ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ ПРОДУКЦИИ ВИНКА-АЛКАЛОИДОВ ЭНДОФИТНЫМИ ГРИБАМИ РАСТЕНИЙ РОДА *CATHARANTHUS ROSEUS (VINCA ROSEA)*

[1]Отаева Зарина Муротовна, [2]Насметова Саодат Мамажановна
[1]докторант PhD, [2]д.б.н.в.н.с.
Институт Микробиологии АН Руз г. Ташкент
https://doi.org/10.5281/zenodo.13833409

Аннотация. *Исследование цитотоксических свойств эндофитов растений рода Catharanthus roseus направлено на выявление новых источников антиканцерогенных соединений. Растение Catharanthus известно высоким содержанием алкалоидов, таких как винкристин и винбластин, которые обладают значительными противоопухолевыми свойствами. В этом исследовании оптимизированы условия культивирования эндофитов для увеличения выхода винкристина и винбластина. Наибольший выход алкалоидов был достигнут при выращивании штаммов на кукурузной среде при экстракции хлороформом. Используемый метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) показал, что штаммы Aspergillus terreus, Penicillium sp., Alternaria sp. и Acremonium sp. продемонстрировали высокие уровни продукции винкристина и винбластина. Эти штаммы могут служить перспективными кандидатами для разработки новых антиканцерогенных препаратов.*

Ключевые слова: *Catharanthus roseus, винка-алкалоиды, эндофиты, цитотоксические свойства, оптимизация питательных сред, ВЭЖХ.*

Catharanthus roseus*, широко известный как мадагаскарский барвинок, является тропическим, многолетним, лекарственным растением, принадлежащим к семейству Apocynaceae. Он является источником нескольких важных индоловых алкалоидов, имеющих лечебное значение, таких как винбластин, винкристин, ажмалицин, виндолин, катарантин и серпентин [1].*

Исследование цитотоксических свойств эндофитов растений рода Catharanthus roseus (также известного как Vinca rosea) представляет собой актуальное направление в поиске новых источников антиканцерогенных соединений. Растение Catharanthus известно своим богатым содержанием алкалоидов, особенно винка-алкалоидов, таких как винкристин и винбластин, которые обладают выраженными противоопухолевыми свойствами.[2] Исследование эндофитов этих растений может привести к разработке новых препаратов на основе природных соединений для лечения онкологических заболеваний [3].

Целью исследования была оптимизация состава питательных сред и выбор экстрагентов для увеличения выхода винкристина и винбластина из 8-ми коллекционных штаммов-продуцентов винка-алкалоидов.

Материалы и методы

Эксперименты включали культивирование штаммов эндофитных грибов на пяти различных питательных средах: Чапека, картофельной, кукурузной, маннитовой и солодовой. Культивирование проводилось на шейкере со скоростью 140 об/мин при

температуре 28°C в течение 7 суток. По завершении срока биомассу вместе с культуральной жидкостью подвергали лиофильной сушке. Полученный порошок массой 0,5 г тщательно измельчали в ступке и дважды экстрагировали 20 мл хлороформа в течение 24 часов. После завершения экстракции экстракт выпаривали на роторном испарителе до объема 5 мл, после чего анализировали с помощью ВЭЖХ. Определение винка-алкалоидов (винкристина, винбластина и винкамина) в экстрактах эндофитных грибов проводилось на жидкостном хроматографе Agilent 1250 с использованием колонки Synergi Fusion-RP (100 × 4.6 мм). Объем пробы составлял 20 мкл. В качестве мобильной фазы использовались ацетонитрил и 0,05 % ТФУК. В качестве стандартов использовались фармацевтические препараты "Cytoblastin" и "Cyticristin" (Индия) с активными веществами винбластин и винкристин соответственно.

Результаты

В ходе экспериментов было установлено, что максимальный выход алкалоидов из эндофитных грибов наблюдался при использовании кукурузной среды и экстракции хлороформом. Культивирование эндофитов на других средах показало относительно низкую продуктивность, что подчеркивает важность правильного выбора питательной среды и экстрагента для увеличения выхода винка-алкалоидов.

Результаты количественного анализа экстрактов показали, что из 8 исследованных штаммов наибольшую активность проявили четыре: Aspergillus terreus (R176L), Penicillium sp. (VM86S), Alternaria sp. (VM85L) и Acremonium sp. (VM96L). Эти штаммы продуцировали от 40,6 до 250,2 мг/л винкристина и от 9,3 до 31,6 мг/л винбластина. Наибольший выход винкристина и винбластина был зафиксирован у штаммов Alternaria sp. (VM85L) и Penicillium sp. (VM86S), как представлено в таблице 1. Штамм Penicillium sp. (VM86S) также продемонстрировал максимальное накопление биомассы — 47,9 г на 250 мл питательной среды.

Таблица 1. Продукция винка-алкалоидов в эндофитных грибах на Кукурузной среде

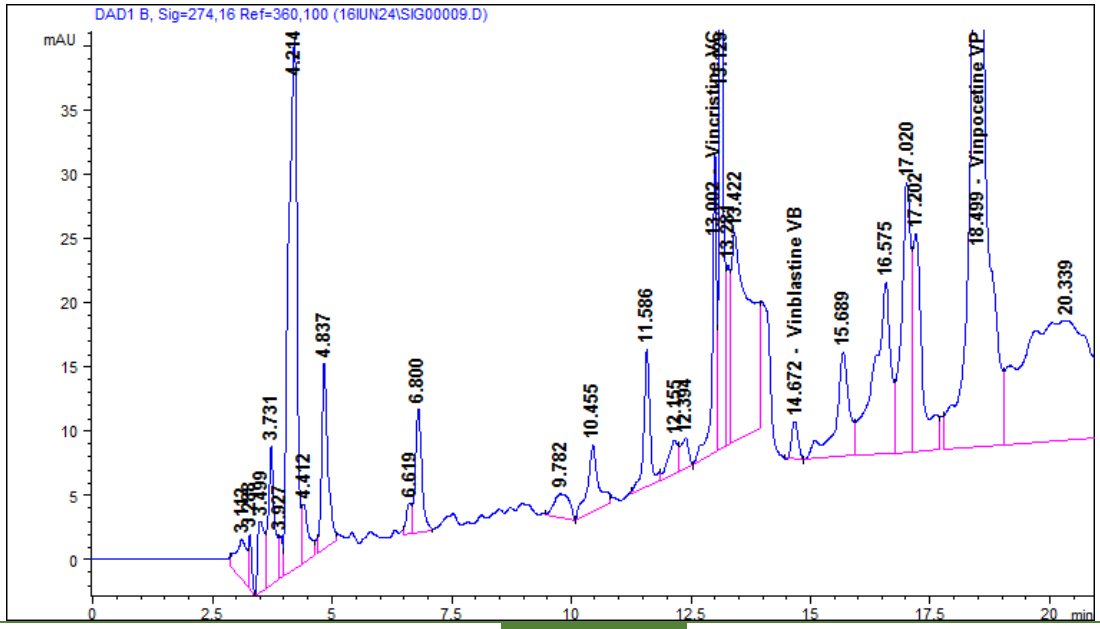
Кукурузная среда				
Штаммы	**Винкристин мг/л**	**Винбластин мг/л**	**Винкамин мг/л**	**Биомасса в 250 мл к/ср. гр**
Aspergillus terreus - VR176L	40,64	11,52	-	22,110
	-	-	-	
Acremonium sp. – VR179L	-	1,0	66,0	10,166
Aspergillus amstelodami – VR177L	5,8	-	12,8	16,60
	-	-	2,32	

Penicillium sp. - VM86S	128,8	31,6	-	47,90
	80,8	15,2	-	
Aspergillus terreus - VE90R	8,0	4,4	42,8	9,86
	-	-	18,4	
Alternaria sp. – VM85L	250,2	9,32	12,4	2,25
	7,6	-	18	
Acremonium sp. – VM96L	219,2	2,82	-	12,46
	24,8	-	23,2	
Penicillium concavo-radulozum-E89L	2,4	3,08	-	1,308
	-	10,52	31,88	

Для сравнения, в литературе указано, что содержание винка-алкалоидов в эндофитном грибе Botryosphaeria laricina, выделенном из Catharanthus roseus, составляет всего 0,6 мг/л винкристина и 0,7 мг/л винбластина, что значительно ниже по сравнению с уровнями продукции, наблюдаемыми в изучаемых штаммах [3].

Также было установлено, что некоторые штаммы продуцируют другой винка-алкалоид — винкамин, который применяется в медицине для улучшения мозгового кровообращения и когнитивных функций [4]. Концентрации винкамина в штаммах Acremonium sp. (VR179L) и Aspergillus terreus (VE90R), культивируемых на кукурузной среде, достигали 66,0 и 42,8 мг/л соответственно.

На рисунке 2 представлена хроматограмма экстракта штамма Alternaria sp. (VM85L), в



хроматографической картине которыхого выявлены пики по времени выхода соответствующие стандартным препаратам винкристина и винбластина.

Рис.1. Хроматограмма экстракта эндофитного гриба Alternaria sp. (VM85L)

Отобранные штаммы продемонстрировали наибольшую продуктивность среди всех протестированных, что делает их перспективными кандидатами для дальнейших исследований и разработки препаратов на основе винка-алкалоидов. Полученные результаты подчеркивают важность оптимизации условий культивирования и экстракции для увеличения выхода ценных антиканцерогенных соединений.

ЛИТЕРАТУРА

1. Альмагро, Л.; Fernández-Pérez, F.; Педреньо, М.А. Индоловые алкалоиды из *Catharanthus roseus:* биопродукция и их влияние на здоровье человека. *Молекулы* 2015, *20*, 2973–3000. [Академия Google] [Перекрестная ссылка] [PubMed]
2. Hadagali Ashoka*.; Prashanth Hegde.; Manasa K. H., Chandraprasad Madihalli, Pradeep S. and Ashok Kumar Shettihalli. Isolation and detection of vinca alkaloids from endophytes isolated from Cataranthus roseus. 2017, Volume 4, Issue 10 675-683.
3. C.J. Bandara, A. Siriwardhana, D. N. Karunaratne et al. Production of Vincristine and Vinblastine by the Endophytic Fungus Botryosphaeria laricina Strain (CRS1) is Dependent on Stimulating Factors Present in Catharanthus roseus The Natural Products Journal. 2020, https://doi.org/10.2174/2210315510666200108102735
4. Hong Yin∗, Yu-Hong Sun Vincamine-producing endophytic fungus isolated from Vinca minor. Phytomedicine 18 (2011) 802–805