

ИЗУЧЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ СТЕРОИДНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В БАКЛАЖАНАХ (*SOLANUM MELONGENA L.*) В ПРОЦЕССЕ ОНТОГЕНЕЗА РАСТЕНИЙ

С.А. ШВЕЦ, доктор химических наук, П.К. КИНТЯ, доктор хабилитат химических наук

Институт Генетики АН Республики Молдова

Введение

Стероиды составляют обширную группу природных соединений, малые концентрации которых влияют на метаболизм растений и позволяют создавать оптимальный баланс между процессами их вегетативного и репродуктивного развития. Они не только обладают выраженной ростстимулирующей активностью, но и влияют на процессы репродуктивного развития растений, в частности на процессы формирования пыльцы, опыления, оплодотворения, формирования и развития зародышей у межвидовых гибридов, а также на завязываемость семян у различных культур и на урожайность [2].

Стероидные гликозиды влияют также на общую устойчивость растений к патогенам и неблагоприятным факторам внешней среды [4]. В настоящее время становится все более очевидным, что стероидные соединения имеют исключительное значение не только для человека и животных, но и для растений и выполняют важные функции. Как известно [1], холестерин является одним из биогенетических предшественников в биосинтезе стероидных соединений, в частности стероидных гликозидов. Исходя из этого, нашей целью являлось выявить, на какой фазе развития баклажанов (*Solanum melongena L.*) начинается биосинтез стероидных гликозидов и как связан этот процесс с накоплением стероидов в растении.

Объект исследования и методы

Изучали качественный состав и количественное соотношение компонентов фракций свободных и связанных стероидов в корнях и надземной части растений баклажанов в различных фазах вегетации: фаза 20-дневных проростков, фаза 3-х листьев, фаза цветения растений и фаза плодоношения, а также в семенах в последней фазе вегетации. Параллельно определяли содержание стероидных гликозидов в баклажанах в тех же фазах онтогенеза.

Порядок выделения стероидных компонентов из баклажанов сводился к тому, что предварительно измельченное сырье многократно экстрагировали смесью хлороформа и метанола в соотношении 2:1 при нагревании. Полученные вытяжки объединяли, разбавляли водой и отделяли водно-метанольный слой от хлороформного в делительной воронке. После концентрирования хлороформного экстракта остаток растворяли в минимальном количестве диэтилового эфира и препаративной хроматографией в тонком слое силикагеля (ТСХ) получали фракции этерифицированных и свободных стероидов. ТСХ осуществляли на силикагеле марки L 5/40 μ m и на пластинах «Silufol» (Чехия).

Водно-метанольный слой концентрировали в вакууме до сухого остатка, который хроматографировали на колонке с силикагелем, используя последовательно для элюации системы растворителей в соотношении об/об: хлороформ-метанол 95:5(а), 9:1(в), 4:1(с), а также – хлороформ-метанол-вода 65:30:3(д) и 65-35:5(е) об/об/об для получения гликозидов стероидов и стероидных гликозидов.

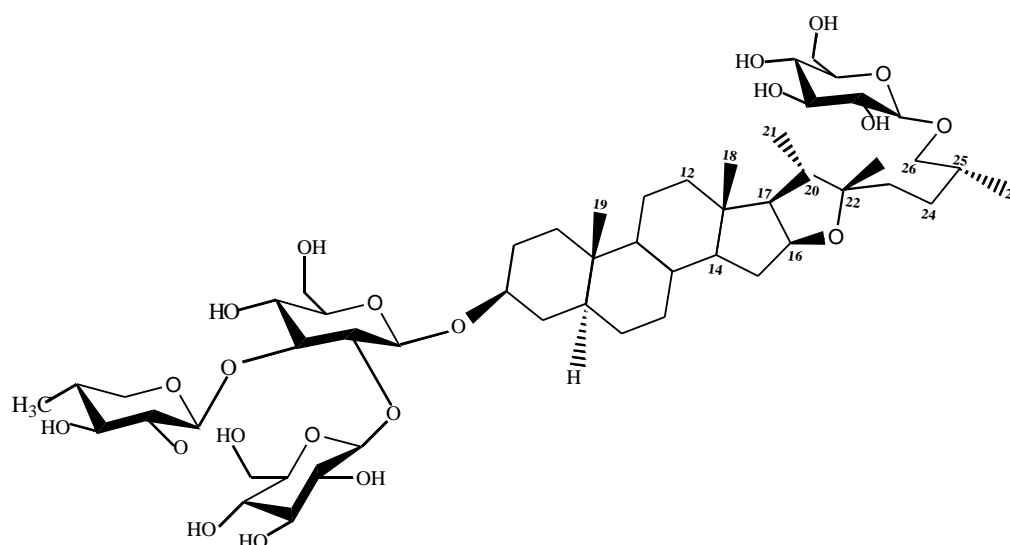
Фракции гликозидов стероидов гидролизовали водным раствором 8% серной кислоты 6 часов при 110⁰С. Освободившиеся стероиды извлекали из реакционной смеси диэтиловым эфиром. Наименее полярную фракцию эфиров жирных кислот стероидов (этерифицированные стероиды) обрабатывали 10% метанольным раствором NaOH 5 часов при нагревании. Из разбавленной водой реакционной смеси полученные свободные стероиды извлекали диэтиловым эфиром, затем очищали препаративно в тонком слое силикагеля.

Свободные стероиды, полученные в результате омыления и гидролиза фракций этерифицированных и гликозидов стероидов, а также фракции свободных стероидов анализировали с помощью газожидкостной хроматографии (ГЖХ). ГЖХ осуществляли на приборе «Хром-5», используя колонку стеклянную $l = 1,2$ м, наполненную 5% силиконом SE-30

на хроматоне N-AW-HMDS, газ – носитель гелий. Температура хроматографирования 230-250⁰С, скорость газа-носителя – 60мл/мин. Качественный состав стерина каждой фракции определяли на основании непосредственного сравнения времени удержания образцов с аналогичными показателями аутентичных образцов.

Процентное соотношение индивидуальных стерина в каждой фракции вычисляли по площадям их пиков на хроматограмме.

Водно-метанольные части экстрактов, полученные из корней и надземной части растений баклажанов в разных фазах вегетации, изучали с помощью ТСХ на наличие стероидных гликозидов в системах растворителей «в», «с», «d» и «е». Контролем служили стероидные гликозиды ряда спиростана и фуростана, выделенные нами ранее из семян баклажанов [3, 5, 6]. О присутствии стероидных гликозидов судили по качественным реакциям с реактивами Санье [8] и Эрлиха [7]. Структурная формула одного из стероидных гликозидов ряда фуростана – мелонгозида Р – представлена на рисунке.



Структурная формула мелонгозида Р

Результаты и обсуждение

В результате анализов установлено, что суммарные препараты стерина как свободной, так и связанных форм, полученных из семян, надземной части и корней баклажанов в перечисленных выше фазах растений качественно не различаются и представлены в основном следующими стеринами: холестерином, брассикастерином, кампестерином, стигмастерином, β-ситостерином, Δ⁵-авенастерином и Δ⁷-стигмастенолом (табл. 1,2).

Таблица 1

Состав и процентное соотношение стерина в семенах баклажанов сорта Донской 14

Фракция	Холестерин 0,64*	Брассикастерин 0,73*	Кампестерин 0,81*	Стигмастерин 0,870*	β-ситостерин 1,0**	Δ ⁵ -авенастерин 1,14*	Δ ⁷ -стигмастенол 123*
Этерифицированные стерина	9,3	-	-	-	51,5	39,1	следы
Свободные стерина	следы	-	5,7	6,1	88,0	-	-
Гликозиды стерина	11,5	-	4,5	8,0	71,2	5,0	следы

* Относительное время удерживания.

** Время удерживания 14 минут.

Таблица 2

Состав и процентное соотношение стеридов баклажанов в онтогенезе

Стериды	Корневая часть			Надземная часть		
	ЭТС	ССТ	ГСТ	ЭТС	ССТ	ГСТ
Проростки						
Холестерин	45,2	12,1	56,3	40,9	47,0	47,5
Брассикастерин	-	-	7,6	следы	5,6	5,0
Кампестерин	15,6	13,8	15,8	8,9	10,4	следы
Стигмастерин	12,3	49,2	следы	5,1	12,1	29,1
β -ситостерин	21,4	24,8	19,7	2,7	11,7	12,5
Δ^5 -авенастерин	5,4	-	-	18,4	10,6	следы
Δ^7 -стигмастенол	следы	-	-	23,8	2,1	5,8
Фаза 3-х листьев						
Холестерин	43,1	18,6	48,9	46,4	42,3	47,5
Брассикастерин	следы	следы	следы	-	следы	3,8
Кампестерин	17,7	24,1	11,0	13,6	9,4	7,1
Стигмастерин	10,4	34,9	18,6	9,7	24,5	15,8
β -ситостерин	23,6	22,3	21,4	12,3	19,7	10,3
Δ^5 -авенастерин	-	следы	-	6,8	3,6	9,8
Δ^7 -стигмастенол	-	-	-	12,1	следы	4,9
Фаза цветения						
Холестерин	56,3	47,0	36,4	38,2	49,6	27,9
Брассикастерин	-	-	-	следы	6,9	4,3
Кампестерин	1,1	10,0	6,9	7,8	8,7	10,9
Стигмастерин	28,4	33,4	36,9	39,2	7,4	20,2
β -ситостерин	14,1	9,6	19,7	5,1	12,3	29,4
Δ^5 -авенастерин	следы	следы	следы	5,4	8,1	2,6
Δ^7 -стигмастенол	-	-	-	3,1	6,7	4,8
Фаза плодоношения						
Холестерин	61,9	72,3	45,7	48,6	64,8	39,4
Брассикастерин	-	-	-	3,8	9,2	11,6
Кампестерин	8,9	3,2	22,8	8,1	следы	8,7
Стигмастерин	16,7	14,3	19,1	20,9	9,6	24,4
β -ситостерин	10,2	6,3	6,7	15,6	13,8	15,8
Δ^5 -авенастерин	2,1	3,8	4,6	2,3	следы	следы
Δ^7 -стигмастенол	следы	следы	следы	следы	-	-

Примечание: ЭТС – этерифицированные стериды; ССТ – свободные стериды; ГСТ – гликозилированные стериды.

Во всех исследуемых фракциях семян преобладает β -ситостерин, наибольшее количество которого находится в свободном состоянии. Такое высокое содержание свободного β -ситостерина (88% от суммы стеридов), вероятно, определяется его защитной функцией к воздействию неблагоприятных факторов среды. Значительно ниже содержание стигмастерина, кампестерина, холестерина. Причем последний находится главным образом в связанном состоянии. Отсутствуют в свободном состоянии Δ^5 -авенастерин и Δ^7 -стигмастенол. Не обнаружен брассикастерин.

В 20-дневных проростках по сравнению с семенами наблюдается незначительное содержание β -ситостерина и резкое увеличение содержания холестерина во всех фракциях из надземной части и во фракциях связанных стеридов в корнях. Отметим, что в корнях содержание свободного β -ситостерина в 2 раза больше, чем в надземной части.

Изменение соотношений индивидуальных стеридов можно объяснить их

взаимопревращением в растительной ткани и участием в биосинтетических процессах клетки. Заслуживает внимания повышение уровня холестерина, являющегося предшественником физиологически-активных веществ (алкалоиды, гликозиды и др.), количество которого достигает максимума в фазе плодоношения. Не исключена возможность таких превращений и в изучаемом объекте. Именно поэтому мы одновременно с определением содержания стерина анализировали надземную часть и корни баклажанов на наличие стероидных гликозидов в процессе онтогенеза растения. Как показали качественные реакции с реактивами Санье и Эрлиха, надземная и корневая части растения в фазах проростков и 3-х листьев, а также надземная часть растений в фазе цветения и плодоношения не содержали стероидных гликозидов.

Иная картина наблюдается при изучении содержания стероидных гликозидов в этих же фазах в корнях. Если в период цветения в корнях мы обнаружили незначительное содержание гликозидов ряда фуростана, хроматографическая подвижность которых на ТСХ в различных по полярности системах растворителей равняется хроматографической подвижности малополярных стероидных гликозидов ряда фуростана – мелонгозидов N и O, то в фазе плодоношения их количество возросло и обнаружены еще более полярные гликозиды ряда фуростана с хроматографической подвижностью на ТСХ, равной таковой у мелонгозидов P и Q. Стероидные гликозиды ряда спиростана в корнях и надземной части растений во всех фазах вегетации не обнаружены.

Следует отметить и тот факт, что содержание стероидных гликозидов коррелирует с содержанием свободного холестерина в фракции свободных стерина растения. Так корни растения в фазе созревания плодов содержат полярные стероидные гликозиды ряда фуростана и до 72,3% свободного холестерина от суммы стерина, тогда как в корнях проростков, в отсутствие гликозидов, холестерина только 12%. Это явление можно объяснить тем, что растение на стадии плодоношения усиленно синтезирует свободный холестерин в корнях для биосинтеза из него стероидных гликозидов. Не исключена возможность транспорта последних из корней в семена, где их накапливается до 3,6% от веса воздушно-сухих семян баклажанов.

Резкие количественные изменения в соотношении стероидных гликозидов индивидуальных стерина во всех фракциях при переходе от семян к растению свидетельствуют об активном метаболизме этих соединений в растительной ткани и выполнении ими различных функций при росте и развитии растения.

Заключение

На основании полученных результатов можно предположить, что в растениях баклажанов биосинтез стероидных гликозидов происходит в первую очередь в корнях растения в фазе цветения и особенно активно в фазе плодоношения. Предшественником стероидных гликозидов является холестерин: его содержание в сумме стерина в этой фазе вегетации растения наиболее высокое. Не исключена возможность транспорта стероидных гликозидов из корней в семена, где они накапливаются как вторичные метаболиты.

Список литературы

1. Артамонов В.И. Стероидные соединения растений // Успехи современной биологии. – 1978. – Вып.1. – № 4. – С. 19-30.
2. Балашова Н.Н., Жученко А.А., Пивоваров В.Ф., Балашова И.Т., Козарь И.Г., Беспалько А.В., Пышная О.Н., Кинтя П.К., Лупашку Г.А., Машенко Н.Е., Швец С.А., Бобейкэ В.А. Вторичные метаболиты растений как регуляторы стабильности агроценозов // Культурные растения для устойчивого сельского хозяйства в XXI веке (иммунитет, селекция, интродукция): Науч. тр. – М., 2005. – Т. 2. – С. 48-76.
3. Кинтя П.К., Швец С.А. Стероидные гликозиды семян *Solanum melongena*. Структура мелонгозидов А, В, Е, F, H // Химия природных соединений. – 1984. – № 5. – С. 610-614.
4. Лупашку Г.А., Сашко Е.Ф., Машенко Н.Е., Кинтя П.К., Швец С.А. Иммуномодуляторная активность стероидных гликозидов // Доклады Российской академии сельскохозяйственных наук. – 2004. – № 4. – С. 28-31.

5. Швец С.А., Кинтя П.К. Стероидные гликозиды. Строение мелонгозида К из семян *Solanum melongena* // Химия природных соединений. – 1984. – № 5. – С. 668-669.
6. Kintia P.C. Shvets S.A. Melongosides N, O, and P: Steroidal saponins from seeds of *Solanum melongena* // Phytochemistry. – 1985. – Bd.24. – Nr.7. – P. 1567-1569.
7. Kiyosawa S., Huton M. Detection of prototype compounds of diosgenin and other spirostanol glycosides // Chem. Pharm. Bull. – 1968. – Bd. 16. – P. 1162-1164.
8. Sannie C., Lapin H. Recherches sur les sapogenines a noyau steroligie. Identification de les genines sur de petites quantites de plantes // Bull. Soc. Chim. France. – 1952. – Bd. 19. – P. 1080-1082.

The study of steroid compounds in *Solanum melongena* L. in the process of plants ontogeny

Shvets S.A., Kintya P.K.

The composition and percentage of free and bound sterins and the presence of steroidal glycosides have been studied in egg-plants (*Solanum melongena* L.) at different vegetation stages. The findings have allowed the conclusion that biosynthesis of steroidal glycosides of the furostan series occurs in plant roots from cholesterol as a precursor, the content of which is the highest in the total sterins at the flowering and fruit-bearing stages. Steroidal glycosides are likely to be transported to seeds where they accumulate as second metabolites.