

УДК 581.1.

СОДЕРЖАНИЕ ЭКСТРАКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ И ОСТРАЯ ТОКСИЧНОСТЬ ЭКСТРАКТОВ ЛИСТВЕННИЦЫ КАЯНДЕРА

© С.М. Рожина¹, М.У. Кан^{1*}, А.Н. Журавская¹, К.Р. Поскачин²

¹ Институт биологических проблем криолитозоны СО РАН, пр. Ленина, 41,
Якутск, 677007, Россия, kanmiun@yandex.ru

² Новосибирский государственный университет, ул. Пирогова, 1,
Новосибирск, 630090, Россия

Объектами исследования являлись хвоя, отплодоносившие шишки и кора *Larix cajanderi* Mayr., широко распространенной на территории Якутии. Целью настоящего исследования было определение состава экстрактивных веществ, извлеченных из частей *L. cajanderi*, двумя способами и выявление острой токсичности экстрактов с помощью тест-функций *Paramecium caudatum*. Установлено, что состав и количество экстрактивных веществ отдельных частей лиственницы имеет существенные различия. Большое разнообразие ряда активных веществ установлено в хвое и коре, независимо от способа экстракции. В хвое обнаружены моно- и дисахариды, полиолы, флавоноиды, карбоновые и фенолоскислоты. Жирные и смоляные кислоты преобладают в шишках и коре. Применение предэкстракционной механохимической активации (ПЭМХА) хвои лиственницы повышает выход полиолов в экстракт, а из коры – моно- и дисахаридов. Установлено, что водно-спиртовой экстракт коры лиственницы содержит в значительном количестве флавоноид – катехин, когда как применение ПЭМХА приводило к увеличению в 1.5 раза содержание катехинов в экстракте. Показано, что различные сочетания концентрации этанола и содержания экстрактивных веществ в среде обитания инфузорий позволили определить острую токсичность экстрактов за счет появления тест-функций у *Paramecium caudatum*. Установлено, что экстракты, полученные с применением ПЭМХА сырья, приводят к раннему появлению тест-функций, ведущих к гибели инфузорий, относительно водно-спиртового экстракта.

Ключевые слова: *Larix cajanderi*, механоактивация, экстракция, экстрактивные вещества, *Paramecium caudatum*, тест-функция, острая токсичность.

Для цитирования: Рожина С.М., Кан М.У., Журавская А.Н., Поскачин К.Р. Содержание экстрактивных веществ и острая токсичность экстрактов лиственницы каяндера // Химия растительного сырья. 2024. №4. С. 316–324. DOI: 10.14258/jcpr.20240413413.

Введение

В настоящее время остро стоит вопрос комплексной переработки сырья древесных пород, в частности лиственницы. Лиственница является самой распространенной древесной породой лесосырьевой базы России, занимающей площадь более 264 млн га, что составляет примерно 38% всей лесопокрытой площади нашей страны. *Larix cajanderi* Mayr. произрастает в наиболее суровых условиях Северо-Востока Сибири, где почти не встречается конкуренции среди других лесобразующих видов [1]. В промышленности используется только ее стволовая часть, а хвоя, шишки и кора утилизируются нерационально, либо вообще не утилизируются. Между тем именно хвоя, отплодоносившие шишки и кора содержат большой запас биологически активных веществ, которые можно использовать в медицине, косметической и пищевой промышленности, сельском хозяйстве и других отраслях народного хозяйства, избирательно применяя выделенные комплексы биоактивных веществ.

Основным технологическим приемом выделения БАВ из растительного сырья является экстракция, с применением органического растворителя – этанола [2–4]. Для повышения выхода БАВ из органического сырья природного происхождения используют предэкстракционную механохимическую активацию твердого биосырья [5]. Технологические возможности твердофазной (без участия растворителей) механохимической активации позволяют создавать экологически чистые и малоотходные производства в различных областях, среди которых: переработка возобновляемого растительного, пищевого сырья; переработка

* Автор, с которым следует вести переписку.

техногенного сырья, очистка воды и атмосферы, реабилитация загрязненных территорий. Применение механохимических методов позволяет разработать технологии нового экологического уровня. Особенно эффективны твердофазные технологии для переработки неорганических и органических отходов различных производств, когда продукты можно использовать в составе строительных, вяжущих, гелеобразующих материалов. Продукты новой технологии обладают существенными экологическими преимуществами [6].

В последние годы отмечается повышенное внимание к проблеме безопасности биодобавок. Они имеют существенное преимущество перед синтетическими, в связи с более разносторонним влиянием на организм, более узким диапазоном противопоказаний и аллергических воздействий. Для оценки токсичности различных биологически активных веществ традиционно используют животных. Однако наряду с лабораторными животными на сегодняшний день разработано более 40 биотестов с использованием бактерий, грибов, водорослей, простейших, беспозвоночных и рыб [7]. Наиболее удобным, с высокой чувствительностью, с быстрым развитием тест-реакции на воздействие комплекса БАВ является метод с использованием в качестве тест-объекта представителя простейших, одноклеточный организм *Paramecium caudatum* [8]. Причем ранее было показано, что острая токсичность некоторых органических растворителей для инфузорий и для белых мышей имеет однонаправленное воздействие. Летальность клеток инфузорий является наиболее надежной тест-функцией для выявления токсических свойств БАВ [9].

Цель настоящего исследования – определение состава экстрактивных веществ, извлеченных из хвои, шишек и коры *Larix cajanderi*, двумя способами и выявление острой токсичности экстрактов с помощью тест-функции *Paramecium caudatum*.

Материалы и методы

Объектами исследования являлись хвоя, шишки и кора со стволовой части *Larix cajanderi* Мауг., относящаяся к семейству *Pinaceae*. Этот вид лиственницы широко распространен на территории Якутии и является самым северным деревом по месту своего произрастания [1]. Пробы отбирались с деревьев высотой 2–4 м в лиственничном лесу в окрестностях г. Якутска в конце июня 2021 г. Образцы высушивали в лабораторной лиофильной сушилке Jouan LP 3 (Франция) и сохраняли в герметичной упаковке. Сырье измельчали до 0.5 мм в ножевой мельнице. Для повышения эффективности экстракции использовали метод предэкстракционной механообработки сырья, помещая грубоизмельченное сырье в активаторе планетарного типа АГО-3 вместе с циркониевыми шарами ($d=0.5$ см), скорость вращения ротора 2500 об./мин, время активации – 2 мин. Измельченные и механоактивированные образцы экстрагировали 47.5% водно-этанольной смесью (экстрагент) в соотношении 1 : 10, в течение 20 суток, в темноте. Экстракты фильтровали через бумажные фильтры. Для получения разных вариантов концентраций экстрактивных веществ исходный экстракт разбавляли дистиллированной водой. Массу экстрактивных веществ определяли стандартным способом [10].

Для определения состава первичных и вторичных метаболитов 10 мг навески образцов хвои, шишек и коры *L. cajanderi* экстрагировали в 1 мл метанола. Полученные экстракты выпаривали при 40 °С на ротаторном испарителе, сухой остаток растворяли в 50 мкл пиридина. Для получения летучих триметилсилил-производных (ТМС) проводили дериватизацию с использованием 50 мкл *N,O*-бис-(триметилсилил)-три-фторацетамида (BSTFA) в течение 15 мин при 100 °С. Анализ проводили методом газовой хромато-масс-спектрометрии (ГХ-МС) на хроматографе «Маэстро» (Россия) с квадрупольным масс-спектрометром Agilent 5975С (США), колонка HP-5MS, 30 м × 0.25 мм. Для хроматографии использовали линейный градиент температуры от 70 до 320 °С со скоростью нагрева 4 °С/мин при потоке газа (гелий) 1 мл/мин. Анализ данных осуществляли с помощью программного обеспечения Agilent ChemStation [11]. Количественную интерпретацию хроматограмм проводили методом внутренней стандартизации по углеводороду C_{23} [12]. Обработка и интерпретация масс-спектрометрической информации проводилась с использованием стандартной библиотеки NIST 2011.

Для выявления острой токсичности экстрактов из шишек, хвои и коры лиственницы был использован тест-объект – одноклеточный организм *Paramecium caudatum*. Определение проводили по стандартным методикам, в капле среды, нанесенной на предметное стекло, с не менее 5 особями, в течение 10–15 мин [13]. Наблюдение вели с помощью микроскопа Axiostarpus (Carl Zeiss) при увеличении 10×0.25. Оценку действия раствора на *P. caudatum* устанавливали визуально по пороговой, остановочной и лизирующей тест-функции, когда <50% особей находились в определенном физиологическом состоянии. Концентрации, вызывающие ускорение движения парамеций, принимали за *пороговые*. Концентрации, при которых клетки останавливали движение, рассматривали как *остановочные*. Концентрации, приводящие к лизису клеток, считались

лизирующими [14]. Для вычитания эффекта этанола на тест-функции *P. caudatum* использовали контрольные растворы водно-этанольные смеси с теми концентрациями спирта, которые были в исследуемых экстрактах после разбавления исходных экстрактов: 1.5, 3.0 и 6.0%.

Эксперименты проводили в четырех повторностях. Результаты представлены в виде средней арифметической величины. Абсолютную ошибку рассчитывали из среднеквадратической ошибки с помощью коэффициента Стьюдента при $P = 0.95$ [15]. Сравнение средних значений выборок проводили методом однократного дисперсионного анализа (ANOVA). Значимость отличий между средними значениями определяли, используя критерий Ньюмена-Кейлса для множественных сравнений при уровне $P \leq 0.05$. Расчет проводили с помощью пакета Analyst Soft, Stat Plus – программа статистического анализа, v. 2007.

Результаты и обсуждение

В таблице 1 представлен ряд БАВ, выделенных из экстрактов хвои, шишек и коры *Larix cajanderi*, полученных водно-спиртовой экстракцией и с использованием предэкстракционной механохимической активации (ПЭМХА) сырья. Методом газовой хромато-масс-спектрометрии проведен анализ групп соединений: моно- и дисахаридов, полиолов, карбоновых, жирных, смоляных кислот и фенолоксидов. Содержание БАВ во всех экстрактах пересчитывали на грамм сухого сырья.

Моно- и дисахариды представлены фруктозой, глюкозой, маннозой, аллозой, талозой, галактозой, рибозой, арабинозой и сахарозой. Суммарное содержание моно- и дисахаридов в хвое лиственницы составило: без ПЭМХА 61.5 ± 3.1 мг/г_{сух. сырья}, после ПЭМХА – 60.6 ± 3.0 мг/г_{сух. сырья}, отличие статистически не достоверно (табл. 1). Можно отметить увеличение на 37% содержания сахарозы при ПЭМХА сырья.

В экстракте из шишек практически отсутствовала данная группа соединений. Зафиксировано незначительное содержание фруктозы, сахарозы и глюкозы при обеих способах экстракции.

Достоверное повышение на 33.3% суммарного содержания моно- и дисахаридов после ПЭМХА отмечено в экстрактах коры лиственницы (табл. 1). Увеличение произошло за счет маннозы (2.5 мг/г_{сух. сырья}) и арабинозы (1.3 мг/г_{сух. сырья}), которых не было в экстракте из шишек, либо они находились в незначительном количестве в экстракте из хвои. Манноза и арабиноза – моносахариды, хорошо растворяются в воде, имеют сладкий вкус. Известно, что манноза и арабиноза ингибируют рост бактерий, обладают противораковыми свойствами, замедляют рост опухоли и, усиливая эффективность действия химиотерапии, замедляют расщепление сахарозы на глюкозу и фруктозу [16, 17].

Полиолы – гидрогенизированные углеводы, многоатомные спирты, представлены пинитолом, миоинозитолом, сцилло-инозитолом, маннитолом, арабитолом и глицеролом. D-пинитол обладает широким спектром терапевтических свойств: антидиабетических, противовоспалительных, антиоксидантных, гепатопротекторных и др. [18, 19]. Инозитол – витаминоподобное вещество (стереоизомер пинитола; витамин В₈). Обладает мембранопротекторным; антиатеросклеротическим, ноотропным, антидепрессантным действием, улучшает передачу нервных сигналов. Он необходим для развития и функционирования клеток спинного мозга [20].

Установлено, что применение ПЭМХА хвои лиственницы приводит к увеличению выхода в экстракт: на 6.9% – пинитола, на 28.5% – маннитола (осмотический диуретик) и в 2.5 раза – инозитола. Экстракты шишек и коры лиственницы, полученные двумя способами, имели незначительное количество или совсем не содержали эти углеводы. Следует отметить самое высокое содержание в водно-спиртовом экстракте шишек лиственницы арабитола (сахарный спирт) – на 80% выше, чем в хвое.

Флавоноиды представляют собой широкую группу соединений, обладающих способностью образовывать хелатные комплексы. Потенциально они являются антиоксидантами, ингибируя перекисное окисление липидов, и хелатируют металлы [21]. Флавоноиды были обнаружены в основном в экстракте коры лиственницы в виде катехинов. Применение ПЭМХА коры приводило к увеличению в 1.5 раза количества катехинов в экстракте. Катехины способствуют снижению проницаемости и хрупкости мелких капилляров, нормализуют процесс тканевого дыхания, оказывают влияние на процесс связывания разнообразных токсических веществ и выведения их из организма, обладают вяжущим и бактериостатическим действием. Это мощные антиоксиданты, ингибирующие активные формы кислорода. Показано, что катехины и другие компоненты чая тормозят развитие онкологических заболеваний [22].

Таблица 1. Содержание ряда экстрактивных веществ хвои, шишек и коры *L. cajanderi*, мг/г сухого сырья, ($P \leq 0.05$)

Вещества	Хвоя	Хвоя (ПЭМХА)	Шишки	Шишки (ПЭМХА)	Кора	Кора (ПЭМХА)
Моно- и дисахариды						
Фруктоза	20.4±1.0	19.7±1.0	0.3±0.02	0.1±0.01	3.3±0.2	3.4±0.2
Глюкоза	20.3±1.0	19.3±1.0	0.3±0.02	0.2±0.01	1.0±0.1	1.8±0.1
Манноза	0.1±0.01	0.1±0.01	–	–	1.5±0.1	2.5±0.1
Аллоза	6.2±0.3	6.1±0.3	–	–	–	–
Талоза	1.4±0.1	1.8±0.1	–	–	0.5±0.03	0.6±0.03
Галактоза	10.1±0.5	9.5±0.5	–	–	–	–
Рибоза	–	–	–	–	0.3±0.02	0.4±0.02
Арабиноза	–	–	–	–	0.9±0.05	1.3±0.06
Сахароза	3.0±0.2	4.1±0.2	0.2±0.01	–	–	–
Сумма	61.5±3.1	60.6±3.0	0.8±0.4	0.3±0.01	7.5±0.4	10.0±0.5
Полиолы						
Пинитол	33.2±1.7	35.5±1.8	0.3±0.01	0.2±0.01	0.6±0.03	0.5±0.02
Мио-инозитол	0.8±0.1	2.0±0.1	–	–	–	–
Сцилло-инозитол	2.2±0.1	2.5±0.1	–	–	0.3±0.01	0.2±0.01
Маннитол	0.7±0.04	0.9±0.05	1.0±0.05	0.3±0.01	–	–
Арабитол	1.0±0.05	0.8±0.04	1.8±0.09	0.6±0.03	0.2±0.01	0.3±0.02
Глицерол	–	–	0.5±0.03	0.3±0.01	–	–
Сумма	37.9±1.9	41.7±2.1	3.6±0.2	1.4±0.07	1.1±0.06	1.0±0.05
Флавоноиды						
Эпигаллокатехин	0.1±0.01	0.2±0.02	–	–	–	–
Катехин	0.1±0.01	0.2±0.02	–	–	7.8±0.4	11.4±0.6
Протокатеховая кислота	–	–	0.3±0.01	0.2±0.01	1.1±0.06	1.3±0.07
Сумма	0.2±0.01	0.4±0.02	0.3±0.02	0.2±0.01	8.9±0.4	12.7±0.6
Карбоновые кислоты						
Молочная кислота	0.5±0.03	0.5±0.03	0.7±0.04	0.5±0.03	–	–
Яблочная кислота	0.1±0.05	0.2±0.01	–	–	–	–
Янтарная кислота	–	–	0.1±0.01	–	–	0.2±0.01
Сумма	0.6±0.03	0.7±0.04	0.8±0.04	0.5±0.03	0	0.2±0.01
Жирные кислоты						
Пальмитиновая кислота	0.5±0.03	0.5±0.03	0.2±0.01	0.1±0.005	0.4±0.02	0.2±0.01
Олеиновая кислота	–	–	–	–	0.1±0.005	–
Лигноцериновая кислота	–	–	–	–	0.1±0.005	0.3±0.02
Сумма	0.5±0.03	0.5±0.03	0.2±0.01	0.1±0.005	0.6±0.03	0.5±0.03
Смоляные кислоты						
Изопимаровая кислота	0.3±0.02	0.4±0.02	0.4±0.02	0.2±0.01	1.3±0.07	1.6±0.08
Абиетиновая кислота	0.4±0.02	0.5±0.03	0.2±0.01	0.1±0.005	0.3±0.02	0.5±0.02
Дегидроабиетиновая кислота	0.3±0.02	0.4±0.02	0.7±0.04	0.2±0.01	0.6±0.03	0.7±0.03
Коммуновая кислота	1.0±0.05	1.5±0.7	–	–	0.2±0.01	0.4±0.02
Сумма	2.0±0.1	2.8±1.4	1.3±0.07	0.5±0.03	2.4±0.1	3.2±0.2
Фенолокислоты						
Хинная кислота	39.3±2.0	37.2±1.9	0.3±0.02	–	2.2±0.1	1.0±0.05
Сумма	39.3±2.0	37.2±1.9	0.3±0.02	–	2.2±0.1	1.0±0.05

Карбоновые (молочная, яблочная и янтарная) и жирные (пальмитиновая, олеиновая и лигноцериновая) кислоты в исследуемых видах сырья находились в незначительном количестве, независимо от примененных методов экстракции.

Смоляные кислоты представлены четырьмя кислотами: изопимаровой, абиетиновой, дегидроабиетиновой и коммуновой. Известно, что дитерпеновые смоляные кислоты являются защитными соединениями хвойных растений от потенциальных травоядных и патогенов [23]. Наибольшее их суммарное содержание было в экстракте коры (2.4 ± 0.1 мг/г_{сух сырья}) и в хвое (2.0 ± 0.1 мг/г_{сух сырья}), причем ПЭМХА позволила увеличить их содержание еще в 1.3 и в 1.4 раза, соответственно. Увеличение произошло за счет повышения на 23% выхода в экстракт изопимаровой кислоты. Хинная кислота – важный промежуточный продукт биосинтеза ароматических соединений у высших растений и некоторых микроорганизмов. Содержится преимущественно в плодах ряда растений, кофейного дерева и др., а также в коре хинного дерева, летней хвое сосны

и др. [24]. В высших растениях хинная кислота легко превращается в шикимовую кислоту – важнейший промежуточный продукт обмена веществ у микроорганизмов и высших растений [25]. В экстрактах хвои, полученных водно-спиртовым способом и ПЭМХА, выделено статистически равноценное количество хинной кислоты. При ПЭМХА шишек и коры лиственницы не приводило к увеличению выхода в экстракт данного соединения.

Таким образом, ПЭМХА биосырья, которая не предусматривает использование ни воды, ни органических растворителей, ни высоких температур, считается щадящей и экологически чистой технологией [5, 6], а также позволяет в ряде случаев увеличить выход экстрагируемых веществ [6]. В таблице 2 показана масса экстрактивных веществ водно-спиртовых экстрактов (47.5%) хвои, шишек и коры *L. cajanderi* (мг/мл), полученного обычной экстракцией и с применением механохимической активации.

Из данных, приведенных в таблице 2, видно, что экстрагирование с применением ПЭМХА хвои лиственницы приводило к увеличению в 1.6 раза массы экстрактивных веществ. Тогда как в экстрактах, полученных из шишек и коры этого растения обоими способами, количество экстрактивных веществ статистически достоверно не изменилось.

Далее было изучено действие экстрактов хвои, шишек и коры *Larix cajanderi* на *Paramecium caudatum*, с учетом концентрации этанола и массы экстрактивных веществ при двух методах экстракции (табл. 3). Перед изучением действия экстрактов на тест-функции *P. caudatum* их нормировали по содержанию этанола и суммы экстрактивных веществ.

Известно, что сам этанол является клеточным ядом для биологических объектов, приводящим к денатурации ферментативных и мембранных белков клетки [26]. Ранее нами были проведены исследования для выявления эффективных (токсичных) концентраций водно-спиртовых растворов на инфузории и установлено, что тест-функции *P. caudatum* четко выражены, когда в среде обитания инфузорий содержится 1.5, 3.0 и 6.0% этанола [14].

Из данных, приведенных в таблице 3, видно, что сочетание 3% этанола в растворе и 0.5 мг/г_{сух сырь} в экстракте хвои лиственницы, полученного при ПЭМХА сырья, привело к лизированию клеток инфузорий, тогда как при этих же условиях, но с обычной экстракцией у тест-объекта зафиксирована лишь остановка движения клеток. Дальнейшее увеличение от 1.0 до 2.0 мг/г_{сух сырь} экстрактивных веществ при 3.0% содержания этанола в растворе привело к гибели инфузорий. 6.0% водно-спиртовой экстракт шишек лиственницы (вариант с ПЭМХА сырья) при присутствии в растворе 0.2 мг/г_{сух сырь} экстрактивных веществ остановил движение инфузорий. В тех же условиях с применением обычной экстракции у объекта фиксировалась пороговая тест-функция. Экстракты из коры, полученные после с ПЭМХА сырья и обычным способом, в вариантах с 1.5 и 3.0% этанолом и 0.5–2.0 мг/г_{сух сырь} содержанием экстрактивных веществ в среде привели к полной гибели инфузорий.

Таким образом, показано, что состав и количество экстрактивных веществ отдельных частей лиственницы имеет существенные различия. Большое разнообразие ряда активных веществ установлено в хвое (22 позиции) и коре (19), независимо от способа экстракции. В хвое преобладают моно- и дисахариды, полиолы и флавоноиды. Свободные кислоты преобладают в шишках и коре. Предварительная механохимическая активация сырья увеличивает выход моно- и дисахаридов из коры лиственницы за счет маннозы и арбинозы. Применение ПЭМХА хвои лиственницы повышает на 6.9% выход пинитола, маннитола на 28.5% и в 2.5 раза – инозитола в экстракт. Выявлено, что в водно-спиртовом экстракте шишек лиственницы на 80% выше содержание арабитола относительно экстракта из хвои. Среди флавоноидов можно выделить катехин, который обнаружен в значительном количестве в коре лиственницы. Следует отметить, что ПЭМХА коры привела к увеличению в 1.5 раза содержания катехинов в экстракте.

Суммарное максимальное содержание смоляных кислот было зафиксировано в экстракте коры, полученном с помощью ПЭМХА (3.2±0.2 мг/г_{сух сырь}), за счет выхода в экстракт на 23% больше изопимаровой кислоты, по сравнению с водно-спиртовой экстракцией. В экстрактах хвои, полученных водно-спиртовым способом и механоактивацией, выделено статистически равноценное количество хинной кислоты. Применение ПЭМХА шишек и коры лиственницы не привело к увеличению выхода в экстракт данного соединения. Установлено, что экстрагирование с применением предварительной механохимической активацией хвои лиственницы привело к увеличению в 1.6 раза массы экстрактивных веществ, в то время как в экстрактах, полученных из шишек и коры этого растения обоими способами, количество экстрактивных веществ статистически достоверно не изменилось.

Таблица 2. Масса экстрактивных веществ водно-спиртовых 47.5% экстрактов хвои, шишек и коры *L. cajanderi* (мг/мл), полученного обычной водно-этанольной экстракцией и с применением механоактивации

Метод экстракции	хвоя	шишки	кора
Обычная	16.6±0.1	7.7±0.1	31.5±0.4
ПЭМХА	27.1±0.1	7.9±0.1	32.8±0.2

Таблица 3. Тест-функции *Paramecium caudatum* в зависимости от концентрации этанола и содержания экстрактивных веществ в водно-спиртовых экстрактах хвои, шишек и коры *L. gmelinii* полученных разными способами

Концентрация водно-спиртовой смеси, %	Содержание экстрактивных веществ, мг/гсух сырья				
	0	0.2	0.5	1.0	2.0
хвоя					
1.5	ПК	П, ПМ	О, ОМ	О, ОМ	Л, ЛМ
3.0	ПК	П, ПМ	О, ЛМ	Л, ЛМ	Л, ЛМ
шишки					
3.0	ПК	П, ПМ	О, ЛМ	Л, ЛМ	Л, ЛМ
6.0	ОК	О, ОМ	О, ЛМ	Л, ЛМ	Л, ЛМ
кора					
1.5	ПК	О, ПМ	О, ЛМ	О, ЛМ	Л, ЛМ
3.0	ПК	П, ПМ	П, ЛМ	О, ЛМ	Л, ЛМ

ПК – Пороговая – стимуляция подвижности парамеций, контроль (водно-этанольная смесь); П – Пороговая – стимуляция подвижности парамеций, обычная экстракция; ПМ – Пороговая – стимуляция подвижности парамеций, механоактивация сырья; ОК – Остановочная – остановка движения клеток, контроль (водно-этанольная смесь); О – Остановочная – остановка движения клеток, обычная экстракция; ОМ – Остановочная – остановка движения клеток, механоактивация сырья; ЛК – Лизирующая – гибель клеток, контроль (водно-этанольная смесь); Л – Лизирующая – гибель клеток, обычная экстракция; ЛМ – Лизирующая – гибель клеток, механоактивация сырья.

Показано, что различные сочетания концентрации этанола и содержания экстрактивных веществ в среде обитания инфузорий позволили определить острую токсичность экстрактов за счет появления тест-функций у *P. caudatum*. Установлено, что экстракты, полученные с применением ПЭМХА сырья, приводят к раннему появлению тест-функций, ведущих к гибели инфузорий, относительно водно-спиртовой экстракции.

Выводы

В хвое обнаружены моно- и дисахариды, полиолы, флавоноиды, карбоновые и фенолоксиды. Жирные и смоляные кислоты преобладают в шишках и коре. Применение предэкстракционной механохимической активации (ПЭМХА) хвои лиственницы повышает выход полиолов в экстракт, а из коры – моно- и дисахаридов. Установлено, что водно-спиртовой экстракт коры лиственницы содержит в значительном количестве флавоноид – катехин, тогда как применение ПЭМХА приводило к увеличению в 1.5 раза содержание катехинов в экстракте. Показано, что различные сочетания концентрации этанола и содержания экстрактивных веществ в среде обитания инфузорий позволили определить острую токсичность экстрактов за счет появления тест-функций у *Paramecium caudatum*. Установлено, что экстракты, полученные с применением ПЭМХА сырья, приводят к раннему появлению тест-функций, ведущих к гибели инфузорий, относительно водно-спиртового экстракта.

Финансирование

Работа выполнена в рамках проекта «Физиолого-биохимические механизмы адаптации растений, животных, человека к условиям Арктики/Субарктики и разработка биопрепаратов на основе природного северного сырья повышающих эффективность адаптационного процесса и уровень здоровья человека в экстремальных условиях среды» (№ 0297-2021-0025; регистрационный номер ЕГИСУ НИОКТР АААА-А21-121012190035-9) и с применением оборудования ЦКП ФИЦ «ЯНЦ СО РАН» (грант № 13.ЦКП.21.0016).

Конфликт интересов

Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Открытый доступ

Эта статья распространяется на условиях международной лицензии Creative Commons Attribution 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), которая разрешает неограниченное использование, распространение и воспроизведение на любом носителе при условии, что вы дадите соответствующие ссылки на автора(ов) и источник и предоставите ссылку на Лицензию Creative Commons и укажете, были ли внесены изменения.

Список литературы

1. Габышева Л.П. Жизненные формы лишайницы Каяндера у северной границы ее распространения в Якутии // Наука и образование. 2017. №1. С. 104.
2. Жданова П.А., Демина Л.Н., Меньшикова В.К. Технология водно-спиртового экстрагирования растительного сырья // Технологии пищевой и перерабатывающей промышленности АПК-продукты здорового питания. 2020. №2. С. 51. <https://doi.org/10.24411/2311-6447-2020-10042>.
3. Бадогина А.И., Третьяков С.И., Кутакова Н.А., Коптелова Е.Н. Извлечение биологически активных веществ из луба березовой коры // Химия растительного сырья. 2015. №2. С. 135.
4. Бычков А.Л., Ломовский О.И. Современные достижения в механоферментативной переработке растительного сырья // Химия растительного сырья. 2017. №2. С. 35. <https://doi.org/10.14258/jcprm.2017021546>.
5. Ломовский О.И., Болдырев В.В. Механохимия в решении экологических задач. Новосибирск, 2006. 221 с.
6. Болдырев В.В. Механохимия и механическая активация твердых тел // Успехи химии. 2006. Т. 75 (3). С. 203.
7. Красовский Г.Н. Экстраполяция токсикологических данных с животных на человека. М., 2009. 208 с.
8. Терехова В.А. Биотест-системы для задач экологического контроля: методические рекомендации по практическому использованию стандартизированных тест-культур. М., 2014. 48 с.
9. Андреев В.А., Андреева Е.Ю., Эрдниев Л.П., Степанов Я.А., Микшта А.Ю., Мокшанов И.В., Ермолаева И.А., Степанова Н.В., Апчел В.Я. Использование тест-объекта *Paramecium caudatum* для определения острой токсичности физиологически активных веществ // Вестник Российской военно-медицинской академии. 2019. №2 (66). С. 110.
10. Государственная фармакопея РФ. XIV изд. М., 2018. Т. 2. 3262 с.; Т. 4. 7013 с.
11. Konoreva L., Prokopiev I., Frolov I., Chesnokov S., Rozhina S., Poryadina L., Shavarda A. Metabolite profiling of the *Cladonia* lichens using gas chromatography-mass spectrometry // Biochemical Systematics and Ecology. 2019. Vol. 85. Pp. 3–12. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2019.04.004>.
12. Слепцов И.В., Рожина С.М. Эколого-географические особенности накопления метаболитов в хвое *Larix cajanderi* на территории Якутии // Химия растительного сырья. 2021. №2. С. 275–280. <https://doi.org/10.14258/jcprm.2021028322>.
13. Степанова Э.Ф., Андреева И.Н., Огай М.А. Использование экспресс-методов оценки биологической активности на культуре клеток при разработке фитопрепаратов адаптогенного действия // Фармация на современном этапе – проблемы и достижения: научные труды. М., 2000. Т. 39-1. С. 299.
14. Кан М.У., Шашурин М.М., Журавская А.Н. Оценка биологической активности и токсичности экстрактов дикорастущих растений Центральной Якутии // Природные ресурсы Арктики и Субарктики. 2019. Т. 24, №1. С. 109. <https://doi.org/10.31242/2618-9712-2019-24-1-109-115>.
15. Лакин Г.Ф. Биометрия. М., 1990. 352 с.
16. Porru D., Parmigiani A., Tinelli C. Oral D-mannose in recurrent urinary tract infections in women: a pilot study // Journal of Clinical Urology. 2014. Vol. 7. P. 208.
17. Krog-Mikkelsen I., Hels O., Tetens I., Holst J., Andersen J., Bukhave K. The effects of L-arabinose on intestinal sucrase activity: dose-response studies in vitro and in humans // The American Journal of Clinical Nutrition. 2011. Vol. 94. P. 472. <https://doi.org/10.3945/ajcn.111.014225>.
18. Zheng K., Zhao Z., Lin N., Wu Y., Xu Y., Zhang W. Protective effect of pinitol against inflammatory mediators of rheumatoid arthritis via inhibition of protein tyrosine phosphatase non-receptor type 22 (PTPN22) // Medical science monitor: international medical journal of experimental and clinical research. 2017. Vol. 23. P. 1923. <https://doi.org/10.12659/msm.903357>.
19. Srivastava K., Tiwari M., Dubey A., Dubey A. D-Pinitol-A Natural Phytomolecule and its Pharmacological effect // International Journal of Pharmacy & Life Sciences. 2020. Vol. 11, no. 5. Pp. 6609–6623.
20. Ермолаева Е.О., Челнаков А.А., Австриевских А.Н. Новая формула биологически активных добавок с направленными функциональными свойствами // Ползуновский вестник. 2012. №2-2. С. 207–211.
21. Leopoldini M., Russo N., Chiodo S., Toscano M. Iron chelation by the powerful antioxidant flavonoid quercetin // Journal of agricultural and food chemistry. 2006. Vol. 54, no. 17. Pp. 6343–6351. <https://doi.org/10.1021/jf060986h>.
22. Афонина С.Н., Лебедева Е.Н., Сетко Н.П. Биохимия компонентов чая и особенности его биологического действия на организм (обзор) // Оренбургский медицинский вестник. 2017. Т. 5, №4 (20). С. 17.
23. Liu X., Chen W., Liu Q., Dai J. Abietic acid suppresses non-small-cell lung cancer cell growth via blocking IKK β /NF- κ B signaling // OncoTargets and Therapy. 2019. Pp. 4825–4837. <https://doi.org/10.2147/OTT.S199161>.
24. Кротович В.Л. Биохимия растений. М.: Высшая школа, 1986. 503 с.
25. Ghosh S., Chisti Y., Banerjee U. Production of shikimic acid // Biotechnology advances. 2012. Vol. 30, no. 6. Pp. 1425–1431. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2012.03.001>.
26. Пауков В.С. Отравления. Понятия о ядах и условиях их действия: учебное пособие. М., 2008. 332 с.

Поступила в редакцию 7 августа 2023 г.

После переработки 18 сентября 2023 г.

Принята к публикации 28 октября 2024 г.

Rozhina S.M.¹, Kan M.U.^{1*}, Zhuravskaya A.N.¹, Poskachin K.R.² CONTENT OF EXTRACTIVE SUBSTANCES AND ACUTE TOXICITY OF *LARIX CAJANDERI* EXTRACTS

¹ Institute of Biological Problems of Cryolithozone SB RAS, Lenina ave., 41, Yakutsk, 677007, Russia, kanmiun@yandex.ru

² Novosibirsk State University, Pirogova st., 1, Novosibirsk, 630090, Russia

The objects of the study were needles, fruiting cones and bark of *Larix cajanderi* Mayr., which is widespread in Yakutia. The aim of this study was to determine the composition of extractives extracted from parts of *L. cajanderi* in two ways and to detect acute toxicity of extracts using test functions of *Paramecium caudatum*. It has been established that the composition and amount of extractive substances of individual parts of larch has significant differences. A wide variety of a number of active substances is found in needles and bark, regardless of the method of extraction. The needles contain mono- and disaccharides, polyols, flavonoids, carboxylic and phenolic acids. Fatty and resin acids predominate in cones and bark. The use of pre-extraction mechanochemical activation (PEMCA) of larch needles increases the yield of polyols in the extract, and mono- and disaccharides from the bark. It was found that the water-alcohol extraction of larch bark contains a significant amount of phenol acid – catechin, while the use of PEMCA led to a 1.5-fold increase in the content of catechins in the extract. It was shown that various combinations of ethanol concentration and the content of extractive substances in the environment of ciliates made it possible to determine the acute toxicity of extracts due to the appearance of test functions in *Paramecium caudatum*. It has been established that the extracts obtained using PEMCA raw materials lead to the early appearance of test functions leading to the death of ciliates, relative to water-alcohol extraction.

Keywords: *Larix cajanderi*, *Paramecium caudatum*, mechanoactivation, acute toxicity, test function, extractives, extraction.

For citing: Rozhina S.M., Kan M.U., Zhuravskaya A.N., Poskachin K.R. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2024, no. 4, pp. 316–324. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.20240413413.

References

- Gabysheva L.P. *Nauka i obrazovaniye*, 2017, no. 1, p. 104. (in Russ.).
- Zhdanova P.A., Demina L.N., Men'shikova V.K. *Tekhnologii pishchevoy i pererabatyvayushchey promyshlennosti APK-produkty zdorovogo pitaniya*, 2020, no. 2, p. 51. <https://doi.org/10.24411/2311-6447-2020-10042>. (in Russ.).
- Badogina A.I., Tret'yakov S.I., Kutakova N.A., Koptelova Ye.N. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2015, no. 2, p. 135. (in Russ.).
- Bychkov A.L., Lomovskiy O.I. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2017, no. 2, p. 35. <https://doi.org/10.14258/jcprm.2017021546>. (in Russ.).
- Lomovskiy O.I., Boldyrev V.V. *Mekhanokhimiya v reshenii ekologicheskikh zadach*. [Mechanochemistry in solving environmental problems]. Novosibirsk, 2006, 221 p. (in Russ.).
- Boldyrev V.V. *Uspekhi khimii*, 2006, vol. 75 (3), p. 203. (in Russ.).
- Krasovskiy G.N. *Ekstrapolyatsiya toksikologicheskikh dannykh s zhivotnykh na cheloveka*. [Extrapolation of toxicological data from animals to humans]. Moscow, 2009, 208 p. (in Russ.).
- Terekhova V.A. *Biotest-sistemy dlya zadach ekologicheskogo kontrolya: metodicheskiye rekomendatsii po prakticheskomu ispol'zovaniyu standartizirovannykh test-kul'tur*. [Biotest systems for environmental monitoring tasks: guidelines for the practical use of standardized test cultures]. Moscow, 2014, 48 p. (in Russ.).
- Andreyev V.A., Andreyeva Ye.Yu., Erdniyev L.P., Stepanov Ya.A., Mikshta A.Yu., Mokshanov I.V., Yermolayeva I.A., Stepanova N.V., Apchel V.Ya. *Vestnik Rossiyskoy voyenno-meditsinskoy akademii*, 2019, no. 2 (66), p. 110. (in Russ.).
- Gosudarstvennaya farmakopeya RF. XIV izd.* [State Pharmacopoeia of the Russian Federation. XIV ed.]. Moscow, 2018, vol. 2, 3262 p.; vol. 4, 7013 p. (in Russ.).
- Konoreva L., Prokopiev I., Frolov I., Chesnokov S., Rozhina S., Poryadina L., Shavarda A. *Biochemical Systematics and Ecology*, 2019, vol. 85, pp. 3–12. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2019.04.004>.
- Sleptsov I.V., Rozhina S.M. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2021, no. 2, pp. 275–280. <https://doi.org/10.14258/jcprm.2021028322>. (in Russ.).
- Stepanova E.F., Andreyeva I.N., Ogay M.A. *Farmatsiya na sovremennom etape – problemy i dostizheniya: nauchnyye trudy*. [Pharmacy at the present stage - problems and achievements: scientific works]. Moscow, 2000, vol. 39-1, p. 299. (in Russ.).
- Kan M.U., Shashurin M.M., Zhuravskaya A.N. *Prirodnyye resursy Arktiki i Subarktiki*, 2019, vol. 24, no. 1, p. 109. <https://doi.org/10.31242/2618-9712-2019-24-1-109-115>. (in Russ.).
- Lakin G.F. *Biometriya*. [Biometrics]. Moscow, 1990, 352 p. (in Russ.).
- Porru D., Parmigiani A., Tinelli C. *Journal of Clinical Urology*, 2014, vol. 7, p. 208.
- Krog-Mikkelsen I., Hels O., Tetens I., Holst J., Andersen J., Bukhave K. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 2011, vol. 94, p. 472. <https://doi.org/10.3945/ajcn.111.014225>.
- Zheng K., Zhao Z., Lin N., Wu Y., Xu Y., Zhang W. *Medical science monitor: international medical journal of experimental and clinical research*, 2017, vol. 23, p. 1923. <https://doi.org/10.12659/msm.903357>.
- Srivastava K., Tiwari M., Dubey A., Dubey A. *International Journal of Pharmacy & Life Sciences*, 2020, vol. 11, no. 5, pp. 6609–6623.

* Corresponding author.

20. Yermolayeva Ye.O., Chelnakov A.A., Avstriyevskikh A.N. *Polzunovskiy vestnik*, 2012, no. 2-2, pp. 207–211. (in Russ.).
21. Leopoldini M., Russo N., Chiodo S., Toscano M. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2006, vol. 54, no. 17, pp. 6343–6351. <https://doi.org/10.1021/jf060986h>.
22. Afonina S.N., Lebedeva Ye.N., Setko N.P. *Orenburgskiy meditsinskiy vestnik*, 2017, vol. 5, no. 4 (20), p. 17. (in Russ.).
23. Liu X., Chen W., Liu Q., Dai J. *OncoTargets and Therapy*, 2019, pp. 4825–4837. <https://doi.org/10.2147/OTT.S199161>.
24. Kretovich V.L. *Biokhimiya rasteniy*. [Biochemistry of plants]. Moscow, 1986, 503 p. (in Russ.).
25. Ghosh S., Chisti Y., Banerjee U. *Biotechnology advances*, 2012, vol. 30, no. 6, pp. 1425–1431. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2012.03.001>.
26. Paukov V.S. *Otravleniya. Ponyatiya o yadakh i usloviyakh ikh deystviya: uchebnoye posobiye*. [Poisoning. Concepts of poisons and conditions of their action: a textbook]. Moscow, 2008, 332 p. (in Russ.).

Received August 7, 2023

Revised September 18, 2023

Accepted October 28, 2024

Сведения об авторах

Рожина Сахаяна Михайловна – младший научный сотрудник, sahayana-rozhina@mail.ru

Кан Ми Ун – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, kanmiun@yandex.ru

Журавская Алла Николаевна – доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник, jan43@mail.ru

Поскачин Кирилл Рудольфович – студент, sircookie02@gmail.com

Information about authors

Rozhina Sahayana Mikhailovna – junior researcher, sahayana-rozhina@mail.ru

Kan Mi Un – candidate of biological sciences, senior researcher, kanmiun@yandex.ru

Zhuravskaya Alla Nikolaevna – doctor of biological sciences, professor, chief researcher, jan43@mail.ru

Poskachin Kirill Rudolfovich – student, sircookie02@gmail.com