L. (2002) Screening plants of European North-East Russia for ecdysteroids. *Biochemical Systematics and Ecology* 30, 525-578.
19. Takemoto T., Ogawa S., Nishimoto N., Arihara S. and Bue K. (1967) Insect moulting activity of crude drugs and plants (I). *Yakugaku Zasshi* 87, 1414-1418 [in Japanese, with an English abstract].
20. Володина С.О. Экдистероидсодержащие растения: Ресурсы и биотехнологическое

использование. Автореф. дис... канд. биол. наук. Сыктывкар, 2006. 20 с.

21. Хроматоспектрофотометрический метод определения экидистерона в растительном сырье / М.Р. Якубова, Г.Л. Генкина, Т.Т. Шакиров, Н.К. Абубакиров // Химия природных соединений. 1978. №6. С. 737-740.

22. Лубсандоржиева П.Б. Биологически активные вещества и антиоксидантная активность *in vitro* полиэкстракта *Lomatogonium carinthiacum* (Wulfen) A. Br. // Химия растительного сырья. 2008. №1. С. 101-105.

### **SPICIES OF GENTIANACEAE FAMILY AS A POTENTIAL SOURCE OF EKDISTEROIDS, KANTONS AND IRIDOIDS**

*Munhjargal N., Zibareva L.N., Ebel A.L., Lyashevskaya N.V., Schultz E.E., Tengerekova M.N.,  
Kuznetsova O.V., Slobodchikova E.K.*

We have analyzed the distribution of species of Gentianaceae family in Siberia and Russian Altay. In this paper the results of screening the species on the presence of fitoekdisteroids have been described. 12 producents of ekdisteroids in genera *Anagallidium*, *Comastoma*, *Gentiana*, *Swertia* have been first discovered due to this research. We have made a comparative evaluation of presence of ekdisteroids in analyzed species.