

УДК 633.885

## ОСОБЕННОСТИ БИОСИНТЕЗА ЭФИРНОГО МАСЛА В СЕМЕННОМ ПОТОМСТВЕ ПОЛЫНИ ЭСТРАГОН (*ARTEMISIA DRACUNCULUS*)

Лолойко А. А.<sup>1</sup>, Петришина Н. Н.<sup>2</sup>, Невкрытая Н. В.<sup>1</sup>, Марченко М. П.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт эфиромасличных и лекарственных растений НААНУ, Симферополь

<sup>2</sup>Таврический национальный университет им. В. И. Вернадского, Симферополь, nata\_kharaim@ukr.net

В статье рассмотрены особенности накопления компонентов эфирного масла в семенном потомстве полыни эстрагон (*Artemisia dracunculus*) различного географического происхождения.

*Ключевые слова:* полынь эстрагон, эфирное масло, хемотип, биосинтез терпеноидов.

### ВВЕДЕНИЕ

Вещества, содержащиеся в растениях, условно делят на первичные и вторичные метаболиты. Они имеют сложное химическое строение и известны как природные соединения. Наибольший практический интерес, как правило, представляют продукты вторичного метаболизма растений [1], которые выполняют в растении различные физиологические функции [2]. В частности, функцию конституционных и полуиндуцибельных защитных соединений. Одно из доказательств наличия этих функций присущая практически всем классам вторичных метаболитов особенность – наличие механизмов модификации молекул, которые приводят к значительным изменениям свойств соединений [3]. К таким механизмам относятся; метилирование – деметилирование, гидроксילирование – дегидроксילирование, окисление – восстановление и гликозилирование – дегликозилирование.

Одним из важных источников вторичных метаболитов являются эфиромасличные растения [4, 5, 6], эфирные масла которых относят к продуктам вторичного метаболизма, поскольку их образование в клетках высших растений обусловлено отвлечением метаболитов от основного обмена. В настоящее время не до конца решенным остается вопрос о путях синтеза соединений, входящих в состав эфирных масел, и биогенетических взаимосвязях между ними.

Одной из эфиромасличных культур, имеющих промышленное значение, является полынь эстрагон (*Artemisia dracunculus* L.), произрастающая по всей Евразии и культивируемая во Франции под названием таррагон, России – эстрагон, на Кавказе – тархун. В Крыму (Украина) в диком виде полынь эстрагон встречается у берегов реки Биюк-Карасу близ села Двуречье [7] и является адвентивным видом [8]. Мировое производство эфирного масла эстрагона достигает 9–10 тонн в год, приблизительная цена 1 кг масла на рынке – 40–80 долл. США, в зависимости от спроса и объемов производства. Основным потребителем масла является химическая и парфюмерная промышленности, использующие его компоненты для синтеза ароматических соединений.

Анализ литературных данных показывает, что существует несколько основных хемотипов полыни эстрагон [9], которые отличаются между собой по химическому

составу и выходу масла. Немецкий эстрагон содержит около 35% сабинена и больше 25% метилэвгенола, французский эстрагон содержит 80–90% метилхавикола, русский (который более близок к диким формам) содержит в основном метилэвгенол или элемицин, японский – до 35% анетола.

В связи с потребностью создания отечественных сортов полыни эстрагон, представляет интерес изучение закономерностей накопления эфирного масла и его компонентов в селекционных образцах различного географического происхождения [10], что было определено как цель наших исследований.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследование особенностей накопления эфирного масла и его компонентов в полыни эстрагон проводили в 2005–2010 гг., анализу подвергали растения, выращенные на научных участках отдела селекции ИЭЛР в с. Крымская роза Белогорского района АР Крым.

Изучаемые растения (234 шт.) представляли собой семенное потомство образцов различного географического происхождения: образец №1 – Московская область; образец №2 – Канна, Курская область; образец №3 – Дания, ВР 7; образец №4 – Азербайджан, ВИР; образец №5 – Азербайджан, ВР 9 (ВИР); образец №6 – Московская область, ВР 36 (ВИР); образец №7 – Зеленый дол, ВР 37 (ВИР); образец №8 – Краснодарский край, ВР 38 (ВИР); образец №9 – Санкт-Петербург; образец №10 – с. Крымская Роза, АР Крым.

Эфирные масла получали гидродистилляцией по Гинзбергу [9], с последующим их анализом методами хромато-масс-спектрологии и газожидкостной хроматографии на набивных колонках.

Основными компонентами эфирного масла считали соединения, определяющие принадлежность полыни эстрагон к тому, или иному хемотипу □ анетол, метилэвгенол, метилхавикол, сабинен, элемицин (рис. 1).

В связи с тем, что ряд масел, полученных из 17 растений полыни, быстро полимеризовался, они в дальнейшем не подвергались ГЖХ анализу в виду непригодности для промышленного производства.

Кроме того, ряд образцов содержал соединение, которое не удалось установить, несмотря на применение для идентификации компонентов эфирного масла методом хромато-масс-спектрологии электронных библиотек NIST05 и WILEY2007, включающих свыше 400000 тыс. масс-спектров индивидуальных химических веществ. При этом в отдельных образцах эфирных масел содержание неидентифицированного компонента достигало свыше 16%.

Растительные образцы эстрагона, содержащие неустановленный компонент, были выделены в отдельную группу, требующую в дальнейшем дополнительных исследований.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ компонентного состава исследованных эфирных масел позволяет сделать вывод, что они, главным образом, отличаются между собой различным

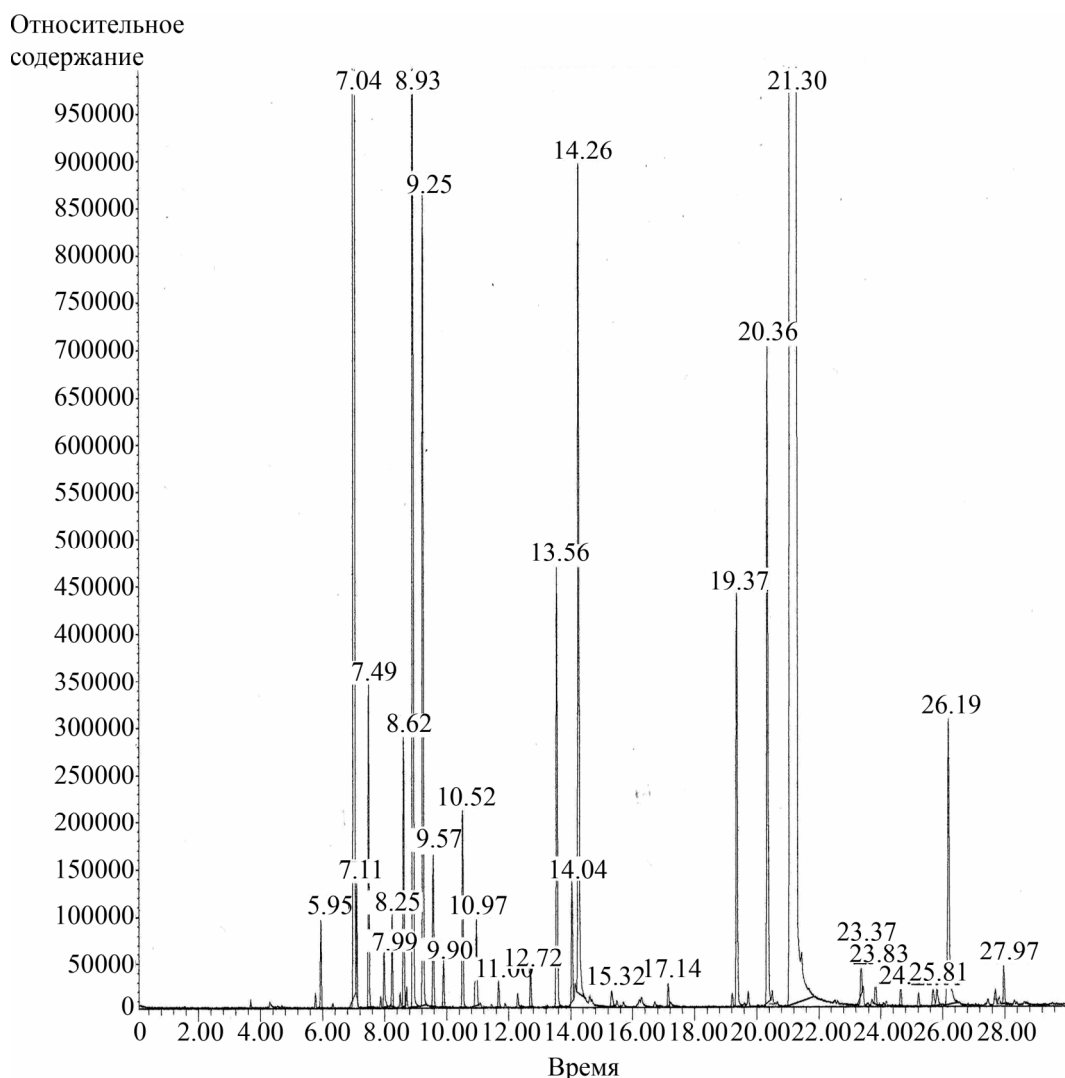


Рис.1. Хроматограмма эфирного масла *Artemisia dracunculus* метилэвгенольного хемотипа

1) 5.96 – 0.231%  $\alpha$ -пинен; 2) 7.04 – 16.529%  $\beta$ -сабинен; 3) 7.11 – 0.244%  $\beta$ -пинен; 4) 7.49 – 0.895% мирцен; 5) 7.99 – 0.193% *цис*-3-гексен-1-ол, ацетат; 6) 8.25 – 0.262%  $\alpha$ -терпинен; 7) 8.62 – 0.820% лимонен; 8) 8.93 – 4.418% *цис*-оцимен; 9) 9.25 – 2.492% *транс*-оцимен; 10) 9.57 – 0.478%  $\gamma$ -терпинен; 11) 9.90 – 0.153% *транс*-сабиненгидрат; 12) 10.52 – 0.636% терпинолен; 13) 10.97 – 0.380% линалоол; 14) 11.68 – 0.090% *цис*-пара-2-ментен-1-ол; 15) 12.71 – 0.132% цитронеллаль; 16) 13.56 – 1.603% терпинен-4-ол; 17) 14.04 – 0.431%  $\alpha$ -терпинеол; 18) 14.26 – 3.188% метилхавикол; 19) 15.32 – 0.078% цитронеллол; 20) 17.14 – 0.079%  $\alpha$ -фенхилацетат; 21) 19.37 – 1.486% цитронеллилацетат; 22) 20.35 – 2.397% геранилацетат; 23) 21.29 – 60.663% метилэвгенол; 24) 23.37 – 0.149% гермакрен D; 25) 23.83 – 0.140% бициклогермакрен; 26) 24.64 – 0.067%  $\delta$ -кадинен; 27) 25.68 – 0.090% элемицин; 28) 25.81 – 0.103% неролидол; 29) 26.19 – 1.431% неидентифицирован (мв=220); 30) 27.97 – 0.142%  $\alpha$ -кадинол.

сочетанием содержания сабинена (2-метилен-5-изопропил-бицикло-3,1,0-гексан) и метоксилированных форм метилхавикола (1-метокси-4-аллилбензол), который в незначительных количествах (0,463–3,188%) присутствовал во всех образцах, и их изомеров. К этим соединениям относятся: метилэвгенол-1,2-диметокси-4-аллилбензол, и его изомер – метилизоэвгенол; элемицин-1,2,6-триметокси-4-аллилбензол и его изомеры цис- и транс-изоэлемицины; а также изомер метилхавикола – анетол, представляющий собой 1-метокси-4-пропенилбензол.

Таким образом, изученные растения можно отнести к 7 хемотипам (табл. 1); первый хемотип схож с немецким эстрагоном, содержащим в основном сабинен и метилэвгенол; а пятый и шестой аналогичен русскому эстрагону, содержащему, соответственно, метилэвгенол или элемицин. Растительных образцов полыни эстрагон, которые можно отнести к японскому, содержащему около 35% анетола, или французскому типу, содержащему свыше 60% метилхавикола, не обнаружено.

*Таблица 1*

Хемотипы коллекционных образцов *Artemisia dracunculus*

Компоненты	Хемотипы						
	I	II	III	IV	V	VI	VII
Sabinene	13,41 – 26,97%	15,77 – 23,70%	12,87 – 30,94%	10,70 – 15,34%	следы	следы	следы
Methyl- chavicol	1,60 – 2,11%	0,89 – 1,57%	0,35 – 0,83%	1,14 – 1,29%	0,76 – 3,19	0,07 – 1,12%	0,46 – 2,75%
Methyl- eugenol	50,63 – 76,34%	следы	следы	18,65 – 24,36%	80,05 – 87,33%	следы	следы
Elemicin	0	39,80 – 61,74%	следы	27,56 – 44,64%	следы	35,59 – 76,67%	0
Trans- isoelemicin	0	0	25,16 – 37,99%	0	0	0	34,80 – 77,79%

Анализ содержания основных компонентов в эфирных маслах позволил установить некоторые закономерности:

1) в 188 (т. е. в 80,34%) растениях эстрагона идет значительное нарастание содержания сабинена на протяжении периода исследований. Так, например, в образце №4 растение №4 в первый год содержание сабинена составило – 0,33%, во второй год – 11,25%, а в третий – 21,46%, т. е. содержание увеличилось в 65 раз. Уменьшение содержания сабинена отмечено только у 3 растений (№ 2/6, 4/10 и 5/23), у остальных 39 растений содержание оставалось практически на одном уровне;

2) в 118 (50,43%) растениях полыни отмечено падение содержания метилэвгенола в процессе онтогенеза, в отдельных случаях значительное, (растение № 5/9 – с 71,48% до 15,06%, т. е. в 4,75 раза). В 26 (11,11%) растениях, напротив, накопление этого компонента возрастало, в отдельных случаях значительно (растение № 9/26 – с 6,33 до 50,84%, т. е. в 8 раз);

3) в 18 растениях (7,69%) в эфирном масле отсутствовал элемицин, в остальных растениях в большинстве случаев его содержание было незначительным, а у 31

растения из 52 с высоким, свыше 10%, уровнем содержания этого метаболита отмечена отрицательная динамика его накопления. Значительная положительная динамика накопления отмечена только у двух растений (растение № 9/8 – с 2,31 до 38,46%, т. е. в 16 раз).

Изучение корреляции между процессами накопления основных компонентов в эфирных маслах отдельных растений в онтогенезе позволило выявить ряд закономерностей и выделить группы растений с различными биогенетическими линиями синтеза терпеноидов (табл. 2). При этом в составе каждого из 10 изученных образцов присутствовали растения практически из всех групп.

Таблица 2

Особенности синтеза терпеноидов (компонентов эфирных масел) растениями *Artemisia dracunculus* в онтогенезе (2006–2008 гг.)

№ группы	Количество растений	Динамика накопления компонентов эфирных масел		
		Sabinene	Methyleugenol	Elemicin
1	80	+	0	0
2	29	+	0	0
3	21	+	0	+
4	18	+	0	0
5	13	+	+	0
6	12	+	0	0
7	10	+	+	0
8	5	0	+	0
9	4	+	0	+
10	4	0	0	0
11	3	+	+	+
12	1	0	0	0
13	1	0	+	0
14	1	0	0	+

Примечание к таблице: + – положительная динамика накопления; 0 – нейтральная.

Наибольшую группу (80 шт.) представляют растения с положительной динамикой накопления сабинена, отрицательной метилэвгенола, нейтральной (практически одинаковое содержание в онтогенезе) элемицина (рис. 2).

Очевидно, что изменившиеся в сравнении с исходной почвенно-климатической зоной условия внешней среды во взаимодействии с внутренними факторами вторичного метаболизма, возникающими на основе реализации генетических программ в процессе онтогенеза, для большинства генотипов исследованных растительных образцов полыни эстрагон вызвали изменение в процессах биосинтеза терпеновых соединений.

В результате проведенных в 2006–2008 гг. исследований были выделены растения полыни, клонированием которых был получен селекционный материал для создания сортов двух хемотипов – с метилэвгенолом или элемицином.

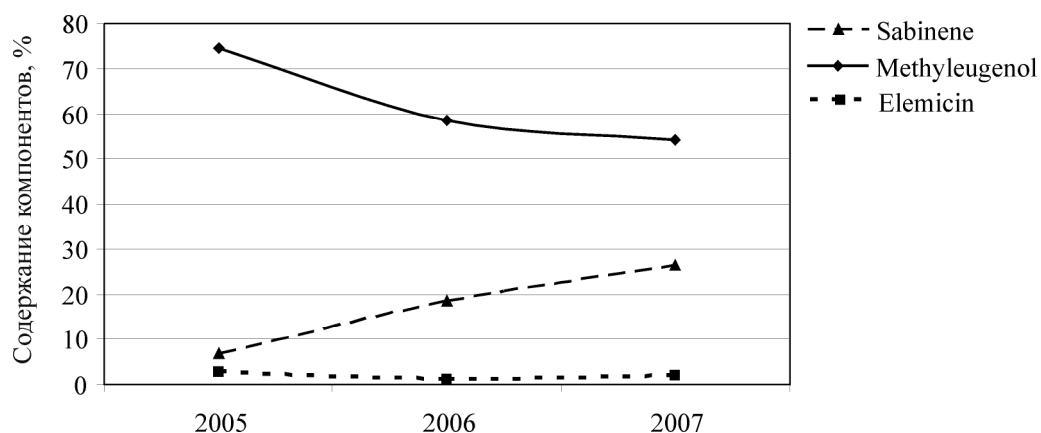


Рис. 2. Динамика накопления компонентов эфирного масла в одном из образцов *Artemisia dracunculus* (группа 1, образец 1, растение № 17).

Проведенная в 2009–2010 гг. оценка перспективных селекционных образцов, находящихся в контрольном питомнике, показала, что отобранные растения характеризуются стабильным компонентным составом масла в онтогенезе (табл. 3).

Таблица 3

Содержание основных компонентов эфирного масла в перспективных селекционных образцах *Artemisia dracunculus*

Образец	Компонент	2009	2010
1-11	Methyleugenol	69,9±3,6	70,7±1,1
6-6	Elemicin	42,3±3,6	44, 8±2,3

## ВЫВОДЫ

1. В семенном потомстве, полученном из образцов полыни эстрагон разного географического происхождения, присутствуют растения с различными биогенетическими линиями синтеза терпеноидов (компонентов эфирных масел) в онтогенезе.

2. В исследованных растениях полыни эстрагон изменения в процессах биосинтеза компонентов эфирных масел в онтогенезе отмечены для следующих процессов:

а) накопления бициклического углеводорода туйяновой структуры – сабинена (2-метилен-5-изопропил-бицикло-[3,1,0]-гексана) и соединения относящегося к фенилпропанам с двумя фенольными остатками – метилэвгенола (1,2-диметокси-4-аллилбензола). При этом в большинстве изученных растений эстрагона в процессе онтогенеза содержание сабинена увеличивается при одновременном уменьшении накопления метилэвгенола;

б) метоксилирования – деметоксилирования, на что указывают особенности накопления метилэвгенола (1,2-диметокси-4-аллилбензола) и элемицина (1,2,6-триметокси-4-аллилбензола). Очевидно, что эти процессы можно отнести к механизмам модификации соединений, выполняющих роль полуиндуцибельных защитных соединений.

3. В результате селекционной работы выделены перспективные сортообразцы двух хемотипов (с высоким содержанием метилэвгенола или элемицина), стабильно сохраняющие свой компонентный состав.

### Список литературы

1. Haslam E. Metabolites and Metabolism: A Commentary on Secondary Metabolism. / E. Haslam. □ Oxford: Clarendon press, 1985. – 161 p.
2. Зауралов О. А. О физиологическом значении эфирных масел в растениях / О. А. Зауралов // Растительные ресурсы. – 1975. □ Т. 11, вып. 2. – С. 289–304.
3. Darvil A. G. Phytoalexins and Their Elicitors – a Defence Against Infection in Plants / A. G. Darvil, P. Albersheim // Ann. Rev. Plant Physiol. – 1984. – V. 35. – P. 243.
4. Пасешниченко В. А. Терпеноиды в жизни растений / В. А. Пасешниченко, И. С. Васильева // Второй съезд Всес. О-ва физиологов растений (Минск, 1990), 24–29 сентября, 1990.: тез. докл. – М., 1990. – С. 71.
5. Халявина С. В. Биологически активные вещества у перспективных эфиромасличных и лекарственных растений / С. В. Халявина, В. И. Тютюник // Научно-тех. конф. по эфиромасличным и лекарственным растениям, посвященная 30-летию ИЭЛР: 3 ноября 1995 г.: тез. докл. – Симферополь, 1995. – С. 61.
6. Танасиенко Ф. С. Эфирные масла. Содержание и состав в растениях / Ф. С. Танасиенко. – Киев: Наукова думка, 1985. – 263с.
7. Вульф Е. В. Флора Крыма: в 3 т. / Е. В. Вульф [под ред. Н. И. Рубцова и Л. А. Приваловой]. – Ялта, 1969. – Т. 3, вып. 3: Норичниковые–Сложноцветные. – С. 210–223.
8. Хорт Т. П. Дикорастущие полыни Крыма / Т. П. Хорт // Бюллетень ГНБС. – 1987. – Вып. 62. – С. 63–78.
9. Войткевич С. А. Эфирные масла для парфюмерии и ароматерапии / С. А. Войткевич. – М.: «Пищевая промышленность», 1999. – С. 79–80.
10. Колекційні зразки *Artemisia dracunculus* L. як джерело перспективного селекційного матеріалу / [О. В. Афонін, Н. В. Невкрита, Н. Н. Хараим и др.] // Вісник аграрних наук. – 2009. – Вип. 2. – С. 48–51.
11. Биохимические методы анализа эфиромасличных растений и эфирных масел // Сборник научных трудов ВНИИЭМК. – Симферополь, 1972. – 106 с.

Лолойко О. А., Петришина Н. М., Невкрита Н. В., Марченко М. П. Особливості біосинтезу ефірної олії в насінному потомстві полину естрагон (*Artemisia dracunculus*) // Екосистеми, їх оптимізація та охорона. Симферополь: ТНУ, 2011. Вип. 4. С. 116–122.

У статті розглянуто особливості накопичення компонентів ефірної олії в насінному потомстві полину естрагон (*Artemisia dracunculus*) різного географічного походження.

*Ключові слова:* полин естрагон, ефірна олія, хемотип, біосинтез терпеноїдів.

Loloyko A. A., Petrishyna N. N., Nevkrytaja N. V., Marchenko M. P. Features of biosynthesis of essential oil in seed posterity of a wormwood tarragon (*Artemisia dracunculus*) // Optimization and Protection of Ecosystems. Simferopol: TNU, 2011. Iss. 4. P. 116–122.

In article represent features of accumulation of components of essential oil in seed posterity of a wormwood (*Artemisia dracunculus*) of various geographical regions.

*Key words:* wormwood tarragon, essential oil, chemotype, biosintez of terpenoids.

Поступила в редакцію 02.09.2011 г.