

УДК 582:581(082)
ББК 28.59я43
И73

Редакционная коллегия:

д.б.н., чл.-корр. НАН Беларуси *В. В. Титок* (ответственный редактор),
к.б.н. *П. Н. Белый*; к.б.н. *И. М. Гаранович*; д.б.н. *Н. В. Гетко*;
к.б.н. *Л. А. Головченко*; *С. М. Кузьменкова*; д.б.н. *Е. Н. Кутас*;
к.б.н. *Н. М. Лунина*; к.б.н. *О. В. Чижик*; к.б.н. *А. П. Яковлев*

Рецензенты:

доктор биологических наук, Ботанический институт
имени В. Л. Комарова Российской академии наук *К. Г. Ткаченко*;
кандидат биологических наук, Институт экспериментальной
ботаники имени В. Ф. Купревича Национальной академии наук Беларуси
А. В. Пугачевский

Интродукция, сохранение и использование биологического разнообразия флоры : материалы международной научной конференции, посвященной 90-летию Центрального ботанического сада Национальной академии наук Беларуси (Минск, 28 июня – 1 июля 2022 г.). В 2 ч. Ч. 1 / Нац. акад. наук Беларуси [и др.] ; редкол.: В.В. Титок [и др.] – Минск : Белтаможсервис, 2022. – 526 с.

ISBN 978-985-7004-74-4

В сборнике представлены материалы международной научной конференции, посвященной 90-летию Центрального ботанического сада Национальной академии наук Беларуси. Часть 1: секция 1 «Теоретические основы и практические результаты интродукции растений» и секция 2 «Экология, физиология и биохимия интродуцированных растений».

УДК 582:581(082)
ББК 28.59я43

ISBN 978-985-7004-74-4 (ч. 1)
ISBN 978-985-7004-72-0

© ГНУ «Центральный ботанический сад
Национальной академии наук Беларуси», 2022
© Оформление. РУП «Белтаможсервис», 2022

ВЭЖХ-МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ ОПТИМАЛЬНОГО СРОКА СБОРА ЛЕКАРСТВЕННОГО СЫРЬЯ ИНТРОДУЦИРОВАННОГО В БЕЛАРУСИ ЧАБЕРА ГОРНОГО

Гиль Т. В., Попов Е. Г., Кухарева Л. В., Кот А. А.

Центральный ботанический сад Национальной академии наук Беларуси,
Минск, Беларусь, T.Gill@cbg.org.by

Резюме. ВЭЖХ-методом проведен анализ экстрактов надземной биомассы чабера горного (*Satureja montana* L. сорт Сапфир) – ценного пряноароматического и лекарственного растения интродуцированного Центральным ботаническим садом НАН Беларуси (Минск). Материал для анализов отбирался на разных стадиях развития объекта исследования (ВВСН 30...67). Результаты измерений выявили лучший срок заготовки чабера – стадия его бутонизации (ВВСН 50...59).

THE BEST TIME FOR COLLECTING MEDICINAL RAW MATERIALS OF INTRODUCED IN BELARUS MOUNTAIN SAVORY: DETERMINATION BY HPLC METHOD

Gil T. V., Popoff E. H., Kukhareva L. V., Kot A. A.

Summary. A comparative HPLC-analysis was made of ethanol extracts from vegetative green masses of the winter (mountain) savory (*Satureja montana* L. variety Sapphire) collected in Central Botanical Garden (Nat. Ac. Sci. of Belarus, Minsk) at different stages of development (ВВСН 30...67). The results revealed that the best time for the harvest of mountain savory medicinal raw materials is the stage of his budding.

Чабер горный (*Satureja montana* L.) – многолетний травянистый полукустарник с мощным стержневым корнем и одревесневшим у основания сильно разветвленным, облиственным стеблем высотой 40÷50 см, семейства Яснотковые (*Lamiaceae*). Листья продолговатые, цельнокрайние. Цветки мелкие, светло-розовые или белые с пурпурными пятнышками. Цветonoсы формируют длинные кистевидные соцветия. Плоды – светло-бурые, округло-яйцевидные трёхгранные орешки. При выращивании не предъявляет особых требований к почве. При семенном размножении в первый год жизни развиваются только вегетативные органы. В зелёном состоянии растения уходят под зиму и весеннее возобновление начинается в марте, сразу после схода снега, зацветает в первой декаде июля. Период цветения продолжается до октября. Созревают семена в октябре-ноябре. Даёт самосев. Растение зимостойкое, светолюбивое. Растение с 1975 года успешно интродуцировано в нашей республике Центральным ботаническим садом НАН Беларуси [1]. Природный ареал – горные местности Южной Европы (Балканы, Италия, Испания, юг Франции) и Малой Азии (Ливан, Сирия, Турция). Работа учёных с этим растением у нас позволила вывести сорт Сапфир (в Государственном реестре сортов Республики Беларусь № 9852638, 2002 г.) (Рис. 1). Интерес к чаберу обусловлен его ценными свойствами: траву используют как пряность в кулинарии, при консервировании овощей, приготовлении салатов, рыбных и мясных блюд, что придает дополнительный вкус и улучшает пищеварение. Водный настой её проявляет антисептические свойства, обладает отхаркивающим и смягчающим кашель действием. Народной медициной используются при лечении тошноты, диареи, бронхоспазма, гастроэнтерита, цистита. В надземной части растения содержится эфирное масло с резким ароматом, напоминающим запах эфирных масел тимьяна и майорана. Основную часть масла составляют тимол и карвакрол (15÷40%), терпенол (5÷15,6%), изоборнилацетат (6%); содержание алифатических спиртов достигает 10%. Эфирное масло чабера применяется в ароматерапии, парфюмерии, мыловарении, ликероводочной промышленности [2–6].

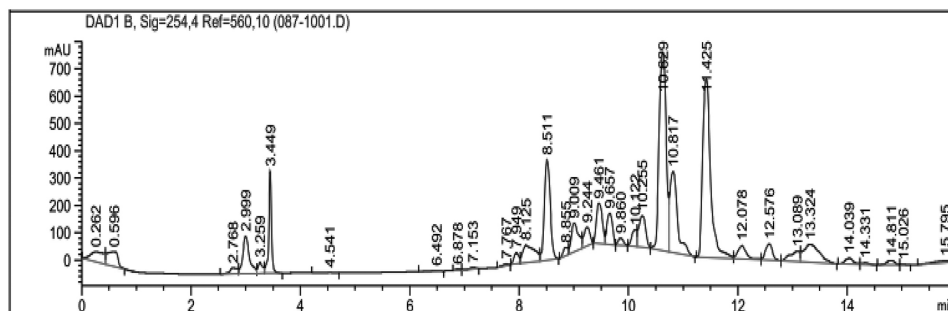


Рис. 1. Чабер горный на стадиях вегетации, цветения и общий вид

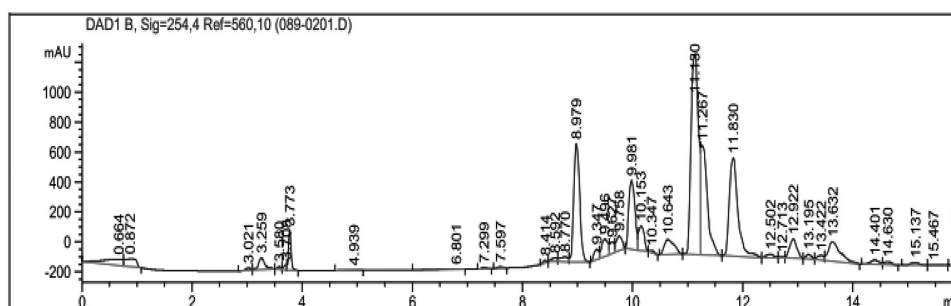
Цель исследования. Общеизвестно, что принципиальным вопросом при изучении лекарственных растений и эффектов их БАВ в организме человека, является определение оптимальных сроков заготовки этих растений в качестве лекарственного растительного сырья (ЛРС). Содержание БАВ в ЛРС зависит от почвенно-климатических условий района и года культивирования, технологии возделывания и сортовой принадлежности растений. Важно найти фазу онтогенеза растения, в которой оно накапливает наибольшее количество целевых действующих БАВ. Именно на такой стадии и следует производить заготовку ЛРС. Это обусловило цель работы – определение наилучшего времени для заготовки чабера горного с помощью современного метода высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

Материалы и методы. В качестве объекта исследований брали надземную биомассу чабера сорта Сапфир. Лекарственное растительное сырьё (ЛРС) заготавливали на разных стадиях развития (вегетация, бутонизация, цветение). Пробоподготовку ЛРС для анализа проводили согласно Руководству по методам контроля качества и безопасности биологически активных добавок к пище Р 4.1.1672–03 [6]: ЛРС высушивали при 40 °С, измельчали 6 мин при 25000 об/мин лабораторной мельницей IKA Tube Mill (IKA Werke, ФРГ) в порошок из которого этанольно-водным (70:30 об./об.) экстрагентом (соотношение ‘сырьё/экстрагент’ = 1:5) извлекали компоненты (биоактивные вещества, БАВ). Экстракцию осуществляли в ультразвуковой водяной бане RK103H (Bandelin Sonorex, Berlin, ФРГ [условия: 35 кГц, 60 мин, 50 °С, I = 1 А; U = 140/560 Вт]), экстракт переносили в стеклянную тару и хранили в темноте при 0...4 °С до использования в анализах. Исследования проведены анализом экстрактов надземной биомассы (ЛРС) изучаемых растений на хроматографе Agilent-1260 (Agilent Technologies Inc., Санта Клара, Калифорния, США). Экстракты центрифугировали (15000 g, 3 мин, 20 °С) и пропускали через фильтры PTFE (Agilent Technologies, Munich, ФРГ) с диаметром пор 0,2 мкм, вносили в Agilent-виалы, а из них отбор проб (10 мкл) в хроматограф проводился автосэмплером. Анализы экстрактов растения (БАВ) вели в градиентном режиме по стандартной методике (инъекционный объем проб = 10 мкл, температура колонки 30°С, скорость 0,5 мл/мин, элюенты с добавлением муравьиной кислоты [3 мл/л] – вода/ацетонитрил от 95: 5 в начале цикла {0'} → до 5: 95 к окончанию цикла {16'}) на колонке Zorbax Eclipse Plus C18 (4,6 мм×150 мм, 5 мкм) с регистрацией биохимических субстанций UV/Vis-детектором DAD G4212B при длине волны 254 нм vs 560 нм в milli Absorbance Units [mAU], обработкой данных программой Agilent OpenLAB CDS ChemStation, идентификацией по спектрам на PV 1251C (SOLAR, Минск, Беларусь), а также калибровочным внутренним и внешним стандартам (ООО «Кампилаб», Минск, Беларусь), согласно [7].

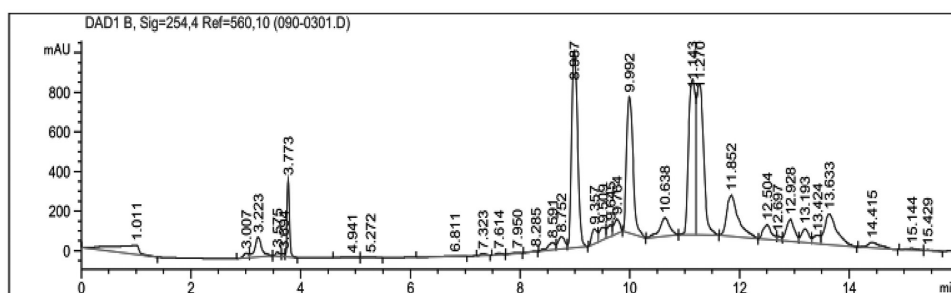
Результаты и их обсуждение. Результаты ВЭЖХ-анализов БАВ в надземной биомассе на разных этапах онтогенеза чабера горного (сорт Сапфир) приведены на рис. 2, 3, 4 и в таблице.



Общее содержание БАВ по суммарным:
площадям пиков = 3.30×10^4 mAU*s; высотам пиков = 0.38×10^4 mAU
Рис. 2. ВЭЖХ-анализ надземной биомассы «на стадии вегетации [стеблевания]»



Общее содержание БАВ по суммарным:
площадям пиков = 4.95×10^4 mAU*s; высотам пиков = 0.56×10^4 mAU
Рис. 3. ВЭЖХ-анализ надземной биомассы «на стадии бутонизации»



Общее содержание БАВ по суммарным:
площадям пиков = 4.40×10^4 mAU*s; высотам пиков = 0.50×10^4 mAU
Рис. 4. ВЭЖХ-анализ надземной биомассы «на стадии массового цветения»

Таблица. Сравнительное содержание экстрактивных веществ ЛРС *S. montana* L.

Стадии фенологического развития	Содержание экстрактивных веществ, %
ВВСН* 30...39 (вегетация)	66,7±2,3**
ВВСН* 50...59 (бутонизация)	100,0±3,1
ВВСН* 63...67 (цветение)	90,9±2,8**

* Универсальная шкала десятичного кода стадий развития растения [8]

** Различия достоверны по отношению к максимальным значениям ВВСН 50...59

Из полученных данных (по суммарным площадям пиков хроматограмм) видно как варьируется компонентный состав ЛРС растений от стадии вегетации к стадии бутонизации и далее, с переходом на стадию цветения. Фактически установлена динамика изменения БАВ, которая указывает на их максимальное накопление по мере развития чабера до стадии бутонизации. Последующее снижение в ЛРС количества БАВ видимо говорит о том, что накопленные вещества расходуются в процессе цветения. Снижение подтверждается и перерасчётом содержания БАВ по суммарной высоте пиков. Поэтому, чтобы избежать потери БАВ в ЛРС следует проводить его заготовку на стадии бутонизации и до начала массового цветения растения.

Выводы:

1) Полученные данные указывают, что наибольшее суммарное количество БАВ растения чабера горного накапливают на стадии бутонизации, что на 32÷33 % выше чем на предшествующей стадии вегетации.

2) Цветение чабера сопровождается расходом и снижением (на ~11 %) в надземной биомассе суммарного количества БАВ.

Заключение. Результаты исследования выявили, что наиболее подходящим для заготовки ЛРС чабера горного является стадия бутонизации (перед началом цветения), когда содержание наиболее ценных БАВ достигает максимума.

Список литературы

1. Кухарева, Л. В. Полезные травянистые растения природной флоры: Справочник по итогам интродукции в Белоруссии / Л. В. Кухарева, Г. В. Пашина. – Мн.: Наука и технология, 1986. – С. 33.
2. Breverton, T. Breverton's complete herbal: a book of remarkable plants and their uses. – London: Quercus Publishing Plc., 2011. – 580 p.
3. Kremer, D. Antimicrobial and antioxidant properties of *Satureja montana* L. and *S. subspicata*. Vis. (Lamiaceae) / D. Kremer [et al.] // Curr. Drug Targets. – 2015. – Vol. 16, № 14. – P. 1623–1633.
4. Saeidnia, S. *Satureja*: ethnomedicine, phytochemical diversity and pharmacological activities / S. Saeidnia, A. R. Gohari, A. Manayi, M. Kourepaz-Mahmoodabadi // Heidelberg: Springer Int. Publ. AG, 2016. – 113 p.
5. Tepe, B. A pharmacological and phytochemical overview on *Satureja* / B. Tepe, M. Cilkiz // Pharmaceutical Biology. – 2016. – Vol. 54, № 3. – P. 375–412.
6. Руководство по методам контроля качества и безопасности биологически активных добавок к пище. – М.: Федеральный центр госсанэпиднадзора МЗ России, 2004. – 400 с.
7. Попов, Е. Г. Фармакологический потенциал растения железница иссополистная (*Sideritis hyssopifolia* L.) из коллекции Центрального ботанического сада НАН Беларуси / Е. Г. Попов, Л. В. Кухарева, Т. В. Гиль, Б. К. Нинь, А. Н. Луу-Дам, В. В. Титок // Вестник Фонда фундаментальных исследований. – 2019. – № 4. – С. 76–81.
8. Hack, H. Einheitliche Codierung der phänologischen Entwicklungsstadien mono- und dikotyle Pflanzen. Erweiterte BBCH-Skala / H. Hack [et al.] // Nachrichtenbl. Deut. Pflanzenschutzd. – 1992. – Vol. 44, № 12. – P. 265–270.