

ПАРАДОКС

OENOTHERA BIENNIS L.

Продолжение. Начало в №2 за 2021 г.

Часть II

Аннотация. Ранее мы впервые установили, что масло из семян инвазивного вида *O. biennis*, собранных в различных регионах Беларуси, не уступает мировым аналогам по составу и содержанию полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК), в том числе γ -линоленовой кислоты, и характеризуется гипополипидемическим и иммуностимулирующим действием. В настоящей работе продемонстрировано антиоксидантное и протекторное действие масла на кератиноциты человека линии HaCaT в условиях моделируемого окислительного стресса. Составлена карта распространения *O. biennis* и оценены запасы семян по регионам республики. Предполагается, что проведение широкомасштабных исследований *O. biennis* будет способствовать ограничению его экспансии в Беларуси, культивированию и стандартизации сырья для создания отечественных фитопрепаратов медицинского назначения.

Ключевые слова: масло *Oenothera biennis*, антиоксидантное и протекторное действие, кератиноциты человека линии HaCaT, ресурсная оценка.

Для цитирования: Канделинская О., Грищенко Е., Левкович А., Анисович М. Парадокс *Oenothera biennis* L.: Часть II // Наука и инновации. 2021. №3. С. 57–60. <https://doi.org/10.29235/1818-9857-2021-3-57-60>

Ольга Канделинская,
ведущий научный сотрудник
Института экспериментальной ботаники
им. В.Ф. Купревича НАН Беларуси,
кандидат биологических наук, доцент;
okandy@yandex.ru

Елена Грищенко,
старший научный сотрудник
Института экспериментальной ботаники
им. В.Ф. Купревича НАН Беларуси;
helegreen@yandex.ru

Анастасия Левкович,
старший научный сотрудник
Института экспериментальной ботаники
им. В.Ф. Купревича НАН Беларуси,
кандидат биологических наук;
a.shevkunova@mail.ru

Марина Анисович,
научный сотрудник лаборатории
профилактической и экологической
токсикологии Республиканского
Научно-практического центра гигиены;
m_anisovich@mail.ru

Энотера двулетняя – *Oenothera biennis* L. рода *Oenothera* L. семейства Кипрейные – *Onagraceae* L. является официальным растением в большинстве стран ЕС и представлена в Европейской фармакопее и в статье ВОЗ, поскольку ее семена содержат ценное масло с высоким содержанием полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК), в том числе γ -линоленовой кислоты, которые используются в медицине для профилактики и в комплексном лечении сердечно-сосудистых заболеваний, диабета, различных нарушений жирового обмена [1–5]. Однако в Государственной фармакопее Республики Беларусь

отсутствуют статьи, касающиеся семян или масла *O. biennis*, в официальной медицине нашей страны растение не используется и масло не производится. В то же время *O. biennis* натурализовалась в Беларуси, и ее распространение приобретает инвазионный характер, как и в ряде регионов России [6–8]. Вместе с тем, учитывая высокий лекарственный потенциал данного вида, представляется целесообразным разработать ограничительные меры, связанные не столько с физическим уничтожением растения, сколько с учетом потенциальной коммерческой выгоды, возникающей при заготовке его семян, получении высококачественного масла, сбалансированного

по составу ПНЖК, и разработке на его основе эффективных фитопрепаратов для медицины.

Цель данной работы – изучение антиоксидантных свойств масла, а также эколого-фитоценологических и географических особенностей *O. biennis*, произрастающей в различных регионах Беларуси.

ОБЪЕКТ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В работе использовали семена *O. biennis*, собранные в Минской области доцентом БГУ Г.И. Горбацевичем.

Экстракцию масла из семян *O. biennis* проводили согласно [9], оценку его антиоксидантных свойств – в условиях моделируемого окислительного стресса *in vitro* с использованием культуры кератиноцитов человека линии HaCaT. Схема опыта была следующая: отрицательный контроль – питательная среда (ДМЕМ 90% + эмбриональная телячья сыворотка 10%); положительный контроль (моделируемый окислительный стресс) – 20 мМ раствор тетрахлорметана (ТХМ), который добавляли за 2 часа до окончания эксперимента. Для оценки количества жизнеспособных кле-

ток использовали метилтетразолиевый тест (МТТ), основанный на способности митохондриальных дегидрогеназ метаболически активных клеток восстанавливать соль тетразолина (MTS) в формазан [10]. Клетки HaCaT выращивали в CO₂-инкубаторе при 37 °С, 5% CO₂, относительной влажности воздуха 80% в лунках 96-луночных планшетов (посевная концентрация – 50–70 тыс. клеток/мл). На вторые сутки культивирования в емкости с прикрепившимися клетками вносили образцы масла *O. biennis* в различной концентрации. После 24-часовой экспозиции измеряли суммарную активность митохондриальных дегидрогеназ клеток в каждой лунке в метилтетразолиевом тесте фотометрически. Для его проведения использовали набор CellTiter 96® AQueous One Solution Cell Proliferation Assay (MTS), Promega. Для измерения поглощения формазана клетки инкубировали с MTS в течение 2 часов в термостате, замеры проводились при $\lambda = 490$ нм.

Эколого-фитоценологические и географические исследования популяций *O. biennis* проводили по методам полевого обследования территорий Государственного кадастра растительного мира

Республики Беларусь [11]. Луговые растительные сообщества классифицировали по системе Браун-Бланке [12]. Оценку продуктивности и запасов сырья в конкретных зарослях осуществляли по общепринятым методикам [11, 13]. Региональные запасы и возможные объемы ежегодной заготовки сырья энотеры определяли с помощью разработанного алгоритма кадастровой региональной оценки запасов растительных ресурсов [13].

Статистический анализ. В таблицах представлены средние значения и их стандартные отклонения. Достоверность оценивали по критерию *t*-Стьюдента с учетом дисперсии (F-тест), параметрического статистического метода при помощи программы Statistica 6.0. Критический уровень статистической значимости при проверке статистических гипотез принимали равным 0,05. Данные представляли в виде $X \pm Sx$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Установлено, что в культуре клеток кератиноцитов человека линии HaCaT масло *O. biennis* оказывало протекторное действие в условиях моделируемого окислительного стресса (табл. 1).

Согласно представленным данным, в условиях моделируемого окислительного стресса, возникающего при введении в культуру клеток кератиноцитов человека мембранотропного яда тетрахлорметана, который индуцирует генерацию активных форм кислорода, масло *O. biennis* в диапазоне концентраций 0,5–10 мкл/мл характеризовалось антиоксидантным и протекторным действием. При этом доля жизнеспособных клеток в клеточной культуре была выше на 25–30% по сравнению с контролем.

№	Вариант опыта	Количество жизнеспособных клеток, 72 часа, %
1	Масло (0,01 мкл/мл) + ТХМ	46,1±1,7
2	Масло (0,1 мкл/мл) + ТХМ	49,9±3,1
3	Масло (0,5 мкл/мл) + ТХМ	56,2±8,3
4	Масло (1 мкл/мл) + ТХМ	74,5±3,7*
5	Масло (2 мкл/мл) + ТХМ	77,4±3,2*
6	Масло (5 мкл/мл) + ТХМ	71,8±8,5*
7	Масло (7,5 мкл/мл) + ТХМ	77,4±8,4*
8	Масло (10 мкл/мл) + ТХМ	78,2±5,3*
9	Контроль (питательная среда)	100
10	Контроль (ТХМ) 20 мМ	48,3±5,6

Таблица 1. Влияние масла *O. biennis* на жизнеспособность кератиноцитов линии HaCaT в условиях моделируемого окислительного стресса

* достоверно при $p < 0,05$

Эколого-фитоценологические исследования позволили установить, что растения *O.biennis*, собранные в различных регионах Беларуси, относятся к категории светлюбивых. Поселяются на сухих песчаных почвах, от бедных до умеренно богатых азотом. В то же время данный вид отличается широкой экологической амплитудой, что позволяет ему занимать значительные площади. В Беларуси вид хорошо натурализован, часто встречается по всей территории республики, особенно в западных и южных регионах. Произрастает по опушкам, вырубкам, сухим полянам, соснякам, булавоносцевым и можжевельниковым пустошам, пойменным песчаным гривам, залежам, карьерам, строительным площадкам, пустырям, по обочинам дорог, железнодорожным насыпям, берегам рек и озер. В южной части страны образует сообщества с *Artemisia campestris* L.

При проведении эколого-фитоценологических исследований на заложенных нами 32 пробных площадях в разных районах республики в Витебской, Минской, Гомельской, Гродненской и Могилевской областях *O.biennis* была отмечена в 7 луговых союзах: *Arction (lappae)* (Тх. 1937) Siss 1946 em. Gutte 1972 (на засоренных, умеренно влажных, богатых, слабокислых, нейтральных и щелочных почвах); *Arrhenatherion elatioris* (Br.-Bl. 1925) Koch 1926 (на достаточно увлажненных, но обедненных, нередко с признаками оподзоливания); *Corynephorion canescentis* Klika 1931 (на очень бедных и очень сухих, неразвитых, рыхлопесчаных грунтах); *Cynosurion cristati* Br.-Bl. et Тх. 1943 em. Тх. 1947 (на достаточно увлажненных, обедненных средне- и слабокислых почвах с влиянием фактора вытаптывания); *Dausco-*

Melilotion (albi) Görs 1960 em. Eliáš 1980 (на нарушенных, в основном недостаточно увлажненных, обедненных, слабо-, среднекислых и щелочных); *Festucion pratensis* Sipaylova et al. 1985 (на свежих и умеренно увлажненных, достаточно богатых, преимущественно слабокислых); *Sedo-Scleranthion (biennis)* Br.-Bl. 1955 (на бедных, сухих, мелкозернистых и рыхлопесчаных кислых). Среди ненарушенных мест произрастания энотера двулетняя чаще встречалась в союзе *Sedo-Scleranthion (biennis)* на бедных сухих землях. Как правило, проективное покрытие составляло менее 5%, лишь в союзе с *Festucion pratensis* наблюдалось 25% и 50%. В то же время отмечается, что в сообществе *O.biennis-Artemisia campestris* (союз *Dausco-Melilotion*) в юго-восточных районах страны на нарушенных местообитаниях оно может составлять 15–25%.

Ресурсную оценку энотеры двулетней в различных областях Беларуси проводили с учетом данных литературы, согласно которым на 1 генеративном побеге растения формируется в среднем 84 ± 16 плодов, 3–7% из которых не успевают созреть. Масса семян в одной коробочке колеблется

от 0,05 до 0,17 г, причем семенная продуктивность высока и составляет около $8,1 \pm 1,7$ г на 1 побег [9]. Проективное покрытие в популяциях, как правило, не превышает 5%, при этом средняя плотность размещения побегов около 3 экз./м². Нами рассчитаны биологический и эксплуатационный запасы и возможные ежегодные объемы заготовки сырья в различных областях Беларуси (табл. 2).

Запасы *O.biennis* распределены по республике неравномерно. Наибольшие сырьевые ресурсы обнаружены в Брестской, Гомельской и Минской областях, наименьшие – в Витебской, Гродненской и Могилевской. Максимально возможные ежегодные заготовки ее семян сосредоточены в Гомельской области (6,2 т), минимальные – в Гродненской (0,5 т). Согласно данным собственных полевых исследований, литературы и материалам Государственного кадастра растительного мира, собраны сведения о 318 популяциях энотеры двулетней, занимающих общую площадь 120,3 га в 60 административных районах Беларуси. По результатам проведенных исследований построена карта мест произрастания растения на территории нашей страны (рисунок).

Область	Биологический запас, кг	Эксплуатационный запас, кг	Возможные ежегодные объемы заготовки, кг
Брестская	5495,2	4945,7	2472,8
Витебская	1827,4	1644,6	822,3
Гомельская	13791,0	12411,9	6206,0
Гродненская	1182,8	1064,5	532,2
Минская	6745,7	6071,1	3035,6
Могилевская	1774,1	1596,7	798,3
Всего	30816,2	27734,5	13867,2

Таблица 2. Ресурсная характеристика *O.biennis* и нормы изъятия ее сырья в различных областях Беларуси



Рисунок. Карта распространения *O. biennis* в Беларуси (отмечены местонахождения, включенные в Государственный кадастр растительного мира [13])

В соответствии с полученными данными, изучаемый вид чаще встречается в Гродненской области (101 место), где занимает площадь около 5,1 га, – в Гродненском (в 34 местах), Берестовицком (17) и Щучинском (14) районах. Так же широко растение распространено в Гомельской области (100 мест). В Брестской области зарегистрировано 45 популяций энотеры, в Витебской – 14, в Минской – 42, в Могилевской – 16. Наибольшие территории произрастания приходятся на Гомельскую (51,7 га), Минскую (25,9 га) и Брестскую (22,7 га)

области. В дальнейшем перечень местонаждений *O. biennis* может изменяться. В этом случае представленная карта будет приводиться в соответствие с поступающими данными.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что, поскольку *O. biennis* в Беларуси является инвазивным видом и требуются меры по ограничению его экспансии, представляется целесообразным применять стратегию компромисса. Мы предлагаем использовать существующие запасы растительного сырья (семенного материала) дан-

ного вида, которых, по результатам предварительной ресурсной оценки, достаточно для региональных заготовок, с целью проведения широкомасштабных и систематических исследований его химического состава в зависимости от регионов естественного произрастания. Полученные результаты будут способствовать усовершенствованию стандартизации сырья *O. biennis* и одновременно – разработке экологически безопасных технологий культивирования, сбора и переработки энотеры, что в совокупности позволит организовать использование растительных ресурсов с безусловным соблюдением принципов ВОЗ в контексте контроля качества лекарственных растений и надлежащей практики их культивирования в Беларуси для создания высокоэффективных импортозамещающих фитопрепаратов медицинского назначения [14].

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта БРФФИ №Б19-106.

Summary. Earlier we found for the first time that oil from the seeds of the invasive species *O. biennis*, collected in various regions of Belarus, is not inferior to world analogues in composition and content of polyunsaturated fatty acids (PUFAs), including γ -linolenic acid, and is characterized by hypolipidemic and immunostimulating effects. This work demonstrates the antioxidant and protective effect of the oil on human keratinocytes of the HaCaT line under simulated oxidative stress. A map of the distribution of *O. biennis* has been compiled and the stocks of seeds have been estimated in the regions of the republic. It is assumed that carrying out large-scale studies of *O. biennis* will help limit its expansion in Belarus, cultivate and standardize raw materials for the creation of domestic herbal medicines for medical purposes.

Keywords: *Oenothera biennis* oil, antioxidant and protective effect, human keratinocytes of the HaCaT line, resource assessment.

<https://doi.org/10.29235/1818-9857-2021-3-57-60>

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Evening primrose oil, refined // in: European Pharmacopoeia. 8th ed. suppl. 8.0 – Strasbourg: European Department for the Quality of Medicines. 2014. V.2. P. 2206–2207.
2. *Oleum Oenothera biennis* // in: WHO monographs on selected medicinal plants. Geneva, 2002. V.2. P.217–231.
3. Chemical Information Review Document for Evening Primrose Oil (*Oenothera biennis* L.) [CAS No. 90028–66–3] Supporting Nomination for Toxicological Evaluation by the National Toxicology Program November 2009. // https://ntp.niehs.nih.gov/ntp/noms/support_docs/evening_primrose_nov2009.pdf.
4. Куцик П.В. Энотера двулетняя. *Oenothera biennis* L. subsp. *muricata* Rouy et Gamus. (син. *Onagra biennis* L.) / Куцик П.В., Зузук Б.М. // Провизор. 2005. Вып. 2–4. // http://www.provisor.com.ua/archive/2005/N2/art_11.php.
5. Timoszuk M. Evening Primrose (*Oenothera biennis*) Biological Activity Dependent on Chemical Composition / M. Timoszuk, K. Bielawska and E. Skrzydlewska // *Antioxidants*. 2018. 7. 108. doi:10.3390/antiox7080108 // www.mdpi.com/journal/antioxidants.
6. Дубовик Д.В. Черная книга флоры Беларуси: чужеродные вредоносные растения / Д.В. Дубовик [и др.]. – Минск, 2020.
7. Виноградова Ю.К. Чёрная книга флоры Средней России (Чужеродные виды растений в экосистемах Средней России) / Ю.К. Виноградова, С.П. Майоров, Л.В. Хорун – М., 2010 // <http://www.bookblack.ru/plant/39.htm>.
8. Тохтарь В.К. Особенности распространения и инвазионный потенциал видов рода *Oenothera* L. (subsect. *Oenothera*, *Onagraceae*) в Восточной Европе / В.К. Тохтарь, С.А. Грошенко // *Вестник ТвГУ*. 2013. Сер. Биология и экология. Вып. 31. №23. С. 114–122.

Полный список использованных источников размещен

[SEE http://innosfera.by/2018/04/Human_genome](http://innosfera.by/2018/04/Human_genome)

Статья поступила в редакцию 21.08.2020