

УДК 547.94:834.2

**ВЛИЯНИЕ ЗАСУХИ НА СОСТАВ И СОДЕРЖАНИЕ АЛКАЛОИДОВ
В СЕМЕНАХ *CHAMAECYTISUS RUTHENICUS* (FISCH. EX WOLOSZCZ.)
KLASKOVA, ПРОИЗРАСТАЮЩЕГО В ГОРНО-ЛЕСНОЙ ЗОНЕ
ЮЖНОГО УРАЛА ***

© *И.П. Цытышева^{1**}, Е.Г. Галкин¹, П.Р. Петрова¹, А.В. Ковальская¹, Н.И. Федоров²*

¹*Уфимский институт химии Уфимского научного центра РАН, пр. Октября,
71, Уфа, 450054 (Россия), e-mail: tsipisheva@anrb.ru*

²*Уфимский институт биологии Уфимского научного центра РАН,
пр. Октября, Уфа, 71, 450054 (Россия)*

Методом хромато-масс-спектрометрии определено содержание хинолизидиновых алкалоидов в семенах *Chamaecytisus ruthenicus* (Fisch. ex Woloszcz.) Klaskova, собранных в засушливом 2010 г. и в нормальном по сумме выпавших осадков 2011 г. Сумма алкалоидов из семян раkitника была выделена в два этапа. Первый этап включал предварительное «обезжиривание» измельченных семян гексаном, затем полученную гексановую вытяжку промыли водным раствором 3% соляной кислоты, кислый экстракт обработали Na_2CO_3 до pH 9 и экстрагировали алкалоиды хлороформом. Параллельно обезжиренные семена исчерпывающе экстрагировали водно-ацетоновой смесью (1 : 9) и полученный водно-ацетоновый экстракт обрабатывали в соответствии с традиционной методикой. Алкалоиды, полученные из гексановой вытяжки и обезжиренных семян, объединили, сконцентрировали и анализировали хромато-масс-спектрометрическим методом. Индивидуальные алкалоиды идентифицировали по их полным масс-спектрам, используя в качестве «свидетеля» d-лупанин. На основании полученных результатов установили, что в условиях засухи 2010 г. содержание алкалоидов в семенах *Ch. ruthenicus* существенно ниже, чем в типичном по своим погодным условиям 2011 г. (0.81% против 3.2%). Однако сумма алкалоидов семян раkitника, собранных в период засухи, более разнообразна по своему составу – в ней содержатся спартеин, аммодендрин, метилцитизин, 17-оксоспартеин, софокарпин, d-лупанин и изохинолиновый алкалоид сальсолидин. В семенах раkitника русского 2011 г. обнаружены только четыре алкалоида – спартеин, d-лупанин, 17-оксоспартеин и софокарпин.

Ключевые слова: *Chamaecytisus ruthenicus* (Fisch. ex Woloszcz.) Klaskova, раkitник русский, хинолизидиновые алкалоиды, спартеин, метилцитизин, лупанин, сальсолидин, аммодендрин, хромато-масс-спектрометрия.

Работа выполнена в рамках государственного задания УФИХ УФИЦ РАН по темам № АААА-А17-117011910025-6 и № АААА-А17-117011910027-0. Аналитические эксперименты выполнены на оборудовании центра коллективного пользования «Химия».

Цытышева Инна Петровна – кандидат химических наук, старший научный сотрудник лаборатории биоорганической химии и катализа, e-mail: tsipisheva@anrb.ru

Галкин Евгений Григорьевич – кандидат химических наук, старший научный сотрудник лаборатории ФХМА, e-mail: spectr@anrb.ru

Петрова Полина Радиковна – младший научный сотрудник лаборатории биоорганической химии и катализа, e-mail: tsipisheva@anrb.ru

Ковальская Алена Витальевна – кандидат химических наук, научный сотрудник лаборатории биоорганической химии и катализа, e-mail: tsipisheva@anrb.ru

Федоров Николай Иванович – доктор биологических наук, заведующий лабораторией экологии растительных ресурсов, e-mail: fedorov@anrb.ru

Введение

Как известно, качественный и количественный состав биологически активных веществ, содержащихся в растениях, может заметно варьироваться в зависимости от видовой принадлежности, стадии сезонного развития, возраста и от суточного времени сбора, а также быть различным в вегетативных (корнях, стеблях и листьях) и генеративных (бутоны, цветы, плоды) органах растений [1–4]. Выявление закономерностей изменения химического состава растений в зависимости от влияния природно-климатических

* Данная статья имеет электронный дополнительный материал (приложение), который доступен читателям на сайте журнала. DOI: 10.14258/jcrpm.2018044016s.

** Автор, с которым следует вести переписку.

факторов (средняя температура, влажность, состав почвы, освещенность, высота над уровнем моря), несмотря на трудоемкость, является важной задачей, решение которой позволяет приблизиться к пониманию механизмов адаптации растений к окружающей среде и выявить оптимальные места и сроки проведения их заготовки в качестве сырья, в том числе и для медицинских препаратов [5, 6]. Кроме того, научный и практический интерес представляет анализ влияния на химический состав растений временных стрессовых воздействий (погодные аномалии и антропогенные факторы), а также введения растений в интродукцию [7, 8].

Так, растения семейства бобовых (*Fabaceae*) являются основными продуцентами хинолизиновых алкалоидов [9–12], обладающих высокой биологической активностью в индивидуальном виде [4, 11, 13, 14] и являющихся популярными исходными соединениями для синтеза новых биологически активных веществ [15–17]. В рамках задачи по выявлению растительных источников этих ценных вторичных метаболитов среди представителей флоры Республики Башкортостан (РБ) и сопредельных территорий, начиная с 2010 г. до настоящего времени нами исследован алкалоидный состав термопсиса Шишкина (*Thermopsis schischkinii* (Czefr.)), термопсиса ланцетовидного (*Thermopsis lanceolata* ssp. *sibirica* (Czefr.)), дрока красильного (*Genista tinctoria* L.) и частично раkitника русского (*Chamaecytisus ruthenicus* (Fisch. ex Woloszcz.) Klaskova). Для этих видов бобовых были изучены особенности сезонной динамики накопления алкалоидов, распределения алкалоидов в органах растений, в том числе и в зависимости от внутривидовой структуры и условий местообитания [18–22].

На территории Российской Федерации произрастает 10 видов раkitников, но раkitник русский (*Ch. ruthenicus*) имеет наибольшее распространение, этот кустарник произрастает в Восточной Европе, Закавказье, на Северном Кавказе, юге Западной Сибири, в Европейской части России [23]. На территории Республики Башкортостан (РБ) и в Южно-уральском регионе этот кустарник встречается практически повсеместно [24]. С целью завершения комплексной оценки перспективности раkitника русского как сырьевого источника алкалоидов спартеина и d-лупанина, содержащихся в его стеблях, листьях и генеративных органах (цветках и плодах) [21], нами проведен сравнительный анализ влияния погодных условий на содержание и алкалоидный состав семян, собранных в аномально засушливом по погодным условиям 2010 и в нормальном по количеству осадков 2011 гг.

Экспериментальная часть

Сбор и подготовка растительного материала. Сбор семян раkitника русского проводился в 2010 и 2011 гг. в период плодоношения (полной зрелости бобов) на пробной площади, расположенной на опушке сосново-березового леса ассоциации *Vupleuro longifoliae-Pinetum sylvestris* на плоской вершине небольшого увала (430 м над у.м.) в районе поселка Меседа Катав-Ивановского района Челябинской области РФ (рис. 1 электронного приложения).

По данным Катав-Ивановской метеостанции [25], расположенной в 32 км от места сбора семян, средняя среднесуточная температура воздуха в период от начала разворачивания листьев до формирования плодов (июнь-июль) в 2010 г. была выше, чем в 2011 г. При этом сумма выпавших атмосферных осадков в 2010 г. за период от начала вегетации до формирования плодов была более чем в 5 раз ниже, чем в 2011 г., и, таким образом, 2010 г. был аномально засушливым (рис. 1). В 2010 г. засуха и повышенная температура воздуха ускорили наступление плодоношения на две недели по сравнению с 2011 г.

Стручки с бобами одинаковой степени зрелости собирались не менее чем с 50 растений. Видовая принадлежность определена доктором биологических наук Н.И. Федоровым (УИБ УФИЦ РАН, Уфа). Гербарные образцы *Ch. ruthenicus* с мест сбора растительного сырья хранятся в гербарии УИБ УФИЦ РАН (фотография *Ch. ruthenicus* в период цветения с места сбора представлена на рисунке 2 электронного приложения). Собранный растительный материал высушивали при комнатной температуре, после чего семена отделялись от створок и хранились в сухом проветриваемом помещении до момента измельчения.

Выделение суммы алкалоидов. Образцы семян раkitника русского, собранные в 2010 и 2011 гг., в количестве 20 г измельчали непосредственно перед анализом. Алкалоидсодержащие экстракты получали «двухступенчатым» методом. Сначала измельченные семена промывали гексаном (3×40 мл), объединенные гексановые слои экстрагировали в делительной воронке 3% водным раствором HCl (3×30 мл). Полученный солянокислый раствор осторожно нейтрализовали безводным Na₂CO₃, далее доводили до pH 9, после чего алкалоиды экстрагировали хлороформом (3×50 мл). Хлороформные вытяжки сушили над безводным Na₂SO₄ и концентрировали; получили часть свободных оснований, отмытых гексаном. Параллель-

но обезжиренные измельченные семена настаивали водно-ацетоновой смесью (1 : 9) до получения отрицательной пробы с кремневольфрамовой кислотой, из которой алкалоиды далее извлекали стандартным методом согласно [26], объединив их на последнем этапе со свободными основаниями, полученными из гексанового экстракта. В результате было получено два упаренных алкалоидсодержащих экстракта рабитника русского: I – экстракт семян сбора 2010 г. (0.16 г) и II – экстракт семян, собранных в 2011 г. (0.64 г).

Хромато-масс-спектрометрические исследования. Хромато-масс-спектрограммы регистрировались на масс-спектрометре высокого разрешения Thermo Finnigan MAT95XP, метод ионизации электронный удар 70 eV, температура инжектора 250 °С, колонка HP-5MS, 30 м × 0.25 мм × 0.25 мкм толщина фазы; режим: начальная температура 120 °С 3 мин, изотерма 250 °С 10 мин.

Компоненты исследуемых смесей идентифицировали по полным масс-спектрам [27], вероятность сходства зарегистрированных и библиотечных спектров (Q) указана в таблице. В качестве «свидетелей» использовали алкалоид d-лупанин, относительное время удерживания (RRT) которого принимали за 1.00. Количественный анализ выполняли методом внутренней нормировки по площадям хроматографических пиков без использования корректирующих коэффициентов, содержание алкалоидов приведено в процентах от веса воздушно-сухого сырья (ВСС). За 100% принимали сумму площадей пиков компонентов.

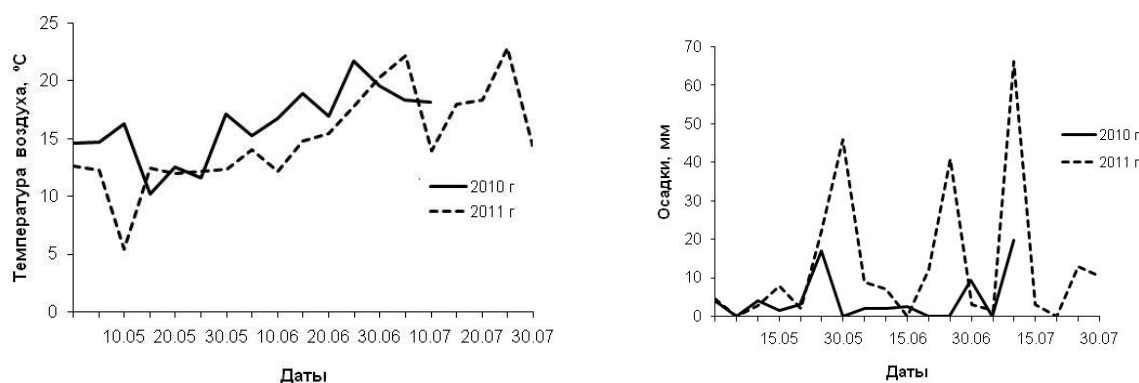


Рис. 1. Динамика изменения температуры воздуха и выпадения атмосферных осадков в период от начала вегетации до момента сбора семян *Ch. ruthenicus* в окрестностях п. Меседа (Челябинская область) в 2010 и 2011 гг.

Обсуждение результатов

В ходе предыдущих исследований установлено [21, 22], что содержание хинолизидиновых алкалоидов в рабитнике русском, выраженное в процентах от массы сухого растительного сырья, достигает максимальных значений в период бутонизации, распределяясь между стеблями и бутонами с листьями в следующей пропорции – 1.9% в бутонах с листьями и 2.5% в стеблях; содержание мажорных алкалоидов, спартеина и d-лупанина, в стеблях 1.33% и 0.92%, а в бутонах с листьями 0.48% и 0.80% соответственно. Также показано, что в период плодоношения спартеин в вегетативных органах *Ch. ruthenicus* отсутствует, и мажорным компонентом суммы алкалоидов этого растения становится d-лупанин (в листьях рабитника русского d-лупанина – 0.33%, в побегах – 0.82% и 0.40% – в семенах). Такое распределение алкалоидов в надземной части *Ch. ruthenicus* позволяет рекомендовать проводить заготовку этого растения с целью получения сырья с более высоким содержанием спартеина в период бутонизации и цветения, а сырья с высоким содержанием d-лупанина – в период плодоношения.

В то же время известно, что содержание вторичных метаболитов в растениях, подвергшихся стрессовым воздействиям, может сильно варьироваться и по количественному, и по качественному составу. Так, в некоторых лекарственных растениях, выращенных в условиях засушливого климата, были выявлены более высокие концентрации вторичных метаболитов по сравнению растениями одного и того же вида, культивируемыми в условиях достаточной водообеспеченности [7]. На примере *Catharanthus roseus* L. (*Apocynaceae*) экспериментально подтверждено, что даже кратковременная имитация засухи приводит к увеличению доли вторичных метаболитов – алкалоидов винкристина и винбластина, по отношению к массе растения [28]. Заметные колебания содержания алкалоидов в надземной части растений семейств астровых (*Asteraceae*), пасленовых (*Solanaceae*), рутовых (*Rutaceae*), кутровых (*Apocynaceae*), бобовых (*Fabaceae*) и некоторых других, произрастающих в засушливых климатических условиях, были отмечены

в [29]. Наши собственные исследования показали, что содержание хинолизидиновых алкалоидов в *Ch. ruthenicus* L. (*Fabaceae*), произрастающего в разных климатических зонах, также отлично: сумма алкалоидов *Ch. ruthenicus* горно-лесной зоны заметно выше, чем сумма алкалоидов раkitника русского равнинно-степного местообитания [22].

Несмотря на то, что накопление алкалоидов в надземной части растений-алкалоидоносов под воздействием стрессовых погодных условий считается общим явлением, авторы обзора [30], подчеркивают, что механизм воздействия этих факторов на количественный и качественный состав алкалоидов семян пока недостаточно ясен. Например, содержание алкалоидов в семенах растений рода *Lupinus* под воздействием стресса (засухи) может иногда увеличиваться, а иногда уменьшаться [31, 32]. С одной стороны, это может быть связано с тем, что при сборе растительного сырья не всегда учитывается возможность выпадения осадков (или полива) в послестрессовом периоде, так как даже после однократного увлажнения в растениях резко ускоряются ростовые процессы. С другой стороны, при засухе происходит угнетение роста надземной части растений, в свою очередь приводящее к уменьшению размеров плодов и (или) числу семян в плодах.

Данные об алкалоидном составе семян раkitника русского, собранных в аномально засушливом 2010 и в нормальном по погодным условиям 2011 гг. (поселок Меседа Катав-Ивановского района Челябинской области РФ), представлены в таблице. Согласно результатам масс-спектрометрического исследования суммарное содержание алкалоидов в семенах *Ch. ruthenicus* засушливого 2010 г. оказалось почти в четыре раза ниже, чем сумма алкалоидов семян типичного по количеству осадков 2011 г. – 0.81% и 3.2% соответственно, что свидетельствует о более низком уровне процессов метаболизма в период завершения формирования плодов. Необходимо отметить, что основным алкалоидом, содержащимся в обеих пробах, являлся d-лупанин (рис. 2), но в семенах, собранных в засушливом 2010 г. (проба I), его содержание заметно ниже (0.55%) по сравнению с содержанием d-лупанина в пробе II (2.41%).

Засуха 2010 г. повлияла не только на содержание, но и на состав минорных компонентов суммы алкалоидов семян *Ch. ruthenicus*. Если в образце семян 2011 г. (проба II) кроме основного d-лупанина были обнаружены еще три алкалоида: спартеин (0.13%), софокарпин (0.18%) и 17-оксоспартеин (0.09%) (структуры представлены на рисунке 2), то в семенах засушливого 2010 г. (проба I), кроме перечисленных выше алкалоидов, в следовых количествах был обнаружен хинолизидиновый алкалоид метилцитизин, а также пиридиновый алкалоид аммодендрин (0.02%) и изохинолиновый алкалоид сальсолидин (0.02%) (рис. 2). Масс-спектры алкалоидов семян раkitника русского приведены на рисунках 3–9 электронного приложения.

Зафиксированный нами факт снижения суммы алкалоидов и содержания в ней d-лупанина под воздействием засухи аналогичен результатам, полученным авторами [31], которые также наблюдали снижение содержания суммы алкалоидов и мажорного компонента – d-лупанина в семенах представителей семейства бобовых рода *Lupinus* при засухе в период цветения. А случаи накопления изохинолинового алкалоида сальсолидина в надземной части и семенах некоторых представителей семейства бобовых (*Fabaceae*) – растений родов *Desmodium*, *Alhagi*, *Dendrolobium*, а также *Cytisus*, описаны в литературе [33].

Алкалоидный состав семян *Ch. ruthenicus*, собранных в период плодоношения в окрестностях п. Меседа (Катав-Ивановский район Челябинской области РФ) в засушливом 2010 г. и нормальном по количеству осадков 2011 г.

Алкалоидный состав	RRT ^b	M ^b	Q ^c	Проба I (2010 г)	Проба II (2011 г)
				Сумма алкалоидов, % ^a	
				0.81	3.2
Содержание алкалоидов, % ^a					
Сальсолидин	0.60	207.1731	87	0.02	–
Спартеин	0.65	234.2069	92	0.05	0.13
Аммодендрин	0.71	208.1545	87	0.02	–
Метилцитизин	0.89	204.1292	89	следы	–
17-Оксоспартеин	0.91	248.1845	98	0.01	0.09
Софокарпин	0.97	246.1701	78	0.06	0.18
d-Лупанин	1.00	248.1850	95	0.55	2.41

^a) В процентах от веса воздушно сухого сырья (ВСС); ^b) Относительное время удерживания, условия: температура инжектора 250 °С, колонка HP-5MS, 30 м × 0.25 мм × 0.25 мкм толщина фазы; режим: начальная температура 120 °С 3 мин, изотерма 250 °С 10 мин.; ^c) Измеренные точные значения массовых чисел M^b удовлетворительно соответствовали вычисленным брутто-составам представленных алкалоидов; ^d) Вероятность сходства зарегистрированных и библиотечных спектров.

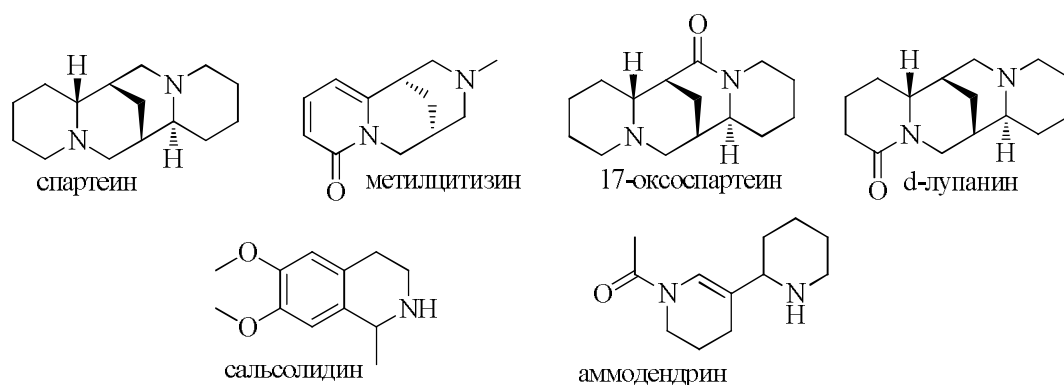


Рис. 2. Хинолизиновые алкалоиды семян *Ch. ruthenicus* (спартеин, метилцитизин, 17-оксоспартеин, d-лупанин), изохинолиновый алкалоид сальсолидин и пиридиновый алкалоид аммодендрин

Выводы

Таким образом, в результате проведенных исследований установлено, что содержание суммы и состав алкалоидов в семенах раббитника русского, собранных в период их полной зрелости, критически зависят от количества осадков, выпавших в периоды цветения и плодоношения. Так, в аномальных условиях засухи 2010 г. зафиксировано снижение содержания суммы алкалоидов почти в 4 раза по сравнению с их содержанием в семенах *Ch. ruthenicus*, собранных в типичном по погодным условиям 2011 г. Засуха существенно влияет на процессы метаболизма в растениях, что приводит к снижению содержания суммы алкалоидов и мажорного алкалоида d-лупанина, и к увеличению разнообразия алкалоидов за счет метилцитизина, пиридинового алкалоида аммодендрина и изохинолинового алкалоида сальсолидина.

Список литературы

1. Соколов В.С. Алкалоидоносные растения СССР. М., Л., 1952. 380 с.
2. Орехов А.П. Химия алкалоидов. 2-е изд. М., 1955. 865 с.
3. Алкалоиды / под ред. С.Ю. Юнусова. Ташкент, 1981. 418 с.
4. Aniszewski T. Alkaloids Chemistry, Biology, Ecology, and Applications. 2nd Edition. Elsevier Science, 2015. 496 p.
5. Кузнецова М.А. Лекарственное растительное сырье и препараты. М., 1987. 191 с.
6. Правила сбора и сушки растительного сырья / под ред. А.И. Шретера. М., 1985. 328 с.
7. Selmar D., Kleinwächter M. Stress Enhances the Synthesis of Secondary Plant Products: The Impact of Stress-Related Over-Reduction on the Accumulation of Natural Products // Plant and Cell Physiology. 2013. Vol. 54. Pp. 817–826. DOI: 10.1093/pcp/pct054.
8. Borges C.V., Minatel I.O., Gomez-Gomez H.A., Lima G.P.P. Medicinal Plants: Influence of Environmental Factors on the Content of Secondary Metabolites // Medicinal Plants and Environmental Challenges. 2017. Pp. 259–277. DOI: 10.1007/978-3-319-68717-9_15.
9. Wink M., Meißner C., Witte L. Patterns of quinolizidine alkaloids in 56 species of the genus *Lupinus* // Phytochemistry. 1995. Vol. 38. Pp. 139–153. DOI: 10.1016/0031-9422(95)91890-D.
10. Saito K., Murakoshi I. Chemistry, biochemistry and chemotaxonomy of lupine alkaloids in the Leguminosae // Studies in Natural Products Chemistry. 1995. Vol. 15. Pp. 519–549. DOI: 10.1016/S1572-5995(06)80142-0.
11. Joseph P.M. Quinoline, quinazoline and acridone alkaloids // Natural Product Reports. 2007. Vol. 24. Pp. 191–222.
12. Lee M.J., Pate J.S., Harris D.J., Atkins C.A. Synthesis, transport and accumulation of quinolizidine alkaloids in *Lupinus albus* L. and *L. angustifolius* L. // Journal of Experimental Botany. 2007. Vol. 58. Pp. 935–946. DOI: 10.1093/jxb/erl254.
13. Bunsupa S., Yamazaki M., Saito K. Lysine-derived alkaloids: overview and update on biosynthesis and medicinal applications with emphasis on quinolizidine alkaloids // Mini-Reviews in Medicinal Chemistry. 2017. Vol. 17. Pp. 1002–1012. DOI: 10.2174/1389557516666160506151213.
14. Perez E.G., Mendez-Galvez C., Cassels B.K. Cytisine: a natural product lead for the development of drugs acting at nicotinic acetylcholine receptors // Natural Product Reports. 2012. Vol. 29. Pp. 555–567. DOI: 10.1039/c2np00100d
15. Rouden J., Lasne M.-C., Blanchet J., Baudoux J. (-)-Cytisine and derivatives: synthesis, reactivity, and applications // Chemical Reviews. 2014. Vol. 114. Pp. 712–778. DOI: 10.1021/cr400307e.
16. Tsypysheva I.P., Koval'skaya A.V., Lobov A.N., Makara N.S., Petrova P.R., Farafontova E.I., Zainullina L.F., Vakhitova Yu.V., Zarudii F.S. Synthesis and Nootropic Activity of new 3-Amino-12-N-Methylcytisine Derivatives // Chemistry of Natural Compounds. 2015. Vol. 51. Pp. 910–915. DOI: 10.1007/s10600-015-1446-x.

17. Makara N.S., Sapozhnikova T.A., Khisamutdinova R.Yu., Tsyppsheva I.P., Borisevich S.S., Kovalskaya A.V., Petrova P.R., Khursan C.L., Zarudii F.S. Nootropic activity of a novel (-)-cytisine derivative (3aR,4S,8S,12R,12aS,12bR)-10-methyl-2-phenyloctahydro-1H-4,12a-etheno-8,12-methanopyrrolo[3',4':3,4]pyrido[1,2-a][1,5] diazocine-1,3,5(4H)-trione // *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2018. Vol. 164. Pp. 434–438. DOI: 10.1007/s10517-018-4006-0.
18. Цыпышева И.П., Галкин Е.Г., Ерастов А.С., Каримова О.А., Байкова И.П., Рахимов Р.Г., Ковальская А.В., Халилова И.У., Абрамова Л.М., Юнусов М.С. Растительные источники хинолизидиновых алкалоидов на территории Республики Башкортостан I. Алкалоиды *Thermopsis schischkinii* и *Thermopsis lanceolata* ssp. *Sibirica* (Fabaceae) в условиях интродукции // *Химия растительного сырья*. 2012. №4. С. 101–106.
19. Цыпышева И.П., Галкин Е.Г., Ерастов А.С., Каримова О.А., Байкова И.П., Ковальская А.В., Халилова И.У., Абрамова Л.М. Юнусов М.С. Растительные источники хинолизидиновых алкалоидов на территории Республики Башкортостан. II. Алкалоиды *Thermopsis schischkinii* // *Химия растительного сырья*. 2013. №4. С. 55–60. DOI: 10.14258/jcprm.1304055.
20. Tsyppsheva I.P., Petrova P.R., Baykova I.P., Galkin E.G., Fedorov N.I., Galin F.Z., Yunusov M.S. Seasonal dynamics of alkaloids of *Genista tinctoria* L. growing at the Southern Ural region // *Natural products: an Indian Journal*. 2015. Vol. 10. Pp. 215–218.
21. Цыпышева И.П., Галкин Е.Г., Петрова П.Р., Байкова И.П., Галин Ф.З., Федоров Н.И. Состав и сезонная динамика алкалоидов *Chamaecytisus ruthenicus*, произрастающего на Южном Урале // *Химия растительного сырья*. 2015. №3. С. 65–69. DOI: 10.14258/jcprm.201503765.
22. Цыпышева И.П., Галкин Е.Г., Петрова П.Р., Ковальская А.В., Байкова И.П., Галин Ф.З., Федоров Н.И. Экологические и внутривидовые особенности состава и содержания алкалоидов в надземной части *Chamaecytisus ruthenicus* (Fisch. ex Woloszcz.) Klaskova, произрастающего на Южном Урале // *Химия растительного сырья*. 2017. №1. С. 93–97. DOI: 10.14258/jcprm.2017011268.
23. Губанов И.А., Киселёва К.В., Новиков В.С., Тихомиров В.Н. Иллюстрированный определитель растений Средней России. Т. 2. Покрытосеменные (двудольные: раздельнолепестные). М., 2003. 665 с.
24. Жигунова С.Н., Федоров Н.И., Михайленко О.И. Распространение и сырьевая продуктивность *Chamaecytisus ruthenicus* (Fabaceae) в растительных сообществах республики Башкортостан // *Растительные ресурсы*. 2013. Т. 49. С. 353–359.
25. Архив погоды в Катав-Ивановске [Электронный ресурс]. URL: https://tp5.ru/Архив_погоды_в_Катав-Ивановске.
26. Минина С.А., Каухова И.Е. Химия и технология фитопрепаратов. М.: ГОЭТАР-Медиа, 2009. 560 с.
27. National Institute of Standards and Technology [Электронный ресурс]. URL: <http://www.nist.gov>
28. Amirjani M.R. Effects of drought stress on the alkaloid contents and growth parameters of *Catharanthus roseus* // *ARPN Journal of Agricultural and Biological Science*. 2013. Vol. 8. N11. Pp. 745–750.
29. Kleinwächter M., Selmar D. New insights explain that drought stress enhances the quality of spice and medicinal plants: potential applications // *Agronomy for Sustainable Development*. 2015. Vol. 35. Pp. 121–131. DOI: 10.1007/s13593-014-0260-3.
30. Frick K.M., Kamphuis L.G., Siddique K.H.M., Singh K.B., Foley R.C. Quinolizidine Alkaloid Biosynthesis in Lupins and Prospects for Grain Quality Improvement // *Frontiers in Plant Science*. 2017. Vol. 8. P. 87. DOI: 10.3389/fpls.2017.00087.
31. Christiansen J.L., Jørnsgaard B., Buskov S., Olsen C.E. Effect of drought stress on content and composition of seed alkaloids in narrow-leaved lupin, *Lupinus angustifolius* L. // *European Journal of Agronomy*. 1997. Vol. 7. Pp. 307–314. DOI: 10.1016/S1161-0301(97)00017-8.
32. Jansen G., Jurgens H.-U., Ordon F. Effects of Temperature on the Alkaloid Content of Seeds of *Lupinus angustifolius* Cultivars // *Journal of Agronomy and Crop Science*. 2009. Vol. 195. Pp. 172–177. DOI: 10.1111/j.1439-037X.2008.00356.x.
33. Wink M. Evolution of secondary metabolites in Legumes (Fabaceae) // *South African Journal of Botany*. 2013. Vol. 89. Pp. 164–175. DOI: 10.1016/j.sajb.2013.06.006.

Поступила в редакцию 23 апреля 2018 г.

После переработки 9 июня 2018 г.

Принята к публикации 21 июня 2018 г.

Для цитирования: Цыпышева И.П., Галкин Е.Г., Петрова П.Р., Ковальская А.В., Федоров Н.И. Влияние засухи на состав и содержание алкалоидов в семенах *Chamaecytisus ruthenicus* (Fisch. Ex Woloszcz.) Klaskova, произрастающего в горно-лесной зоне южного Урала // *Химия растительного сырья*. 2018. №4. С. 169–176. DOI: 10.14258/jcprm.2018044016.

Tsypysheva I.P.^{1*}, Galkin E.G.¹, Petrova P.R.¹, Koval'skaya A.V.¹, Fedorov N.I.² DROUGHT INFLUENCE ON THE CONTENT AND COMPOSITION OF ALKALOIDS FROM SEEDS OF THE *CHAMAECYTISUS RUTHENICUS* (FISCH. EX WOLOSZCZ.) KLASKOVA, GROWING AT THE MOUNTAIN-FORESTS ZONE OF SOUTHERN URALS

¹Ufa Institute of Chemistry of the Ufa Research Centre of Russian Academy of Sciences, pr. Oktyabrya, 71, Ufa, 450054 (Russia), e-mail: tsipisheva@anrb.ru

²Ufa Institute of Biology of the Ufa Research Centre of Russian Academy of Sciences, pr. Oktyabrya, 71, Ufa, 450054 (Russia)

Quinolizidine alkaloid content of the *Chamaecytisus ruthenicus* (Fabaceae) seeds, collected in the period of drought in 2010 and in 2011 (last was normal in the number of precipitation), was determined by the chromat-mass-spectrometry method. Total sums of alkaloids from the seeds of *Chamaecytisus ruthenicus* were isolated in two stages. The first stage included preliminary "degreasing" of crushed seeds with hexane. Then resulting hexane extract was washed with aqueous solution of 3% hydrochloric acid, and acidic layer was treated by anhydrous Na₂CO₃ until pH 9. Alkaloids (in the form of bases) were extracted with chloroform. In parallel, the seeds are previously washed with hexane were thoroughly extracted with an acetone-water mixture (1 : 9), and then resulting water-acetone extract has been treated in accordance with the traditional method. Alkaloids obtained from hexane extract and fatless seeds were combined, concentrated and analyzed by chromat-mass spectrometry method. Individual alkaloids were identified by their full mass spectra using d-lupanine as a standard. On the base on obtained results, it was found that in drought conditions of 2010 the content of alkaloids in seeds of the Russian Broom (Ch. *ruthenicus*) is significantly lower than in 2011, typical for its weather conditions (0.81% vs. 3.2%). However, the composition of alkaloids in the seeds of the Ch. *ruthenicus*, collected during the drought period, was more various: sparteine, methylcytisine, 17-oxosparteine, sophocarpine, d-lupanine, isoquinoline alkaloid salsolidine and pyridine alkaloid ammodendrine were found in these seeds. Only four quinolizidine alkaloids – sparteine, d-lupanine, 17-oxosparteine and sophocarpine were isolated from the seeds of Ch. *ruthenicus* 2011.

Keywords: *Chamaecytisus ruthenicus*, quinolizidine alkaloids, sparteine, methylcytisine, d-lupanine, salsolidine, ammodendrine, GC/MS.

References

1. Sokolov V.S. *Alkaloidonosnyye rasteniya SSSR*. [Alkaloid plants of the USSR]. Moskva, Leningrad, 1952, 380 p. (in Russ.).
2. Orekhov A.P. *Khimiya alkaloidov*. [Chemistry of alkaloids]. Moscow, 1955, 865 p. (in Russ.).
3. *Alkaloidy* [Alkaloids], ed. S.Yu. Yunusov. Tashkent, 1981, 418 p. (in Russ.).
4. Aniszewski T. *Alkaloids Chemistry, Biology, Ecology, and Applications*. 2nd Edition, Elsevier Science, 2015, 496 p.
5. Kuznetsova M.A. *Lekarstvennoye rastitel'noye syr'ye i preparaty*. [Medicinal plant materials and preparations]. Moscow, 1987, 191 p. (in Russ.).
6. *Pravila sbora i sushki rastitel'nogo syr'ya* [Rules for the collection and drying of plant materials], ed A.I. Shreter. Moscow, 1985, 328 p. (in Russ.).
7. Selmar D., Kleinwächter M. *Plant and Cell Physiology*, 2013, vol. 54, pp. 817–826. DOI: 10.1093/pcp/pct054.
8. Borges C.V., Minatel I.O., Gomez-Gomez H.A., Lima G.P.P. *Medicinal Plants and Environmental Challenges*, 2017, pp. 259–277. DOI: 10.1007/978-3-319-68717-9_15.
9. Wink M., Meißner C., Witte L. *Phytochemistry*, 1995, vol. 38, pp. 139–153. DOI: 10.1016/0031-9422(95)91890-D.
10. Saito K., Murakoshi I. *Studies in Natural Products Chemistry*, 1995, vol. 15, pp. 519–549. DOI: 10.1016/S1572-5995(06)80142-0.
11. Joseph P.M. *Natural Product Reports*, 2007, vol. 24, pp. 191–222.
12. Lee M.J., Pate J.S., Harris D.J., Atkins C.A. *Journal of Experimental Botany*, 2007, vol. 58, pp. 935–946. DOI: 10.1093/jxb/erl254.
13. Bunsupa S., Yamazaki M., Saito K. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, 2017, vol. 17, pp. 1002–1012. DOI: 10.2174/1389557516666160506151213.
14. Perez E.G., Mendez-Galvez C., Cassels B.K. *Natural Product Reports*, 2012, vol. 29, pp. 555–567. DOI: 10.1039/c2np00100d.
15. Rouden J., Lasne M.-C., Blanchet J., Baudoux J. *Chemical Reviews*, 2014, vol. 114, pp. 712–778. DOI: 10.1021/cr400307e.
16. Tsypysheva I.P., Koval'skaya A.V., Lobov A.N., Makara N.S., Petrova P.R., Farafontova E.I., Zainullina L.F., Vakhitova Yu.V., Zarudii F.S. *Chemistry of Natural Compounds*, 2015, vol. 51, pp. 910–915. DOI: 10.1007/s10600-015-1446-x.
17. Makara N.S., Sapozhnikova T.A., Khisamutdinova R.Yu., Tsypysheva I.P., Borisevich S.S., Koval'skaya A.V., Petrova P.R., Khursan C.L., Zarudii F.S. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 2018, vol. 164, pp. 434–438. DOI: 10.1007/s10517-018-4006-0.
18. Tsypysheva I.P., Galkin Ye.G., Yerastov A.S., Karimova O.A., Baykova I.P., Rakhimov R.G., Koval'skaya A.V., Khalilova I.U., Abramova L.M., Yunusov M.S. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2012, no. 4, pp. 101–106. (in Russ.).
19. Tsypysheva I.P., Galkin Ye.G., Yerastov A.S., Karimova O.A., Baykova I.P., Koval'skaya A.V., Khalilova I.U., Abramova L.M., Yunusov M.S. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2013, no. 4, pp. 55–60. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.1304055.

* Corresponding author.

20. Tsypysheva I.P., Petrova P.R., Baykova I.P., Galkin E.G., Fedorov N.I., Galin F.Z., Yunusov M.S. *Natural products: an Indian Journal*, 2015, vol. 10, pp. 215–218.
21. Tsypysheva I.P., Galkin Ye.G., Petrova P.R., Baykova I.P., Galin F.Z., Fedorov N.I. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2015, no. 3, pp. 65–69. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.201503765.
22. Tsypysheva I.P., Galkin Ye.G., Petrova P.R., Koval'skaya A.V., Baykova I.P., Galin F.Z., Fedorov N.I. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2017, no. 1, pp. 93–97. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.2017011268.
23. Gubanov I.A., Kiselova K.V., Novikov V.S., Tikhomirov V.N. *Ilyustrirovannyi opredelitel' rasteniy Sredney Rossii. T. 2. Pokrytosemennyye (dvudol'nyye: razdel'nolepестnyye)*. [Illustrated determinant of plants in Central Russia. Vol. 2. Angiosperms (dicotyledons: separate-petal)]. Moscow, 2003, 665 p. (in Russ.).
24. Zhigunova S.N., Fedorov N.I., Mikhaylenko O.I. *Rastitel'nyye resursy*, 2013, vol. 49, pp. 353–359. (in Russ.).
25. *Arkhiv pogody v Katav-Ivanovske* [Weather archive in Katav-Ivanovsk] [Electronic resource], URL: https://rp5.ru/Архив_погоды_в_Катав-Ивановске (in Russ.).
26. Minina S.A., Kaukhova I.Ye. *Khimiya i tekhnologiya fitopreparatov*. [Chemistry and technology of phytopreparations]. Moscow, 2009, 560 p. (in Russ.).
27. *National Institute of Standards and Thecnology* [Electronic resource], URL: <http://www.nist.gov>.
28. Amirjani M.R. *ARN Journal of Agricultural and Biological Science*, 2013, vol. 8, no. 11, pp. 745–750.
29. Kleinwächter M., Selmar D. *Agronomy for Sustainable Development*, 2015, vol. 35, pp. 121–131. DOI: 10.1007/s13593-014-0260-3.
30. Frick K.M., Kamphuis L.G., Siddique K.H.M., Singh K.B., Foley R.C. *Frontiers in Plant Science*, 2017, vol. 8, p. 87. DOI: 10.3389/fpls.2017.00087.
31. Christiansen J.L., Jørnsgard B., Buskov S., Olsen C.E. *European Journal of Agronomy*, 1997, vol. 7, pp. 307–314. DOI: 10.1016/S1161-0301(97)00017-8.
32. Jansen G., Jurgens H.-U., Ordon F. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 2009, vol. 195, pp. 172–177. DOI: 10.1111/j.1439-037X.2008.00356.x.
33. Wink M. *South African Journal of Botany*, 2013, vol. 89, pp. 164–175. DOI: 10.1016/j.sajb.2013.06.006.

Received April 23, 2018

Revised June 9, 2018

Accepted June 21, 2018

For citing: Tsypysheva I.P., Galkin E.G., Petrova P.R., Koval'skaya A.V., Fedorov N.I. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2018, no. 4, pp. 169–176. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.2018044016.