

УДК 641.002

¹С.А. Надирова, ¹Ж.Т. Лесова, ²Г.А. Бегимбетова*, ¹А.Д. Мухтарова¹АО Алматинский технологический университет, Казахстан, г. Алматы²Казахский национальный медицинский университет им. С.Д.Асфендиярова, Казахстан, г. Алматы

*e-mail: gulshat.begimbet@mail.ru

Изучение биологически активных свойств лекарственных растений с использованием методов биотехнологии

Кодонописис является очень ценным лекарственным сырьем в народной медицине. Препараты кодонописиса способствуют нормализации практически всех важных функций организма, т.к. содержат биогенные стимуляторы, обладающие способностью усиливать защитные силы организма и стимулировать процессы репарации в тканях.

Ключевые слова: кодонописис, биогенные стимуляторы, защитные силы организма, репарация, биологически активные вещества, профилактика

С.А. Надирова, Ж.Т. Лесова, Г.А. Бегимбетова, А.Д. Мухтарова

Биотехнология әдістерін қолданып, дәрілік өсімдіктердің биологиялық белсенді қасиеттерін зерттеу

Кодонописис халық медицинасындағы өте бағалы дәрі-дәрмекті шикізат көзі болып табылады. Кодонописис препараттары ағзадағы барлық маңызды нормаландыру (жақсарту) қызметін атқарады. Оның құрамына биогенді стимуляторлар жатады, олар ағзадағы қорғаушы күшін күшейтумен және ұлпалардағы репарация (қайта қалпына келтіру) процесстерін стимульдеуде ерекшеленеді.

Түйін сөздер: кодонописис, биогенді стимуляторлар, ағзадағы қорғаушы күш, репарация, биологиялық белсенді заттар, алдын алу.

S. Nadirov, J. Lesova, G. Begimbetova, A. Mukhtarova

Study of bioactive properties of medicinal plants using biotechnology

Codonopsis is very valuable medicinal raw materials in national medicine. Preparations codonopsis promote normalisation practically all important functions of an organism. Since contain the biogene stimulators possessing ability to strengthen protective forces of an organism and to stimulate reparation processes in fabrics.

Key words: codonopsis, biogenic stimulators, protective forces of an organism, reparation, biologically active substances, prevention

Одной из основных задач современной фармакогнозии является поиск новых источников биологически активных веществ с целью создания высокоэффективных лекарственных средств.

Лекарственные растения обладают огромными скрытыми целебными силами. Препараты из лекарственных растений особенно ценны при лечении хронических заболеваний, когда больные нуждаются в длительном приеме лекарств. Их преимущество перед синтетическими лекарствами состоит в том, что они редко вызывают

побочные реакции организма, почти не токсичны, хорошо переносятся больными независимо от возраста, применяются с профилактической целью и для длительных курсов лечения. *Определенный интерес представляют растения рода кодонописис, которые характеризуются широким спектром биологического действия.*

Культура изолированных тканей и клеток растений завоевала признание не только как метод изучения сложных вопросов развития растений – она находит и практическое применение. Почти каждый открытый здесь научный факт

находит свое отражение в прикладных исследованиях. В отличие от клеток животных практически любая растительная клетка способна в определенных условиях и на соответствующих питательных средах регенерировать полноценные растения (свойство тотипотентности растительных клеток) [1, 2]. Решающую роль во вторичном образовании органов (корней или почек) из недифференцированных тканей *in vitro* играет соотношение фитогормонов (ауксинов и цитокининов) и их концентраций в питательной среде.

Лекарственные растения привлекают внимание врачей, фармацевтов и населения, так как настои, настойки, отвары и экстракты обычно действуют более мягко, чем синтетические антибиотические и гормональные препараты к тому же они менее токсичны, реже вызывают аллергические реакции и вредные побочные эффекты. К таким растениям относится и кодонопсис ломоносовый (*Codonopsis clematidea*), который является очень ценным лекарственным сырьем в народной медицине [3, 4, 5].

Кодонопсис известен в древневосточной медицине не меньше самого женьшеня, в Китае его называют «даншень». Кодонопсис обладает поистине уникальным свойством – его препараты способствуют нормализации практически всех жизненно важных функций организма: обладают выраженным иммуномодулирующим эффектом, стимулируют синтез иммуноглобулинов и иммунных медиаторов (интерлейкинов). Экстракты кодонопсиса способствуют нормализации кроветворения, обладают сосудорасширяющим действием и препятствуют процессу тромбообразования. Кодонопсис является очень мощным кардиотоническим средством и увеличивает силу сердечных сокращений. Немаловажно и то, что кодонопсис является универсальным регулятором большинства пищеварительных процессов. Наконец, кодонопсис стимулирует синтез белка и процессы клеточного роста. В настоящее время в Китае, России разработаны и широко применяются препараты, в состав которых входит кодонопсис (*Codonopsis*), растение из семейства колокольчиковые (*Campanulaceae*).

Таким образом, возможности, открытые методом культуры тканей, позволили в настоящее время создать биотехнологическое производ-

ство принципиально новых видов сырья для получения необходимых соединений.

Для изучения и получения БАД из лекарственных растений на кафедре «Пищевая биотехнология» АГУ начато изучение биологических и химических свойств клеточной культуры кодонопсиса ломоносового (*Codonopsis clematidea*) в условиях *in vitro*.

Целью нашего исследования явилась оптимизация условий культивирования и микрклонального размножения лекарственного растения кодонопсиса ломоносового (*Codonopsis clematidea*).

Нами начаты работы по подбору условий корневой части кодонопсиса ломоносового (*Codonopsis clematidea*) на стандартной питательной среде Мурасиге-Скуга (МС).

Основным условием успешной работы с культурой клеток и тканей является стерильность посадочного материала [1]. Современные стандарты на посадочный материал требуют его оздоровления от вирусной инфекции и микоплазм, паразитических нематод клещей и других вредителей. В клетке, зараженной вирусом, постоянно происходит два процесса – репродукция новых вирусных частиц и отмирание старых. При нормальных условиях первый процесс преобладает над вторым, благодаря чему происходит накопление вирусных частиц в клетке. При неблагоприятных условиях преобладающим является естественный распад, и в этом случае наблюдается общая убыль вируса в клетке и замедляется его распространение. Одним из таких неблагоприятных факторов является температура. Возможно, температура воздействует не непосредственно на вирусные частицы, а активирует образование каких-либо веществ в клетке, способных инактивировать вирус. Однако в наших экспериментах мы не использовали этот распространенный прием, поскольку при воздействии высоких температур могут инактивироваться биологически активные вещества, содержащиеся в экспланте. Поэтому в наших экспериментах экспланты вычленили из органов растений, прошедших предварительную обработку стерилизующими агентами.

Корневища кодонопсиса предварительно мыли в мыльной воде, затем промывали обычной водой. После замачивали в слабом раство-



Рисунок 1 – А- Стерильные корни кодонопсиса; Б- каллусная культура

ре KMnO_4 на 15 мин., затем дистиллированной водой. После этого на 5 мин. помещали в 3-5% раствор хлорамина, затем трехкратно промывали дистиллированной водой. Затем помещали в 70% этиловый спирт и пятикратно промывали в стерильной воде. Последние две процедуры проводили в стерильных условиях в ламинарном боксе. Стерилизация эксплантов корневища кодонопсиса таким способом обеспечивало освобождение от инфекции на 80-85%.

В работе использовалась питательная среда Мурасиге-Скуга, являющаяся наиболее эффективной при культивировании изолированных клеток и тканей растений [5]. В качестве добавок использовалась 2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота (2,4-Д), кинетин и индолилуксусная кислота (ИУК). Приготовленную питательную среду, согласно прописи, разливали по пробиркам и чашкам Петри и автоклавировали при температуре 120°C и давлении 0,7 атмосфер 20 минут.

В качестве эксплантов для культивирования использовали корень кодонопсиса, который разрезали на диски толщиной 0,2-0,5 мм и помещали в чашки Петри с питательной средой Мурасиге-Скуга (МС) (Рисунок 1).

Пробирки и чашки Петри содержались в термостате при температуре $25 \pm 1^\circ\text{C}$. Часть полученных морфогенных каллусов культивировали на среде МС с 1 мг/л 2,4-Д в термостате при температуре $+25^\circ\text{C}$, часть на безгормональной среде МС при температуре $+25^\circ\text{C}$, освещенность 16 000 Лк с 16-часовым фотопериодом. Оценка частоты образования каллусов производилось на 10-15 день культивирования.

С помощью гистологического контроля подобраны экспланты нужного размера (0,5-2,0 см), содержащие хорошо развитые апексы.

С помощью гистологического контроля подобраны экспланты нужного размера (0,5-2,0 см), содержащие хорошо развитые апексы.

Питательная среда для культивирования *in vitro* изолированных лукович и корневищ кодонопсиса подобрана экспериментально на основе среды Мурасиге и Скуга с введением в ее состав смеси фитогормонов кинетина и ауксина ИУК в концентрации 2,5 мг/л каждый. На этой среде шло активное каллусообразование и корнеобразование, что объясняется свойством кинетина стимулировать митотическую активность клеток и свойством ауксина ИУК стимулировать регенерацию растений *in vitro*.

Экспланты тканей свежего корня кодонопсиса ломоносвидного, собранного в сентябре и октябре 2008 г., размерами в 0,3 – 0,5 мм были посажены в асептических условиях на питательные среды Мурасиге-Скуга (МС) и Гамборга В-5 (ГВ-5).

На МС среде наблюдали образование каллусов на 5-7 сутки культивирования. На среде ГВ-5 – образование каллусов наблюдалось на 11-15 сутки. Каллусы культивировали при температуре $24-26^\circ\text{C}$ в термостате при постоянной влажности в течение 2- месяцев. Каждые 3 дня проводили визуальное наблюдение за приростом каллусов, измеряя диаметр каллусов. Отмечено, что на среде МС лучше идет прирост каллусов и больше каллусов морфогенного типа – ярко-желтые, гроздьевидной структуры. Эти каллусы отобраны нами для дальнейшего субкультивирования.

Таким образом, на примере лекарственного растения кодонопсис показана принципиальная возможность микроклонального размножения этого редкого вида лекарственных растений Казахстана.

Литература

- 1 Шевелуха В.С. Сельскохозяйственная биотехнология. //Т.2. М., 2001. 468 с.
- 2 Муромцев Г.С., Бутенко Р.Г., Тихоненко Т.И., Прокофьев М.М. //Основы сельскохозяйственной биотехнологии. М., 1990. 384 с.
- 3 Ладыгина Е.Я., Сафронов Л.Н. и др. Химический анализ лекарственных растений. 1983г. Москва, Высшая школа. 176 с.
- 4 флора Казахстана-Т.1 Иллюстрированный определитель семейств и родов. – Алматы: Гылым, 1999. – 400с.
- 5 Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. //Physiol. Plant., 1962. v/15. P. 473-497.

Reference

- 1 Sheveluha V.S. Selskohozyaystvennaya biotehnologiya. //Т.2. М., 2001. 468 s.
- 2 Muromtsev G.S., Butenko R.G., Tihonenok T.I., Prokofev M.M. //Osnovy selskohozyaystvennoy biotehnologii. М., 1990. – 384 s.
- 3 Ladyigina E.Ya., Safronov L.N. i dr. Himicheskiy analiz lekarstvennyih rasteniy. 1983g. Moskva, Vyisshaya shkola. 176 s.
- 4 Flora Kazahstana-T.1 Illyustrirovannyiy opredelitel semeystv i rodov. – Almaty: Gyilyim, 1999. – 400s.
- 5 Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. //Physiol. Plant., 1962. v/15. R. 473-497.