

УДК 004.942:541.124:544.4: 547.913:581.543.3
DOI: 10.36305/0513-1634-2022-142-26-36

ВЛИЯНИЕ ПЛАСТИДНОЙ МЕМБРАНЫ НА КИНЕТИКУ ОБРАЗОВАНИЯ МОНОТЕРПЕНОВЫХ УГЛЕВОДОРОДОВ РАСТЕНИЙ РОДА *ARTEMISIA* L.

Геннадий Васильевич Ходаков, Валерий Николаевич Устименко

ФГАОУ ВО "Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского",
298653, Россия, г.Симферополь, просп. Вернадского, 4
E-mail: gennadii-hodakov@mail.ru, uvn_@mail.ru

Проведены сравнительный графоаналитический и матричный анализы экспериментальных хромато-масс-спектрометрических данных качественного и количественного содержания монотерпенов гексановых экстрактов растений вида *Artemisia balchanorum* Krasch. во всех фазах вегетации и модельных расчётных данных на основании собственных методических подходов. Установлены кинетические зависимости динамики накопления монотерпеновых компонентов в исследуемых растениях по степеням циклизации с выяснением влияния пластидной мембраны на кинетические характеристики образования бициклических монотерпенов, а также представлена локализация биосинтеза в растительной клетке ациклических и моноциклических монотерпенов.

Ключевые слова: монотерпены; кинетика; константа биосинтеза; пластидная мембрана; *Artemisia* L.

Введение

Образование терпеноидов включает реакции конденсации диметилаллилпирофосфата (**DMAPP**) и изопентилпирофосфата (**IPP**), катализируемые цепью специфических по длине пренилтрансфераз. К **DMAPP** добавляется поочередно **IPP** с первоначальным образованием геранилпирофосфата (**GPP**). Этот процесс катализируется ферментом геранилпирофосфатсинтазой, в последующем происходит наращивание углеводородной цепи с образованием высших терпеноидов, а сам **GPP** считается источником всего многообразия монотерпеновых углеводородов [5, 6].

Как правило, монотерпенсинтазы локализуются в пластидах, тогда как сесквитерпенсинтазы находятся в цитозолях клеток [7]. Тем не менее, известна локализация монотерпенсинтазы в цитозоле [8] и сесквитерпенсинтазы в пластидах.

Известен принцип циклизации дитерпенов с использованием двух ферментных комплексов **diTPS I** и **diTPS II**. Высокоактивные промежуточные соединения карбокатионов дитерпенов возникают в результате отщепления дифосфатной группы субстрата на ферменте **diTPS** класса **I**, который заканчивает каскад циклизаций, путем погашения заряда карбокатиона через депротонирование или за счет электрофильной атаки молекулой воды [9].

Целью работы является выяснение специфики влияния пластидной мембраны на кинетику биохимических процессов и установление системных факторов при образовании монотерпенов.

Научная новизна заключается в том, что маркерами для выявления родства таксонов могут служить не только конкретные вещества, но и кинетические константы (или их соотношения) включенные в биохимический механизм образования таких веществ (кинетическая хемотаксономия). Для этого впервые представлен клеточный механизм биосинтеза монотерпеновых углеводородов с кинетическими расчетными данными, приведенными для растений *Artemisia balchanorum* Krasch.

Объекты и методы исследования

Хромато-масс-спектрометрическим методом [10] установлено качественное и количественное содержание монотерпеновых компонентов в гексановых экстрактах растений вида *Artemisia balchanorum* Krasch. по всем фазам вегетации. Массовые доли монотерпеновых компонентов в каждом экстракте объединены и распределены по степеням циклизации (ациклические, моно- и бициклические) с приведением для каждого из них относительного общего их количества, которое названо далее нормированными массовыми долями.

Сравнительный графоаналитический и матричный анализы для полученных экспериментальных и модельных расчётных данных [1]. Система дифференциальных уравнений, отражающая изменения нормированных массовых долей в течение вегетации, решалась численным методом Рунге-Кутты четвёртого порядка [2] с использованием программного обеспечения MathCad.

Для выяснения адекватности созданной кинетической модели полученным экспериментальным данным использовали метод Фишера. Кинетические уравнения для отображения динамики этапов природного биосинтеза монотерпенов имеют вид представленный в работе [1].

Результаты и обсуждение

В продолжение исследований кинетики биосинтеза монотерпеновых углеводов полыней, естественно произрастающих или выращиваемых человеком в Крыму, нами проведена дальнейшая кинетическая обработка полученных экспериментальных данных по ранее разработанной нами модельной схеме [1], но теперь на уровне растительной клетки. Для этого экспериментальные данные сгруппированы по степени циклизации и для каждой из них выведены нормированные массовые доли в таблице 1.

Таблица 1

Групповая динамика накопления монотерпеновых компонентов по фазам вегетации в нормированных массовых долях

Тип циклизации монотерпеновых углеводов	Повторность	Нормированная массовая доля монотерпенов по фазе вегетации			
		начало вегетации	бутонизация	цветение	плодоношение
Ациклические (X ₂)	1	0,938	0,845	0,929	0,808
	2	0,949	0,889	0,976	0,788
	3	0,979	0,855	0,980	0,869
	Среднее	0,96±0,02	0,86±0,02	0,96±0,03	0,82±0,04
Моноциклические (Y ₂)	1	0,026	0,024	0,004	0,081
	2	0,012	0,063	0,006	0,181
	3	0,016	0,106	0,010	0,131
	Среднее	0,02±0,01	0,06±0,04	0,007±0,003	0,13±0,05
Бициклические (Z)	1	0,035	0,131	0,067	0,111
	2	0,039	0,047	0,018	0,031
	3	0,006	0,039	0,010	0,000
	Среднее	0,03±0,02	0,07±0,05	0,03±0,02	0,05±0,03
Модуль вектора продуктивности $ \vec{w} $		0,96±0,03	0,86±0,07	0,96±0,04	0,83±0,07

Многочисленные исследования биосинтеза монотерпенов растений осуществлялись за счёт регистрации меченого [2-¹⁴C]-мевалоната. [2-¹⁴C]-мевалонат в

основном включается в ту часть молекулы, которая образуется непосредственно из **IPP** и незначительная часть в ту, которая образуется из **DMAPP**.

Так, распределение радиоактивной метки в бициклических монотерпенах (рис. 1) показывает, что туйон (1) содержит 99% метки в карбонильной группе, а в камфоре (2) радиоактивная метка располагается в 6-м положении. В то же время для моноциклического монотерпена пулегона (3) метка распределяется между двумя положениями, находящимися в той части молекулы, которая образовалась из **IPP** [11] (рис. 1).

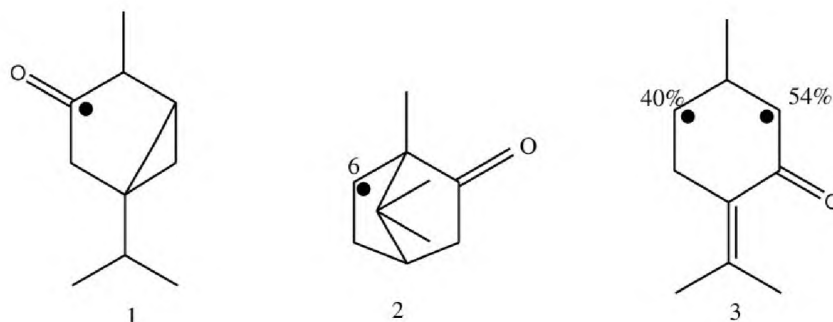


Рис. 1 Распределение метки $[2-^{14}\text{C}]$ -мевалоната в монотерпенах

Для выяснения причин, которые привели к такому распределению радиоактивных меток при биосинтезе монотерпенов, нами предложено включить в схему биосинтеза изопрен, который в растениях всегда присутствует. Причем известно, что путь его образования самостоятельный, исключая участие **IPP** и **DMAPP** [3]. Тогда можно представить общую схему биосинтеза монотерпенов с включением в нее трех интермедиатов (**XOPP**, **YOPP** и **B**), активированных комплексов и циклических продуктов (рис. 2).

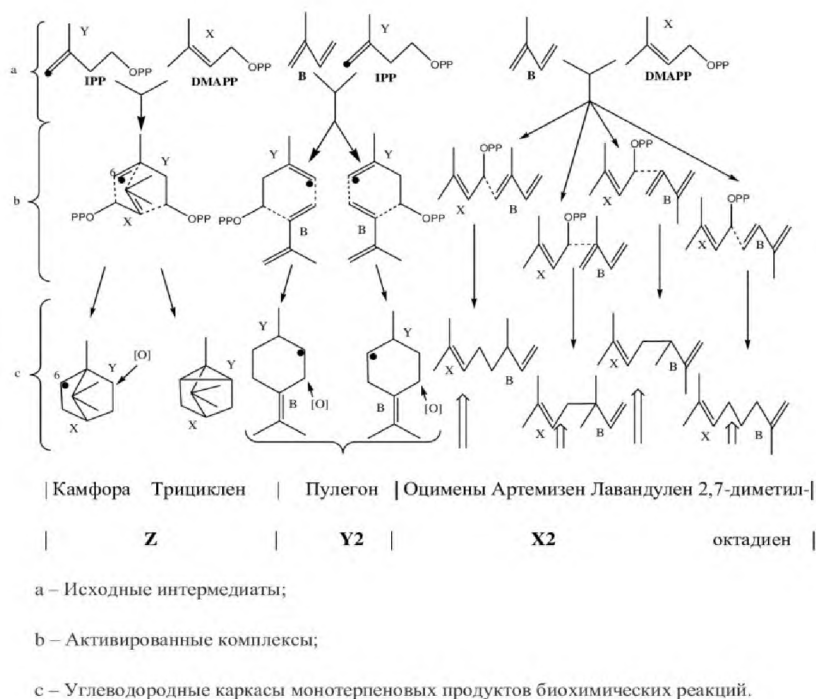


Рис. 2 Схема распределения радиоактивной метки при сочленении изопентилпирофосфата (**IPP**), диметилалилпирофосфат (**DMAPP**) и изопрена (**B**)

Формирование соответствующей цикличности углеворородного каркаса молекулы происходит в одну стадию за счет комбинирования трех исходных продуктов – изопрена (**B**), **DMAPP** (**XOPP**) и **IPP** (**YOPP**) при их сочленении (см. рис. 2), причем, **B**, **X** и **Y** – пятичленные углеводородные структуры.

В результате метка для бициклических монотерпенов попадает в 6-е положение камфоры и в карбонильную группу туйона. Для моноциклических монотерпенов приводится одна химическая структура, которая в схеме представлена в виде двух форм, развернутых на 180° вокруг своей оси и в конечном итоге после окисления в метоположение приводит к одной и той же структуре, но меченной дважды. Для наглядной демонстрации приводится молекула пулегона со статистическим распределением радиоактивных меток между двумя положениями приблизительно по 50%. Для ациклических монотерпенов нет надежных экспериментальных данных, указывающих на присутствие в них радиоактивной метки, очевидно, их биосинтез осуществляется без участия **IPP**.

В нашей схеме приводится одностадийное сочленение исходных продуктов, при котором ациклические монотерпены образуются сочетанием **DMAPP** с изопреном, моноциклические – **IPP** с изопреном, бициклические – **IPP** с **DMAPP**. Участие изопрена при образовании ациклических монотерпенов объясняется существованием монотерпенов нерегулярного строения, которые обнаружены в большом количестве и структурном разнообразии, поскольку при одностадийном сочленении предшественнику необходимо иметь в своем строении четыре нуклеофильных центра, – таким количеством центров обладает молекула изопрена и приводит к образованию четырех групп ациклических монотерпенов (рис. 3). Поэтому, выбор в качестве компонента субстрата молекулы изопрена вполне обоснован, а электрофильным агентом при этом возможен карбкатион диметилаллила.

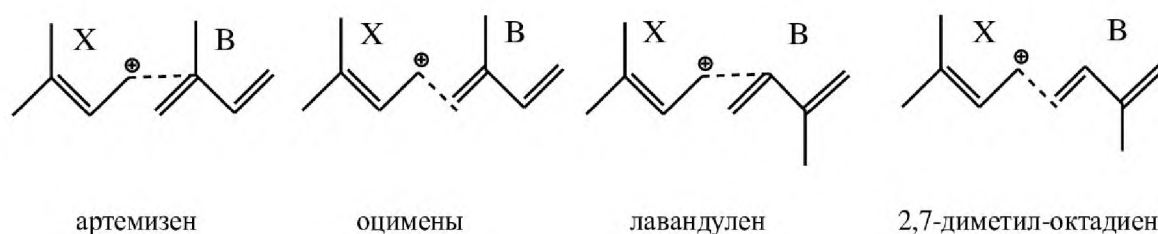


Рис. 3 Типы сочленения карбкатиона диметилаллила (**X**) и изопрена (**B**) с образованием некоторых ациклических монотерпеновых углеводородов (**X2**)

Ментаны (метилизопропилциклогексаны) включают шестичленные циклы как термодинамически наиболее устойчивые, имеющие в растениях два основных структурных аналога: мета- и пара-изомеры со структурами 1-метил-4-изопропилциклогексана и 1-метил-3-изопропилциклогексана соответственно.

Основная масса ментановых терпенов это пара-изомеры. Мета-изомер (сильвестрен) существует в виде двух оптически активных стереоизомеров, смесь которых образует рацемат, называемый карвестреном. Существует мнение, что он образуется как артефакт из 3-карена (Δ^3 -карена) вследствие деструкции при получении эфирного масла методом паровой дистилляции [3], но мы предлагаем считать его нативным растительным веществом, образующимся за счет каскадной циклизации двух интермедиатов **Y** и **B**. Причем, в зависимости от ориентации **B** на терпенсинтазах может образоваться его пара-изомер как основа всех известных в природе терпиненов.

Установлено, что исходными веществами при биосинтезе терпенов являются глюкоза и мевалонат [12], которые через промежуточные карбокатионы **X** и **Y** приводят к образованию всех типов монотерпеновых углеводородов. Дополнительные исследования привели к заключению, что основным источником биосинтеза является глюкоза, из которой двумя путями образуется **IPP**, находящаяся в динамическом равновесии с **DMAPP** [13] (рис. 4).

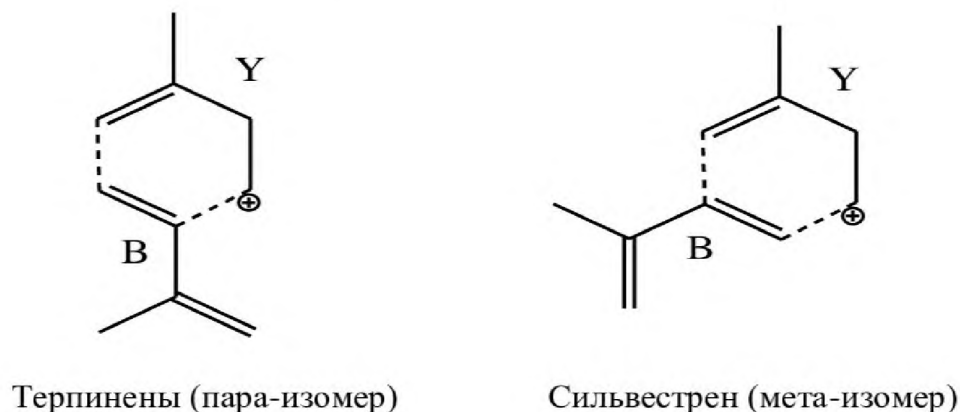


Рис. 4 Типы сочленения карбокатиона изопентиля (**Y**) и изопрена (**B**) с образованием некоторых моноциклических монотерпеновых углеводородов (**Y2**)

Причем только одна метка попадает в молекулу бициклического монотерпена из [^{14}C] меченого мевалоната, что указывает на включение метки лишь из одного пути биосинтеза, следовательно, вторая пятичленная часть молекулы включается из параллельного пути биосинтеза. Таким образом, сборка бициклических монотерпенов происходит за счет комбинации молекул **DMAPP** и **IPP** из разных биосинтетических путей (**DXP** и **MVA** соответственно). Набор образующихся бициклических структур монотерпенов можно представить в виде каскадной циклизации пятичленных карбокатионов **X** и **Y** (рис. 5).

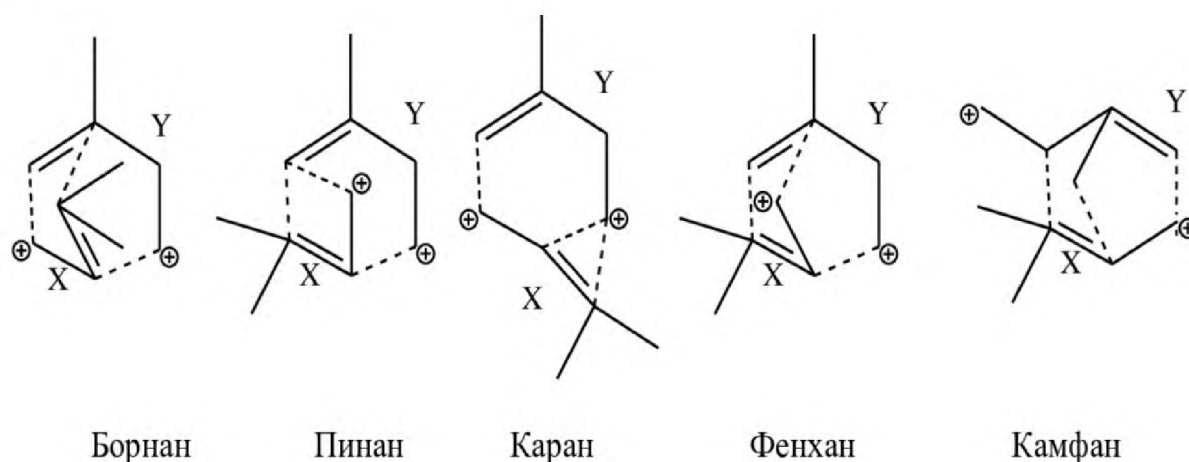


Рис. 5 Типы сочленения карбокатиона диметилаллила (**X**) и карбокатиона изопентиля (**Y**) с образованием некоторых бициклических монотерпеновых углеводородов (**Z**)

Путь **MVA** осуществляется в цитозоле (ранние стадии), эндоплазматическом ретикулуме (3-гидрокси-3-метилглутарил-КоА-редуктаза) и пероксисомах (поздние стадии) [14]. Все ферменты пути **DXP** локализованы в пластидах [15]. Относительный

вклад каждого из путей в конкретные структуры терпеноидов могут существенно различаться в разных растениях или тканях.

Для обоснования динамики накопления в растениях монотерпеновых продуктов в потоке нами составлена упрощенная схема к формированию кинетической зависимости с использованием данных о локализации в растительной клетке циклических продуктов и путей образования их интермедиатов (рис. 6).

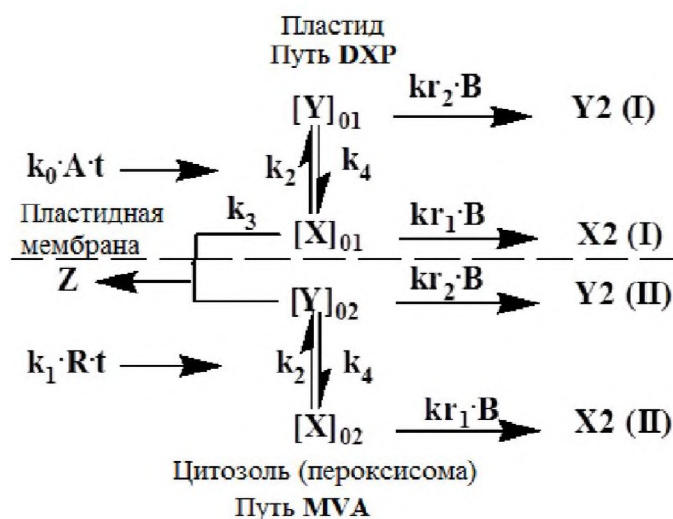


Рис. 6 Кинетическая схема мембранного биосинтеза монотерпеновых углеводородов (прописными буквами обозначены нормированные концентрации)

Известно, что два пути биосинтеза проходят в различных частях клетки, разделенных пластидной мембраной. На каждом участке клетки формируется собственный набор ациклических и моноциклических монотерпенов. Биосинтез бициклических монотерпенов происходит за счет перемещения одного из интермедиатов (X) для сборки молекулы на ферменте через пластидную мембрану. Проницаемость мембраны может оказывать влияние на кинетическую константу биосинтеза (k_3) независимо от активности фермента. Данное явление наблюдалось нами при выявлении особенностей биосинтеза монотерпенов в хеморассах растений *Artemisia scoparia*, которые впервые были описаны с использованием метода главных компонент [4].

Однако применённый нами собственный метод исследования [1] позволил выявить глубинные особенности и установить существенные различия между величинами относительных кинетических констант k_3 хеморас *Artemisia scoparia* Башкирии и Крыма (0,85 и 25,85). Причём, величины остальных констант биосинтеза оставались на прежнем уровне у обоих хеморас, что однозначно указывает на влияние специфического фактора на биосинтез бициклических монотерпенов в этих растениях. Таким специфическим фактором, по нашему мнению, является проницаемость пластидной мембраны для интермедиата X. Schwender с сотрудниками [16] исследовали проницаемость пластидной мембраны, используя мевилонин как высоко-специфический ингибитор мевалоната. В результате для хлоропластов ими выявлен собственный путь биосинтеза IPP за счёт того, что мевинолин не проникает через мембрану в хлоропласты и не блокирует биосинтез стероидов в высших растениях, поэтому он не влияет на образование хлорофиллов и каротиноидов в пластидах. Аналогично для хеморас *Artemisia scoparia* наблюдается ограниченная проницаемость пластидной мембраны для X, что подтверждает раздельность в клетке путей биосинтеза

интермедиатов для образования бициклических монотерпенов. В то же время кинетические константы биосинтеза ациклических и моноциклических монотерпенов (k_{r1} и k_{r2}) в обоих хеморасах совпадают, что дополнительно подтверждает присутствие полного набора ферментов при биосинтезе ациклических и моноциклических монотерпенов как в пластидах, так и в цитозоле [17].

Сочетание **IPP** с молекулой изопрена приводит к образованию двух симметрично меченных структур моноциклических монотерпенов (пулегон), что указывает на двухэтапный (как минимум) процесс образования целостной кислородсодержащей молекулы, а распределение меченого углерода в два положения является результатом неселективности последующего процесса окисления готового углеводородного каркаса, который осуществляется, очевидно, после транспорта его к пироксисоме.

Таким образом, наращивание углеводородного скелета для образования высших терпенов происходит по собственному механизму через образование **GPP**, а формирование монотерпенового многообразия происходит по иному пути без его участия. Процесс осуществляется за счет ферментативного сочленения фосфорелированных субстратов между собой или какого-либо из них с изопреном. Все они происходят по механизму одностадийной каскадной циклизации.

Для выявления кинетических и концентрационных соотношений между биоагентами, представленными в схеме, была составлена упрощенная кинетическая схема и сделаны некоторые допущения. Так, образование промежуточных продуктов **X** и **Y** происходит двумя путями: из глюкозы (**A**) через пируват и через мевалонат (**R**) [18]. Последующее сочленение каждого из них с **B** приводит к получению монотерпеновых углеводородов ациклического (**X2**) и моноциклического (**Y2**) строения для I-го ряда в пластидах (через пируват), для II-го ряда в цитозоле и пироксисомах (через мевалонат) (табл. 2).

Таблица 2

Начальные условия для кинетических уравнений (1)–(3) при их решении применительно к экспериментальным данным для экстрактов растения *Artemisia balchanorum* Krasch.

Параметры в кинетических уравнениях и их числовые величины							
Начальные условия							
X2 ₀	Z ₀	Y2 ₀	t ₀				
0,0030	0,0020	0,0035	0,000125				
Содержание исходных веществ на единицу глюкозы (г/г)							
A		R			B		
1,000		0,850			0,125		
Кинетические константы							
k ₀	k ₁	k ₂	k ₃	k ₄	k _{r1}	k _{r2}	K ₂₄
1,750	0,100	1,100	2,000	30,750	0,250	0,500	0,036
Скорость рассеивания монотерпенов в окружающую среду к уравнению (3), t ⁻¹							
v _X			v _Y			v _Z	
0,00950			0,00350			0,00075	
Безразмерное относительное время, когда образец растения был взят в каждой фазе вегетации (в единицах первой фазы (I) в течении сезона)							
I	II		III			IV	
0.912	1.152		1.504			3.312	

Образование бициклических монотерпенов (**Z**) осуществляется за счёт одностадийного сочленения **X** и **Y** из разных биосинтетических путей за счет проникновения **X** через полупроницаемую мембрану и включения его из I-го пути (**DXP**), а **Y** – из II-го пути (**MVA**), связывающие оба пути между собой в единый целостный механизм. Такие сочленения хорошо согласуются с экспериментальными

данными по обнаружению одной радиоактивной метки из $[2-^{14}\text{C}]$ -мевалоновой кислоты в 6-м положении для камфоры, туйона и указывает на включение её преимущественно через **Y**. К тому же известно, что образование **Y** происходит двумя путями [19], а включение метки происходит только по пути **MVA**. Кинетические характеристики образования ациклических и моноциклических монотерпенов для обоих путей биосинтеза нами условно приняты одинаковыми. Начальные условия для решения кинетических уравнений (1)–(3) приводятся в таблице 2.

Все процессы происходят на соответствующих ферментах (терпенсинтетазах) с собственными кинетическими константами (k_1 и k_3). Представленный процесс аналогичен известному ферментному обеспечению **diTPS** [9], формирующему разнообразие углеводородного скелета дитерпенов за счет осуществления каскадного биосинтеза, но только из готового ациклического (C-20) фосфорелированного субстрата.

Графические зависимости между характеристическими параметрами биосинтеза монотерпенов (рис. 7) соответствуют решениям дифференциальных уравнений с тремя переменными (1). Точками на графиках указаны экспериментальные значения, которые в оптимальном варианте должны совпадать с модельными кривыми либо полученные кривые должны максимально к ним приближаться. Проверка соответствия модельных кривых экспериментальным данным согласно критерию согласия Фишера выявила 95% уровень адекватности модельных решений (алгоритм проверки представлен в работе [1]).

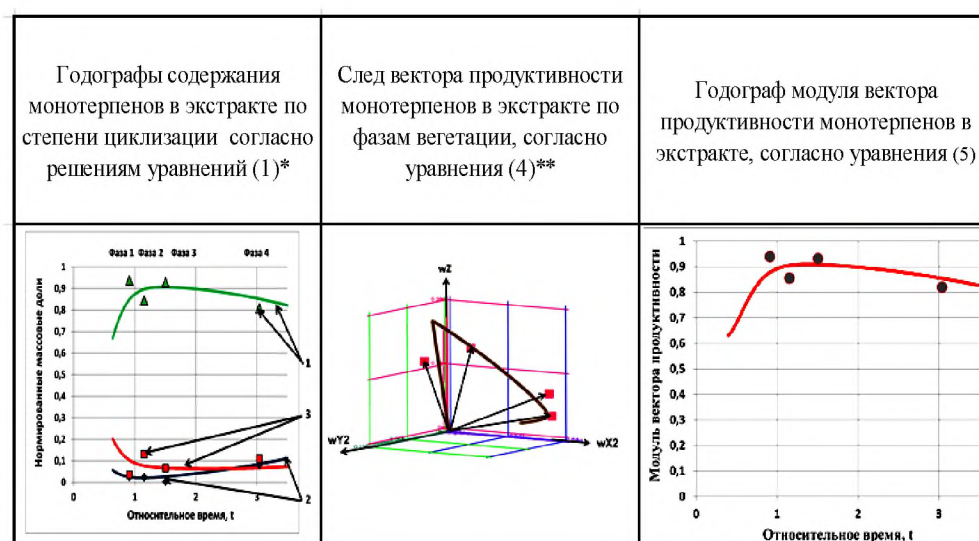


Рис. 7 Векторные характеристики накопления монотерпенов растительного вида *Artemisia balchanorum* Krasch

* – точки указывают на полученные экспериментальные данные по нормализованным концентрациям (см. табл. 2); линии представляют решения системы дифференциальных уравнений с тремя переменными для нормализованных концентраций различных монотерпена: 1 - ациклических; 2 - моноциклических; 3 - бициклических;

** – точки обозначают экспериментальные значения вектора эффективности (см. табл. 1); линии представляют расчётные значения изменений вектора эффективности.

Факторные плоскости (рис. 8) вскрывают соотношения кинетических стадий природного биосинтеза монотерпенов в исследуемых растениях по их скоростям на каждой стадии согласно кинетической схеме (см. рис. 6). Факторные плоскости наглядно демонстрируют наличие скорость-определяющих стадий в природном

биосинтезе монотерпенов. В результате, наглядно прослеживаются индивидуальные биосинтетические особенности растений, и в представленных данных получено подтверждение общих хемо-таксономических признаков в исследованных растениях согласно работе [1].

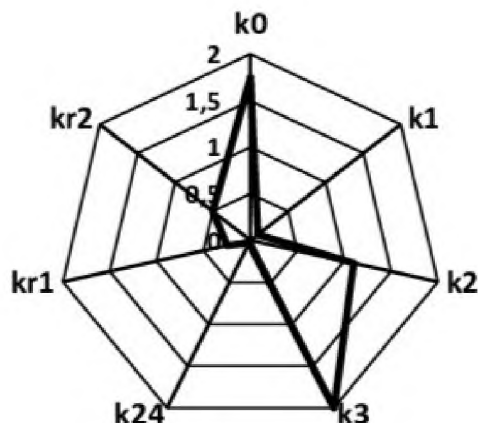


Рис. 8 Факторные плоскости кинетических констант как графические образы распределения констант скоростей единого процесса биосинтеза монотерпенов согласно схеме (см. рис. 6)

Так, в поддержании равновесных концентраций карбокатионов X и Y наблюдается преобладание немевалонатного пути биосинтеза из A над мевалонатным из R (значительное превышение значений константы k_0 над k_1). Доминирует высокоскоростная стадия превращения A в X (обратимый переход существенно замедлен из-за низкого значения k_{24}). Отмечается очень высокая скорость стадии расходования X и Y на биосинтез Z (высокое значение константы k_3). Расход X полностью компенсируется его образованием в отличие от биосинтеза Y_2 и Z . В этом состоит суть неравномерного распределения остаточного содержания выявленных групп монотерпенов в растениях (значительное преобладание X_2 над Y_2 и Z).

Стадии с участием B являются скоростью-определяющими в биосинтезе X_2 и Y_2 (низкие значения констант k_{r1} и k_{r2}), что несомненно обусловлено невысокой природной биоактивностью соответствующих терпенсинтетаз.

Заключение

Предложен единый механизм биосинтеза монотерпеновых углеводов за счёт одностадийного каскадного сочленения исходных интермедиатов, включенных в кинетическую схему, объединяющую два параллельных пути процесса, которые локализованы в различных частях растительной клетки, разделённых пластидной мембраной. Установлены кинетические характеристики динамики накопления в растениях монотерпенов по степеням циклизации в потоке с использованием собственных теоретических и методических подходов на основании предложенной кинетической схемы. Выявлены общие и специфические особенности биосинтеза монотерпенов в растениях *Artemisia balchanorum* и хеморассах вида *A. scoparia*. Установлено существенное влияние пластидной мембраны на кинетические характеристики биосинтеза бициклических монотерпенов для двух хеморас растений вида *Artemisia scoparia* и подтверждено присутствие полного набора ферментов при образовании ациклических и моноциклических монотерпенов как в клеточных пластидах, так и в цитозоле клеток.

Список литературы

1. Устименко В.Н., Ходаков Г.В. Термодинамика и кинетические модели природного биосинтеза монотерпеновых компонентов эфирных масел растений рода *Artemisia* // Учёные записки КФУ им. В.И. Вернадского. Биология. Химия. – 2018. – № 4(70). – С. 219-241.
2. Дьяконов В.П. Система MathCad. – М.: Радио и связь, 1993. – 128 с.
3. Племенков В.В. Химия изопреноидов. – Барнаул: Алтайский гос. университет, 2007. – 322 с.
4. Жигжитжапова С.В., Дыленова Е.П., Рандалова Т.Э., Радниева Л.Д., Тыхеев Ж.А., Павлов И.А. Изменения состава эфирного масла полыни метельчатой (*Artemisia scoparia* Waldest. et Kit) в разные фенофазы // Вестник Тверского Государственного Университета. Серия "Биология и экология". – 2018. – № 2. – С. 159-165.
5. Burke C., Croteau R. Interaction with the small subunit of geranyl diphosphate synthase modifies the chain length specificity of geranylgeranyl diphosphate synthase to produce geranyl diphosphate // J. Biol. Chem. – 2002. – Vol. 277. – P. 3141-3149.
6. Simkin A.J., Guirimand G., Papon N., Courdavault V., Thabet I., Ginis O., Bouzid S., Giglioli-Guivarch N., Clastre M. Peroxisomal localisation of the final steps of the mevalonic acid pathway in planta // Planta. – 2011. – Vol. 234. – P. 903-914.
7. Chen F., Tholl D., Bohlmann J., Pichersky E. The family of terpene synthases in plants: a mid-size family of genes for specialized metabolism that is highly diversified throughout the kingdom. – Plant J., 2011. – Vol. 66. – P. 212-229.
8. Aharoni A., Giri A.P., Deuerlein S., Griepink F., de-Kogel W.J., Verstappen F.W.A., Verhoeven H.A., Jongsma M.A., Schwab W., Bouwmeester H.J. Terpenoid metabolism in wild-type and transgenic *Arabidopsis* plants // Plant Cell. – 2003. – Vol. 15. – P. 2866-2884.
9. Gong H.-Y., Zeng Y., Chen X.-Y. Diterpene synthases and their responsible cyclic natural products // Nat. Prod. Bioprospect. – 2014. DOI: 10.1007/s13659-014-0012-8.
10. Khodakov G.V., Kotikov I.V. Component composition of essential oil from *Artemisia annua* and *A. scoparia* // Chemistry of Natural compounds. – 2009. – Vol. 45. – P. 909-912.
11. Henson J.R. Terpenoid Biosynthesis. In Comprehensive Organic Chemistry (Barton, D.H.R., and Ollis, W.D. eds.). – Pergamon Press: Oxford, 1978. – P. 989-1023.
12. Britton G. Overview of carotenoid biosynthesis. In: Carotenoids, Vol 3, Biosynthesis and Metabolism (G. Britton, S. Liaaen-Jensen, H. Pfander, eds.). – Basel: Birkhäuser Verlag, 1998. – P. 13-147.
13. Britton G. Plant Pigments (Harcourt, B. J., ed.). – London: Academic Press, 1988. – P. 133.
14. Leivar P., Gonzalez V.M., Castel S., Trelease R.N., Lopez-Iglesias C., Arro M., Boronat A., Campos N., Ferrer A., Fernandez-Busquets X. Subcellular localization of Arabidopsis 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase // Plant Physiol. – 2005. – Vol. 137. – P. 57-69.
15. Hsieh M.H., Chang C.Y., Hsu S.J., Chen J.J. Chloroplast localization of methylerythritol 4-phosphate pathway enzymes and regulation of mitochondrial genes in ispD and ispE albino mutants in *Arabidopsis* // Plant Mol. Biol. – 2008. – 66. – P. 663-673.
16. Schwender J., Seemann M., Lichtenthaler H.K., Rohmer M. Biosynthesis of isoprenoids (carotenoids, sterols, prenyl side-chains of chlorophylls and plastoquinone) via a novel pyruvate/glyceraldehyde 3-phosphate non-mevalonate pathway in the green alga *Scenedesmus obliquus* // Biochem. J. – 1996. – 316. – P. 73-80.
17. Thabet I., Guirimand G., Courdavault V., Papon N., Godet S., Dutilleul C., Bouzid S., Giglioli-Guivarch N., Clastre M., Simkin A.J. The subcellular localization of periwinkle farnesyl diphosphate synthase provides insight into the role of peroxisome in isoprenoid

biosynthesis // J Plant Physiol. – 2011. – 168. – P. 2110-2116. DOI:10.1016/j.jplph.2011.06.017.

18. Dewick P.M. Medicinal natural products: a biosynthetic approach // Chichester: John Wiley & Sons Ltd., 2002.

19. Pan X., Domin N., Schieferdecker S., Kage H., Roth M., Nett M. Herpetopanone, a diterpene from *Herpetosiphon aurantiacus* discovered by isotope labeling // J.Org.Chem. – 2017. –13. – P. 2458-2465.

Статья поступила в редакцию 01.02.2022 г.

Khodakov G.V., Ustimenko V.N. Influence of plastid membrane on the formation kinetics of monoterpenes hydrocarbons of plants of the genus *Artemisia* L. // Bull. Of the State Nikita Botan. Gard. – 2022. – № 142. – P. 26-36.

By chromate-mass spectrometer method it was positioned the qualitative and quantitative maintenance of terpene's components in hexane extracts obtained from plant samples of *Artemisia balchanorum* Krasch, corresponded to all phases of its vegetation. The relative graphic-analytical and template analyses of the received experimental and modelling settlement data based on own methodical approaches are carried out. One determined the kinetic dependences for a dynamical accumulation of monoterpene's components in investigated plants according to degrees of ring formation to study the influence of a plastid membrane on the kinetic characteristics of the bicyclic monoterpenes formation, and also to obtain the data of the biosynthesis localization of acyclic and monocyclic monoterpenes in a plant cell.

Key words: *monoterpenes; kinetics; a biosynthesis constant; plastid membrane; Artemisia L.*