

На основании полученных данных можно сказать, что чередование сред с низкой и высокой концентрациями 6-БАП также оказало влияние на качественные показатели регенерирующих побегов: увеличилась ширина и высота побегов, примерно вдвое возросла площадь листовой пластинки. Большая часть побегов, полученных при данной схеме культивирования, была хорошо развита и поэтому могла быть сразу же использована на этапе укоренения, в отличие от побегов, полученных на питательных средах, содержащих неизменённое количество 6-БАП.

Заключение

Для увеличения коэффициента размножения и получения побегов, способных к укоренению, для *I. sibirica* на этапе собственно микроразмножения в питательные среды следует добавлять как цитокинины, так и ауксины. При этом количество 6-БАП должно быть в пределах 5,0-7,5 мкМ. Для

поддержания стабильного микроразмножения и получения побегов оптимальной высоты необходимо чередовать среды с высоким и низким (1 мкМ) содержанием 6-БАП каждый последующий пассаж.

Библиографический список

1. Бутенко Р.Г. Состояние и перспективы изучения морфогенеза растений // Всесоюз. об-во физиологов раст. – 1990. – Вып. 8. – С. 5-8.
2. Murashige T., Skoog F. A Revised Medium for Rapid Growth and Bioassaya with Tobacco Tissue cultures // *Physiol. Plant.* – 1962. – V. 15. – № 4. – P. 473.
3. Катаева Н.В. Клональное микроразмножение растений. – М.: Наука, 1983. – 97 с.
4. Бутенко Р.Г. Индукция морфогенеза в культуре тканей растений // Гормональная регуляция онтогенеза растений. – М., 1984. – С. 42-54.



УДК 547.915:543.544.32

**А.Г. Тырков,
О.В. Дегтярев,
Э.Р. Акмаев,
С.Б. Носачев**

ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ И ПРОТИВОГРИБКОВАЯ АКТИВНОСТЬ МАСЛА СОФОРЫ ЯПОНСКОЙ (*SOPHORA JAPONICA L.*) ИЗ АСТРАХАНСКОГО РЕГИОНА

Ключевые слова: софора японская, масла, жирные кислоты, экстракция, фунгицидная, фунгистатическая активность.

Введение

В последние годы большое внимание уделяется изучению природы биологической активности отдельных компонентов растительного сырья и механизма их воздействия на живой организм [1, 2]. Конечная цель таких исследований заключается в создании препаратов с заранее заданными свойствами,

обеспечивающими укрепление здоровья человека [3, 4]. Известно, что большое число растений Астраханского региона относятся к эфирно-масличным растениям, в которых содержание эфирного масла может достигать 2-10%. К числу таких растений относится софора японская (*Sophora japonica L.*), активно культивируемая в Астраханской области. Эфирные масла обладают бактерицидными свойствами [5], терапевтическим эффектом при лечении бронхальной астмы, опорно-двигательного ап-

парата и других [6], их успешно применяют в парфюмерии и косметике [7]. Наиболее ценными биологически активными веществами наземных частей софоры японской являются флавоноиды, в частности, рутин (до 30%), представляющий собой глюкорамногликозид кверцетина, аскорбиновая кислота, ряд алкалоидов α -спартеин, софокарпин, матрин. Кроме того, в семенах софоры обнаружено до 10% жирных масел, однако их химический состав изучен крайне недостаточно и нуждается в дополнительном исследовании. Известно только, что основными компонентами масла софоры являются лауриновая, миристиновая, пальмитиновая, арахиновая кислоты [8].

Софора японская (*Sophora japonica* L.) – высокое листопадное дерево, высотой до 25 м, относится к семейству бобовых. Листья непарноперистые, длиной 11-25 см, цветки длиной 1-1,5 см, ароматные, собранные в крупные рыхлые метелки, достигающие в длину 20-30 см. Плод боб, мясистый, голый, длиной 5-7 см с глубокими перетяжками между семенами. В каждом бобе заключено 2-6 овальных, гладких темно-коричневых семян, напоминающих фасоль. Ареал охватывает Японию, южный Китай, южную Европу, США, многие азиатские и закавказские страны. Софора культивируется на освещенных и защищенных от холодного ветра территориях, она устойчива к засухам и засоленным почвам. Цветет в июле-августе, плоды созревают в сентябре-октябре и держатся на дереве всю зиму.

В народной медицине настойку *Sophora japonica* L. рекомендуют при внутренних кровотечениях, стенокардии, сахарном диабете, атеросклерозе сосудов, тромбозе, заболеваниях печени, желудка и кишечника.

Считается, что препараты из софоры японской обладают сильным противовоспалительным, противоотечным и бактерицидным действием, они повышают способность организма усваивать аскорбиновую кислоту.

Работа посвящена изучению химического состава и противогрибковой активности масла из семян софоры японской (*Sophora japonica* L.), произрастающей в Астраханском регионе.

Объекты и методы исследования

Объектами исследования являлись семена софоры японской. Масло получали методом экстракции. Химический состав масла изучали методом хромато-масс-спектрометрии на приборе Agilent с библиотекой 40 тыс. химических соединений, а также методом газожидкостной хроматографии на хроматографе Shimadzu QP 2010 с масс-

селективным детектором. Для идентификации использовали библиотеку масс-спектров NST 02. Выход масла определяли в процентах в пересчете на вес абсолютного сухого сырья. Физико-химические показатели масла установлены по общепринятым методикам [9].

Экспериментальная часть

Семена *Sophora japonica* L. собраны в сентябре в Кировском районе города Астрахани, анализировались в сухом виде. Сухое сырье получено согласно правилам сбора и сушки лекарственных растений [10]. Во избежание разрушения биологически активных веществ и для удаления излишней влаги его подвергали высушиванию сразу после сбора методом воздушной сушки, основанной на свободном доступе воздуха к растительному материалу, разложенному в затемненном месте.

Выделение масла из измельченных семян осуществляли методом экстракции из воздушно-сухого сырья массой 2 кг, в качестве растворителя применяли петролейный эфир (марка х.ч.) при соотношении растворителя к массе сырья 5:1, экстракцию проводили трехкратно при нагревании в течение 30 мин. После удаления растворителя под вакуумом (температура 50°C, остаточное давление 5 мм) остаток обрабатывали этанолом, охлаждали до -10°C и отфильтровывали, растворитель удаляли под вакуумом. Продолжительность процесса экстракции установлена экспериментально на основании изучения динамики изменения выхода масла во времени.

Образец масла, полученного из семян, растворяли в бензоле до концентрации 0,1% по объему. Колонка MDN-1 (метилсиликон, твердосвязанный) 30 м, диаметр 0,25 мм. Режим хроматографирования: инжектор – 180°C; детектор – 200°C; интерфейс – 210°C; газ-носитель – гелий (99,99999%), 1 мл/мин. при делении потока 1:10; термостат – 60°C 1 мин., 2 град./мин. до 70°C, 5 град./мин. до 90°C, 10 град./мин. до 180°C, 20 град./мин. до 280°C, далее изотерма 1 мин. Режим регистрации масс-спектров 39-350 m/z. Для определения линейных индексов масло и нормальные парафины (нонан, ундекан, тридекан и пентадекан) растворяли в бензоле, n-парафины разбавляли до концентрации 0,007% по объему, масло софоры японской – 1:30000 по объему. Количественное содержание компонентов масла вычислялось по площадям газохроматографических пиков без использования корректирующих коэффициентов. Качественный анализ проводили путем сравнения линейных индексов удерживания [11] и полных масс-спектров

компонентов с соответствующими данными чистых соединений.

Линейные индексы удерживания (RI_x) рассчитывали по формуле:

$$RI_x = 100n + 100k (t_{Rx} - t_{Rn} / tR_{(n+k)} - t_{Rn}),$$

где n – число атомов углерода n -парафина;

k – разность числа атомов углерода двух n -парафинов;

t_{Rx} – время удерживания вещества;

t_{Rn} – время удерживания n -парафина с n атомами углерода;

$tR_{(n+k)}$ – время удерживания n -парафина с $n+k$ атомами углерода.

Противогрибковую активность изучали в Астраханской государственной медицинской академии на кафедре дерматовенерологии в условиях *in vitro* в соответствии со стандартом М 27 методом серийных разведений NCCLS [12] в жидкой среде Сабуро [13]. В качестве тест-культур использовали микроорганизмы *Candida albicans* 1029/13, *Microsporum canis* 1173 и *Trichophyton rubrum* 1220. Степень чувствительности исследуемых микроорганизмов к соединениям определяли визуально по зоне отсутствия роста вокруг носителя исследуемого препарата (фунгистатическое действие) или по подавлению роста микроорганизмов на 50% (фунгицидное действие) [14]. Препаратом сравнения во всех случаях служил флуконазол. Исследование состояло из 5 серий экспериментов. К серийно разведенному соединению в диметилсульфоксиде в пробирках добавляли микробную взвесь, пробирки термостатировали при $24 \pm 3^\circ\text{C}$ в течение 7 сут. (*Candida albicans* 1029/13) и 30 сут. (*Microsporum canis* 1173 и *Trichophyton rubrum* 1220) и определяли минимальную концентрацию вещества, способную задерживать рост тест-культуры. С целью изучения характера действия (фунгистатическое или фунгицидное) производили высевы на чашке Петри с суслон-агаром из всех пробирок. Чашки помещали в термостат на 7 сут. (*Candida albicans* 1029/13) и 30 сут. (*Microsporum canis* 1173 и *Trichophyton rubrum* 1220) при $24 \pm 3^\circ\text{C}$.

Результаты и их обсуждение

Выявление зависимости выхода масла от сроков вегетации софоры японской показало, что наибольший выход масла наблюдается из семян, собранных в октябре. Образцы эфирного масла подвергали определению удельного веса при 20°C и показателя преломления (табл. 1).

Методом хромато-масс-спектрометрии обнаружено, что в состав масла семян софоры японской входят 18 компонентов (табл. 2). Указанные компоненты идентифицированы нами и определена концентрация каждого. Как следует из данных таблицы 2,

основными компонентами масла являются жирные кислоты: n -докозановая (21,32%), n -эйкозановая (19,25%) и 3-(4-метоксифенил)-2-пропеновая (11,45%), их содержание превышает 10% от цельного масла. 12 компонентов присутствуют в концентрациях более 1% и 2 компонента – в концентрации менее 1%. В малом количестве в масле обнаружены эфирные компоненты – линанилизовалериат и гераниол менее 0,2%.

Таблица 1

Выход, удельный вес и показатель преломления образцов масла из семян в разные сроки вегетации софоры японской

Наземная вегетативная часть софоры японской	Срок вегетации	Выход масла, %	d , г/см ³	n_D^{20}
Семена	сентябрь	8,2	0,849	1,4446
	октябрь	9,3	0,853	1,4450
	ноябрь	7,7	0,851	1,4449
	декабрь	7,1	0,855	1,4457

Таблица 2

Количественный состав масла из семян софоры японской

Наименование компонента	Индекс удерживания RI	Содержание, % от цельного масла
Гераниол	1255	0,11
Линанилизовалериат	1461	0,15
n -додекановая кислота	1600	3,46
3-(4-метоксифенил)-2-пропеновая кислота	1790	11,45
n -тетрадекановая кислота	1800	2,01
n -гексадекановая кислота	1923	4,15
Ди- n -бутилфталат	1962	0,23
цис, цис-октадекадиен-9,12-овая кислота	2097	5,54
цис, цис, цис-октадекатриен-9,12,15-овая кислота	2098	8,26
n -генэйкозановая кислота	2100	1,13
n -октадекановая кислота	2121	5,76
n -эйкозановая кислота	2324	19,25
n -пентакозановая кислота	2500	1,72
n -докозановая кислота	2524	21,32
n -тетракозановая кислота	2740	6,27
n -гексакозановая кислота	2918	4,21
n -церотиновая кислота	2943	0,66
n -октакозановая кислота	3112	4,32

Результаты исследования противогрибковой активности масла приведены в таблице 3. Из приведенных данных следует, что масло софоры японской проявляет противогрибковую активность к ряду как грамотрицательных, так и грамположительных микроорганизмов.

Таблица 3
Фунгистатическая, фунгицидная активность масла *Sophora japonica* L.

Исследуемый образец	Концентрация микроорганизмов, мкг/мл		
	<i>Candida albicans</i> шт. 1029/13	<i>Microsporium canis</i> шт. 1173	<i>Trichophyton rubrum</i> шт. 1220
Масло софоры японской	80**	80	80
Флуконазол	160**	160	160
	20**	20	20
	40**	40	40

* В числителе – фунгистатическое действие, в знаменателе – фунгицидное действие. ** Различия между повторами достоверны при $p=0,95$.

Выводы

Таким образом, проведенные исследования позволили выявить качественный и количественный химический состав масла семян *Sophora japonica* L. Софора японская может служить сырьем для получения масла, основными компонентами которого являются жирные кислоты: *n*-докозановая (21,32%), *n*-эйкозановая (19,25%) и 3-(4-метоксифенил)-2-пропеновая (11,45%). Исследование противогрибковой активности показало, что масло софоры японской проявляет противогрибковую активность в отношении *Candida albicans* 1029/13, *Microsporium canis* 1173 и *Trichophyton rubrum* 1220.

Библиографический список

1. Георгиевский В.П., Комисаренко Н.Ф., Дмитрук С.Е. Биологически активные вещества лекарственных растений. – Новосибирск, 1990. – 333 с.
2. Рахманин Ю.А., Недачин А.Е., Талаева Ю.Г. Итоги и перспективы научных исследований по проблеме экологии человека и гигиены окружающей среды. – М., 2002. – С. 140-161.
3. Кощеев А.К. Дикорастущие растения в нашем питании. – М., 1981. – 256 с.
4. Тутельян В.А., Суханов Б.П., Австриевских А.Н., Позняковский В.М. Биологически активные добавки в питании человека. – Томск, 1999. – 395 с.
5. Гуринович Л.К., Пучкова Т.В. Эфирные масла: химия, технология, анализ и применение. – М., 2005. – С. 108.
6. Николаевский В.В., Еременко А.Е., Иванов И.К. Биологическая активность эфирных масел. – М., 1987. – 144 с.
7. Войткевич С.А., Хейфиц Л.А. От древних благовоний к современным парфюмерии и косметике. – М., 1997. – 215 с.
8. Шретер А. Зеленая аптека. – М.: Планета, 1986. – С. 20.
9. Горяев М.И., Плива И. Методы исследования эфирных масел. – Алма-Ата, 1962. – 751 с.
10. Правила сборки и сушки лекарственных растений. – М., 1985. – 321 с.
11. Ткачев А.В. Исследование летучих веществ растений. – Новосибирск, 2008. – 969 с.
12. Espenel-Ingroft A., Boyle K., Sheehan D.J. *Mycopathologia*. – 2001. – V. 150. – P. 101-115.
13. Сергеев Ю.В., Шпигель Б.И., Сергеев А.Ю. Фармакотерапия микозов // Медицина для всех. – М., 2003. – С. 199.
14. Герхард Ф. Методы общей бактериологии. – М., 1983. – Т. 2. – С. 29.

