

СОСТАВ И СОДЕРЖАНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В НАДЗЕМНЫХ ОРГАНАХ РАСТЕНИЙ *BISTORTA ELLIPTICA* (POLYGONACEAE) ИЗ МАГАДАНСКОЙ ОБЛАСТИ

М.С. Воронкова¹, О.А. Мочалова²

¹Центральный сибирский ботанический сад СО РАН,
630090, Новосибирск, ул. Золотодолинская, 101, e-mail: bmc_87@mail.ru

²Институт биологических проблем Севера ДВО РАН,
685000, Магадан, ул. Портовая, 18, e-mail: mochalova@ibox.ru

Методами ВЭЖХ исследованы состав и содержание фенольных соединений в надземных органах змеевика эллиптического – *Bistorta elliptica* (Willd. ex Spreng.) Kom. Изучена изменчивость содержания флавоноидов в его цветоносных побегах из двух популяций Магаданской области.

Ключевые слова: *Polygonaceae*, *Bistorta elliptica*, хлорогеновая кислота, флавоноиды, кверцетин, кемпферол, рутин.

**THE CONTENT AND COMPOSITION OF PHENOLIC COMPOUNDS
BISTORTA ELLIPTICA (POLYGONACEAE) FROM MAGADAN REGION**

M.S. Voronkova¹, O.A. Mochalova²

¹Central Siberian Botanical Garden, SB RAS,
630090, Novosibirsk, Zolotodolinskaya str., 101, e-mail: bmc_87@mail.ru

²Institute of Biological Problems of the North, FEB RAS,
685000, Magadan, Portovaya str., 18, e-mail: mochalova@ibox.ru

The content and composition of phenolic compounds were investigated by HPLC methods in the overground organs of plants *Bistorta elliptica* (Willd. ex Spreng.) Kom. The quantitative variability of flavonoid content in floral shoots of *Bistorta elliptica* from two populations Magadan Region were research.

Key words: *Polygonaceae*, *Bistorta elliptica*, chlorogenic acid, flavonoids, quercetin, kaempferol, rutin.

ВВЕДЕНИЕ

Основным свойством флавоноидов и других растительных полифенолов является действие на капилляры, выражающееся в понижении проницаемости их стенок (Минаева, 1978; Максютин и др., 1985). В последние десятилетия особое внимание обращают на антиоксидантное действие флавоноидов, на их способность купировать свободные радикалы, являющиеся причиной возникновения многих тяжелых патологий у человека, и выводить их из организма (Rice-Evans, Miller, 1996; Каур, Кароог, 2002). Многие флавоноиды, фенолкарбоновые кислоты и их эфиры обладают сильными антиоксидантными, противовирусными, антибактериальными и противогрибковыми свойствами, проявляют гипогликемическое, гипохолестеринемическое, противораковое и гепатопротекторное действие (Левицкий и др., 2010; Sarma, 2011). Отмечаются пребиотические свойства хлорогеновой кислоты (Левицкий и др., 2010). Потребление пищи, богатой флавоноидами, может

предотвращать многие сердечно-сосудистые заболевания, включая гипертонию и атеросклероз (Sarma, 2011). Сравнительно низкая токсичность флавоноидов, наряду с их избирательным фармакологическим действием на организм человека, позволяет все шире привлекать эту группу соединений для создания новых лекарственных препаратов.

Виды рода *Bistorta* Hill – змеевик (сем. *Polygonaceae* Juss.) – содержат разнообразные флавоноиды (антоцианы, катехины, флавоны, флавонолы) (Высочина, 2004). Они используются как декоративные, пищевые, кормовые и медоносные растения (Растительные ресурсы СССР..., 1985; Растительные ресурсы России, 2008). На территории России и сопредельных государств произрастают 12 видов рода *Bistorta*, в Сибири – 6 видов (Черепанов, 1995), для Дальнего Востока указано 9 видов (Цвелев, 1989).

Объектом нашего исследования является *Bistorta elliptica* (Willd. ex Spreng.) Kom. (*Polygonum el-*

lipticum Willd. ex Spreng., *P. bistorta* subsp. *ellipticum* (Willd. ex Spreng.) Petrovsky) – змеевик эллиптический. Это многолетнее травянистое растение до 60 см высотой, с толстым змеевидно изогнутым корнем (Тупицына, Кашина, 1992).

B. elliptica является психрофитом. Растет в высокогорьях на влажных приречных лугах, в тундре, на моховых и осоковых болотах (Малышев, Пешкова, 1979). Ареал североамериканско-сибирский (Высочина, 2004).

Надземная часть и корневища *B. elliptica* могут использоваться наравне с близким видом *B. officinalis*, применяемым в научной медицине (Ареалы..., 1983). Несмотря на высокий потенциал змеевика эллиптического как лекарственного расте-

ния, химический состав и содержание веществ в растениях этого вида мало изучены.

В соцветиях содержание флавоноидов достигает 16 %. В листьях и соцветиях обнаружены кемпферол и кверцетин (Кукенов, 1970; Высочина, 1976), в корнях – (+)-катехин, (–)-эпикатехин, (–)-эпигаллокатехингаллат, лейкоцианидин, лейкодельфинидин (Фенольные соединения..., 1970), в листьях – цианидин, дельфинидин (Высочина, 1976).

Цель настоящей работы – изучить состав и содержание фенольных соединений в надземных органах *B. elliptica* и определить изменчивость содержания флавоноидов в цветonoсных побегах растений из двух популяций Магаданской области.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Материалом для работы послужили сборы *B. elliptica* в 2012 г. на территории Магаданской области: Хасынский район, верховья р. Малтан, в 3 км выше р. Хета, пойменный лиственничник (61°05'08" с.ш., 151°22'12" в.д.) – популяция 1; Ольский район, верховья р. Окса, 23 км Арманской трассы, разнотравный луг по склону сопки (59°40'29" с.ш., 150°34'58" в.д.) – популяция 2.

Количественное определение суммы флавоноидов проводили на основе методики В.В. Беликова, в которой использована реакция комплексообразования флавоноидов с хлоридом алюминия (Беликов, Шрайбер, 1970).

Анализ гликозидов, агликонов, образующихся после кислотного гидролиза соответствующих гликозидов и кислот, проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии на аналитической ВЭЖХ-системе, состоящей из жидкостного хроматографа "Agilent 1200" с диодноматричным детектором и системы для сбора и обработки хроматографических данных ChemStation. Разделение осуществляли на колонке Zorbax SB-C18 размером 4.6 × 150 мм, с диаметром частиц 5 мкм, применив градиентный режим элюирования. Для разделения гликозидов в подвижной фазе содержание метанола в водном растворе ортофосфорной кислоты (0.1 %) изменялось от 32 до 33 % за 27 мин; от 33 до 46 % с 27 до 38 мин; от 46 до 56 % с 38 до 50 мин. Скорость потока элюента 1 мл/мин, температура колонки 26 °С. Для разделения агликонов, образующихся после кислотного гидролиза соответствующих гликозидов, и кислот в подвижной фазе содержание метанола в водном растворе ортофосфорной кислоты (0.1 %) варьировало от 50 до 52 % за 18 мин. Объем вводимой пробы 5 мкл. Детектирование осуществляли при $\lambda = 270, 325, 340, 360, 370$ нм.

Для приготовления подвижных фаз использовали метиловый спирт (ОСЧ), ортофосфорную

кислоту (ОСЧ), бидистиллированную деионизированную воду, а для стандартных образцов – препараты производства фирм "Fluka" и "Sigma". Стандартные растворы готовили в концентрации 10 мкг/мл в этиловом спирте.

Флавоноиды извлекали трехкратной экстракцией 70%-м этанолом при нагревании на водяной бане. Кислотный гидролиз проводили следующим образом: к 0.5 мл водно-этанольного извлечения прибавляли 0.5 мл HCl (2 н) и нагревали на кипящей водяной бане в течение 2 ч. После охлаждения гидролизат разбавляли бидистиллированной водой до объема 5 мл и пропускали через концентрирующий патрон Диапак С16 (ЗАО "БиохимМак") для освобождения от примесей гидрофильной природы. Агликоны смывали 96%-м этанолом, измеряли объем элюата и пропускали через мембранный фильтр с диаметром пор 0.45 мкм.

Количественное определение индивидуальных агликонов в элюатах проводили по методу внешнего стандарта. Содержание индивидуальных компонентов (C_x) вычисляли по формуле (%)

$$C_x = \frac{C_{ст} \cdot S_1 \cdot V_1 \cdot V_2 \cdot 100}{S_2 \cdot M \cdot (100 - B)},$$

где $C_{ст}$ – концентрация соответствующего раствора флавонола, мкг/мл; S_1 – площадь пика флавонола в анализируемой пробе, е.о.п.; S_2 – площадь пика стандарта, е.о.п.; V_1 – объем элюата после вымывания флавонолов с концентрирующего патрона, мл; V_2 – общий объем экстракта, мл; M – масса навески, мг; B – влажность сырья, %. Подробное описание методики пробоподготовки, анализа и расчетов приведено в работе Е.П. Храмовой и Е.К. Комаревцевой (2008). Результаты измерений обрабатывали в программе Excel с учетом общепринятых методических указаний по биологической статистике (Зайцев, 1991).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Изучали содержание флавоноидов в цветочных побегах растений *B. elliptica* из двух популяций Магаданской области (рис. 1). На основании полученных данных вычисляли коэффициент вариации (V) и оценивали по шкале уровней изменчивости, предложенной С.А. Мамаевым (1973).

Растения *B. elliptica* из Магаданской области накапливают значительные количества флавоноидов – до 7.2 % в листьях и до 9.0 % в цветках. Изменчивость содержания флавоноидов в листьях растений этого вида (25 растений) из популяции Хасынского района составила $V = 26.5$ % с диапазоном варьирования 2.5–7.2 % и средним значением $\bar{m} = 5.6$ %, а из популяции Ольского района (10 растений) – $V = 32.7$ % с диапазоном 4.1–6.9 % и $\bar{m} = 5.6$ %. Уровень изменчивости содержания флавоноидов в листьях растений *B. elliptica* популяции 1 повышенный, а в листьях растений популяции 2 высокий. Коэффициент вариации содержания флавоноидов в цветках *B. elliptica* из Хасынского района составил $V = 28.4$ % с диапазоном от 3.1 до 8.4 % и $\bar{m} = 6.1$ %, а в цветках растений из Ольского района – $V = 27.3$ % с диапазоном от 4.8 до 9.0 % и $\bar{m} = 7.4$ % (см. рис. 1). Вариабельность содержания флавоноидов в цветках *B. elliptica* является повышенной для обеих популяций. Высокий уровень изменчивости содержания флавоноидов в листьях растений второй популяции может быть объяснен небольшой выборкой.

Исследование флавоноидного состава методом ВЭЖХ показало, что в экстрактах листьев и цветков содержится не менее 15 компонентов. Сопоставление времен удерживания сигналов веществ на хроматограммах анализируемых образцов со временами удерживания сигналов стан-

дартных образцов и УФ-спектрами позволило идентифицировать следующие соединения: С-гликозиды ориентин и витексин, О-гликозиды кверцетина рутин, изокверцитрин и кверцитрин и О-гликозид кемпферола астрагалин. Остальные компоненты не идентифицированы. Возможность идентификации фенольных соединений была ограничена имеющимся в наличии набором индивидуальных веществ в качестве образцов сравнения. При сопоставлении хроматограмм листьев растений из обеих популяций можно отметить, что качественный состав флавоноидов существенно не отличается. На рис. 2 показано, что в листьях образца из Ольского района Магаданской области присутствуют дополнительные вещества 16, 17, 18 и отсутствует компонент 1. Хроматограммы цветков растений изученных популяций различаются незначительно: у образца из второй популяции присутствует изокверцитрин (рис. 3). Состав флавоноидов в цветках растений *B. elliptica* несколько отличается от состава в листьях. В цветках отсутствуют витексин, кверцитрин, астрагалин, компоненты 3, 4, 12, 18 и дополнительно присутствуют компоненты 19, 20, 21, 22.

Исследование состава фенольных соединений после гидролиза водно-спиртовых экстрактов из органов надземной части *B. elliptica* показало, что в гидролизатах содержится не менее 16 соединений фенольной природы. Сопоставление времен удерживания сигналов веществ на хроматограммах анализируемых образцов со временами удерживания сигналов стандартных образцов и спектрами позволило идентифицировать хлорогеновую кислоту, флавонолы кверцетин, кемпферол и изорамнетин, С-гликозиды ориентин и витексин. Компо-

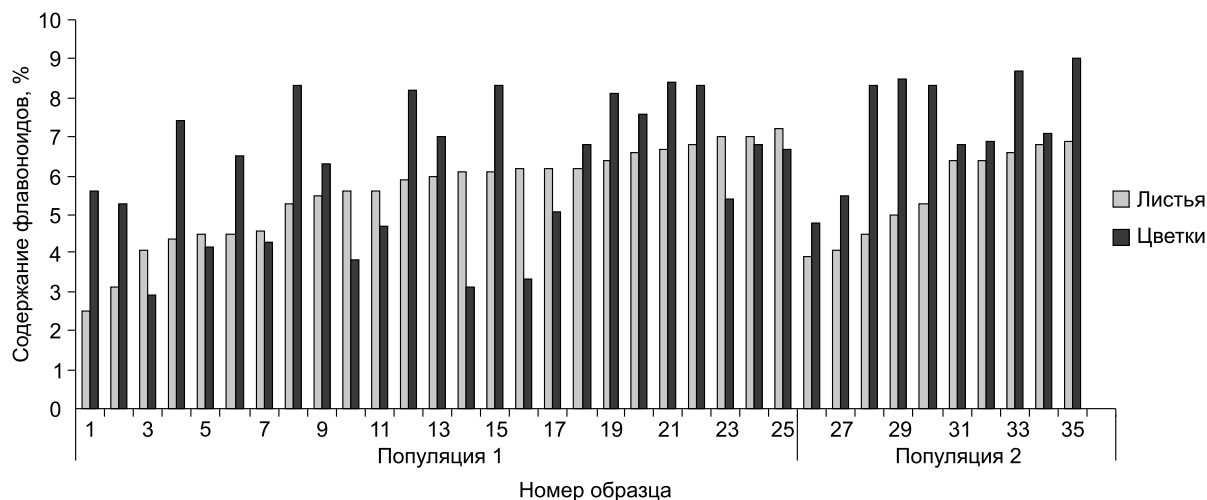


Рис. 1. Изменчивость содержания флавоноидов в цветочных побегах растений *B. elliptica* популяции 1 (Магаданская область, Хасынский район, верховья р. Малтан, в 3 км выше устья р. Хета, пойменный лиственничник) и популяции 2 (Магаданская область, Ольский район, верховья р. Окса, 23-й км Арманской трассы, разнотравный луг по склону сопки).

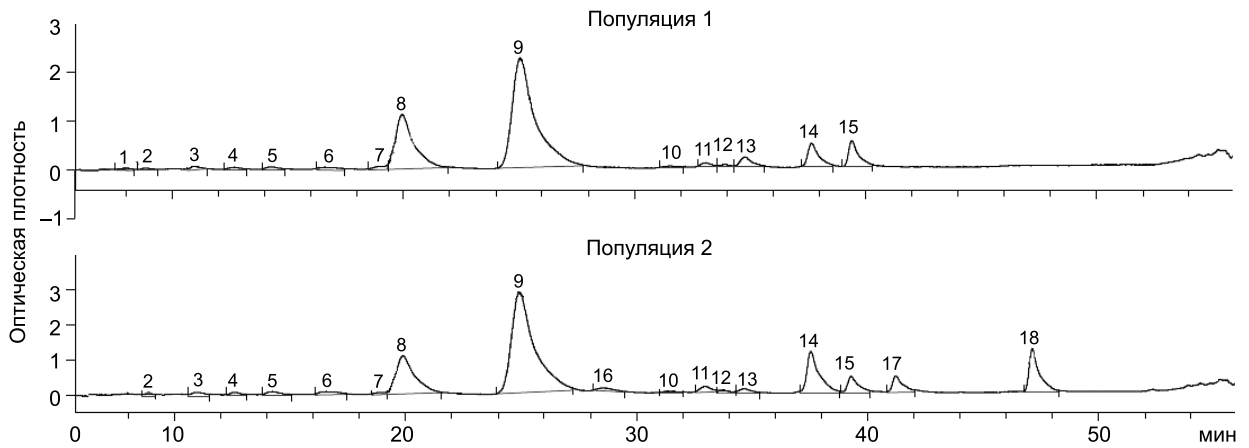


Рис. 2. Хроматограммы экстрактов листьев *V. elliptica* из популяции 1 (Магаданская область, Хасынский район, верховья р. Малтан, в 3 км выше устья р. Хета, пойменный лиственничник) и популяции 2 (Магаданская область, Ольский район, верховья р. Окса, 23-й км Арманской трассы, разнотравный луг по склону сопки):

2 – ориентин ($t_R = 8.90$ мин), 4 – витексин ($t_R = 12.68$ мин), 7 – изокверцитрин ($t_R = 19.32$ мин), 8 – рутин ($t_R = 19.98$ мин), 10 – кверцитрин ($t_R = 31.50$ мин), 11 – астрагалин ($t_R = 32.82$ мин), 1, 3, 5, 6, 9, 12–18 – неидентифицированные компоненты.

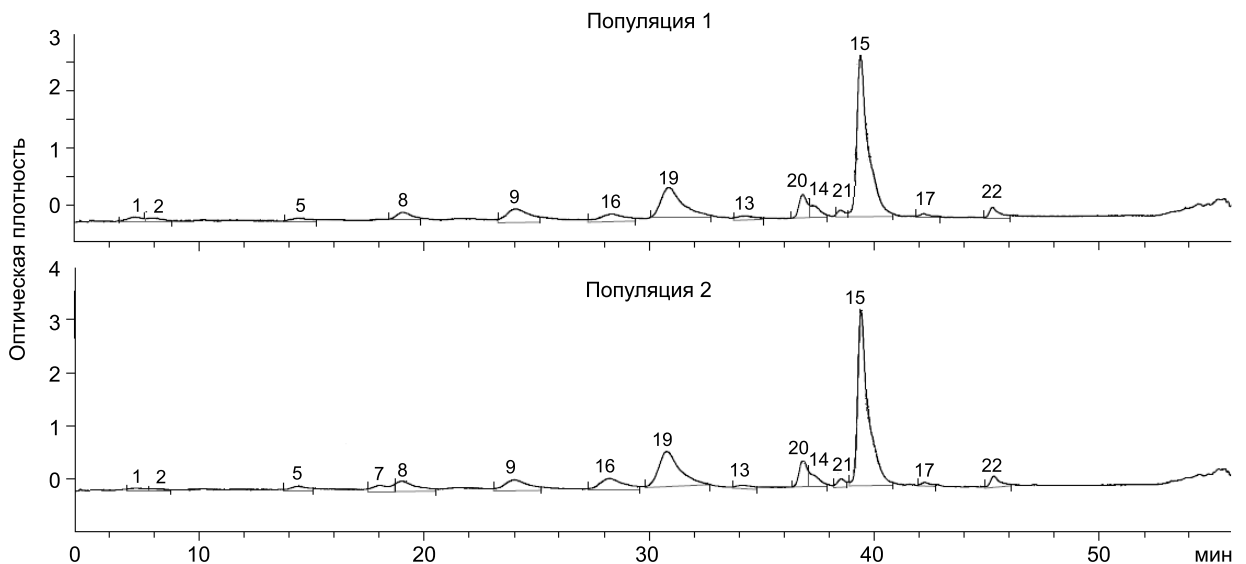


Рис. 3. Хроматограммы экстрактов цветков *V. elliptica* из популяции 1 (Магаданская область, Хасынский район, верховья р. Малтан, в 3 км выше устья р. Хета, пойменный лиственничник) и популяции 2 (Магаданская область, Ольский район, верховья р. Окса, 23 км Арманской трассы, разнотравный луг по склону сопки):

2 – ориентин ($t_R = 8.90$ мин), 7 – изокверцитрин ($t_R = 19.32$ мин), 8 – рутин ($t_R = 19.98$ мин), 1, 5, 9, 13–17, 19–22 – неидентифицированные компоненты.

ненты 1', 7'–14', 16'–18' – не идентифицированы (табл. 1). Хроматограммы листьев и цветков растений *V. elliptica* из двух популяций сходны между собой по составу фенольных соединений, но есть и некоторые различия. В листьях и цветках растений из второй популяции дополнительно присутствуют компоненты 10', 14' и отсутствует изорамнетин. В цветках растений из первой популяции обнаружены два дополнительных соединения – 16' и 18'. В цветках *V. elliptica* из обеих популяций (по сравнению с листьями) отсутствуют витексин и изорамнетин.

Среди идентифицированных соединений в гидролизатах листьев и цветков змеевика эллиптического отмечено наибольшее содержание кверцетина. В листьях растений из первой популяции содержится 2.74 % кверцетина, в цветках – 3.64 %, а в листьях растений из второй популяции – 2.00 и в цветках – 3.25 % (табл. 2). Содержание кемпферола значительно ниже, в листьях растений из первой популяции – 0.30 %, из второй популяции – 0.11 %, в цветках – 0.24 и 0.25 % соответственно. Установлено высокое содержание хлорогеновой кислоты в листьях *V. elliptica*: 1.20 % для растений

Таблица 1

Характеристика фенольных соединений, обнаруженных в гидролизатах экстрактов листьев и цветков растений *Bistorta elliptica* из Магаданской области

Номер пика	Соединение	Время удерживания, мин	Спектральная характеристика (λ_{max}), нм
1'	–	1.417	236, 276
2'	–	1.531	Нет
3'	Хлорогеновая кислота	1.656	244, 300 пл., 325
4'		1.757	244, 295 пл., 325
5'	Витексин	2.056	270, 336
6'	Ориентин	2.317	252, 269 пл., 352
7'	–	2.556	Нет
8'	–	3.032	256, 360
9'	–	3.085	255, 357
10'	–	3.507	нет
11'	–	4.050	266, 352
12'	–	4.456	Нет
13'	–	4,662	256, 350
14'	–	6.147	272, 340
15'	Кверцетин	6.496	258, 370
16'	–	7.385	Нет
17'	–	7.864	»
18'	–	9.886	»
19'	Кемпферол	11.036	257, 373
20'	Изорамнетин	12.357	255, 375

Примечание. Прочерк – соединение не идентифицировано.

Таблица 2

Содержание фенольных соединений в листьях и цветках растений *Bistorta elliptica* из двух популяций Магаданской области (в % от массы воздушно-сухого сырья)

Соединение	Популяция 1		Популяция 2	
	Листья	Цветки	Листья	Цветки
Витексин	0.05	Нет	0.03	Нет
Ориентин	0.04	0.04	0.01	0.01
Изокверцитрин	0.02	Нет	0.002	0.08
Кверцитрин	0.03	»	0.03	нет
Рутин	0.76	0.74	0.53	0.96
Астрагалин	0.006	Нет	0.009	Нет
Кверцетин	2.74	3.64	2.00	3.25
Кемпферол	0.30	0.24	0.11	0.25
Изорамнетин	0.05	Нет	Нет	Нет
Хлорогеновая кислота	1.20	0.29	1.04	0.37

из популяции Хасынского и 1.04 % из популяции Ольского районов. В цветках содержание хлорогеновой кислоты ниже, чем в листьях, – 0.29 и 0.37 % соответственно. Следует отметить высокое содержание рутина по сравнению с другими идентифицированными нами гликозидами в экстрактах из надземных органов *B. elliptica*: оно достигает 0.96 % в цветках растений из Ольского района. Таким образом, растения *B. elliptica* можно использовать как продуцент хлорогеновой кислоты и рутина.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Растения *B. elliptica* – змеевика эллиптического из Магаданской области накапливают значительные количества флавоноидов: до 7.2 % в листьях и до 9.0 % в цветках. Уровень изменчивости содержания флавоноидов в цветках растений двух популяций (популяция 1 – Хасынский, популяция 2 – Ольский районы) и листьях из популяции Хасынского района Магаданской области повышенный, а в листьях растений Ольского района высокий. В экстрактах листьев и цветков змеевика эллиптического содержится не менее 15 компонентов флавоноидной природы. Методом ВЭЖХ были идентифицированы С-гликозиды ориентин и ви-

тексин, О-гликозиды кверцетина рутин, изокверцитрин, кверцитрин и О-гликозид кемпферола астрагалин. В гидролизатах содержится не менее 16 соединений фенольной природы. Идентифицированы хлорогеновая кислота и флавонолы кверцетин, кемпферол и изорамнетин, а также С-гликозиды ориентин и витексин. Флавоноидные профили цветков и листьев змеевика эллиптического различаются. Листья и цветки растений *B. elliptica* из двух исследованных популяций обладают близким составом фенольных соединений. Растения *B. elliptica* могут служить источником хлорогеновой кислоты и рутина.

ЛИТЕРАТУРА

- Ареалы** лекарственных и родственных им растений: Атлас. Л., 1983. 208 с.
- Беликов В.В., Шрайбер М.С.** Методы анализа флавоноидных соединений // Фармация. М., 1970. № 1. С. 66–72.
- Высочина Г.И.** Об агликонах флавоноидных соединений некоторых евразийских видов рода *Polygonum* L. // Актуальные вопросы ботанического ресурсосведения в Сибири. Новосибирск, 1976. С. 180–189.

- Высочина Г.И.** Фенольные соединения в систематике и филогении семейства гречишных. Новосибирск, 2004. 238 с.
- Зайцев Г.Н.** Математический анализ биологических данных. М., 1991. 183 с.
- Кукенов М.К.** К вопросу о содержании флавоноидов в некоторых дикорастущих видах горцев и щавелей // Биохимия обмена веществ и продуктивность растений. Алма-Ата, 1970. С. 82–89.

- Левицкий А.П., Вертикова Е.К., Селиванская И.А.** Хлорогеновая кислота: биохимия и физиология // Микробиология и биотехнология. 2010. № 2. С. 6–20.
- Малышев Л.И., Пешкова Г.А.** Семейство *Polygonaceae* – Гречишные // Флора Центральной Сибири. Новосибирск, 1979. Т. 1. С. 276–292.
- Мамаев С.А.** Формы внутривидовой изменчивости древесных растений на (примере сем. *Pinaceae* на Урале). М., 1973. 284 с.
- Маскютин Н.П., Комисаренко Н.Ф., Прокопенко А.П., Погодина Л.И., Липкан Г.Н.** Растительные лекарственные средства. Киев, 1985. 280 с.
- Минаева В.Г.** Флавоноиды в онтогенезе растений и их практическое использование. Новосибирск, 1978. 252 с.
- Растительные ресурсы России: дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность.** Т. 1. Семейства *Magnoliaceae, Juglandaceae, Ulmaceae, Moraceae, Cannabaceae, Urticaceae*. СПб.; М., 2008. 419 с.
- Растительные ресурсы СССР: цветковые растения, их химический состав, использование. Семейства *Magnoliaceae – Limoniaceae*.** Л., 1985. 460 с.
- Тупицына Н.Н., Кашина Л.И.** Сем. 52. *Polygonaceae* – Гречишные // Флора Сибири. Новосибирск, 1992. Т. 5. С. 87–135.
- Фенольные соединения некоторых растений семейства гречишных / Ш.Ю. Исламбеков, А.С. Садыков, А.К. Каримджанов, А.И. Исмаилов // Тез. докл. 2-го симп. по фенольным соединениям.** Алма-Ата, 1970. С. 33–34.
- Храмова Е.П., Комаревцева Е.К.** Изменчивость флавоноидного состава листьев *Potentilla fruticosa* (Rosaceae) разных возрастных состояний в условиях Горного Алтая // Раст. ресурсы. 2008. Т. 44, № 3. С. 96–102.
- Цвелев Н.Н.** Сем. Гречиховые – *Polygonaceae* // Сосудистые растения советского Дальнего Востока. Л., 1989. Т. 4. С. 25–122.
- Черепанов С.К.** Сосудистые растения России и сопредельных государств (в пределах бывшего СССР). СПб., 1995. 990 с.
- Kaur Ch., Kapoor H.C.** Antioxidant activity and total phenolic content of some Asian vegetables // Intern. J. Food Sci. and Techn. 2002. V. 37, No. 2. P. 153–161.
- Rice-Evans C.A., Miller N.J.** Antioxidant activities of flavonoids as bioactive components of food // Biochem. Soc. Trans. 1996. V. 24, No. 3. P. 790–795.
- Sarma C.J.** Naturally occurring polyphenols and their utility // Chemistry of phenolic compounds: state of the art. N.Y., 2011. P. 19–30.