

УДК 577.15

Н. АРХАНГЕЛЬСКАЯ

АЛКАЛОИДЫ КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУР *PAPAVER SOMNIFERUM*

N. ARHANGELSKAJA. *PAPAVER SOMNIFERUM*'I RAKUKULTUURIDE ALKALOIDID

N. ARKHANGELSKAYA. ALKALOIDS OF CELL CULTURES OF *PAPAVER SOMNIFERUM*

(Представил О. Купрет)

Получение биологически активных веществ методом культуры растительных клеток и тканей привлекает внимание исследователей в связи с возможностью их использования в промышленных масштабах. Синтез морфинановых алкалоидов из каллусной культуры мака впервые описан словацкими учеными [1], а из суспензионной культуры — учеными из Института физиологии растений АН СССР [2]. Здесь получены штаммы суспензионных культур *Papaver somniferum*, обладающие способностью к синтезу и экскреции алкалоидов [3]. Задачу повышения продуктивности клеточных культур путем создания стабильной, длительно работающей системы с иммобилизованными на носителе клетками мака совместно решали в вышеназванном институте и в Таллинском политехническом институте. В данном сообщении изложены результаты анализа экстрактов культуральных сред иммобилизованных в частицах пористого полимера клеток штамма PS-5.

Алкалоиды из культуральных сред переводили в форму солей. Для этого среду обрабатывали 1%-ной серной кислотой до pH 2,5 и затем промывали эфиром, в котором соли морфинановых алкалоидов практически не растворяются, при объемном соотношении среды и эфира 4:1. Промытую среду подщелачивали концентрированной гидроокисью аммония до pH 8,5—9, и основания алкалоидов 3-кратно экстрагировали хлороформом до конечного объема, равного объему среды. Объединенные экстракты упаривали досуха, осадок растворяли в 2 мл хлороформа и анализировали методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) в различных системах растворителей на пластинках «Silufol» UV254 (ЧССР) и в слое силикагеля LS254 5/40 (ЧССР). Алкалоиды обнаруживали визуально при УФ-облучении, реагентом Драгендорфа в модификации Мунье, а также в парах иода. Идентификацию пятен на хроматограммах осуществляли с помощью веществ-свидетелей (основания морфина, тебаина, кодеина, папаверина и сангвинарина, полученные экстракцией водных растворов препаратов солей по описанной выше методике). по УФ-спектрам поглощения и фотоколориметрически при комплексообразовании с тропеолином 00 [4].

При хроматографировании хлороформенных экстрактов в разных пробах культуральных сред было обнаружено от 4 до 8 оснований. Максимальное разделение достигалось в системах бензол—этанол—концентрированный раствор аммиака (40:10:1) и бензол—этанол—диоксан—25%-ный аммиак (10:1:8:1). На всех проявленных хроматограммах присутствовали пятна специфической алкалоидной окраски в интервале величин R_f , характерных для морфина, кодеина, тебаина и папаверина (таблица).

В системе хлороформ—ацетон—диэтиламин (5:4:1), хорошо разделяющей морфин и кодеин, было выявлено нарастание интенсивности пятен с R_f , подобных R_f кодеина, по мере старения клеток. В системах

Значения R_f алкалоидов-свидетелей и продуктов синтеза иммобилизованных клеток мака при разделении в слое силикагеля на пластинке «Silufol» в системе бензол—этанол—концентрированный раствор аммиака

Соединение	R_f
Морфин	0,11
Кодеин	0,24
Тебаин	0,53
Папаверин	0,68
I пятно	0,04
II "	0,10
III "	0,23
IV "	0,31
V "	0,52
VI "	0,59
VII "	0,66

бензол—этанол (4:1) и метанол, разделяющих тебаин и папаверин, выявили исчезновение пятен, подобных тебаину, в средах длительно функционирующих клеток и подтвердили наличие в них папаверина. Результаты ТСХ были подтверждены УФ-спектрами поглощения разделенных веществ, которые оказались подобными спектрам морфинановых алкалоидов (рисунок).

По результатам количественного анализа методом комплексообразования с тропеолином 00 в экстракте среды 6-недельных иммобилизованных клеток найдено весовое соотношение папаверин—кодеин—морфин — 10:1:1.

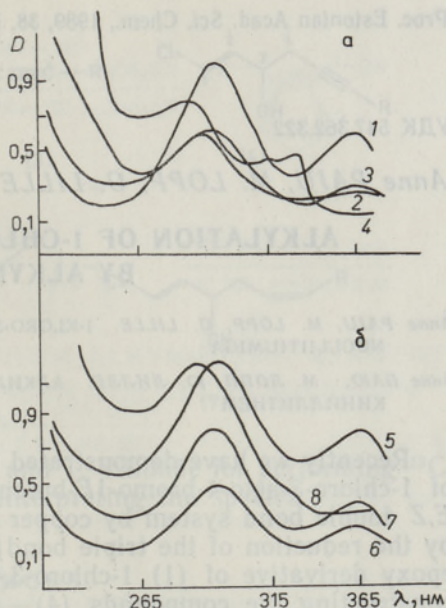
Таким образом, показано, что иммобилизованные клетки мака способны в течение длительного времени синтезировать и выделять в среду морфинановые алкалоиды, причем перестройка метаболизма клеток в этих условиях направлена в сторону уменьшения синтеза тебаина и увеличения синтеза кодеина.

ЛИТЕРАТУРА

1. Blanarik, P., Pospesilova, Z., Blanarikova, V. Kultivacia kalusovej plotivovej kultury druhu *Papaver somniferum* L. a možnosti biosyntezy opiovych alkaloidov v podmienkach in vitro // *Farmac. obzor*, 1981, 50, N 11, 575—581.
2. Шамина Э., Фролова Л., Пауков В., Савалова Л. Изучение культуры клеток мака // Тез. III Всесоюз. конф. по культуре клеток растений. Абовян, 1979, 76.
3. Бутенко Р., Шамина Э., Фролова Л., Пауков В., Решетняк О., Воспенникова Л. Штамм культивируемых клеток мака *Papaver somniferum*, используемый для получения алкалоидов // А. с. № 1347449 (СССР). Оpubл. в Б. И. (в печати).
4. Крамаренко В. Химико-токсикологический анализ. Киев, 1982.

Институт химии
Академии наук Эстонской ССР

Поступила в редакцию
30/V 1989



УФ-спектры поглощения веществ-свидетелей (а) и продуктов синтеза клеток мака (б) после разделения в слое силикагеля LS254 5/40: а — основания морфина (1), R_f 0,16; кодеина (2), R_f 0,39; тебаина (3), R_f 0,51; папаверина (4), R_f 0,56; б — фракции с R_f 0,12 (5), 0,41 (6), 0,47 (7), 0,55 (8).