

УДК: 582.665.11:615.322

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

V.A. Kostikova, G.I. Vysochina, T.A. Kukushkina, A.A. Petruk

БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ ВЕЩЕСТВА *RHEUM COMPACTUM* L.

BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES OF *RHEUM COMPACTUM* L.

Исследование динамики накопления биологически активных веществ в органах надземной части растений *Rheum compactum* L., показало, что бутоны и цветки могут быть источником флавонола рутина (13,06 % и 6,92 %, соответственно), катехинов (0,61 % и 1,05 %), танинов (25,48 % и 22,13 %) и сапонинов (24,89 % – в бутонах). Листья в период отрастания и начала бутонизации накапливают много каротиноидов (212,67 мг%). Больше всего пектиновых веществ содержится в черешках листьев (3,43 % пектинов и 3,40 % протопектинов).

Одним из типичных представителей рода *Rheum* L. является сибирско-монгольско-китайский вид *Rheum compactum* L. – ремень густоцветковый. Это многолетнее травянистое растение 30–120 см высотой. Произрастает на скалах, каменистых россыпях и каменистых степях в горном, лесном поясе и высокогорьях (Кашина, 1992).

Известно применение *R. compactum* как общеукрепляющего средства при лечении малокровия и туберкулеза. В тибетской медицине используется в составе многих рецептов при инфекционных заболеваниях. В Сибири и Средней Азии порошок из подземных органов применяют наружно при ожогах, отвар как слабительное или вяжущее (в зависимости от дозы). Листья, черешки и цветоносы используют в пищу. Высушенные черешки добавляют в компоты. Известно как красильное растение (Иванова, 1988; Растительные ресурсы СССР, 1984).

Сведений о вторичных метаболитах ревеня густоцветкового очень мало. В надземной части растений найдены гликозиды кемпферола, кверцетина и мирицетина, в подземных органах – оксиметилантрахиноны хризофанол, эмодин, фисцион, алоэ-эмодин и реин (Высочина, 2004).

При использовании растений в качестве источника биологически активных веществ необходимо исследование динамики их накопления в различных органах и определение фаз вегетации с максимальным содержанием веществ.

Цель настоящей работы – изучить особенности накопления основных групп биологически активных веществ в органах надземной части растений *R. compactum* в зависимости от фазы вегетации.

Материал и методы

Количество биологически активных веществ в репродуктивных органах, листьях и стеблях растений *R. compactum* второго года жизни изучали в течение вегетационного периода 2013 г. Исследовали 4 фазы развития: вегетация, бутонизация, цветение и плодоношение. Исследованные растения были выращены из семян на экспериментальном участке лаборатории фитохимии ЦСБС СО РАН.

Для хроматографического исследования фенольных соединений использовали водно-этанольные (40 %) извлечения из сырья, полученные экстракцией на водяной бане (Высочина, 2004). 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 применяли препараты фирмы «Fluka» и «Sigma». 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 в пересчёте на кверцетин (Храмова, Комаревцева, 2008).

Для определения содержания катехинов, танинов (гидролизуемых дубильных веществ), каротиноидов, пектиновых веществ, сапонинов использовали методики, подробное описание которых опубликовано в статье Г.И. Высочиной, Т.А. Кукушкина и Е.С. Васфиловой (2013). Содержание катехинов в пересчёте на (±)-катехин определяли спектрофотометрическим методом. Расчет танинов производили по стандартному образцу ГСО танина (Хворост, Беликов и др., 1986). Пектиновые вещества (протопектины и пектины) в пересчёте на галактуроновою кислоту определяли карбазольным методом. Количество сапонинов устанавливали весовым методом. Содержание каротиноидов определяли в ацетоново-этанольном экстракте спектрофотометрическим методом при длинах волн 450 и 550 нм.

Результаты и их обсуждение

В условиях Новосибирской обл. растения ревеня густоцветкового начинают вегетировать в первой декаде мая. Солнечная инсоляция в этот период особенно опасна для молодых, только что появившихся листьев. Большой вред на-

носят растениям в этот ответственный период их формирования и весенние заморозки. Во всех растениях, произрастающих в условиях резко континентального климата, присутствуют биохимические механизмы защиты растений от повреждающего воздействия инсоляции и низких температур. Установлено, что одной из главных функций фенольных соединений является защита растительных тканей, в первую очередь, эпидермальных, от УФ радиации. Доказано их непосредственное участие во всех жизненно важных процессах растений (Запрометов, 1993). Наличие их обеспечивает антиоксидантную активность растительного сырья. Флавоноиды, катехины и танины действуют как вяжущие, противовоспалительные, бактерицидные, кровоостанавливающие средства и способны гасить в организме так называемые свободные радикалы, возникающие под действием неблагоприятных экологических факторов.

Защиту молодых растений ревеня обеспечивают флавонолы, катехины и танины, принимающие активное участие в окислительно-восстановительных процессах растений. Об этом косвенно свидетельствует их высокое содержание. Флавоноловые гликозиды большинства сибирских видов рода *Rheum*, в том числе и *R. compactum*, имеют в своей основе агликоны кемпферол, кверцетин и мирицетин, причём количество гликозидов кверцетина больше, чем гликозидов других агликонов (Высочина, 2004). Анализ содержания агликонов флавонолов в гидролизатах этанольных экстрактов методом ВЭЖХ показал, что в растениях *R. compactum* присутствуют флавонолы кверцетин, кемпферол, мирицетин и флавоон лютеолин, причём кверцетина больше, чем других соединений (Костикова, Петрук, 2014). В этанольных экстрактах из черешков, листьев и репродуктивных органов *R. compactum* методом ВЭЖХ нами обнаружены флавонолы кверцетин, кемпферол, рамнетин, рутин, астрагалин и флавоон лютеолин (рис., табл. 1). Агликон мирицетин обнаружен нами не был.

Исследование содержания флавоноидов показало, что органы надземной части *R. compactum* содержат много рутина (рис., табл. 1). Растения рода *Rheum* могут быть источником рутина, так как он обнаружен практически у всех видов этого рода (Agarwal, Singh et al., 2001; Высочина, 2004). Содержание рутина достигает у *R. compactum* 13,06 % в бутонах, в два раза меньше в соцветиях (6,92 %) и в листьях – в фазах вегетации (5,28 %) и бутонизации (6,23 %). Меньше всего рутина в черешках листьев (0,16–0,40 %). Остальные обнаруженные нами флавоноиды, содержащиеся в экстрактах из органов *R. compactum*, являются минорными, так как их количество не достигает 1 %. Больше всего кверцетина содержат соцветие (0,55 %), бутоны (0,22 %) и листья в фазе вегетации (0,19 %). Кемпферол больше накапливается в бутонах (0,19 %), листьях в фазе вегетации (0,14 %) и соцветиях (0,11 %). Астрагалина больше содержится в бутонах (0,44 %), листьях в фазах вегетации (0,26 %) и бутонизации (0,44 %). Рамнетин преобладает в листьях в фазу вегетации (0,24 %) и в бутонах (0,15 %).

Полученные данные показали, что в черешках листьев содержится меньше флавоноидов, чем в листьях и репродуктивных органах. Бутоны, соцветия и листья в фазах вегетации и бутонизации *R. compactum* могут быть ценным источником флавоноидов, особенно это относится к гликозиду кверцетина – рутину, содержание которого достигает 13,06 %.

Экстракт из плодов *R. compactum* отличается наличием флавона лютеолина. В экстрактах из всех остальных органов ревеня компактного лютеолина обнаружено не было. Из всех идентифицированных веществ больше всего в плодах содержится рутина (1,93 %) и лютеолина (0,09 %) (табл. 1).

Танинов накапливается больше в репродуктивных органах - в бутонах (25,48 %) и цветках (22,13 %), в плодах их немного (табл. 2). Катехинов в цветках (1,05 %) и плодах (0,88 %) содержится больше, чем в бутонах.

Каротиноидов в листьях в фазе вегетации очень большое количество – 212,67 мг%. К середине июня в листьях бутонизирующих растений их становится намного меньше – 125,16 мг%, примерно столько же сохраняется до конца жизни растения. Каротиноидов в бутонах и соцветиях почти в пять раз меньше, чем в листьях. Значение каротиноидов (провитамин А) для человека трудно переоценить, поэтому поиски растений с высоким содержанием этих веществ всегда актуальны. Они превращаются в витамин А в печени и стенках кишечника при наличии в пище жира, а также желчи и некоторых ферментов в кишечнике. Они влияют на эндокринную и репродуктивную системы, способствуют

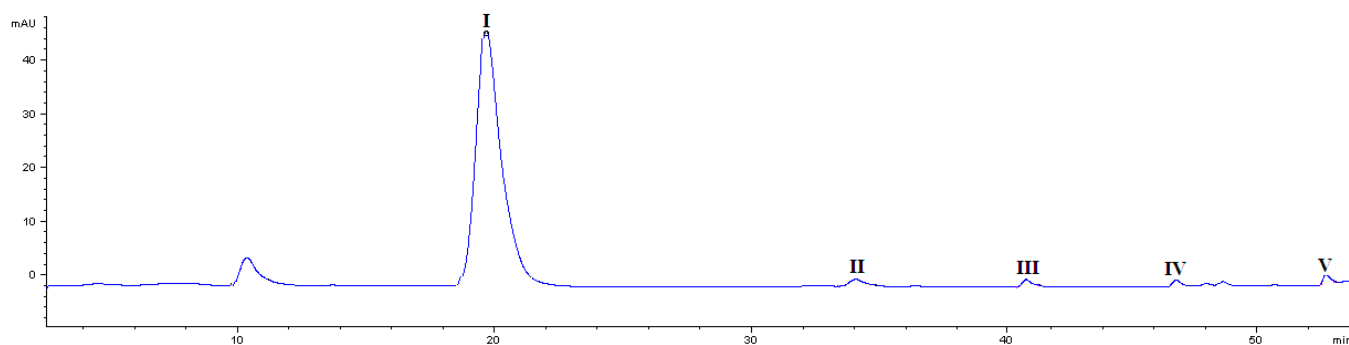


Рис. ВЭЖХ-хроматограмма водно-этанольного экстракта из бутонов *R. compactum*. Обозначения: I – рутин, II – астрагалин, III – кверцетин, IV – кемпферол, V – рамнетин.

Таблица 1

Содержание флавоноидов в органах надземной части *R. compactum*, %

Фаза развития, дата сбора	Орган растения	рутин	кверцетин	кемпферол	лютеолин	астрагалин	рамнетин
Вегетация, 15.05.13 г.	лист	5,28	0,19	0,14	–	0,26	0,24
	черешки	0,40	0,02	0,03	–	–	0,03
Бутонизация, 11.06.13 г.	лист	6,23	0,16	0,07	–	0,25	0,05
	черешки	0,21	0,02	–	–	–	0,04
	бутоны	13,06	0,22	0,19	–	0,44	0,15
Цветение, 02.07.13 г.	лист	2,60	0,05	0,03	–	0,13	0,02
	черешки	0,16	0,01	0,02	–	–	0,09
	цветки	6,92	0,55	0,11	–	0,13	0,04
Плодоношение, 16.07.13 г.	лист	2,63	0,04	0,02	–	0,12	0,02
	черешки	0,21	0,03	0,02	–	–	0,03
	плоды	1,93	0,06	0,04	0,09	0,06	0,06

Примечание: «–» – вещество не обнаружено.

устойчивости к инфекционным и грибковым заболеваниям, замедляют рост опухолей и ускоряют заживление ран. Каротиноиды, как и витамин Р, являются активными антиоксидантами (Никитюк, 1999).

Пектиновые вещества существуют в растениях в двух формах – пектинов и протопектинов. Это высокомолекулярные сахараиды, выполняющие функции упрочняющих компонентов и регулирующие водный обмен растения. Со многими металлами (кальцием, стронцием, свинцом и др.) пектины образуют нерастворимые комплексные соединения, которые практически не перевариваются и выводятся из организма. Эта способность пектинов объясняет их радиозащитные свойства и лечебное действие при отравлении свинцом, ядами, а также радионуклидами (Оводов, 2009).

Пектины и протопектины присутствуют в ревете густоцветковом в значительных количествах. Динамика их в течение вегетативного периода растений практически одинакова: в фазе массового цветения отмечено максималь-

Таблица 2

Содержание биологически активных веществ в органах растений ревета густоцветкового в течение вегетационного периода 2013 г. (%)

Фаза развития, дата сбора	Орган	Танины	Катехины	Пектины	Протопектины	Сапонины	Каротиноиды, мг/%
Вегетация, 15.05.13 г.	лист	17,11	0,42	1,11	2,36	14,49	212,67
	черешки	3,10	0,11	1,37	2,23	11,81	47,01
Бутонизация, 11.06.13 г.	лист	18,32	0,26	2,04	2,40	16,00	125,16
	черешки	16,80	0,13	2,34	3,16	22,99	13,23
	бутоны	25,48	0,61	0,85	1,78	24,89	45,27
Цветение, 02.07.13 г.	лист	17,21	0,30	2,90	2,79	15,40	120,02
	черешки	1,73	0,10	3,43	3,40	18,88	8,37
	цветки	22,13	1,05	1,30	2,97	14,41	48,75
Плодоношение, 16.07.13 г.	лист	13,79	0,36	1,75	2,83	17,46	125,06
	черешки	1,00	0,14	2,36	2,01	18,66	19,56
	плоды	7,26	0,88	0,52	1,23	1,43	65,57

ное содержание и пектинов и протопектинов во всех органах. Больше всего пектиновых веществ в черешках (3,43 % пектинов и 3,40 % протопектинов), в листьях меньше (2,90 % и 2,79 %), причем обе формы содержатся практически в одинаковых количествах. В цветках протопектинов в 2,3 раза больше, чем пектинов. Вследствие высокого содержания пектиновых веществ черешки листа бутонизирующих и цветущих растений ревеня густоцветкового представляет собой ценный пищевой продукт. Об этом же свидетельствует обнаружение в черешках листа больших количеств сапонинов (22,99 %), ценных биологически активных веществ достаточно широкого спектра действия. Самое высокое содержание сапонинов в бутонах (24,89 %), в цветках происходит резкое снижение. Сапониносодержащие растения эффективны при склерозе сосудов, атеросклерозе в сочетании с гипертонической болезнью, злокачественных новообразованиях, используются как мочегонные, общеукрепляющие, тонизирующие, противоопухолевые и седативные средства, благоприятно влияют на сердечно-сосудистую систему (Растительные лекарственные средства, 1985).

Выводы

Надземная часть растений R. compactum, выращенных на экспериментальном участке ЦСБС СО РАН (г. Новосибирск), содержит комплекс биологически активных веществ – флавоноидов, катехинов, танинов, каротиноидов, пектиновых веществ, сапонинов.

В результате анализа содержания флавоноидов методом ВЭЖХ в этанольных экстрактах из надземных органов *R. compactum* выявлены флавонолы кверцетин и кемпферол, рамнетин, рутин и астрагалин. Бутоны, соцветия и листья в фазах вегетации и бутонизации *R. compactum* могут быть ценным источником флавоноидов, особенно это относится к гликозиду кверцетина – рутина, содержание которого достигает 13,06 %. Экстракт из плодов отличается наличием лютеолина, тогда как в других органах он обнаружен не был. Бутоны и цветки *R. compactum* могут быть источником флавонолов, катехинов, танинов, пектиновых веществ, сапонинов, листья – каротиноидов (в период отрастания и начала бутонизации). Перспективность использования ревеня густоцветкового для получения лечебных средств подтверждается также значительной биомассой растений.

ЛИТЕРАТУРА

- Высочина Г.И.** Фенольные соединения в систематике и филогении семейства гречишных. – Новосибирск: Наука, 2004. – 240 с.
- Высочина Г.И., Кукушкина Т.А., Васфилова Е.С.** Биологически активные вещества растений рода *Filipendula* Mill. на Среднем Урале // Вестн. Новосиб. гос. ун-та. Серия: Биология, клин. медицина, 2013. – Т. 11, вып. 3. – С. 55–56.
- Запруднев М.Н.** Фенольные соединения: Распространение, метаболизм и функции в растениях. – М.: Наука, 1993. – 272 с.
- Иванова К.В.** Род *Rheum* L. – Ревень // Культурная флора СССР: Листовые овощные растения. – Л.: Агропромиздат, 1988. – Т. XII. – С. 30–70.
- Кашина Л.И.** Род *Rheum* // Флора Сибири. Salicaceae – Amaranthaceae. – Новосибирск: Наука, 1992. – Т. 5. – С. 108–109.
- Костикова В.А., Петрук А.А.** Исследование сезонной динамики содержания флавоноидов в органах надземной части *Rheum compactum* L. методом высокоэффективной жидкостной хроматографии // Перспективы развития и проблемы современной ботаники: Материалы III (V) Всеросс. молод. конф. с участием иностранных учёных (10–14 ноября 2014 г., Новосибирск). – Новосибирск: Академиздат, 2014. – С. 150–152.
- Никитюк В.Г.** Каротиноиды и их значение в живой природе и для человека // Провизор, 1999. – № 6. – С. 39–41.
- Оводов Ю.С.** Современные представления о пектиновых веществах // Биоорганическая химия, 2009. – Т. 35, № 3. – С. 293–310.
- Растительные лекарственные средства / Под ред. Н.П. Максютинной. – Киев: «Здоров'я», 1985. – 280 с.
- Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование. Семейства Magnoliaceae – Limoniaceae. – Л.: Наука, 1984. – 460 с.
- Хворост О.П., Беликов В.В., Сербин А.Г., Комиссаренко Н.Ф.** Сравнительная количественная оценка содержания дубильных веществ у *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn. // Растительные ресурсы, 1986. – Т. 22, вып. 2. – С. 258–262.
- Храмова Е.П., Комаревцева Е.К.** Изменчивость флавоноидного состава листьев *Potentilla fruticosa* (Rosaceae) разных возрастных состояний в условиях Горного Алтая // Растительные ресурсы, 2008. – № 3. – С. 96–102.
- Agarwal S.K., Singh S.S., Lakshmi V., Verma S., Kumar S.** Chemistry and Pharmacology of Rhubarb (*Rheum* species) – A Review. // Journal of Scientific & Industrial Research, 2001. – Vol. 60, No 1. – P. 1–9.

SUMMARY

The dynamic of accumulation of the biologically active substances in the organs the above-ground parts of the plants *Rheum compactum* L. has been studied. It was revealed, that the buds and flowers could be a source of rutin (13,06 % and 6,92 %, respectively), catechins (0,61 % and 1,05 %), tannins (25,48 % and 22,13 %) and saponins (24,89 % – in the buds). Leaves during growth and early budding accumulate a lot of carotenoids (212,67 mg%). Most pectin is contained in the leaf petioles (3,43 % – pectin and 3,40 % – protopectin).