

УДК 547.586.5

ОСОБЕННОСТИ МЕТАБОЛОМНОГО ПРОФИЛЯ НА РАЗНЫХ СТАДИЯХ ОНТОГЕНЕЗА *PRUNELLA VULGARIS* (LAMIACEAE) ПРИ ВЫРАЩИВАНИИ В КЛИМАТИЧЕСКОЙ КАМЕРЕ

© Н.В. Петрова*, К.В. Сазанова, Н.А. Медведева, А.Л. Шаварда

Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, ул. Профессора Попова, 2,
Санкт-Петербург, 197376 (Россия), e-mail: NPetrova@binran.ru

Проведен метаболитный анализ метанольных экстрактов с применением метода газовой хроматографии – масс-спектрометрии (ГХ-МС) листьев *Prunella vulgaris* L. (Lamiaceae), выращенной в климатической камере. В каждом метаболомном профиле было обнаружено до 102 компонентов, из которых идентифицировано 41. Сравнительный анализ метаболомных изменений у *P. vulgaris* в процессе онтогенеза показал, что спектр метаболитов на стадии вегетации в значительной мере отличается от остальных стадий отсутствием таких групп метаболитов, как аминокислоты, терпены и липиды. Сравнение результатов статистической обработки данных по всем выявленным метаболитам продемонстрировало, что метаболомы цветущих и плодоносящих растений чаще совпадают, и лишь небольшое число метаболитов специфично для этих стадий, т.е. именно количественные характеристики метаболома *P. vulgaris* на стадиях цветения и плодоношения делают его специфичным. Результаты изучения пространственной структуры метаболитной сети показали наличие неоднородностей распределения метаболитов в основании листа, центральной и апикальной зонах. Привлечение метода главных компонент (МГК) для сравнительного анализа общих метаболитных профилей выявило, что различие метаболомов отдельных листьев одного растения значительно больше, чем локальные различия в пределах частей одной листовой пластинки. Пространственные неоднородности распределения метаболитов в листовой пластинке были проиллюстрированы на примере треоновой кислоты.

Ключевые слова: *Prunella vulgaris*, Lamiaceae, компонентный состав, метаболом, климатическая камера.

Работа выполнена в рамках государственного задания № ААА-А18-118031290059-1 Ботанического института им. В.Л. Комарова РАН и при поддержке программы фундаментальных исследований Отделения биологических наук РАН. Проект № АААА-А18-118032890100-1 «Ресурсный потенциал растений и грибов России».

Введение

Большое разнообразие вторичных метаболитов, в том числе тритерпеноидов, стероидов, фенолкарбоновых кислот и др., было обнаружено разными исследователями в надземной части черной головки обыкновенной (*Prunella vulgaris* L.) (Lamiaceae), что делает этот вид перспективным для использования в меди-

цине, в частности, как противодиабетическое, иммуномодулирующее, антиоксидантное и противовоспалительное средство [1–6].

Для ряда вторичных метаболитов, выделенных из *P. vulgaris*, таких как розмариновая, урсоловая и олеаноловая кислоты в литературе имеются данные о различии их количественного содержания в различных органах растений, также отмечается сезонность накопления вторичных метаболитов как дикорастущими растениями, так и в условиях интродукции [7–9]. Рядом исследова-

Петрова Наталья Валериевна – научный сотрудник
лаборатории растительных ресурсов, кандидат
биологических наук, e-mail: NPetrova@binran.ru

Сазанова Катерина Владимировна – научный сотрудник
лаборатории аналитической фитохимии, кандидат
биологических наук, e-mail: KSazanova@binran.ru

Медведева Нина Анатольевна – старший научный
сотрудник лаборатории растительных ресурсов, кандидат
биологических наук, доцент,
e-mail: NMedvedeva@binran.ru

Шаварда Алексей Леонидович – заведующий лабораторией
аналитической фитохимии, кандидат биологических наук,
e-mail: Shavarda@binran.ru

* Автор, с которой следует вести переписку.

телей даже разработаны приемы выращивания *P. vulgaris* в условиях гидропоники, направленные на максимальный выход отдельных соединений [10].

В последние годы в изучении медико-биологических свойств растений стал все чаще применяться метаболомный подход, основанный на полном описании профиля метаболитов объекта и их количественном определении. Одной из задач метаболомики является изучение ответной реакции организма на воздействие окружающей среды. В результате любого воздействия на организм происходят множественные изменения концентраций различных метаболитов с целью поддержания гомеостаза. Анализируя полученные профили, можно получить представление о физиологическом состоянии организма. Экспериментальной основой для современных исследований такого рода являются газовая и жидкостная хроматография, особенно эффективные в сочетании с масс-спектрометрией [14]. Цель данной работы – сравнительный анализ временных (онтогенетических) и пространственных особенностей метаболома растений *P. vulgaris*, выращенных в климатической камере.

Экспериментальная часть

Исходным материалом для опытного выращивания *P. vulgaris* в климатической камере послужили эремы (далее – семена), собранные в 2012 г. на территории Научно-опытной станции БИН РАН «Отрадное» (Ленинградская область, Приозерский р-н). После сбора семена хранили в бумажных пакетах при комнатной температуре. Перед посевом они прошли стратификацию в течение 3 месяцев при температуре $-3\text{ }^{\circ}\text{C}$. Семена (по 30 штук в двух повторностях) высаживали в универсальный грунт для выращивания рассады (торф, дерново-подзолистая почва, перлит, измельченный известняк, азот, фосфор, калий, микроэлементы). Полив осуществлялся по мере высыхания грунта. Растения выращивали в течение двенадцати месяцев в климатической камере «Sanyo MLR-351H» (Япония) в следующих режимах: первые два месяца – при освещении с 08-00 до 20-00 тремя лампами FL 40SS-W/37 по 5000 lx каждая и при температуре $+16\text{ }^{\circ}\text{C}$; с третьего месяца до окончания опыта растения находились при круглосуточном освещении и при температуре $+20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Для эксперимента отбирали листья из третьей пары укороченного побега (до цветения растения), а в генеративном состоянии – из третьей от соцветия пары листьев. Листья фиксировали в метаноле в виалах с завинчивающимися крышками (Agilent, US) при комнатной температуре в течение 24 ч, затем хранились в холодильнике. Метанольный экстракт упаривали на роторном испарителе. Растительный материал высушивали в термостате при $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ и взвешивали. Сухой остаток растворяли в пиридине, добавляли внутренний стандарт (C_{23}), затем вводили 20 мкл BSTFA ([N,O-бис-(триметилсилил)трифторацетамид]) (Supelco (US)). Для обеспечения достаточной полноты протекания реакции силилирования, виалы выдерживали в течение 15 мин при температуре $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ в специальном термоблоке. Образцы исследовали на хромато-масс-спектрометре фирмы Agilent Maestro 7820 с масс-селективным детектором Agilent 5975 D. Хроматографическое разделение проводили на капиллярной колонке Agilent HP-5MS, длиной 30 м, внутренним диаметром 0.25 мм и толщиной пленки неподвижной фазы 0.25 мкм в режиме программирования температуры. Программа: $70^{\circ}-6^{\circ}/\text{мин} - 325^{\circ}$ (50 мин), газ-носитель – гелий. Анализ проводился в режиме постоянства скорости газового потока через колонку (1 мл/мин). Температура испарителя $300\text{ }^{\circ}\text{C}$, деление потока при вводе проб 1:20. Сканирование масс-спектров от 50 до 1050 а. е. м. со скоростью 2 скана/сек. Хроматограммы образцов регистрировали по полному ионному току.

Разметку пиков хроматограмм выполняли в программе UniChrom. Всего было размечено 102 пика, идентифицировано 41. Количественный анализ проводился методом внутренней стандартизации по углеводороду (трикозан). Для количественной интерпретации таутомерных форм сахаров, образующиеся при силилировании [15–17], суммировались площади пиков различных форм аномеров углеводов. Неидентифицированные компоненты хроматограмм аннотировали с указанием индекса удерживания. В эту же группу были включены некоторые сахара, поскольку данная методика не всегда позволяет осуществить их точную идентификацию.

Статистическую обработку выполняли методом главных компонент в программе Microsoft Excel 2010 с использованием Multibase 2015.

Обработка и интерпретация масс-спектрометрической информации проводилась с использованием программы AMDIS и стандартной библиотеки NIST 2011, а также масс-спектрометрической библиотеки лаборатории аналитической фитохимии БИН РАН.

Результаты и обсуждение

По наблюдениям в климатической камере, через 17–20 дней после посадки семян *Prunella vulgaris* началось массовое появление проростков. Прорастание семян надземное. Из микропиллярного отверстия первым появляется корешок, короткий гипокотиль выносит на поверхность почвы семядоли. Черешки семядолей 0.1–0.3 см дл., светло-зеленые. Пластинки семядолей 0.3–1.0 см дл., 0.3–0.8 см шир., округлой формы, светло-зеленые, голые. Главный корень до 4.0 см дл. с отходящими от него боковыми корнями I порядка. Через 30–35 дней стали появляться первые настоящие листья. К 60-му дню опыта опыта, начали появляться новые проростки *P. vulgaris* (примерно 10% от количества, заложенного в опыте), которые впоследствии догнали в своем развитии проростки, появившиеся почти на два месяца раньше. К 60–70-му дню опыта подавляющее большинство растений черноголовки были представлены укороченными розеточными вегетативными побегами с 2–3(5) парами супротивно расположенных, цельных листьев на черешках; в пазухах листьев заложены боковые почки. В таком состоянии растения пребывали примерно 240 дней (почти 8 месяцев), не увеличивая количество пар листьев, а только незначительно увеличивая их размеры. Поскольку из литературных данных известно, что черноголовка обыкновенная зацветает на 3–4-й год, то для ускорения прохождения онтогенеза, на 60-й день опыта, мы перешли на круглосуточное освещение в климатокамере. На 100-й день опыта были взяты листья из 3-й пары для определения содержания метаболитов. На 250-й день опыта было отмечено образование соцветий, а к 300-му дню опыта – цветение. Опыление производилось искусственным путем. Массовое плодоношение зафиксировано через 10–15 дней. Более подробно об особенностях выращивания *P. vulgaris* в климатокамере мы сообщали ранее [18, 19].

В полученных ГХ-МС анализом хроматограммах было размечено по 102 компонента, из которых 41 был идентифицирован. Идентифицированные соединения представляли собой аминокислоты, органические и жирные кислоты, фенольные компоненты, терпены и др.

Характер метаболомного отклика на рост растений в эксперименте во многом определялся стадией онтогенеза (табл.).

Среди идентифицированных соединений существенный вклад в изменение метаболомных профилей *P. vulgaris* на разных стадиях онтогенеза внесли все группы обнаруженных веществ: все идентифицированные аминокислоты (1–8), липиды (30–33) и терпены (39–41), азотсодержащие соединения (этаноламин (21)), фенольные соединения (кофейная (35) и розмариновая (38) кислоты), многоатомные спирты (глицерол (22)) и органические кислоты (малоновая (11), шикимовая (16) и эритроновая (20)). Все вышеперечисленные соединения были обнаружены у растений на стадии плодоношения и не были зафиксированы у вегетирующих растений. На стадии вегетации в листьях *P. vulgaris* мажорными являлись органические кислоты, такие как молочная (9) и треоновая (19), отмечено высокое содержание некоторых сахаров (фруктоза (24) и глюкоза (26)) и фенольных соединений (метилловый эфир кофейной кислоты (36)) при сниженном уровне этих веществ у плодоносящих растений.

Динамика содержания метаболитов в листьях *Prunella vulgaris* L., выращенной в климатической камере (усл.ед. г⁻¹ сухой массы)

Номер Number	Соединения (Metabolites)	Вегетация (Vegetation)	Цветение (Blossom)	Плодоношение (Fructification)
1	2	3	4	5
<i>Аминокислоты (Amino acids)</i>				
1	α-Аланин (A-ALA)	–	1 ± 0.1	2 ± 0.3
2	Валин (VAL)	–	–	1 ± 0.4
3	Лейцин (LEU)	–	–	0.2 ± 0.1
4	Серин (SER)	–	0.3 ± 0.1	11 ± 0.1
5	Треонин (THR)	–	0.2 ± 0.1	2 ± 0.1
6	Глутаминовая кислота (GLU)	–	1 ± 0.1	11 ± 0.3
7	Аспарагин (ASN)	–	–	10 ± 0.4
8	Аспарагиновая кислота (ASP)	–	–	1 ± 0.1
<i>Органические кислоты (Organic acids)</i>				
9	Молочная кислота (Lactic acid)	42 ± 2	4 ± 0.3	5 ± 0.3
10	Гликолевая кислота (Hydroxyacetic acid)	2 ± 0.2	1 ± 0.1	1 ± 0.1
11	Малоновая кислота (Malonic acid)	–	–	0.2 ± 0.1
12	Янтарная кислота (Succinate)	2 ± 0.1	2 ± 0.1	1 ± 0.3

Окончание таблицы

1	2	3	4	5
13	Глицериновая кислота (Glycerate)	4 ± 0.2	2 ± 0.1	2 ± 0.1
14	Метилвый эфир глицериновой кислоты (Methylglycerate)	4 ± 0.1	1 ± 0.1	0.3 ± 0.2
15	Фумаровая кислота (Fumarate)	1 ± 0.1	3 ± 0.1	0.2 ± 0.1
16	Шикимовая кислота (Shikimic acid)	–	–	30 ± 0.2
17	Яблочная кислота (Malic acid)	11 ± 1	36 ± 0.5	36 ± 3
18	Глюконовая кислота (Gluconic acid)	3 ± 0.1	10 ± 0.4	3 ± 0.1
19	Треоновая кислота (Threonic acid)	29 ± 2	12 ± 1	1 ± 0.1
20	Эритроновая кислота (Erythronic acid)	–	0.5 ± 0.1	3 ± 0.1
<i>Азотсодержащие соединения (N-compounds)</i>				
21	Этаноламин (Ethanolamine)	–	–	1 ± 0.1
<i>Многоатомные спирты (Polyols)</i>				
22	Глицерин (Glycerol)	–	–	0.5 ± 0.1
23	Мио-инозитол (Myo-inositol)	18 ± 0.1	29 ± 1	50 ± 1
<i>Сахара (Sugars)</i>				
24	Фруктоза (Fructose)	335 ± 5	180 ± 1	57 ± 0.2
25	Сахароза (Sucrose)	63 ± 7	185 ± 4	139 ± 1
26	Глюкоза (Glucose)	476 ± 1	189 ± 6	241 ± 10
27	Ликсоза (Luxose)	5 ± 0.1	6 ± 0.1	3 ± 0.1
28	Галактоза (Galactose)	93 ± 1	53 ± 0.1	64 ± 3
29	Рафиноза (Raffinose)	–	20 ± 0.1	36 ± 4
<i>Липиды (Lipids)</i>				
30	Пальмитиновая кислота (C16:0)	–	8 ± 0.1	5 ± 1
31	Стеариновая кислота (C18:0)	–	2 ± 0.1	1 ± 0.01
32	Линолевая кислота (C18:2 (Δ9, 12))	–	–	0.1 ± 0.01
33	Элеостеариновая кислота C18:3 (Δ9, 11, 13)	–	5 ± 0.1	4 ± 0.1
<i>Фенольные соединения (Phenolics compounds)</i>				
34	Бензойная кислота (Benzoic acid)	1 ± 0.1	0.3 ± 0.1	0.1 ± 0.01
35	Кофейная кислота (Caffeic acid)	–	98 ± 3	55 ± 1
36	Метилвый эфир кофейной кислоты (Methyl ester caffeic acid)	12 ± 0.1	35 ± 0.4	5 ± 0.1
37	Хинная кислота (Quinic acid)	20 ± 0.3	7 ± 0.1	27 ± 0.1
38	Розмариновая кислота (Rosmarinic acid)	–	11 ± 0.5	19 ± 1
<i>Терпены (Terpenes)</i>				
39	Фитол (Phytol)	–	1 ± 0.1	1 ± 0.1
40	Олеаноловая кислота (Oleanolic acid)	–	2 ± 0.5	5 ± 0.1
41	Урсоловая кислота (Ursolic acid)	–	3 ± 0.1	16 ± 0.3

Примечание. Прочерк (–) означает, что соединение не обнаружено. За 1 усл. ед. принят 1 мкг TMS-производных идентифицированных соединений.

Различия метаболомных ответов у *P. vulgaris* на стадиях цветения и плодоношения заметно сглаживаются. Количество веществ, обнаруженных у одних растений и отсутствующих у других, стремится к минимуму. Так, у плодоносящих растений зафиксировано наличие девяти идентифицированных веществ, которые не обнаружили у растений на стадии цветения. Вместе с тем не было отмечено ни одного идентифицированного вещества, присутствующего в метаболоме у цветущих образцов и отсутствующих у плодоносящих образцов. Наиболее показательной являлась группа аминокислот: валин (2), лейцин (3), аспарагин (7) и аспарагиновая кислота (8) зафиксированы у *P. vulgaris* на стадии плодоношения и отсутствовали у цветущих образцов. Также у цветущих образцов отсутствовали малоновая (11) и шикимовая (16) кислоты, этаноламин (21), глицерол (22) и линолевая кислота (32). Содержание органических кислот, обнаруженных в каждой группе, сопоставимо, а, например, сахаров и фенольных соединений – значительно колебалось. Только содержание фруктозы (24) на стадии цветения, превосходило содержание этого вещества у плодоносящих растений в 3 раза, по остальным сахарам сохранялась тенденция незначительного увеличения количества идентифицированных углеводов от цветения к плодоношению. Среди фенольных соединений у бензойной кислоты (34) отмечено снижение содержания от вегетации к плодоношению, содержание кофейной кислоты (35) также снизилось, а максимальное содержание метилового эфира кофейной кислоты (36) зафиксировано на стадии цветения. У хинной кислоты (37), напротив, на стадиях плодоношения и вегетации отмечено более высокое содержание данной кислоты по сравнению со стадией цветения.

Особо следует отметить розмариновую кислоту (**38**), обладающую широким спектром биологической активности [20–23], поскольку *P. vulgaris* является перспективным источником этого соединения [24–26]. У вегетирующих растений розмариновая кислота нами не была обнаружена, однако она была зафиксирована у цветущих и плодоносящих экземпляров. Содержание розмариновой кислоты увеличивалось от цветения к плодоношению. Сезонная динамика содержания розмариновой кислоты в надземной части *P. vulgaris* ранее описывалась многими авторами [7–9, 27], однако литературные сведения не вполне совпадают между собой, из чего можно сделать вывод, что на накопление данного вещества влияют как экологические факторы, так и факторы, связанные с онтогенетическим состоянием растений.

Для статистического анализа метаболомных данных была создана матрица, в которой в качестве наблюдений выступали варианты (по 3 повторности) состояния растений в онтогенезе (вегетация, цветение, плодоношение), а в качестве параметров были взяты концентрации обнаруженных метаболитов. Таким образом, построенный профиль включал 12 наблюдений и 102 параметра. Для выявления специфичности метаболитных профилей *P. vulgaris*, был проведен анализ методом главных компонент (МГК) (рис. 1).

Сравнивались метаболомы растений, выращенных в эксперименте на разных стадиях онтогенеза. На основании проведенного анализа можно видеть, что точки, являющиеся отражением метаболомов листьев *P. vulgaris*, выращенных в климатической камере, объединились в 3 класса, соответствующие состояниям онтогенеза: вегетации, цветению и плодоношению. На рисунке 1 видно, что точки, соответствующие одному классу, не перекрываются и находятся в разных областях модели относительно первой (ГК₁) и второй (ГК₂) главных компонент. Суммарный процент объясненной информации для МГК модели составил 93.8% (52.4% для ГК₁ и 41.4% для ГК₂). Это свидетельствует о достоверном различии между составом метаболома на разных стадиях онтогенеза. Дисперсия точек (биохимических состояний) среди растений на одной стадии онтогенеза низкая.

Исследование пространственных неоднородностей метаболитной сети *P. vulgaris* было проведено на примере листовой пластинки вегетирующих растений. Лист *P. vulgaris* был поделен на 11 частей, для каждой из которых анализировались метаболомные профили. Опыт был проделан в трех повторностях. Статистический анализ выявил три неоднородные в продольном направлении зоны: основание листа, центральную и апикальную части (рис. 2).

Концентрации большинства соединений сильно варьировали в пределах листовой пластинки у разных листьев, хотя некоторые закономерности все же прослеживались. Наибольшие концентрации аминокислот и части карбоновых кислот были зафиксированы в основании листа. Сахара по листовой пластинке распределялись крайне неравномерно: наибольшие концентрации глюкозы и фруктозы обнаружены в апикальной части листа, а сахарозы – в основании. Пространственные неоднородности распределения метаболитов в листовой пластинке наглядно проиллюстрированы на примере треоновой кислоты (рис. 3).

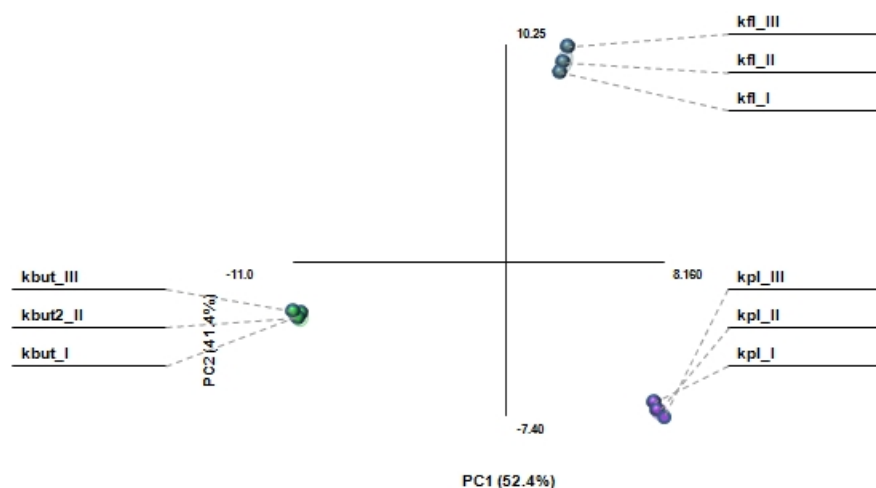


Рис. 1. Распределение метаболомов на разных стадиях онтогенеза у выращенной в климатической камере *Prunella vulgaris* L. на плоскости в координатах 1-й и 2-й главной компонент (ГК₁ и ГК₂ соответственно), рассчитанное по методу главных компонент. Модель построена на основе анализа концентраций 102 метаболитов. ГК₁ – 52.4% объясненной дисперсии; ГК₂ – 41.4% объясненной дисперсии. Kbut_I-III – стадия вегетации; Kfl_I-III – стадия цветения; Kpl_I-III – стадия плодоношения

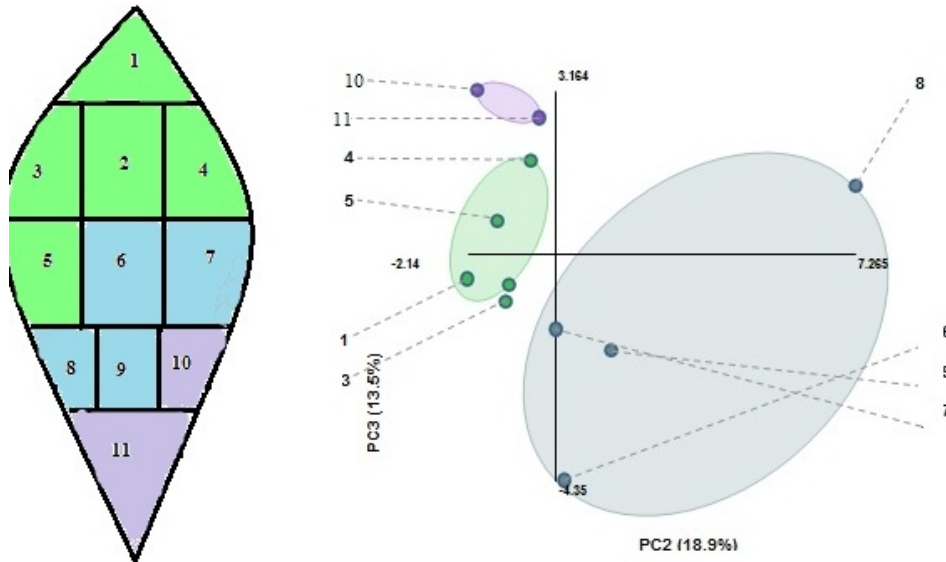


Рис. 2. Распределение метаболомов различных участков листьев *Prunella vulgaris* L. (выращенной в климатической камере) на плоскости в координатах 1-й и 2-й главной компонент (ГК₁ и ГК₂ соответственно), рассчитанное по методу главных компонент. Модель построена на основе анализа концентраций 102 метаболитов. ГК₁ – 13.5% объясненной дисперсии; ГК₂ – 18.9% объясненной дисперсии. 1–11 – участки листа

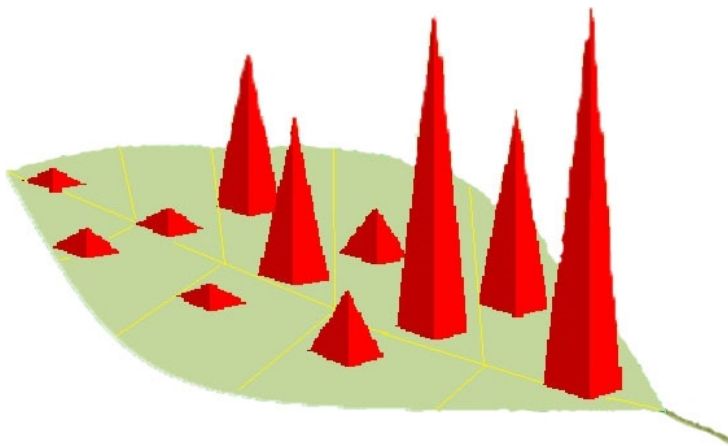


Рис. 3. Локальное распределение треоновой кислоты в листовой пластинке *Prunella vulgaris* L.

МПК-анализ, выполненный для метаболомов всех фрагментов листьев, показал, что локальные различия в пределах одной листовой пластинки оказались значительно ниже, чем разница между отдельными листовыми пластинками *P. vulgaris*.

Заключение

Сравнительный анализ метаболомных изменений у *P. vulgaris*, выращенной в климатической камере показал, что спектр метаболитов на стадии вегетации в значительной мере отличается от остальных стадий отсутствием таких групп метаболитов, как аминокислоты, терпены и липиды. Метаболиты цветущих и плодоносящих растений чаще совпадают, и лишь небольшое число метаболитов специфично для этих стадий, т.е. именно количественные характеристики метаболома *P. vulgaris* на стадиях цветения и плодоношения делают его специфичным. Результаты изучения пространственной структуры метаболитной сети показали наличие неоднородностей распределения метаболитов в основании листа, центральной и апикулярной зонах. При этом различия метаболома отдельных листьев одного растения значительно больше, чем локальные различия в пределах частей одной листовой пластинки.

Список литературы

1. Kageyama S., Kurokawa M., Shiraki K. Extract of *Prunella vulgaris* spikes inhibits HIV replication at reverse transcription *in vitro* and can be absorbed from intestine *in vitro* // *Antivir. Chem. Chemother.* 2000. Vol. 11, N 2. Pp. 157–164.
2. Liu S., Jiang S., Wu Z., Lv L., Zhang J., Zhu Z., Wu S. Identification of inhibitors of the HIV-1gp41 six-helix bundle formation from extracts of Chinese medicinal herbs *Prunella vulgaris* and rhizomacibotte // *Life Sci.* 2002. Vol. 71, N15. Pp. 1779–1791.
3. Huang N., Hauck C., Yum M.Y., Rizshsky L., Widrlechner M.P., McCoy J.A., Murphy P.A., Dixon P.M., Nikolau B.J., Birt D.F. Rosmarinic acid in *Prunella vulgaris* ethanol extract inhibits lipopolysaccharide-induced prostaglandin E2 and nitric oxide in RAW 264.7 mouse macrophages // *J. Agric. Food. Chem.* 2009. Vol. 57, N22. Pp. 10579–10589.
4. Mahboubi M., Mahboubi A., Kazempour N. The antimicrobial activity of *Prunella vulgaris* extracts // *Herba Polonica.* 2015. Vol. 61, N1. Pp. 31–38. DOI: <https://doi.org/10.1515/hero-2015-008>
5. Zhang X., Ao Z., Bello A., Ran X., Liu S., Wagle J., Kobinger G., Yao X. Characterization of the inhibitory effect of an extract of *Prunella vulgaris* on Ebola virus glycoprotein (GP)-mediated virus entry and infection // *Antiviral Res.* 2016. Vol. 127. Pp. 20–31. DOI:10.1016/j.antiviral.2016.01.001.
6. Pharmacopoeia of the People's Republic of China. Beijing. 2005. Vol. 1. 791 p.
7. Liu P., Yuan B., Yin D., Miao F. Accumulation laws of main medicinal ingredients in different part of *Prunella vulgaris* L. // *Acta Agric. Bor.-Occid. Sin.* 2010. Vol. 19, N10. Pp. 137–140.
8. Chen Y., Guo Q., Zhu Z., Zhang L. Changes in bioactive components related to the harvest time from the spicas of *Prunella vulgaris* // *Pharm. Biol.* 2012. Vol. 50, N9. Pp. 1118–1122. DOI: 10.3109/13880209.2012.658477
9. Chen Y., Zhu Z., Guo Q., Zhang L., Zhang X. Variation in concentrations of major bioactive compounds in *Prunella vulgaris* L. related to plant parts and phenological stages // *Biol. Res.* 2012. Vol. 45. Pp. 171–175. DOI: 10.4067/S0716-97602012000200009
10. Zhu Z.B., Yu M.M., Chen Y.H., Guo Q.S., Zhang L.X., Shi H.Z., Liu L. Effects of ammonium to nitrate ratio on growth, nitrogen metabolism, photosynthetic efficiency and bioactive phytochemical production of *Prunella vulgaris* // *Pharm. Biol.* 2014. Vol. 52, N12. Pp. 1518–1525. DOI: 10.3109/13880209.2014.902081
11. Wang H.B., Zhang Z.Y., Su Z.W. On the effect of total saponins from common selfheal (*Prunella vulgaris*) on experimental myocardial infraction and hypertension of anesthetized rats // *Chinese Trad. Herb. Drugs.* 1994. Vol. 25. Pp. 302–303.
12. Psotová J., Kolár M., Sousek J., Svagera Z., Vicar J., Ulrichová J. Biological activities of *Prunella vulgaris* extract // *Phytother. Res.* 2003. Vol. 17, N9. Pp. 1082–1087.
13. Zhou Q.X., Liu F., Zhang J.S., Lu J.G., Gu Z.L., Gu G.X. Effects of triterpenic acid from *Prunella vulgaris* L. on glycemia and pancreas in rat model of streptozotoin diabetes // *Chin. Med. J.* 2013. Vol. 126, N9. Pp. 1647–1653.
14. Лохов П.Г., Арчаков А.И. Масс-спектрометрические методы в метаболомике // *Биомедицинская химия.* 2008. Т. 54, №5. С. 199–511.
15. Bentley R., Botlock N. A gas chromatographic method analysis of anomeric carbohydrates and for determination of mutarotation coefficients // *Analytical Biochemistry.* 1967. Vol. 20. Pp. 312–320.
16. Yamabe S. Theoretical study of mutarotation of glucose // *Journal of Organic Chemistry.* 1999. Vol. 64. Pp. 4519–4524.
17. Le Barc'h N., Grosse J.-M., Looten P., Mathlouthi M. Étude de la cinétique de mutarotation du D-glucose en solution aqueuse concentrée par chromatographie en phase gazeuse // *Association AVN – 7^e Symposium – Reims (mars, 2000).* Reims, 2000. Pp. 46–54.
18. Петрова Н.В., Буданцев А.Л., Медведева Н.А., Шаварда А.Л. Особенности содержания урсоловой и олеаноловой кислот у дикорастущей *Prunella vulgaris* (*Lamiaceae*) и выращенной в климатической камере // *Химия растительного сырья.* 2016. №1. С. 79–84. DOI: 10.14258/jcrpm.201601921
19. Петрова Н.В., Буданцев А.Л., Медведева Н.А., Шаварда А.Л. Динамика содержания розмариновой кислоты в листьях *Prunella vulgaris* L. (*Lamiaceae*) в природе и эксперименте // *Растительные ресурсы.* 2016. Т. 52, вып. 2. С. 295–303.
20. Shimojo Y., Kosaka K., Noda Y., Shimizu T., Shirasawa T. Effect of rosmarinic acid in motor dysfunction and life span in a mouse model of familial amyotrophic lateral sclerosis // *J. Neurosci. Res.* 2010. Vol. 88, N4. Pp. 896–904.
21. Nunes S., Madureira R., Campos D., Sarmento B., Gomes A.M., Pintado M., Reis F. Therapeutic and nutraceutical potential of rosmarinic acid – cytoprotective properties and pharmacokinetic profile // *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 2017. Vol. 57, N9. Pp. 1799–1806. DOI:10.1080/10408398.2015.1006768
22. Oh H.A., Park C.S., Ahn H.J., Park Y.S., Kim H.M. Effect of *Perilla frutescens* var. *acuta* Kudo and rosmarinic acid on allergic inflammatory reactions // *Exp. Biol. Med. (Maywood).* 2011. Vol. 236, N1. Pp. 99–106. DOI: 10.1258/ebm.2010.010252
23. Psotová J., Chlopčíková S., Miketová P., Simánek V. Cytoprotectivity of *Prunella vulgaris* on doxorubicin-treated rat cardiomyocytes // *Fitoterapia.* 2005. Vol. 76, N6. Pp. 556–561.
24. Буданцев А.Л., Шаварда А.Л., Медведева Н.А., Петрова Н.В., Леострин А.В. Содержание розмариновой кислоты в листьях некоторых видов семейств *Lamiaceae* и *Boraginaceae* // *Растительные ресурсы.* 2015. Т. 51, вып. 1. С. 105–116.

25. Petersen M., Abdullah Y., Benner J., Eberle D., Gehlen K., Hücherig S., Janiak V., Kim K.H., Sander M., Weitzel C., Wolters S. Evolution of rosmarinic acid biosynthesis // *Phytochemistry*. 2009. Vol. 70, N15–16. Pp. 1663–1679.
26. Shekarchi M., Hajimehdipoor H., Saednia S., Gohari A. R., Hamedani M. P. Comparative study of rosmarinic acid content in some plants of *Labiatae* family // *Pharm. Magazine*. 2012. Vol. 8, N29. Pp. 37–41.
27. Петрова Н.В., Буданцев А.Л., Медведева Н.А., Шаварда А.Л. Сезонная динамика накопления кофейной, розмариновой, урсоловой и олеаноловой кислот в листьях *Prunella vulgaris* L. (Lamiaceae) // *Растительные ресурсы*. 2015. Т. 51, вып. 3. С. 420–426.

Поступило в редакцию 2 марта 2018 г.

После переработки 3 апреля 2018 г.

Для цитирования: Петрова Н.В., Сазанова К.В., Медведева Н.А., Шаварда А.Л. Особенности метаболомного профиля на разных стадиях онтогенеза *Prunella Vulgaris* (Lamiaceae) при выращивании в климатической камере // *Химия растительного сырья*. 2018. №3. С. 139–147. DOI: 10.14258/jcprm.2018033798.

*Petrova N.V.**, *Sazanova K.V.*, *Medvedeva N.A.*, *Shavarda A.L.* METABOLOMIC PROFILE AT THE DIFFERENT STAGES OF *PRUNELLA VULGARIS* (LAMIACEAE) ONTOGENESIS AT GROWING IN THE CLIMATE CHAMBER

Botanical Institute V.L. Komarova Russian Academy of Sciences, prof. Popova st., 2, St. Petersburg, 197376 (Russia), e-mail: NPetrova@binran.ru

By gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) technique based metabolite profiling of the methanol extract derived from leaves of *Prunella vulgaris* L. (Lamiaceae) was carried out. *P. vulgaris* was grown in climatic chamber. For every metabolomics profile, we estimated 102 target substances, and 41 of them were identified. Metabolite spectrum on vegetation stage is different than other stage by absent of groups: amino acids, terpenes and lipids. Comparison of the results of statistical analysis based on the data array, including all detected metabolites (metabolite profiling) show, that metabolomes of blossom and fructification stage of plants match often and only a small number of metabolites *P. vulgaris* at the this stage make it specific. It was studied the spatial heterogeneity in the structure of the metabolic network. The results of it are showed that metabolomes variety of the leaves from one plants much more than local variety in the range of parts of one leaf. Spatial distributions of metabolites of heterogeneity in a leaf have been illustrated on the example of threonic acid.

Keywords: *Prunella vulgaris*, Lamiaceae, component composition, metabolite, climatic chamber.

* Corresponding author.

References

1. Kageyama S., Kurokawa M., Shiraki K. *Antivir. Chem. Chemother.*, 2000, vol. 11, no. 2, pp. 157–164.
2. Liu S., Jiang S., Wu Z., Lv L., Zhang J., Zhu Z., Wu S. *Life Sci.*, 2002, vol. 71, no. 15, pp. 1779–1791.
3. Huang N., Hauck C., Yum M.Y., Rizshsky L., Widrlechner M.P., McCoy J.A., Murphy P.A., Dixon P.M., Nikolau B.J., Birt D.F. *J. Agric. Food. Chem.*, 2009, vol. 57, no. 22, pp. 10579–10589.
4. Mahboubi M., Mahboubi A., Kazempour N. *Herba Polonica*, 2015, vol. 61, no. 1, pp. 31–38. DOI: <https://doi.org/10.1515/hero-2015-008>
5. Zhang X., Ao Z., Bello A., Ran X., Liu S., Wigle J., Kobinger G., Yao X. *Antiviral Res.*, 2016, vol. 127, pp. 20–31. DOI: 10.1016/j.antiviral.2016.01.001
6. Pharmacopoeia of the People's Republic of China. Beijing. 2005, vol. 1. 791 p.
7. Liu P., Yuan B., Yin D., Miao F. *Acta Agric. Bor.-Occid. Sin.*, 2010, vol. 19, no. 10, pp. 137–140.
8. Chen Y., Guo Q., Zhu Z., Zhang L. *Pharm. Biol.*, 2012, vol. 50, no. 9, pp. 1118–1122. DOI: 10.3109/13880209.2012.658477.
9. Chen Y., Zhu Z., Guo Q., Zhang L., Zhang X. *Biol. Res.*, 2012, vol. 45, pp. 171–175. DOI: 10.4067/S0716-97602012000200009.
10. Zhu Z. B., Yu M. M., Chen Y. H., Guo Q. S., Zhang L. X., Shi H. Z., Liu L. *Pharm. Biol.*, 2014, vol. 52, N12, pp. 1518–1525. DOI: 10.3109/13880209.2014.902081.
11. Wang H.B., Zhang Z.Y., Su Z.W. *Chinese Trad. Herb. Drugs*, 1994, vol. 25, pp. 302–303.
12. Psotová J., Kolár M., Sousek J., Svagera Z., Vicar J., Ulrichová J. *Phytother. Res.*, 2003, vol. 17, no. 9, pp. 1082–1087.
13. Zhou Q.X., Liu F., Zhang J.S., Lu J.G., Gu Z.L., Gu G. X. *Chin. Med. J.*, 2013, vol. 126, no. 9, pp. 1647–1653.
14. Lohkov P.G., Archakov A.I. *Biomeditsinskaya khimiya*, 2008, vol. 54, no. 5, pp. 199–511. (in Russ.).
15. Bentley R., Botlock N. *Analytical Biochemistry*, 1967, vol. 20, pp. 312–320.
16. Yamabe S. *Journal of Organic Chemistry*, 1999, vol. 64, pp. 4519–4524.
17. Le Barc'h N., Gossel J.-M., Looten P., Mathlouthi M. *Association AVN – 7^e Symposium – Reims (mars, 2000)*. Reims, 2000, pp. 46–54.
18. Petrova N.V., Budantsev A.L., Medvedeva N.A., Shavarda A.L. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2016, no. 1, pp. 79–84. DOI: 10.14258/jcprm.201601921 (in Russ.).
19. Petrova N.V., Budantsev A.L., Medvedeva N.A., Shavarda A.L. *Rastitel'nyye resursy*, 2016, vol. 52, no. 2, pp. 295–303. (in Russ.).
20. Shimojo Y., Kosaka K., Noda Y., Shimizu T., Shirasawa T. *J. Neurosci. Res.*, 2010, vol. 88, no. 4, pp. 896–904.
21. Nunes S., Madureira R., Campos D., Sarmiento B., Gomes A. M., Pintado M., Reis F. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 2017, vol. 57, no. 9, pp. 1799–1806. DOI:10.1080/10408398.2015.1006768
22. Oh H.A., Park C.S., Ahn H.J., Park Y.S., Kim H.M. *Exp. Biol. Med. (Maywood)*, 2011, vol. 236, no. 1, pp. 99–106. DOI: 10.1258/ebm.2010.010252.
23. Psotová J., Chlopčíková S., Miketová P., Simánek V. *Fitoterapia*, 2005, vol. 76, no. 6, pp. 556–561.
24. Budantsev A.L., Shavarda A.L., Medvedeva N.A., Petrova N.V., Leostrin A.V. *Rastitel'nyye resursy*, 2015, vol. 51, no. 1, pp. 105–116. (in Russ.).
25. Petersen M., Abdullah Y., Benner J., Eberle D., Gehlen K., Hücherig S., Janiak V., Kim K.H., Sander M., Weitzel C., Wolters S. *Phytochemistry*, 2009, vol. 70, no. 15–16, pp. 1663–1679.
26. Shekarchi M., Hajimehdipoor H., Saednia S., Gohari A.R., Hamedani M.P. *Pharm. Magazine.*, 2012, vol. 8, no. 29, pp. 37–41.
27. Petrova N.V., Budantsev A.L., Medvedeva N.A., Shavarda A.L. *Rastitel'nyye resursy*, 2015, vol. 51, no. 3, pp. 420–426. (in Russ.).

Received March 2, 2018

Revised April 3, 2018

For citing: Petrova N.V., Sazanova K.V., Medvedeva N.A., Shavarda N.A. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2018, no. 3, pp. 139–147. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.2018033798.

