

ОСОБЕННОСТИ НАКОПЛЕНИЯ ФЛАВОНОЛОВ В ОРГАНАХ НАДЗЕМНОЙ ЧАСТИ *RHEUM ALTAICUM* LOSINSK. (*POLYGONACEAE* JUSS.)

В. А. Костикова, Г. И. Высочина, А. А. Петрук

ФГБУН Центральный сибирский ботанический сад СО РАН
Поступила в редакцию 24.12.2015 г.

Аннотация. Изучены особенности накопления флавонолов в органах надземной части растений *Rheum altaicum* Losinsk. методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). В бутонах, соцветиях и листьях идентифицированы флавонолы кверцетин, кемпферол, рамнетин, рутин и астрагалин. В черешках листьев отсутствует астрагалин. В плодах *R. altaicum* обнаружены только кверцетин и рутин. Бутоны, соцветия и листья в фазах вегетации и цветения могут быть источником рутина, содержание которого достигает 13.54 мг/г.

Ключевые слова: *Rheum altaicum*, кверцетин, кемпферол, рамнетин, рутин, астрагалин, ВЭЖХ.

Abstract. Features of the flavonols accumulation in the organs of aboveground parts of the plants *Rheum altaicum* Losinsk. was investigated by High Performance Liquid Chromatography method (HPLC). Flavonols quercetin, kaempferol, rhamnetin, rutin and astragaline was identified in the leaves, buds and inflorescences. Astragaline missing in petioles. In fruits of *R. altaicum* detected only rutin and quercetin. Buds, inflorescence and leaves in the phases of vegetation and flowering may be a source of rutin, the contents of which reaches 13.54 mg/g.

Key words: *Rheum altaicum*, quercetin, kaempferol, rhamnetin, rutin, astragaline, HPLC.

Ревень алтайский - *Rheum altaicum* Losinsk. (= *Rheum compactum* L. var. *altaicum* (Losinsk.) Gzerepn.) – это многолетнее травянистое растение 15 – 50 см высотой. Листья 20 – 30 см длиной, овально-треугольные, суженные к верхушке и сердцевидные к основанию. Соцветие густое, узкоовальное, прямое. Плод – яйцевидный блестящий орешек с узкими крыльями. Произрастает на скалах, щебнистой почве, в каменистых степях, по известковым и каменистым склонам. Распространен в Казахстане, Монголии; в Сибири встречается в Красноярском крае, Иркутской и Читинской областях, на Алтае, в Тыве, Бурятии и Якутии [1, 2].

Согласно клиническим наблюдениям *R. altaicum* с успехом может заменить китайский вид *R. tanguticum* Maxim., который зарегистрирован в официальной медицине и культивируется в России [3]. Подземная часть ревеня алтайского содержит антрахиноны, танногликозиды и используется в малых дозах как вяжущее, в средних – желчегонное, в больших – слабительное. В тибетской медицине порошок из корней применяется при воспалительных заболеваниях кожи и слизистых оболочек и при ожогах. Корни растения окрашивают ткани в чёрный цвет, могут служить дубильным материалом и красителем. Черешки используются местным населением в пищу – из них варят кисели, компоты, варенье, делают вино, используют в качестве начинки для пирогов [4].

Ценность ревеня как пищевого продукта заключается в богатстве солями железа, витаминами С и D и яблочной кислотой [5].

Фенольные соединения, содержащиеся в *R. altaicum*, ответственны за его лекарственное действие. Эта группа веществ оказывает антиоксидантное, противовоспалительное, иммуномодулирующее и другое полезное действие на организм человека и животных [6]. Выявлено, что экстракты из растений рода *Rheum* L. обладают антимицробной, противоязвенной, антиоксидантной и др. активностью [7, 8, 9]. В надземной части *R. altaicum* найдены флавоноиды, в подземных органах – стильбены, дубильные вещества и антрахиноны [10, 11]. Исследование содержания биологически активных веществ в надземных органах близкородственного вида *Rheum compactum* L., показало, что бутоны и цветки могут быть источником флавонолов, катехинов, танинов, пектиновых веществ, сапонинов, листья – каротиноидов [12]. Сведения об особенностях накопления флавоноидов в разных органах ревеня алтайского в течение вегетационного развития растений отсутствуют.

Целью настоящей работы является исследование особенностей накопления флавонолов в органах надземной части *R. altaicum* в разные фазы вегетации.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Состав и содержание флавонолов в репродуктивных органах, листьях и стеблях растений *R. altaicum* третьего года жизни изучали в течение вегетационного периода 2014 г. Растения были выращены из семян на экспериментальном участке лаборатории фитохимии ЦСБС СО РАН. Сбор сырья проводили в несколько сроков в соответствии с фазами развития растений: начало вегетации, бутонизация, массовое цветение, плодоношение. Использовали материал, высушенный в тени в проветриваемых помещениях. Для каждого органа формировали среднюю пробу из 25 растений. Из пробы отбирали средний образец (репрезентативная проба) и анализировали в двух повторностях.

Для хроматографического исследования флавонолов использовали водно – этанольные (40 %) извлечения из сырья, полученные экстракцией на водяной бане [10]. Для анализа проб использовали аналитическую ВЭЖХ-систему, состоящую из жидкостного хроматографа Agilent 1200 с диодноматричным детектором и системы для

сбора и обработки хроматографических данных ChemStation. Разделение проводили на колонке Zorbax SB-C18, размером 4.6×150 мм, с диаметром частиц 5 мкм, при градиентном режиме элюирования. Для приготовления стандартных образцов использовали кверцетин, кемпферол («Sigma-Aldrich»), рамнетин, рутин и астрагалин («Fluka»). Вещества идентифицировали методом сопоставления времени удерживания пиков веществ на хроматограммах анализируемых образцов со временами удерживания пиков стандартных образцов и УФ спектров.

Количественное определение индивидуальных компонентов в образцах растений проводили по методу внешнего стандарта, как наиболее оптимальному для хроматографического анализа многокомпонентных смесей [13].

Содержание индивидуальных компонентов (C_x) вычисляли по формуле (в мг/г от массы воздушно сухого сырья):

$$C_x = C_{ст} \times S_1 \times V_1 \times V_2 / S_2 \times M \times V_3 \times 1000,$$

где $C_{ст}$ – концентрация соответствующего стандартного раствора флавонола (мкг/мл); S_1 – площадь пика флавонола в анализируемой пробе (е.о.п.); S_2 – площадь пика стандартного флавонола (е.о.п.); V_1 – объем элюата после вымывания флавонолов с концентрирующего патрона (мл); V_2 – общий объем экстракта (мл); V_3 – объем экстракта, взятый на анализ; M – масса навески (г); 1000 – пересчётный коэффициент.

Относительное стандартное отклонение повторяемости при определении фенольных компонентов составило $\sigma_{г,отн} = 0.011$, относительное стандартное отклонение по времени удерживания у метода ВЭЖХ = 0.0018.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Флавоноловые гликозиды сибирских видов рода *Rheum*, в том числе и *R. altaicum*, имеют в своей основе агликоны кемпферол, кверцетин и мирицетин, причём преобладают в экстрактах из листьев гликозиды кверцетина [10]. В этанольных экстрактах из репродуктивных органов, листьев и стеблей *R. altaicum* методом ВЭЖХ нами идентифицированы флавонолы кверцетин, кемпферол, рамнетин, рутин и астрагалин (рис., табл.). Агликон мирицетин в экстрактах не был нами обнаружен.

Анализ содержания флавонолов показал, что органы надземной части *R. altaicum* содержат много рутина (рис., табл.). Растения рода *Rheum* могут быть источником рутина, так как он обнару-

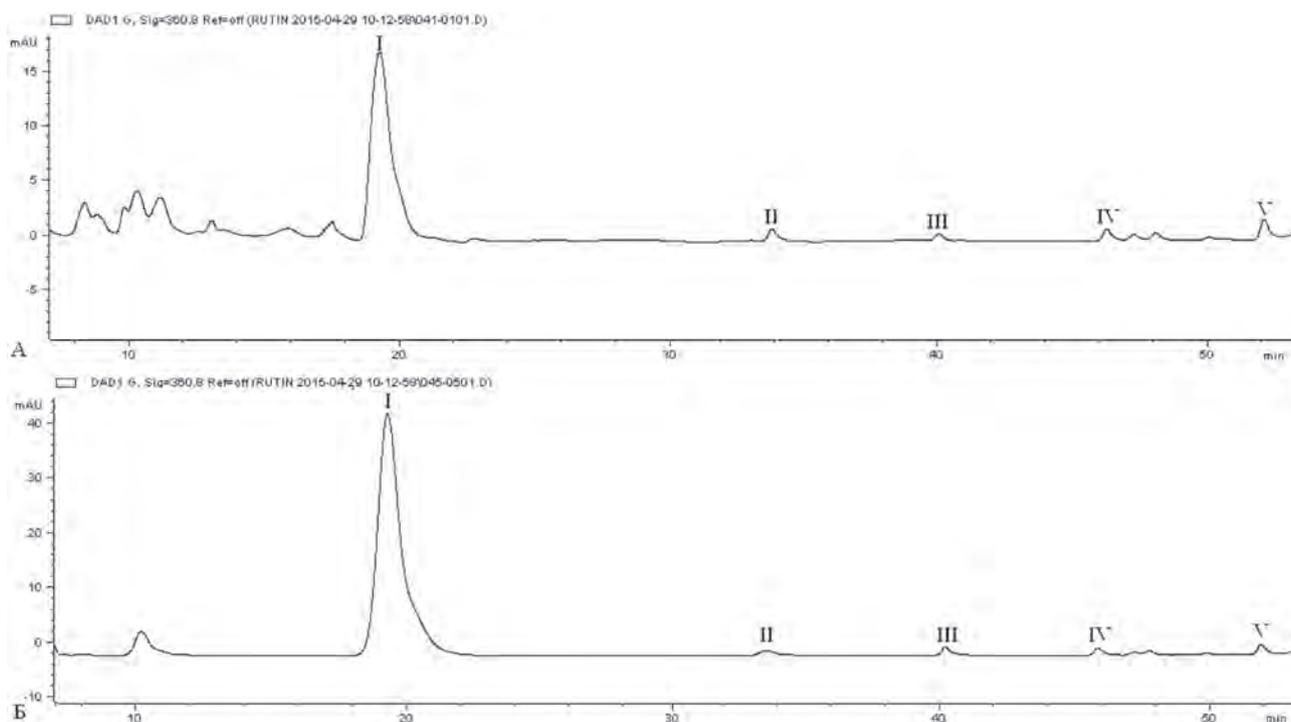


Рис. 1. ВЭЖХ – хроматограмма водно-этанольного экстракта из листьев в фазу вегетации (А) и бутонов (Б) *R. altaicum*. По оси абсцисс – время удерживания, мин.; по оси ординат – оптическая плотность, е.о.п.. Обозначения: I – рутин ($t_R = 20.0$ мин), II – астрагалин ($t_R = 32.5$ мин), III – кверцетин ($t_R = 40.8$ мин), IV – кемпферол ($t_R = 47.8$ мин), V – рамнетин ($t_R = 52.5$ мин).

жен практически у всех видов этого рода и его содержание находится в пределах 2.2 – 16.5 мг/г [10; 14]. Содержание рутина у *R. altaicum* достигает 13.54 мг/г в бутонах, немного меньше в соцветиях (10.91 мг/г) и в листьях – в фазах вегетации (9.13 мг/г) и цветения (8.0 мг/г). Меньше всего рутин в черешках листьев (0.17 – 0.95 мг/г).

Остальные обнаруженные флавонолы, содержащиеся в экстрактах из органов *R. altaicum*, являются минорными, так как их количество не достигает 1 мг/г. Больше всего кверцетина содержат соцветия (0.52 мг/г), листья в фазе плодоноше-

ния (0.18 мг/г) и бутоны (0.14 мг/г). Кемпферола больше накапливается в листьях в фазе вегетации (0.22 мг/г), соцветиях (0.21 мг/г) и бутонах (0.14 мг/г). Астрагалина больше содержится в листьях в фазах вегетации (0.58 мг/г) и бутонизации (0.50 мг/г) и в бутонах (0.36 мг/г). В черешках листьев и плодах астрагалин не обнаружен. Содержание рамнетина более высокое в листьях в фазу вегетации (0.37 мг/г) и бутонизации (0.24 мг/г) и в бутонах (0.19 мг/г).

Полученные данные показали, что в черешках листьев содержится меньше флавонолов, чем в

Таблица 1.

Содержание флавонолов в органах надземной части *R. altaicum*, (в мг/г от массы воздушно-сухого сырья)

| Фаза развития, дата сбора | Орган растения | рутин | кверцетин | кемпферол | астрагалин | рамнетин |
|---------------------------|----------------|-------|-----------|-----------|------------|----------|
| Вегетация, 14.05.14 г. | лист | 9.13 | 0.09 | 0.22 | 0.58 | 0.37 |
| | черешки | 0.95 | 0.08 | 0.13 | – | 0.07 |
| Бутонизация, 2.06.14 г. | лист | 6.19 | 0.06 | 0.10 | 0.29 | 0.24 |
| | бутоны | 13.54 | 0.14 | 0.14 | 0.36 | 0.19 |
| Цветение, 21.06.14 г. | лист | 8.00 | 0.06 | 0.10 | 0.50 | 0.04 |
| | черешки | 0.25 | 0.04 | 0.04 | – | 0.02 |
| | соцветия | 10.91 | 0.52 | 0.21 | 0.30 | 0.03 |
| Плодоношение, 18.07.14 г. | лист | 3.82 | 0.18 | 0.09 | 0.20 | 0.02 |
| | черешки | 0.17 | 0.04 | 0.02 | – | 0.04 |
| | семена | 0.31 | 0.06 | – | – | – |

Примечание: «–» – вещество не обнаружено.

листьях и репродуктивных органах. Бутоны, соцветия и листья *R. altaicum* в фазах вегетации и цветения могут быть ценным источником флавонолов, особенно это относится к гликозиду кверцетина – рутину, содержание которого достигает 13.54 мг/г. Накопление флавонолов в репродуктивных органах косвенно свидетельствует об участии этих веществ в размножении и защите органов размножения от УФ излучения [15]. В экстрактах из плодов *R. altaicum* обнаружены только рутин (0.31 мг/г) и кверцетин (0.06 мг/г) (табл.).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате исследования методом ВЭЖХ особенностей накопления флавонолов в этанольных экстрактах из надземных органов *R. altaicum* выявлены флавонолы кверцетин, кемпферол, рамнетин, рутин и астрагалин. Бутоны, соцветия и листья в фазах вегетации и бутонизации *R. altaicum* могут быть ценным источником флавонолов, особенно это относится к гликозиду кверцетина – рутину, содержание которого достигает 13.54 мг/г (в бутонах). Листья, бутоны и соцветия содержат все идентифицированные флавоноиды. В черешках листьев обнаружены все вещества, кроме астрагалина. В экстрактах из плодов *R. altaicum* найдены только рутин (0.31 мг/г) и кверцетин (0.06 мг/г).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Лозина-Лозинская А.С. Род Ревень – *Rheum L.* / А.С. Лозина-Лозинская // Флора СССР. – М.-Л.: Изд-во АН СССР, 1936. — Т.5. — С. 483-501.
2. Кашина Л.И. Род *Rheum Salicaceae-Amaranthaceae* / Л.И. Кашина // Флора Сибири. — Новосибирск: Наука, 1992. — Т. 5. — С. 108-109.
3. Минаева В.Г. Лекарственные растения Сибири / В.Г. Минаева. — Новосибирск: Наука, 1970. — 272 с.
4. Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование; Семейства Magnoliaceae — Limoniaceae — Л.: Наука, 1984. — 460 с.
5. Верещагин В.И. Полезные растения Западной Сибири / В.И. Верещагин, К.А. Соболев-

ская, А.И. Якубов. — М., Л.: Изд-во АН СССР, 1959. — 347 с.

6. Phenolics: From Chemistry to Biology / D.M. Pereira [et al.] // *Molecules*. — 2009. — Vol. 14. — P. 2202-2211.
7. Kosikowska U. Antimicrobial activity and total content of polyphenols of *Rheum L.* species growing in Poland / U. Kosikowska, H.D. Smolarz, A. Malm // *Central European Journal of Biology*. — 2010. — № 5 (6). — P. 814-820.
8. Investigations into the anti-ulcer activity of *Rheum ribes Linn.* leaves extracts / Sindhu R.K. [et al.] // *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. — 2010. — Vol. 2, № 4. — P. 91-92.
9. Anti-oxidative activities of ethanol extracts from both wild plant and suspension cell cultures of *Rheum franzenbachii* / J.I. Wang [et al.] // *Chinese Herbal Medicines*. — 2014. — 6 (2). — P. 115-119.
10. Высочина Г.И. Фенольные соединения в систематике и филогении семейства гречишных / Г.И. Высочина. — Новосибирск: Наука, 2004. — 240 с.
11. Schnelle F.J. Unterschiede im Vorkommen von Anthrachinon — aglica und Rhapontizin in *Rheum*-arten / F.J. Schnelle, E. Schratz // *Planta med.* — 1966. — Vol. 14, №. 2. — S. 194-199.
12. Высочина Г.И. Динамика содержания основных групп биологически активных веществ в *Rheum compactum L.* при интродукции в Новосибирскую область / Г.И. Высочина, Т.А. Кукушкина, В.А. Костикова // *Сибирский медицинский журнал (Иркутск)*. — 2015. — Т. 132, № 1. — С. 91-94.
13. Van Beek T.A. Chemical analysis of *Ginkgo biloba* leaves and extracts / Van Beek T.A. // *Journal of Chromatography A*, 2002. — № 967. — P. 21-35.
14. Agarwal S.K. Chemistry and Pharmacology of *Rhubarb (Rheum species)* — A Review / S.K. Agarwal [et al.] // *Journal of Scientific and Industrial Research*. — 2001. — Vol. 60, № 1. — P. 1-9.
15. Iwashina T. Flavonoids in translucent bracts of the Himalayan *Rheum nobile (Polygonaceae)* as ultraviolet shields / T. Iwashina [et al.] // *Journal of Plant Research*. — 2004. — Vol. 117, № 2. — P. 101-107.

Центральный сибирский ботанический сад
СО РАН

Костикова В. А., м.н.с., к.б.н.
E-mail: serebryakovava@mail.ru
Тел. (383) 339-98-14

Central Siberian Botanical Garden SB RAS
Kostikova V. A., Junior Researcher, Ph.D,
E-mail: serebryakovava@mail.ru
Ph. (383) 339-98-14

*Высочина Г. И. зав. лаб., д.б.н, проф.
E-mail: vysochina_galina@mail.ru
Тел. (383) 339-98-10*

*Vysochina G. I., Mgr. of laboratory, Ph.D., prof.
E-mail: vysochina_galina@mail.ru
Ph.(383) 339-98-10*

*Петрук А. А., н.с., к.б.н.
E-mail: pet.a@mail.ru
Тел. (383) 339-98-18*

*Petruk A. A., Researcher, Ph.D.
E-mail: pet.a@mail.ru
Ph. (383) 339-98-18*