

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования
«Национальный исследовательский Томский государственный университет»

На правах рукописи



Бадулина Анна Александровна

СМОЛЕВКИ СЕКЦИИ OTITES (ADANS.) ОТТН РОДА SILENE L.:
ИНТРОДУКЦИЯ, ХЕМОТАКСОНОМИЯ, ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

03.02.01 – Ботаника

Диссертация
на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель:
доктор химических наук,
старший научный сотрудник
Зибарева Лариса Николаевна

Научный консультант:
доктор биологических наук, профессор
Ревушкин Александр Сергеевич

Томск – 2014

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
ГЛАВА 1. ХЕМОТАКСОНОМИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ В СИСТЕМАТИКЕ РАСТЕНИЙ.....	8
1.1 Применение исследований состава биологически активных веществ в систематике растений.....	8
1.2 Хемотаксономические маркеры секции рода <i>Silene</i> L.....	16
1.3 Современные методы исследования экистероидов и флавоноидов.....	23
1.4 Роль некоторых микро– и макроэлементов в жизнедеятельности растений.....	28
ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	32
2.1 Природные условия района исследования.....	32
2.2 Объекты исследования.....	34
2.3 Методы исследования.....	36
ГЛАВА 3. ХАРАКТЕРИСТИКА ВИДОВ СЕКЦИИ <i>OTITES</i> (ADANS.) ОТТН...42	
3.1 Проблемы систематики рода <i>Silene</i> на примере видов секции <i>Otites</i> ...42	
3.2 Виды секции <i>Otites</i>	51
3.3 Особенности выращивания видов <i>Silene</i> секции <i>Otites</i> в условиях Сибирского ботанического сада.....	60
ГЛАВА 4. ВЫДЕЛЕНИЕ И ИДЕНТИФИКАЦИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ ИЗ ВИДОВ СЕКЦИИ <i>OTITES</i>	68
4.1 Определение полноты экстракции.....	68
4.2 Подбор условий для проведения ВЭЖХ анализа при исследовании видов рода <i>Silene</i>	70
4.3 Изучение экистероидного профиля <i>Silene colpophylla</i>	73
4.4 Особенности выделения фитоэкистероидов из некоторых видов <i>Silene</i> секции <i>Otites</i>	80
4.5 Идентификация индивидуальных экистероидов и флавоноидов <i>S. colpophylla</i>	81

ГЛАВА 5. ХЕМОТАКСОНОМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ВИДОВ СЕКЦИИ <i>OTITES</i>	90
ГЛАВА 6. ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ НЕКОТОРЫХ ВИДОВ СМОЛЕВОК СЕКЦИИ <i>OTITES</i>	101
6.1 Динамика содержания экидистероидов в некоторых видах смолёвок секции <i>Otites</i>	101
6.2 Элементный состав надземных частей некоторых видов <i>Silene</i> секции <i>Otites</i>	109
ВЫВОДЫ.....	118
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	120
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	121
Приложение А. Виды секции <i>Otites</i> (Adans.) Otth рода <i>Silene</i> и рода <i>Otites</i> Adans.	140
Приложение Б. Спектрально-хроматографические характеристики экидистероидов <i>Silene colpophylla</i>	144
Приложение В. Спектрально-хроматографические характеристики флавоноидов видов секции <i>Otites</i> (Adans.) Otth.....	150
Приложение Г. Времена удерживания экидистероидов в системе циклогексан – изопропиловый спирт – вода.....	168

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность. Выявление хемотаксономических особенностей экдистероидного и флавоноидного состава видов секции *Otites* (Adans.) Otth рода *Silene* L. с применением современных физико-химических методов исследования способствует решению спорных вопросов систематики секции.

Изучение распределения синтезируемых биологически активных веществ в процессе развития растений в течение вегетационного периода позволяет выявить вегетативные фазы с максимальным накоплением, а так же органы растений, аккумулирующие эти биологически активные вещества.

Определение микроэлементного состава надземных частей растений и количественная оценка содержания микро– и макроэлементов способствует установлению корреляций между количеством и уровнем синтезируемых растениями биологически активных веществ.

Экдистероиды и флавоноиды являются основами многих нетоксичных лекарственных препаратов с различными видами действия, включая адаптогенное, гемореологическое, радиопротекторное, противоопухолевое и т.д. Поиск и изучение видов с высоким содержанием биологически активных веществ является актуальной задачей современной науки.

Цель работы. Установить закономерности химического состава некоторых видов секции *Otites* рода *Silene* в условиях интродукции в Томскую область для выявления хемотаксономических особенностей и перспектив использования.

Задачи:

1. Выявление перспективных видов *Silene* секции *Otites* в условиях интродукции в Томскую область;
2. Изучение закономерностей накопления экдистероидов в онтогенезе исследуемых видов;
3. Сравнительный ВЭЖХ анализ особенностей состава экдистероидов и флавоноидов восьми видов и одного подвида *Silene*;

4. Выделение и идентификация индивидуальных экдистероидов и флавоноидов из надземной части *Silene colpothylla* Wrigley;

5. Выявление особенностей микроэлементного состава надземных частей видов *Silene*.

Положения, выносимые на защиту:

1. Виды *Silene colpothylla*, *S. otites* ssp. *hungarica* Wrigley, *S. otites* Wibel. – перспективны для интродукции в районах дерново-подзолистых почв Западной Сибири.

2. *Silene colpothylla* – новый перспективный источник экдистероидов и С-гликозилированных флавонов;

3. Исследованные виды: *Silene otites* Wibel., *S. otites* ssp. *hungarica* Wrigley, *S. pseudotites* Besser. ex Reichenb, *S. baschkirorum* Janisch., *S. exaltata* Friv., *S. borysthena* (Gruner) Walters имеют сходный состав мажорных экдистероидов и флавоноидов.

Научная новизна. Впервые введен в культуру новый источник экдистероидов и флавоноидов – *Silene colpothylla*, изучены его биологические особенности в условиях юга Западной Сибири. Из *S. colpothylla* впервые выделены семь экдистероидов и пять флавоноидов, структуры которых идентифицированы методами ВЭЖХ, масс-спектрометрии и ЯМР.

Методами ВЭЖХ проведено сравнение экдистероидных и флавоноидных профилей восьми видов и один подвида *Silene* секции *Otites*, установлен состав мажорных экдистероидов.

Исследована динамика 20-гидроксиэкдизона в видах сверхконцентраторах экдистероидов, интродуцированных на территории СБС, в том числе *S. colpothylla*. Изучен микроэлементный состав некоторых видов *Silene*, входящих в секцию *Otites*, установлена корреляция между количеством марганца и уровнями 20-гидроксиэкдизона.

Практическая значимость. Выявлен новый источник экдистероидов и С-гликозилированных флавонов – *Silene colpothylla*, перспективный для применения в медицине.

Разработаны рекомендации по технологии выращивания и сбора лекарственных растений в условиях Западной Сибири – видов секции *Otites* с высоким содержанием экистероидов (*S. otites* Wibel., *S. otites* ssp. *hungarica* Wrigley, *S. baschkirorum* Janisch., *S. pseudotites* Besser. ex Reichenb, *S. roemeri* Friv., *S. sendtneri* Boiss., *S. colpophylla*).

Экспериментальная часть работы по выделению и идентификации экистероидов и флавоноидов выполнена в лаборатории фитохимии Сибирского ботанического сада Томского государственного университета, при сотрудничестве с лабораторией экологических исследований и хроматографического анализа Новосибирского института органической химии им. Н.Н. Ворожцова СО РАН и Department of Chemistry Faculty of Science Ramkhamhaeng University (Bangkok, Thailand). Период выполнения работы с 2011 по 2014 гг.

Методология и методы. Для исследования смолёвок секции *Otites* применен комплексный экспериментальный подход, включающий наблюдение за растениями, интродукцию, методы сравнения растительных образцов, полученных в разных условиях, а также изучение химического состава растений, с привлечением современных методов исследования: высокоэффективная жидкостная хроматография, хромато-масс-спектрометрия, рентгеноструктурный анализ, ИК-спектроскопия, УФ-спектроскопия, методы ядерно-магнитного резонанса и атомно-эмиссионной спектрометрии.

Апробация работы. Материалы диссертации доложены и обсуждены на 6 международных и всероссийских конференциях: четвертой международной российско-корейской конференции «Current Issues of Natural Products Chemistry and Biotechnology» (2012, Новосибирск), международной научно-практической конференции, посвященной 125-летию кафедры ботаники (2013, Томск), международной конференции «Trends in Natural Products Research» (2014, Оломоуц, Республика Чехия), пятой всероссийской конференции с международным участием «Новые достижения в химии и химической технологии сырья» (2012, Барнаул), всероссийских научных конференциях «Физиология

растений и микроорганизмов – взгляд в будущее» (2013, Томск), «Биоразнообразие, проблемы экологии Горного Алтая и сопредельных регионов: настоящее, прошлое, будущее» (2013, Горно-Алтайск).

По теме диссертации опубликовано девять работ, три из которых в рецензируемых научных изданиях, включая одну публикацию в журнале, входящем в базы данных цитирования Scopus и Web of Science.

БЛАГОДАРНОСТИ. Автор выражает благодарность за помощь при подготовке работы своему научному руководителю – доктору химических наук, Ларисе Николаевне Зибаревой и научному консультанту – доктору биологических наук, профессору Александру Сергеевичу Ревушкину. За совместную работу при идентификации экистероидного и флавоноидного состава автор благодарит коллектив лаборатории экологических исследований и хроматографического анализа Новосибирского института органической химии им Н.Н. Ворожцова СО РАН, за идентификацию исследуемых видов смолёвок сотрудников кафедры ботаники Томского государственного университета профессора Александра Леоновича Эбеля и профессора Андрея Ильича Пяка. Автор выражает благодарность Ермошину Александру Анатольевичу (Уральский федеральный университет, г. Екатеринбург) за помощь в сборе растительного материала, Владимиру Ильичу Отмахову за помощь в проведении микроэлементного анализа. За поддержку и помощь в работе автор выражает благодарность Астафуровой Татьяне Петровне, Ереминой Валентине Ивановне, коллективу Сибирского ботанического сада, сотрудникам лаборатории фитохимии и кафедры агрономии.

ГЛАВА 1. ХЕМОТАКСОНОМИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ В СИСТЕМАТИКЕ РАСТЕНИЙ

1.1 Применение исследования состава биологически активных веществ в систематике растений

Растительный покров – главный компонент биосферы. Суммарная биомасса растений во много раз превосходит биомассу представителей животного мира [1]. Именно в растениях сосредоточены основные запасы энергетических и пищевых ресурсов, необходимые для поддержания существования всей биосферы. По данным, опубликованным в 2010 году Международным союзом охраны природы (IUCN) в мире описано около 320 тысяч видов растений, из них порядка 280 тысяч цветковых, 1 тысяча голосеменных, порядка 16 тысяч мохообразных и 12 тысяч высших споровых растений [2]. Для изучения и описания всего многообразия растительного мира необходимо построение четкой единообразной системы классификации – систематики растений.

Главными задачами систематики является восстановление путей эволюционного развития растительного мира, а так же классификация всех существующих на данный момент видов растений. Классификация растений включает описание всех существующих видов и распределение по более крупным таксономическим группам: родам, семействам, порядкам, классам и отделам. Академик А.Л. Тахтаджян называл систематику растений «фундаментом биологии» [3].

В настоящее время исследователи часто привлекают междисциплинарные науки при решении спорных вопросов о статусе некоторых видов или даже целых родов. Современные методы исследования позволяют решать сложные комплексные задачи, лежащие в основе систематики, физиологии и эволюции растительного покрова. На данный момент целый спектр задач удалось решить при помощи науки, лежащей на стыке ботаники, биохимии и химии –

хемосистематики. Хемосистематика растений – раздел систематики, изучающий разнообразие химического состава организмов с целью создания полной классификации органического (в данном случае растительного) мира. Направление возникло во второй половине 19 века. В настоящее время исследуются главным образом вторичные метаболиты при использовании методологической базы биохимии и молекулярной биологии, химии и генетики. В сочетании с классическими методами систематики хемосистематика способствует расширению набора анализируемых признаков фенотипов, и помогает провести межвидовые границы на качественно новом уровне [4–5]. В ряде работ доказана возможность применения анализа содержания многих вторичных метаболитов, в том числе флавоноидов, тритерпеновых сапонинов, для решения спорных вопросов в отношении статуса, как отдельных видов, так и близкородственных секций, родов.

Несмотря на то, что вторичные метаболиты, синтезируемые растительным организмом, не участвуют напрямую в его росте, развитии и репродукции, они играют важную роль в жизнедеятельности растений, являются защитными веществами, сигнальными молекулами (обеспечивают связь с окружающей средой). Так же эти соединения выполняют адаптационные функции и указывают на протекание эволюционных изменений вида [6].

Известен ряд работ, доказывающих возможность применения анализа содержания вторичных метаболитов для определения химических различий, как отдельных видов, так и близкородственных секций, родов. На основе полученного материала возможно построение хемотаксономических классификаций и определения видового статуса растений. Соединения, с помощью которых возможно проведение выше указанного анализа, получили название хемотаксономических маркеров.

Хемотаксономические маркеры имеют весьма разнообразную химическую структуру, при этом обладают устойчивой таксоноспецифичностью как на уровне вида (видоспецифичные маркеры), так и на уровне секции или рода. Одними из наиболее удобных групп метаболитов в этом отношении являются флавоноиды,

сапонины и экдистероиды. Различные группы хемотаксономических маркеров можно использовать как по отдельности, так и в комплексе. Как правило, для комплексных исследований выбираются группы маркеров, связанных общими путями биосинтеза.

Примерами комплексных хемотаксономических исследований могут служить исследования, проведенные М. Винком по изучению алкалоидов и непротеиногенных аминокислот на примере семейства *Fabaceae* Lindl. (Бобовые) [7]. Большое внимание уделяется изучению состава эфирно-масличных растений. На данный момент в литературе представлено большое количество работ, позволяющих проводить исследования в области систематики растений на основе изучения закономерностей содержания и распределения эфирных масел в растениях. Р.Д. Колесниковой была проведена работа по изучению состава эфирных масел хвойных растений России и разработаны способы хемотаксономической диагностики растений [8]. Хемосистематические исследования проведены так же в отношении видов рода *Heracleum* L. (Борщевик) [9], полыней, хмеля [10] и многих других.

Д.М. Шадриным с соавт. были изучены закономерности распространения сапонинов в семействе *Fabaceae* для построения филогенетической модели классификации растений [11]. Авторами было показано, что в данном семействе стероидные гликозиды обнаружены в тех видах и родах, которые не связаны монофилитическими отношениями на уровне триб, к которым они принадлежат. Этот класс сапонинов обнаруживается только у тех таксонов, которые имеют филогенетическую обособленность в трибах Loteae, Trifolieae (только два рода *Trigonella* и *Melilotus*) и Thermopsidaeae. При этом оба рода, и *Trigonella* и *Melilotus*, трибы Trifolieae находятся в обособленном состоянии и на молекулярно-филогенетической кладограмме образуют отдельную кладу, обособленную от других представителей этой трибы. Эти данные хорошо согласуются с эволюционными исследованиями этих таксонов. В отличие от стероидных, тритерпеновые гликозиды характерны для подавляющего числа видов Caesalpinioideae/Mimosoideae и большинства триб Papilionoideae. Таким

образом, проведенные авторами исследования дают представления не только о хемотаксономических корреляциях сапонинов, но и дают возможность составлять хемотаксономические прогнозы по обнаружению этих веществ во флоре Европейского северо-востока России.

Еще одним примером использования хемотаксономических маркеров в качестве систематических характеристик растений являются исследования, проведенные Г.И. Высочиной. На примере изменчивости состава фенольных соединений 16 родов гречишных показано, что синтез этих вторичных метаболитов является характерной особенностью метаболизма, а полученные данные могут быть использованы в систематике трибы при решении спорных вопросов [12]. Отмечено, что флавоноиды имеют широкое распространение в изученных объектах, они химически устойчивы, вариабельны и легки в идентификации. В работе проведено сравнение растительных образцов в различных филах. Это может способствовать выявлению родственных связей на различных классификационных уровнях, а результаты исследований имеют филогенетическое значение.

В эволюции гречишных авторами на основе содержания фенольных соединений выявлено три уровня: роды или секции с высоким содержанием антрахинонов и сложным качественным составом этих соединений, трибы с невысоким содержанием антрахинонов, а так же роды и секции, не содержащие эту группу веществ. Показано, что агликоновые формы флавоноидов и антрахинонов специфичны на уровне родов и секций. На примере анализа флавоноидного состава авторами также изучены 14 видов рода *Salix* L. прослежена видовая специфичность гликозилированных флавоноидов [13].

В.Н. Дармограем проведен хемотаксономический анализ на основе фенольных соединений некоторых видов семейства гвоздичных (Caryophyllaceae) [14]. В ходе исследования установлены закономерности распределения О-гликозидов и С-гликозидов флавоноидов в изучаемых видах. Показано, что в большинстве исследуемых видов преобладают гликозиды производные апигенина, затем идут производные лютеолина и кемпферола, редко встречаются

гликозиды – производные хризериола и кверцетина. Авторами указывается тот факт, что флавоноидный состав в исследованных видах неравномерен, изменения четко прослеживаются не только на уровне крупных таксонов, но и на уровне секций. Так в секции *Armerium* Will. (подрод *Artemiasrum* Ser., род *Dianthus* L.) содержатся производные апигенина, лютеолина, кверцетина и кемпферола, а в родственной секции *Carthusiani* Boiss. того же подрода – только производные апигенина и лютеолина. Другим примером может служить флавоноидный состав секции *Barbulatum* Will. (подрод *Caryophyllum* Ser., рода *Dianthus* L.) содержащий гликозиды апигенина, лютеолина и хризериола, в то время как виды в секциях *Leipetali* Boiss. и *Plumaria* Asch. содержат в своем составе только производные апигенина и лютеолина (род *Dianthus* L.).

Среди гликозидов в гвоздичных преобладает С-форма, реже обнаруживаются О-гликозилированные флавоноиды. Этот факт может использоваться в ходе хемотаксономического анализа, так как С-гликозилированные флавоноиды сравнительно менее распространены в растительном мире.

При исследовании видов рода *Silene* обнаруживаются две основные группы [14]. К первой относятся виды, содержащие С-ди – и моногликозиды апигенина, ко второй группе – виды, не имеющие их в своем составе. В первой группе исследованных растений в составе обнаружены производные апигенина и лютеолина (витексин, изовитексин, ориентин, изоориентин, а так же их изомеры), а во второй изосапонарин, адонивертит, гомоадонивертит.

Ранее показана возможность применения фитоэкдистероидов в качестве хемотаксономических маркеров при исследовании семейства *Caryophyllaceae* (Таблица 1) [15–16]. В процессе работы авторами проанализировано около 200 видов рода *Silene* и установлены закономерности распределения экдистероидов в различных секциях.

Среди изученных секций рода обнаружены как содержащие только экдистероидположительные виды (*Siphonomorpha* Oth, *Chlorantha* (Rohrb.) Schischk., *Coronatae* (Chowdhuri) Greuter, *Graminiformes* Lazkov, *Silene*,

Dipterosperma (Rohrb.) Chowdhuri, *Lasiocalycinae* Chowdhuri, *Holopetalae* Schischk. ex Chowdhuri), так и секции только с экистероидотрицательными видами (*Behen* Dumort., *Atocion* Otth, *Psammophilae* (Talavera) Greuter).

Таблица 1 – Фитоэкистероиды некоторых секций рода *Silene* [16]

Секция			
<i>Sclerocalycinae</i> (Boiss.) Schischk.	<i>Chloranthae</i> (Rohrb.) Schischk.	<i>Coronatae</i> (Chowdhuri) Greuter	<i>Tataricae</i> Chowdhuri
Характерные экистероиды			
2-Дезокси-20Е	2-Дезокси-20Е	Экдизон	Силенозид А
Понастерон А	26-Полиподин В		Силенозид D
	20,26- Дигидроксиэкдизон		2-Дезокси-20Е-22- ацетат
	26-Гидрокси- интегристерон А		20Е-20-О-бензоат экистерозид

Кроме того, показано, что виды, включенные в одну секцию, как правило, имеют одинаковый набор экистероидов. На основе установленного состава минорных экистероидов можно отнести исследуемые виды смолевок к определенным секциям.

Полученные данные согласуются с филогенетическими исследованиями (Рисунки 1 и 2), которые в последнее время все чаще используют как для выявления связей между распространением вторичных метаболитов и филогенетической классификации [17, 18], так и для разработки прогностических методов поиска растений продуцентов биологически активных веществ. На рисунке 1 изображено филогенетическое древо трибы *Sileneae* полученное Володиным с соавт. [17]. Род *Silene* авторами был разделен на две подклады (Ia и Ib). При этом первая субклада содержит экистероид – положительные виды, с небольшой группой экистероид-отрицательных видов. Вторая субклада

содержит преимущественно экдистероид-отрицательные виды или виды с низким содержанием экдистероидов.

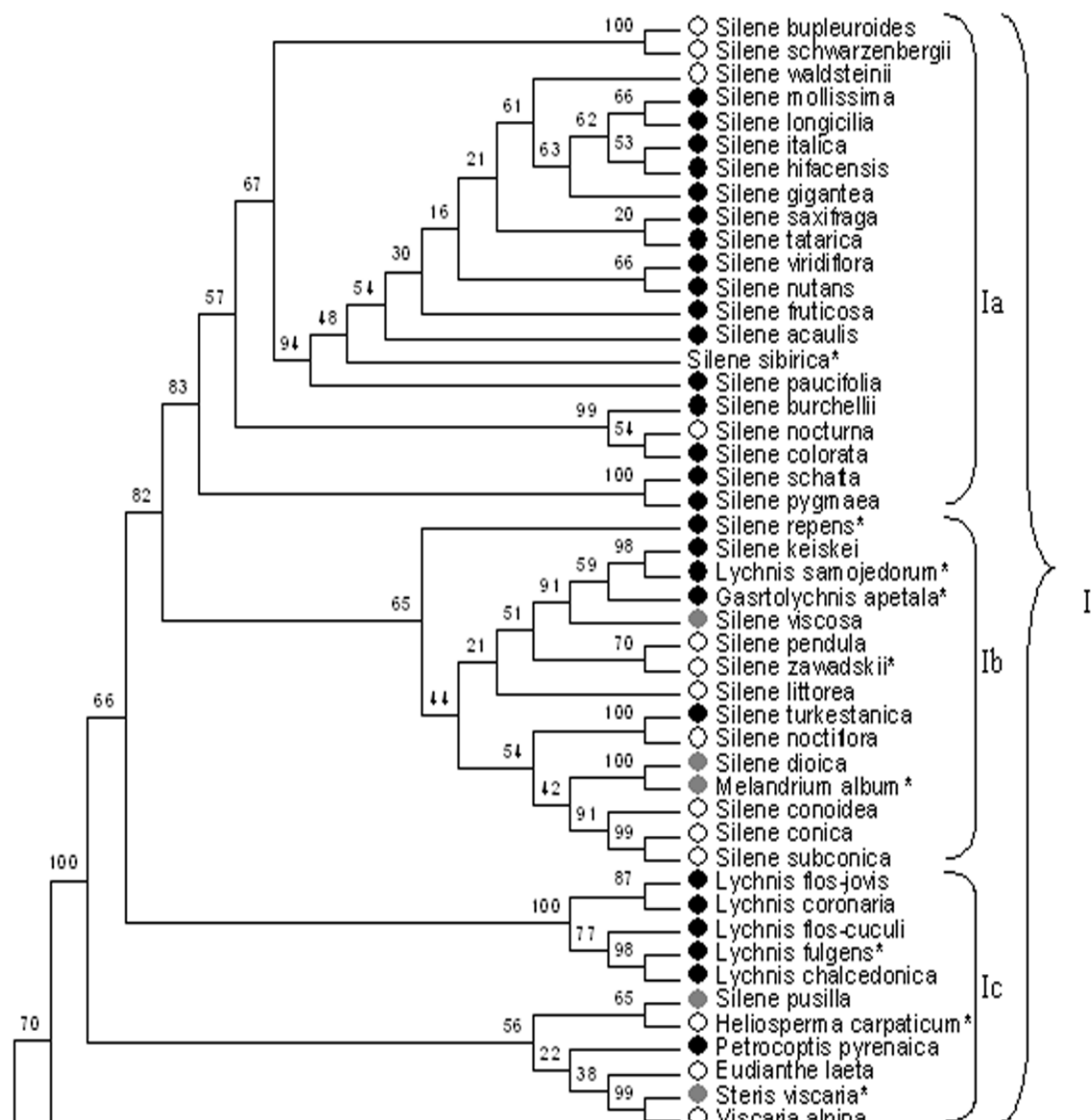


Рисунок 1 – Филогенетическое древо семейства *Caryophyllaceae* Juss. [17]

Согласно данным, полученным Zibareva et al. [16] при сопоставлении данных о распространении экдистероидов в роде *Silene* (Рисунок 2) с положением видов в филогенетическом древе также обнаружены только отрицательные группы (I, III, Vb), только экдистероид - положительные группы (II, IV), а так же группу со смешанными экдистероид-отрицательными и экдистероид-положительными видами.

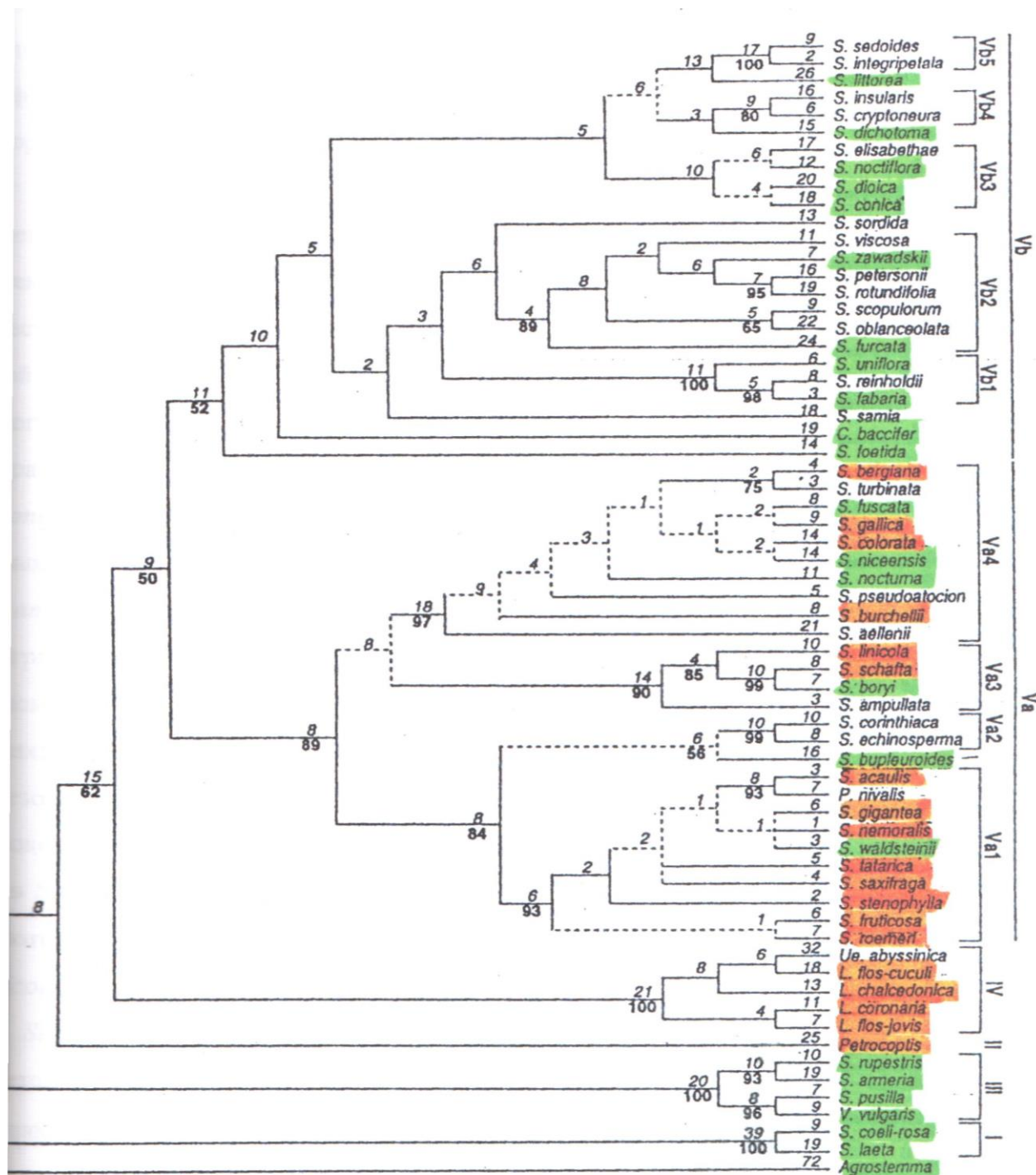


Рисунок 2 – Филогенетическое дерево родов *Silene*, *Lychnis*, *Petrocoptis*, основанное на рДНК последовательностях семейства *Caryophyllaceae* Juss. Зеленым цветом выделены экдистероид-отрицательные виды, оранжевым экдистероид-положительные [16]

Таким образом, для проведения хемосистематических исследований необходимо применять комплексные методы анализа, включающие изучение состава и содержания вторичных метаболитов в растениях, а также установление филогенетических особенностей.

1.2 Хемотаксономические маркеры рода *Silene*

В связи с тем, что смолевки являются продуцентами экдистероидов и С-гликозилированных флавонов, именно эти группы БАВ были выбраны в качестве хемотаксономических маркеров при изучении секции *Otites* [14, 15, 19].

Экдистероиды – широко известная группа природных нетоксичных полиоксистероидов. Впервые эти низкомолекулярные биорегуляторы были выделены из куколок тутового шелкопряда *Bombyx mori* А. Бутенандом и П. Карлсоном в 1954 г. [20]. Однако структура первого выделенного экдистероида – α -экдизона была установлена лишь спустя 11 лет с помощью рентгеноструктурного анализа [21]. Было показано, что экдистероиды обладают высокой биологической активностью и выполняют функции гормонов линьки и метаморфоза насекомых [22].

Научным прорывом стало обнаружение этого класса веществ в растениях. Почти одновременно экдистероиды были обнаружены в *Podocarpus elatus* R. Br. [23], *Achyranthes fauriei* Levl. [24], *Polypodium vulgare* L. [25] и *Taxus baccata* L. [26]. Экдистероиды были обнаружены в грибах, водорослях, папоротникообразных, голосеменных и цветковых растениях [27]. В связи с тем, что экдистероиды широко распространены в мировой флоре, интерес к ним не уменьшается и в настоящее время.

На данный момент установлены структуры 476 экдистероидов и исследования в данной области активно продолжаются [28]. Все эти соединения отличаются основными свойствами, по которым возможно объединить их в один класс:

1. Полиоксистероидные соединения;
2. 14α -окси- Δ^7 -6-кетонная группировка в цикле В;
3. Диольная группировка в цикле А в положении 2 и 3;
4. Цис-сочленение циклов А и В;
5. Стериновая боковая цепь;
6. В стероидном скелете количество атомов углерода 19, 21, 27, 28 или 29;

7. Возможно присутствие эфиров уксусной и фосфорной кислот, а так же гликозидов [27].

Перечисленные отличия помогают провести разграничение с экдистероидоподобными веществами, отличительными чертами которых является отсутствие 14 α -ОН или либо двойной связи в седьмом положении, присутствие дополнительных двойных связей в положениях 4 или 14 [26].

Характерной особенностью фитоэкдистероидов, прежде всего отличающей их от других стероидов, является широкое распространение в объектах не только животного, но и растительного мира [27, 29]. В связи с этим фитоэкдистероиды могут быть рекомендованы в качестве хемотаксономических маркеров при изучении систематики растений, так как имеют весьма разнообразную химическую структуру и обладают устойчивой внутривидовой и внутривидовой корреляцией. В одном виде может одновременно синтезироваться несколько десятков различных экдистероидов и их производных (ацетаты, гликозиды и др.). В таблице 2 приведены некоторые экдистероиды, обнаруженные в одном из наиболее изученных видов *Silene* – *Silene otites* Wibel. [30, 31]. Среди перечисленных экдистероидов присутствуют как характерные для всего рода *Silene* (например, 20-гидроксиэкдизон, 2-дезоксид-20-гидроксиэкдизон) [15], так и характерные для секции *Otites*, а также видоспецифичные соединения.

На основе полученного экдистероидного профиля *S. otites* возможно проведение анализа профилей близкородственных видов (*S. otites* ssp. *hungarica* или *S. pseudotites*), а так же видов, вступающих в гибридизацию с данным видом (*S. colporphylla*).

Все экдистероиды (как зоо–, так и фито–) проявляют разнообразную биологическую активность. В таблице 3 приведены основные виды действия, которые оказывают экдистероиды на организмы растений, насекомых и человека. Экдистероиды являются необходимыми веществами для поддержания жизнедеятельности насекомых.

Кроме того, экологическая биохимия рассматривает эти вещества как природные пестициды [32]. Это позволяет разрабатывать препараты защиты

растений, основанные на естественных факторах и не приносящие вреда сельскохозяйственным насекомым и животным, а так же человеку [32].

Таблица 2 – Экдистероидный состав *Silene otites*

№№	Экдистероид	№№	Экдистероид
1	20-Гидроксиэкдизон	17	2-Дезокси-21-гидроксиэкдизон
2	Экдизон	18	5 α -2-Дезокси-20-гидроксиэкдизон-3-ацетат
3	2-Дезоксиэкдизон	19	2-Дезоксиэкдизон-3-ацетат
4	2-Дезокси-20-гидроксиэкдизон	20	5 α -2-Дезокси-21-гидроксиэкдизон
5	Интегристерон А	21	20-Гидроксиэкдизон-22-ацетат
6	Сидистерон	22	20-Гидроксиэкдизон-2-ацетат
7	2-Дезокси-21-гидроксиэкдизон	23	20-Гидроксиэкдизон-3-ацетат
8	Макистерон А	24	20-Гидроксиэкдизон-25-ацетат
9	Рубростерон	25	2-Дезокси-20-гидроксиэкдизон-22-бензоат
10	Дигидрорубростерон	26	2-Дезокси-20-гидроксиэкдизон-3-кротонат
11	Постстерон	27	20-Гидроксиэкдизон-25-гликозид
12	Дигидропостстерон	28	20-Гидроксиэкдизон-3-гликозид
13	24,28-Дегидромакистерон А	29	2-Дезокси-20-гидроксиэкдизон-3,22-диацетат
14	20,26-Дигидроксиэкдизон	30	2-Дезоксиэкдизон-22-ацетат
15	20-Гидроксиэкдизон-22-бензоат-25-гликозид	31	2-Дезоксиинтегристерон А
16	5 α -Дигидрорубростерон	32	20-Гидроксиэкдизон-22-бензоат-25-гликозид

Разнообразную биологическую активность проявляют экдистероиды и при действии на организм млекопитающих и человека. Так еще в 70 гг. прошлого века была показана анаболическая активность экдистероидов. В дальнейшем при изучении механизмов воздействия установлено, что экдистероиды оказывают влияние на абсолютную скорость синтеза белковых молекул, приводя к увеличению, как всей мышечной массы подопытного животного, так и отдельных органов.

Таблица 3 – Виды биологических активностей, характерные для экидистероидов

№№	Вид активности	Описание действия	Источник
1	МН-активность	Влияние на линьку при метаморфозе у насекомых и ракообразных	32, 33
2	Пестицидная	Посредством изменения различных физиологических процессов у насекомых	32, 34–36
3	Анаболическая	Стимулируют синтез белка у млекопитающих, а так же рост массы печени, сердца и почек	37–42
4	Гипогликемическая	Нормализуют уровень сахара в крови	43, 44
5	Гепатопротекторная	Изменение количества вырабатываемой желчи, а так же ее химического состава	45, 46
6	Тонизирующая и адаптогенная, иммуностимулирующая	Комплексная активность, позволяющая увеличивать работоспособность и снижать утомляемость при длительных физических нагрузках	29, 47–52
7	Радиопротекторная	Защита организмов млекопитающих от радионуклидов	15
8	Гемореологическая	Нормализация свертываемости крови	53, 54
9	Противоопухолевая	Улучшение эффективности химиотерапии	55
10	Фунгистатическая	Противогрибковое действие экидистероидов в отношении возбудителей различных грибковых заболеваний	56

При этом анаболическое действие экдистероидов является неспецифическим и не сопровождается токсическими эффектами при длительном применении [37–42, 47].

Экдистероиды способствуют нормализации метаболических процессов, нормализуя углеводный и жировой обмен. Так же эта группа соединений способствует работе сердца, кровеносной системы и печени. В ряде работ показана возможность применения экдистероидов в качестве компонентов профилактических комплексных препаратов с иммуностимулирующим и тонизирующим действием [29, 47–52]. Фитоэкдистероиды проявляют достаточно высокую противомикробную и противогрибковую активности [56], а так же способны усиливать антиметастатическое действие циклофосфана [55]. Важным фактором является отсутствие токсического действия экдистероидов, даже при введении доз, многократно превышающих терапевтические [27].

Большое внимание уделяется выделению и установлению структур новых экдистероидов со специфическими биологическими активностями. По предварительным оценкам можно ожидать обнаружения еще около 500 разнообразных экдистероидов, с учетом теоретических расчетов и уже известных соединений [27].

В последние годы возрастает интерес к химической модификации экдистероидов для получения веществ с заданной биологической активностью [57–59]. Это направление связано, прежде всего, с малыми количествами некоторых видов экдистероидов, синтезирующихся в растениях. Так же не ослабевает интерес к получению различных конъюгатов, на основе фитоэкдистероидов и природных биологически активных веществ [60]. Это способствует усилению фармакологического эффекта получаемых субстанций за счет синергетического взаимодействия. Р.Г. Савченко с соавторами изучены механизмы образования конъюгатов различных фитоэкдистероидов с природными антиоксидантами, такими как α -токоферол и его аналоги [61].

Важной задачей при изучении и получении экдистероидов является и создание доступной сырьевой базы. Для этого необходимо проведение

комплексных исследований по интродукции растений, а так же изучению адаптационного потенциала изучаемых видов, включающего подбор абиотических условий для максимального выхода биологических веществ. Примером такого комплексного подхода может служить работа С.О. Володина с соавт. по изучению влияния светового режима на состав экидистероидов в *Serratula quinquefolia* [62]. В работе приведены данные, как для дикорастущих видов, так и для культивируемых, что позволяет проводить оптимальное сравнение и подбор условий для интродукции.

Среди наиболее изучаемых семейств в отношении фитоэкидистероидов покрытосеменных растений в настоящее время большое внимание уделяется семейству *Caryophyllaceae*. Особое место в семействе занимает род *Silene*. Установлено, что данный род, совместно с родом *Lychnis*, является богатым источником экидистероидов. На данный момент проанализировано более 400 видов растений и выявлено более 100 видов – новых продуцентов экидистероидов. Из 467 идентифицированных в настоящее время этих стероидов 80 продуцируются видами рода *Silene* [63]

Флавоны являются биологически активными веществами растений и относятся к классу флавоноидов. Как правило, они присутствуют в растительном соке и имеют ярко-желтую окраску. Наиболее часто среди этой группы встречаются апигенин и лютеолин (5,7-дигидроксилированные флавоны). Реже обнаруживаются метиловые эфиры флавонов и С-метилфлавоны. Достаточно часто встречаются разнообразные сульфаты флавонов [13]. В природе флавоны в большинстве случаев находятся в гликозилированной форме. При этом доминирующее количество флавонов представлено в виде О-гликозидов (производные апигенина, лютеолина и хризоеола). Углеводные фрагменты при этом представлены d-глюкозой, l-рамнозой, l-арабинозой, d-ксилозой, d-галактозой и т. д. С-гликозилированные флавоны встречаются значительно реже и характерны для таких семейств как Гвоздичные, Лютиковые и Бобовые [64]. В таблице 4 представлены основные С-дигликозилированные флавоноиды, обнаруженные ранее в видах секции *Otites* рода *Silene* [14].

Таблица 4 – С-гликозилированные флавоноиды, обнаруженные в видах секции *Otites*

№№	Флавоноид	Молекулярная масса	Формула	Структура
1	Витексин	432,38	$C_{21}H_{20}O_{10}$	
2	Аврозид	432,38	$C_{21}H_{20}O_{10}$	
3	Виценин-1-4 (виценин)	594,38	$C_{27}H_{30}O_{15}$	
4	Ориентин	448,38	$C_{21}H_{20}O_{11}$	
5	Изоориентин (гомоориентин)	448,38	$C_{21}H_{20}O_{11}$	

Ранее С-гликозилированные флавоноиды были идентифицированы в *S. conoidea* L. [19]. Как моно-, так и дигликозилированные флавоны обнаружены в *S. commutata* Guss., *S. macrostyla* Maxim., *S. foliosa* Maxim., *S. graminifolia* Otth, *S. nutans* L., *S. jensseensis* Willd., *S. italica* (L.) Pers., *S. boissieri* Panjut. и в ряде других видов [14, 65].

При проведении исследования представителей секции *Otites* было показано, что в *S. cyri* Schischkin in Grossh. и *S. wolgensis* (Hornem.) Otth in DC. содержатся:

витексин, изовитексин, виценин, ориентин, гомоориентин, в *S. exaltata* Friv. и *S. borysthena* (Gruner) Walters обнаружены изомерные виценины [14].

Анализируя имеющиеся в литературе данные можно сделать вывод, что для проведения хемосистематических исследований видов рода *Silene* можно в качестве хемотаксономических маркеров использовать флавоноиды и экдистероиды. Эти группы вторичных метаболитов имеют широкое распространение во всем семействе *Caryophyllaceae*, а так же обладают разнообразными биологическим действием.

1.3 Современные методы исследования экдистероидов и флавоноидов

В процессе изучения растительных объектов неизбежно возникают проблемы, главным образом, связанные с невероятным многообразием химических компонентов и сложности динамики протекающих процессов из-за постоянного обмена с окружающей средой энергией, веществом и информацией. Клетки, ткани, организмы приобретали узкую специализацию, позволяющую противодействовать внешним и внутренним неблагоприятным факторам, оставаться конкурентоспособными в условиях естественного отбора. Эти процессы не просто усложнили механизмы жизнедеятельности, а перевели их на качественно – новый уровень, который позволил отличать живые объекты от скопления неживых молекул [66]. Этот уровень условно можно обозначить как синергетический. Большая часть веществ в живых организмах, благодаря этому, представлена в виде многокомпонентных комплексов, многие из которых имеют сложнейшую пространственную организацию. В этих условиях связь между молекулярной структурой и биологической функцией химических компонентов становится неявной, а вещества, которые изначально считались балластными или сопутствующими в последствие оказывались такой же необходимой частью всего метаболизма, как и основные действующие компоненты.

Исследования таких многокомпонентных комплексов представляет весьма трудную задачу, которая осложняется следующими факторами:

- все биологические объекты представляют собой многокомпонентные смеси (иногда до нескольких сотен);
- эти смеси представлены наборами близкородственных соединений и изомеров;
- в эти смеси включены вещества, находящиеся в малом и сверхмалом количестве;
- диапазон молекулярных масс компонентов может лежать в пределах от нескольких единиц до десятков миллионов;
- многие биохимические образцы представлены лабильными веществами, быстро разлагающимися при небольшом нагреве и действии кислорода воздуха [66].

Для решения задач по исследованию биологических объектов были разработаны комплексы хроматографических методов анализа. На данный момент под общим термином «хроматография» понимают довольно обширную группу методов, среди которых можно выделить основные: капиллярная газовая хроматография; высокоэффективная жидкостная хроматография; высокоэффективная тонкослойная хроматография; высокоэффективная ионная хроматография; сверхкритическая флюидная хроматография; капиллярный электрофорез и т.д. [67]. Каждый из перечисленных методов наиболее оптимально отвечает задачам конкретных областей биохимии. Наиболее подходящим для решения проблем фитохимии является жидкостная хроматография и ее современный аналог – высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ).

Жидкостная хроматография – уникальный метод, позволяющий разделять сложные смеси, часть компонентов которых находится в малых и сверхмалых количествах. При помощи этого метода можно проводить детальные исследования растительных экстрактов, белков и других биологических материалов [68]. Высокая скорость и эффективность позволяют разделять и

выделять (что весьма важно при проведении биохимических исследований) большинство соединений, в том числе соединения, содержащие лабильные группы, близкородственные и высококипящие соединения, а также многочисленные изомеры.

Сочетание разнообразных хроматографических методов позволило расшифровать ряд важнейших биологических процессов (в том числе механизмы действия ферментов и изменения белковых молекул), изучить общие принципы и основы метаболизма (включая метаболиты второго рода), организовать узконаправленные медицинские исследования, включая создание лекарственных препаратов высокоселективного действия или пролонгированного действия [67, 69].

В последнее время особо актуальным становится не только медико-биологическое применение хроматографии, но и экологическое. При помощи компактного переносного оборудования стало возможным проведения анализов в естественных условиях без длительной пробоподготовки. Это особенно удобно при проведении ботанических исследований и изучении влияния окружающей среды. Немаловажной является возможность нативного исследования биохимических объектов, как объектов обладающих синергетическими эффектами и, как правило, теряющих часть своих свойств при разделении на отдельные компоненты.

Анализ современных тенденций в исследованиях экдистероидов с помощью ВЭЖХ показал (Таблица 5), что на данный момент накоплено достаточно большое количество сведений о хроматографических методах (как обращено-фазовых, так и нормально-фазовых), однако далеко не все из них обладают универсальностью и позволяют проводить анализ экдистероидной суммы, содержащей как полярные, так и неполярные соединения.

Как правило, это системы растворителей основанные на ацетонитриле, изопропиловом спирте и циклогексане. Хотя встречаются системы содержащие бутанол, этанол и ряд других растворителей [76–77].

Таблица 5 – Условия для ВЭЖХ анализа фитоэкдистероидов

№ №	ОФ/НФ	Растворители	Соотношение	Скорость потока, мл/мин	Источник
Zorbax – TMS (250 mm ; 4,6 mm ; 5 μm)					
1	ОФ	АСН – ИПС в 0,1% ТФУ	5:2 (v:v) градиент от 15 до 35% смеси 40	1	71
ACE C18 (150 mm; 4,6 mm; 5 μm)					
1	ОФ	АСН – ИПС в 0,1% ТФУ	5:2 (v:v) градиент от 35 до 100 % смеси	4	71
Kromasil (250 mm; 4,6 mm; 3,5 μm)					
1	НФ	ДХМ – ИПС – W	125:30:1,5 (v:v:v)	1	71
2	НФ	ДХМ – ИПС – W	25:10:1 (v:v:v)	1	73
3	НФ	ЦГ–ИПС– W	85:40:3 (v:v:v)	1	73
ZorbaxRXSil (250mm, 4,6mm, 5μm)					
1	НФ	ЦГ – ИПС – W	100:50:3 (v:v:v)	1	70
2	НФ	ДХМ – ИПС – W	125:40:3 (v:v:v)	4	70, 71, 72, 74
3	НФ	ЦГ – ИПС – W	100:40:3 (v:v:v)	1	72,74
4	НФ	ИО – ИПС – W	50:15:1 (v:v:v)	1	72
5	НФ	ДХМ – ИПС – W	125:50:5 (v:v:v)	1	74
6	НФ	ДХМ – ИПС – W	125:30:2 (v:v:v)	1	74
7	НФ	ДХМ – ИПС – W	125:25:2 (v:v:v)	1	74
Zorbax – ODS C–18 (250 mm; 9,4 mm; 5 μm)					
1	ОФ	АСН –W	77:23 (v:v)	2,5 или 1	70, 74
2	ОФ	АСН – W	78:22 (v:v)	2,5	70
Spherisorb 5ODS–2 (250 mm; 4,6 mm; 5 μm)					
1	ОФ	MeOH – W	(45%)	1	73
2	ОФ	АСН – ИПС в 0,1% ТФУ	5:2 (v:v) градиент от 0 до 18%	1	73
3	ОФ	АСН –W (0,1 ТФУ)	77:23 (v:v)	1	72
Diasorb C16/T (150mm, 4mm, 7 μm)					
1	ОФ	АСН –W	100:20 (v:v)	1,5	75
Диасорб C16/T (150mm, 4mm, 5 μm)					
1	ОФ	АСН –W– ТГФ	100:16:4 (v:v:v)	0,7	76
Nucleosil C18 (80mm, 2mm, 5 μm)					
1	ОФ	W – этанол – бутанол	75:24,2: 0,8	0,1	77

Примечание – АСН – ацетонитрил, ИПС – изопропиловый спирт, ТФУ – трифторуксусная кислота, ДХМ – дихлорметан, W – вода, ЦГ – циклогексан, MeOH – метанол, ТГФ – тетрагидрофуран, ИО – изооктан.

Одним из условий при выборе методики для выполнения работы стала необходимость поиска универсальной системы, позволяющей определять не только экдистероиды, но и С-гликозилированные флавоны [73, 78–83], содержащиеся в смолевках (Таблица 6).

Таблица 6 – Условия для ВЭЖХ анализа С-гликозилированных флавонов

№№	ОФ/НФ	Растворители	Скорость потока, мл/мин	Время анализа, мин	Градиент	Источник
SynergiRP–MAX 80Å (250 mm ; 4,6 mm ; 4 µm)						
1	ОФ	ACN в 0,1% ТФУ	1	70	От 10 до 20% смеси	81
2	ОФ	ACN в 0,1% ТФУ	1	60	От 20 до 50% смеси	81
Finepak SIL C ₁₈ S (150 mm ; 4,6 mm ; 5 µm)						
1	ОФ	ACN – W – H ₃ PO ₄ 35:65:0,2 (v:v:v)	1	–	–	83
Hupersil–ODS (250 mm; 4,6 mm; 5 µm)						
1	ОФ	ACN в 2% уксусной кислоте	1	30	От 9% до 15% ACN, затем 5 мин 15% ACN, далее за 10 мин до 70%	82
VP–ODS–18 (150mm, mm, 20 µm)						
1	ОФ	2% уксусная кислота в ACN (А) в 2% водной уксусной кислоте (Б)	0,5	109	От 10 до 12% через 3 мин, до 20% через 10 мин, до 25% через 16 мин, 55% через 23 мин, 10% через 30 мин	78
Zorbax Eclipse plus–C18 (250 mm ; 4,6mm; 5 µm)						
1	НФ	0,05% ТФУ в MeOH (А) в 0,05% ТФУ в W	1	45	От 40 до 53% А за 30 мин, от 53 до 90% А за 40 мин, 45 мин 90%	79
LiChrosorb RP18 (250 mm; 4,6 mm; 5 µm)						
1	ОФ	ACN в водном буфере pH=3 (H ₃ PO ₄)	1,3	50	От 12 до 100% за 35 мин, 7 мин 100%, затем до 12% ACN за 8 мин	80
Spherisorb 5ODS–2 (250 mm; 4,6 mm; 5 µm)						
1	ОФ	ACN – ИПС 5:2 (v:v) в 0,1% ТФУ	1	70	До 18% смеси	73

Примечание – ACN – ацетонитрил, ИПС – изопропиловый спирт, ТФУ – трифторуксусная кислота, ДХМ – дихлорметан, W – вода, ЦГ – циклогексан, MeOH – метанол.

Изучение С-гликозилированных флавонов методом ВЭЖХ так же имеет ряд специфических особенностей. В современной литературе рекомендуется

достаточно большое количество подвижных фаз для разделения этих веществ. В таблице 6 приведен обзор хроматографических систем, использующихся для анализа С-гликозилированных флавонов.

По мнению исследователей наиболее подходящими для получения экдистероидных и флавоноидных профилей являются системы градиентного анализа с использованием трифторуксусной кислоты. Эти системы являются более экономичными по количеству израсходованного растворителя и экологически безопасными.

1.4 Роль некоторых микро– и макроэлементов в жизнедеятельности растений

Интерес к микроэлементному составу растений в последние время увеличивается в связи с развитием различных направлений биотехнологии, необходимостью повышения биосинтеза биологически активных веществ. Микроэлементы выполняют значительную роль в различных физиологических процессах растений – от увеличения биомассы и скорости роста (как всего растения, так и отдельных его частей) до активного включения в биосинтез различных метаболитов [84]. Современные методы анализа позволяют обнаруживать в составе растений практически все элементы периодической системы Менделеева, но сравнительно немного необходимых для их развития. Необходимые растению элементы могут содержаться как в макро– (от 0,1 до 10%) так и в микроколичестве (не более 0,001%) [84].

К необходимым растению макроэлементам на сегодняшний день относят: азот, фосфор, калий, кальций, магний, серу, кремний, а к микроэлементам: марганец, бор, цинк, молибден, хлор, натрий, кобальт, железо, медь [85]. Физиологическая роль каждого микро– и макроэлемента уникальна и строго специфична. Так, фосфор входит в состав нуклеиновых кислот. В составе фосфолипидов он содержится в клеточных мембранах. Незаменимы соединения фосфора и в процессах создания осмотического давления, энергетического

обмена, фосфорилирования и дефосфорилирования белков [85]. Кальций включен в состав мембран и хромосом, кроме того напрямую связан с функционированием хлоропластов, митохондрий и меристематических тканей [86]. Магний поддерживает структуру мембран и рибосом, активирует ферменты, участвующие в дыхании, фотосинтезе и синтезе нуклеиновых кислот. Помимо этого, ионы магния влияют на транспорт углеводов, синтез белков, жиров и превращение фосфорных соединений [85]. Железо входит в состав многих ферментов, а также необходимо для синтеза хлорофилла [85]. Марганец является активатором ферментов, участвующих в цикле Кребса, восстанавливает нитраты, участвует в фотолизе воды, поддерживает структуру мембран тилакоидов [84]. Медь участвует в процессах дыхания и фотосинтеза, азотном и белковом обмене [87]. Молибден незаменим при регуляции азотного обмена, способствует росту корневых систем растений [84]. Роль таких элементов, как кремний, селен, натрий, окончательно не определена. Доказано, что алюминий является токсичным для большинства растений. Наличие катионов трехвалентного алюминия вызывает ограничение роста растений и снижение урожайности сельскохозяйственных культур [88–90]. Токсичные свойства проявляют и некоторые микроэлементы, если их содержание в растениях избыточно. Примером могут служить марганец, медь, железо [91, 92].

Одним из важных микроэлементов растений является бор. Этот элемент может находиться в растениях, как в свободной форме, так и в виде комплексов с органическими соединениями. Бор принимает активное участие в метаболизме фенолов, углеводов и нуклеиновых кислот. Он задействован в ауксиновом обмене, формировании структуры клеточных стенок и регуляции процессов роста и развития [93, 94]. Бор усиливает рост пыльцевой трубки, увеличивает количество плодов и цветков. Роль титана в растениях до конца не выяснена, однако этот элемент присутствует в тканях растений постоянно. Барий является активным компонентом клеточных мембран, хотя и не входит в число жизненно необходимых микроэлементов [96].

Помимо жизненно важных для растений субстратной и регуляторной функций микроэлементы играют значительную роль при увеличении синтеза и накопления некоторых биологически активных веществ. В ряде работ показана связь микроэлементного состава с составом БАВ, синтезируемых растениями. В таблице 7 приведены данные об основных микроэлементах, участвующих в синтезе и накоплении биологически активных веществ растений.

Таблица 7 – Влияние микроэлементов на накопление биологически активных веществ растений

№№	БАВ	Микроэлементы	Ссылка
1	Флавоноиды	Медь, кобальт, азот, фосфор	97–99
2	Кумарины	Медь, кобальт	97, 100
3	Алкалоиды	Медь, кобальт, марганец, цинк	97, 101–103
4	Сапонины	Молибден, ванадий	97
5	Экдистероиды	Медь, кобальт, марганец	104,105
6	Сердечные гликозиды	Марганец, молибден, хром	97
7	Каротиноиды	Бор, медь, молибден, селен	97, 106
8	Полисахариды	Марганец, хром	97

В современной литературе описаны исследования, определяющие доминирующие микроэлементы в некоторых представителях семейства Гвоздичных. Так в работе В.Н. Дармограя [14] показано, что к таким микроэлементам относятся: железо, марганец, стронций, цинк, титан, цирконий, рубидий, бром, молибден и медь. Кроме этого, в тех же видах обнаружены: ванадий, кобальт, никель, селен, мышьяк. Показано, что некоторые виды семейства Гвоздичные являются концентраторами доминирующих микроэлементов (железа, марганца, титана, меди, рубидия, циркония). Содержание в этих видах микроэлементов намного превышают средние значения. Примером растений – концентраторов микроэлементов могут служить: *Oberna*

commutata (Guss) Ikonn. (железо, марганец, титан, цирконий), *Cerastium biebersteinii* DC (медь), *Coscyganthe flos-cuculi* (L.) Fourr. (рубидий) и т.д. [14].

Таким образом, определение элементного состава смолевок может способствовать изучению накопления экистероидов и флавоноидов, а так же способствовать выявлению особенностей химического состава растений в процессе онтогенеза.

ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Природные условия района исследования

Интродукцию и изучение объектов исследования проводили на территории учебно-экспериментального участка СБС ТГУ, который находится на юго-восточной окраине города Томска (юг Томской области). Рельеф местности равнинный, склонен к заболоченности, высоты, как правило, не превышают 200 м над уровнем моря. Формы рельефа линейно-вытянутые, представлены ложбинами древнего стока, ориентированными с северо-востока на юго-запад. В районе наблюдается чередование песчаников, глин, песков и осадочных пород морского происхождения. Томская область располагается в умеренных широтах северного полушария, в глубине материка [107–108].

Климат местности переходный от умеренно континентального к резко континентальному. Сезоны года выражены ярко. Перепады между зимними и летними температурами велики, зимний период продолжительный (около 40% от продолжительности года), весенний и осенний периоды короткие. Для зимнего периода характерны резкие колебания температур. Весна холодная. Нарастание тепла происходит быстро во второй половине сезона. Нередки возвратные заморозки, что негативно сказывается на проведении сельскохозяйственных работ. Заморозки могут случаться и в начале лета. В этот период идет быстрое нарастание тепла, суша прогревается. Самым коротким сезоном является осень. В это время резко меняются все климатические элементы [107–108].

Континентальность климата усиливается при движении на восток и юго-восток области. Продолжительность солнечного сияния за год достигает в среднем 1730 часов. Продолжительность дня в летние месяцы около 17 часов. Средняя годовая температура района исследования минус 3,5°C. Самым холодным месяцем является январь, холодный период (температура воздуха ниже 0°C) длится около 200 дней. Самым теплым и влажным месяцем является июль.

Количество осадков, выпадающих в Томской области, достигает 400–600 мм. Основная их часть приходится на теплое время года и выпадает в виде дождей. Однако часто бывают обильные осадки в конце лета и начале осени, это необходимо учитывать при сборе растительного сырья и семян растений. Устойчивый снежный покров формируется в конце октября – начале ноября и сохраняется до начала мая, однако не редки ранние заморозки, что может представлять угрозу растениям, особенно первого года жизни [107–108].

Агроклиматические ресурсы области распределены неравномерно. Обычно для Томской области выделяют шесть агроклиматических районов. Район проведения исследований характеризуется как умеренно теплый влажный, тайга здесь сменяется сосново-мелколиственными лесами [108].

На участке проведения исследований широко распространен тип серых лесных почв. Светло-серые лесные почвы (ССЛП) залегают преимущественно на повышенных элементах рельефа, где наиболее сильно проявляется промывной режим, кроме того, ССЛП развиваются в нижней части пологих склонов, характеризующихся отчетливо выраженными признаками оглеения. Оглеение усилилось после уничтожения леса на этой территории. Почвы учебно-экспериментального участка СБС обладают кислой реакцией. Они бедны элементами необходимыми для растений и являются бесструктурными [109].

Начало вегетационного периода приходится на середину мая – начало июня, завершение на конец сентября – начало октября. При выращивании смолевков учитывается ряд агроклиматических условий района интродукции. Смолевки, как правило, хорошо переносят возвратные заморозки, однако ранние осенние заморозки становятся губительными для большинства растений, особенно первого года жизни. Во избежание гибели смолевков, начиная с конца августа, возникает необходимость дополнительно укрывать растения. Максимально теплый период полевого сезона длится с конца июня до начала августа. Это благоприятно влияет на развитие смолевков, у которых в этот период наступает фаза цветения или плодоношения. В этот период растениям необходим интенсивный полив.

2.2 Объекты исследования

В качестве объектов исследования использованы виды *Silene*, культивируемые в Сибирском ботаническом саду (СБС). Виды были определены при содействии сотрудников кафедры ботаники Томского государственного университета и сотрудников СБС ТГУ. Названия видов выверены по международной базе Tropicos и Открытому атласу сосудистых растений России [110, 111].

В качестве объектов исследования использованы надземные части следующих видов секции *Otites*: *Silene colpophylla* Wrigley, *S. sendtneri* Boiss., *S. roemerii* Friv., *S. otites* Wibel., *S. pseudotites* Besser. ex Reichenb. *S. otites* ssp. *hungarica* Wrigley, *S. baschkirorum* Janisch., *S. exaltata* Friv., *S. borysthénica* (Gruner) Walters. Семена изучаемых растений были получены из различных ботанических садов и научно-исследовательских институтов (Таблица 8).

Для хемотаксономического изучения выбрано 8 видов смолёвок и один подвид, относящихся к секции *Otites* (по классификации, приведенной во «Flora Europaea» [112]) типовой вид – *S. otites*, виды, бесспорно относимые к роду *Silene* (*S. colpophylla*, *S. sendtneri*, *S. roemerii*), виды, имеющие спорный родовой статус (*S. baschkirorum*, *S. exaltata*, *S. borysthénica*), а так же близкородственные виды (*S. pseudotites*, *S. otites* ssp. *hungarica*).

S. colpophylla, *S. sendtneri*, *S. roemerii*, *S. otites*, *S. otites* ssp. *hungarica* в условиях юга Западной Сибири проходят весь вегетативный цикл. *S. colpophylla*, *S. sendtneri*, *S. roemerii* на первом году жизни достигают виргинильной стадии развития, а на втором – генеративной. В конце второго года формируются полноценные семена. *S. otites* и *S. otites* ssp. *hungarica* достигают генеративной фазы в первый год жизни. Цветение начинается во второй половине июня – начале июля и заканчивается в начале августа. Получены полноценные семена ряда поколений.

Таблица 8 – Сведения об источниках получения семян исследуемых *Silene*

№№	Вид	Источник получения семян (страна)	Год начала интродукции
1	<i>Silene colpophylla</i>	Muséum National d'Histoire Naturell (Франция).	2009
2	<i>S. sendtneri</i>	Martin-Luther-University (Германия)	1994
3	<i>S. roemerii</i>	Botanischer Garten und Botanisches Museum Berlin-Dahlem (Германия)	1994
4	<i>S. otites</i>	Botanischer Garten und Botanisches Museum Berlin-Dahlem (Германия)	1992
5	<i>S. otites</i> ssp. <i>hungarica</i>	Botanischer Garten und Botanisches Museum Berlin-Dahlem (Германия)	2013
6	<i>S. pseudotites</i>	Botanischer Garten und Botanisches Museum Berlin-Dahlem (Германия)	1993
7	<i>S. baschkirorum</i>	Ботанический институт РАН (Россия)	1995
8	<i>S. exaltata</i>	Ботанический институт РАН (Россия)	2001
9	<i>S. borysthena</i>	Ботанический институт РАН (Россия)	2013

Для изучения химического состава и составления экистероидных профилей были отобраны виды с различным содержанием биологически активных веществ. Так же в качестве объектов сравнения были изучены экистероидные профили некоторых видов *Silene*, не входящих в секцию *Otites*. В качестве видов сравнения взяты *S. linicola* C.C. Gmelin (секция *Lasiocalycinae* Chowdhuri), *S. viridiflora* L. (секция *Siphonomorpha* Otth), *S. frivaldszkyana* Hampe (секция *Sclerocalycina* (Boiss.) Schischkin).

Количество образцов для анализа брали в пределах от 10 до 20 растений. Материал собирали в различные вегетативные фазы в количестве 15–20 г (средняя проба), для выделения индивидуальных соединений использовали 200–500 г сырья. Подробное описание изученных видов приведено ниже.

2.3 Методы исследования

Качественное и количественное определение фитоэкдистероидов

Для качественного и количественного определения фитоэкдистероидов навеску воздушно-сухого сырья массой 1 г пятикратно экстрагировали 70% этиловым спиртом на водяной бане при температуре 55°C. Полученные экстракты объединяли и концентрировали. Концентрирование проводили при помощи ротационного испарителя под вакуумом при нагреве до 50°C. Качественный анализ образцов осуществляли методом тонкослойной хроматографии на пластинках марки «Sorbfil UV 254». Для хроматографического разделения использовали систему растворителей хлороформ – этанол 4:1 (v:v). Фитоэкдистероиды выявляли в ультрафиолетовом свете ($\lambda=254$ нм) сравнением R_f на фоне эталонов. В качестве проявителя применяли ванилин-серный реактив. Для проявления пятен экдистероидов обработанные пластинки нагревали до температуры 110°C. Искомые соединения проявлялись в виде зеленых, желто-зеленых, а так же розовых пятен. Порог чувствительности метода составляет 60 мкг.

Количественный анализ фитоэкдистероидов в образцах осуществляли хроматографическим разделением в тонком слое с последующим спектрофотометрическим определением [113]. На стеклянную хроматографическую пластину с размерами 200 x 200 мм наносили сорбирующий слой из силикагеля (10г) и окиси алюминия (7г). Для закрепления сорбентов в смесь добавляли 0,5 г гипса. После предварительного высушивания и активирования на пластины наносили образцы экстрактов (0,1–0,3 мл). Хроматографическое разделение проводили в системе хлороформ – этанол – ацетон 5:3:1 (v:v:v). Экдистероиды с сорбента элюировали 10 мл 96% этилового спирта в течение 4 часов при непрерывном перемешивании. Оптическую плотность растворов экдистероидов измеряли на спектрофотометре «UV-1800» (Shimadzu, Япония) в диапазоне длин волн от 200 до 300 нм в кюветах с толщиной слоя 1 см. В качестве фонового образца использовали элюированную в тех же

условиях холостую пробу. Максимумы поглощения фиксировали при 240–245 нм (кетогруппа экдистероидов, сопряженная с двойной связью).

Методика выделения индивидуальных экдистероидов методом колоночной хроматографии

Воздушно-сухое сырье экстрагировали пятикратно 70% раствором этилового спирта в соотношении 1:4 или 1:5. Полученный экстракт фильтровали и концентрировали под вакуумом при температуре 50°C. Концентрированный экстракт разбавляли водой до соотношения 1:5 (v:v) и повторно отфильтровывали. Затем проводили очистку фильтрата от липофильных веществ при помощи *n*-гексана. Контроль содержания БАВ во фракциях осуществляли методом ТСХ.

Извлечение суммы экдистероидов из очищенного фильтрата осуществляли многократной экстракцией *n*-бутанолом. Полученную бутанольную фракцию концентрировали до смолообразного состояния. Далее этот остаток очищали от сопутствующих полифенольных соединений и подвергали дальнейшему фракционированию в системах растворителей: хлороформ – этанол 9:1 (v:v), 70% спирт и вода. Проведенные анализы показали, что хлороформно-этанольная фракция (неполярная фракция) обогащена фитоэкдистероидами, а фракции, полученные при растворении остатка в 70% этаноле и воде, состоят преимущественно из полярных флавоноидов.

Неполярную фракцию подвергали многократному разделению на колонках с силикагелем марки КСК (Россия). Размер частиц силикагеля 0,1–0,16 мм, высота колонки 700 мм, диаметр 15 мм. В процессе хроматографирования в качестве элюентов использовали системы растворителей хлороформ – этанол в соотношениях 15:1, 9:1, 5:1, 3:1, 1:1. Фракции собирали в объеме по 25–30 мл и проверяли методом ТСХ в системах растворителей, состоящих из смеси этанола и хлороформа в соотношениях 7:1, 5:1, 3:1, 2:1. В качестве реактива обнаружения использовали ванилин-серный реактив.

Выделенные фракции исследовали методами ВЭЖХ, после чего высушивали и подвергали перекристаллизации. Перекристаллизацию проводили в системах этилацетат – этанол в соотношениях 7:1 и 5:1. Индивидуальные вещества идентифицированы методами ВЭЖХ, ЯМР и МС-анализом.

Методика анализа высокоэффективной жидкостной хроматографией

В процессе работы проводили контроль состава, а так же изучение полученных экстрактов растений методом ВЭЖХ. Для получения экстрактов растений *S. otites*, *S. pseudotites*, *S. otites* ssp. *hungarica*, *S. exaltata*, *S. borystenica*, *S. linicola*, *S. viridiflora*, *S. frivaldszkyana* воздушно-сухое сырье массой 1–5 г (средняя проба) пятикратно экстрагировали 70% этиловым спиртом. Экстракт освобождали от растворителя досуха при помощи вакуумного ротационного испарителя и растворяли в 80% этаноле. Полученные растворы центрифугировали, выпавшие в осадок соединения удаляли из образца.

Виды, *S. sendtneri*, *S. roemerii*, *S. baschkirorum* исследовали в виде бутанольных экстрактов, обогащенных БАВ, высушенных и растворенных в 80% этиловом спирте. Для *S. colpophylla* проводилось детальное исследование как бутанольной суммы, так и отдельных ее фракций и выделенных индивидуальных соединений.

Хроматографические исследования проводили в лаборатории фитохимии СБС Томского государственного университета, а так же в лаборатории экологических исследований и хроматографического анализа Новосибирского института органической химии им Н.Н. Ворожцова СО РАН.

Индивидуальные соединения идентифицировали методом сравнения со стандартом, а так же при помощи хромато-масс-спектрометрии. ВЭЖХ/УФ анализ выполнен на жидкостных хроматографах: «Agilent 1100» (США) и «Shimadzu LC 20» (Япония) с диодноматричными детекторами.

НФ ВЭЖХ осуществляли в условиях: колонка Target 100Sil; 4,6*250 мм, размер зерна сорбента 5 мкм, ПФ – система растворителей циклогексан –

изопропиловый спирт – вода в различных соотношениях. ОФ ВЭЖХ осуществляли в условиях:

1. Хроматографическая колонка Perfect Sil Target ODS–3; 4,6*250 мм, размер зерна сорбента 5 мкм, элюирование смесью ацетонитрила и изопропилового спирта (5:2 v/v) в градиенте 0,1% трифторуксусной кислоты от 15 до 35%. Скорость элюирования 1 мл/мин. Аналитическая длина волны $\lambda_{\max} = 254$ нм для регистрации фитоэкдистероидов и $\lambda_{\max} = 272$ нм, время анализа от 40 до 70 мин.
2. Хроматографическая колонка Perfect Sil Target ODS–3; 4,6*250 мм, размер зерна сорбента 5 мкм, элюирование смесью изопропиловый спирт и вода (70:30 v/v). Скорость элюирования 1 мл/мин. Аналитическая длина волны $\lambda_{\max} = 254$ нм для регистрации фитоэкдистероидов, время анализа 40 мин.
3. Хроматографическая колонка ZORBAX Eclipse XDB C8; 4,6*150 мм, размер зерна сорбента 5 мкм. Градиентное элюирование вели системой растворителей метанол – 0,1% трифторуксусная кислота от 2 до 100% метанола; скорость элюирования 0,8 мл/мин. Аналитическая длина волны $\lambda_{\max} = 254$ нм для регистрации фитоэкдистероидов.

Методика анализа индивидуальных соединений методом ВЭЖХ/МС

Индивидуально-групповую идентификацию основных соединений на хроматограммах проводили сопоставлением экспериментальных УФ– и масс-спектров с таковыми для стандартных образцов и использованием литературных данных. ВЭЖХ/МС анализ проводили на жидкостном хроматографе Agilent 1200 с диодно-матричным детектором и гибридным квадруполь-времяпролетным масс-спектрометром micrOTOF–Q (фирма Bruker). Колонка: Zorbax SB–C18, 2,1x50 mm. Элюент: 2% HCOOH–CH₃OH (линейный градиент содержания ACN от 10 до 90% с 0-й до 20-ой минуты). Скорость потока: 0,2 мл/мин. Рабочие параметры масс-детектирования: химическая ионизация и электростатическое распыление при атмосферном давлении (APCIpos. и API–ES); сканирование положительных и отрицательных ионов в диапазоне $m/z = 100–3000$; поток газа-осушителя (азот): 4 л/мин, температура 220 °C.

Методика анализа индивидуальных соединений методом ЯМР

Спектры ЯМР зарегистрированы на приборе «Bruker AV 400». Для проведения ^1H и ^{13}C -анализа использовали дейтерометанол, дейтерохлороформ и ДМСО. Анализ образцов методом ЯМР был выполнен в лаборатории экологических исследований и хроматографического анализа Новосибирского институт органической химии им Н.Н. Ворожцова СО РАН, а так же в Department of Chemistry Faculty of Science Ramkhamhaeng University (Бангкок, Таиланд).

Метод ИК-спектроскопии

Спектры ИК зарегистрированы на приборах «Tensor 27». Для проведения анализа использовали бромид калия в соотношении 150:1 (w:w). Анализ образцов методом ИК-спектрометрии был выполнен в лаборатории экологических исследований и хроматографического анализа Новосибирского институт органической химии им Н.Н. Ворожцова СО РАН.

Определение микроэлементов в надземной части растений

Количественное определение макро– и микроэлементов растений проводили методом атомно-эмиссионной спектрометрии с использованием комплекса «Гранд», включающего спектроаналитический генератор «Везувий-3», полихроматор «Роуланд» и многоканальный анализатор эмиссионных спектров МАЭС (НПО «Оптоэлектроника», Россия). Для количественного анализа воздушно-сухое растительное сырье измельчали и озоляли методом сухого озоления и в сухом остатке проводили обнаружение микроэлементов методом атомно-эмиссионного спектрального анализа с многоканальным анализатором эмиссионных спектров.

Проба золы массой 10 мг последовательно разбавлялась графитовым порошком марки (ОСЧ-6-4) до соотношения 1:100 тщательно перемешивалась до однородного состояния. Навески проб и стандартных образцов (СО) состава графитового коллектора микропримесей СОГ-37 (ГСО 8487-2013) массой 0,015 г испаряли из канала анодного электрода формы «рюмка» (глубина, диаметр

кратера и шейки – 0,004; 0,0045 и 0,002 м). Катодом служил электрод, заточенный на конус (в работе использовали графитовые электроды для спектрального анализа ОСЧ-7-4). Перед регистрацией спектров в электроды с пробами и СО вносили микродозатором 20 мкл полуспортивного раствора NaCl, содержащего 5 мас. % натрия для стабилизации условий возбуждения спектров.

Параметры регистрации спектров: постоянный ток 13 А; расстояние между электродами – 0,003 м; ширина щели – $3,0 \cdot 10^{-5}$ м; диафрагма – 0,005 м; накоплений – 160; длительность накоплений – 125 мс; полная экспозиция – 20 с.

ГЛАВА 3. ХАРАКТЕРИСТИКА ВИДОВ СЕКЦИИ *OTITES* (ADANS.) ОТТН

3.1 Проблемы систематики рода *Silene* на примере видов секции *Otites*

Род *Silene* принадлежит к семейству *Caryophyllaceae* (Гвоздичные) [114], входит в подсемейство *Silenoideae* (Смолевковые) и является крупнейшим родом в его составе. В состав рода входят преимущественно многолетние и двулетние травы и полукустарнички. Виды, входящие в состав рода, распространены повсеместно, но не равномерно и встречаются чаще всего в Средиземноморье, Центральной и Восточной Азии [115].

Род *Silene* в основном распространен в северных и умеренных областях Северного полушария. Большое количество видов обладает спорадическим ареалом. Многие виды данного рода образуют уникальные или эндемичные группы, некоторые из них являются реликтами, такие как *Silene jailensis* [116]. Известно, что семена *S. stenophylla*, пролежавшие в вечной мерзлоте около 32 тысяч лет, не утратили всхожесть [117]. На территории России и стран СНГ произрастает свыше 200 [118, 119], в Сибири встречается около 40 видов [120].

Цветки у смолевок обоеполые, пятимерные до 18 мм в диаметре. Соцветия удлиненные тирсоидные, иногда дихазиальные или монохазиальные. Чашечки до 28 мм, трубчатые, реже колокольчатые, не вздутые или немного вздутые, голые или волосистые. Каждая чашечка имеет 10 жилок и ланцетные или треугольные зубцы. Лепестки белые, реже зеленоватые или розовые с голым или реснитчатым ноготком и глубокодвураздельной, реже выемчатой или даже цельной пластинкой, чаще с привенчиком, реже без него. Нити тычинок голые, но могут быть реснитчатые, обычно выступающие из венчика. Завязь неполнотрехгнездная с 3 обычно длинными стилодиями. Андрогинофор до 14 мм, голый, реже волосистый. Коробочки с 3 неполными перегородками, вскрывающиеся 3 двойными зубцами. Семена до 2 мм, обычно темно-бурые, сплюснутые с боков, со скульптурой из ячеек. Высота растений от 10 до 200 см, побеги чаще волосистые, реже голые. Стебли прямостоячие, иногда восходящие, или даже

стелющиеся. Листья широкоэллиптические или широколанцетные, реже узколинейные [112].

Из-за специфики распространения и множества гибридов близкородственных видов род *Silene* является полиморфным со сложной системой внутренней классификации, включающей неоднозначную систему подродов, секций и подсекций. В разное время исследователи неоднозначно проводили границы как внутри рода, так и внутри трибы *Sileneae*. К началу 20 века по оценке К.Б. Шишкина [121] триба насчитывала восемь родов и выделяемый некоторыми исследователями род *Oberna* Adans. (Рисунок 1) [122].

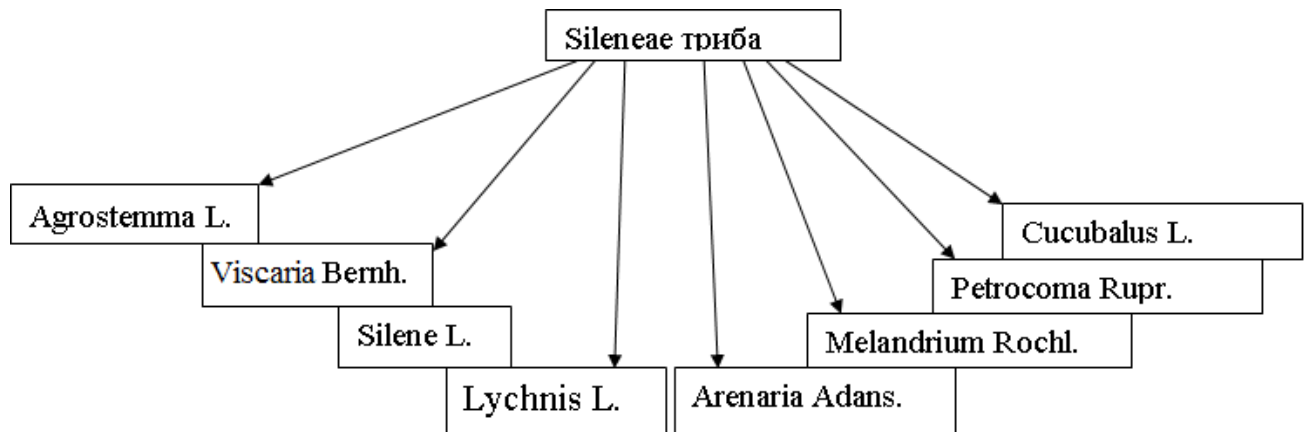


Рисунок 3 – Триба *Sileneae*

Начиная с 50-х гг. прошлого века, в систематике рода наметилась четкая тенденция к укрупнению рода *Silene*. Так в 1957 в род *Silene* внесен род *Melandrium* Rochl., а затем *Lychnis* L. и *Cucubalus* L. [122–123], а количество видов в роде увеличилось до 700 (по данным Greuter) [123]. Все эти изменения внесли значительный вклад и во внутриродовую систематику, усложнив деление рода на подроды, секции и подсекции. Зачастую невозможно выделить хотя бы один абсолютный признак, позволяющий с уверенностью провести границу между близкими подсекциями, секциями или родами.

Примером может служить секция *Otites* (Adans.) Oth. Она наиболее близка к двум родственным секциям *Holopetalae* Schischk. и *Balcanosilene* Šourková, которые объединяют совместно с секцией *Otites* в подрод *Otites* Peterm [112, 120,

122, 124]. Все виды трех данных секций имеют одинаковое строение лепестка и очень близкое строение соцветий [126]. В таблице А.1 (Приложение А) приведены некоторые виды секции *Otites* согласно классификации, указанной авторами.

В современных флористических сводках (Tropicos, IPNI и Открытый атлас сосудистых растений России и т.д. [110–111, 127]) виды этой секции так же имеют некоторые отличия в названиях. В таблице 9 приведены данные о классификациях видов секции *Otites* в современных сводках сосудистых растений. Исследователи рода *Silene* неоднозначно проводят границу между секциями. Это хорошо видно на примере *S. sibirica* (L.) Pers., которую различные авторы относят как к секции *Otites*, так и к секции *Holopetalae* Schischk. ex Chowdhuri. Во «Flora Europaea» [112] этот вид отнесен к секции *Otites*, а в обзоре, представленном Д.Л. Белкиным [123] к *Holopetalae*. Во «Флоре Восточной Европы» [124] *S. sibirica* указана как *O. sibirica* (L.) Raf. В это же время в обзоре Г.А. Лазькова – как *S. holopetala* Ledeb. [126]. Интересна также тенденция, прослеживаемая в современной литературе, по выделению секции *Otites* из рода *Silene* и присоединению ее к роду *Otites* Adans. (ушанки) [128]. Из таблицы А.1 (Приложение А) видно, что одни авторы признают как синонимичные разные виды смолёвок и расходятся во мнениях по поводу классификации указанной секции, в то время как другие относят их к роду *Otites*. Так *S. borysthena*, *S. sibirica* и др., которые приводятся во «Flora Europaea» [112] как смолёвки, тогда как во Флоре Сибири [120], а так же во Флоре Восточной [124] Европы, эти же виды приведены как ушанки.

Достаточно часто встречаются расхождения и в выделении отдельных подвидов или внесении их в состав других видов смолёвок. Во «Флоре Восточной Европы» [124] *O. sibirica* subsp. *kleopovii* Tzvel. вынесен как отдельный подвид *O. sibirica*, в то время как в других источниках он не упоминается.

Таблица 9 – Перечень названий видов секции *Otites* и их синонимов по данным различных сводок сосудистых растений

№ №	Flora Europaea [112]		Tropicos [110]		Открытый атлас сосудистых растений России [111]	
	Основное название вида	Синонимы	Основное название вида	Синонимы	Основное название вида	Синонимы
1	<i>Silene sibirica</i> (L.) Pers.	–	<i>Silene sibirica</i> (L.) Pers.	–	<i>Silene sibirica</i> (L.) Pers.	<i>Otites sibirica</i> Raf.
2	<i>S. roemerii</i> Friv.	<i>O. roemerii</i> (Friv.) J. Holub	<i>S. roemerii</i> Friv.	–	–	–
3	<i>S. sendtneri</i> Boiss.	<i>O. sendtneri</i> (Boiss.) J. Holub	<i>S. sendtneri</i> Boiss.	<i>O. sendtneri</i> (Boiss.) J. Holub	–	–
4	<i>S. ventricosa</i> Adamović	<i>O. ventricosa</i> (Adamović) J. Holub	<i>S. ventricosa</i> Adamović	–	–	–
5	<i>S. borysthena</i> (Gruner) Walters	<i>O. borysthena</i> (Gruner) Klokov; <i>S. otites</i> var. <i>borysthena</i> Gruner; <i>S. parviflora</i> (Ehrh.) Pers.; <i>S. ehrhartiana</i> Soó	<i>S. borysthena</i> (Gruner) Walters	<i>O. borysthena</i> (Gruner) Klokov; <i>O. parviflora</i> Grossh; <i>S. parviflora</i> Pers.; <i>S. otites</i> var. <i>borysthena</i> Gruner; <i>O. borysthena</i> ssp. <i>parviflora</i> Holub; <i>S. borysthena</i> ssp. <i>parviflora</i> Holub	<i>O. borysthena</i> (Gruner) Klokov	<i>S. borysthena</i> (Gruner) Walters; <i>O. borysthena</i> ssp. <i>parviflora</i> (Hornem.) Holub; <i>O. borysthena</i> ssp. <i>parviflora</i> (Hornem.) Sourkova; <i>S. ehrhartiana</i> Soó; <i>S. otites</i> var. <i>borysthena</i> Gruner; <i>S. parviflora</i> (Ehrh.) Pers.; <i>Viscago parviflora</i> Hornem.
6	<i>S. media</i> (Litv.) Kleopow	–	<i>S. media</i> Kleopow	<i>O. media</i> Klokov	<i>S. media</i> (Litv.) Kleopow	<i>O. media</i> (Litv.) Klov

Продолжение таблицы 9

№ №	Flora Europaea		Tropicos		Открытый атлас сосудистых растений России	
	Основное название вида	Синонимы	Основное название вида	Синонимы	Основное название вида	Синонимы
7	<i>S. hellmannii</i> Claus	<i>O. graniticola</i> Klokov	<i>S. hellmannii</i> Claus	<i>O. hellmannii</i> Kokov; <i>O. graniticola</i> Kokov; <i>S. graniticola</i> Sourkova	<i>S. hellmannii</i> Claus	<i>O. hellmannii</i> (Claus) Kokov
8	<i>S. cyri</i> Schischkin in Grossh.	—	<i>S. cyri</i> Schischk.	<i>O. cyri</i> Grossh.; <i>S. turcomanica</i> Kleop	<i>S. cyri</i> Schischk.	<i>O. cyri</i> (Schischk.) Grossh.; <i>S. turcomanica</i> Kleop.
9	<i>S. velebitica</i> (Degen) Wrigley	<i>S. otites</i> var. <i>velebitica</i> Degen; <i>O. velebitica</i> (Degen)J. Holub	<i>S. velebitica</i> F. Wrigley	—	—	—
10	<i>S. wolgensis</i> (Hornem.) Otth in DC.	—	<i>S. wolgensis</i> (Hornem.) Otth <i>non S. wolgensis</i> (Willd.) Bess. ex Spreng.	<i>S. otites</i> var. <i>wolgensis</i> (Hornem.) Rohrb <i>Viscago wolgensis</i> Hornem.	<i>S. wolgensis</i> (Hornem.) Besser ex Spreng.	<i>O. orae-syvaschicae</i> Klok.; <i>O. wolgensis</i> (Hornem.) Grossh.; <i>S.densiflora</i> ssp. <i>wolgensis</i> (Hornem.) Slavic; <i>S.densiflora</i> var. <i>wolgensis</i> (Hornem.) Jordanov & Panov; <i>O. orae-syvaschicae</i> (Klok.) Czer.
11	<i>S. otites</i> ssp. <i>otites</i> (L.) Wibel	—	<i>S. otites</i> (L.) Wibel	<i>S. otites</i> Sm.; <i>Cocubalus otites</i> L. <i>S. pseudo-otites</i> Besser	<i>S. otites</i> (L.) Wibel	<i>S. otites</i> Sm.; <i>O. cuneifolius</i> Raf.

Окончание таблицы 9

№ №	Flora Europaea		Tropicos		Открытый атлас сосудистых растений России	
	Основное название вида	Синонимы	Основное название вида	Синонимы	Основное название вида	Синонимы
12	<i>S. otites</i> ssp. <i>hungarica</i> Wrigley	—	<i>S. otites</i> ssp. <i>hungarica</i> Wrigley	—	—	—
13	<i>S. pseudotites</i> Besser ex Reichenb	—	<i>S. pseudotites</i> Besser ex Reichenb	—	<i>S. pseudotites</i> Besser ex Reichenb	<i>O. pseudotites</i> Besser ex Reichenb Klok.; <i>S. otites</i> auct.
14	<i>S. donetzica</i> Kleopow	<i>S. sillingeri</i> Hendrych	<i>S. donetzica</i> Kleopow	<i>O. donetzica</i> Klok.	<i>S. donetzica</i> Kleopow	<i>O. donetzica</i> (Kleop.) Klok.
15	<i>S. colpophylla</i> Wrigley	—	<i>S. colpophylla</i> Wrigley	—	—	—
16	<i>S. densiflora</i> d'Urv.	<i>O. dolichocarpa</i> Klokov	<i>S. densiflora</i> d'Urv.	<i>O. densiflora</i> Grossh.	<i>S. densiflora</i> d'Urv.	<i>O. densiflora</i> (d'Urv.) Grossh.; <i>S. otites</i> ssp. <i>densiflora</i> (d'Urv.) Asch. & Graebn.
17	<i>S. exaltata</i> Friv.	<i>O. exaltata</i> (Friv.) J.Holub	<i>S. exaltata</i> Friv.	<i>O. exaltata</i> Holub; <i>O. chersonensis</i> Klokov	<i>S. exaltata</i> Friv.	<i>O. exaltata</i> (Friv.) Holub; <i>O. chersonensis</i> (Zapal) Klokov
18	<i>S. chersonensis</i> (Zapal) Kleopow	Включает <i>O.</i> <i>moldavica</i> Klokov	<i>S. chersonensis</i> Kleopow	—	<i>S. chersonensis</i> (Zapal) Kleopow	—
19	<i>S. baschkirorum</i> Janisch. (Включает <i>O. Polaris</i> Kleopow)		<i>S. baschkirorum</i> Janisch.	<i>O. baschkirorum</i> (Janisch.) Holub; <i>O. baschkirorum</i> (Janisch.) Stankov non (Hornem.) Grossh.)	<i>S. baschkirorum</i> Janisch.	<i>O. baschkirorum</i> (Janisch.) Holub; <i>O. baschkirorum</i> (Janisch.) Stankov

Во «Flora Europaea» [112] *S. chersonensis* (Zapal) Kleopow включает *O. moldavica* Klokov, тогда как во «Флоре Восточной Европы» и обзоре Цвелева Н.Н. [124, 122] *O. moldavica* Klokov отнесен к роду *Otites* как самостоятельный вид.

То же самое можно сказать в отношении *O. krymensis*, *O. polaris*, *O. oraesyvaschicae*. Еще одним интересным моментом является синонимичность отдельных видов смолевок и ушанок, приведенных в различных источниках. Так *S. parviflora* (Ehrh.) Pers., которая во «Flora Europaea» [112] приведена как синоним вида *S. borysthena* (Gruner) Walters и синоним вида *O. borysthena* (Gruner) Klokov во «Флоре Восточной Европы» [124] *S. parviflora* (Ehrh.) Pers. указывается как самостоятельный вид, от которого первый отличается более мощным каудексом и стеблями с более многочисленными узлами, сильно удлиненными соцветиями и почти шаровидными коробочками.

Помимо решения проблем систематики, изучение смолевок (*Silene*) представляет интерес с точки зрения фармакологии, медицины и сельскохозяйственной биотехнологии. Смолевки являются источниками многих биологически активных соединений, таких как фенилпропаноиды, экдистероиды, тритерпеновые сапонины и др. [129–130]. Некоторые виды смолевок издавна используются в народной медицине и сельском хозяйстве (Смолевка поникшая или Смолевка енисейская). А благодаря высокому уровню содержания биологически активных веществ, являются перспективными источниками для получения фитопрепаратов разнообразного физиологического действия [37–56].

Известно, что среди видов изучаемой секции *Otites* обнаружены виды – продуценты биологически активных веществ. В таблице 10 приведены виды секции, рекомендованные в качестве источников различных групп биологически активных соединений.

Для получения продукции на основе биологически активных веществ важной задачей является изучение и формирование сырьевой базы, так как синтез подобных соединений зачастую представляет собой длительный и дорогостоящий процесс, а природные запасы ограничены (многие виды-сверхконцентраторы являются узколокальными эндемиками или эндемиками отдельных районов) [112,

116]. В связи с этим весьма актуальными становятся фитохимические исследования интродуцированных растений.

Таблица 10 – Биологически активные вещества видов секции *Otites*

№№	Вид	Группа БАВ	Источник
1	<i>Silene sibirica</i>	Экдистероиды	15
2	<i>S. roemerii</i>	Экдистероиды	131
3	<i>S. sendtneri</i>	Экдистероиды	132
4	<i>S. borysthena</i>	Экдистероиды, виценины	14, 15
5	<i>S. wolgensis</i>	Экдистероиды, флавоны, сапонины	14, 15, 133
6	<i>S. baschkirorum</i>	Экдистероиды	134
7	<i>S. otites</i>	Экдистероиды, флавоноиды	15, 31
8	<i>S. pseudotites</i>	Экдистероиды	134
9	<i>S. densiflora</i>	Экдистероиды	15
10	<i>S. exaltata</i>	Флавоны	14
11	<i>S. cyri</i>	Флавоны	14, 133

Характерной особенностью смолевков является их успешная адаптация к различным климатическим условиям, в том числе и к достаточно экстремальным Западной Сибири. При этом у растений сохраняется способность к биосинтезу, а в некоторых случаях происходит даже увеличение содержания биологически активных веществ [135]. Это свойство особенно важно, так как в естественных условиях Сибири и сопредельных территориях встречается небольшое число видов этого рода (около 35, включая род *Oberna*, *Otites*) [120], которые редко отличаются высоким содержанием экдистероидов (видами с высоким содержанием, как правило, называются содержащие от 0,8% экдистероидов и выше в пересчете на абсолютно сухое сырье) и флавоноидов (содержащие 4,5% и более флавоноидов, при пересчете на абсолютно сухое сырье) (Таблица 11).

Среди изученных видов, распространенных на территории Сибири, *S. multiflora*, *S. chlorantha*, *S. graminifolia*, *S. jeniseensis*, *S. nutans*, *S. tatarica* характеризуются высоким содержанием фитоэкдистероидов.

Таблица 11 – Содержание экдистероидов в смолевках, распространенных на территории Сибири

№№	Вид	Содержание 20Е, %	Источник
1	<i>Silene acaulis</i> (L.) Jacq.	0,4	15
2	<i>S. altaica</i> Pers.	0,5	132
3	<i>S. armeria</i> L.	+	132
4	<i>S. chamarensis</i> Turcz.	0,3	15, 136
5	<i>S. chlorantha</i> (Willd.) Ehrh.	0,6	15
6	<i>S. dichotoma</i> Ehrh.	–	15
7	<i>S. graminifolia</i> Otth	0,6	15, 136
8	<i>S. incurvifolia</i> Kar. et Kir.	+	15
9	<i>S. jeniseensis</i> Willd.	0,8	15, 136
10	<i>S. jeniseensis</i> ssp. <i>popovii</i> Zuev	0,5	Экспер. данные
11	<i>S. multiflora</i> (Waldst. ex Kit.) Pers.	1,9	15, 136
12	<i>S. nutans</i> L.	0,6	137
13	<i>S. repens</i> Patrin	0,1	136
14	<i>S. sibirica</i> (L.) Pers.	0,1	15
15	<i>S. sobolevskajae</i> Czer.	0,5	136
16	<i>S. stenophylla</i> Ledeb.	0,5	15
17	<i>S. suffrutescens</i> Bieb.	Не изучен	
18	<i>S. tatarica</i> (L.) Pers.	0,7	138
19	<i>S. turgida</i> Bieb. ex Bunge	0,05	105

Примечание – “–” – отсутствие; “+” – присутствие экдистероидов.

Хорошим примером успешной адаптации смолевок в условиях Западной Сибири могут служить восточно-европейские и южно-европейские виды смолевок. Многие виды этой группы отличаются высоким содержанием экдистероидов [15, 139]. Однако небольшой ареал данных видов и труднодоступность для сборов усложняют процесс заготовки растительной биомассы для использования в фармакологической промышленности и сельском хозяйстве. В связи с этим, актуальным является изучение европейских видов с

высокоактивным комплексом веществ в качестве интродуцируемых растений в различных климатических условиях [140].

3.2 Виды секции *Otites*

По данным «Flora Europaea» [112], секция *Otites* подразделяется на две подсекции и включает 18 видов. *Silene sibirica* (L.) Pers., *S. roemeri* Friv., *S. sendtneri* Boiss., *S. ventricosa* Adamović, *S. borysthenica* (Gruner) Walters, *S. media* (Litv.) Kleopow, *S. hellmannii* Claus, *S. cyri* Schischkin in Grossh., *S. velebitica* (Degen) Wrigley, *S. wolgensis* (Hornem.) Otth in DC., *S. baschkirorum* Janisch., *S. otites* (L.) Wibel, *S. pseudotites* Besser ex Reichenb., *S. donetzica* Kleopow, *S. colpophylla* Wrigley, *S. densiflora* D'Urv., *S. exaltata* Friv., *S. chersonensis* (Zapal) Kleopow.

Виды, включенные в секцию, относятся к двулетним или многолетним растениям, чаще раздельнополым. Цветки небольшие, обычно обоеполые, собранные в компактные кистевидные метелки, часто с узкими прижатыми мутовками. Чашечка не более 7 мм в диаметре. Лепестки цельные или неглубоко рассеченные. Зубчики венчика отсутствуют. Плодоножка не более 3 мм в длину или отсутствует. Семена от 0,7 до 1,4 мм. Виды секции распространены на территории Европы, юго-западной части России. Ареалы отдельных видов могут захватывать районы Азии, и Западной Сибири (*S. sibirica*, *S. wolgensis* и т.д.) [120]. Многие виды секции являются эндемиками (*S. colpophylla*, *S. roemeri* и т.д.). Особенно большое количество таких видов встречается на юге Западной Европы, что обусловлено располагающимися на данной территории протяженными горными массивами [112, 124].

В таблицах 12 и 13 приведены сравнительные морфологические данные видов, входящих в секцию, полученные из различных флор и определителей. Подробное описание видов, изученных в ходе работы, приведено ниже. Виды,

выбранные в качестве объектов исследования, культивировали в условиях юга Западной Сибири.



Рисунок 4 – *Silene colporhylla*.

S. colporhylla [112] – эндемик, произрастающий в юго-восточной части Франции и на сопредельных территориях. (Рисунок 4). Высота надземной части растений от 100 до 150 см. Стебли сверху опушены, снизу гладкие.

Нижние листья широкие лопатообразные с волнистыми краями, покрыты коротким пушком. Стеблевые

листья небольшого размера располагаются на облиственных побегах. Соцветие рыхлое, с отчетливо выраженным дихазальным стебельком. Чашечка 3,5–4,5 мм цилиндрическая колокольчиковидная гладкая. Лепестки желтоватые, коробочка 6–6,6 мм, яйцевидная. Плодоножка около 0,7 мм. Семена 1мм, остро-бугорчатые.

S. roemerii [112] – *Смолевка Ремера* – эндемик, встречающийся в районе Балканских гор, а так же в центральной и северной части Италии (Рисунок 5). Невысокие, многолетние растения с надземной частью 20–50 см. Нижние листья продолговатые, заостренные, вытянутые в длину. Стеблевые листья вытянутые линейные или ланцетовидные. Соцветия головчатые. Чашечка 3–6 мм, с



Рисунок 5 - *Silene roemerii* Рисунок 6 - *Silene sendtneri*

овальными зубчиками, почти голая. Лепестки почти белые, широкие, лопатообразные, неглубоко рассеченные с удлинненными долями.

S. sendtneri [112] – *Смолевка Зинтнера* – эндемик восточной части Балканского полуострова. (Рисунок 6).

Таблица 12 – Строение вегетативных органов некоторых видов секции *Otites* [112]

№ №	Вид	Высота, см	Время жизни, г	Стебель	Прикорневые и нижние листья	Стеблевые листья	Бесплодные веточки	Экология
1	<i>Silene sibirica</i>	35–80	мн*	Несколько прямостоящие, коротко шероховато- пушистые, ветвистые	Такие же, как и стеблевые	Линейные, линейно- ланцетовидные, 2– 6 см длиной и 2–6 мм шириной	Густо облиственные, почти голые, короткие или длинные (до 15 см)	Степные луга, степи, известковые склоны
2	<i>S. ventricosa</i>	До 30 см	мн	Прямостоящий	Продолговатые, заостренные, вытянутые в длину	Линейные или ланцетовидные	—	—
3	<i>S. media</i>	20–45	2	Короткие шероховато опушенные в нижней части, слегка фиолетово окрашены	Линейно- продолговатые или ланцетные	Линейно- продолговатые или ланцетные	Укороченные	—
4	<i>S. hellmannii</i>	20–40	2 или мн	Прямой, при основании восходящий, коротко- опушенный, ветвящийся только в соцветии,верху клейкий	Лопатчатые, от 2 до 7,5 см длиной и 3-15 мм шириной, коротко заостренные	—	—	Меловые, гранитные выходы, щебнистые осыпи, эндемик Восточной Европы

Продолжение таблицы 12

№ №	Вид	Высота, см	Время жизни, г	Стебель	Прикорневые и нижние листья	Стеблевые листья	Бесплодные веточки	Экология
5	<i>S. cyri</i>	20 – 40	Мн.	Прямой, при основании восходящий, коротко- опушенные, ветвящиеся только в соцветии, вверху клейкий и опушенный	Лопатчатые, от 2 до 7,5 см длиной и 3 – 15 мм шириной, коротко заостренные	–	–	Меловые, гранитные выходы, щебнистые осыпи, эндемик Восточной Европы
6	<i>S. velebitica</i>	45 – 70 (реже до 85)	Мн.	Прямой, коротко и плотно опушенные снизу	Узкие обратноланцетови дные	Ланцетовидно- линейные	–	–
7	<i>S. wolgensis</i> [3, 4]	40 – 80	2	Внизу пушистый, сверху голый, в соцветии ветвистый, иногда клейкий, ветки косо отклоненные, супротивные	Лопатчатые, суженные в черешок, ок. 8 мм в длину и 10 в ширину	Ланцетовидно- линейные	Укороченные, с линейными листьями	щебнистые, каменистые склоны, разреженные леса, степи

Окончание таблицы 12

№ №	Вид	Высота, см	Время жизни, г	Стебель	Прикорневые и нижние листья	Стеблевые листья	Бесплодные веточки	Экология
8	<i>S. donetzica</i>	90 – 150 (реже до 170)	мн.	Плотно и коротко опушенные, вверху железчатые или голые, очень липкие, ветвистые в основном в верхней трети, с 4 – 8 междоузлиями	Обратноланцетов идные, лопатчатые	Многочисленные, ланцетные	Густо облиственные, короткие	–
9	<i>S. chersonensis</i>	До 150	2 или мн.	крепкие, при основании утолщенные	5 – 10 см длиной, лопатчатые, на верхушке закругленные	Попарные, слегка отогнутые, обратноланцетови дные, внизу их количество значительно увеличивается	Облиственные	Встречается на остепненных лугах, по опушкам осиново- березовых колков
10	<i>S. densiflora</i>	До 110	2	Прямостоящие, опушенный, с 2 – 7 клейкими междоузлиями	Широкие лопатообразные с волнистыми краями, покрыты коротким пушком	Небольшого размера	Короткие	–

* - мн–многолетнее растение.

Таблица 13 – Строение генеративных органов некоторых видов секции *Otites* [112]

№№	Вид	Соцветие	Цветоносы (цв), цветоножка (цн), прицветники (п)	Чашечка	Лепестки	Коробочка	Семена
1	<i>Silene sibirica</i> [1, 2]	Кистевидное, в пучках и пазухах верхних листьев	цв короткие, п – ланцетовидные, пленчатые по краям, реснитчатые	Узкоколокольчатая, голая, 10-нервная, с зеленоватыми и красноватыми полосками от 5 до 8 мм дл. и 2 – 3 мм шириной, с островатыми, неравными зубчиками	Желтовато-зеленые, цельные или слегка выемчатые на верхушке, лопатчато-продолговатые	Яйцевидная 6 – 8 мм, капрофор короткий и голый	1 мм тонко-штрихованные, желобчатые на спинке
2	<i>S. ventricosa</i>	Головчатые	–	3 – 6 мм, с овальными зубчиками, почти голая	Почти белые, широкие, лопатообразные, неглубоко рассеченные с удлинёнными долями	4,5 – 7 мм, широкая, яйцеобразная	1 мм плоские с лицевой стороны и с желобками по краю
3	<i>S. media</i>	Кистевидное или узкометельчатое	–	Колокольчатая, 2 – 2,5 мм длиной, голая, с тупыми зубцами	Желтовато-зеленые, с густыми ресничками по краю ноготка	Шаровидная, сидячая, 2 – 3 мм диаметром	1 мм, почковидные, гладкие
4	<i>S. hellmannii</i>	Малоцветковое, узкая кистевидная метелка	Цв–опушенные <i>коротко</i> и <i>плотно</i> 5 – 7 мм длиной	Колокольчатая, 3 – 7 мм длиной, опушенная, с тупыми зубцами	Беловато-желтоватые, не немного длиннее чашечки, цельные, без придатков	Продолговато-яйцевидная, 6 – 9 мм длиной	0,8 – 1,1 мм, сизоватые

Окончание таблицы 12

№№	Вид	Соцветие	Цветоносы (цв), цветоножка (цн), прицветники (п)	Чашечка	Лепестки	Коробочка	Семена
5	<i>S. cyri</i>	Компактная кистевидная метелка	цв–опушенные коротко и плотно 5 – 7 мм длиной	Колокольчатая, 3 – 7 мм длиной, опушенная, с тупыми зубцами	Беловато-желтоватые, не немного длиннее чашечки, цельные, без придатков	Продолговато- яйцевидная, 6 – 9 мм длиной	0,8– 1,1 мм, зубчатые
6	<i>S. velebitica</i>	Гладкое, простое	–	3 мм	Бледно-желтые, нитчатые, гладкие с зубцами по краю	5 – 6 мм, почти шаровидные, плодонос короткий	1 – 2 мм, бугорчатые по краю
7	<i>S. wolgensis</i> [3, 4]	Рыхлая метелка из негустых пучков	цв–голые, нитевидные	Колокольчатая, 2 – 4 мм в длину, голая с тупыми зубцами	При основании ноготка голые, без ресничек, беловатые, в 1,5 – 2 раза длиннее чашечки, цельные или лопатчато- линейные	Широко- яйцевидная, сидячая, 4 – 6 мм длиной	Почковидн ые, остробугор чатые, ок. 1 мм
8	<i>S. donetzica</i>	Очень плотные, мутовчатые	цв–короткие	Колокольчатая, длиной до 5 мм, с тупыми зубчиками	Беловато-зеленоватые или желтоватые, слегка надрезанные	–	Бугорчатые , крупные
9	<i>S. chersonensis</i>	Рыхлое, пирамидально- метельчатое, заостренное	цн–короткая	Колокольчатая, бледно-зеленая 3 – 3,5 мм	Темно-желтые	4 – 8 мм	0,8 мм, бугорчатые
10	<i>S. densiflora</i>	Рыхлое, с отчетливо выраженным дихазиальным стебельком	–	3,5 – 4,5 мм цилиндрическая, колокольчиковидная гладкая	Желтоватые	6 – 6,6 мм, яйцевидная	Крупные, зубчатые

Вид сходен с *S roemerii*, но имеет более короткую чашечку. Лепестки почти всегда имеют немногочисленные выемки. Соцветие имеет более расчлененную форму.

S. otites [111, 112,120] – *Смолевка ушастая*. Широко распространенный вид в центральной и восточной Европе, очень разнообразный, включающий в свой состав ряд подвидов. (Рисунок 7). Высота надземной части растений 30–50 см (в отдельных случаях встречаются растения высотой от 10 до 140 см). Растения имеют несколько прикорневых розеток. Стебли в нижней части опушенные,



Рисунок 7 - *Silene otites*

вверху железистоопушенные или голые, под соцветием липкие, ветвистые в основном в верхней трети, несущие большое количество цветков. Листья: в прикорневой розетке копьевидные или обратнокопьевидные, сужающиеся в длинный черешок. Стеблевые листья друг от друга отклоненные, ланцетные,

парные, у основания не вполне сростые, заметно меньше прикорневых.

Соцветия очень изменчивы. Цветки собраны в ветвистые метелки или простые кисти (как правило, из семицветковых вилочек). Цветоносы длинные. Цветки обоеполые или мужские (растение двудомное), мелкие, до 6 мм в диаметре. Чашечка колокольчатая, длиной до 5 мм, с тупыми зубчиками. Лепестки беловато-зеленоватые или желтоватые, слегка надрезанные. Пыльники желтые, коробочки на коротких ножках. Вид включен в Красные книги Калининградской области и Латвийской республики.

S. otites* ssp. *hungarica [112] – *Смолевка ушастая подвид венгерская*



Рисунок 8 - *Silene otites* ssp. *hungarica*

эндемик Центральной и Восточной Европы (Рисунок 8). Подвид сходен с *S. otites*, с которым связан рядом промежуточных популяций. Высота стебля обычно не превышает 50 см, а семена имеют бугорчатую форму. В определителях вид указан как двулетние или

многолетнее травянистое растение,

образующее гибридные формы с *S. donetzica* Kleopow, *S. chersonensis* (Zapał) Kleopow и *S. exaltata* Friv.

S. pseudotites [112] – *Смолевка ложно-ушковидная* – вид, произрастающий в северной Италии и на северо-востоке Франции. Нижняя часть растений с широкими лопатообразными листьями, волнистые по краям, Соцветия крупные, раскидистые, собраны в метелки. Коробочки почти голые. Некоторые исследователи включали *S. pseudotites* в *S. otites*, но позднее было показано, что данный вид является гибридом *S. otites* и *S. colpophylla* [127].

S. baschkirorum [112, 120, 124] – *Смолевка башкирская* – широко распространён в западной части России. В определителях указан как двулетнее или многолетнее травянистое растение с высотой надземной части до 200 см [128], обычно 10–60 см. Стебли красновато-фиолетовые, в нижней части коротко серо опушенные. Прикорневые листья узколопатчатые, мелкие, стеблевые ланцетовидные, с укороченными побегами в пазухах. Соцветие кистевидное, реже метельчатое. Чашечка колокольчатая, 3–4 мм длиной, голая, зеленая с тупыми белоокаймленными зубцами. Лепестки белые изнутри, зеленоватые снаружи, цельные, клиновидные. Коробочка эллипсоидная, 5–7 мм длиной на короткой ножке около 1 мм. Семена черные, почковидные, бугорчатые. Произрастает на каменистых склонах.

S. exaltata [112] – *Смолевка высокая*. Эндемик юго-восточной части Европы. В определителях указан как двулетнее или многолетнее травянистое растение с высотой надземной части до 200 см (чаще 70–80 см). Стебли крепкие, при основании утолщенные около 6 мм толщиной, иногда слегка пурпурно окрашены, курчавоволосистые. С волосками в верхней части побега длиной до 1,5 мм. Прикорневые листья 5–10 см длиной, лопатчатые, на верхушке закругленные, оттянутые в длинный черешок. Вид имеет большое количество стеблевых листьев с обратноланцетовидной формой листовой пластины, количество которых книзу стебля значительно увеличивается. Также облиственные побеги находятся в пазухах. Соцветие рыхлое, пирамидально-метельчатое. Цветки на коротких ножках. Чашечка 3–3,5 мм колокольчатая,

бледно-зеленая. Коробочка 5,5 мм. Плодоножка 1 мм. Семена около 1,3 мм, с большими и маленькими зубчиками [120]. Встречается на остепненных лугах, по опушкам осиново-березовых колков.

S. borysthenica – *Смолевка днепровская* – вид широко распространён в Центральной и Восточной Европе, а так же средней полосе России, встречается в Предкавказье и Средней Азии, а так же на юге Сибири. Во «Flora Europaea» указан как двулетнее или многолетнее травянистое растение с высотой надземной части 20–60 см. Стебли простые или ветвистые в верхней части, шероховатые с короткими волосками. Листья ланцетные, могут быть почти линейными, на верхушке тупые. Прикорневые и нижние стеблевые листья черешковые, верхние – сидячие. Из пазух стеблевых листьев развиваются укороченные вегетативные побеги. Цветки мелкие на коротких цветоножках, сближены в пучки, образуют кистевидное соцветие. Чашечка до 2,5 мм, узкая колокольчатая, опушенная короткими волосками. Лепестки зеленоватые в 1,5–2 раза длиннее чашечки, цельные на верхушке, с расширенными ноготками, реснитчатые по краям. Плод – овально-шаровидная сидячая коробочка 2–3 мм длиной. Семена почковидные около 1 мм, гладкие. Цветет в июне – июле, плодоносит в июле – августе. Произрастает на песчаных почвах, лугах, в степях [119].

3.3 Особенности выращивания видов *Silene* секции *Otites* в условиях Сибирского ботанического сада

Указанные виды культивируются в условиях Западной Сибири в течение продолжительного времени. В таблицах 14–16 приведены данные о биологических особенностях исследуемых видов смолевок и сроках выращивания на территории СБС ТГУ. Для выращивания видов *Silene* секции *Otites* в первом поколении (из семян собранных в естественных местах обитания) использовали рассадный метод, позволяющий удлинить период вегетации.

Таблица 14 – Биологические характеристики интродуцированных видов секции *Otites*

№№	Вид	Год начала интродукции	Продолжительность жизни*	Высота надземной части, см	Масса надземной части 1 растения, г (максимальная за сезон)	Цветение	Семена
1	<i>Silene roemerii</i>	1994	мн**	40–60	38±0,74	Во 2й год	Получены полноценные семена
2	<i>S. sendtneri</i>	1994	мн	40–60	40,4±0,69	Во 2й год	Получены полноценные семена
3	<i>S. borysthena</i>	2013	2	30–80*	–	–	–
4	<i>S. baschkirorum</i>	1995	2	50–70*	1,7±0,28***	–	–
5	<i>S. otites</i>	1992	1–2	40–50	2,6±0,14	В 1й год	Получены полноценные семена
6	<i>S. otites</i> ssp. <i>hungarica</i>	2013	1–2	40–50	2,2±0,13	В 1й год	Получены полноценные семена
7	<i>S. pseudotites</i>	1993	2	30–50*	–	–	–
8	<i>S. colpophylla</i>	2009	2	70–90	10,2±0,41	Во 2й год	Получены полноценные семена
9	<i>S. exaltata</i>	2001	2	30–40	–	В 1й год	Семена не вызревают

*–литературные данные, **мн. – многолетнее растение, ***.– образцы получены из Свердловской области

Посев в ящики производили в период с 20 марта по 15 апреля в рыхлую, обогащенную песком почву. Семена вносили в почву на глубину около 0,5 см. Почва перед посадкой просеивалась через сито с отверстиями 3–5 мм, и проливались слабым раствором перманганата калия (около 0,1%). Всходы в данных условиях появлялись в среднем через 5–8 дней после посадки. Пикировку рассады проводили на 7–8 день после всходов, после чего рассаду выдерживали в теплице около полутора месяцев. Высадку в открытый грунт производили в интервале с 1 по 20 июня в увлажненную почву на хорошо освещенные участки. Почвы перед этим тщательно перекапывали на глубину 20–25 см и удаляли многолетние сорняки со скоростью роста, превышающей скорость роста смолевков (осот, выюнки, одуванчики и т.д.). При этом регулярный полив высаженным растениям требуется только в две первые недели, так как большинство смолевков является устойчивыми к засухе. К концу периода вегетации в первый год жизни растения достигают высоты в зависимости от вида от 5 до 20 см. Во второй и последующие годы растения начинают отрастать с 1–15 мая, вначале формируется розетка листьев, а спустя 30–40 дней начинают формироваться стебли и цветоносы.

Семена созревают через 30–40 дней после цветения. Уборку семян проводили, начиная с середины сентября до середины октября. Для выращивания растений во втором поколении (из семян, полученных в условиях юга Западной Сибири) параллельно проводили эксперимент по посадке растений в открытый грунт, минуя стадию рассады. Такой способ посадки подходит только для многолетних и двулетних смолевков, так как за два вегетационных периода растения хорошо адаптируются к достаточно экстремальным климатическим и экологическим условиям. Посев семян в грунт осуществляли в период с 20 мая по 8 июня. Семена вносили в почву на 1–1,5 см, чтобы предотвратить вымывание. Всходы появляются на 12–15 день после посева. Третье и последующие поколения растений, дающих полноценные семена в условиях Западной Сибири, высаживали в грунт по схеме, как и для второго поколения. Посадки многолетних

видов (*S. sendtneri* и *S. roemerii*) необходимо закладывать с учетом разрастания растения во второй и последующие годы.

Сезонную динамику развития растений отслеживали с мая по октябрь. Семена второго и последующих поколений перед посадкой очищались от остатков цветоносов и коробочек. Сбор семян проводили вместе с цветоносами, по мере созревания, чтобы предотвратить разбрасывание семян. В связи с имеющимися на территории экспериментального участка выраженными признаками оглеения почву подвергали рыхлению 1–2 раза в семь дней. В связи с тем, что экистероиды являются активными метаболитами насекомых и отвечают за процессы линьки, многие экистероидсодержащие растения подвергаются нападению вредителей. Причем, как правило, насекомыми избирательно поражаются виды – сверхконцентраторы экистероидов. Наиболее распространенным вредителем растений рода *Silene* в условиях Западной Сибири является двадцатичетырехточечная божья коровка (*Subcoccinella vigintiquatuorpunctata*). Среди видов секции *Otites* этим вредителем наиболее сильно повреждается *S. pseudotites*, реже в течение первого года жизни *S. colpophylla*. Взаимоотношения экистероидсодержащих растений и насекомых сложились эволюционно и объясняются теорией биохимической коэволюции, предложенной Харборном и поддержанной Остроумовым и др. учеными [33, 145, 146].

В конце периода вегетации (1–15 октября) растения первого года жизни необходимо укрывать слоем травы или присыпать почвой для предотвращения вымерзания, особенно губительны бывают для смолевков ранние заморозки в августе и сентябре, при этом незащищенные посадки могут вымерзнуть на 80–100%. Для сбора сырья, с учетом имеющихся данных по динамике накопления биологически активных веществ и биомассы растений, рекомендованы фазы цветения или бутонизации растений (в зависимости от вида), приходящиеся на период с 20 июня по 30 июля. В качестве сырья собирали надземные части растений, которые высушивали воздушно-сухим способом. Измельчение сырья проводили в мельницах до размера частиц 2–4 мм.

Из таблицы 14 видно, что при изменении условий выращивания уменьшается или сводится к среднему значению высота надземной части растения. Некоторые виды, указанные в определителях как многолетние, ведут себя в условиях юга Западной Сибири как двулетние. Однако не все западноевропейские виды в указанных условиях дают полноценные семена, при этом имея в целом достаточно высокие биомассу или содержание биологически активных веществ (*S. pseudotites*).

Исходя из полученных данных, *S. otites*, *S. otites* ssp. *hungarica* *S. roemer*i, *S. sendtneri* и *S. colpophylla* могут быть рекомендованы для интродукции в условиях юга Западной Сибири, в качестве источников сырья как виды, проходящие полный жизненный цикл, и содержащие большое количество экидистероидов и флавоноидов.

Наблюдение за целым рядом поколений двух первых видов осуществлялось в течение двух десятилетий, третьего вида – 6 лет, что позволило сделать вывод об успешности их адаптации в условиях интродукции и получить данные о сезонных ритмах развития растений (данные для сравнения раньше 2011 года предоставлены сотрудниками лаборатории фитохимии СБС).

В таблицах 15–17 приведены данные о сезонных ритмах ряда поколений *S. roemer*i, *S. sendtneri* и *S. colpophylla*. В условиях юга Западной Сибири *S. colpophylla* проходит полный вегетационный цикл развития и дает полноценные семена в конце сентября (Таблица 15). Экспериментальные данные воспроизводимы в течение ряда поколений. Для выращивания *S. colpophylla* использованы рассадный способ и способ высадки в открытый грунт.

Оба этих способа одинаково подходят для культивирования вида, так как на второй год жизни сезонные ритмы растений выравниваются. С учетом сокращения трудозатрат при выращивании *S. colpophylla* в качестве источника ценных БАВ рекомендуем производить посев семян в грунт.

Таблица 15 – Сезонное развитие *Silene colporphylla*

№№ поколений	Годы наблюдений	Происхождение семян	Посев, способ	Всход	Пик.	Высадка в грунт	Бут.	Цв.	Пл.	Сем.
				1 год			2 год			
1	2009–2010	Париж, Франция	16.04 Рассадный	21.04	27.04	16.06	28.06	6.07	4.08	11.10
1(дубль)	2010–2011	Париж, Франция	14.04 Рассадный	21.04	26.04	8.06	10.06	16.06	29.07	1.10
2 а	2011–2012	Томск, РФ (репродукция СБС)	23.03 Рассадный	6.04	12.04	31.05	18.06	26.06	10.08	6.10
2 б	2011–2012	Томск, РФ (репродукция СБС)	23.05Грунт	2.06	–	–	18.06	26.06	10.08	6.10

Примечание

1 Пик.– пикировка, Бут.– фаза бутонизации, Цв.– фаза цветения, Пл.– фаза плодоношения, Сем.– сбор семян.

2 Поколение 2а и 2б получены из семян поколения 1.

Таблица 16 – Сезонные ритмы *Silene roemerii*

№№ поколений	Годы наблюдений	Происхождение семян	Посев, способ	Всход	Пик.	Высадка в грунт	Бут.	Цв.	Пл.	Сем.
				1 год			2 год			
1	1995–2004	Берлин, Германия	7.04 Рассадный	12.04	18.04	14.06	16.07	29.07	20.08	12.09
2	1997–2002	Томск, РФ	20.05Грунт	2.06	–	–	20.06	4.07	20.07	17.09
3	2000– н.в.	Томск, РФ	24.05Грунт	5.06	–	–	10.06	20.06	1.08	25.08
4	2008– н.в.	Томск, РФ	27.05Грунт	10.06	–	–	10.06	16.06	15.07	20.08

Примечание – Пик.– пикировка, Бут.– фаза бутонизации, Цв.– фаза цветения, Пл.– фаза плодоношения, Сем.–сбор семян, н.в.–настоящее время.

Таблица 17 – Сезонные ритмы *Silene sendtneri*

№№ поколения	Годы наблюдений	Происхождение семян	Посев, способ	Всход	Пик.	Высадка в грунт	Бут.	Цв.	Пл.	Сем.
			1 год				2 год			
1	1996–1999	Галле, Германия	18.04 Рассадный	26.04	4.05	19.06	30.05	6.06	10.07	11.09
2	1998– н.в.	Томск, РФ (репродукция СБС)	28.05 Грунт	6.06	–	–	4.06	16.06	11.07	14.09
3	2010– н.в.	Томск, РФ (репродукция СБС)	8.06 Грунт	20.06	–	–	10.06	16.06	5.07	9.09
1	1996–1999	Нанси, Франция	18.04 Рассадный	26.04	4.05	16.06	4.06	18.06	22.07	14.09
2	1998–н.в.	Томск, РФ (репродукция СБС)	28.05 Грунт	6.06	–	–	2.06	19.06	11.07	4.09
3	2010–н.в.	Томск, РФ (репродукция СБС)	8.06 Грунт	18.06	–	–	10.06	16.06	7.07	9.09

Примечание – Пик.– пикировка, Бут.– фаза бутонизации, Цв.– фаза цветения, Пл.– фаза плодоношения, Сем.– сбор семян, н.в.– настоящее время.

В условиях юга Западной Сибири виды *S. roemeri* и *S. sendtneri* ведут себя как многолетние полукустарнички, проходят полный вегетационный цикл развития и дают полноценные семена в конце августа – начале сентября. Экспериментальные данные воспроизводимы в течение ряда вегетационных сезонов и нескольких поколений. Для выращивания растений использован рассадный способ и способ посева в открытый грунт. Второй способ является в данном случае предпочтительнее, так как при высадке рассадой часть растений погибает.

ГЛАВА 4. ВЫДЕЛЕНИЕ И ИДЕНТИФИКАЦИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ ИЗ ВИДОВ СМОЛЕВОК СЕКЦИИ *OTITES*

4.1 Определение полноты экстракции

Определение полноты извлечения исследуемых веществ из растительного материала проводилось на примере *Silene colporphylla*. Для установления полноты извлечения экстрагируемых веществ, проведена поэтапная четырехкратная экстракция из надземной части смолевки (масса 1,0008 г (средняя проба), объем экстрагента 20 мл) 70% этанолом с фиксацией массы извлекаемых веществ на каждом этапе. Время экстракции каждой порции составило 5 часов, экстракция проводилась при постоянном перемешивании и подогреве на водяной бане до 55°C. На основе полученных данных построена зависимость массы извлекаемого вещества от количества проведенных экстракций и проведен расчет степени извлечения веществ и процентного соотношения этих веществ к общей массе навески. Графический результат представлен на рисунке 9.

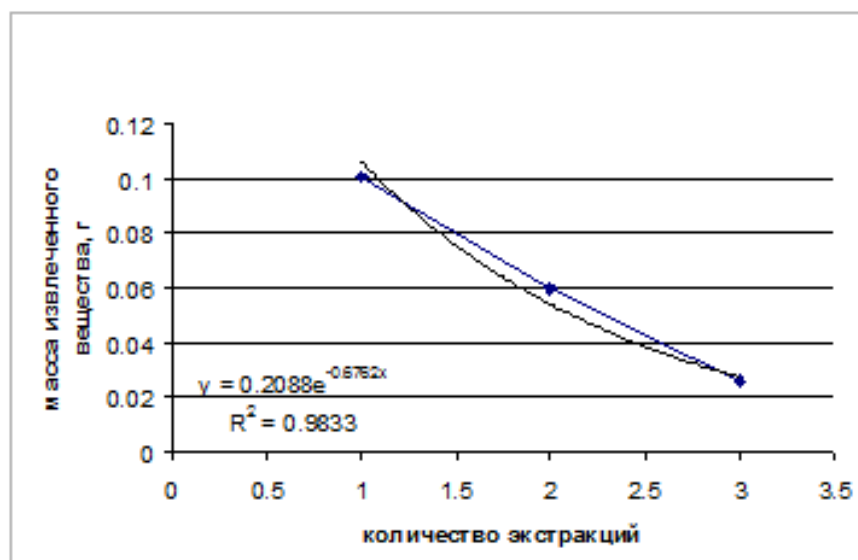


Рисунок 9 – Определение степени экстракции

В ходе анализа была рассчитана масса экстрагируемых веществ, приходящаяся на каждую экстрактивную порцию. Результаты расчетов приведены в таблице 18.

Таблица 18 – Определение степени экстракции из надземной части *Silene colprophylla* 70% этанолом

№экстракции	Масса экстрактивных веществ, г	Количество экстрагируемого вещества, %
1	0,10093	46,95
2	0,05978	27,81
3	0,02610	12,14
4	0,01396*	6,49
5	0,00710	3,30
6	0,00361	1,68
7	0,00184	0,86
8	0,00093	0,43
9	0,00048	0,22
10	0,00024	0,11
Σэкстр	0,21496	100

* данные полученные, для экстракций с 4 по 10 являются расчетными величинами.

Из таблицы 18 видно, что основное количество вещества извлекается в течение первых 5 экстракций и составляет 95,07% от массы всего экстракта. Исходя из полученных данных, можно сделать вывод о необходимости проведения пятикратной экстракции при количественном определении биологически активных веществ в смолевках, а так же при выделении суммы экдистероидов для дальнейшего разделения. Ряд экспериментов показал, что время экстракции сокращается в шесть раз при обработке экстрактивных емкостей ультразвуком [146].

4.2 Подбор условий для проведения ВЭЖХ анализа при исследовании видов рода *Silene*

Известно, что смолевки являются сверхконцентраторами БАВ [147]. В надземных частях многих из них содержатся до нескольких десятков различных экистероидов [148]. Причем одновременно в экистероидной сумме могут содержаться как неполярные, средне полярные и полярные соединения этого класса [149]. Затруднение при анализе вызывают близкое химическое строение экистероидов, а так же близкие молекулярные массы. Поэтому для получения исчерпывающей информации об экистероидном профиле целесообразно проводить хроматографический анализ, как в обращено-фазовом, так и нормально-фазовом варианте.

В качестве стандартов использовали: 20-гидроксиэкдизон (20E), полиподин В (PolB), экдизон (E), 2-дезоксид-20-гидроксиэкдизон (2d20E), 2-дезоксидэкдизон (2dE), интегристерон А (IntA), 20-гидроксиэкдизон-2-ацетат (20E2Ac), макистерон А (MakA), понастерон А (PonA), туркестерон А (TurkA). Концентрация образцов 0,3 мг/мл. Анализируемые смеси составляли из трех экистероидов с различной полярностью. Анализ выполняли, используя оба варианта ВЭЖХ – нормально-фазовую и обращено-фазовую. Полученные данные приведены в таблице 19. Съёмку образцов проводили от трех до пяти раз, для каждой пробы до совпадения времен удерживания.

Для учета эффектов взаимного действия веществ из указанных выше стандартов составлялись различные варианты смесей.

В большинстве приведённых систем при совместном присутствии 20E и PolB оба эти вещества десорбируются одновременно – одним пиком с усреднением времени удерживания.

Таблица 19 – Времена удерживания экистероидов в различных условиях при проведении ВЭЖХ анализа

№	Экистероид	NP* CIW 70:28:2 (v:v:v)	NP CIW 76:23:1 (v:v:v)	RF IW 70:30 (v:v)	NF DIW 80:19:1 (v:v:v)	NF DIW 70:28:2 (v:v:v)	RF Gr1	RFGr2	RFGr3
№		Времена удерживания, мин							
1	20-гидроксиэкдизон	22,0	34,5	5,4	38,2	11,0	14,6	20,0	16,1
2	Полиподин В	21,7	32,8	5,3	–	–	–	19,4	16,4
3	Экдизон	16,4	–	–	33,9	–	–	29,9	19,1
4	2-Дезокси-20- гидроксиэкдизон	12,9	17,2	8,4	27,6	–	20,2	32,3	20,0
5	2-Дезоксиэкдизон	10,2	13,5	14,5	20,5	–	–	43,9	21,9
6	Интегристерон А	28,3	61,7	4,9	46,2	13,1	12,8	16,9	14,0
7	20-гидроксиэкдизон- 2-ацетат	–	–	–	–	–	–	35,6	–
8	Макистерон А	17,2	–	–	–	–	–	25,8	–
9	Понастерон	9,4	–	–	–	–	–	47,6	–
10	Туркестерон А	–	–	–	–	–	–	11,8	–

Примечание – Условия проведения ВЭЖХ-анализа: NP– НФ/ВЭЖХ; RF– ОФ/ВЭЖХ; CIW– система растворителей циклогексан – изопропиловый спирт – вода; DIW–дихлорметан – изопропиловый спирт–вода; IW– изопропиловый спирт – вода; Gr1 – градиент смеси ацетонитрил– изопропиловый спирт (5:2 v:v) в 0,1% ТФУ от 15 до 35% смеси; Gr2 – градиент смеси ацетонитрил – изопропиловый спирт (3:2 v:v) в 0,1% ТФУ от 15 до 35% смеси; Gr3 – метанол – 0,1% трифторуксусная кислота от 2 до 100 % метанола.

При работе с подвижными фазами, включающими дихлорметан, установлено что, полярные экдистероиды хорошо разделяются, пики индивидуальных соединений находятся в интервале 11–15 мин. При этом неполярные соединения десорбируются в интервале от 2 до 4 мин, пики экдистероидов частично перекрываются, что затрудняет идентификацию. Варьируя соотношение компонентов системы, достигнуто существенное смещение времени удерживания экдистероидов (неполярные до 25 мин, полярные до 40 мин), однако разделение неполярных экдистероидов в смеси при этом улучшается незначительно.

При использовании систем с изопропиловым спиртом и водой экдистероиды, полярнее, чем интегристерон А, практически не удерживаются (система ОФ), перекрываясь с пиками растворителей. Однако наблюдается хорошее разделение в среднеполярной и неполярной области. При дальнейшей работе с данной системой в *S. colpophylla* было обнаружено 12 экдистероидов.

Системы, содержащие циклогексан, дают среднее разделение как в области полярных, так и в области неполярных соединений. Подбирая различные условия съемки (изменение скорости потока растворителя, температуры и соотношения растворителей) удалось обнаружить 19 экдистероидов. Недостатками систем с подобным составом является недостаточное разделение пиков. Это особенно заметно при анализе фракций минорных экдистероидов, имеющих низкую концентрацию в пробе, а также близкие значения молекулярных масс. Кроме того, при этом расходуется сравнительно большой объем органических растворителей, по сравнению с градиентными методами анализа.

Показано, что наиболее оптимальными системами для анализа комплексов фитоэкдистероидов в смолевках являются системы обращено-фазного градиентного анализа. Так при помощи системы метанол – 0,1% трифторуксусная кислота, в градиенте метанола от 2 до 100% было обнаружено и проанализировано 14 фитоэкдистероидов. Еще 9 минорных соединений этой группы было обнаружено при помощи градиентной системы смеси ацетонитрил – изопропиловый спирт (3:2 v:v) в 0,1% ТФУ от 15 до 35%.

Полученные хроматограммы имеют хорошее разделение пиков и воспроизводимость результатов. Данные хорошо коррелируют как при модельном изучении, так и при межвидовом сравнении экистероидных профилей смолёвок. Кроме того, использующаяся градиентная система позволяет существенно снизить расход органических растворителей, поскольку содержание воды в ней от 65 до 85%.

4.3 Изучение экистероидного профиля *Silene colporphylla*

Поскольку *Silene colporphylla* рекомендуется, как новый источник фитоэкистероидов [150], интерес представляло изучение биохимического состава методами ВЭЖХ/УФ и ВЭЖХ/МС. Для этого из надземной части *S. colporphylla* многократной экстракцией 70% этанолом и селективным извлечением *n*-бутанолом выделена сумма экистероидов. Основные соединения (12 мажорных экистероидов) были изучены с помощью ВЭЖХ/МС-анализа и ВЭЖХ/УФ.

На рисунке 10 изображена схема выделения индивидуальных соединений из *S. colporphylla*. Подробное описание методики выделения приведено в главе 2. Выход бутанольной фракции для этого вида составил в среднем 10,2% от массы воздушно-сухого сырья. Для десорбции экистероидов с поверхности силикагеля в качестве элюентов использовали системы растворителей хлороформ – этанол в следующих соотношениях: 15:1; 9:1; 7:1; 5:1; 3:1; 1:1, а так же 15:1; 10:1; 9:1; 7:1; 3:1; 1:1. Десорбцию последних полярных соединений осуществляли с помощью 70% этилового спирта и воды. Очистку полученных экистероидов проводили путем перекристаллизации в системах растворителей этилацетат – этанол в соотношении 7:1 (для неполярных соединений) и 5: 1 (для полярных и средне полярных соединений). Из неполярной фракции выделили 2-дезоксизекдизон (**1**) и 2-дезоксиз-20-гидроксиэкидизон (**2**). Из средне полярной фракции были выделены полиподин В. (**3**) и 20-гидроксиэкидизон (**4**).

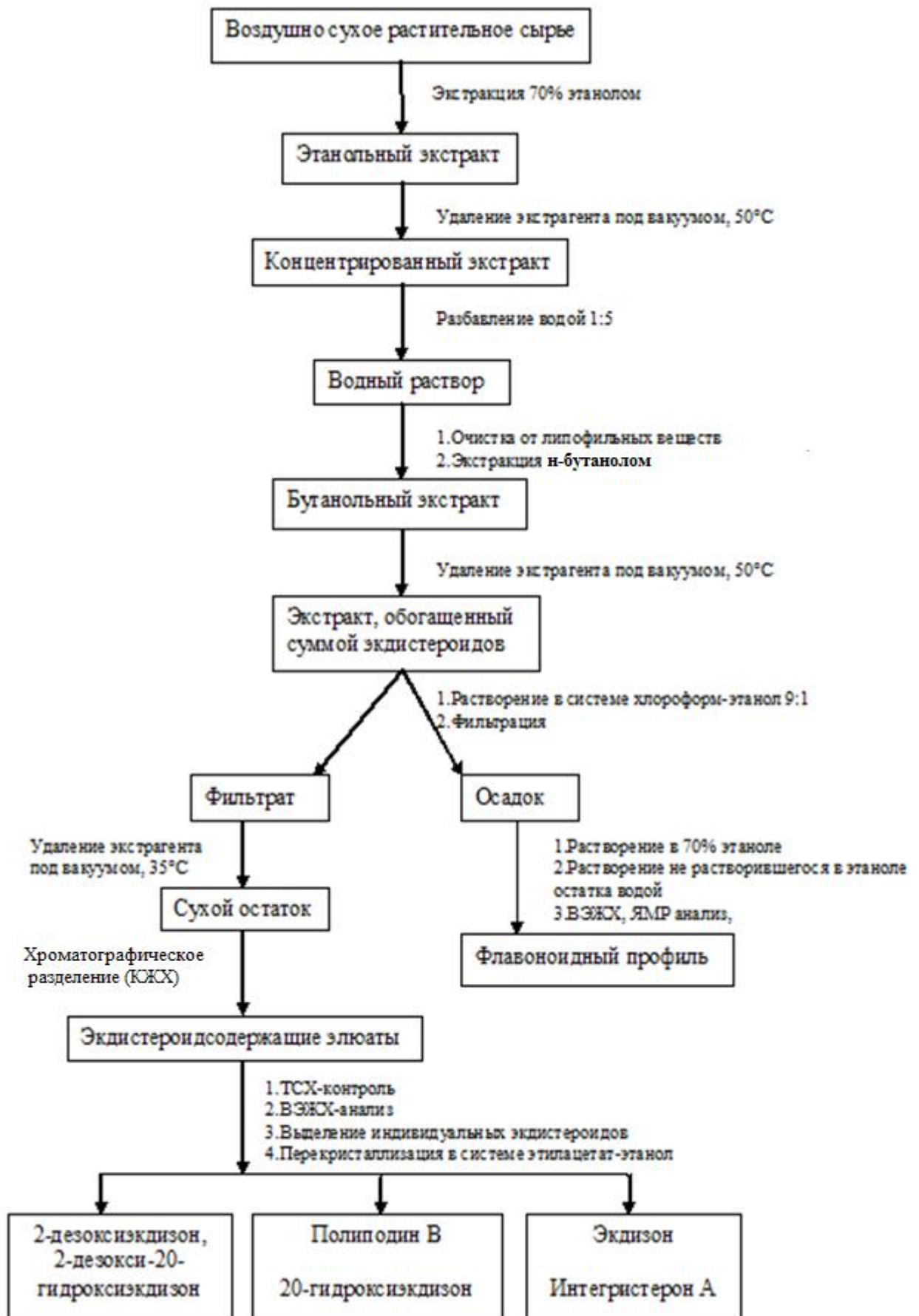


Рисунок 10 – Схема выделения экистероидов и флавоноидов из *Silene colporphylla*

Последний является мажорным компонентом смеси экдистероидов в смолевках. Содержание этого компонента может достигать 80% от общей суммы экдистероидов растения. При изучении полярных фракций экстракта были выделены экдизон (5) и интегристерон А (6). Структуры выделенных соединений приведены на рисунке 11. Данные о полученных экдистероидах приведены в таблице 20.

Таблица 20 – Фитоэкдистероиды, идентифицированные в надземной части *Silene colophylla*

№№	Экдистероид	Формула	Молекулярная масса	Масса, г	Выход %
1	2-Дезоксиэкдизон	$C_{27}H_{44}O_5$	448	0,0382	0,0212
2	20-Гидроксиэкдизон-2-ацетат	$C_{29}H_{46}O_8$	522	—	—
3	2-Дезокси-20-гидроксиэкдизон	$C_{27}H_{44}O_6$	464	0,0706	0,0392
4	Полиподин В	$C_{27}H_{44}O_8$	496	—	—
5	20-Гидроксиэкдизон	$C_{27}H_{44}O_7$	480	0,6840	0,3800
6	Экдизон	$C_{27}H_{44}O_6$	464	0,0855	0,0475
7	Интегристерон А	$C_{27}H_{44}O_8$	496	0,0256	0,0142

Примечание – «—» нет данных.

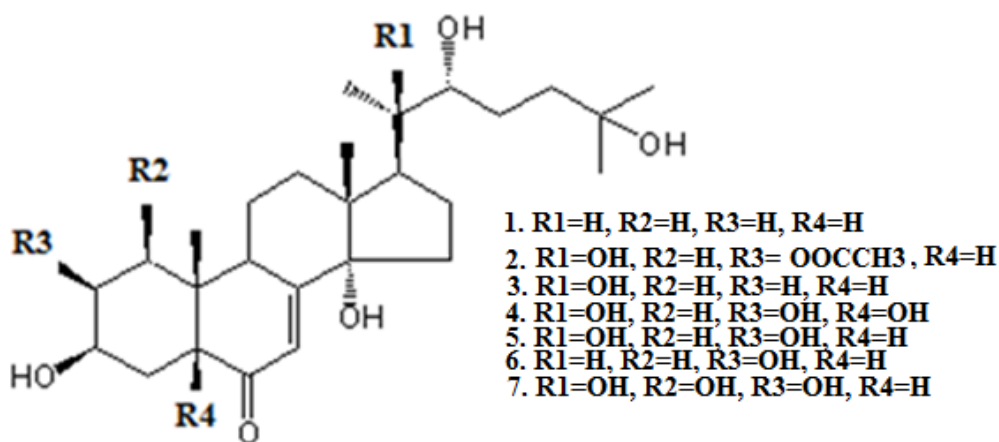


Рисунок 11 – Структуры экдистероидов, выделенных из *Silene colophylla*: 1) 2-дезоксиэкдизон, 2) 20-гидроксиэкдизон-2-ацетат, 3) 2-дезокси-20-гидроксиэкдизон, 4) полиподин В 5) 20-гидроксиэкдизон 6) экдизон 7) интегристерон А

Для детального изучения состава полученных фракций, после предварительного подбора методик, были выбраны три основных хроматографических системы: циклогексан – изопропиловый спирт – вода (70:28:2 v:v:v); изопропиловый спирт – вода (70:30 v:v); градиент смеси ацетонитрил – изопропиловый спирт (3:2 v:v) в 0,1% ТФУ от 15 до 35% смеси.

В таблице 21 приведены данные полученные при изучении экидистероидного профиля *S. colporphylla* в системе ацетонитрил – изопропиловый спирт (3:2 v:v) в 0,1% ТФУ градиент от 15 до 35% смеси. Экидистероидсодержащие фракции приведены в таблице в порядке увеличения полярности элюирующих систем, с помощью которых они были десорбированы с колонки.

С помощью системы этанол – хлороформ 1:10 были получены фракции 63–70, 71–72, 73–75; при помощи системы этанол – хлороформ 1:9 – фракции 76–77, 78–81, 82, 83–94; при соотношении растворителей 1:7 – фракции 95–106, при соотношении растворителей 1: 3 – фракции 107–112, 113–118; при соотношении растворителей 1: 1 – фракции 119–124, 125–128. При изучении экидистероидного состава найдено, что фракции 83–94, 95–106 и 107–112 содержат в своем составе практически чистый 20-гидроксиэкидизон.

Всего в процессе изучения надземной части *S. colporphylla* обнаружено 23 экидистероида. Шесть из них идентифицированы методами ВЭЖХ/МС и ЯМР. Так из фракции 113–118 выделен и идентифицирован интегристерон А, во фракции 76–77 обнаружен и идентифицирован полиподин В. Экидизон выделен в чистом виде из фракции 78–81, 2-дезоксид-20-гидроксиэкидизон выделен и идентифицирован из фракции 71–72, а 2-дезоксидэкидизон из 63–70. В этой фракции так же найдено вещество, время удерживания которого совпадает с 20-гидроксиэкидизоном - 2- ацетатом.

В пользу этого говорят и полученные масс-спектры (Таблица 24). Для соединения 15 находящегося в неполярной области хроматограммы с 2-дезоксидэкидизоном и 2-дезоксид- 20- гидроксидэкидизоном наблюдается характерное отщепление фрагмента с $m/z60$, соответствующего иону $(MH-CH_3COOH)^+$.

Таблица 21 – Времена удерживания экдистероидсодержащих фракций *Silene colporphylla* в системе ацетонитрил – ИПС – вода (3:2) в градиенте от 15 до 35%

Экдистероид	Времена удерживания, мин									
	63–70	71–72	73–75	76–77	78–81	82	113–118	119–121	122–123	125–128
Экдистероид 1	–	–	–	–	10,3	10,2	–	–	–	–
Экдистероид 2	–	–	–	–	–	–	–	13,4	–	13,2
Экдистероид 3	13,9с	14,0	–	–	–	14,3с	14,3	–	–	14,5
Экдистероид 4	–	–	–	–	–	–	–	15,2	15,2	15,1
Экдистероид 5	–	–	–	–	–	–	–	16,5	–	–
Интегристерон А	–	–	–	–	–	16,7с	17,1	17,3	17,2с	16,9
Экдистероид 6	–	–	19,2с	19,1	19,2	19,2с	–	–	19,2с	–
Полиподин В	19,9	–	19,9с	19,7	19,9с	19,9с	19,8	19,9	19,8с	19,7
20Е	20,1	20,0	–	20,8с	20,6	20,6	–	–	–	–
Экдистероид 7	21,9	22,0	–	–	–	–	–	–	–	–
Экдистероид 8	–	–	–	22,7с	–	–	–	22,8	–	–
Экдистероид 9	–	–	–	–	23,3с	23,2с	23,3	–	–	23,1с
Экдистероид 10	–	–	–	–	–	–	23,6	–	23,6с	–
Экдистероид 11	24,5	24,5	–	–	24,7с	24,6с	–	–	–	–
Экдистероид 12	26,7	27,0	26,8с	26,7	26,7с	27,0с	–	26,5	26,5с	26,5с
Экдистероид 13	28,6с	28,6	28,8с	–	–	28,8с	28,4	28,6	28,5с	28,4с
Экдизон	30,3с	29,6с	–	29,6	29,6	29,6с	29,5	–	29,5с	29,4с
Экдистероид 14	–	–	30,3с	30,7	–	30,4с	30,1с	–	30,1с	30,3с
Экдистероид 15	–	32,1	32,1	32,0	32,1с	32,0с	–	–	32,0с	32,0с
2-дезоксид-20-гидроксиэксдизон	32,8	32,9	–	–	–	–	–	32,9	32,8	32,7с
Экдистероид 16	–	–	34,5с	34,3с	34,4	34,4	34,6с	–	34,6с	34,3с
20Е- 2- ацетат	35,1	35,2	35,4с	35,1с	–	–	–	–	–	35,6с
2-дезоксидэксдизон	43,5с	44,0	43,7с	43,6с	–	–	–	–	–	–

Примечание – цветом выделено время удерживание вещества в той фракции, в которой обнаружено максимальное накопление этого экдистероида, с– следовые количества вещества в пробе..

Таблица 22 – Времена удерживания экистероид – содержащих фракций *Silene colpophylla* в системе циклогексан – изопропиловый спирт – вода 70:28:2 (v:v:v)

Экистероид	Времена удерживания, мин											
	67–70	71–72	73–75	76–77	78–81	82	95–106	107–112	113–118	119–121	122–123	125–128
2-дезоксизекдизон	10,8	10,8 с	10,9 с	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Экистероид 1–2	11,3	11,3	11,3 с	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Экистероид 2–2	–	11,6	11,5 с	–	–	–	–	–	–	–	–	–
2-деокси-20-гидроксиэкидизон	12,6	12,2	12,0 с	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Экистероид 3–2	13,4	13,5	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Экистероид 4–2	14,0	14,3	14,3	14,2 с	–	–	–	–	–	–	–	–
Экистероид 5–2	–	–	14,5	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Экистероид 6–2	15,6	15,7	15,1	–	15,2	–	–	–	–	–	–	–
Экистероид 7–2	–	16,3	16,1 с	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Экидизон	17,4	17,3	16,8 с	17,2	–	–	–	–	–	–	–	–
Экистероид 8–2	–	–	17,8 с	–	17,7	–	–	–	–	–	–	–
Экистероид 9–2	–	–	18,3 с	–	–	18,4	–	–	–	–	–	–
Экистероид 10–2	19,9	20,1 н/э	–	19,8	19,4	19,6	–	19,7 с	–	–	–	–
Экистероид 11–2	–	–	–	–	22,7	–	–	–	22,1 с	–	–	22,7
Экистероид 12–2	–	–	–	–	–	23,5	–	–	23,3	–	23,0	–
20-гидроксиэкидизон	24,3 с	24,0 с	24,0 с	23,4	–	24,3	23,6	23,5	–	–	–	–
Экистероид 13–2	–	–	–	–	–	–	–	27,0	26,7	–	–	–
Интегристерон А	–	–	–	–	–	–	–	28,8	28,8	–	–	–
Экистероид 14–2	–	–	–	–	–	–	–	–	–	29,9	30,2	29,7
Экистероид 15–2	–	–	–	–	–	–	–	36,8	37,2	–	37,2	–

Примечание – цветом выделено время удерживание вещества в той фракции, в которой обнаружено максимальное накопление этого экистероида, с– следовые количества вещества в пробе; н/э – время удерживания вещества не экистероидной природы, обнаруживаемое во фракции 71–72.

Следует отметить, что используемая в данном случае методика градиентного анализа позволяет разделить полиподин В и 20-гидроксиэкдизон, что является проблематичным при их совместном определении в других хроматографических системах.

Помимо градиентных методов анализа исследования проводили и в системе растворителей циклогексан – изопропиловый спирт – вода 70:28:2 (v:v:v). Полученные данные приведены в таблице 22. Данные хорошо согласуются с результатами, полученными при проведении градиентных методов анализа.

В области 2-дезоксид-20-гидроксиэкдизона наблюдается некоторая инверсия пиков, что характерно для близкородственных соединений при смене хроматографической системы. Всего в этой системе было обнаружено 19 экдистероидов и одно соединение другой природы, проявляющееся на ТСХ – пластине в виде ярко-сиреневого пятна (См. Приложение Б, рисунки Б.3 и Б.4).

Для получения исчерпывающей информации о качественном экдистероидном составе надземной части *S. colporphylla* полярные фракции так же анализировали в системах с дихлорметаном, а неполярные в системе изопропиловый спирт – вода. Полученные данные хорошо коррелируют друг с другом.

В результате проведенного многократного хроматографического разделения с постепенным увеличением полярности растворителя в надземной части *S. colporphylla* обнаружено 23 экдистероида, 7 из которых были идентифицированы методами ВЭЖХ/УФ, ВЭЖХ/МС и ЯМР: 1) 2-дезоксидэкдизон, 2) 20-гидроксиэкдизон-2-ацетат, 3) 2-дезоксид-20-гидроксиэкдизон, 4) полиподин В 5) 20-гидроксиэкдизон 6) экдизон 7) интегристерон А [137].

Вид культивируется в Сибирском ботаническом саду Томского государственного университета и является богатым источником фитоэкдистероидов и флавоноидов.

4.4 Особенности выделения фитоэкдистероидов из некоторых видов

Silene секции *Otites*

Многие виды секции *Otites*, как и многие представители рода *Silene* в целом являются сверхконцентраторами фитоэкдистероидов и флавоноидов [152]. Особенно высокими уровнями указанных БАВ отличаются *S. sendtneri*, *S. roemerii*, *S. pseudotites* и *S. colpophylla* [15, 140]. Процессы накопления биологически активных соединений в биомассе этих растений недостаточно изучены. В ходе работы были изучены некоторые ключевые виды со средним содержанием экдистероидов (*S. otites*, *S. otites* ssp. *hungarica*, *S. baschkirorum*), а так же несколько видов отличающиеся низким содержанием экдистероидов (*S. exaltata*, *S. borysthena*).

В таблице 23 приведены данные о выходе экстрактивных веществ некоторых исследованных видов смолёвок. Сырье для изучения *S. sendtneri*, *S. roemerii* собирали в период цветения на экспериментальном участке СБС.

Таблица 23 –Выход экстрактивных веществ в некоторых видах *Silene*

№№	<i>Silene colpophylla</i>			<i>S. sendtneri</i>	<i>S. roemerii</i>	<i>S. baschkirorum</i>
	1 год	Цв 1	Цв 2			
Масса сырья, г	99,0	180,0	200,0	24,50	100,0	12,08
Масса экстракта, г	30,14	—	55,83	11,07	18,40	3,10
Выход экстракта, %	30,44	—	27,92	47,76	18,40	25,66
Масса бутанольной фракции, г	7,88	20,72	22,03	3,65	7,72	0,72
Выход бутанольной фракции, %	7,96	11,50	11,00	14,91	7,72	5,96
Потеря в массе при высушивании, %	9,67	11,10	6,50	9,5	9,0	10,00

Примечание – Цв 1 и Цв 2 – данные для сырья *S.colpophylla*, собранного в период цветения для двух поколений; «—» нет данных

Надземную часть *S. sendtneri* и *S. roemerii* собирали на экспериментальном участке СБС. Сбор *S. baschkirorum* проводили в естественных местах произрастания (Свердловская область) [141]. Детальное изучение состава *S. colpophylla* проводили в 1-ый год и в фазу цветения 2-го года жизни растений.

Полученные данные свидетельствуют о том, что самым высоким выходом при извлечении БАВ 70% этанолом отличается *S. sendtneri*, а самым низким *S. roemerii*. Однако при селективной экстракции бутанолом, в полученном комплексе, обогащенном экистероидами, содержание экистероидов в *S. roemerii* выше, чем в *S. baschkirorum*. Результаты для экстрактов *S. colpophylla* в течение ряда экспериментов, воспроизводимы. И хотя выход этанольного экстракта в первый год выше, чем во второй (период цветения), масса бутанольной в период цветения почти 1,5 раза превышает таковую из сырья, собранного в первый год жизни растений.

4.5 Идентификация индивидуальных экистероидов и флавоноидов

Silene colpophylla

При изучении с помощью методов ВЭЖХ, ЯМР и МС-анализа нового источника биологически активных веществ *S. colpophylla* обнаружено 23 вещества экистероидной природы, а так же 5 флавоноидов среди которых один занимает доминирующее положение. В Приложении Б (Рисунок Б.2) приведены УФ спектры обнаруженных экистероидов. Максимумы поглощения зафиксированы в области 240–250 нм, что обусловлено присутствием α,β -ненасыщенной группировки в составе молекул экистероидов [153].

Исследование экистероидного и флавоноидного профилей *S. colpophylla* проводили методом ВЭЖХ. При этом использовались разнообразные варианты нормально-фазовой и обращено-фазовой хроматографии. ВЭЖХ-анализ проводили в лаборатории фитохимии СБС ТГУ, а так же в лаборатории

экологических исследований и хроматографического анализа Новосибирского институт органической химии им Н.Н. Ворожцова СО РАН.

На рисунке 12 приведен экистероидный профиль бутанольного экстракта *S. colporphylla*, полученный при съемке в условиях ОФ-ВЭЖХ (градиентное элюирование вели системой растворителей метанол – 0,1% трифторуксусная кислота от 2 до 100% метанола, аналитическая длина волны $\lambda_{\text{max}} = 254$ нм). Из рисунка 12 видно, что мажорным экистероидом является 20-гидроксиэкизон, эти данные подтверждаются и результатами КЖХ, а так же препаративными методами ТСХ. В области полярных соединений элюируется интегристерон А, в средне полярной области – полиподин В и экизон, в области неполярных соединений – 2-дезоксизэкизон и 2-деокси-20-гидроксиэкизон.

Бутанольную фракцию исследуемого вида подвергали дальнейшему разделению на неполярную (хлороформно-этанольную) и полярную (водно-этанольную) часть. Обе части исследовали с помощью ВЭЖХ/МС-анализа, методом прямого ввода.

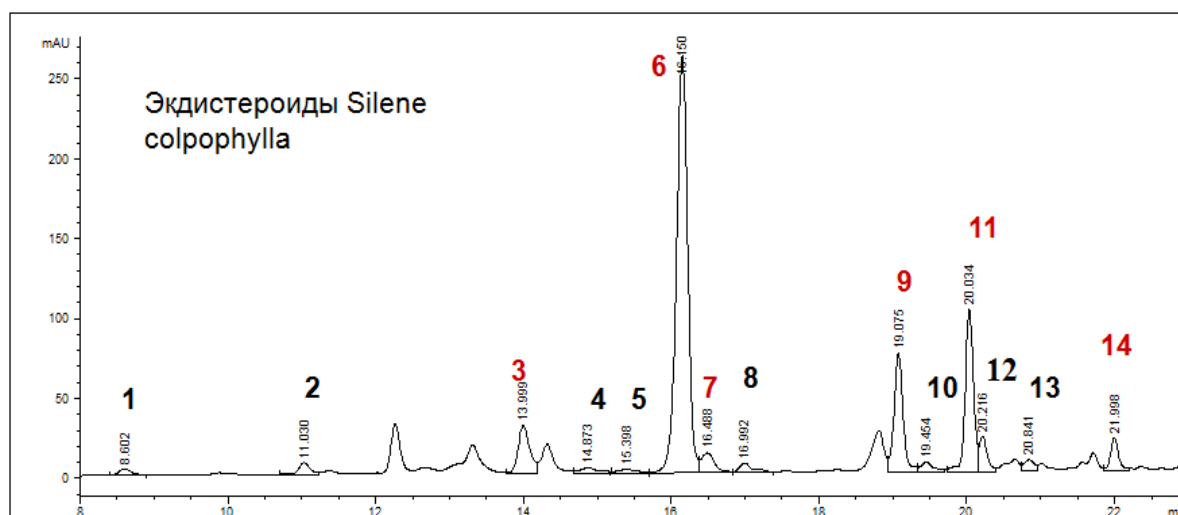


Рисунок 12 – Экистероидный профиль бутанольного экстракта *Silene colporphylla*

Примечание – красным цветом обозначены идентифицированные экистероиды 3) интегристерон А, 6) 20-гидроксиэкизон; 7) полиподин В; 9) экизон, 11) 2-деокси-20-гидроксиэкизон; 14) 2-дезоксизэкизон.

Для основных 12 экистероидов (находящихся в необходимой для анализа концентрации) и всех флавоноидов были установлены молекулярные массы, а так

же некоторые особенности строения молекул [154]. Хроматограммы, полученные при проведении этого анализа, приведены на рисунках 13 и 14.

Основные соединения **6**, **8–18** на хроматограммах хлороформно-этанольной фракции соответствуют экистероидам растений рода *Silene* [28, 130, 155, 156], что подтверждается УФ-спектрами (Приложение Б, рисунок Б.2). Соединения **1**, **2**, **4**, **5** и **7** с максимумами поглощения 270 и 340 нм соответствуют флавоноидам с апигениновым остовом.

УФ-спектр соединения **3** имеет максимумы поглощения 230, 296 и 312 нм, свойственные соединению с феноксильным фрагментом. Спектрально-хроматографические характеристики экистероидов, полученные методом ВЭЖХ, приведены в таблице 24 (Масс– спектры совместно со схемами образования молекулярных осколков молекул экистероидов приведены в Рисунок Б3).

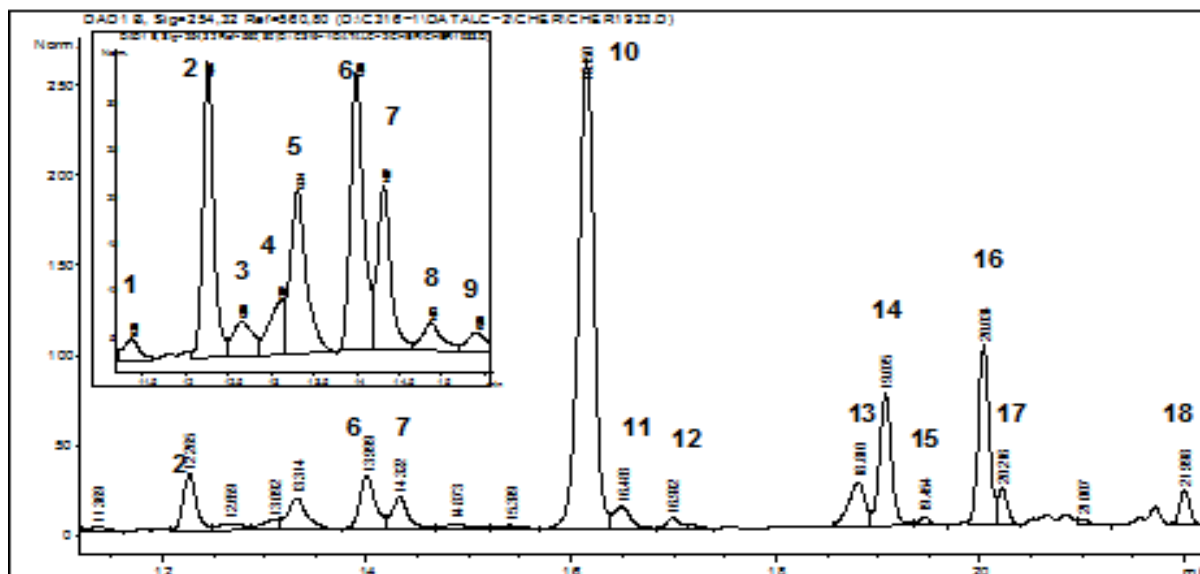


Рисунок 13 – Хроматографический профиль хлороформно-этанольной (экистероидной суммы) части бутанольной фракции *Silene colporphylla* ($\lambda=254\text{nm}$), полученный при проведении ВЭЖХ/МС-анализа

Характер распада экистероидов под действием электронного удара сходен с распадом стероидных соединений. Примером может служить малая интенсивность (а в некоторых случаях и полное отсутствие) молекулярного иона,

характерного для полиоксистероидов. Для регистрации таких молекулярных ионов принято использовать метод прямого ввода, так как это предотвращает дегидратацию. Интенсивные пики в спектрах, как правило, соответствуют фрагментам, полученным при отщеплении воды ($M^+ - nH_2O$).

Таблица 24 – Характеристики выделенных соединений из экдистероидной суммы *Silene colpophylla*

№№ соед.	t, мин.	t. отн. от 20E	$\lambda_{\max}$, нм	(M+HCOO) –	(MH) ⁺	Фрагментные ионы (условия положит.иониза ции)	Соединение
6	14,00	0,87	248	541,32	497,33	479,32; 461,31, 443,30; 425,29	Интегристерон А
8	14,87	0,92	250	541,32 и 557,33 (два соединения)	497,33 и 513,33	479,32; 461,31, 443,28; 425,27 и 495,31; 477,30; 459,28	Не идентифициро ваны
9	15,40	0,95	–	523,32	479,32	461,31; 443,30, 445,28	Не идентифициро ван
10	16,15	1,00	246	525,33	481,33	463,32; 445,31, 427,30; 409,29	20-гидрокси- экдизон
11	16,49	1,02	250	541,32	497,33	481,33, 463,32, 445,31, 427,30	Полиподин В
12	17,00	1,05	248	525,33	481,34	463,32; 445,31; 427,30	Не идентифициро ван
13	18,81	1,16	250	583,33	539,34	521,33; 479,32; 461,31; 443,30; 425,29	Не идентифициро ван
14	19,08	1,18	248	509,33	465,34	447,33; 429,32; 411,31	Экдизон
15	19,45	1,20	244	567,34	523,35	505,33; 463,32; 445,31, 427,30	Не идентифициро ван
16	20,03	1,24	246	509,33	465,34	447,33; 429,32; 411,31; 393,30	2-дезоксид-20- гидрокси- экдизон
17	20,22	1,25	248	509,33	465,34	447,33; 429,32; 411,31; 393,29	2-дезоксид- экдизон
18	22,00	1,36	248	493,34	449,34	431,33; 413,32	Не иденти- фицирован

Примечание – №№ соед. – номер соединения на хроматограмме (Рисунок 12), t– время удерживания, t. отн. – относительное от 20E время удерживания, $\lambda_{\max}$ – длина волны, (M+HCOO)[–], (MH)⁺ – массы молекулярного иона.

Так же характерным отщеплением служит потеря молекулой экдистероида метильной группы при четвертичном атоме углерода как в виде иона M^+-CH_3 , так и в виде дегидратированных пиков ($M^+-CH_3-nH_2O$) [156, 157].

Типичным видом фрагментации для экдистероидов является расщепление по связям $C_{17}-C_{20}$, а так же по связи $C_{20}-C_{22}$, реже по $C_{23}-C_{24}$. Особое место так же уделяется изучению боковой цепи экдистероидов, так как именно в этой части молекулы сосредоточены наиболее существенные отличия [27]. Такая, характерная для экдистероидов, фрагментация наблюдается для соединений **6**, **8**–**18** (Таблица 24). Для двух соединений (**13** и **15**) кроме отщепления молекул воды наблюдается также отрыв от молекулярного иона фрагмента с m/z 60, соответствующего иону $(MH-CH_3COOH)^+$, что характерно для ацетатов экдистероидов [28]. Соединение **10** (Рисунок 13) идентифицировано с 20-гидроксиэкдизоном, основным экдистероидом растений рода *Silene*, спектрально-хроматографические характеристики которого совпадают с таковыми для аутентичного образца. Аналогичным образом соединения **6** и **11** идентифицированы как интегристерон А и полиподин В.

При идентификации соединений **6** и **11** принимались во внимание также данные по относительным временам удерживания экдистероидов и их распространению в растениях рода *Silene* [31]. Часть экдистероидов, выделенных при помощи колоночной хроматографии на SiO_2 была дополнительно проанализирована методами ЯМР.

ЯМР-спектры экдистероидов **6**, **10**, **11**, **14** и **16** соответствуют интегристерону А, 20-гидроксиэкдизону, экдизону и 2-деокси-20-гидроксиэкдизону [28]:

Соединение 8: 1H -NMR ($CDCl_3 + CD_3OD$, ppm): δ 0,81 (3H, s, Me-18); 1,05 (3H, s, Me-19); 1,12 (3H, s, Me-21); 1,15 (6H, s, Me-26 and Me-27); 2,26 (1H, t, $J = 7,7$ Hz, H-17); 2,55 (1H, m, H-5); 2,93 (1H, m, H-9); 3,30 (1H, m, H-22); 3,82 (2H, m, H-1 and H-2); 4,02 (1H, br s, H-3); 5,79 (1H, s, H-7).

ESMS (–ve): m/z (% rel. intensity) **495,9** $[M-H]^-$ (100). тпл. 189–191 °C. На основании полученной совокупности данных соединение идентифицировано с интегристероном А.

Соединение 12: 1H -NMR ($CDCl_3 + CD_3OD$, ppm): δ 0,75 (3H, s, Me–18); 0,87 (3H, s, Me–19); 1,09 (3H, s, Me–21); 1,11 (6H, s, Me–26 and Me–27); 2,21 (1H, t-like, $J = 8,4$ Hz, H–17); 2,29 (1H, dd, $J = 3,7, 12,8$ Hz, H–5); 2,94 (1H, t-like, $J = 8,0$ Hz, H–9); 3,26 (1H, m, H–22); 3,72 (1H, br d, $J = 11,6$ Hz, H–2); 3,86 (1H, br s, H–3); 5,72 (1H, s, H–7). тпл. 233–234 °C. Идентифицировано с 20-гидроксиэкдизоном.

Соединение 13: 1H -NMR ($CDCl_3 + CD_3OD$, ppm): δ 0,73 (3H, s, Me–18); 0,76 (3H, s, Me–19); 1,06 (3H, s, Me–21); 1,09 (6H, s, Me–26 and Me–27); 2,19 (1H, t, $J = 8,4$ Hz, H–17); 2,99 (1H, t, $J = 8,1$ Hz, H–9); 3,22 (1H, m, H–22); 3,76 (1H, m, H–2); 3,85 (1H, br s, H–3); 5,79 (1H, s, H–7).

ESMS (+ve): m/z (%rel. intensity) 497,2 $[M+H]^+$ (100). тпл. 215–217 °C. Идентифицировано с полиподином В.

Соединение 15: 1H -NMR ($CDCl_3 + CD_3OD$, ppm): δ 0,61 (3H, s, Me–18); 0,86 (3H, d, $J = 6,5$ Hz, Me–21); 0,89 (3H, s, Me–19); 1,14 (3H, s, Me–26); 1,15 (3H, s, Me–27); 1,97 (1H, br t, $J = 12,9$ Hz, H–17); 2,32 (1H, br d, $J = 9,8$ Hz, H–5); 2,96 (1H, m, H–9); 3,54 (1H, br d, $J = 9,6$ Hz, H–22); 3,76 (1H, br d, $J = 8,3$ Hz, H–2); 3,89 (1H, br s, H–3); 5,75 (1H, s, H–7).

тпл. 232–233 °C. Полученные данные свидетельствуют, что соединение является экдизоном.

Соединение 16: 1H -NMR ($CDCl_3 + CD_3OD$, ppm): δ 0,79 (3H, s, Me–18); 0,91 (3H, s, Me–19); 1,13 (3H, s, Me–21); 1,16 (6H, s, Me–26 and Me–27); 2,27 (1H, t, $J = 8,4$ Hz, H–17); 2,37 (1H, dd, $J = 3,9, 12,1$ Hz, H–5); 3,05 (1H, m, H–9); 3,33 (1H, m, H–22); 3,97 (1H, br s, H–3); 5,78 (1H, s, H–7), тпл. 244–245 °C. Идентифицировано с 2-дезоксид-20-гидроксиэкдизоном.

На основании хроматографических данных и масс-спектрометрии соединение **17** идентифицировано с 2-дезоксид-20-гидроксиэкдизоном.

Методом ВЭЖХ/УФ проанализирована полярная фракция экстракта *S. colporphylla*, хроматографический профиль которой приведен на рисунке 14.

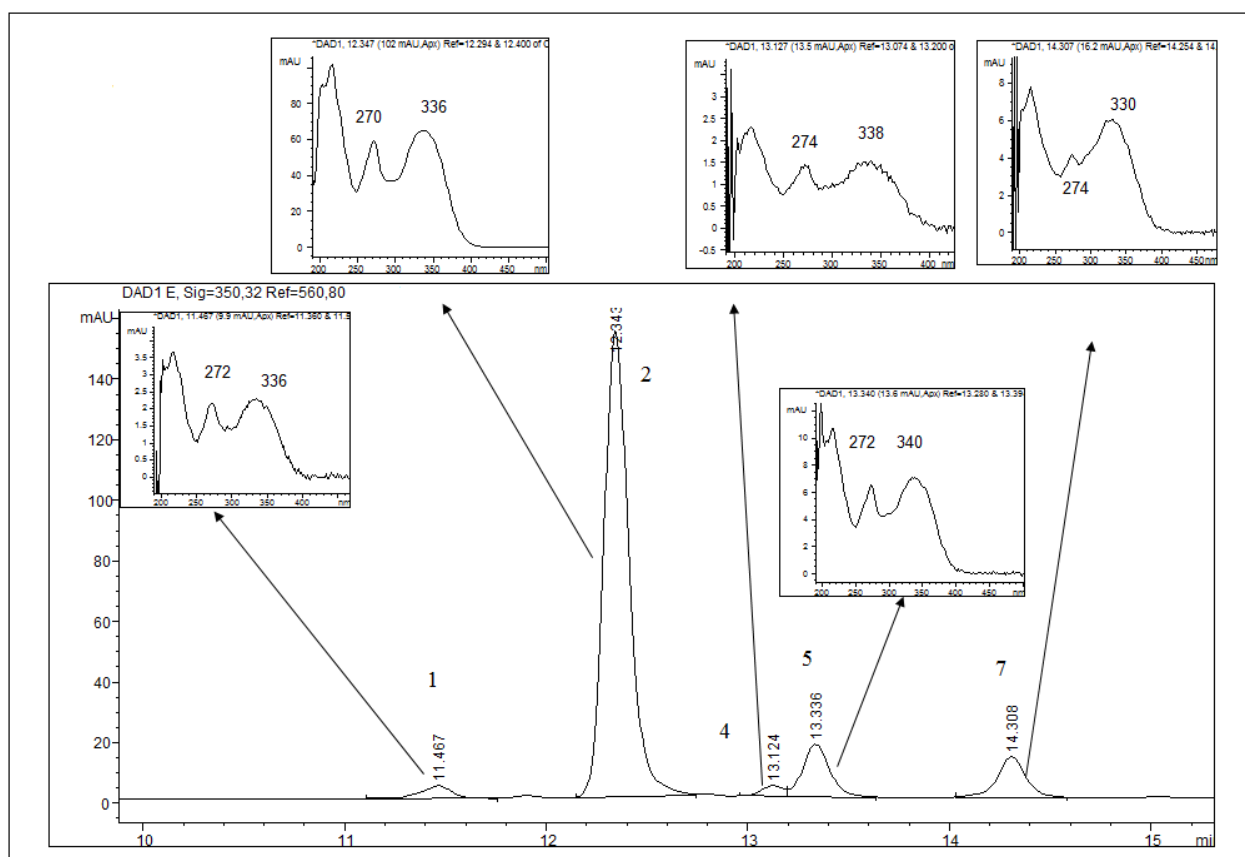


Рисунок 14 – Флавоноидный профиль *Silene colporphylla* (нумерация пиков на хроматограмме совпадает с нумерацией на рисунке 13 и в таблице 25).

Все пять соединений на рисунке 14 имеют УФ-спектры, соответствующие флавоноидам с апигениновым остовом. УФ-спектры основных пиков имеют по два максимума поглощения (Таблица 25), характерные для фенилпропаноидов $C_6-C_3-C_6$ типа апигенина, что позволяет отнести эту группу соединений к флавонам [153, 154].

Это подтверждается и ИК-спектрами (Приложение В, рисунок В.1). Молекулярные массы соединений 1, 2, 4, 5 и 7 (Рисунок 14) существенно превышают массы известных флавонов (на 250–300 единиц) [158], что указывает на гликозилированную форму этих соединений.

В масс-спектрах флавоноидов 1, 2, 4, 5 и 7, полученных методом ВЭЖХ/МС из полярной фракции экстракта *S. colporphylla* в стандартных условиях, регистрируются только молекулярные ионы (Рисунок В.3; Приложение В), не наблюдается отщепления углеводных фрагментов. Это указывает на то, что

соединения 1, 2, 4, 5 и 7 являются С-гликозидами флавоноидов, поскольку для О-гликозидов флавоноидов в подобных условиях регистрируются осколочные ионы, соответствующие отщеплению углеводных фрагментов [159].

Таблица 25 – Спектральные данные флавоноидов *Silene colporphylla*

Номер соединения	λ_{max} , нм	$(\text{M}-\text{H})^-$ m/z	$(\text{M}+\text{H})^+$ m/z
1	274; 336	563,4	565,17
2	272; 334	563,14	565,17
4	274; 330	563,14	565,17
5	272; 338	563,14	565,17
7	272; 338	739,19	741,21

Анализ полученных УФ – и масс-спектральных характеристик соединений 1, 2, 4 и 5 позволил предположить, что эти соединения являются изомерными С-гликозидами флавонов, различающимися составом и положением углеводных фрагментов.

Мажорный флавоноид (соединение 2, таблица 25) выделен перекристаллизацией в системе метанол: этилацетат (4:1 v/v). Полученное вещество имеет ярко-желтую окраску и мелкокристаллическую структуру. Для идентификации этого соединения использовались методы ЯМР ^1H , ИК – и УФ–спектроскопия (Приложение В, рисунки В.1 и В.2).

Спектр ЯМР ^1H соединения 2: (400 МГц, ДМСО- d_6 , δ , м.д., J, Гц). Флавоноидный остов: 6,83 (1H, с, H–3); 6,90 (2H, д, H – 3', H – 5'); 8,02 (2H, м, H – 2', H – 6'); 9,29 (1H,с, OH); 10,34 (1H,с, OH); 13,82 (1H,с, OH); углеводный фрагмент №1: 3,44 (1H, м, H–3''); 3,66 (1H, м, H – 5''B); 3,86 (2H, м, H–4'', H–5''A); 4,71 (1H, д, H–1''), углеводный фрагмент №2: 3,25 (2H, м, H–3''', H–5'''); 3,44 (1H, м, H–4'''); 3,66 (1H, м, H – 6''B); 3,70 (1H, м, H–6''A); 4,71 (1H, д, H–1''') не противоречит структуре С-гликозилированного флавоноида.

Это соединение может иметь структуру С-дигликозида апигенина с молекулярной массой М 564, у которого в молекуле один углеводный остаток

имеет пентозную форму, а второй гексозную. Соединениями с подобной молекулярной массой могут быть: шафтозид или изошафтозид (структуры соединений приведены в Приложении В, таблица В.1) [160, 161]. Эти флавоны различающихся только положением углеводных пентозных и гексозных фрагментов. Окончательное установление структуры выделенного соединения будет возможно при проведении дополнительных ЯМР-исследований с замораживанием образца, для предотвращения вращения пары атомов водорода в положениях 2' и 6' [162].

Таким образом, в результате проведенных исследований установлено, что основными соединениями бутанольного экстракта надземной части *S. colpophylla* являются экдистероиды и С-гликозилированные флавоны, суммарное содержание которых составляет 2,7 и 5,6% соответственно. Методом ВЭЖХ получены хроматографические профили («отпечатки пальцев») экдистероидов и С-гликозилированных флавонов бутанольного экстракта надземной части *S. colpophylla*.

ГЛАВА 5. ХЕМОТАКСОНОМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ВИДОВ СЕКЦИИ *OTITES*

Одной из основных задач современной хемосистематики является установление родственных связей между различными таксонами [163]. Решению этой задачи способствует изучение химического состава растений. Большую прогностическую ценность представляют при этом различные группы вторичных метаболитов [6, 17]. Эти соединения более специфичны по сравнению с продуктами первичного обмена. Вторичные метаболиты, в отличие от первичных, имеют функциональное значение не на уровне клетки, а на уровне целого организма [164]. По составу и уровню содержания вторичных метаболитов и интенсивности их биосинтеза можно судить о составе секций, подродов и даже выявлять отличия на уровне более крупных таксонов, таких как род или семейство. Не менее важным является возможность определения статуса подвидов у полиморфных видов. При классификации секции *Otites* рассмотрены вопросы, ответы на которые можно получить с помощью хемосистематики:

- выделение секции *Otites* рода *Silene* или группы видов в отдельный род *Otites* (Ушанка);
- выделение *S. sendtneri* и *S. roemerii* в отдельную секцию *Capitellatae* (Rohrb.) Schischk [63];
- определение родового статуса отдельных видов (пример *S. borysthénica*);
- определение видового статуса некоторых подвидов.

Для хемотаксономического изучения выбрано восемь видов смолевок и один подвид, относящихся к секции *Otites* (по классификации, приведенной во «Flora Europaea» [112]). Среди изучаемых видов выявлены виды сверхконцентраторы фитоэкдистероидов (*S. colpophylla*, *S. sendtneri*, *S. roemerii*, *S. pseudotites*), а так же виды с относительно низким содержанием экдистероидов (*S. exaltata*, *S. borysthénica*). Виды, не синтезирующие экдистероиды, среди изучаемых не выявлены.

В качестве видов сравнения взяты *S. linicola* C.C. Gmelin (секция *Lasiocalycinae* Chowdhuri), *S. viridiflora* L. (секция *Siphonomorpha* Otth), *S. frivaldszkyana* Hampe (секция *Sclerocalycina* (Boiss.) Schischkin) [112].

При помощи ВЭЖХ/УФ-анализа получены экдистероидные профили изучаемых 70% этанольных экстрактов надземных частей смолевков в различных хроматографических системах (Приложение Г). Результаты исследований приведены в таблице 26. Данные свидетельствуют о наличии во всех исследуемых видах секции *Otites* таких мажорных экдистероидов как 20-гидроксиэкдизон, 2-дезоксигидроксиэкдизон и 2-дезоксизон. Практически во всех видах секции (исключение составляют *S. roemerii* и *S. sendtneri*) обнаружен экдизон.

Интегристерон А обнаружен лишь в некоторых видах, таких как *S. otites* ssp. *hungarica*; *S. otites*; и *S. colpophylla*. Так же не во всех видах был обнаружен полиподин В (*S. otites* и *S. sendtneri*). Однако это может быть связано с условиями хроматографирования, которые не всегда позволяют проводить разделение 20-гидроксиэкдизона и полиподина В, находящихся в одной пробе. По литературным данным из *S. otites* выделено более 30 различных экдистероидов [30,31], среди которых 5 β -гидроксипроизводное 20Е, полиподин В не выявлен.

Кроме этого, в экстрактах изученных видов было обнаружено соединение одинаковое для всей группы, а так же соединения характерные для индивидуального видового состава. При сравнении экдистероидных профилей видов секции *Otites* с профилями видов из других секций, показано, что исследуемые виды имеют в своем составе характерный экдистероид для секции со временем удерживания 29,6 мин.

Экдистероидом с наибольшей концентрацией почти во всех видах является 20-гидроксиэкдизон. Исключение составили два образца *S. otites* ssp. *hungarica* и *S. exaltata*. В первом виде доминирующим экдистероидом оказался 2-дезоксизон, а во втором виде неполярный экдистероид с неустановленной структурой со временем удерживания 44,8 мин.

Таблица 26 – Времена удерживания экдистероидов в системе ацетонитрил – ИПС – вода (3:2) в градиенте от 15 до 35% для некоторых видов *Silene*

Экдистероид	Времена удерживания, мин											
	SC	SOH	SP	SR	SS	SE	SBo	SBa	SO	SF	SL	SV
Экдистероид 1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	12,8
Экдистероид 2	13,4	—	—	—	—	—	—	—	—	13,3	—	—
Экдистероид 3	15,3	—	15,4	15,2	15,3	—	—	—	15,2	—	15,6	—
intA	16,5	16,5c	—	—	—	—	—	—	16,6c	15,9	—	—
PolB	19,3	—	—	—	19,3	—	—	—	19,2	19,2	19,0	19,2
20E	20,3	19,9	20,2	19,9	20,0	19,9	19,9c	19,9	19,9	20,2	19,8	19,9
Экдистероид 4	21,9	—	—	—	—	—	—	—	21,6c	—	—	—
Экдистероид 5	—	—	—	—	—	—	—	—	22,2c	—	—	—
Экдистероид 6	22,8	—	—	—	—	—	—	—	22,8c	—	—	—
Экдистероид 7	24,6	—	—	—	—	—	—	—	—	24,9	24,4	—
Экдистероид 8	26,7	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Экдистероид 9	28,6	28,5	—	—	28,9	28,6c	28,4c	—	28,1	—	—	—
Экдистероид 10	29,6	29,5	29,7	29,6	29,7	29,6	29,5c	29,6c	29,6	—	—	—
E	30,4	30,1c	30,1	—	—	30,2	30,1	29,9	30,2	30,3	29,9	—
Экдистероид 11	—	—	—	—	—	31,1c	—	30,8c	30,7c	—	—	—
2d20E	32,3	32,0	32,3	32,1	32,2	32,2	32,1	32,1	32,1	32,2c	—	32,1
Экдистероид 12	32,8	32,8c	32,8	—	—	—	—	32,8c	32,9c	—	—	—
Экдистероид 13	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	33,9
Экдистероид 14	—	33,9c	33,7c	—	33,7c	33,9c	33,8	—	34,1c	34,1	—	—
Экдистероид 15	34,7	34,5c	34,5c	34,4	34,5	34,9	34,9c	—	34,7c	—	34,9	—
20E-2Ac**	35,1	35,3c	35,1c	—	35,2c	—	—	35,1c	35,4c	—	—	—
Экдистероид 16	—	—	35,8c	—	35,8c	—	35,8c	—	36,2c	—	—	—
Экдистероид 17	—	—	37,2c	37,3c	—	37,0	36,9c	—	37,3c	—	—	37,4
Экдистероид 18	—	—	38,0c	—	38,2c	—	38,6c	—	38,6c	—	—	—

Окончание таблицы 26

Экдистероид	Времена удерживания, мин											
	SC	SOH	SP	SR	SS	SE	SBo	SBa	SO	SF	SL	SV
Экдистероид 19	—	—	39,2с	—	39,2с	—	—	—	—	—	39,6	—
Экдистероид 20	—	—	40,0с	—	40,1с	39,8	—	39,9с	40,0с	—	—	—
Экдистероид 21	—	—	40,5с	—	40,4с	—	40,6с	—	—	—	—	—
Экдистероид 22	—	—	41,3с	—	41,3с	—	—	—	41,4с	41,7	41,3	—
Экдистероид 23	—	—	42,4с	—	42,5с	—	—	—	—	42,7	—	—
2dE	44,0	43,4*	43,6	43,6сс	43,3с	43,6	43,6с	43,5	43,6	43,2	43,4	—
Экдистероид 24	—	—	—	—	43,7с	—	—	—	—	43,7	—	—
Экдистероид 25	—	44,6с	44,7	—	44,7с	44,8*	44,7	44,5	44,8	44,8	—	—
Экдистероид 26	—	—	46,6	—	—	—	—	—	—	—	46,8	—
Экдистероид 27	—	—	—	—	—	47,3с	47,1с	—	—	47,4	—	—

Примечание – SC – *S. colpophylla*, SOH – *S. otites* ssp. *hungarica*; SP – *S. pseudotites*; SR – *S. roemeri*, SS – *S. sendtneri*, SE – *S. exaltata*; SBo – *S. borysthenica*; SBa – *S. baschkirorum*; SO – *S. otites*; SF – *S. frivaldszkyana*; SL – *S. linicola*; SV – *S. viridiflora*. * – отмечены экдистероиды, которые являются мажорными, если доминирующим экдистероидом не является 20-гидроксиэкдизон, **– 20-гидроксиэкдизон-2-ацетат идентифицирован только методами сравнения со стандартом (ВЭЖХ) и ТСХ, с-пик слабый; «Экдистероид 1–27» обозначены не идентифицированные экдистероиды

При проведении ТСХ-анализа (Приложение Б, рисунки Б.3 и Б.4) между двумя соединениями с установленной структурой (экдизоном и 2-дезоксидеоксидом) выявлено два пятна, одно из которых при опрыскивании ванилин серным реактивом приобретает зеленую окраску, а другое – малиновую.

При анализе экдистероидных профилей *S. roemerii* и *S. sendtneri* [165, 166], которые некоторыми авторами выделяются в самостоятельную секцию [63], обнаружено, что по сравнению с остальными исследуемыми видами они имеют некоторые характерные отличия. Так в этих видах не обнаружен экдизон. В *S. roemerii*, отсутствуют экдистероиды с временами удерживания 28,6; 32,8; 44,7. Однако имеется ряд существенных отличий и между профилями данных видов. Таким образом, полученные данные способствуют накоплению информации о химическом составе видов, однако их недостаточно для окончательного вывода о статусе *S. roemerii* и *S. sendtneri*.

Вопрос о количестве подвидов *S. otites* до сих пор остается открытым. В этом плане с точки зрения хемосистематики информативным может оказаться соотношение отдельных экдистероидов в экдистероидных профилях *S. otites* ssp. *hungarica* и *S. otites*. Полученные данные свидетельствуют о достаточно близком экдистероидном составе данных растений, которые совпадают по составу мажорным компонентам (Рисунок 15), однако имеют ряд существенных отличий [167].

Так в полярной части профиля *S. otites* ssp. *hungarica* не обнаруживается пик экдистероида $t_R=15,3$ мин, который присутствует в экстракте *S. otites*. Напротив, в *S. otites* ssp. *hungarica* присутствует полиподин В, тогда как в *S. otites* его нет. Существенные отличия наблюдаются в среднеполярной части экдистероидного профиля, между 20-гидроксиэкдизоном (20,1 мин) и экдизоном (30,1 мин). Так у *S. otites* ssp. *hungarica* практически нет пиков экдистероидов (пики со $t_R=28,5$ и 29,5 мин) в этой области, тогда как в *S. otites* в этой области наблюдаются пять экдистероидных пика (29,6; 28,1; 22,8; 22,2; 21,6 мин). В неполярной части экстракты имеют схожий состав, однако, в области от 35 до 40 мин в *S. otites* ssp. *hungarica* так же нет пиков экдистероидов, которые присутствуют в *S. otites* (3

экдистероида 36,2; 37,3; 38,6 мин). Доминирующие экдистероиды в данных видах так же различны, если в *S. otites* это 20-гидроксиэкдизон (содержание 20E превышает содержание 2dE в 3,6 раза), то в *S. otites* ssp. *hungarica* этим экдистероидом является 2-дезоксизон (содержание 20E в 1,3 раза меньше концентрации 2dE).

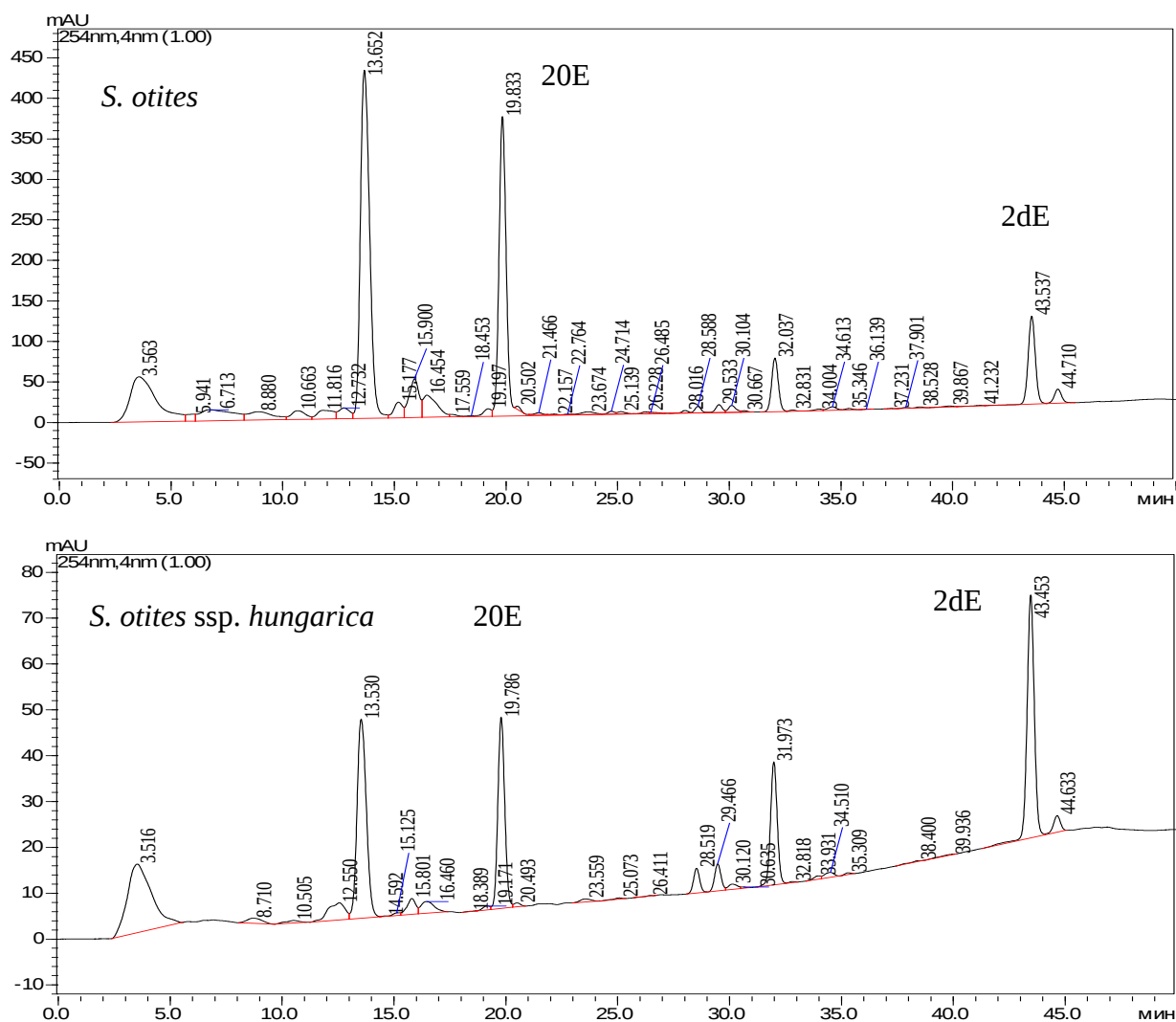


Рисунок 15 – Экдистероидные профили *Silene otites* и *S. otites* ssp. *hungarica*

Таким образом, можно сделать вывод, что в химическом составе типового вида и подвида *S. otites* ssp. *hungarica* имеются как общие, характерные для рода и секции экдистероиды, так и видоспецифичные маркеры.

Помимо большого числа подвидов *S. otites* часто образует гибриды с другими видами секции. Известно, что *S. pseudotites* является гибридом *S. otites* и

S. colpophylla [112], в связи с этим сравнение экдистероидных профилей данных видов представляет важное хемотаксономическое значение. Экдистероиды, обнаруженные в данных видах ранее, приведены в таблице 27.

Из таблицы 27 видно, что эти виды имеют сходный состав мажорных экдистероидных компонентов. В ходе работы было проведено детальное изучение экдистероидных профилей всех трех видов и выявлены основные видовые закономерности.

В таблице 28 приведены данные о присутствии минорных экдистероидов в надземных частях *S. pseudotites*, *S. otites* и *S. colpophylla*. Из таблицы видно, что экдистероиды **6, 8, 9, 10, 13** обнаружены только в одном из родительских видов. Экдистероиды **4, 12, 14, 15, 16** присутствуют во всех трех видах, **5, 7, 11** – присутствуют в двух родительских видах, но отсутствуют в *S. pseudotites*. Экдистероиды **17, 18, 19, 21, 23, 25**, – обнаруживаются в родительском виде *S. otites* и дочернем *S. pseudotites*. Экдистероиды **20, 22, 24, 26** – обнаруживаются только в *S. pseudotites*.

Таблица 27 – Экдистероиды *Silene pseudotites*, *S. otites* и *S. colpophylla*

Экдистероиды	<i>S. otites</i> [30]	<i>S. pseudotites</i> [15]	<i>S. colpophylla</i>
20-Гидроскиэкдизон	+	+	+
Полиподин В	—	+	+
Экдизон	+	+	+
2-Дезоксиэкдизон	+	+	+
2-Дезокси-20-гидроксиэкдизон	+	+	+
Интегристерон А	+	—	+
2-Дезокси-интегристерон А	+	+	н/и
Сидистерон	+	+	н/и
2-Дезокси-20, 26-дигидроксиэкдизон	—	+	н/и
20,26-Дигидроксиэкдизон	+	—	н/и

Примечание – «+» в таблицы обозначены экдистероиды, обнаруженные в соответствующих видах смолёвок, «—» обозначены экдистероиды, не обнаруженные в указанных видах смолёвок, н/и – не идентифицированные экдистероиды в *S. colpophylla*.

Таблица 28 – Времена удерживания экдистероидов *Silene colpophylla*, *S. otites*, *S. pseudotites*

Экдистероид	<i>S. colpophylla</i>	<i>S. otites</i>	<i>S. pseudotites</i>
Экдистероид 1	10,2	–	10,2
Экдистероид 2	13,4	–	13,3
Экдистероид 3	14,3	–	14,3
Экдистероид 4	15,3	15,2	15,4
Интегристерон А	16,5	16,6с	–
Полиподин В	19,3	19,2	–
20–гидроксиэкдизон	20,3	19,9	20,2
Экдистероид 5	21,9	21,6с	–
Экдистероид 6	–	22,2с	–
Экдистероид 7	22,8	22,8с	–
Экдистероид 8	23,3	–	–
Экдистероид 9	24,6	–	–
Экдистероид 10	26,7	–	–
Экдистероид 11	28,4	28,1	–
Экдизон	29,6	29,6	29,7
Экдистероид 12	30,4	30,2	30,1
Экдистероид 13		30,7с	–
Экдистероид 14	32,3	32,1	32,3
2-дезоксид-20-гидроксиэкдизон	32,8	32,9с	32,8
Экдистероид 15	34,4	34,1с	33,7с
Экдистероид 16	34,7	34,7с	34,5с
20-гидроксиэкдизон-2-ацетат	35,1	35,4с	35,1с
Экдистероид 17	–	36,2с	35,8с
Экдистероид 18	–	37,3с	37,2с
Экдистероид 19	–	38,6с	38,0с
Экдистероид 20	–	–	39,2с
Экдистероид 21	–	40,0с	40,0с
Экдистероид 22	–	–	40,5с
Экдистероид 23	–	41,4с	41,3с
Экдистероид 24	–	–	42,4с
2-дезоксидэкдизон	44,0	43,6	43,6
Экдистероид 25	–	44,8	44,7
Экдистероид 26	–	–	46,6

Примечание – «Экдистероид 1–25» обозначены не идентифицированные эдистероиды, «с» – вещество обнаружено в следовых количествах

Экдистероиды, общие для *S. colpophylla* и *S. pseudotites*, являются полярными веществами (Экдистероид 1, 2, 3). Они также исследованы в других хроматографических условиях (Приложение Г). Таким образом, из таблицы 28 видно, что данные виды (*S. pseudotites*, *S. otites* и *S. colpophylla*) имеют одинаковый состав мажорных экдистероидов, однако имеются и видоспецифичные отличия, которые наиболее отчетливо проявляются в неполярной и полярной частях экдистероидных профилей. Видоспецифичные экдистероиды родительских видов *S. otites* и *S. colpophylla* находятся большей частью в полярной и среднеполярной области экдистероидного профиля и не обнаруживаются в дочернем виде. Ранее Л.Н. Зибаревой с сотр. из *S. pseudotites* выделено три новых полярных экдистероида – (2-дезоксидигидроксиэкдизон, 2-дезоксидигидроксиэкдизон-22β-D-гликозид, 2-дезоксиполиподин В - 3β-D-гликозид) [15], эти экдистероиды, по-видимому, наследуются от родительского вида *S. colpophylla*. Дополнительные исследования полярной части экстракта *S. pseudotites* в системе растворителей циклогексан – ИПС – вода (70:28:2 v:v:v) также показали наличие в полярной части экстракта *S. pseudotites* трех полярных экдистероидов (Приложение Г). Экдистероиды *S. pseudotites* найденные в неполярной части, по-видимому, являются наследственными биологически активными веществами родительского вида *S. otites*.

Особое внимание заслуживает рассмотрение экдистероидного и флавоноидного состава *S. borysthenica* (Таблица 29). Наряду с такими видами как *S. exaltata*, *S. cyri* и *S. wolgensis* некоторыми авторами предлагается выделить этот вид в род *Otites* Adans [112]. Полученные данные свидетельствуют о сходстве экдистероидных профилей *S. borysthenica*, *S. exaltata* и *S. otites* (Таблица 26). Совпадение экдистероидного состава данных видов наблюдается как для мажорных экдистероидов, так и для минорных. Что является особенно важным, так как и *S. borysthenica* и *S. exaltata* относятся к видам с невысоким содержанием экдистероидов.

Таблица 29 – Времена удерживания флавоноидов в системе ацетонитрил – ИПС (3:2) в 0,1 % ТФУ, градиент от 15 до 35% для некоторых видов *Silene* секции *Otites*

№ №	Времена удерживания флавоноидов, мин								
	<i>S. colpophylla</i>	<i>S. otites</i> ssp. <i>hungarica</i>	<i>S. pseudotites</i>	<i>S. roemeri</i>	<i>S. sendtneri</i>	<i>S. exaltata</i>	<i>S. borysthena</i>	<i>S. baschkirorum</i>	<i>S. otites</i>
1	–	–	10,9	–	10,5	–	–	–	10,7
2	11,5	–	12,0	–	11,6	–	–	–	11,9
3	–	–	13,0	–	12,7	–	12,6	–	12,9
4	13,2	13,6	13,9	13,7	13,5	13,6	13,4	13,5	13,7
5	15,4	15,8	16,2	15,9	15,8	–	15,7	15,7	16,0
6	–	–	–	–	–	–	–	–	16,5
7	–	–	–	–	17,4	–	–	–	–
8	–	–	–	–	–	–	18,1	–	–
9	–	–	–	–	–	–	18,6	–	–
10	19,9	–	–	–	–	–	–	–	–
11	20,6	–	20,7	20,5	20,3	–	20,9	–	–
12	–	–	21,5	21,4	21,4	–	21,5	–	–
13	–	–	22,5	–	–	–	–	–	–
14	–	–	24,8	24,6	24,5	–	–	–	–

Примечание – цветом выделены мажорные флавоноиды

В ходе работы помимо экистероидных профилей получены и проанализированы флавоноидные профили всех изучаемых видов смолевок (Приложение В, рисунки В.4–В.12, таблица В.2).

Выявлены основные закономерности состава и распределения флавоноидов. Из таблицы 29 видно, что все изучаемые виды имеют сходные времена удерживания мажорных флавоноидов (в таблице выделены зеленым цветом). Помимо мажорных флавоноидов, в экстрактах обнаружены и видоспецифичные соединения. *S. pseudotites* и *S. sendtneri* обладают наиболее разнообразным набором флавоноидов (по 9 соединений), минимальное количество флавоноидов в профиле обнаружено в *S. baschkirorum*, *S. otites* ssp. *hungarica* и *S. exaltata*. В остальных видах количество флавоноидов варьируется от 5 до 7. Количество флавоноидов в исследуемых видах лежит в интервале от 2 до 6%.

Таким образом, изучение состава экистероидов и флавоноидов способствовало выяснению спорных вопросов в отношении статуса отдельных подвидов и видов. Показано, что *S. otites* ssp. *hungarica* является самостоятельным подвидом. *S. borysthenica*, *S. exaltata* – имеют сходный химический состав с типовым видом секции *Otites* рода *Silene* – *S. otites*. Кроме того, изучены экистероидные и флавоноидные профили близкородственных видов *S. colpophylla*, *S. otites*, *S. pseudotites*. Показано, что данные виды имеют сходство не только экистероидного, но и флавоноидного состава.

ГЛАВА 6. ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ НЕКОТОРЫХ ВИДОВ СМОЛЕВОК СЕКЦИИ *OTITES*

6.1 Динамика содержания экистероидов в некоторых видах смолёвок секции *Otites*

Известно, что природно-климатические условия оказывают существенное влияние на химический состав растений. И хотя многие группы биологически активных веществ являются видоспецифичными или родоспецифичными признаками их количество может существенно снижаться при выращивании этих видов в неблагоприятных условиях. Примером может служить изучение *Serratula coronata*. При выращивании вида в различных условиях состав и соотношение БАВ изменялся [168]. Естественные места произрастания *Silene colpophylla* – юго-восток Франции и прилегающие территории. Этот район находится в альпийской и средиземноморской климатических зонах, лишь на востоке попадающий в континентальную зону. Осадки распределяются равномерно, низкие температуры характерны для высокогорных районов. Весной и осенью проходят обильные, но кратковременные дожди. На юго-востоке страны располагаются Альпийские горы. Высота над уровнем моря здесь может достигать 4 тыс. км и более [169]. Эти условия существенно отличаются от условий Томской области, где происходила интродукция *S. colpophylla* в процессе выполнения работы. Климатические и природные условия района интродукции подробно описаны в главе 2.

Так как анализ накопления БАВ в растениях является важным фактором для разработки технологических схем заготовки растительного сырья, биотехнологических методик для промышленного получения экистероидов и выбора района интродукции, то изучение их сезонного и возрастного распределения является крайне важной задачей. В качестве основного маркера для изучения динамики содержания экистероидов был выбран 20-

гидроксиэкдизон. Этот выбор обусловлен рядом факторов: во-первых, он является одним из мажорных компонентов смеси экдистероидов в смолевках (содержание этого компонента может достигать 80% от суммарного количества экдистероидов в растении) (Рисунок 11), а во вторых тем, что 20Е относится к средне полярным экдистероидам. Это позволяет рассматривать относительно него как полярную, так и неполярную области экдистероидного профиля растения.

Сезонную динамику накопления 20-гидроксиэкдизона в *S. colporphylla* определяли в образцах надземных частей, собранных в основные фенофазы: начало вегетации, бутонизация, цветение, плодоношение и конец вегетации (Рисунок 16). Для подтверждения полученных данных эксперимент повторяли на ряде поколений растений. Первое поколение растений получено из семян растений, присланных из Muséum National d'Histoire Naturell (Париж, Франция). Второе и последующие поколения получены из семян репродукций СБС ТГУ.

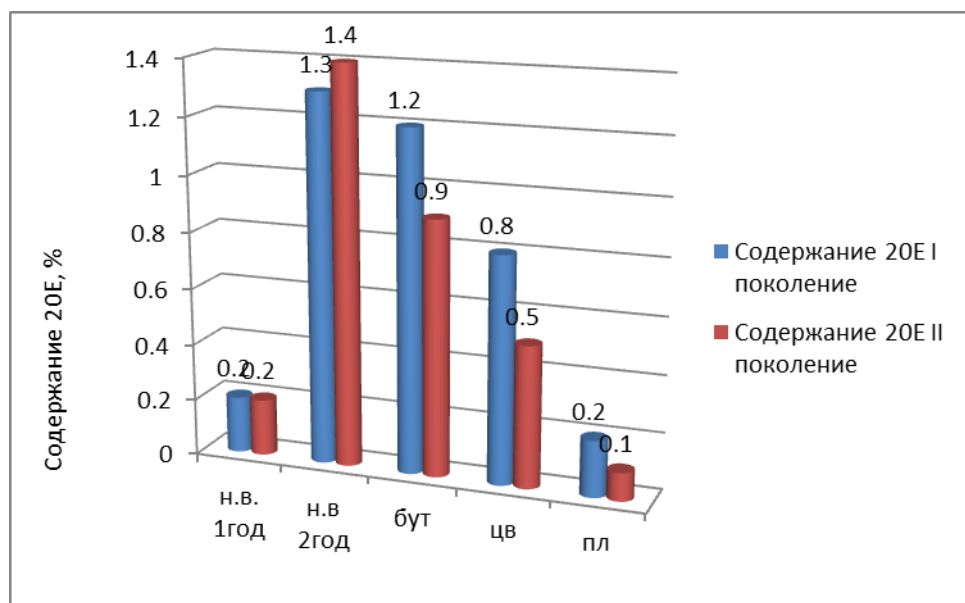


Рисунок 16 – Сезонная динамика содержания 20-гидроксиэкдизона (20Е) в надземной части *Silene colporphylla*

На рисунке 16 видно, что содержание 20Е в различных образцах *S. colporphylla* лежит в пределах от 0,2 до 1,4 %. Пик максимального накопления 20Е приходится на начало вегетации второго года жизни и достигает минимального значения к моменту созревания семян. Поскольку этот вид в

условиях Западной Сибири ведет себя как двулетний, то понижение уровня 20Е к концу второго вегетационного периода объясняется завершением жизненного цикла. Подобное распределение наблюдали в однолетних видах *S. linicola* C.C.Gmel., *S. bellidifolia* Juss. ex Jacq., *S. squamigera* Boiss. [112, 170]. Уменьшение содержание 20-гидроксиэкдизона к моменту цветения и плодоношения во втором поколении может свидетельствовать об акклиматизации растения в условиях юга Западной Сибири.

Исследуемые виды и подвиды смолёвок анализировали на содержание экдистероидов в различные фенофазы. Показано, что все 8 видов и 1 подвид (*S. colpophylla*, *S. sendtneri*, *S. roemerii*, *S. otites*, *S. pseudotites*, *S. otites* ssp. *hungarica*, *S. baschkirorum*, *S. exaltata*, *S. borysthenica*) экдистероидположительные. В таблице 30 приведены данные о количественном содержании 20-гидроксиэкдизона в выше указанных видах в фазу максимального накопления. Как правило, эта фаза совпадает с началом периода вегетации или фазой бутонизации. Содержание 20-гидроксиэкдизона в видах, не проходящих полный цикл развития в условиях юга Западной Сибири (*S. exaltata*, *S. borysthenica*, *S. baschkirorum*, *S. pseudotites*), определяли только в фазы начала и конца вегетации.

Таблица 30 – Содержание 20-гидроксиэкдизона в исследуемых видах смолёвок секции *Otites* в фазах максимального накопления

№№	Вид	Фаза вегетации	Содержание 20Е, %
1	<i>S. otites</i>	Бутонизации	1,11±0,018
2	<i>S. otites</i> ssp. <i>hungarica</i>	Цветение	0,85±0,050
3	<i>S. baschkirorum</i>	Начало вегетации	0,77±0,056
4	<i>S. exaltata</i>	Начало вегетации	0,26±0,010
5	<i>S. borysthenica</i>	Начало вегетации	0,37±0,012
6	<i>S. pseudotites</i>	Начало вегетации	2,35±0,181
7	<i>S. roemerii</i>	Бутонизации	1,30±0,079
8	<i>S. sendtneri</i>	Начало вегетации	0,98±0,039
9	<i>S. colpophylla</i>	Начало вегетации	1,42±0,074

Максимальное содержание 20-гидроксиэкдизона в пересчете на сухое сырье обнаружено в *S. pseudotites*. Так же к видам сверхконцентраторам экдистероидов

можно отнести *S. roemeri*, *S. sendtneri*, *S. colpophylla*, *S. baschkirorum*. Видами с наименьшим содержанием экдистероидов оказались *S. borysthénica* и *S. exaltata*. На рисунке 17 приведены данные о соотношении количества экдистероидов в исследуемых видах смолёвок в фазах с наибольшей биомассой надземной части (как правило, это фазы цветения и бутонизации).

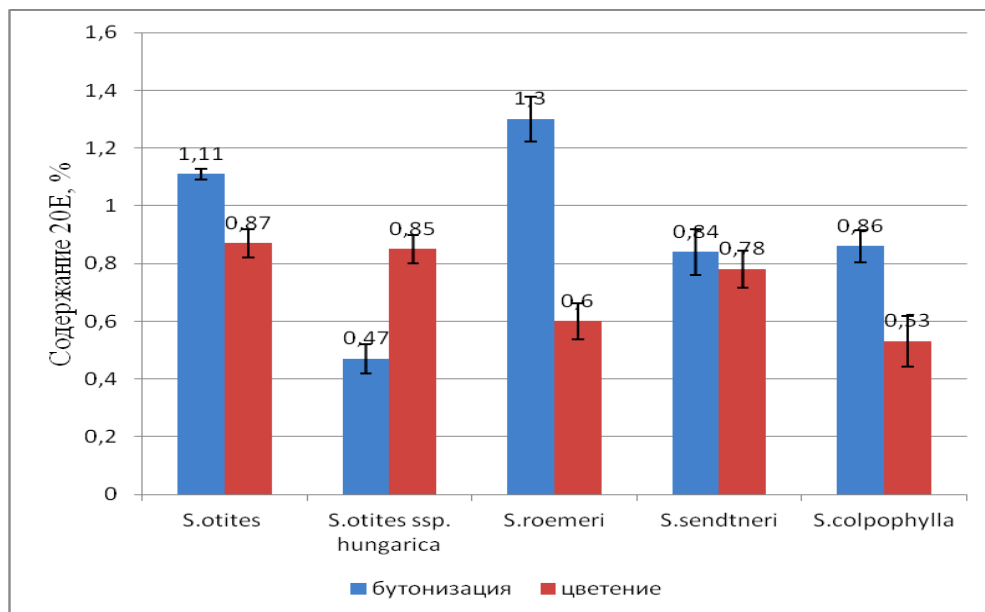


Рисунок 17 – Сравнительное содержание 20-гидроксиэкдизона в генеративных фазах у различных видов *Silene*

Из рисунка 17 видно, что такие виды как *S. otites* и *S. sendtneri* не имеют резкого перепада содержания 20-гидроксиэкдизона от фазы бутонизации к фазе цветения. Однако *S. roemeri* и *S. colpophylla* имеют выраженную тенденцию к снижению содержания экдистероидов в фазу цветения. Среди изученных видов большинство имеют большее содержание экдистероидов в фазу бутонизации, исключением является *S. otites ssp. hungarica*, пик накопления которого приходится на фазу цветения. По всей вероятности, процентное содержание БАВ в растениях не всегда является определяющим показателем при выборе вида в качестве сырьевой базы. Важным фактором является соотношение этого содержания к биомассе растения. Процентное содержание экдистероидов в начале вегетации в многолетних видах *S. frivaldszkyana*, *S. damboldtiana* Greuter & Melzh., *S. catholica* (L.) W.T. Aiton является максимальным, однако масса растений в этот

период развития, как правило, не превышает 4–5 г [15]. В таблице 31 приведены результаты исследования выхода экистероидов из надземной части растений с учетом их биомассы (данные приведены в пересчете на массу надземной части растения).

Таблица 31 – Характеристики надземной части некоторых видов *Silene* секции *Otites*

№ №	Вид	Содер. 20Е, % на абс. сух. сырье*	Масса надземной части 1 растения (сухого), г	Масса 20Е на 1 растение, мг	Кол-во раст. на 1 м ²	Масса 20Е на 1 м ² , г
1	<i>S. colpophylla</i>	0,86±0,056	7,5	64,5	74±8	4,8
2	<i>S. otites</i>	1,11±0,018	1,8	20,0	14±2	0,3
3	<i>S. otites</i> ssp. <i>hungarica</i>	0,85±0,050	1,5	12,8	15±4	0,2
4	<i>S. sendtneri</i>	0,84±0,045	27,1	227,6	28±8	6,4
5	<i>S. roemerii</i>	1,30±0,079	25,4	330,2	17±4	5,6
6	<i>S. baschkirorum</i>	0,93±0,074	1,2	11,2	59±11	0,7
7	<i>S. pseudotites</i> **	2,35±0,181	–	–	15±3	–

* – Данные приведены для фазы бутонизации, когда соотношение количества 20Е и биомассы наиболее высоки, исключение составляет *S. otites* ssp. *hungarica* для которого пик накопления приходится на фазу цветения. ** – Для указанных образцов массу надземной части не определяли, а содержание 20Е определяли для фазы начала вегетации.

Из таблицы 31 видно, что максимальный выход экистероидов из одного растения наблюдается у таких видов как *S. roemerii*, *S. sendtneri*, *S. colpophylla*. У *S. colpophylla* это обусловлено большой биомассой и увеличением содержания БАВ к моменту бутонизации. У *S. sendtneri* и *S. roemerii*, помимо наибольшей биомассы и высокого содержания 20Е на протяжении всего периода вегетации, происходит вторичное увеличение содержания экистероидов ввиду появления молодых листьев к концу вегетации и, как следствие, увеличение биомассы розетки листьев. Кроме того, *S. colpophylla* является быстро возобновляемым сырьем с высокой биомассой уже ко второму году жизни. В условиях юга Западной Сибири этот вид так же проявляет устойчивость к вредителям, в отличие от еще одного вида сверхконцентратора экистероидов – *S. pseudotites*, который активно

уничтожается в летний сезон двадцатичетырёхточечной божьей коровкой (*Subcoccinella vigintiquatuorpunctata*).

На рисунке 18 приведена сравнительная характеристика динамики содержания 20-гидроксиэкдизона в видах с наибольшим количеством 20-гидроксиэкдизона: *S. roemerii*, *S. sendtneri*, *S. colpophylla*. Сезонную динамику накопления 20Е определяли в образцах сырья, собранных в основные фенофазы: начало вегетации, бутонизация, цветение, плодоношение и конец вегетации.

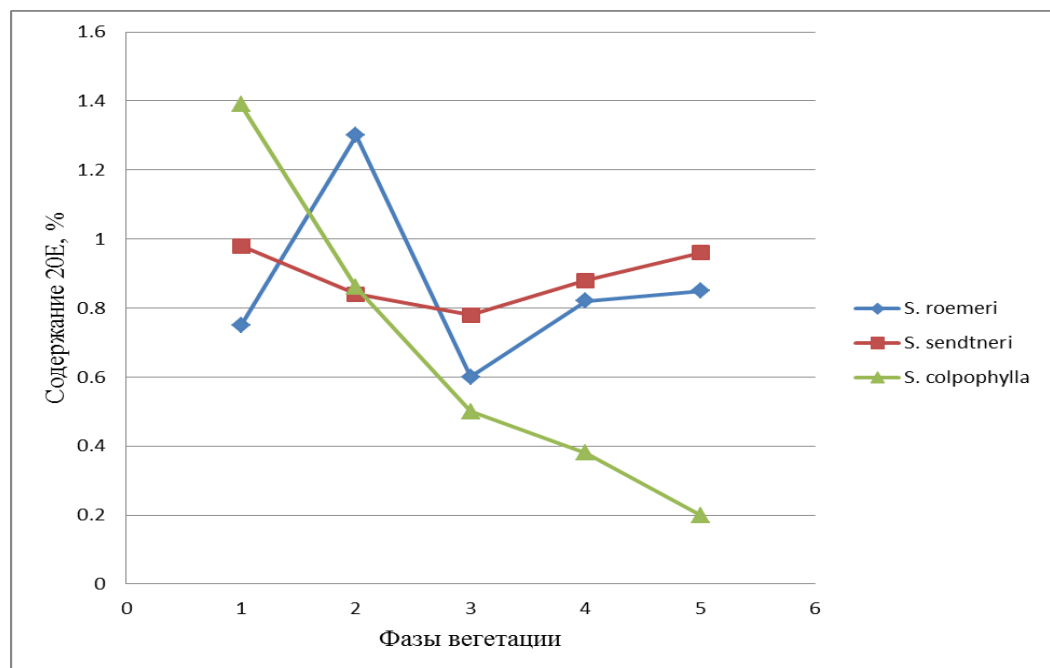


Рисунок 18 – Сезонная динамика содержания 20-гидроксиэкдизона в надземной части некоторых видов секции *Otites* рода *Silene*. 1 – фаза начала вегетации, 2 – фаза бутонизации, 3 – фаза цветения, 4 – фаза плодоношения, 5 – фаза конца вегетации

Пик максимального накопления 20Е в *S. sendtneri* и *S. roemerii* приходится на начало вегетации и бутонизацию соответственно. А минимального значения достигает к моменту цветения, что характерно для многолетних видов *Silene*. Далее происходит увеличение содержания экдистероидов, что, как отмечалось выше, обусловлено появлением молодых листьев после прохождения фазы плодоношения у многолетних растений. Содержание экдистероидов в *S. colpophylla* к концу вегетационного сезона резко снижается, что совпадает с

моментом созревания семян и гибелью растения (завершение двулетнего жизненного цикла).

Так как для многолетних видов *Silene* характерно уменьшение содержания экдистероидов в надземной части в конце вегетации, уместно предположить увеличение их количества в подземных органах в этот период. Корни и корневища растений зачастую выполняют запасающую функцию в растениях при отмирании надземной части. Примером может служить *S. frivaldszkyana*, где содержание в корнях 20-гидроксиэкдизона достигает 2% [171].

Содержание 20-гидроксиэкдизона в корнях двулетнего вида *S. colpophylla* в период цветения 0,11%, что составляет около 18% от общего количества экдистероидов в данной фазе. Вследствие этого рекомендуется в качестве растительного сырья использовать все части растения при промышленном получении фитоэкдистероидов. Кроме того, сбор всех частей растений позволит проводить быструю очистку и уборку на используемой территории, а так же уменьшить времязатраты на подготовку сырья к получению БАВ.

Важным показателем адаптации видов в не свойственных им условиях является сохранение способности к синтезу БАВ в течение многих лет жизни или поколений. Изучение возрастной динамики содержания 20-гидроксиэкдизона в *S. roemerii*, проводимое с 2011 по 2013 гг. (данные за период с 2000 по 2002 предоставлены сотрудниками лаборатории фитохимии), свидетельствует об аккумуляровании экдистероидов в течение достаточно продолжительного времени (Рисунок 19).

Высокая концентрация 20Е достигается уже в первый репродуктивный период (второй год жизни растения), на рисунке 19 соответствует первой точке на графике. Уровень 20Е повышается до девятого года жизни, и достигает максимума к 8–9 году (1,1–1,3%), после чего происходит резкое снижение количества синтезируемого экдистероида. Отмечено достаточно высокое содержание 20Е и в семенах – у маточных растений 0,5–0,8, в семенах растений второго и третьего поколений 0,6–0,9%.

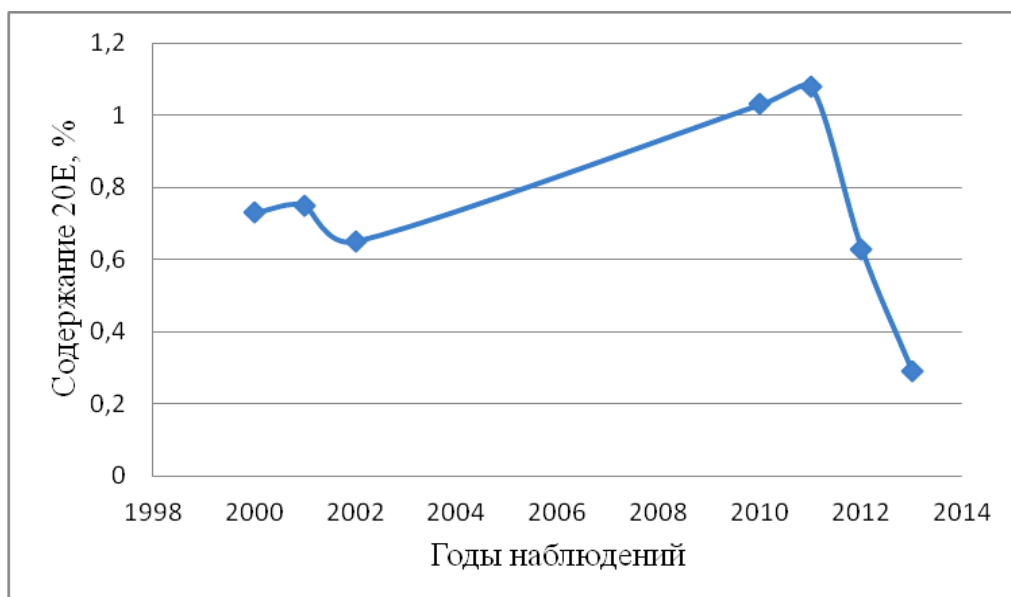


Рисунок 19 – Возрастная динамика содержания 20Е в надземной части *Silene roemerii* определенная в фазы цветения растений

Распределение 20Е в различных органах *S. roemerii* в течение вегетационного периода приведено на рисунке 20.

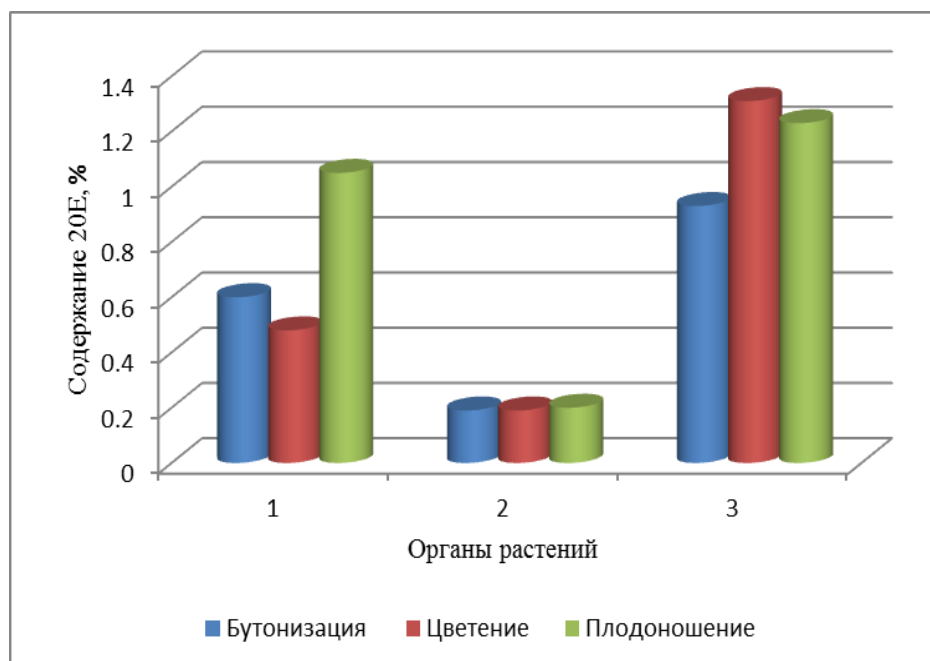


Рисунок 20 – Динамика распределения 20-гидроксиэкдизона в некоторых органах *Silene roemerii*: 1 – листья, 2 – стебли, 3 – репродуктивные органы

Максимальное содержание 20Е обнаруживается в репродуктивных органах, а пик накопления в них экдистероидов приходится на фазу цветения. На протяжении всего сезона уровень 20Е в стеблях остается минимальным. В

листьях в фазе цветения наблюдается минимальное содержание 20Е, однако во время плодоношения происходит двукратное повышение уровня, которое сопровождается увеличением биомассы листьев у этих многолетних растений.

Основываясь на полученных данных, в качестве источников биологически активных веществ были рекомендованы три вида: *S. sendtneri*, *S. colpophylla* и *S. roemerii*. Сбор сырья последних двух видов целесообразно проводить в период бутонизации, так как в период цветения наблюдается резкое снижение синтезируемых экидистероидов. Двулетний вид *S. colpophylla* необходимо собирать вместе с корневой системой. Сбор *S. sendtneri* возможно проводить на протяжении всего периода вегетации, начиная с бутонизации и заканчивая плодоношением. Многолетние виды *S. sendtneri* и *S. roemerii* синтезируют значительное количество экидистероидов уже в первый генеративный период и обладают способностью сохранять синтез экидистероидов на протяжении длительного времени.

6.2 Элементный состав надземных частей некоторых видов *Silene* секции *Otites*

При тщательном изучении микро– и макроэлементного состава надземных частей растений в их составе обнаруживают почти все элементы Периодической системы. Однако не все из них способствуют росту и развитию растений. На основе биологического действия можно разделить все обнаруживаемые элементы растения на необходимые (микро– и макроэлементы), токсичные, нейтральные, и проявляющие токсичные свойства при достижении определенной концентрации [91, 92]. В ходе работы для изучения были отобраны элементы из разных групп для оценки их действия на синтез экидистероидов и флавоноидов. Результаты получены методом атомно-эмиссионной спектроскопии с многоканальным анализатором эмиссионных спектров и приведены в таблицах 32–33.

Таблица 32 – Содержание основных элементов в растениях

№№	Элемент мкг/г, * образец	Al	Ca	Fe	Mg	Mn	P	Si	Ti
1	<i>S. borysthenica</i>	2400±240	17450±900	1550±150	2530±250	183±20	1290±130	10150±500	348±35
2	<i>S. sendtneri</i>	1580±150	7740±770	810±80	2480±250	214±20	715±70	5635±560	204±20
3	<i>S. baschkirorum</i>	82±8	2340±230	140±14	4350±440	81±8	464±45	771±770	7±1
4	<i>S. otites</i>	445±45	5125±510	340±34	2190±220	92±9	1242±125	2615±260	56±6
5	<i>S. pseudotites</i>	1120±110	15690±800	740±75	4885±490	295±30	2280±230	5764±580	127±13
6	<i>S. otites</i> ssp. <i>hungarica</i>	280±30	9580±960	310±30	3040±300	115±10	897±90	1606±160	40±4
7	<i>S. colpophylla</i> (н.в.)	1920±190	10900±500	1070±107	2220±220	194±20	1290±130	10080±500	278±28
8	<i>S. colpophylla</i> (цв.)	2110±210	12850±600	1170±116	2410±240	156±15	685±70	7992±800	204±20
9	<i>S. roemerii</i>	142±14	13460±700	205±20	4040±400	213±20	1915±190	1447±140	34±3
	Среднее значение содержания элементов в растениях [84,85]	Токсичен	5000	112	1920	55	1860	840	—

*Результаты приведены в пересчете на абсолютно сухое сырье.

Таблица 33 – Содержание примесных элементов в растениях

№№	Элемент мкг/г, проба	B	Ba	Cu	V	Zr	Sn	Mo
1	<i>S. borysthena</i>	5,8±1,2	85±9	1,2±0,2	1,2±0,2	3,8±0,8	0,7±0,1	<п.о
2	<i>S. sendtneri</i>	2,3±0,5	39±4	<п.о	0,9±0,2	1,9±0,4	0,3±0,1	<п.о
3	<i>S. baschkirorum</i>	2,9±0,6	8,1±1,6	0,3±0,1	0,10±0,03	0,03±0,01	0,20±0,05	<п.о
4	<i>S. otites</i>	2,3±0,5	17±2	1,1±0,2	0,20±0,04	2,1±0,4	0,20±0,05	<п.о
5	<i>S. pseudotites</i>	4,2±0,8	75±8	0,3±0,1	0,9±0,2	0,7±0,1	0,7±0,1	<п.о
6	<i>S. otites ssp. hungarica</i>	8,5±1,7	24±3	<п.о	0,20±0,05	0,20±0,05	0,4±0,1	<п.о
7	<i>S. colpophylla</i> (н.в.)	2,6±0,5	50±5	4,3±0,5	1,1±0,2	2,3±0,4	0,4±0,1	<п.о
8	<i>S. colpophylla</i> (цв.)	4,3±0,9	11±1	6,8±1,4	1,1±0,2	13±1	17±2	1,9±0,4
9	<i>S. roemerii</i>	2,2±0,4	69±7	0,2±0,05	0,3±0,1	1,6±0,3	0,4±0,1	<п.о
	Среднее значение содержания элементов в растениях [84,85]	22	—	6,4	—	—	—	0,096

Примечание – <п.о - меньше предела обнаружения метода (концентрация меньше 0,1 мкг/г); «—» нет однозначных данных, роль элемента в растении до конца или полностью не определена. Результаты приведены в пересчете на абсолютно сухое сырье.

Работа по определению элементов выполнена в аккредитованном Томском региональном центре коллективного пользования (аттестат аккредитации № РОСС RU.0001.517686), Национального исследовательского Томского государственного университета. Среди макроэлементов растений выбраны: фосфор, кальций, магний; среди микроэлементов: железо, медь, бор, марганец, молибден. В качестве примера токсичного действия на растения выбран алюминий. Кроме того, в ходе работы был проведен анализ надземных частей растений на содержание титана, бария, ванадия, циркония, кремния и олова.

В литературе имеются сведения о корреляции между уровнями марганца и 20-гидроксизидона в растениях. Так Л.И. Алексеевой [104] показано, что экзогенно введенный марганец повышает количество экдистероидов. Исследования, проведенные Н. Мунхжаргал [105], показали, что на биосинтез экдистероидов благоприятно влияют марганец, молибден и кобальт. Таким образом, особый интерес в данной работе представляло изучение взаимосвязи между количеством марганца, молибдена, кобальта и уровнем синтезируемых растениями экдистероидов. Цинк, свинец и кобальт в исследуемых образцах находится за пределом обнаружения метода (концентрация меньше 0,1 мкг/г).

Из таблицы 32 видно, что среди исследуемых макроэлементов (фосфор, кальций, магний) происходит накопление преимущественно магния и кальция. Причем, в значительной мере накапливается кальций. *S. otites* имеет близкое к пороговому содержанию этого элемента (около 5000 мкг/г сухого растения [85]). Содержание кальция в двух видах: *S. borysthena* и *S. pseudotites* превышает норму более чем в три раза. Наибольшее количество магния накапливается в *S. baschkirorum*, *S. pseudotites* и *S. roemerii* и превышает норму (около 1920 мкг/г сухого растения [85]) приблизительно в два раза. Из всех изученных видов только *S. baschkirorum* имеет низкое содержание кальция в сравнении с пороговым значением. Так же этот вид является единственным, в котором содержание магния превысило содержание кальция. Эти различия объясняются происхождением полученных образцов растений. Сырье для изучения *S. baschkirorum*, в отличие от остальных видов выращенных на территории Томской области, было собрано в

Свердловской области. Содержание фосфора почти во всех исследуемых видах снижено по сравнению с нормой (около 1860 мкг/г сухого растения [85]) и лишь в *S. pseudotites*, *S. roemerii* немного превышает пороговое значение.

Количество железа практически во всех видах превышает норму в несколько раз. Это согласуется с известными данными для растений, многие из которых в большом количестве накапливают железо, при повышенном содержании этого элемента в почве. Исключением стали *S. baschkirorum* и *S. roemerii*. Вероятно, это связано с высоким содержанием железа в почвах Томской области, расположенной в пределах крупного Западно-Сибирского железорудного бассейна [108]. Наибольшее содержание железа достигает в *S. borysthénica*. Видимо, этот фактор может сказываться на развитии растений, и с учетом высокого содержания алюминия, приводить к токсичному действию, а так же снижению БАВ, синтезируемых растениями.

Во всех без исключения видах содержание марганца выше среднего значения (Рисунок 21).

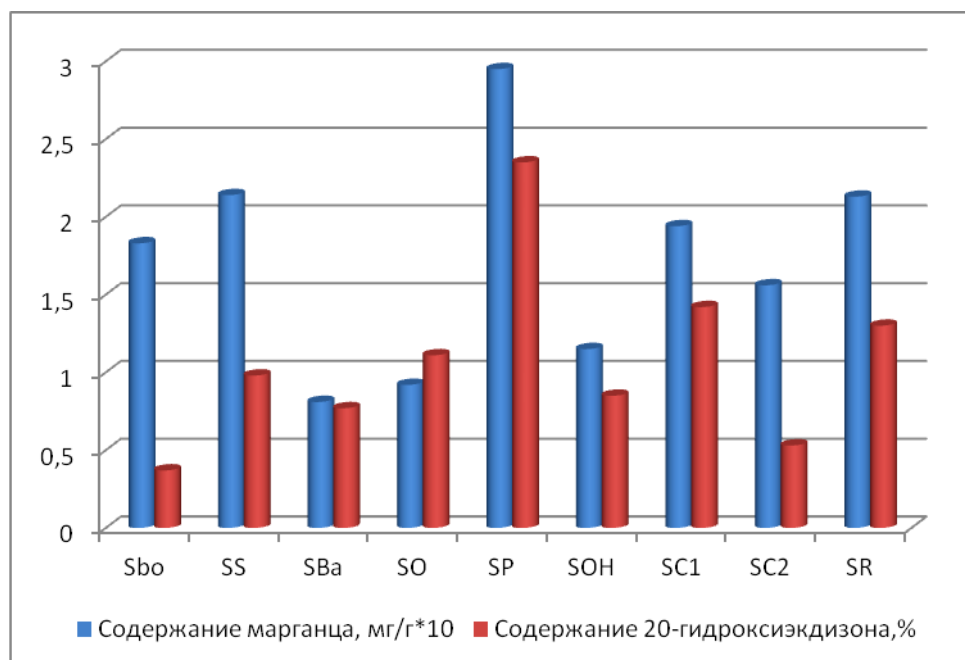


Рисунок 21 – Содержание марганца и 20-гидроксиэктизона в надземных частях некоторых видов *Silene* секции *Otites*

SBo – *S. borysthénica*; *SS* – *S. sendtneri*; *SBa* – *S. baschkirorum*; *SO* – *S. otites*; *SP* – *S. pseudotites*; *SOH* – *S. otites* ssp. *hungarica*; *SC1* – *S. colpophylla* (н.в.); *SC2* – *S. colpophylla* (цв.); *SR* – *S. roemerii*.

У видов сверхконцентраторов экистероидов (*S. pseudotites*, *S. sendtneri*, *S. roemerii*, *S. colpophylla*) содержание этого элемента выше, что согласуется с данными, полученными другими исследователями (Н. Мунхжаргал и Л. И. Алексеевой).

Медь может влиять не только на синтез экистероидов, но и флавоноидов. И хотя этот элемент обнаружен не во всех образцах (Таблица 33), его присутствие может сказываться на составе флавоноидной фракции смолёвок. На данный момент продолжают исследования по определению роли титана и кремния в растениях. Эти микроэлементы постоянно обнаруживаются в растениях. Кроме того, как отмечалось выше, представители семейства Гвоздичных нередко становятся концентраторами титана [14]. На рисунке 22 представлены диаграммы, отображающие данные о содержании титана и кремния в исследуемых видах. Как видно из рисунка, исследуемые виды смолёвок имеют сходное распределение этих элементов. Наибольшее содержание титана и кремния обнаруживается в *S. borysthenica*, *S. roemerii*, *S. colpophylla* и *S. pseudotites*. Причем концентрация кремния на порядок выше концентрации титана и лежит в тех же пределах, что и концентрации основных макроэлементов растений.

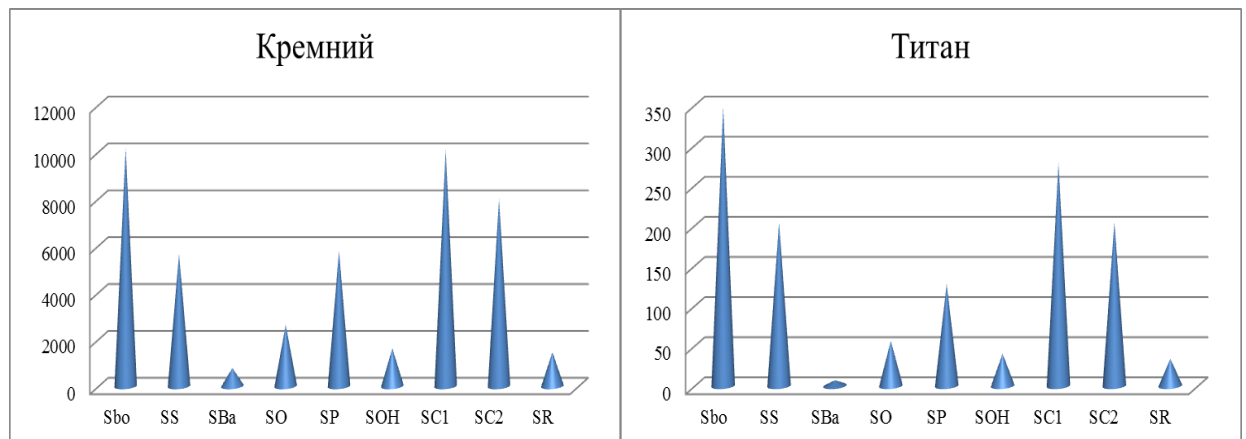


Рисунок 23 – Содержание кремния и титана в надземных частях некоторых видов *Silene* секции *Otites*

SBo – *S. borysthenica*; SS – *S. sendtneri*; SBa – *S. baschkirorum*; SO – *S. otites*; SP – *S. pseudotites*; SOH – *S. otites* ssp. *hungarica*; SC1 – *S. colpophylla* (н.в.); SC2 – *S. colpophylla* (цв.); SR – *S. roemerii*; содержание микроэлементов выражено в мкг/г сухого растения.

Помимо титана в литературе имеются данные о накоплении Гвоздичными марганца, меди, рубидия и циркония [14]. В исследуемых видах цирконий был

обнаружен во всех видах, включая *S. baschkirorum*. Хотя в этом виде содержание его существенно меньше. Возможно, накопление циркония связано с адаптационными процессами у смолевок при интродукции их в условиях Западной Сибири. Этот элемент обнаружен не во всех видах, а максимальное его количество обнаруживается в *S. colpophylla*.

В ходе работы изучен микроэлементный состав *S. colpophylla* в фазах цветения и начала вегетации. На рисунках 23 и 24 представлены полученные данные.

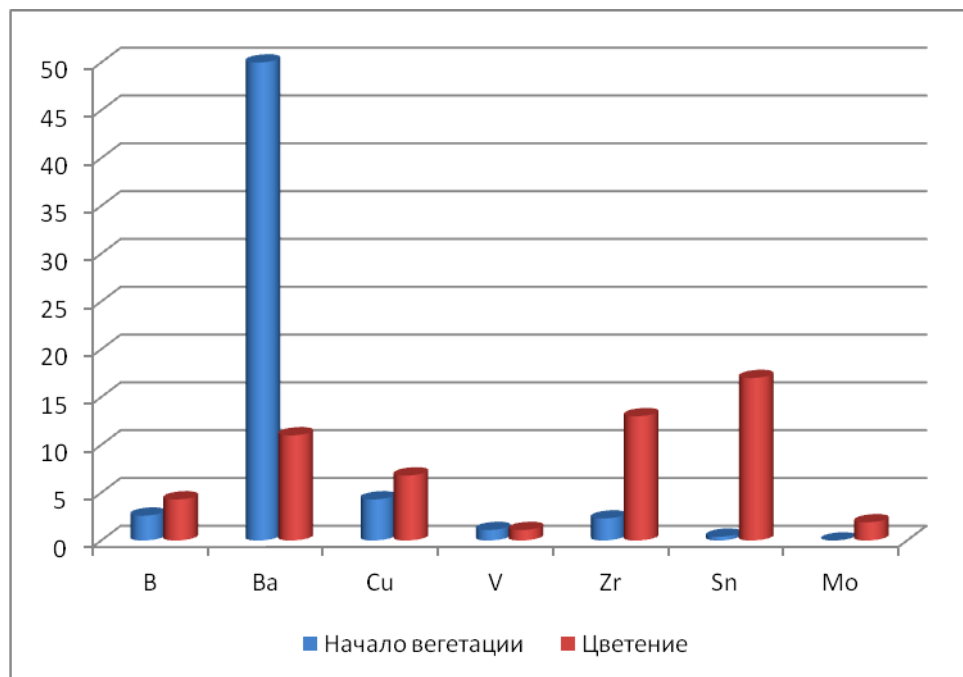


Рисунок 23 – Содержание бора, бария, меди, ванадия, циркония, олова, молибдена в надземной части *Silene colpophylla* в фазах начала вегетации и цветения, мкг/г

Как видно из рисунков 23 и 24 в начале вегетации повышено накопление бария, титана, фосфора и кремния. При достижении фазы цветения увеличивается накопление бора, в связи с ростом и развитием пыльцевых трубок, увеличения количества плодов и цветов. Так же происходит увеличение количества меди, циркония, молибдена, что вероятно, связано с активным синтезом БАВ растениями в данный период. Практически неизменной остается концентрация ванадия, алюминия, железа и магния. Количество марганца в фазу цветения

начинает снижаться, это соответствует уменьшению синтезируемых экдистероидов.

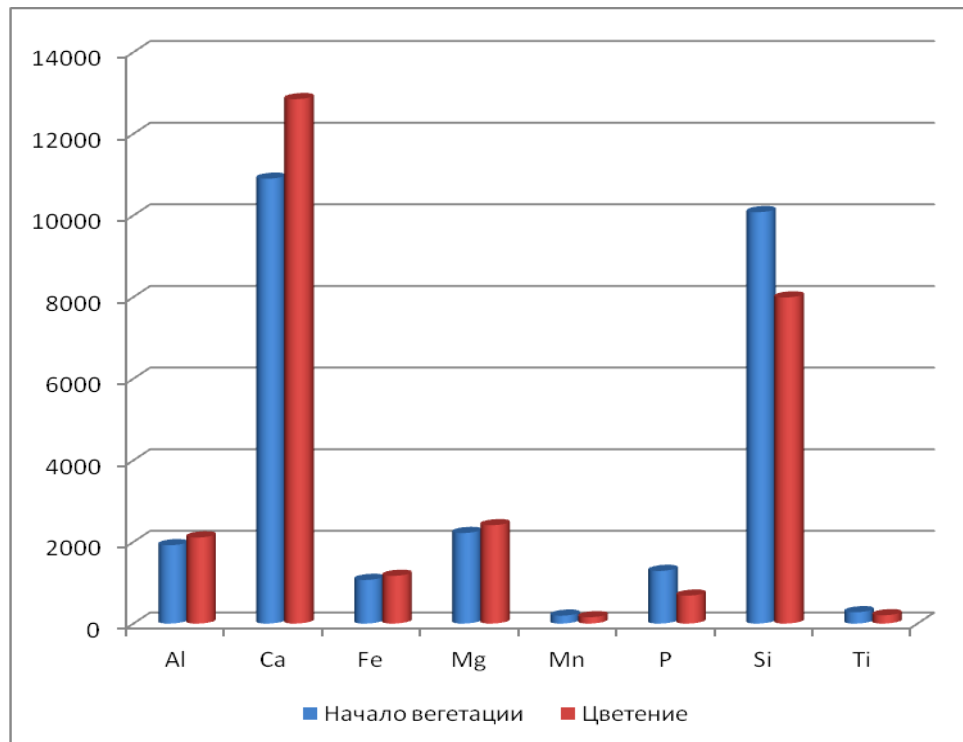


Рисунок 24 – Содержание алюминия, кальция, железа, магния, марганца, фосфора, кремния и титана в надземной части *Silene colporphylla* в фазах начала вегетации и цветения, мкг/г

Таким образом, в ходе работы изучен микроэлементный состав некоторых видов смолевок, и выявлены основные особенности распределения микроэлементов. Среди исследуемых макроэлементов больше всего в надземных частях растений накапливается кальций и магний. Среди видов концентраторов этих элементов оказались *S. borysthena*, *S. pseudotites*, *S. otites* ssp. *hungarica*, *S. colporphylla*, *S. roemerii*. Изучение содержания железа и марганца показало, что эти элементы так же накапливаются смолевками. Содержание марганца при этом коррелирует с уровнем синтезируемых экдистероидов.

При анализе содержания титана и кремния выявлено, что распределение этих элементов среди разных видов имеет одинаковый характер. Проведено сравнение микроэлементного состава для различных фенофаз *S. colporphylla*, позволяющее выявить закономерности распределения элементов в процессе развития растений. Показано, что помимо вышеуказанных элементов в смолевках

найжены: бор, алюминий, барий, ванадий, цирконий и олово. Среди элементов, указанных в литературе как свойственные смолевкам, не обнаружен цинк, а медь — в небольших количествах.

ВЫВОДЫ

1. Виды *Silene colpophylla*, *S. otites* ssp. *hungarica* и *S. otites* успешно интродуцированы в Сибирском ботаническом саду Томского государственного университета.

2. Показано, что наиболее перспективными видами для выращивания в качестве источников экистероидов и флавоноидов являются *Silene roemerii*, *S. sendtneri* и новый продуцент *S. colpophylla*. При культивировании этих видов в условиях юга Западной Сибири способность к синтезу экистероидов сохраняется в течение ряда поколений.

3. Из экстракта *Silene colpophylla* выделены и идентифицированы методами ВЭЖХ, ВЭЖХ/МС и ЯМР 7 экистероидов: 20-гидроксиэкидизон, экидизон, интегристерон А, полиподин В, 2-дезоксизэкидизон, 2-дезоксиз-20-гидроксиэкидизон, 2-ацетат-20-гидроксиэкидизона. Выделенные из надземной части флавоноиды *S. colpophylla* являются С-гликозилированными флавонами с апигениновой структурой.

4. Исследование экистероидного состава 8 видов и одного подвида *Silene* секции *Otites* показало, что данные виды имеют сходный состав экистероидов: 20-гидроксиэкидизон, экидизон, 2-дезоксизэкидизон, 2-дезоксиз-20-гидроксиэкидизон и флавоноидов, структуры которых на данный момент не установлены.

5. Исследование химического состава типового вида секции *Silene otites* и подвида *S. otites* ssp. *hungarica* выявило ряд характерных видоспецифических экистероидов.

6. Установлено, что максимальное накопление экистероидов с учетом биомассы наблюдается в фазу бутонизации, исключение составляет *Silene otites* ssp. *hungarica*. Разработаны рекомендации по сбору растительного сырья видов секции *Otites*.

7. Показано, что исследуемые виды *Silene* среди макроэлементов накапливают преимущественно магний и кальций. Концентраторами этих элементов являются: *Silene borysthena*, *S. pseudotites*, *S. otites* ssp. *hungarica*,

S. colpophylla, *S. roemerii*. Наибольшее содержание титана и кремния обнаруживается в *S. borysthenica*, *S. roemerii*, *S. colpophylla* и *S. pseudotites*. Установлено, что все исследуемые виды накапливают марганец в надземной части, а сверхконцентраторы экдистероидов (*S. pseudotites*, *S. roemerii*, *S. sendtneri* и *S. colpophylla*) характеризуются максимальным содержанием этого микроэлемента.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АСN – ацетонитрил

20E – 20-гидроксиэкдизон

R_f – фактор удерживания вещества

W – вода

БАВ – биологически активные вещества

ВЭЖХ – Высокоэффективная жидкостная хроматография

ВЭЖХ/МС – хромато-масс-спектрометрия

ДМСО – диметилсульфоксид

ДХМ – дихлорметан

ИПС – изопропиловый спирт

ОФ/НФ – обращено-фазовая/нормально-фазовая хроматография

СБС – Сибирский ботанический сад

ТГУ – Томский государственный университет

ТСХ – тонкослойная хроматография

ТФУ – трифторуксусная кислота

ЦГ – циклогексан

Э/д – экдистероид

ЯМР – ядерно-магнитный резонанс

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Биологический энциклопедический словарь / под ред. М. С. Гилярова. – М.: Сов. Энциклопедия, 1986. – С.68.
2. IUCN Red List of Threatened Species: Summary Statistics // International Union for Conservation of Nature and Natural Resources. – 2010. – No 1.
3. Долгачева В. С. Ботаника : учебное пособие / В. С. Долгачева, Е. М. Алексахина. – М. : Academia, 2003. – 416 с.
4. Федоров Ал. А. Хемосистематика, ее проблемы и практическое значение / Ал. А. Федоров, М. Г. Пименов // Раст. Ресурсы.– 1967. – Т. 3, вып. 1. – С. 3-15.
5. Сорокопудова О. А. Хемосистематика: основные положения и особенности / О. А. Сорокопудова, В. И. Дейнека, В. Н. Сорокопудов // Научные ведомости. – 2006. – №3(23), вып. 4. – С. 75-83.
6. Племенков В. В. Введение в химию природных соединений / В. В. Племенков. – Казань, 2001. – 376 с.
7. Wink M. Evolution of secondary metabolites from an ecological and molecular phylogenetic perspective / M. Wink // Phytochemistry. – 2003. – № 64(1). – P. 3-19.
8. Колесникова Р. Д. Эфирные масла хвойных растений России: дис. ... докт. биол. наук: 03.00.32 / Колесникова Римма Дмитриевна. – Хабаровск, 1998. – 474 с.
9. Ткаченко К. Г. Эфирные масла плодов *Heracleum Ponticum* (Lipsky) Schischk. / К. Г. Ткаченко // Научные ведомости. – 2010. – №3. – С. 23-27.
10. Лященко Н. И. Хемосистематика хмеля по составу эфирных масел и горьких веществ / Н. И. Лященко, М. А. Кулинич // Хмелеводство. – 1986. – Вып. 8.– С. 9-13.

11. Шадрин Д. М. Закономерности распространения сапонинов и экдистероидов в растениях: хемотаксономический и молекулярно-генетические подходы / Д. М. Шадрин, Я. И. Пылина, А. В. Родионов, С. О. Володина, К. Г. Ткаченко, В. В. Володин // Известия Самарского НЦ РАН. – 2010. – Т. 12 – №1(3). – С. 857-862.
12. Высочина Г. И. Фенольные соединения в систематике и филогении семейства гречишных / Г. И. Высочина. – Нск : Наука, 2004. – 240 с.
13. Высочина Г. И. О таксоноспецифичности флавоноидного состава в роде *Salix* L. / Г. И. Высочина, Т. Н. Встовская // Сибирский экологический журнал. – 1999. – №3. – С. 245-250.
14. Дармограй В. Н. Фармакогностическое изучение некоторых видов семейства гвоздичных и перспективы использования их в медицинской практике: дис. в виде доклада ... д-ра фармац. наук: 15.00.02 – Рязань, 1996. – 92 с.
15. Зибарева Л. Н. Фитоэкдистероиды семейства Гвоздичные (*Caryophyllaceae*): дис. ... докт. химич. наук: 02.00.10 / Зибарева Лариса Николаевна. – Томск, 2003. – 247 с.
16. Zibareva L. The Phytoecdysteroid Profiles of 7 Species of *Silene* (*Caryophyllaceae*) / L. Zibareva, V. I. Yeriomina, N. Munkhjargal, J.-P. Girault, L. Dinan, R. Lafont // Archives of insect biochemistry and physiology. – 2009. – Vol. 72(4). – P. 234-248.
17. Володин В. В. Молекулярная филогения и хемотаксономия экдистероидсодержащих растений семейств *Caryophyllaceae* Juss. и *Asteraceae* Dumort. / В. В. Володин, Д. М. Шадрин, Я. И. Пылина, Ю. И. Друзь, С. О. Володина, И. Ф. Чадин, Л. Дайнан // Вестник биотехнологии. – 2013. – Т. 9. – № 1. – С. 21-27.
18. Oxelman B. A Revised generic classification of the tribe *Sileneae* (*Caryophyllaceae*) / B. Oxelman, M. Liden, R. K. Rabeler, M. Popp // Nordic Journal of Botany. – 2000. – Vol. 20. – P. 743-748.

19. Ali Z. Two new C-glycosylflavones from *Silene conoidea* / Z. Ali, M. S. Ali, F. Iqbal, M. Zahid, N. Alam // Nat. Prod. Lett. 1999. – № 13(2) – P. 121-129.
20. Butenandand A. Über die isolierung eines metamorphose – hormone der insect in kristallisierter / A. Butenandand, P. Karlson // Z. Naturforschung. – 1954. – № 6. – P. 389-391.
21. Huber R. Die Kristal –und Molekul strukturanalyse des Insekt-enverpuppungs hormons Ecdyson mit der automatisierten Falmolekulmethode / R. Huber, Hoppe W. // Chem. Ber. – 1965. – Vol. 98. – P. 2403-2424.
22. Goodwin T.W. Ecdysteroids. A genetic term. / T.W. Goodwin, D.H.S. Horn, P. Karlson // Nature. – 1978. – Vol. 272. – P. 122.
23. Galbraith M. N. An insect-moulting hormone from a plant / M. N. Galbraith, D. H. S. Horn // Journal of the Chemical Society. – 1966. – P. 905-906.
24. Takemoto T. Isolation of moulting hyormones of insects from *Achyranthis radix* / T. Takemoto, S. Ogawa, N. Nishimoto // Yakugaku Zasshi. – 1967. – Vol. 87. – P. 325-327.
25. Jizba J. Isolation of ecdysterone from *Polypodium vulgare* L. / J. Jizba, V. Herout, F. Sorm // Tetrahedron. – 1967. – Vol. 18. – P. 1689-1691.
26. Hoffmeister H. Über das Vorkommen von Ecdysterone / H. Hoffmeister, G. Heinrich, G.B. Staal, W.J. Burg // Experientia. – 1967. – Vol. 54. – P. 471.
27. Ахрем А. А. Экдистероиды: химия и биологическая активность / А.А. Ахрем, Н.В. Ковганко.– Минск : Наука и техника, 1989. – 327с.
28. Ecdybase. The Ecdysone Handbook [Электронный ресурс] [URL:http://ecdybase.org/](http://ecdybase.org/) (Дата обращения: 05.07.2014)
29. Володин В. В. Фитоэкдистероиды / В. В. Володин– СПб. : Наука, 2003. –296 с.
30. Bathori M. Complex phytoecdysteroid cocktail of *Silene otites* (*Caryophyllaceae*) / M. Bathori, J.–P. Girault, H. Kalasz, I. Mathe, L.N. Dinan, R. Lafont // Archives of Insect Biochemistry and Physiology. – 1999. – Vol. 41. – P. 1-8.
31. Bathori, M. The ecdysteroids of *Silene otites* (L.) Wib. / M. Bathori, K. Szendrei, J. Herke // Herba Hungarica. – 1986. – Vol. 5(25). – P. 105-107.

32. Щеникова А. В. Влияние биологически активных веществ из *Silene sussamyrica* Lazkov (Caryophyllaceae) на развитие калифорнийского трипса *Frankliniella occidentalis* Perg. (Thysanoptera: Tripidae) / А. В. Щеникова, Т. Д. Черменская, А. Ш. Чакаева // Биотехнология. – 2011. – № 4. – С. 57-54.
33. Итоги науки и техники. Серия Биологическая химия. Гормональная регуляция обмена веществ у насекомых. – М., 1985. – Т. 21. – 226 с.
34. Журавская С. А. Влияние экдизонов на вредителей хлопчатника / С. А. Журавская, И. Л. Новосельская, М. Б. Горовиц, Н. К. Абубакиров // Защита растений. – 1977– № 6. – С. 23.
35. Москалев А. А. Влияние экдизон–содержащих препаратов растительного происхождения на продолжительность жизни линий *Drosophila melanogaster* в зависимости от генотипа / А. А. Москалев, М. В. Шапошников, В. Г. Зайнулин, В. В. Пунегов // Успехи геронтологии. – 2006. – Вып. 19. – С. 33-35.
36. Уфимцев К. Г. Действие экдистероидов растения *Serratula coronate* L. На развитие и поведение личинок некоторых видов насекомых –фитофагов: дис. ... канд. биол. наук: 03.00.16 / Уфимцев Кирилл Геннадьевич. – Сыктывкар, 2004. – 185 с.
37. Сыров В. Н. Об анаболической активности фитоэкдизона экдистерона, выделенного из *Rhapontikum cartamoides* (Willd.) Iljin. / В.Н. Сыров, А. Г. Курмуков // Фармакология и токсикология. – 1976. – №6 – Р. 690-693.
38. Айзиков М. И. Физиологическая активность и корреляция изменения белкового, углеводного и жирового обмена под влиянием экдистерона и неробола / М. И. Айзиков, В. Н. Сыров, А. Г. Курмуков // Фармакология природных веществ. – 1978. – С. 107-125.
39. Сыров В. Н. Влияние туркестерона и неробола на активность белоксинтезирующей системы печени мышей / В. Н. Сыров, А. Г. Курмуков., А. Д. Сахибов // Вопросы медицинской химии. – 1978. – Т.24. – №4. – С. 456-460.

40. Oqui S. Stimulation of protein synthesis in mouse liver by insect-moulting steroids / S. Oqui, T. Otaka, M. Uchiyama / Chem. Pharm. Bull. – 1968. – Vol.16(2). – P. 384-387.
41. Чермных Н. С. Действие метандростенолона и экдистерона на физическую выносливость животных и обмен белков в скелетных мышцах / Н. С. Чермных, Н. Л. Шимановский, Г. В. Шутко, Н. В. Сыров // Фармакология и токсикология. – 1988. – №6. – С. 57-60.
42. Карилхан И. Изучение анаболической активности экстракта из *Serratula coronate* (Asteraceae) в экспериментах in vitro и in vivo / И. Карилхан, Д. Д. Кусаинова, С. С. Альжанов, А. М. Медиянова, А. Г. Бердин, С. М. Адекенов // Раст. ресурсы. – 2005. – Вып. 4. – С. 105-110.
43. Ташмухамедова М. А. Огипогликемические свойства циастерона / М. А. Ташмухамедова, М. Х. Абзалова, В. Н. Сыров, М. Б. Султанов // Докл. АН УзбССР. – 1983. – №2. – С. 33-34.
44. Ташмухамедова М. А. Влияние фитоэкдистероидов и стеронаболов на дыхание и окислительное фосфорилирование митохондрий печени крыс при аллоксановом диабете / М. А. Ташмухамедова, К. Т. Алматов, В. Н. Сыров // Биологические науки. – 1985. – №9. – С. 37-39.
45. Сыров В. Н. Влияние фитоэкдистероида на течение токсического гепатита у крыс, вызванного гелиотрином / В. Н. Сыров, Е. В. Мельникова, М. Б. Султанов // Докл. АН УзбССР. – 1981. – №5. – С. 36-38.
46. Сыров В. Н. Действие фитоэкдистероидов на желчеотделительную функцию печени в норме и при экспериментальном гепатите / В. Н. Сыров, А. Н. Набиев, М. Б. Султанов // Фармакология и токсикология. – 1986. – №3. – С. 100-102.
47. Володин В. В. 20-гидроксиэкдизон – растительный адаптоген: анаболическое действие, возможное использование в спортивном питании [Электронный ресурс] / В. В. Володин // Вопросы питания. – 2013. – №6. – Режим доступа:

http://vp.geotar.ru/ru/jarticles_diet/233.html?SSr=400133524b177f85bea727c_7f859a1f8. (Дата обращения 05.05.2014)

48. Шахмурова Г. А. Иммуномоделирующая и стресс-протективная активность фитоэкдистероидов: экдистерона и туркестерона при иммобилизационном стрессе у мышей / Г. А. Шахмурова, В. Н. Сыров, З. А. Хушбакова // Химико-фармацевтический журнал. – 2010. – Т. 44, № 1. – С. 9-11.

49. Сыров В. Н. Сравнительное изучение анаболической активности фитоэкдистероидов и стеранаболов в эксперименте / В. Н. Сыров // Химико-фармацевтический журнал. – 2000. – Т.34. – № 4. – С. 31-34.

50. Тодоров И. Н. Влияние экдистероидов на биосинтез белков и нуклеиновых кислот в органах мышей / И. Н. Тодоров, Ю. И. Митрохин, О. И. Ефремова, Л. И. Сидоренко // Химико-фармацевтический журнал. – 2000. – Том34. – №9. – С. 3-6.

51. Шахмурова Г. А. Влияние суммарного экдистероидного препарата из *Silene viridiflora* на иммунный статус экспериментальных животных в норме и при вторичных иммунодефицитных состояниях / Г. А. Шахмурова, Н. З. Мамадалиева, А. А. Жанибеков, З. А. Хушбакова, В. Н. Сыров // Химико-фармацевтический журнал. – 2012. – Т. 46. – № 4. – С. 26-28.

52. Lafont R. Practical uses for ecdysteroids in mammals including humans: an update / R. Lafont, L. Dinan // J. Insect Sci. – 2003. – №3. – P.1-7.

53. Дармограй В. Н., Серова Т. Г. Фитохимическое изучение растений рода *Oberna* Adans. семейства *Caryophyllaceae* Juss. // Современные наукоемкие технологии. – 2004. – №5. – С. 111-111.

54. Плотников М. Б. Гемореологическая активность экдистерона и различных фракций экстракта из надземной части *Lychnis chalcidonica* L. *in vitro* / М. Б. Плотников, Л. Н. Зибарева, А. С. Васильев, О. И. Алиев, М. Ю. Маслов, С. Е. Дмитрук // Раст. ресурсы. – 2000. – Т.36, вып. 3. – С. 91-94.

55. Шилова Н. В. Скрининговая оценка противоопухолевых свойств некоторых видов семейства Гвоздичных / Н. В. Шилова, Л. Н. Зибарева, Е. П. Зуева // Материалы международной науч. конф. «Поиск, разработка и внедрение

новых лекарственных средств и организационных форм фармацевтической деятельности». – Томск, 2000. – С. 201-202.

56. Пат. 1510146, МКИ А 61 К 35/78. Способ получения средства, обладающего противогрибковым действием / Л. Н. Зибарева, С. Е. Дмитрук, Е. Н. Сальникова. – № 4838137/14; заявлено 07.05.90; опубликовано 1. 03.93, Бюл. № 30. Приоритет 07.05.90.

57. Савченко Р. Г. Трансформации диацетона ω-ангидро-20-гидроксиэкдизона в 7,8α-дигидропонастерон А и его ацетониды / Р. Г. Савченко, Я. Р. Уразаева, С. Р. Афонькина, И. С. Бушмаринов, Л. М. Халилов, В. Н. Одинокоев // Журнал органической химии. – 2011. – Т.47, вып. 7. – С. 1078-1080.

58. . Васькина Н. А. Синтез экдистероидов с мигрировавшей группой H_3C^{18} / Н. А. Васькина, В. Н. Одинокоев // Журнал органической химии. – 2011. – Т.47, вып. 5. – С. 756-759.

59. Ибрагимов А. Ш. Д8(14)-14β-Дезокси- и 14β-дезокси-14β-гидропероксиэкдистероиды / А. Ш. Ибрагимов, Н. А. Васькина, И. В. Галляутдинов, В. Н. Одинокоев // Журнал органической химии. – 2010. – Т.46, вып. 11. – С. 1725-1729.

60. Уразаева Я. Р. Синтез аналогов экдистероидов и брассиностероидов на основе трансформаций 20-гидроксиэкдизона: дис. ... канд. химич. наук: 02.00.03 / Уразаева Яна Рустэмовна. – Уфа, 2011. – 101 с.

61. Савченко Р. Г. Конъюгаты 20-гидроксиэкдизона, сфхистерона В, и их 20,22-ацетонидов с (6-бензилокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-ил)ацетальдегидом / Р. Г. Савченко, Я. Р. Уразаева, А. Ю. Спивак, В. Н. Одинокоев // Журнал органической химии. – 2010. – Т.46, вып. 8. – С. 1158-1161.

62. Володин С. О. Влияние светового режима на состав экдистероидов в дикорастущих и культивируемых растениях *Serratula quinquefolia* (Asteraceae) / С. О. Володин, В. В. Володин, И. Ф. Чадин, С. Бачаров, Я. И. Пылина, И. Н. Алексеев, И. В. Груздев, С. Ф. Джумызко, Л. И. Бутенко // Раст. ресурсы. – 2011, вып. 1. – С. 87-98.

63. Зибарева Л. Н. Распределение фитостероидов в трибе *Sileneae* Dumort. сем. *Caryophyllaceae* / Л. Н. Зибарева, В. И. Еремина, Н. А. Иванова, Г. А. Лазьков // Растительные ресурсы. – 2003. – № 39. – С. 45-54.
64. Тараковский Ю. С. Флавоноиды: биохимия, биофизика, медицина. / Ю. С. Тараковский, Ю. А. Ким, Б. С. Абдрасилов, Е. Н. Музафаров. – Пушино, 2013. – 310 с.
65. Van Brederode J. Morphological effect of the flavone isovitexin in non-glycosylating genotype of *Silene pratensis* / J. Van Brederode, H. H. Van Genderen, W. Berendsen // *Experientia*. – 1982. – Vol.38. – P. 929-931.
66. Березов Т. Т. Биологическая химия / Т. Т. Березов, Б. Ф. Коровкин. – М. : Медицина, 1998. – 704 с.
67. Буланова А. В. Хроматография в медицине и биологии / А. В. Буланова, Ю. Л. Полякова. – Самара, 2006. – 116 с.
68. Veronika R. Meyer Practical High – Performance Liquid Chromatography / R. Meyer Veronika. – 2004. – 357 p.
69. Michael W. Dong modern HPLC for practicing scientists / Michael W. – 2006. – 286 p.
70. Toth N. Preparative – Scale Chromatography of Ecdysteroids: A Class of Biologically Active Steroids / N. Toth, M. Bathori // *Journal of chromatographic*. – 2008. – Vol. 46. – P. 111-116.
71. Ho R. Isolation of a New Class of Ecdysteroid Conjugates (Glucosyl-Ferulates) Using a Combination of Liquid Chromatographic Methods / R. Ho, J.-P. Girault, P.-Y. Cousteau, J.-P. Bianchini, P. Raharivelomanana, R. Lafont // *Journal of Chromatographic Science*. – 2008. – Vol. 46. – P. 102-110.
72. Bathori M. Separation Methods for Phytoecdysteroids / M. Bathori., H. Kalasz // *LCGC Europe*. – 2001. – October. – P. 2-7.
73. Maria A. Ecdysteroid Glycosides: Identification, Chromatographic Properties, and Biological Significance / A. Maria, J.-P. Girault, Z. Saatov, J. Harmatha, L. Harmatha, L. Dinan, R. Lafont // *Journal of Chromatographic Science*. – 2005. – Vol. 43. – P. 149-157.

74. Hunyadi A. Preparative-Scale chromatography of Ecdysteroids of *Serratula wolffii* Andrae / A. Hunyadi, A. Gergely, A. Simon, G.Toth, G. Veress, M. Bathori // Journal of Chromatographic Science. – 2007. – Vol. 45. – P. 76-86.
75. Филипова В. Н. Экдистероиды в культурах клеток *Serratula coronate* и *Auga reptans* / В. Н. Филипова, С. О. Володина, И. Н. Смоленская, С. Э. Зориняц, В. В. Володин // Химия растительного сырья. – 2002. – №1. – С. 57-62.
76. Тимофеев Н. П. Рост и накопление экдистероидов в надземных органах *Rhaponticum carthamoides* (Willd.) Ljin. в зависимости от условий внешней среды / Н. П. Тимофеев // Нетрадиционные природные ресурсы, инновационные технологии и продукты. Сб.трудов. М. : РАЕН, 2002. – Вып.6. – С.94-107.
77. Пугенов В. В. Метод внутреннего стандарта для определения экдистероидов в растительном сырье и лекарственных формах с помощью ВЭЖХ / В. В. Пугенов, Савиновская Н. С. // Растительные ресурсы, 2001. – Т. 37, вып.1. – С.97-102.
78. Leite de Moraes S. Rapid Screening and Identification of Polar constituents from Brazilian *Arnica Lychnophora* sp. By LC–UV/ DAD–ESI–MS and LC–UV/ DAD–ESI–MS/ MS / S. Leite de Moraes, L.E. Gregorio, J.C. Tomaz, N.P. Lopes // Anflysis Chromatographia. – 2009. – Vol. 69. – P. 157-165.
79. Qiao X. Qualitative and Quantitative Analyses of Flavonoids in *Spirodela polyrrhiza* by HPLC Coupled with Mass Spectrometry / X. Qiao, W. He, C. Xiang, J. Han, L. Wu, D. Guo, M. Ye // Phytochemical Analysis. – 2011. – Vol. 22. – P. 475-483.
80. Bilia A. R. Characterization of Calendula Flower, Milk–Thistle Fruit, and Passion Flower Tinctures by HPLC–DAD and HPLC–MS / A. R. Bilia, D. Salvini, G. Mazzi, F. F. Vincieri // Chromatographia. – 2001. – Vol. 53. – P. 210-215.
81. Stalmach A. Bioavailability of C–Linked Dihydrochalcone and Flavanone Glucosides in Human Following Ingestion of Unfermented and Fermented Rooibos Teas / A. Stalmach, W. Mullen, M. Pecorari, M. Serafini, A. Crozier // Journal of Agricultural and Food Chemistry. – 2009. – Vol. 57. – P. 7104-7111.

82. Engelhardt U. H. Determination of flavone C-glycosides in tea / U. H. Engelhardt, A. Finger, S. Kuhr // *Zeitschrift fur Lebensmittel-Untersuchung und-Forschung*. – 1993. – Vol. 197. – P. 239-244.
83. Iwashina T. Flavonoid Variation and Evolution in *Asplenium normale* and Related Species (Aspleniaceae) / T. Iwashina, S. Matsumoto // *Journal of Plant Research*. – 1994. – Vol. 107. – P. 275-282.
84. Веретенников А. В. Физиология растений / А.В. Веретенников – М. : Академический проект, 2006. – 480с.
85. Кузнецов В. В. Физиология растений / В. В. Кузнецов., Г. А. Дмитриева.– М. : Высшая школа, 2005. – 736 с.
86. Таргевский И. А. Сигнальные системы клеток растений / И.А. Таргевский.– М. : Наука, 2002. – 294 с.
87. Демидчик В. В. Поступление меди в растения и распределение в клетках, тканях органах / В. В. Демидчик, А. И. Соколик, В. М. Юрин // *Успехи современной биологии*. – 2001. – №2. – С. 190-197.
88. Пухальская Н. В. Проблемные вопросы алюминиевой токсичности / Н. В. Пухальская // *Агрохимия*. – 2005. – №8. – С. 70-80.
89. Kochian L.V. The physiology, genetics and molecular biology of plant aluminium resistans and toxy / L. V. Kochian, M. A. Picerov, O. A. Hockenga // *Plant and soil*. – 2005. – Vol. 274. – P. 175-195.
90. Смирнов А. Е. Роль корневых экссудатов в адаптивных реакциях гречихи обыкновенной в условиях алюминиевого стресса / А. Е. Смирнов, О. И. Косых, Н. Ю. Таран // *J. Of stress physiology and biochemistry*. – 2014. – Vol. 10(1) – С. 195-202.
91. Демидчик В. В. Токсичность избытка меди и толерантность к нему растений / В. В. Демидчик, А. И. Соколик, В. М. Юрин // *Успехи современной биологии*. –2001. – №5. – С. 511-524.
92. Кудрявцева Е. А. Влияние различных форм железа на прорастание семян *Triticum Aestivum* L. / Е. А. Кудрявцева, Л. В. Анилова, С. Н. Кузьмин,

М. В. Шарыгина // Вестник Оренбургского государственного университета. – 2013. – №6. – С. 46-48.

93. Дорофеева О. С. Влияние бора на физиолого–биохимические показатели семян сосны обыкновенной: дис. ... канд. биол. наук: 09.00.12 / Дорофеева Ольга Сергеевна. – Петрозаводск, 2009. – 143 с.

94. Маевский А. Н. Окислительное фосфорилирование у гороха в условиях борного голодания / А. Н. Маевский, Х. А. Алексеева // Физиология растений. – 2000. – Т. 13. – С. 1054-1059.

95. Медведев С. С. Физиология растений / С. С. Медведев. – Изд-во С.-Петербург. гос. ун-та, 2004. – 334 с.

96. Фармакогнозия [Электронный ресурс]. – URL:<http://www.pharmacognosy.com.ua/index.php/makro-i-mikro-chudesabarij-mag-dlya-gladdikh-myshts/barij-dlya-rasteniya-komponent-kletochnykh-membran> (Дата обращения 06.07.2014)

97. Гринкевич Н. И. Биологическая роль микроэлементов / Н. И. Гринкевич А. А. Сорокина. – М. : Наука, 1983. – 238 с.

98. Никитина В. С. Содержание фенольных соединений и аминокислот в надземной части *Geranium pratense* и *Geranium sibiricum* / В. С. Никитина, Г. В. Шендель // Растительные ресурсы. – 2008. – Т. 44, вып. 2. – С. 74-81.

99. Щербаков А. В. Влияние дефицита отдельных элементов минерального питания на накопление флавоноидов бобовыми растениями на примере фасоли обыкновенной (*Phaseolus vulgaris* L.) / А. В. Щербаков, С. М. Фаизова, С. П. Иванов, И. Ю. Усманов // Известия Самарского научного центра РАН. – 2012. – Т. 14, №5. – С. 223-228.

100. Касьянова А. Ю. Влияние внесения сульфата кобальта на содержание кумаринов в *Angelica archangelica* L. / А. Ю. Касьянова, Р. М. Баширова, Н. В. Кудашкина // Химия растительного сырья. – 2004. – №1. – С. 41-45.

101. Болдырева Я. А. Влияние элементов минерального питания на рост каллусной ткани и синтез алкалоидов в культуре ткани катарантуса розового / Я. А. Болдырева, Н. А. Величко // Биотехнология. – 2003. – №1. – С. 53-62.

102. Базук Н. Г. Определение корреляционных зависимостей между содержанием алкалоидов и химических элементов с помощью математического моделирования / Н. Г. Базук, М. Я. Ловкова, С. М. Соколова, Ю. В. Тютехин // Доклады Академии наук. – 2001. – Т. 376, №5. – С. 690-693.

103. Фефелова С. Г. Особенности накопления алкалоидов и микроэлементов в чемерицах Восточного Забайкалья в зависимости от эколого – фитоценологических факторов: дис. ... канд. биол. наук: 03.00.16 / Светлана Геннадиевна Фефелова. – Улан-Удэ, 2007. – 111 с.

104. Алексеева Л. И. Влияние ионов марганца на биосинтез экидистероидов в растении и культуре клеток *Ajuga reptans* / Л. И. Алексеева // Растительные ресурсы. – 2006. – Вып 3. – С. 92-100.

105. Мунхжаргал Н. Экидистероид содержащие растения западной Монголии: дис. ... канд. биол. наук: 03.00.05 / Нямжав Мунхжаргал. – Томск, 2009. – 137 с.

106. Пузина Т. И. Физико-биологическое действие селена в связи с адаптацией растений картофеля к гипотермии / Т. И. Пузина, П. С. Прудников // Современная физиология растений: от молекул до экосистем. Симпозиум 4. Стресс, адаптация и выживание растений. – 2007. – С. 333-334.

107. Евсеева Н. С. География Томской области (Природные условия и ресурсы) / Н. С. Евсеева. – Томск, 2001. – 223 с.

108. География Томской области / под ред. А. А. Земцева. – Томск, 1991. – 138 с.

109. Кузнецов К. А. Почвы Сибирского ботанического сада / К. А. Кузнецов, Т. П. Славина // Бюллетень Сибирского ботанического сада. – Томск, 1971. Вып. 8. – С. 99-126.

110. On-line botanical database [Электронный ресурс] [URL:http://Tropicos.org](http://Tropicos.org) (Дата обращения 20.08.2014)

111. Открытый атлас сосудистых растений России и сопредельных стран [Электронный ресурс]. [URL:http://Plantarium.ru](http://Plantarium.ru) (Дата обращения: 20.08.2014)

112. Flora Europaea / Eds. Tutin T. G. et al. // Cambridge at the University press, Ed 2. – 1993. – Vol. 1. – P. 191-219.
113. Якубова М. Р. Хроматографический метод определения экидистерона в растительном сырье / М. Р. Якубова, Г. Л. Генкина, Т. Т. Шакиров, Н. К. Абубакиров // Химия природных соединений. – 1978. – №5. – С. 737-740.
114. Тахтаджян А. Л. Систематика магнолиофитов / А. Л. Тахтаджян– Л. : Наука, 1987. – 439 с.
115. Еленевский А. П. Ботаника: систематика высших, или наземных растений / А. П. Еленевский, М. П. Соловьева, В. Н. Тихомиров.– М. : Академия, 2006. – 456 с.
116. Никифоров А. Р. Особенности зимовки реликтового эндемика горного Крыма *Silene jailensis* N. I. Rubtsov в природных условиях и ex situ на Южном берегу Крыма / А. Р. Никифоров // Чорноморський бот. журнал. – 2008. – Т. 4, №1. – С. 33-43
117. Stahov V. Pleistocene- age *Silene stenophylla* seeds excavated in Russia – a scanning microscopic analysis [Электронный ресурс] / V. Stahov // Botany and Plant Biology. – 2007. – URL:
<http://2007.botanyconference.org/engine/search/index.php?func=detail&aid=2131>
 (Дата обращения 20.01.2014)
118. Сенатор С. А. Обзор Гвоздичных (Caryophyllaceae) флоры Самарской Луки / С. А. Сенатор, С. В. Саксонов // Самарская Лука: проблемы региона и глобальной экологии. Самарская Лука. – 2009. –Т. 18, №2. –С. 109-125.
119. Губанов И. А. Иллюстрированный определитель растений Средней России / И. А. Губанов, К. В. Киселева, В. С. Новиков, В. Н.Тихомиров. // Т–во научных изданий КМК, Ин–т технологических исследований. – 2003. – Т. 2. – С. 75.
120. Флора Сибири / под ред. Зуева В. В. – Новосибирск, 1993. – Т. 6. – С. 62-75.
121. Шишкин К. Б. Роды *Silene* L. и *Melandrium* Rohl. / К. Б. Шишкин. // Флора СССР. М.; Л., 1936. – Т. 6. – С. 577–691, 701-726.

122. Цвелев Н. Н. О родах трибы смолевковых (*Caryophyllaceae*) в восточной Европе / Н. Н. Цвелев // Новости систематики высших растений. – 2001. – Т. 33 – С.90-113.
123. Greuter W. *Silene* (*Caryophyllaceae*) in Greece: a subgeneric and sectional classification / W. Greuter // Taxon. – 1995. – Vol. 44. – P. 543-581.
124. Белкин Д. Л. Род *Silene* L. (смолевка) в Алтайской горной стране / Д. Л. Белкин // Turczaninowia. – 2009. – Т.12, № 3–4. – С. 5-16.
125. Флора Восточной Европы / под ред. Н. Н. Цвелева. – Спб : 2004. – Т.ХІ – С. 233-256.
126. Лазьков Г. А. Обзор секции *Holopetalae* рода *Silene* (*Caryophyllaceae*) / Г. А. Лазьков // Ботанический журнал. – 1998. – Т. 83, №5. – С.89-95.
127. Botanical database [Электронный ресурс] [URL:http://IPNI.org](http://IPNI.org) (Дата обращения 20.08.2014)
128. Девятков А. Г. Обзор рода *Otites* Adans. (*Caryophyllaceae*) / А. Г. Девятков // Новости систематики высших растений. –1987. – Т.24. – С. 24-85.
129. Zibareva L. Distribution of phytoecdysteroids in the *Caryophyllaceae* / L. Zibareva, V. Volodin, Z. Saatov, T. Savchenko, P. Whiting, R. Lafont, L. Dinan // Phytochemistry. – 2004. – Vol. 64(2). – P. 499-517.
130. Мунхжаргал Н. Изучение качественного состава и содержания экидистероидов дикорастущей в монголии и интродуцированной в Западную Сибирь *Silene repens* / Н. Мунхжаргал, Л. Н. Зибарева, Р. Лафон, Л. Н. Прибыткова, С. И. Писарева // Химия растительного сырья. – 2003. – № 4. – С. 133-138.
131. Зибарева Л. Н. Новые источники фитоэкидистероидов / Л. Н. Зибарева, А. Л.Эбель, Ю. П. Гашкова // Мат. Международн. совещ. «Физиолого–биохимические аспекты изучения лекарственных растений», посвящ. Памяти В. Г. Минаевой. Нск, 1998. – С. 28.
132. Bathori M. Occurrence of phytoecdysteroids in *Silene* species / M. Bathori, R. Lafont, J.–P. Girault, I. Mathe // J. Toxocology Toxin Reviews. – 1995. –Vol. 14(2). – P. 223.

133. Растительные ресурсы СССР / под ред. Федорова Ал. А. – Ленинград : Наука, 1985. – 460 с.
134. Zibareva L. Distribution and levels of phytoecdysteroids in plants of genus *Silene* during development / L. Zibareva // Archives of insect biochemistry and physiology. – 2000. – Vol. 43. – P. 1-8.
135. Munkhzhargal N. Investigation of Ecdysteroid Content and Composition of *Silene repens* Indigenous to Mongolia and Introduced into Western Siberia / N. Munkhzhargal, L. N. Zibareva, R. Lafont, L. N. Pribytkova and S. I. Pisareva // Russian Journal of Bioorganic Chemistry, 2010. – Vol. 36. – №.7. – P. 923-928.
136. Ревина Т. А. Экдистероидсодержащие виды во флоре Горного Алтая / Т. А. Ревина, А. С. Ревушкин, А. В. Ракитин // Раст. ресурсы. –1988, вып. 4. – С. 565-570.
137. Балтаев У. ВЭЖХ фитоэкдистероидов *Melandrium nutans* / У.Балтаев, Ю. П. Белов, М. Н. Чумаченко, Н. К. Абубакиров // Химия природ. соедин. – 1984. – №3. – С. 322-324.
138. Зибарева Л. Н. Динамика содержания экдистероидов в видах *Silene* / Л. Н. Зибарева, В. И. Еремина // Раст. ресурсы. – 1996. –Т. 32, вып. 1–2. – С. 106-110.
139. Зибарева Л. Н. Фитоэкдистероиды растений семейства Caryophyllaceae / Л.Н. Зибарева. Lambert (Германия), 2012. – 195 с.
140. Селиверстова А. А. Динамика содержания фитоэкдистероидов в новом продуcente *Silene colporphylla* Wrigley / А. А. Селиверстова, Л. Н. Зибарева // Физиология растений и микроорганизмов : сборник материалов Всероссийской научной конференции. – Томск, 2013. – С. 142-143.
141. Маевский П. Ф. Флора средней полосы европейской части России / П.Ф. Маевский– М. : 2006. – 600 с.
142. Wrigley F. Taxonomy and chorology of *Silene* section *Otites* (Caryophyllaceae) / F. Wrigley // Ann. Bot. Fenn. – 1986. – Vol. 23.– P. 69-81.

143. Губанов И. А. Иллюстрированный определитель растений средней полосы России / И. А. Губанов, К. В. Киселева, В. С. Новиков, В. Н. Тихомиров. – М., 2003. – Т. 2. – 583 с.
144. Харборн Дж. Введение в экологическую биохимию / Дж. Харборн– М. : Мир, 1985. – 311 с.
145. Остроумов С. А. Введение в биохимическую экологию / С. А Остроумов.– М. : Изд-во Московского университета. – 1986. – 176 с.
146. Zibareva L. Effect of ultrasonic radiation on the completeness of the phytoecdysteroids extraction / L. Zibareva, O. Volkova, A. Badulina, E. Filonenko // Abstracts of International Conference "Trends in Natural Products Research" Olomouc, Czech Republic (Phytochemical Society of Europe, Palacky University Olomouc), Olomouc. – 2014. – P.129.
147. Зибарева Л. Н. Фитоэкдистероиды семейства Caryophyllaceae / Л. Н Зибарева // Сибирский экологический журнал. – 2009. – № 5. – С. 753-764.
148. Селиверстова А. А. Исследование состава экдистероидов некоторых видов секции *Otites* Otth / А. А Селиверстова, Л. Н. Зибарева, В. И. Еремина // Биоразнообразие, проблемы экологии Горного Алтая и сопредельных регионов: настоящее, прошлое, будущее : материалы III международной конференции. – Горно–Алтайск, 2013. – С. 304-305.
149. Зибарева Л. Н. Изучение химического состава надземной части *Silene colporphylla* Wrigley / Л. Н. Зибарева, А. А.Селиверстова, А. Suksamrarn, С. В. Морозов, Е. И. Черняк // Химия природных соединений. – 2014. – №3. – С. 492.
150. Селиверстова А. А. Фитоэкдистероиды *Silene colporphylla* / А. А. Селиверстова, Л. Н. Зибарева, В. И. Еремина // Новые достижения в химии и химической технологии сырья : материалы VI Всероссийской конференции. – Барнаул, 2012. – С. 276-277.
151. Zibareva L. N. The distribution of phytoecdysteroids in section *Otites* Otth. of genus *Silene*. / L. N. Zibareva, A. A. Seliverstova, A. Suksamrarn, A. Athipornchai, O. Wonganan // Abstracts 4th Annual Russian–Korean Conference Current Issues of Natural Products Chemistry and Biotechnology. – Novosibirsk, 2012. – P. 139.

152. Zibareva L. Phytoecdysteroids of Caryophyllaceae Juss. / L. Zibareva // Contemporary Problems of Ecology. SpringerLink. – 2009. Vol. 2(5). – P. 476-488.
153. Браун Д. Спектроскопия органических веществ / Д. Браун, А. Флорид, М. Сейнзбери. – М. : Мир, 1992. – 300 с.
154. Zibareva L. Phytoecdysteroids from the Aerial Part of *Silene colophylla* / L. Zibareva, A. Seliverstova, A. Suksamrarn, S. Morozov, E. Chernyak // Chemistry of Natural Compounds. – 2014. – Vol. 50(3). – P. 571–572.
155. Саатов З. Экдистероиды растений сем. *Caryophyllaceae*, *Labiatae*, *Compositae*: автореф. дис. ... д-ра биол. наук. – Ташкент, 1993. – 36 с.
156. Meng J. Identification and quantitative analysis of the phytoecdysteroids in *Silene* species (*Caryophyllaceae*) by high performance liquid chromatography. Novel ecdysteroids from *Silene pseudotites* / J. Meng, P. Whiting, L. Zibareva, G. Bertho, J.–P. Girault, R. Lafont, L. Dinan // J. Chromatography. – 2001. –Vol. 935. – P. 309-319.
157. Wang Y.–H. Structural characterization and identification of ecdysteroid from *Sida rhombifolia* L. in positive electrospray ionization by tandem mass spectrometry / Y.–H. Wang, B. Avula, A. N. Jadhav, T. J. Smillie, I. A. Khan // Rapid Commun. Mass. Spectrum. – 2008. – Vol. 22. – P. 2413-2422.
158. Химический анализ лекарственных растений / под. ред. Н.И. Гринкевич, Л.Н. Сафронич. – 1983. –176 с.
159. Cuyckens F. Mass spectrometry in the structural analysis of flavonoids./ F. Cuyckens, M. Claeys // J. Mass Spectrom. – 2004. – Vol. 39. –P. 1-15.
160. Lin Y. Studies on the Chemical Constituents of *Desmodium styracifolium* (Osbeck) Merr. / Y. Lin, L. Kong // Asian Journal of Traditional Medicines. – 2006. – Vol. 1(1). – P. 34-36.
161. Giuseppina N. Chemical composition of hydroethanolic extracts from *Siparuna guianensis*, medicinal plant used as anxiolytics in Amazon region / N. Giuseppina, D. de Santi, T. Ricardo // Rev. bras. farmacogn. – 2012. – Vol. 22(5). – P. 1024-1034.
162. Никитина Л. Н. Физические методы идентификации органических соединений / Л. Н Никитина, В. В. Племенков. – Казань, 2003. – 93с.

163. Лесная энциклопедия. Т.2 / Под ред. Воробьева Г. И. – М.:Сов.Энциклопедия, 1986. – 631 с.
164. Фармакогнозия. Лекарственное сырье растительного и животного происхождения / под. ред. Яковлева Г. П. – Санкт–Петербург: СпецЛит, 2010. – 862 с.
165. Селиверстова А. А. Закономерности распространения экдистероидов в растениях секции *Otites* Otth рода *Silene* L.: хемотаксономический подход / А. А. Селиверстова, Л. Н. Зибарева., В. И. Еремина // Вестник Томского государственного университета. Биология. – 2014. – №3(27). – С. 101-114.
166. Селиверстова А. А., Хемотаксономическое изучение секции *Otites* Otth рода *Silene* L./ А. А. Селиверстова, Л. Н. Зибарева // Интеграция ботанических исследований и образования: традиции и перспективы : труды международной научно–практической конференции, посвященной 125–летию кафедры ботаники. – Томск, 2013. – С. 200-201.
167. Бадулина, А. А. Фитохимическое изучение некоторых представителей секции *Otites* Otth рода *Silene* L. (Caryophyllaceae) [Электронный ресурс] / А. А. Бадулина, Л. Н. Зибарева // Современные проблемы науки и образования. – 2014. – № 5. URL: – <http://www.science–education.ru/>
168. Алексеева Л. И. Динамика содержания экдистероидов у *Ajuga reptans* L. на северной границе ее ареала (Республика Коми) / Л. И. Алексеева, Л. В. Тетерюк, В. В. Володин, Н. А. Колегова // Раст. ресурсы. – 1998. – Вып. 4. – С. 56-62.
169. Ерамов Р. А. Физическая география зарубежной Европы / Р. А. Ерамов.– М. : Мысль. – 1973. – 270 с.
170. Мамадалиева Н. З. Фитоэкдистероиды *Silene linicola* / Н. З. Мамадалиева, Л. Н. Зибарева, З. Саатов // Химия природ. соедин. –2002. – С. 225-227.
171. Волкова О. В. Фитоэкдистероиды *Silene frivaldszkyana* / О. В. Волкова, Л. Н. Зибарева, С. В. Морозов, Е. И. Черняк // Новые достижения в химии и

химической технологии растительного сырья. Материалы Всероссийской конференции с междунар. участием. – Барнаул, 2012. – С. 273.

Приложение А
Виды секции *Otites* (Adans.) Otth рода *Silene* и рода *Otites* Adans.

Таблица А.1

FloraEuropaеа, 1993[112]	Флора Сибири, 1986 [120]	Флора Восточной Европы, 2004 [124]	Лазьков Г.А., 1998 [126]
<i>Silene sibirica</i> (L.) Pers.	<i>S. sibirica</i> (L.) Pers. (<i>Cucubalus sibiricus</i> L.)	<i>O. sibirica</i> (L.) Raf. (<i>S. sibirica</i> (L.) Pers., (<i>S. polaris</i> Kleopow, <i>S. holopetala</i> Lazkov) Вид внесен в секцию <i>Holopetalae</i> (Schischk. ex Chowdhuri) Tzvel.	<i>S. holopetala</i> Ledeb. (<i>S. sibirica</i> (L.) Pers., <i>Cucubalus sibiricus</i> L., <i>S. holopetala</i> auct. non Bunge, включая <i>O.</i> <i>holopetala</i> (Bunge) Tzvel.) Вид внесен в секцию <i>Holopetalae</i> Schischk. ex Chowdhuri
—	—	<i>O. sibirica</i> ssp. <i>kleopovii</i> Tzvel. Вид внесен в секцию <i>Holopetalae</i> (Schischk. ex Chowdhuri) Tzvel. Подвид внесен в секцию <i>Holopetalae</i> (Schischk. ex Chowdhuri) Tzvel.	—
<i>S. roemerii</i> Friv. (<i>Otites roemerii</i> (Friv.) J. Holub) Вид внесен в секцию <i>Otites</i>	—	—	<i>S. roemerii</i> Friv. Вид внесен в секцию <i>Capitellatae</i> (Rohrb.) Schischk.
<i>S. sendtneri</i> Boiss. (<i>O. sendtneri</i> (Boiss.) J. Holub) Вид внесен в секцию <i>Otites</i>	—	—	<i>S. sendtneri</i> Boiss. Вид внесен в секцию <i>Capitellatae</i> (Rohrb.) Schischk.
<i>S. ventricosa</i> Adamović (<i>O. ventricosa</i> (Adamović) J. Holub)	—	—	—

Продолжение таблицы А.1

Flora Europaea, 1993[112]	Флора Сибири, 1986 [120]	Флора Восточной Европы, 2004 [124]	Лазыков Г.А., 1998 [126]
<i>S. borysthenica</i> (Gruner) Walters (<i>O. borysthenica</i> (Gruner) Klokov); <i>S. otites</i> var. <i>borysthenica</i> Gruner; <i>S. parviflora</i> (Ehrh.) Pers.; <i>S. ebrbtiana</i> Soó)	—	<i>O. borysthenica</i> (Gruner) Klokov (<i>S. otites</i> (L.) Wib. var. <i>borysthenica</i> , <i>S. borysthenica</i> (Gruner) Chater et Walters, <i>S. parviflora</i> auct. non Pers., <i>O. parviflora</i> auct. non (Hornem.) Raf.)	<i>S. borysthenica</i> (Gruner) Walters
<i>S. media</i> (Litv.) Kleopow	<i>O. medius</i> (Litv.) Klokov (<i>S. otites</i> . var. <i>media</i> Litv.)	<i>O. media</i> (Litv.) Klokov. (<i>S. otites</i> (L.) Wib. var. <i>media</i> , <i>S. media</i> (Litv.) Kleopow)	—
<i>S. hellmannii</i> Claus (<i>O. graniticola</i> Klokov) (Включает <i>O. krymensis</i> Kleopow)	—	<i>O. hellmannii</i> (Claus) Klokov. (<i>S. hellmannii</i> Claus, <i>O. graniticola</i> Klokov, <i>S. graniticola</i> (Klokov) Šourkova)	—
<i>S. cyri</i> Schischkin in Grossh.	—	<i>O. cyri</i> (Schischk.) Grossh. (<i>S. cyri</i> Schischk.)	—
<i>S. velebitica</i> (Degen)Wrigley (<i>S. otites</i> var. <i>velebitica</i> Degen; <i>O. velebitica</i> (Degen) J. Holub)	—	—	—
<i>S. wolgensis</i> (Hornem.) Otth in DC. (Включает <i>O. orae-syvaschicae</i> Klokov)	<i>O. wolgensis</i> (Hornem.) Grossh. (<i>Viscago wolgensis</i> Hornem., <i>S. wolgensis</i> (Hornem.) Otth)	<i>O. wolgensis</i> (Hornem.) Grossh. (<i>Viscago wolgensis</i> Hornem., <i>Cucubalus wolgensis</i> Willd., <i>S. wolgensis</i> (Hornem.) Otth, <i>S. effuse</i> Otth, <i>S. otites</i> subsp. <i>wolgensis</i> (Hornem.) Schmalh.)	<i>S. wolgensis</i> (Hornem.) Bess. ex Spreng.

Продолжение таблицы А.1

Flora Europaea, 1993[112]	Флора Сибири, 1986 [120]	Флора Восточной Европы, 2004 [124]	Лазыков Г.А., 1998 [126]
<i>S. baschkirorum</i> Janisch. (Включает <i>O. Polaris</i> Kleopow)	<i>O. baschkirorum</i> (Janisch.) Holub	<i>O. baschkirorum</i> (Janisch.) Holub (<i>S. baschkirorum</i> Janisch., <i>S. wolgensis</i> auct. non (Hornem.) Grossh.)	<i>S. baschkirorum</i> Janisch.
<i>S. otites</i> ssp. <i>otites</i> (L.) Wibel	—	<i>O. cuneifolia</i> Raf. (<i>Cucubalus otites</i> L., <i>S. pseudotites</i> non Bess., <i>S. wolgensis</i> non (Hornem.) Otth.)	<i>S. otites</i> (L.) Wibel
<i>S. otites</i> ssp. <i>hungarica</i> Wrigley	—	—	—
<i>S. pseudotites</i> Besser ex Reichenb	—	—	<i>S. pseudotites</i> Besser ex Reichenb
<i>S. donetzica</i> Kleopow (<i>S. sillingeri</i> Hendrych).	—	<i>O. donetzica</i> (Kleopow) Klovkov (<i>S. donetzica</i> Kleopow, <i>S. densiflora</i> auct. non D'Urv.)	—
<i>S. colpophylla</i> Wrigley	—	—	—
<i>S. densiflora</i> D'Urv. (<i>O. dolichocarpa</i> Klovkov)	—	<i>O. densiflora</i> (D'Urv.) Grossh. (<i>S. densiflora</i> D'Urv., <i>S. otites</i> ssp. <i>densiflora</i> (D'Urv.) Aschers.et Graebn.)	<i>S. densiflora</i> D'Urv.
<i>S. exaltata</i> Friv. (<i>O. exaltata</i> (Friv.) J. Holub)	<i>O. exaltatus</i> (Friv.) Holub (<i>S. exaltata</i> Friv.)	—	—
<i>S. chersonensis</i> (Zapal) Kleopow (Включает <i>O. moldavica</i> Klovkov)	—	<i>O. chersonensis</i> (Zapal.) Klovkov (<i>S. densiflora</i> D'Urv. var. <i>chersonensis</i> Zapal., <i>S. densiflora</i> auct. non D'Urv., <i>S. exaltata</i> auct. non Friv., <i>S. media</i> (Litv.) Klovkov, <i>S. exaltata</i> auct. non (Friv.) Holub)	—

Окончание таблицы А.1

Flora Europaea, 1993[112]	Флора Сибири, 1986 [120]	Флора Восточной Европы, 2004 [124]	Лазыков Г.А., 1998 [126]
—	<i>O. polaris</i> (Kleopow) Holub (<i>S. polaris</i> Kleopow)	<i>O. polaris</i> (Kleopow) Holub (<i>S. polaris</i> Kleopow, <i>S. otites</i> subsp. <i>polaris</i> , <i>S. wolgensis</i> auct. non (Hornem.) Grossh.)	
—	—	<i>O. maeotica</i> Klov (<i>S. maeotica</i> (Klov) Czer.)	
—	—	<i>O. orae-syvaschicae</i> Klov (<i>S. orae-syvaschicae</i> (Klov) Czer., <i>O. wolgensis</i> auct. non (Hornem.) Grossh.)	—
—	—	<i>O. moldavica</i> Klov (<i>S. moldavica</i> (Klov.) Šourkova, <i>S. chersonensis</i> (Zapal) Kleopow)	—
—	—	<i>O. krymensis</i> (Kleopow) Klov (<i>S. krymensis</i> Kleopow)	—
—	—	<i>O. eugeniae</i> (Kleopow) Klov (<i>S. eugeniae</i> Kleopow, <i>S. pseudotites</i> non (Bess.) Klov, <i>S. donetzica</i> auct. non Kleopow)	—
—	—	<i>O. dolichocarpa</i> Klov (<i>S. dolichocarpa</i> auct. non D'Urv.)	—
—	—	<i>O. klotovii</i> Tzvel.	—
—	—	<i>O. artemisetorum</i> Klov (<i>S. artemisetorum</i> (Klov) Czer., <i>S. chersonensis</i> (Zapal.)Kleopov ssp. <i>littoralis</i> Kleopow, <i>S. chersonensis</i> (Zapal) Kleopow)	—

Приложение Б

Спектрально-хроматографические характеристики экистероидов *Silene colpophylla*

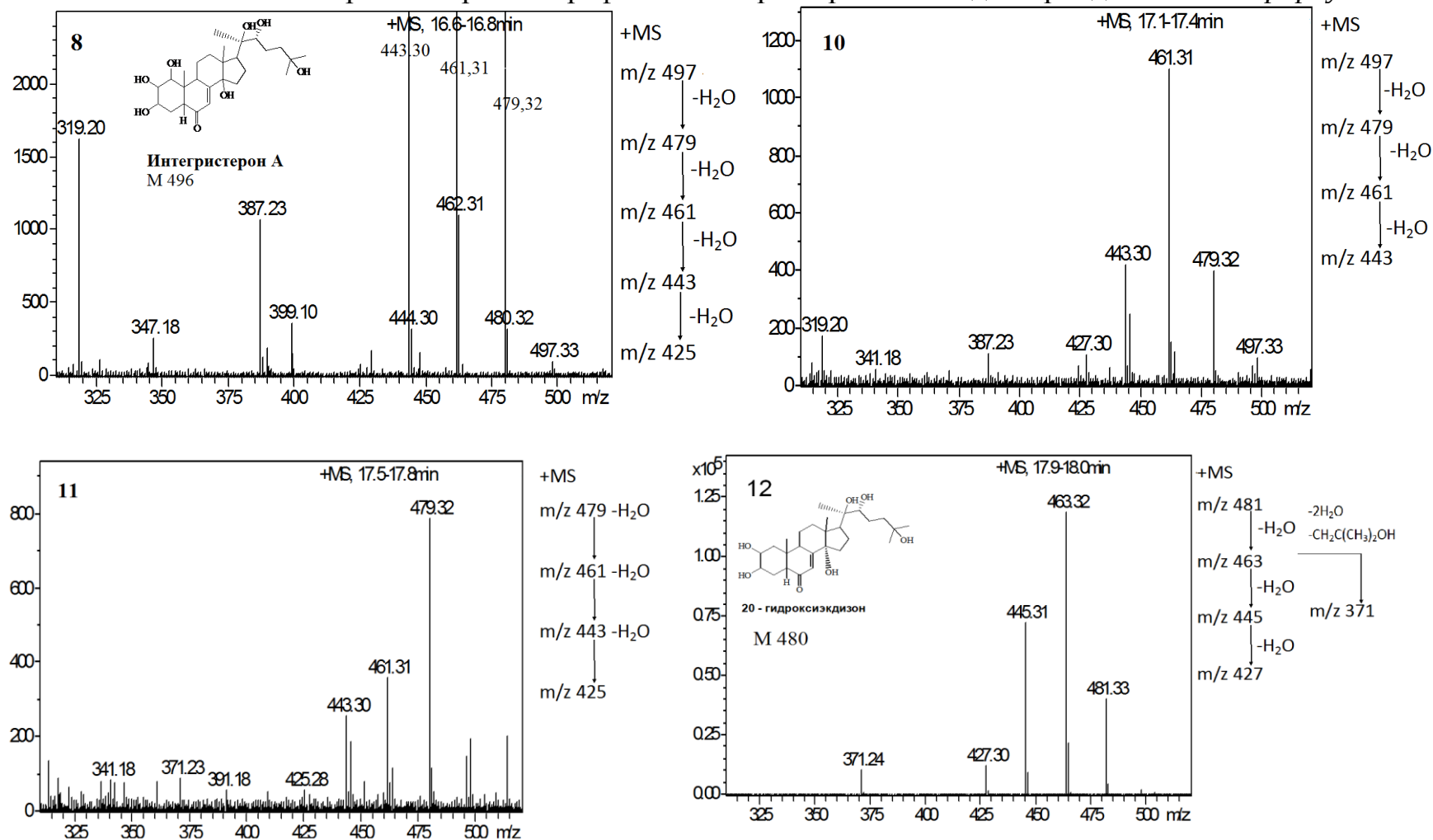


Рисунок Б.1 – Масс-спектры экистероидов, полученные при изучении неполярной части бутанольного экстракта *Silene colpophylla*

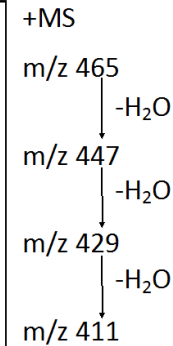
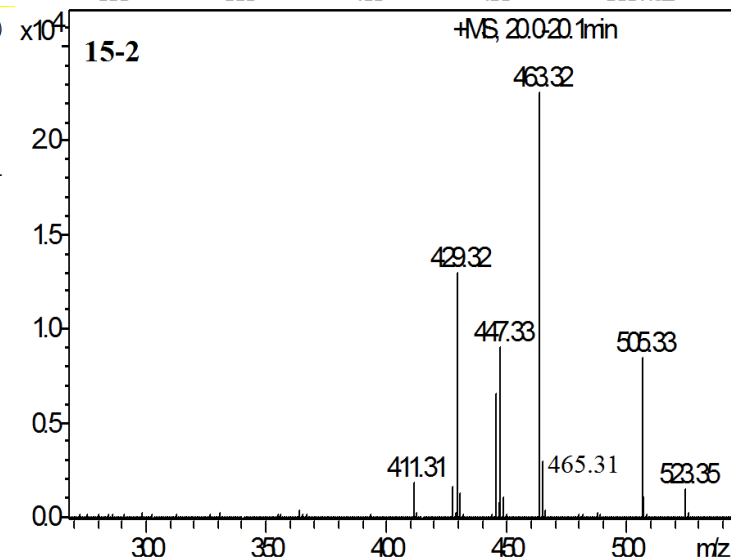
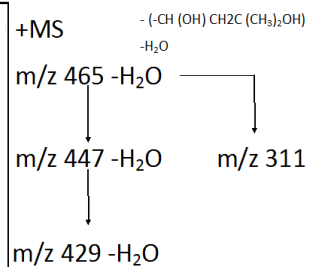
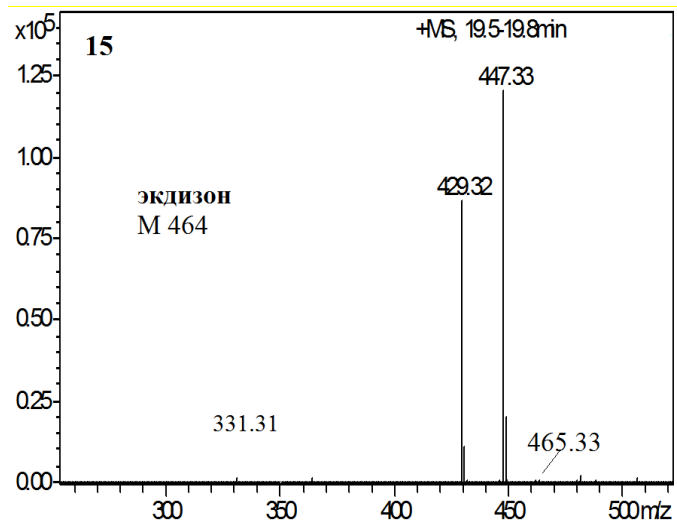
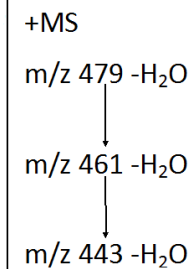
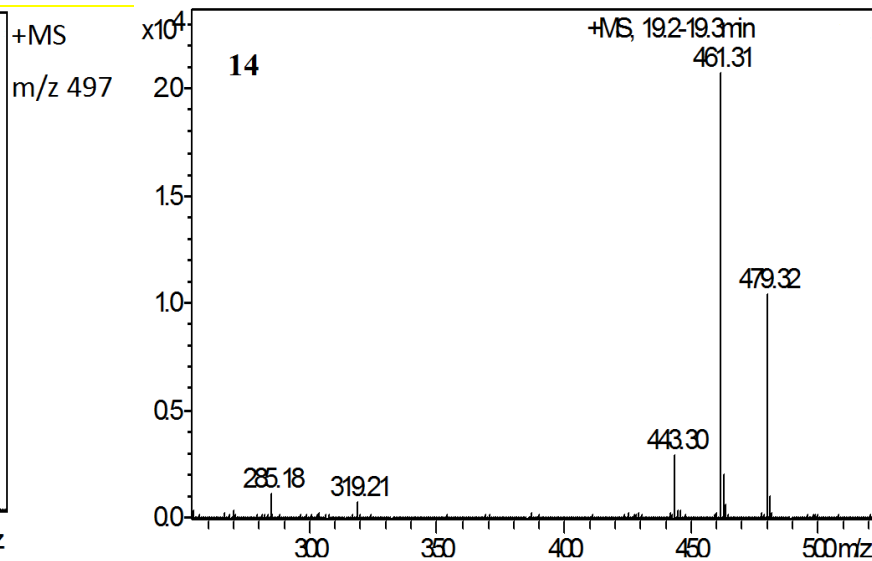
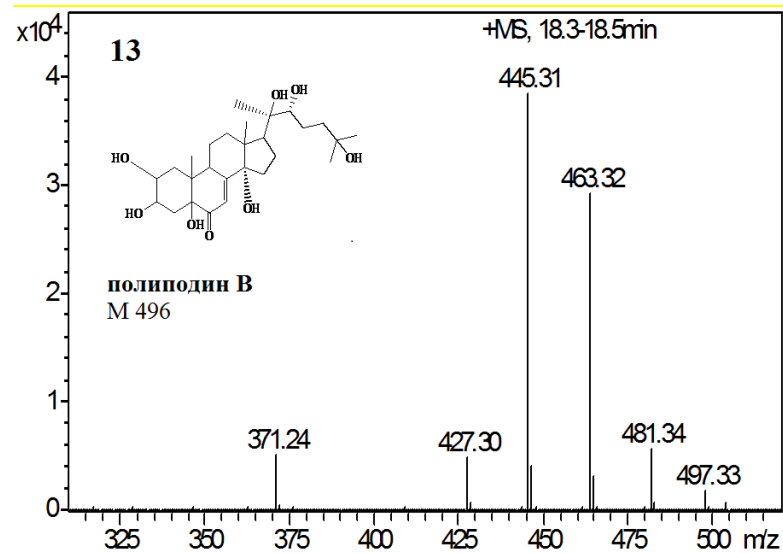


Рисунок Б.1 (Продолжение)

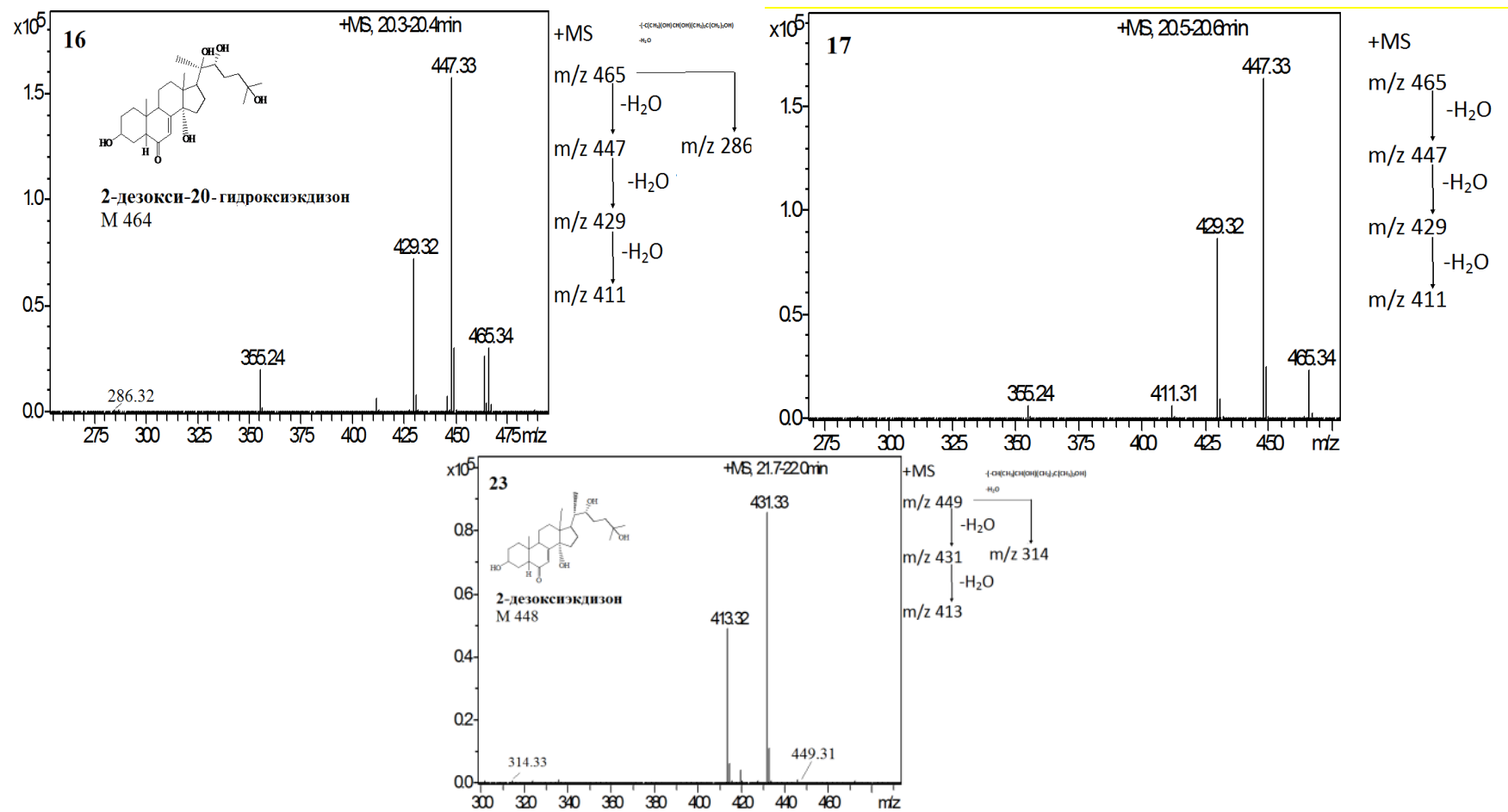


Рисунок Б.1 (Продолжение)

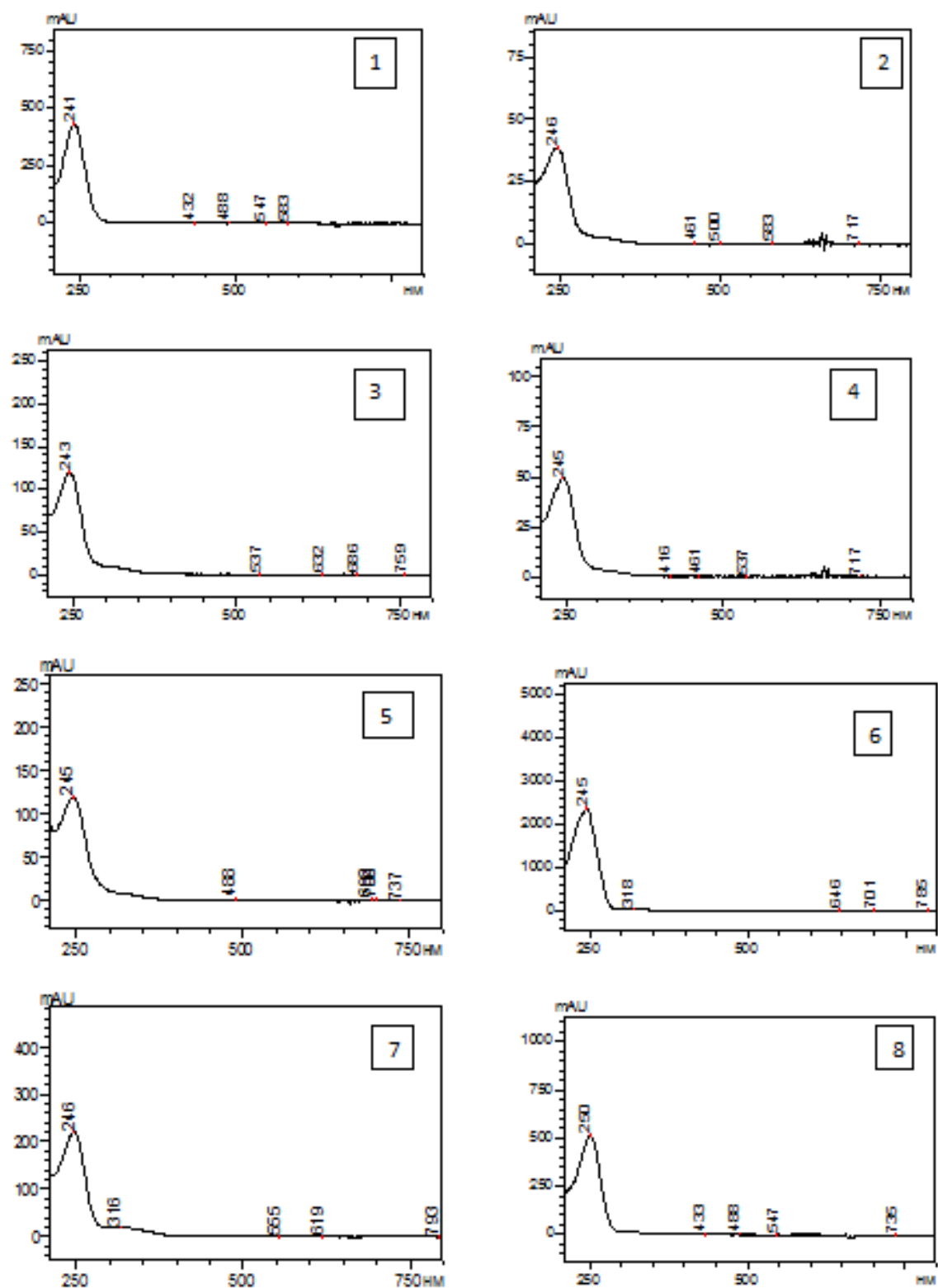


Рисунок Б.2 – УФ-спектры экистероидов, обнаруженные в *Silene colporphylla*

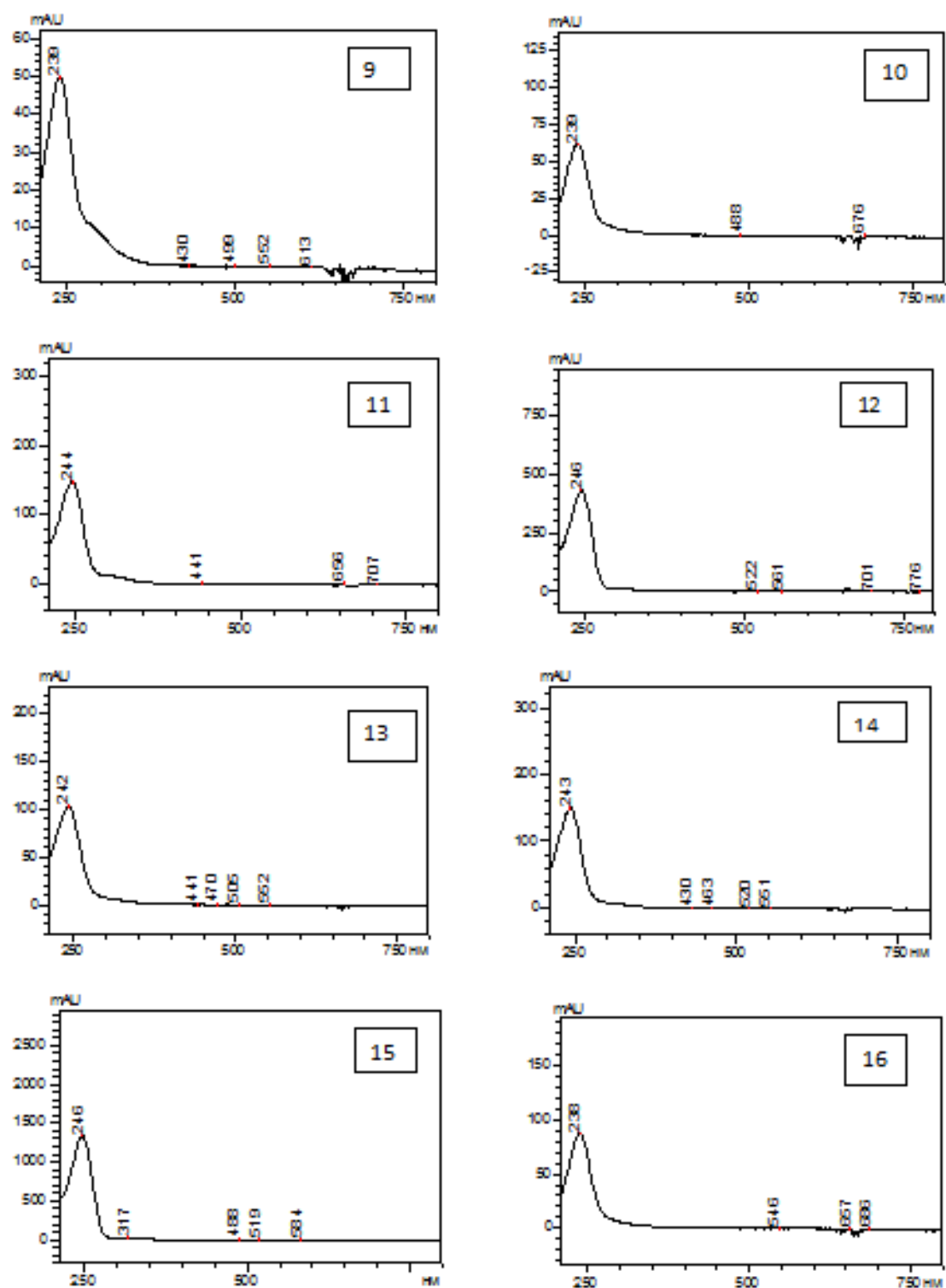


Рисунок Б.2 (Продолжение)

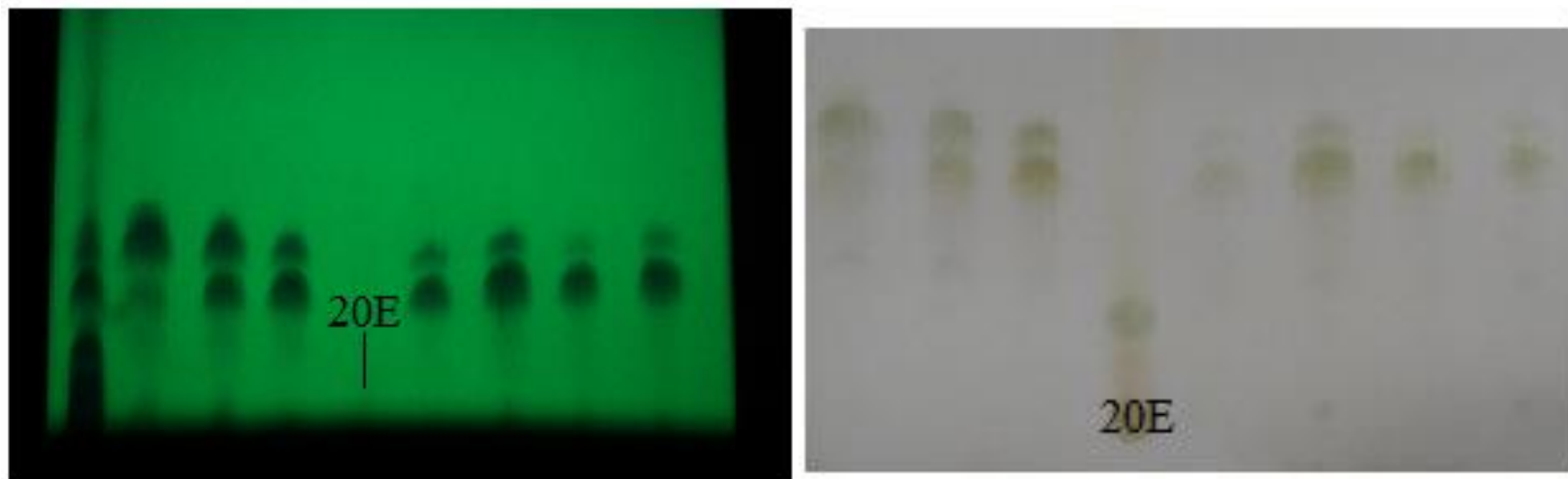


Рисунок Б.3 – ТСХ-анализ фракций 40–46, полученных при разделении бутанольного экстракта *Silene colprophylla*

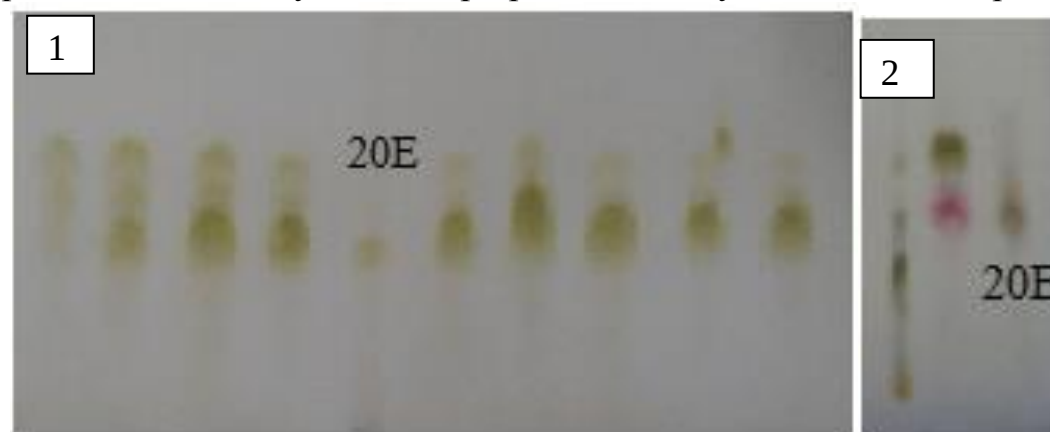


Рисунок Б.4 – ТСХ – анализ фракций 77–85 (1) и (2), полученных при разделении бутанольного экстракта *Silene colprophylla*

Приложение В
Спектрально-хроматографические характеристики флавоноидов видов секции
Otites (Adans.) Otth

Таблица В.1 – Возможные структуры мажорного С- гликозилированного флавоноида, обнаруженного в *Silene colporphylla*

№№	Флавоноид	Молекулярная масса	Формула	Структура
1	Шафтозид	564	$C_{26}H_{28}O_{14}$	
2	Изошафтозид	564	$C_{26}H_{28}O_{14}$	

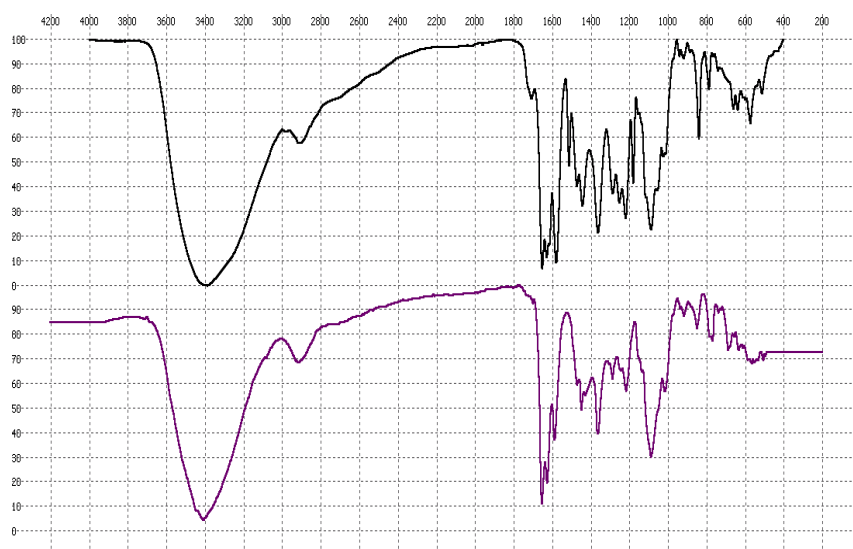


Рисунок В.1 – ИК-спектр мажорного флавоноида, выделенного из *Silene colporphylla*. Сверху исследуемый флавоноид, снизу спектр–сравнения 8- α -l-арабинозил-5,7-дигидрокси-6- β -d-глюкопиранозилфлавоон

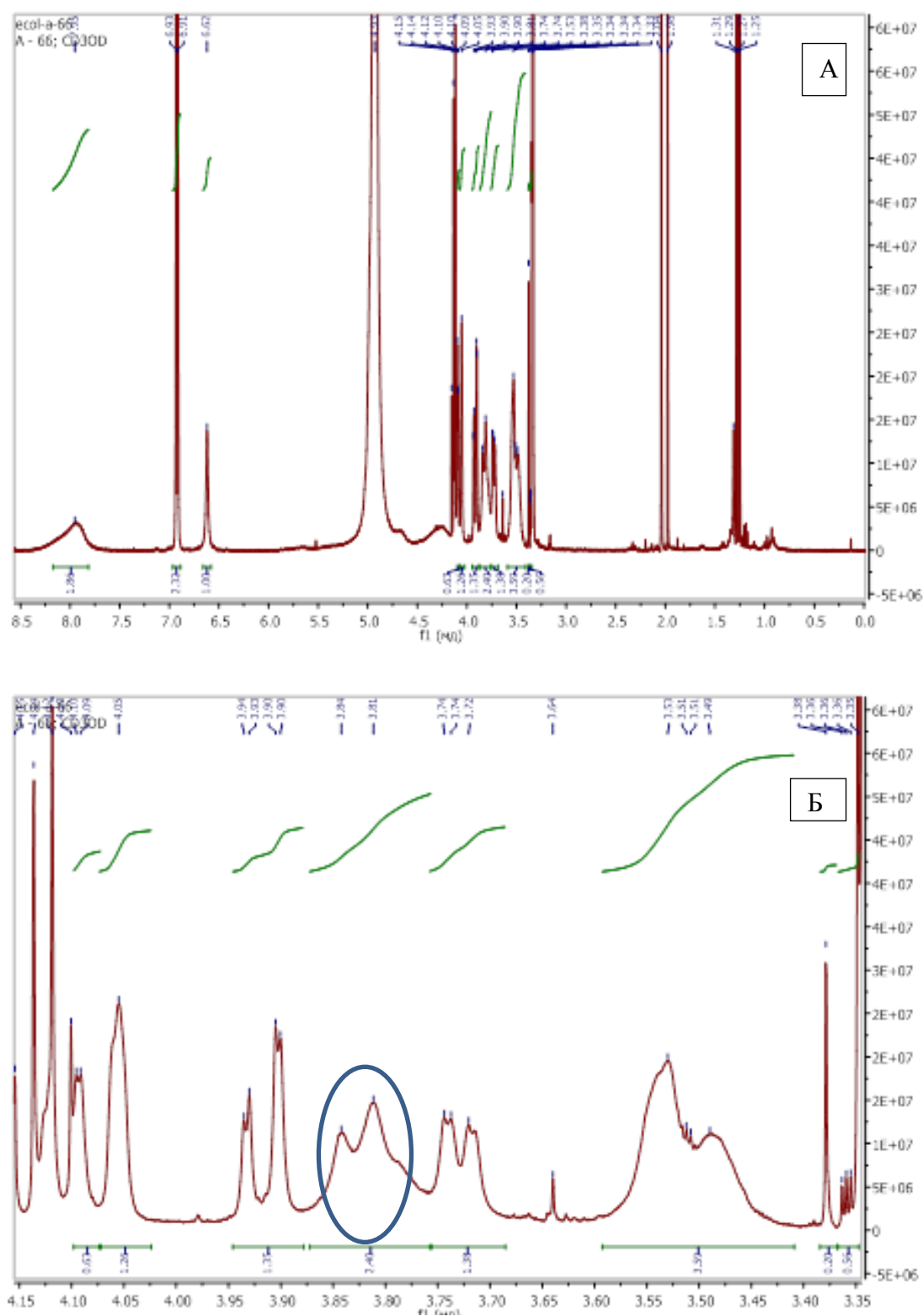


Рисунок В.2 – ЯМР – спектры мажорного флавоноида выделенного из *S. scolophylla* А, Б – в дейтерометаноле, В – в ДМСО

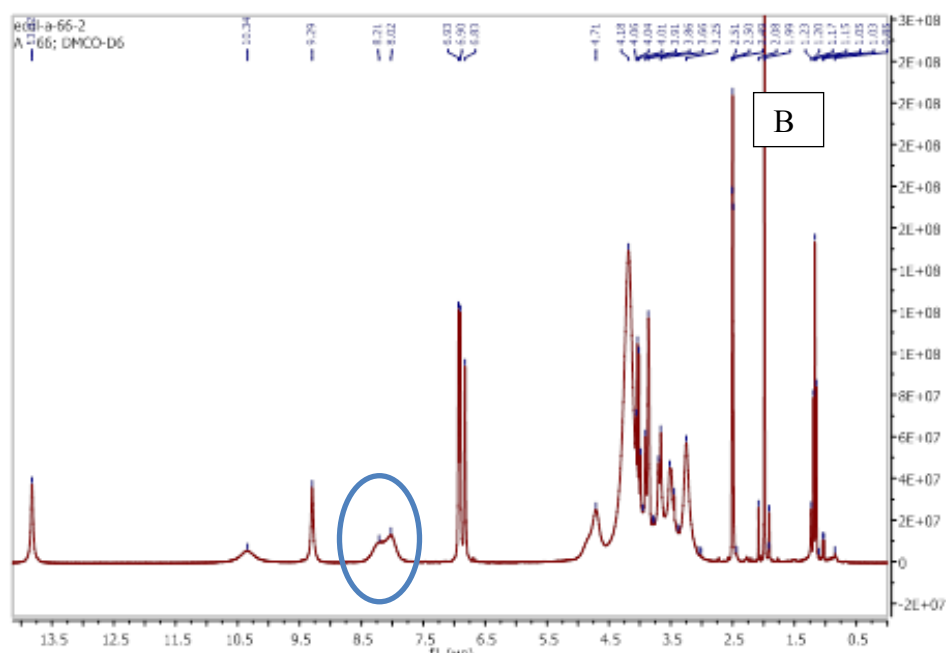


Рисунок В.2 (продолжение) – ЯМР – спектры мажорного флавоноида выделенного из *S.colporphylla* А, Б – в дейтерометаноле, В – в ДМСО

Примечание – синим цветом на спектрах выделена пара атомов водорода, претерпевающая вращение (положение 2' и 6').

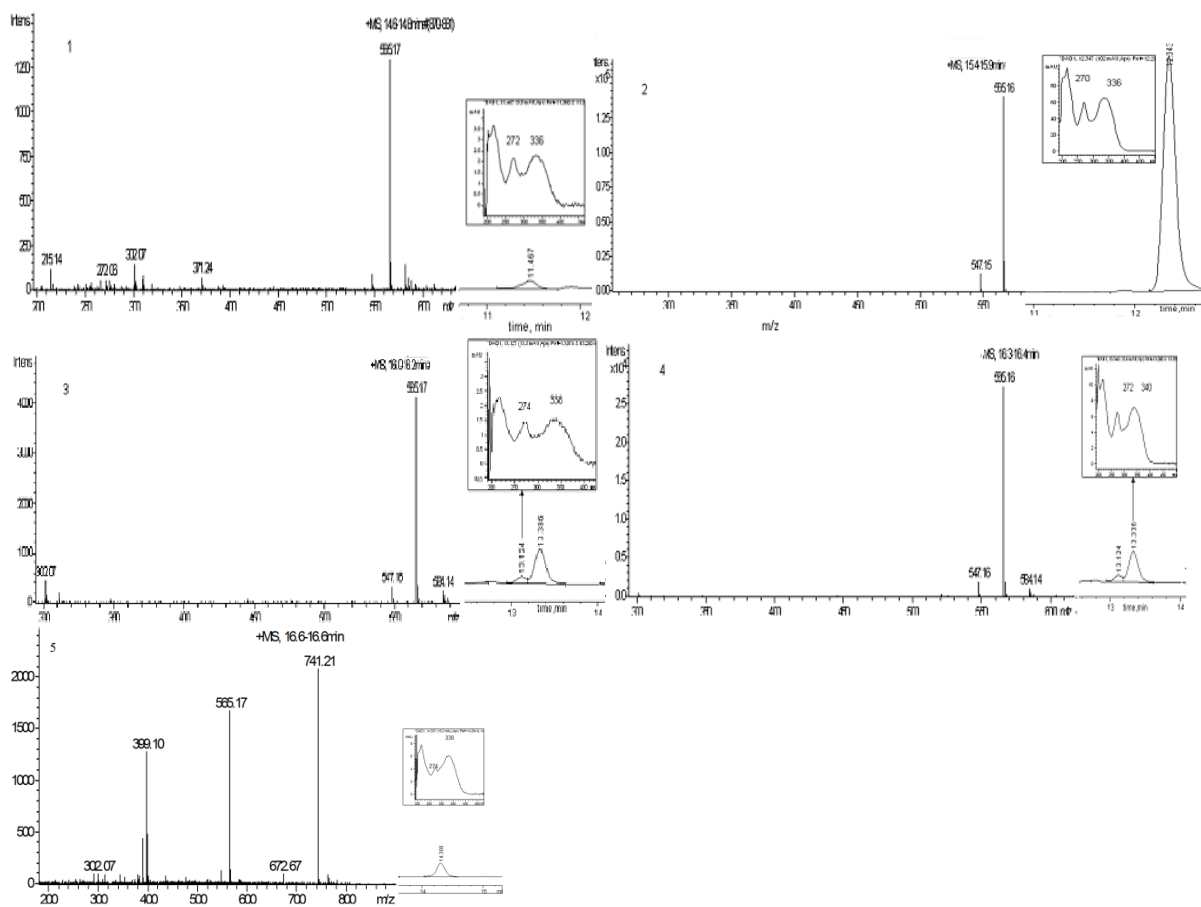
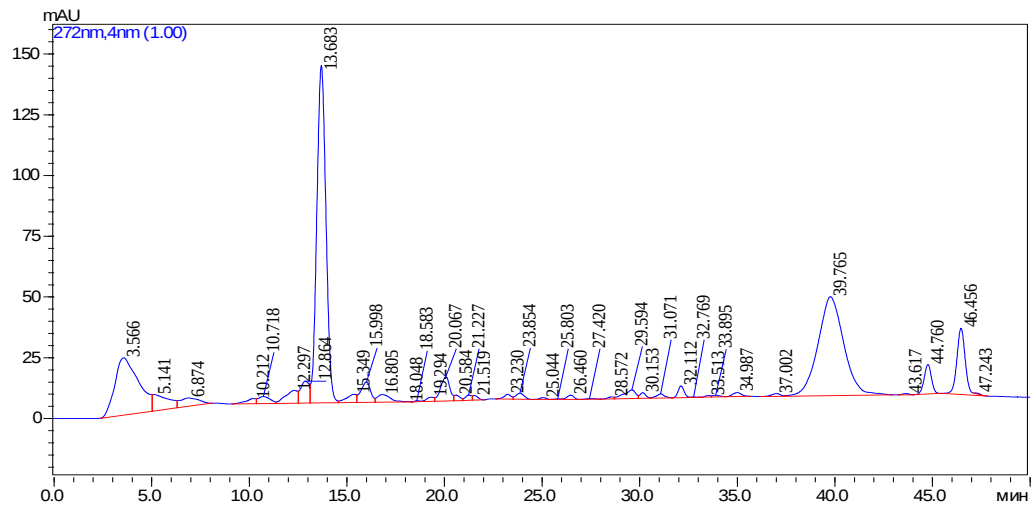
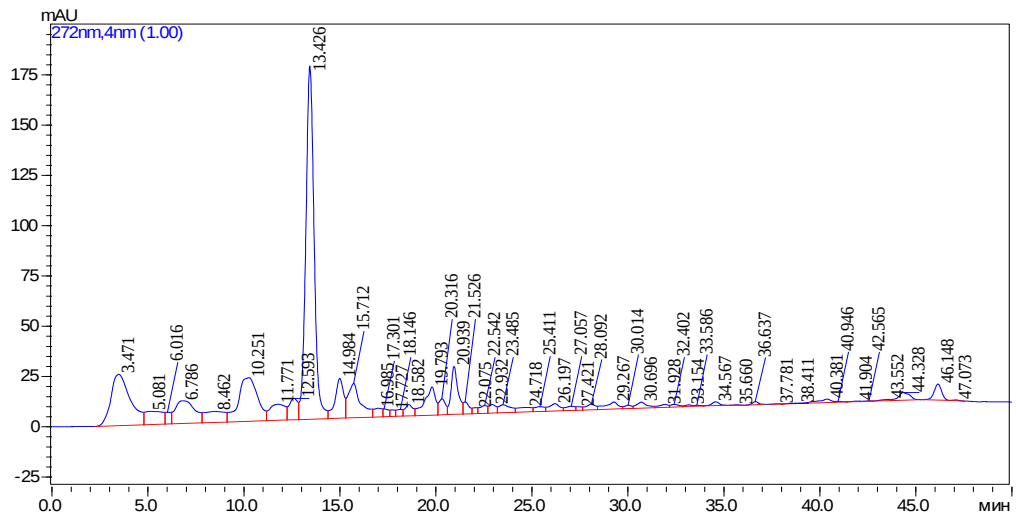
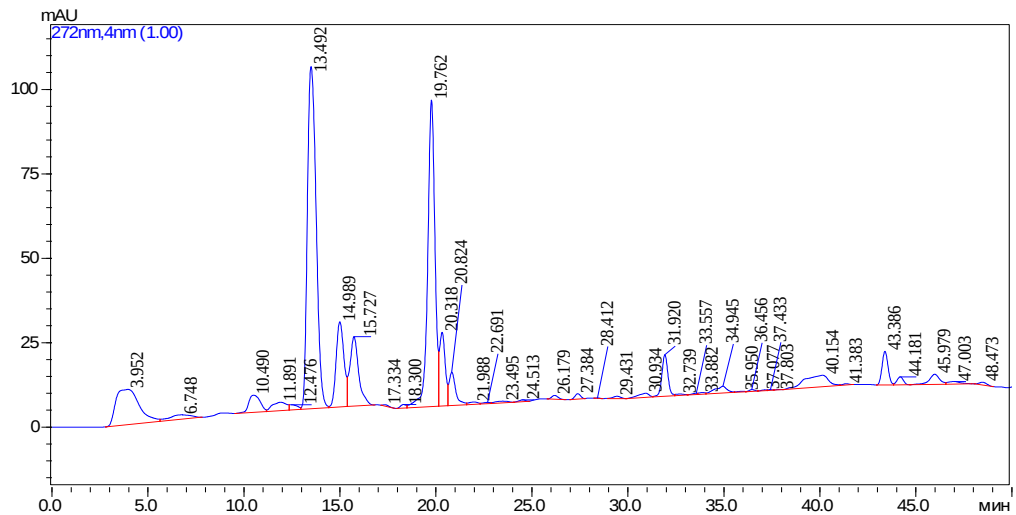
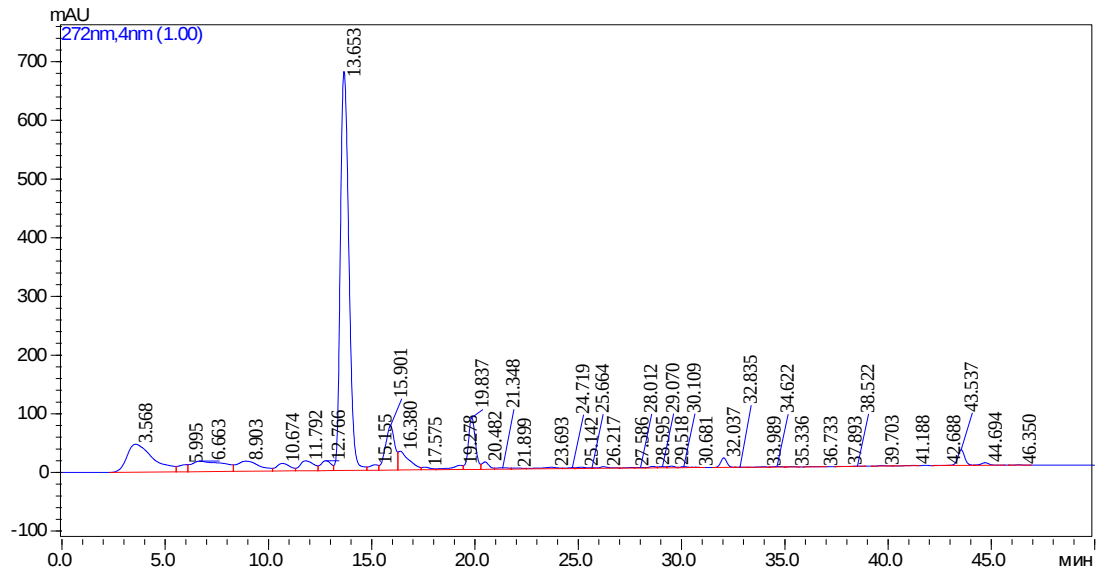
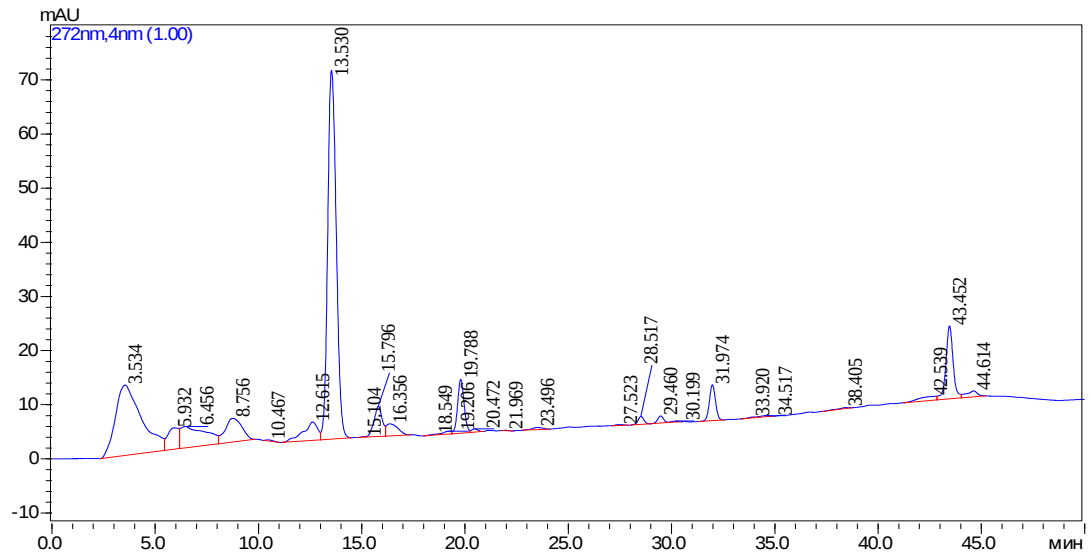
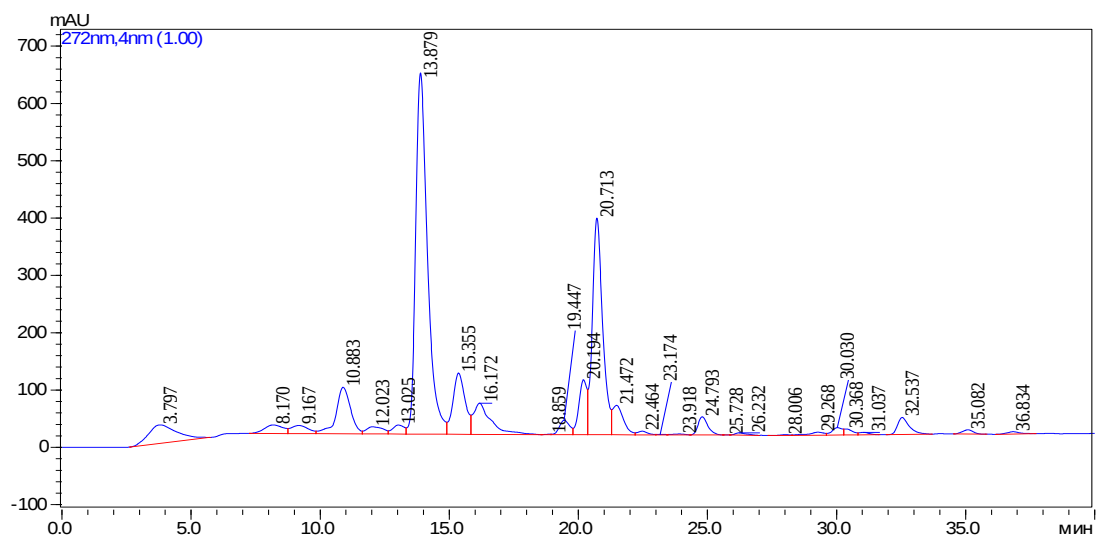


Рисунок В.3 – Масс – спектры флавоноидов растительного экстракта *Silene colporphylla*

Рисунок В.4 – Флавоноидный профиль *Silene exaltata*Рисунок В.5 – Флавоноидный профиль *Silene borysthena*Рисунок В.6 – Флавоноидный профиль *Silene baschkirorum*

Рисунок В.7 – Флавоноидный профиль *Silene otites*Рисунок В.8 – Флавоноидный профиль *Silene otites* ssp. *hungarica*Рисунок В.9 – Флавоноидный профиль *Silene pseudotites*

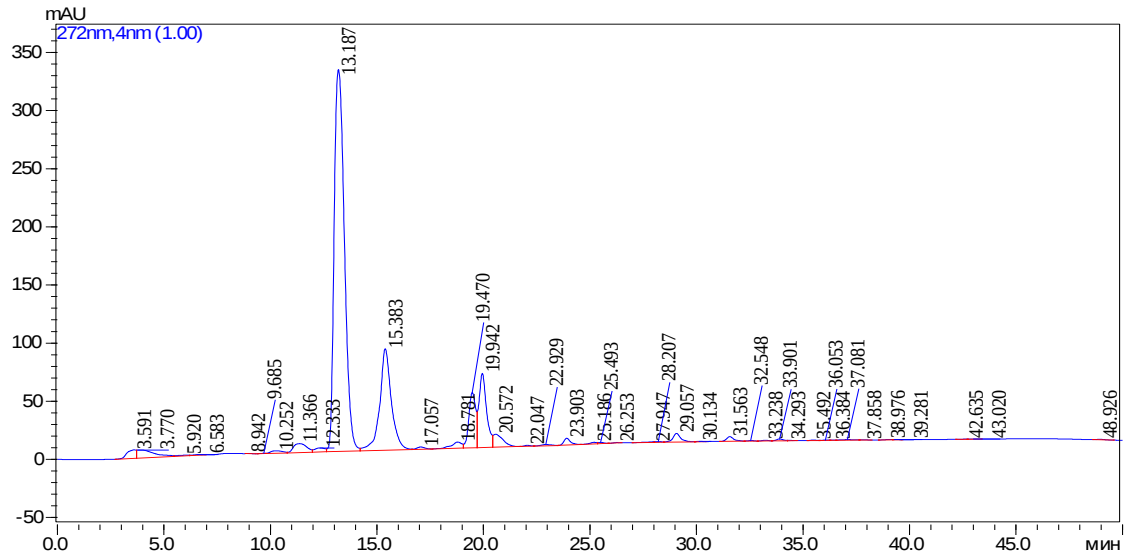
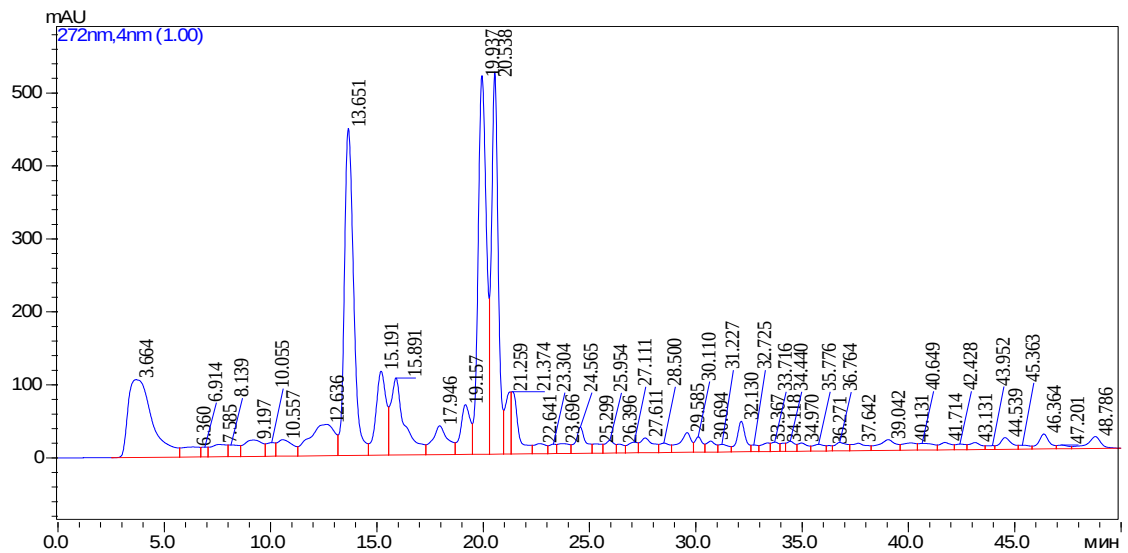
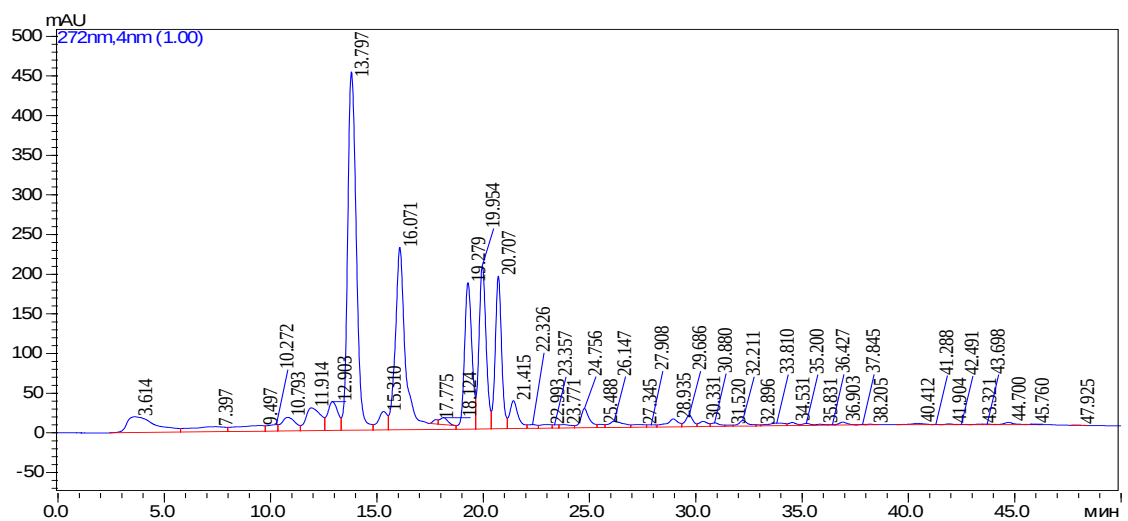
Рисунок В.10 – Флавоноидный профиль *Silene colporphylla*Рисунок В.11 – Флавоноидный профиль *Silene roeteri*Рисунок В.12 – Флавоноидный профиль *Silene sendtneri*

Таблица В.2 – УФ– спектры экидистероидов исследуемых видах *Silene*

№№	Время удерживания, мин	УФ – спектр
<i>S. exaltata</i>		
1	13.6	
<i>S. borysthena</i>		
1	12.6	
2	13.4	
3	15.7	

Продолжение таблицы В.2

№№	Время удерживания, мин	УФ – спектр
<i>S. borysthenica</i> (Продолжение)		
4	18.1	
5	18.6	
6	20.9	
7	21.5	

Продолжение таблицы В.2

№№	Время удерживания, мин	УФ – спектр
<i>S. baschkirorum</i>		
1	13.5	
2	15.7	
<i>S. otites</i>		
1	10.7	
2	11.9	

Продолжение таблицы В.2

№№	Время удерживания, мин	УФ – спектр
<i>S. otites</i> (Продолжение)		
3	12.9	
4	13.7	
5	16.0	
6	16.5	

Продолжение таблицы В.2

№№	Время удерживания, мин	УФ – спектр
<i>S. otites ssp. hungarica</i>		
1	13.6	
2	15.8	
<i>S. pseudotites</i>		
1	10.9	
2	12.0	

Продолжение таблицы В.2

№№	Время удерживания, мин	УФ – спектр
<i>S. pseudotites</i> (Продолжение)		
3	13.0	UV spectrum showing absorbance (mAU) versus wavelength (nm). The spectrum exhibits a broad peak around 269 nm and a smaller peak at 328 nm. There are small peaks at 527, 645, and 668 nm.
4	13.9	UV spectrum showing absorbance (mAU) versus wavelength (nm). The spectrum exhibits a sharp peak at 271 nm and a broad peak at 337 nm. There are small peaks at 645 and 668 nm.
5	16.2	UV spectrum showing absorbance (mAU) versus wavelength (nm). The spectrum exhibits a sharp peak at 272 nm and a broad peak at 337 nm. There are small peaks at 645 and 668 nm.
6	20.7	UV spectrum showing absorbance (mAU) versus wavelength (nm). The spectrum exhibits a sharp peak at 273 nm and a broad peak at 330 nm. There are small peaks at 474 and 640 nm.

Продолжение таблицы В.2

№№	Время удерживания, мин	УФ – спектр
<i>S. pseudotites</i> (Продолжение)		
7	21.5	
8	22.5	
9	24.8	
<i>S. colpophylla</i>		
1	11.5	

Продолжение таблицы В.2

№№	Время удерживания, мин	УФ – спектр
<i>S. colporphylla</i> (Продолжение)		
2	13.2	
3	15.4	
4	19.9	
5	20.6	

Продолжение таблицы В.2

№№	Время удерживания, мин	УФ – спектр
<i>S. roemerii</i>		
1	13.7	
2	15.9	
3	20.5	
4	21.4	

Продолжение таблицы В.2

№№	Время удерживания, мин	УФ – спектр
<i>S. roemeri</i> (Продолжение)		
5	24.6	
<i>S. sendtneri</i>		
1	10.5	
2	11.6	
3	12.7	

Продолжение таблицы В.2

№№	Время удерживания, мин	УФ – спектр
<i>S. sendtneri</i> (Продолжение)		
4	13.5	
5	15.8	
6	17.4	
7	20.3	

Окончание таблицы В.2

№№	Время удерживания, мин	УФ – спектр
<i>S. sendtneri</i> (Продолжение)		
8	21.4	
9	24.5	

Приложение Г

Времена удерживания экистероидов в системе циклогексан – ИПС – вода (70:28:2 v:v:v) для некоторых видов *Silene* секции *Otites*

Таблица Г.1

Экистероид	Время удерживания, мин											
	<i>S.colpophylla</i>	<i>S.otites hungarica</i>	<i>S.pseudotites</i>	<i>S.roemerii</i>	<i>S.sendtneri</i>	<i>S.exaltata</i>	<i>S.borysthenica</i>	<i>S.bashkiorum</i>	<i>S.otites otites</i>	<i>S.friv</i>	<i>S.linicola</i>	<i>S.viridiflora</i>
Э/д 1	–	–	–	–	–	–	–	–	5,4	–	–	–
Э/д 2	7,3	–	–	–	–	6,7	–	–	–	–	–	–
2dE	9,9	–	–	–	–	9,8	–	–	–	–	–	–
Э/д 3	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	10,4	–
Э/д 4	10,8	–	–	–	–	10,9	–	–	–	10,9	10,7	–
Э/д 5	11,3	–	–	–	–	–	–	–	–	–	11,3	–
67–70	12,0	–	11,8	–	–	–	11,8	11,8	11,5	11,6	–	–
Э/д 6	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	12,4	–
2d20E	12,6	–	12,8	–	12,9	12,3	12,9	12,6	12,1	12,6	–	–
Э/д 7	–	–	–	–	–	–	–	13,0	12,9	–	–	12,9
Э/д 8	–	–	–	–	–	–	–	–	–	13,3	–	13,2
67–70	13,8	13,8	13,8	13,7	13,8	13,7	13,7	13,8	–	–	13,8	–
73–75	14,3	–	14,6	14,1	14,0	–	14,2	–	14,3	–	14,3	–
Э/д 9	14,5	14,9	–	–	–	–	–	–	14,8	14,8	–	–
73–75	15,1	–	–	–	–	15,1	–	15,1	–	–	–	–
Э/д 10	–	–	15,4	–	–	–	15,4	–	–	15,5	15,3	–
Е	16,2	–	–	–	–	–	16,2	15,5	–	–	–	–
Э/д 11	–	–	–	–	16,7	–	–	–	–	16,8	–	–
Э/д 12	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	17,0	–
78–81	17,4	17,3	–	17,3	–	–	–	–	17,8	–	–	–
82	18,3	–	–	–	18,6	–	–	–	18,5	–	–	–

Окончание таблицы Г.1

Экдистероид	Время удерживания, мин											
	<i>S.colpophylla</i>	<i>S.otites hungarica</i>	<i>S.pseudotites</i>	<i>S.roemeri</i>	<i>S.sendtneri</i>	<i>S.exaltata</i>	<i>S.borysthenica</i>	<i>S.bashkirorum</i>	<i>S.otites otites</i>	<i>S.friv</i>	<i>S.linicola</i>	<i>S.viridiflora</i>
78–81	19,1	–	19,1	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Э/д 13	–	–	–	–	–	–	–	–	19,4			
Э/д 14	–	–	–	19,8	–	–	19,9	–			19,7	
Э/д 15	–	20,9	20,6	–	20,5	20,4	–	–	20,7			
Э/д 16	–	–	–	–	–	–	–	–				21,8
20E+PolB	21,2 20E	24,2	24,0	22,1	21,7	23,4	24,4	24,4	24,3	22,4	22,7	22,4
113–118	23,6	–	–		23,9	–	–	–		24,6		
Э/д 17	–		–	25,3	–	–	–	–			25,1	
113–118	26,4	26,0	–	–	–	–	–	–				
107–112	27,1	–	–	–	27,7	–	27,2	–				
Int A	29,0	28,0	–	27,8	28,5	–	–	–				
119–122	29,9	–	29,5*	–	29,5	–	–	–		29,6		
Э/д 18	–	–	–	–	–	–	–	–				30,4
Э/д 19	–	–	31,3	31,0	31,2	–	–	–	31,8			
Э/д 20	–	–	32,6	–	32,7	32,4	–	–	32,3			
Э/д 21	–	33,5	–	–	–	–	–	–				
Э/д 22	–	34,4	–	–	–	–	–	–				
Э/д 23	36,1	–	35,5	–	–	35,3	–	–				
Э/д 24	–	38,5	–	–	–	–	–	–				
Э/д 25	43,6	–	43,5	–	–	–	–	–				

Примечание – *Зеленым цветом выделены полярные экдистероиды характерные для *S. pseudotites* и *S.colpophylla*

