

Виды рода *Silene* L. – продуценты 26-гидроксиэктистероидов© 2012. Л. Н. Зибарева¹, д.х.н., зав. лабораторией, О. В. Волкова¹, Р. Лафон², профессор,¹ Томский государственный университет, Сибирский ботанический сад,² Университет Пьера и Марии Кюри,

e-mail: zibareval@inbox.ru

Представлены результаты анализа распространения 26-гидроксипроизводных эктистероидов в насекомых и растениях. Показано, что виды рода *Silene* являются перспективными источниками полярных эктистероидов. Установлен состав эктистероидов в растениях *Silene frivaldszkyana* и *S. viridiflora*, интродуцированных в Западную Сибирь. Предложена схема биосинтетических превращений эктистероидов в растениях этих видов.

Distribution of 26-hydroxyderivatives of ecdysteroids in insects and plants is reviewed. It is showed that species of *Silene* the genus are perspective sources of polar ecdysteroids. The ecdysteroids composition is studied in *Silene frivaldszkyana* and *S. viridiflora*, introduced in Western Siberia. The scheme of biosynthetic transformations of ecdysteroids in these plant species is proposed.

Ключевые слова: *Silene*, фитоэктистероиды, 26-гидроксипроизводныеKeywords: *Silene*, ecdysteroids, 26-hydroxyderivatives

Введение

Фитоэктистероиды составляют большую часть (примерно 3/4) известных в настоящее время эктистероидов. Большое разнообразие химических структур фитоэктистероидов, по всей вероятности, обусловлено их детеррентной функцией по отношению к фитофагам и объяснимо в рамках теории биохимической коэволюции растений и насекомых.

Семейство Caryophyllaceae является наиболее изученным на содержание эктистероидов. Они обнаружены в 125 видах из 323 проанализированных. Наибольшее число эктистероидсодержащих видов найдено в родах *Silene* L. (смолевка) и *Lychnis* L. (лихнис). Следует заметить, что эктистероиды, выделенные из представителей этого семейства, характеризует большое структурное многообразие [1]. Из растений многочисленного рода *Silene* выделено более 70 различных эктистероидов, как распространенных (20-гидроксиэктизон (20E), полиподин В, эктизон (E), понастерон А, 2-дезоксид-20-гидроксиэктизон), так и редко встречающихся (сидистерон, стахистерон Д, туркестерон, 24(28)-дегидромакистерон А, витикостерон Е и др.). В видах этого рода впервые были идентифицированы новые для науки соединения: 2-дезоксид-20,26-дигидроксиэктизон, 2-дезоксидэктизон-22β-D-гликозид, 2-дезоксиполиподин В-3β-D-гликозид в *Silene pseudotites* Besser. [2], 2,22-диацетат 20,26-дигидрок-

сиэктизона, 3,22-диацетат 20,26-дигидроксиэктизона в *Silene viridiflora* L. Sp. Pl. [3], 2-дезоксид-20-гидроксиэктизон-25-гликозид в *S. gigantea* L. [4], витикостерон Е-22-О-бензоат в *S. wallichiana* Klotzsch. [5]. Эктистероиды, синтезируемые смолевками, являются как свободными, так и гликозидами, эфирами и оксипроизводными по боковой цепи и стероидной части молекул. Структурное разнообразие эктистероидов свидетельствует о наличии разветвленных путей их биосинтеза и биохимической пластичности видов рода *Silene*.

В последнее время обнаружен ряд 26-оксипроизводных, набор которых в насекомых и растениях различен. Для насекомых (*Manduca sexta*, *Pieris brassicae*, *Bombyx mori* и др.) характерно присутствие как 26-оксипроизводных эктизона (26E) (26-гидроксиэктизон, 26-гидроксиэктизон-22-гликозид, 26-гидроксиэктизон-26-фосфат, 26-гидроксиэктизон-2-фосфат, 3-эпи-26-гидроксиэктизон, 22-дезоксид-26-гидроксиэктизон), так и 26-оксипроизводных 20-гидроксиэктизона (26,20E) [6]. Цель настоящей работы заключалась в изучении структурного разнообразия 26-оксипроизводных в представителях рода *Silene*.

Материалы и методы

Растения интродуцированы в Сибирском ботаническом саду Томского госуниверситета (СибБС ТГУ). В коллекции насчитывается 25 образцов *S. frivaldszkyana*, выращиваемых

в течение 16 лет из семян, полученных из ботанических садов Германии, Румынии, Франции, Польши, Венгрии, Латвии, а также 14 репродукций СибБС. Состав экидистероидов изучен в образце, выращенном из семян ботанического сада Галле (Германия). *S. viridiflora* успешно интродуцирована из семян ботанических садов Германии, Польши, Франции, Испании, Австралии (10 образцов), получены 10 репродукций СибБС. Выделение экидистероидов осуществлено из растений, выращенных из семян, полученных из Польши (Бидгош).

Сухое измельченное сырьё экстрагировали пять раз 70% этанолом при 55 °С. Объединённые экстракты сконцентрировали и разбавили водой в соотношении 1:2. Осадок удалили, этанол удалили вакуумной перегонкой. Водную фракцию селективно экстрагировали гексаном, затем бутанолом. Бутанольную фракцию выпарили. Бутанольный остаток разделили на колонке, заполненной SiO₂ (Silica gel L 100/160 (Chemapol); 100 г; 90 x 2 см), элюировали СНCl₃/EtOH 9:1-2:1, фракции собирали по 50 мл. Экидистероиды перекристаллизовывали из системы этилацетат/этанол (7:1 или 5:1, v/v) и затем очищали с помощью ВЭЖХ. Использовали следующие системы растворителей – NP1: Zorbax-SIL (250 x 4,6 мм; размер частиц 5 мм) элюировали циклогексан/изопропанол/вода (CIW, 100:40:2.5 v/v/v), 1 мл/мин.; NP2: Zorbax-SIL (250 x 4,6 мм; размер частиц 5 мм) элюировали дихлорметан/

изопропанол/вода (DIW, 125:30:1.5 v/v/v) 2 мл/мин.; NP3: Zorbax-SIL (250 x 4,6 мм; размер частиц 5мм) элюировали дихлорметан/изопропанол/вода (125:40:3 v/v/v) 2 мл/мин.; RP1: ACE аналитическая колонка (150 x 4,6 мм, размер частиц 5 мм), линейный градиент 15-35 % ACN в воде 40 мин, 1 мл/мин; RP2: Phenomenex ODS-2 колонка (15 см), элюировали изократически 40% метанолом в H₂O, 1 мл/мин.

Идентификацию мажорных экидистероидов в некоторых видах *Silene* проводили с помощью ВЭЖХ, сравнивая с временами удерживания стандартов при элюировании различными системами растворителей. УФ-спектры записывали на Varian DMS 100 спектрофотометре. Пики экидистероидов идентифицировали по УФ-спектрам ($\lambda = 242-245$ нм). Масс-спектры записаны на Jeol JMS-700 спектрометре (CI/D). ЯМР-спектр получили при 300 К на Bruker Avance 500 с использованием стандартных Bruker микропрограмм.

Результаты

Из интродуцированных растений *S. frivaldszkyana* выделено восемь экидистероидов. Проведена их идентификация и установлено с помощью физико-химических методов (ВЭЖХ, УФ-, ЯМР-, масс-спектрометрии), что этот вид синтезирует 20E, полипидин В (PolB), 2-дезоксид-20-гидроксиэкидизон

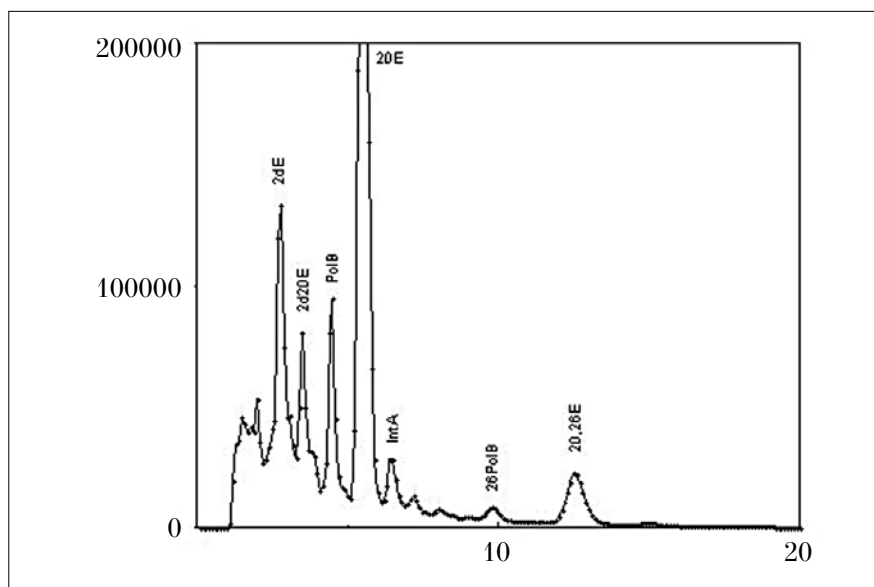
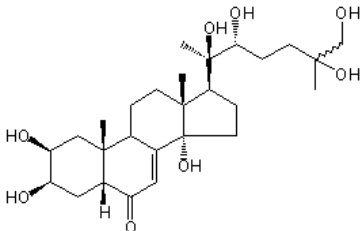
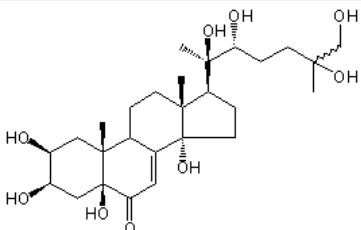
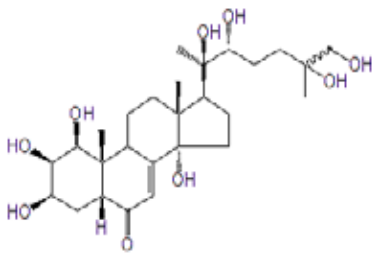
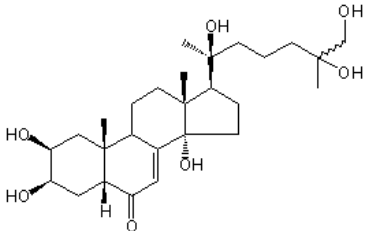
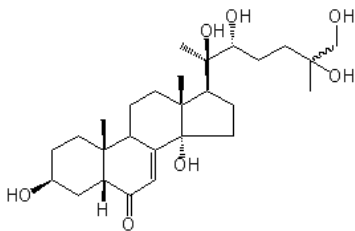
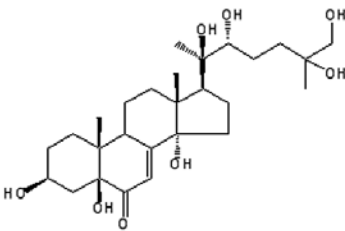


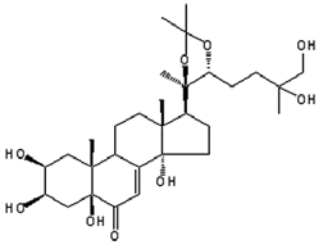
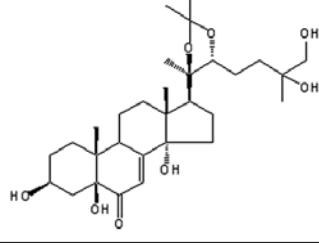
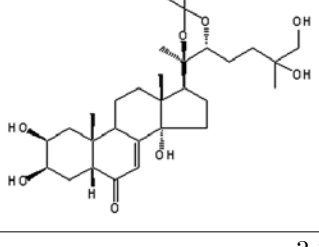
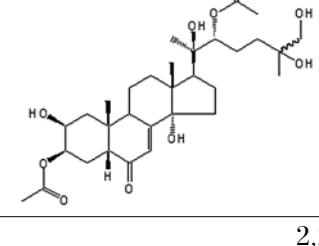
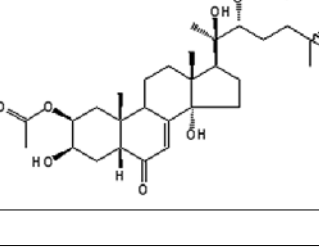
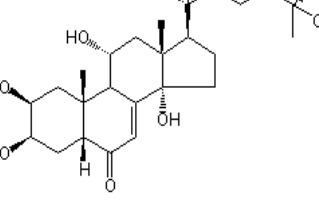
Рис. 1. ВЭЖХ этанольного экстракта *Silene frivaldszkyana* (дихлорметан/изопропанол/вода 100:40:3, 2 мл/мин./, Zorbax-Sil).

Условные обозначения: 2dE – 2-дезоксидэкидизон, 2d20E – 2-дезоксид-20-гидроксиэкидизон, PolB – полипидин В, 20E – 20-гидроксиэкидизон, Int A – интегристерон А, 26PolB – 26-гидроксиполипидин В, 20,26E – 20,26-дигидроксиэкидизон. По горизонтале: время удерживания соединений, мин.

Таблица 1

Распространение 26-гидроксиэкдистероидов в растениях

Структура	Вид растения	Автор
20,26-дигидроксиэкдизон		
	<i>Lychnis flos-cuculi</i> <i>Silene nutans</i> <i>S. frivaldszkyana</i> <i>S. otites</i> <i>S. viridiflora</i> <i>Podocarpus elatus</i> <i>Palisota schweinfurthii</i>	Girault et al. [8] Girault et al. [8] Zibareva et al. [4] Bathori et al. [9] Simon et al. [10] Thompson et al. [11] Kusamba et al. [12]
26-гидроксиполиподин В		
	<i>Lychnis flos-cuculi</i> <i>Silene nutans</i> <i>S. frivaldszkyana</i> <i>S. viridiflora</i>	Girault et al. [8] Girault et al. [8] Zibareva et al. [4] Mamadaliyeva et al. [7] Simon et al. [10]
26-гидроксиинтегристерон А		
	<i>S. frivaldszkyana</i>	Zibareva et al. [4]
22-дезоксидеокси-20,26-дигидроксиэкдизон		
	<i>S. nutans</i>	Girault et al. [8]
2-дезоксидеокси-20,26-дигидроксиэкдизон		
	<i>S. pseudotites</i>	Meng et al. [2]
2-дезоксидеокси-26-гидроксиполиподин В		
	<i>S. viridiflora</i>	Toth et al. [13]

Структура	Вид растения	Автор
20,22-ацетонид 5,20,26-тригидроксиэкдизона		
	<i>S. viridiflora</i>	Toth et al. [13]
20,22-ацетонид 2-дезоксид-5,20,26-тригидроксиэкдизона		
	То же	Toth et al. [13]
20,22-ацетонид 20,26-дигидроксиэкдизона		
	<i>S. viridiflora</i>	Toth et al. [13]
3,22-диацетат 20,26-дигидроксиэкдизона		
	То же	Mamadaliyeva et al. [3]
2,22-диацетат 20,26-дигидроксиэкдизона		
	То же	Mamadaliyeva et al. [3]
11,20,26-тригидроксиэкдизон		
	<i>Vitex canescens</i>	Suksamrarn et al. [14]

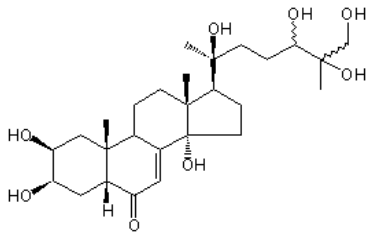
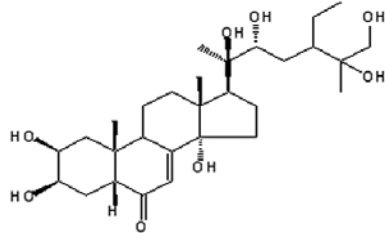
Структура	Вид растения	Автор
26-гидроксипиннатастерон		
	<i>V. cymosa</i>	Dos Santos et al. [15]
26-гидроксимакистерон С		
	<i>Leuzea carthamoides</i>	Budesinsky et al. [24]

Таблица 2

Состав экистероидов двух видов сем. Caryophyllaceae

<i>Silene frivaldszkyana</i>	
20-гидроксиэкдизон [2]	
2-дезоксид-20-гидроксиэкдизон	
2-дезоксидэкдизон	
Полипидин В	
Интегристерон А	
26-гидроксиинтегристерон А	
20,26-дигидроксиэкдизон	
26-гидроксиполипидин В	
<i>Silene viridiflora</i>	
20-гидроксиэкдизон [7, 17]	
Полипидин В	
2-дезоксид-20-гидроксиэкдизон [7, 10, 17]	
26-гидроксиполипидин В	
Интегристерон А	
Силенеозид А [7, 17]	
Силенеозид Д	
3,22-диацетат 20,26-дигидроксиэкдизона [3]	
2,22-диацетат 20,26-дигидроксиэкдизона	
2-дезоксид-20-гидроксиэкдизон-20-О-бензоат [18]	
20,22-ацетонид 5 α ,2-дезоксид-20-гидроксиэкдизона [10]	
2,3;20,22-диацетонид макаистерона С	
20,22-ацетонид 5 β -2-дезоксид-20-гидроксиэкдизона	
20,26-дигидроксиэкдизон	
2-дезоксид-20-гидроксиэкдизон	
2-дезоксидинтегристерон А	
2-дезоксид-5,20,26-тригидроксиэкдизон [13]	
20,22-ацетонид 5,20,26-тригидроксиэкдизона	
20,22-ацетонид 2-дезоксид-5,20,26-тригидроксиэкдизона	
20,22-ацетонид 20,26-дигидроксиэкдизона	

(2d20E), 2-дезоксидэкдизон (2dE), интегристерон А (IntA), а также три 26-гидроксипроизводных – 26-гидроксиполипидин В (26PolB), 20,26-дигидроксиэкдизон (20,26E), 26-интегристерон А (рис. 1). Последнее соединение выделено впервые.

Постепенное увеличение полярности системы растворителей хлороформ–этанол позволило последовательно выделить из наземной части *S. viridiflora* экистероиды разного строения (табл. 1): 2-дезоксид-20-гидроксиэкдизон; полипидин В, 20E; 26-гидроксиполипидин В, интегристерон А, силенеозиды Д и А, 2,22-диацетат 20,26-дигидроксиэкдизона и 3,22-диацетат 20,26-дигидроксиэкдизона [3, 7].

Обсуждение

Разнообразие полярных фитоэкистероидов с 7-8 оксигруппами значительно богаче зооэкистероидов. Для растений, в том числе и рода *Silene*, свойственен в основном синтез 26-оксипроизводных 20E (табл. 1). Следует заметить, что лишь один экистероид из этого ряда – 20,26-дигидроксиэкдизон обнаружен как у насекомых-фитофагов, так и в растениях. Анализ распространения 26-гидроксипроизводных в растениях свидетельствует о наибольшей встречаемости их в роде *Silene*. Наиболее богатыми продуцентами 26-гидроксилированных экистероидов среди растений являются *S. frivaldszkyana* и *S. viridiflora*. Из четырёх известных в настоящее время экистерои-

дов, имеющих восемь гидроксильных групп в составе молекулы, два таких полярных экидстероида (в том числе и при C₂₆) впервые обнаружены нами в указанных видах.

В литературе имеются сведения, что концентрации и даже качественный состав экидстероидов подвержены весьма существенным колебаниям в зависимости от места произрастания растений. Так, *S. brachyica*, произрастающая в Киргизии, содержит 20E, полиподин В, интегристерон А, витикостерон Е, силенеозиды А, В, С, Д, экидзон-22-сульфат, а образец этого же вида из Узбекистана – 20E, 2-дезоксипроизводные экидзона и 20E, интегристерон А, силенеозиды А, В, С, Е, 20,22-моноацетонит 2-дезоксипроизводного экидзона, 22-ацетат 2-дезоксипроизводного экидзона [16]. Вариабильность химического профиля экидстероидов наблюдали в образцах *Serratula coronata* L. разного происхождения: растения, собранные в Узбекистане, содержали 20E, витикостерон Е и Е [19, 20]; выращенные в Республике Коми – 20E, Е, 25S-инокостерон, макистероны А и С, аюгастерон С и дакрихайнанстерон [21], в то время как в дикорастущих в Башкирии обнаружены 20E, экидзон, полиподин В, аюгастерон С, 22-О-ацетил-20E, 22-дезоксипроизводного экидзона и новый фитоэкидстероид – коронатастерон [22]. Проявлено влияние комплекса условий горных районов Монголии на уровень и состав экидстероидов в *Silene repens* [23]. Образцы *S. viridiflora* (Венгрия) характеризуются многообразием структур экидстероидов, сре-

ди которых идентифицированы и 26-гидроксипроизводные (табл. 2). При выращивании в условиях Узбекистана растения этого вида не синтезировали полиподин В, 2-дезоксипроизводного экидзона и 26-гидроксиполиподин В [18]. В то же время нами из интродуцированных в Западную Сибирь растений были выделены гликозиды и ацетаты экидстероидов, которые не были выявлены в растениях венгерского образца. Таким образом, на примере *S. viridiflora* продемонстрировано влияние условий произрастания растений на состав экидстероидов.

Из растений *S. viridiflora*, интродуцированных в Сибирском ботаническом саду, ранее выделен другой набор соединений. По всей вероятности, синтез в интродуцентах протекает по схеме, представленной на рисунке 2А. Предполагаемая схема превращений экидстероидов в 26-гидроксипроизводные приведена на рисунке 2Б. Следует отметить, что синтез 26-гидроксипроизводных предполагает в качестве промежуточного продукта 20,26-дигидроксипроизводного экидзона, который обнаружен в образце венгерского происхождения, но не выделен нами из интродуцированных растений. Авторами [10] предложена гипотетическая схема превращений экидстероидов в популяции *S. viridiflora* из окрестностей Вакратот (Венгрия). Очевидно, что биосинтез экидстероидов в растениях *S. viridiflora*, произрастающих в различных климатических условиях, протекает по различному пути.

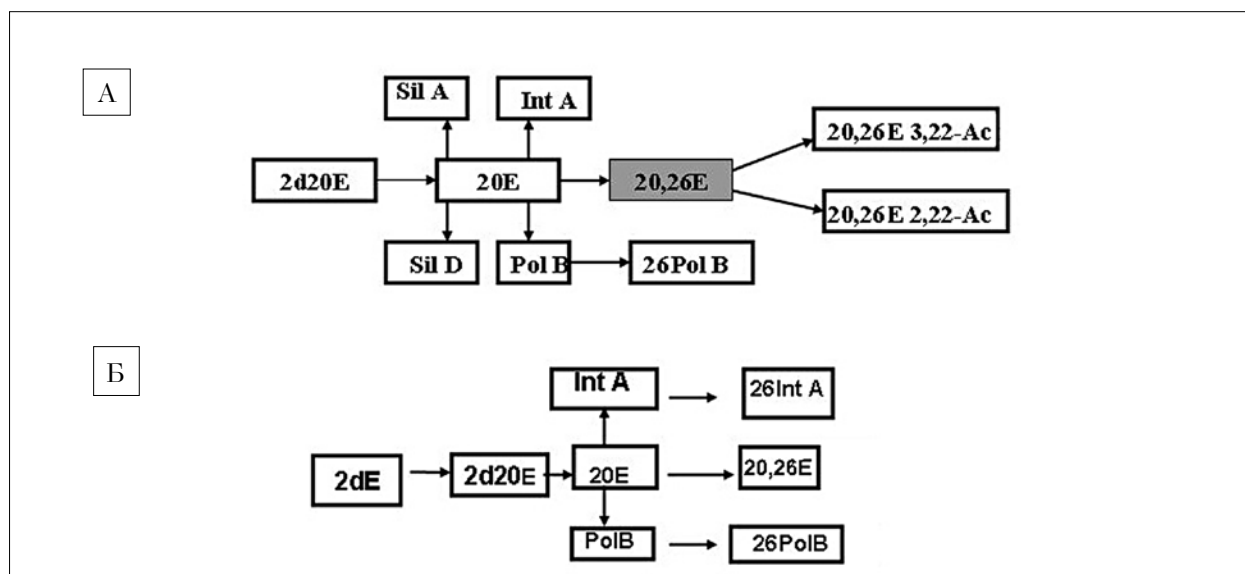


Рис. 2. Схема превращений экидстероидов в *Silene viridiflora* (А) и *S. frivaldszkyana* (Б), интродуцированных в Сибирском ботаническом саду

Условные обозначения: Sil A – силенеозид А; Sil D – силенеозид Д; 20,26E 3,22-Ac – 3,22-диацетат 20,26-дигидроксипроизводного экидзона; 20,26E 2,22-Ac – 2,22-диацетат 20,26-дигидроксипроизводного экидзона; 26Int A – 26-гидроксипроизводного интегристерона А. Остальные обозначения те же, что на рис. 1.

Заключение

Изучение распространения полярных экидистероидов – 26-гидроксипроизводных – показало, что растения характеризуются большим структурным разнообразием, чем насекомые. У растений найдены 26-гидроксипроизводные 20E, тогда как у насекомых обнаружены производные как 20-гидроксиэкидизона, так и экидизона. Наибольшее число полярных экидистероидов с восемью оксигруппами, включая и при C₂₆, выявлено в видах *S. viridiflora* и *S. frivaldszkijana*. Условия произрастания влияют на синтез экидистероидов, включая и 26-гидроксипроизводных.

Литература

1. Zibareva L., Volodin V., Saatov Z. et al. Distribution of phytoecdysteroids in the Caryophyllaceae // *Phytochem.* 2004. V. 64. № 2. P. 499–517.
2. Meng J., Whiting P., Zibareva L. et al. Identification and quantitative analysis of the phytoecdysteroids in *Silene* species (Caryophyllaceae) by high performance liquid chromatography. Novel ecdysteroids from *Silene pseudotites* // *J. Chromatography.* 2001. V. 935. P. 309–319.
3. Mamadalieva N., Zibareva L., Evrard-Todeschi N. et al. New minor ecdysteroids from *Silene viridiflora* // *Collect. Czech. Chem. Commun.* 2004. V. 69. P. 1675–1680.
4. Zibareva L., Yeriomina V.I., Munkhjargal N. et al. The phytoecdysteroid profiles of 7 species of *Silene* (Caryophyllaceae) // *Arch. Insect Biochem. Physiol.* 2009. V. 72. № 4. P. 234–248.
5. Саатов З., Горовиц М.Б., Абубакиров Н.К. Фитоэкидистероиды растений рода *Silene* XVI. Витикостерон E-22 О-бензоат из *S. wallichiana* // *Химия природных соединений.* 1988. № 4. С. 546–549.
6. Ecdybase (The Ecdysone Handbook) – a free online ecdysteroids database. – (www.ecdybase.org 15.06.2010).
7. Mamadalieva N., Zibareva L., Saatov Z., Lafont R. Phytoecdysteroids of *Silene viridiflora* // *Chem. Natural Compounds.* 2003. V. 39. P. 199–203.
8. Girault J.-P., Bathori M., Varga E. et al. Isolation and identification of new ecdysteroids from the Caryophyllaceae // *J. Natural Products.* 1990. V. 53. P. 279–293.
9. Bathori M., Girault J.-P., Kalasz H. et al. Complex phytoecdysteroid cocktail of *Silene otites* (Caryophyllaceae) // *Arch. Insect Biochem. Physiol.* 1999. V. 41. P. 1–8.
10. Simon A., Toth N., Toth G. et al. Ecdysteroids from *Silene viridiflora* // *Helvetica Chim. Acta.* 2009. V. 92. P. 753–761.

11. Galbraith M.N., Hort H.S., Middleton E.L. et al. Structure of podecdysone C, a steroid with moulting hormone activity from the bark of *Podocarpus elatus* R. Br. // *Experientia.* 1973. V. 29. № 7. P. 782.
12. Kusamba C., Nicoletti M., Federici E. et al. Isolation of ecdysteroids from three species of *Palisota* // *Fitoterapia.* 1995. V. LXVI. P. 175–178.
13. Toth N., Simon A., Toth G. et al. 26-hydroxylated ecdysteroids from *Silene viridiflora* // *J. Natural Products.* 2008. V. 71. P. 1461–1463.
14. Suksamrarn A., Promrangsan N., Jintasirikul A. Highly oxygenated ecdysteroids from *Vitex canescens* root bark // *Phytochem.* 2000. V. 53. P. 921–924.
15. Dos Santos T.C., Delle Monache F., Leit o S.G. Ecdysteroids from two Brazilian *Vitex* species // *Fitoterapia.* 2001. V. 72. P. 215–220.
16. Саатов З. Экидистероиды растений сем. Caryophyllaceae, Labiatae, Compositae: Автореф. дис. ... докт. хим. наук. Ташкент. 1993. 36 с.
17. Zibareva L. Phytoecdysteroids of Caryophyllaceae Juss. // *Contemporary problems of ecology.* Berlin–London: Springer, 2009. V. 2. № 5. P. 476–488.
18. Рамазанов Н.Ш., Султанов С.А., Саатов З., Нигматуллаев А.М. Фитоэкидистероиды рода *Silene* и динамика их содержания // *Химия природных соединений.* 1997. № 6. С. 718–723
19. Новосельская И.Л. Фитоэкидизоны растений рода *Serratula*: Автореф. дис. ... канд. хим. наук. Ташкент. 1977. 23 с.
20. Новосельская И.Л., Горовиц М.Б., Абубакиров Н.К. Витикостерон E, экидистерон, а-экидизон. Фитоэкидистероиды *Serratula coronata* // *Химия природных соединений.* 1981. № 5. С. 668–669.
21. Volodin V.V., Alexeeva L.I., Kolegova N.A. et al. Futher ecdysteroids from *Serratula coronata* L. (Asteraceae) // *Biochem. System. Ecol.* 1998. V. 26. P. 459–461.
22. Балтаев У.А., Галяутдинов И.В., Боровикова Е.Б., Одинокоев В.Н. Фитоэкидистероиды растений рода *Serratula* и *Chenopodium*. Выделение и трансформации // *Лесохимия и органический синтез: Матер. докл. III все-рос. совещ. Сыктывкар.* 1998. С. 28.
23. Мунхжаргал Н., Зибарева Л.Н., Лафон Р., Прибыткова Л.Н., Писарева С.И. Изучение качественного состава и содержания экидистероидов дикорастущей в Монголии и интродуцированной в Западную Сибирь *Silene repens* // *Химия растительного сырья.* 2009. № 4. С. 133–138.
24. Budesinsky M., Vokac K., Harmatha J., Cvaccka J. Additional minor ecdysteroid components of *Leuzea carthamoides* // *Steroids.* 2008. V. 73. P. 502–514.