

ИССЛЕДОВАНИЯ КОЛЛЕКТИВА КАФЕДРЫ ОБЩЕЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ И БИМЕДИЦИНСКОЙ ТЕХНОЛОГИИ В ОБЛАСТИ БИОИНЖЕНЕРИИ РАСТИТЕЛЬНЫХ ПРОДУЦЕНТОВ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ

**В.А. Быков, С.Н. Суслина, Т.Е. Саматадзе, О.А. Сёмкина,
А.С. Хомик, М.И. Волжанова, Д.А. Сливкин**

Кафедра общей фармацевтической и биомедицинской технологии
Российский университет дружбы народов
ул. Миклухо-Маклая, 8; Москва, Россия, 117198

Статья посвящена комплексным исследованиям различных морфологических групп сырья, клеточной биомассы и продуктивной части метаболома растительных суперпродуцентов природного и биотехнологического происхождения.

Все исследования выполнялись в соответствии с Федеральной целевой программой «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009—2013 гг., в рамках реализации мероприятия № 1.2.1 «Проведение научных исследований научными группами под руководством докторов наук». Проект: «Биоинженерия как основа мобилизации адаптивного потенциала биообъектов — суперпродуцентов БАВ» ГК П555/05.08.2009 — НК-97П.

Ключевые слова: биоинженерия растительных биообъектов, биомасса растительных клеток, продуценты БАВ, женьшень, василистник малый, унгерния Виктора, маклея, каланхоэ дегремона, каланхоэ перистое, энотера двулетняя, гранатник, смородина красная.

Проводимые научно-педагогическим коллективом кафедры исследования объединены общей целью получения новых лекарственных препаратов, содержащих комплексы биологически активных веществ (БАВ) различной степени очистки (суммы экстрактивных веществ, очищенные суммы алкалоидов, флавоноидов, липидов, индивидуальные вещества) растительного происхождения, обладающие актуальной для современного здравоохранения активностью: адаптогенной, гепатопротекторной, противовоспалительной, противовирусной, антиоксидантной и т.д.

Изучение границ адаптивного потенциала лекарственных растений и создание на их основе суперпродуцентов организменного, тканевого или клеточного уровней методами биоинженерии необходимо для достижения непрерывного биосинтеза или биотрансформации БАВ в контролируемых условиях. Разработка технологических параметров культивирования продуцентов позволяет вести направленный биосинтез или биотрансформацию БАВ в экономически целесообразных промышленных масштабах.

Экспериментальные работы осуществлялись силами авторов на базе учебных лабораторий кафедры, в том числе с использованием микроскопов приборного парка ЦКП НОЦ РУДН (директор к.ф.н. Р.А. Абрамович), и на базе лаборатории биотехнологии ГУП НИИВИЛАР (директор академик РАМН и РАСХН В.А. Быков).

Неотъемлемым блоком разработки лекарственных препаратов независимо от происхождения являются вопросы сквозной стандартизации, начиная от про-

дуцента (включая его идентификацию в качестве сырья БАВ и технологическую приемлемость по уровню биосинтетической или трансформационной активности), и до конечного лекарственного препарата.

Стандартизация нативного ЛРС в настоящее время переходит на новый уровень в связи с развитием техник микроскопического исследования материалов, и разработанные методики определения микроскопических диагностических признаков могут в дальнейшем быть модифицированы для конкретных видов сырья, включая все гистоморфологические группы, а также сырье представленной клеточной недифференцированной биомассой.

Процесс инженерного создания биообъекта показан на примере получения недифференцированной клеточной биомассы родиолы розовой от момента взятия первичного экспланта от нативного растения через стадию первичного каллуса, введение в каллусную культуру и далее в суспензионное продуцирующее состояние, контроль методом микроскопии качественных изменений биообъекта и с помощью спектральных и хроматографических содержаний БАВ (Ю.М. Тертичная, М.П. Бурнашкина, С.Н. Суслина, В.А. Быков)

С целью изучения возможностей влияния на продуктивную часть метаболизма биотехнологического продуцента исследована динамика процессов нарастания биомассы василистника в суспензионной культуре в качалочных колбах и лабораторном ферментере. Результаты эксперимента, посвященного модификации методик культивирования биообъекта клеточного уровня, свидетельствуют о возможности регуляции интенсивности биосинтеза суперпродуцента на примере суспензионной культуры василистника малого. Модификация методик культивирования заключалась в установлении влияния компонентов питательной среды на накопление биомассы клеток в суспензионной культуре и синтез берберина (А.Н. Ходцова, Ю.М. Тертичная, С.Н. Суслина, Т.А. Савина, В.А. Быков).

Впервые проведено сравнительное изучение микропрепаратов клеточных биомасс унгернии Виктора, женьшеня настоящего и василистника малого, и установлены диагностические признаки для каждой изучаемой биомассы клеток методом микроскопии. В ходе эксперимента были подобраны красители для каждой биомассы клеток и предложена методика микроскопического анализа по идентификации растительной биомассы биотехнологического происхождения — продуцирующие БАВ различной фармакотерапевтической направленности. Данную методику можно применять в отношении растительного сырья, полученного в открытом, защищенном грунте, для культур клеток и любых других биообъектов. С ее помощью можно сопровождать процесс производства биомассы и оценивать качество готового продукта по параметрам подлинности (А.Н. Ходцова, А.Ю. Бабаева, Е.Ю. Бабаева, С.Н. Суслина).

Проведено химическое исследование фрагмента метаболизма нативного и биотехнологического продуцента на примере сравнительного изучения биохимического состава водно-спиртовых экстрактов, полученных из интактного растения и клеточной биомассы *Panax ginseng*. Результаты биоинженерного воздействия на биообъект оценивались установлением компонентного состава водно-спиртовых извлечений из биотехнологического сырья — биомасса женьшеня, высушенная методом ВЭЖХ-МС. Полученные данные расширяют представления

о компонентном составе панаксозидов нативного и биотехнологического женьшеня и возможности их выделения из сырья различного происхождения (Д.А. Сливкин, В.А. Быков).

Для установления степени влияния на метаболом продуцентов БАВ биоинженерной модификации, заключающейся в функционировании биообъекта на клеточном уровне в виде недифференцированной культуры клеток, было исследовано балансовое содержание бензо[с]фенантридиновых алкалоидов биотехнологического и плантационного сырья маклеи с использованием современных физико-химических методов (ТСХ, УФ- и ^1H -ЯМР-спектроскопии, хромато-масс-спектрометрии). В ходе экспериментов были определены характерные отличия в алкалоидном составе клеточной культуры *Macleaya cordata* (Willd R. Br.) штамма МЛ-3-99 ВИЛАР от интактного растения маклейи. В траве маклейи сумма состоит из двух основных алкалоидов: сангвинарина и хелеритрина. В клеточной же культуре *Macleaya cordata* (Willd R. Br.) штамма МЛ-3-99 ВИЛАР основная сумма состоит из следующих алкалоидов: сангвинарин, хелирубин, дигидропроизводные (дигидросангвинарин и дигидрохелирубин) в примерном соотношении 1 : 1 : 2 и из алкалоидов макарпина и дигидромакарпина в следовых количествах. Отмечена стабильность культуры *Macleaya cordata* (Willd R. Br.) штамма МЛ-3-99 ВИЛАР в отношении синтеза алкалоидов бензо[с]фенантридинового ряда при многократном субкультивировании в течение года. Установлены показатели подлинности и доброкачественности биосырья: определены диагностические признаки, характеристики ТСХ и УФ спектра, числовые показатели (Г.Р. Бушуева, В.А. Быков). Получены данные по изучению содержания С-гетерохроматина в профазных ядрах (Т.Е. Саматадзе, В.А. Быков).

На основании имеющих сведений продуценты БАВ нативного происхождения также могут представлять интерес для разделов биоинженерии, касающихся продуктивной части метаболома.

М.В. Волжановой под руководством С.Н. Суслиной проведен сравнительный фармакогностический анализ свежесобранного сырья каланхоэ Дегремона и каланхоэ перистого: установлены значимые макро- и микроскопические диагностические признаки, товароведческие показатели, разработаны методики ТСХ и ВЭЖХ качественного и количественного анализа фенольных соединений. Идентифицированы рутин, гиперозид, галловая, п-кумаровая кислоты, кверцетин, также идентифицированы кофейная кислота и кемпферол. С помощью метода дифференциальной спектрофотометрии разработаны методики количественного определения суммы фенольных соединений в препаратах, полученных из исследуемых видов сырья. По результатам проведенных авторами исследований опубликовано 2 научные статьи, а всего около 15 публикаций.

В качестве источников жирных масел, содержащих полиненасыщенные жирные кислоты, А.С. Хомик (науч. рук. В.В. Вандышев, С.Н. Суслина) анализировала малоизученные и нетипичные виды лекарственного растительного сырья: семена энотеры двулетней, семена гранатника и семена красной смородины. На основании макро- и микроскопического исследований сырья энотеры двулетней, гранатника и смородины красной определены диагностически значимые признаки анатомического строения, подтвержденные микрофотографиями. Разработаны

методики приготовления микропрепаратов из сырья, представленного замороженными и свежими сочными плодами. В ходе изучения диагностических признаков в анатомическом строении разработана и применялась в дальнейшем методика размещения на микрофотографии масштабной линейки. Применение таких линеек предлагается для внедрения в фармацевтическую практику. Изучен фракционный состав сырья и предложены нормы для контроля измельченности. В ходе исследований установлено, что жом плодов смородины красной, являясь промежуточным продуктом, возможно разделять с помощью кратковременного измельчения и набора сит на составные части: остатки околоплодника и плодоножек и на семена. Эти остатки, впоследствии, могут быть отдельно переработаны для получения пищевых, профилактических и лечебных средств. Впервые с помощью сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) изучены, иллюстрированы оригинальными микрофотографиями в сравнительном аспекте, особенности архитектуры поверхности семян ослинника разных популяций и видов, а также мест культивирования, выявлены диагностические признаки, позволяющие идентифицировать семена энотеры двулетней от семян другого вида; в сравнительном аспекте особенности архитектуры срезов семян гранатника различного происхождения; особенности архитектуры поверхности околоплодника смородины красной, поверхности и среза семени смородины красной.

Таким образом, проведено изучение внешних признаков и продуктивной части метаболома продуцентов биологически активных веществ представленных нативными растениями и биомассой недифференцированных клеток. Результаты проведенных исследований отражены более чем в 30 печатных работах.

INVESTIGATIONS OF CHAIR OF THE GENERAL PHARMACEUTICAL AND BIOMEDICAL TECHNOLOGY IN THE FIELD OF BIOENGINEERING OF VEGETATIVE PRODUCERS OF BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES

**V.A. Bykov, S.N. Souslina, T.E. Samatadze, O.A. Syomkina,
A.S. Khomik, M.I. Volzhanova, D.A. Slivkin**

Department of the general pharmaceutical and biomedical technology
People's Friendship University of Russia
Miklukho-Maklaya str., 8; Moscow, Russia, 117198

Article is devoted to the complex researches of various morphological groups of raw materials, a cellular biomass and a productive part of metaboloms of vegetative superproducers of a natural and biotechnological origin. All investigations were carried out according to the Federal special purpose program «Scientific and scientific and pedagogical shots of innovative Russia» for 2009—2013, action item № 1.2.1 "Carrying out of scientific researches by scientific groups under the direction of doctors of sciences», Project: «Bioengineering as a basis of mobilization of adaptive potential of bioobjects — superproducers BAS» GK П555/05.08.2009 — НК-97П.

Key words: bioengineering of vegetative bioobjects, a biomass of vegetative cages, producers of BAS, a ginseng, thalictrum minus, ungermia victoris, macleya, kalanchoe daigremontiana, kalanchoe pinnata, oenothera biennis, punica granatum, a currant red.