

О флавоноидах змеевика живородящего *Bistorta vivipara* (L.) Delarbre в связи с их экологической ролью

Г. И. ВЫСОЧИНА, М. С. ВОРОНКОВА

Центральный сибирский ботанический сад СО РАН
630090, Новосибирск, ул. Золотодолинская, 101
E-mail: vysochina_galina@mail.ru

АННОТАЦИЯ

Обсуждаются результаты исследования содержания и состава флавоноидов змеевика живородящего *Bistorta vivipara* (L.) Delarbre из природных местообитаний Сибири. Растения, произрастающие в условиях повышенной инсоляции на высоте 1500 м над ур. м. и выше, накапливают значительное количество флавоноидов, и даже условия избыточного увлажнения, низкая температура воздуха и почвы высокогорно-тундрового пояса не противодействуют их биосинтезу. В растениях затененных местообитаний флавоноидов меньше. Вполне вероятно, что эти пигменты играют роль фильтров, защищая ткани растений от вредного влияния ультрафиолетовых лучей, и высота местности над уровнем моря является одним из ведущих экологических факторов. Адаптация растений к ультрафиолетовому излучению происходит за счет экранирующих соединений эпидермальных клеток. Впервые методами высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) исследованы агликоны флавонолов в растениях, собранных на территории Алтая. Обнаружены три агликона – мирицетин, кверцетин и кемпферол. Основным агликоном змеевика живородящего является кверцетин (до 5,8 % в цветках, 6,8 % в листьях).

Ключевые слова: змеевик живородящий, инсоляция, флавоноиды, флавонолы, мирицитин, кверцетин, кемпферол, Сибирь.

Флавоноиды – многочисленная группа природных соединений, объединенная общностью путей биосинтеза. Они играют важную роль в растительном метаболизме и широко распространены в высших растениях. Многие флавоноиды являются пигментами, придающими разнообразную окраску растительным тканям и органам. В растениях присутствуют в основном в виде гликозидов – соединений с сахарами; сахарные остатки могут быть представлены моно-, ди-, три- и тетрасахаридами. Биологические функции флавоноидов изучены мало, однако их роль в некоторых естественных процессах к настоящему времени установлена. Во-первых, до-

казано, что окраска цветочных лепестков помогает насекомым находить нужные растения, что способствует опылению. Во-вторых, в некоторых случаях флавоноиды являются фактором устойчивости растений к поражению патогенными грибами. В-третьих, предполагают, что благодаря способности поглощать ультрафиолетовое излучение (330–350 нм) и часть видимого света (520–560 нм) они защищают растительные ткани от избыточной радиации [1–3].

Ультрафиолетовое излучение (УФ) является мощным стрессорным фактором для всех живых систем, в том числе и растений [4]. Под его воздействием изменяются многие

морфофизиологические, генетические и биохимические параметры растительных клеток [5, 6]. Защищаясь от негативного воздействия больших доз УФ, растения вырабатывают ряд приспособительных механизмов. Одним из них является синтез фенольных соединений, обладающих способностью поглощать коротковолновую часть спектра солнечной радиации [7].

Желтые пигменты растений – флавонолы – наиболее многочисленная и широко распространенная группа флавоноидов [8]. Благодаря высокой биологической активности, обусловленной присутствием в молекуле активных фенольных гидроксильных и карбонильной групп, флавонолы подвергаются различным биохимическим изменениям и принимают участие в растительных тканях в ряде физиологических процессов, связанных с окислительно-восстановительными реакциями. Флавоноловые гликозиды кверцетина, кемпферола, изорамнетина и мирицетина встречаются в растениях различной таксономической принадлежности [7, 9].

Виды рода *Bistorta* Hill – змеевик (сем. Polygonaceae) содержат разнообразные флавоноиды (антоцианы, катехины, флавоны, флавонолы) [10]. Они используются как декоративные, пищевые, кормовые и медоносные растения [11]. На территории России и сопредельных государств произрастает 12 видов рода *Bistorta*, в Сибири – 6, из них два вида – *B. major* и *B. vivipara* широко распространены в Северном полушарии [12]. Н. Н. Цвелев [13], разрабатывая систему рода *Bistorta*, выделил две секции: 1. *Bistorta* (без клубеньков в нижней части соцветия); 2. *Vivipara* Tzvel. (с клубеньками в нижней части соцветия), поместив *Bistorta vivipara* в секцию 2. Такое деление рода в принципе соответствует наличию в сек. *Bistorta* Tourn. рода *Polygonum* L. двух рядов: 1. *Apterae* Kom. и 2. *Bistortiformes* Kom. [14].

Объектом нашего исследования является *Bistorta vivipara* (L.) Delarbre (*Polygonum viviparum* L.) – змеевик живородящий, горец живородящий. Это многолетнее травянистое растение до 50 см высотой с клубневидно утолщенным корневищем и розеткой длинночерешковых продолговатых кожистых листьев. Стеблевые листья узколанцетные, с длинными раструбами. Стебель прямостоя-

чий, простой, голый. Листовые пластинки довольно жесткие, снизу голые или волосистые, плоские или с завернутыми книзу краями, не избегают на черешки. Цветки белые, розовые или красные с венчиковидным околоцветником, собраны в цилиндрический колос; нижние цветки обычно заменены луковичками. Цветет с июня до осени. Размножение семенное и вегетативное. Плод трехгранный. Число хромосом: $2n = 80, 100$.

B. vivipara – арктоальпийский вид. Имеет обширный циркумполярный ареал, охватывающий почти всю территорию Евразии и Северной Америки. Произрастает в лесном поясе и высокогорьях на лесных, альпийских и субальпийских лугах, а также на более пониженных, хорошо увлажненных местах по берегам рек и водоемов, в моховых и травяных болотах, в тундрах, на гольцах [15, 16]. Гигропсихрофит. Заходит далеко в Арктику. “Широкий экологический диапазон вида и вивипария обеспечивают выживание и достаточно интенсивное воспроизведение в суровых природных условиях Арктики” [17].

Многообразие местообитаний *B. vivipara* связано с его возрастом и историей становления вида. По мнению Е. М. Лавренко [18], *B. vivipara* сформировался в Восточно-Сибирском альпийском центре, а потому арктические его местонахождения являются вторичными по отношению к альпийским. При изучении флоры степей Средней Сибири В. В. Ревдатов [19] обнаружил в ее составе несколько видов, основной современный ареал которых находится в высокогорных альпийских зонах Евразии, и назвал эту группу “ледниковыми реликтами”. Большинство таких растений генетически является азиатским элементом. По экологии это растения световые, альпийцы, приспособленные к произрастанию на холодной почве. Под влиянием снеговой линии движущихся ледников альпийцы спускались вниз в долины и межгорные равнины, на территорию уже существующей там лесостепи, где происходило смешение высокогорной альпийской и степной ксерофитной флор. В этих условиях они нашли, вероятно, обстановку, близкую к их родным местообитаниям (свет, физиологическая сухость) и потому смогли выжить. При отступании ледников гляциальные растения, “сниженные альпийцы”, возвращались на свои старые мес-

тообитания, но большая часть их сохранилась и в бывшей перигляциальной зоне.

Чтобы защитить себя от негативного воздействия окружающей среды, растения вырабатывают комплекс антиоксидантных систем [20]. Основные компоненты таких систем – фенольные соединения, в том числе флавоноиды. Вероятно, необычайная устойчивость горца живородящего связана с особенностями его фенольного метаболизма и имеет исторические корни. Однако сведений о содержании фенольных соединений в растениях *V. vivipara* недостаточно, особенно для той части его ареала, которая расположена на территории Сибири.

Цель настоящей работы – определение хроматографическими методами содержания флавоноидов и состава флавоноловых агликонов в отдельных органах растений *V. vivipara*, произрастающих в Сибири.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Материалом для наших исследований послужили сборы растений *V. vivipara* в разные годы (1995–2009) во время экспедиционных поездок по территории Сибири (Республика Алтай, Хакасия, Тыва, Бурятия, Иркутская, Читинская области) и Магаданской области (табл. 1). Растения разделяли на органы, сушили в проветриваемых помещениях и анализировали на содержание флавоноидов. Растения, собранные в Улаганском и Онгудайском районах Республики Алтай в июле 2009 г., исследованы с целью идентификации агликонов флавонолов и определения их содержания.

Для количественного определения суммы флавоноидов и флавонолов использовали хроматоспектрофотометрический метод, основанный на предварительном разделении флавоноидов двумерной хроматографией на бумаге с последующим спектрофотометрированием элюатов, и метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) на жидкостном хроматографе Agilent 1200 (Agilent Technologies, США) [21, 22].

Хроматоспектрофотометрический метод. Точную навеску воздушно-сухого сырья (0,1–0,5 г), измельченного до размера частиц 1 мм, помещали в колбу емкостью 100 мл, заливали 30 мл 40 % этилового спирта и ки-

пятили на водяной бане с обратным холодильником 30 мин. Экстракт фильтровали. Повторную экстракцию проводили 20 мл этилового спирта в течение 15 мин. После фильтрации остаток в колбе и на фильтре промывали 5 мл спирта. Объединенный фильтрат сгущали в фарфоровых чашечках в вытяжном шкафу до 2–3 мл (точный объем). Полученные экстракты исследовали методом хроматографии на бумаге марки Filtrak № 15 в системах растворителей: I направление – изопропиловый спирт – муравьиная кислота – вода (2 : 5 : 5), II направление – н-бутиловый спирт – уксусная кислота – вода (40 : 12 : 28) с последующим спектрофотометрированием элюатов. На один лист хроматографической бумаги наносили 0,10–0,15 мл экстракта в зависимости от навески сырья и количества экстракта. Каждую пробу анализировали в трех повторностях. Элюировали флавонолы 40 % этиловым спиртом порциями по 0,5 мл до получения объема элюата не менее 3 мл. Оптическую плотность элюатов определяли на спектрофотометре СФ-26 при длине волны 360 нм. В качестве контроля использовали 40 % этиловый спирт.

Расчет количества флавоноидов (доли от массы воздушно-сухого сырья, %) проводили по формуле: $X = D \times V_1 \times V_2 \times 100 / M \times V_3 \times 1000$, где D – содержание флавоноида в 1 мл испытуемого раствора, найденное по калибровочному графику, построенному по рутину, мкг; V_1 – объем экстракта, мл; V_2 – объем элюата, мл; V_3 – объем экстракта, нанесенный на хроматограмму, мл; M – масса воздушно-сухого сырья, г.

Для построения калибровочного графика использовали растворы рутин в 40 % этиловом спирте (концентрация 1 мг/мл), которые подвергали хроматографированию и элюции при условиях, описанных выше. Общее содержание флавоноидов образца вычисляли суммированием количества индивидуальных компонентов. Относительная ошибка методики $\pm 1,39$ % [21].

Метод высокоэффективной жидкостной хроматографии. Анализ агликонов, образующихся после кислотного гидролиза соответствующих гликозидов, проводили на аналитической ВЭЖХ-системе, состоящей из жидкостного хроматографа “Agilent 1200” с диодноматричным детектором и системы для

**Содержание флавоноидов в надземных органах растений *Bistorta vivipara* (L.) Delarbre,
доля от массы воздушно-сухого сырья, %**

Место сбора, фаза вегетации	Цветки	Листья
1	2	3
Алтай		
Окр. с. Курай, Курайский хр., выс. 2650 м над ур. м., высокогорно-тундровый пояс, альпийские лужайки вдоль горного ручья; массовое цветение	2,9	4,4
Там же, выс. 2350 м, субальпийский пояс, субальпийский луг; массовое цветение	3,1	4,7
Там же, выс. 2150 м, горно-лесной пояс, верхняя граница лиственничного леса; массовое цветение	2,8	2,3
Там же, выс. 2000 м, горно-лесной пояс, лиственничный лес; массовое цветение	1,6	2,8
Там же, выс. 1750 м, горно-степной пояс, горная степь; массовое цветение	2,8	4,4
Окр. с. Курай, левый берег р. Чуя, в пойме ручья; массовое цветение	1,9	1,9
Окр. с. Уважан, в пойме ручья; массовое цветение	3,2	4,4
Окр. с. Чеган-Узун, сырые луговины; массовое цветение	1,5	1,7
Окр. с. Чеган-Узун, долина р. Чеган-Узун, песчаный берег; конец цветения	0,9	1,1
Окр. с. Мены, разнотравный луг; массовое цветение	2,2	3,7
Окр. пос. Манжерок, лужайки в смешанном лесу; массовое цветение	2,1	2,7
Окр. с. Чемал, в 12 км по дороге на с. Еланда, в пойме ручья; массовое цветение	2,4	4,1
Окр. с. Чемал, в 7 км, злаково-разнотравный луг вдоль дороги; массовое цветение	1,8	3,3
Окр. пос. Ташанта, склон северо-западной экспозиции, лужайки в лиственничном лесу; массовое цветение	3,8	5,0
Окр. с. Кокоря, распадок, склон северо-западной экспозиции, лужайки в лиственничном лесу; массовое цветение	5,6	4,2
Там же, влажный луг в пойме ручья; массовое цветение	1,9	2,1
Русло р. Юстыд, мохово-дриадовая тундра; массовое цветение	2,5	3,7
Хакасия		
Орджоникидзевский район, в 7 км от пос. Приисковый, выс. 1200 м, моховая кустарничковая тундра около водопада; массовое цветение	2,3	4,1
Там же, окр. пос. Приисковый, разнотравный луг по дороге на лесоразработки; массовое цветение	2,6	3,3
Там же, в 5 км от пос. Приисковый, затопляемый берег речки; массовое цветение	2,5	3,7
Там же, в 8 км от пос. Приисковый, берег оз. Ивановское, мохово-кустарниковая тундра; массовое цветение	2,1	2,3
Ширинский район, окр. пос. Туим, в 5 км от подстанции, лиственнично-березовый лес с таволгой; массовое цветение	1,4	2,0
Там же, берег оз. Черное, смешанный лес; массовое цветение	1,2	2,5
Там же, совхоз "Коммунар", сырой луг в долине реки; конец цветения	0,9	2,4
Усть-Абаканский район, окр. г. Абакан, в парковом лесу вдоль обводной дороги; массовое цветение	1,9	4,0
Там же, совхоз "Борец", заливной луг; массовое цветение	1,7	2,3
Таштыпский район, окр. г. Абаза, у ручья вдоль дороги; массовое цветение	2,4	2,3
Боградский район, окр. пос. Сонский, влажный луг по берегу речки; массовое цветение	2,8	1,8
Тыва		
Берег оз. Кара-Холь, вершина сопки, можжевельниковые заросли; массовое цветение	3,3	3,2

1	2	3
Иркутская область		
Маломорское побережье оз. Байкал, между пос. Курма и Сарма, болотистый берег ручья; массовое цветение	2,9	4,6
Там же, в 3 км южнее пос. Сарма, выс. 400 м над ур. м., сухой лапчатковый склон; массовое цветение	1,5	3,0
Окр. с. Хомутово, берег р. Куда; массовое цветение	2,8	3,3
Казачинский район, окр. пос. Ключи, елово-сосновый лес по склону; массовое цветение	2,5	2,1
Бурятия		
Становое нагорье, хр. Верхнеангарский, выс. 1750 м над ур. м., исток р. Левая Мыма, в гольцовом поясе на луговом склоне; массовое цветение	2,9	1,8
Там же, хр. Южно-Муйский, выс. 1250 м над ур. м., р. Инамакит, около наледи на луговом склоне; массовое цветение	3,2	4,1
Там же, хр. Северо-Муйский, р. Девочанды, в лесном поясе на задерненном лесном галечнике; массовое цветение	2,2	4,2
Там же, хр. Северо-Муйский, выс. 1600 м над ур. м., истоки р. Самокут, в подгольцовом поясе у снежника; конец цветения	2,5	0,9
Читинская область		
Становое нагорье, хр. Удокан, выс. 1450 м над ур. м., окр. пос. Наминга, в лесном поясе на лугу с торфянистой почвой; массовое цветение	2,5	3,3
Там же, выс. 1450 м, западный склон к р. Камуты, в лесном поясе, на задерненных площадках среди камней; массовое цветение	4,2	2,3
Там же, выс. 1700 м, пологий юго-восточный склон, верхний левый приток р. Джело, в подгольцовом поясе, осоковое болото среди лиственничных редин; конец цветения	1,2	3,7
Агинский нац. округ, пойма р. Аги, окр. пос. Агинское; массовое цветение	3,5	3,5
Окр. пос. Бельчир, в 30 км к северу, долина р. Блудная; конец цветения	2,8	1,3
Магаданская область		
Окр. г. Магадан, подножие Марчеканской сопки, в русле ручья; конец цветения	1,6	4,2
Бухта Провидения, окр. пос. Урелики на восточном склоне сопки, в русле ручья; массовое цветение	3,6	2,3
Камчатская обл., Командорские о-ва, о. Беринга, пологая вершина сопки; массовое цветение	2,3	4,2
Амурская обл., окр. пос. Экимчан, по берегу горного ручья близ подножия скалы; конец цветения	1,2	1,3
Приморский край, Чугуевский район, г. Облачная, в гольцовом поясе на выс. 1850 м; массовое цветение	5,1	4,2

сбора и обработки хроматографических данных ChemStation. Разделение проводили на колонке Zorbax SB-C18 размером 4,6–150 мм, с диаметром частиц 5 мкм, применив градиентный режим элюирования. В подвижной фазе содержание метанола в водном растворе ортофосфорной кислоты (0,1 %) изменялось от 50 до 52 % за 18 мин. Скорость потока элюента 1 мл/мин. Температура колонки 26 °С. Объем вводимой пробы 5 мкл. Детектирование осуществляли при $\lambda = 370$ нм.

Для приготовления подвижных фаз использовали метиловый спирт (ос. ч.), ортофосфорную кислоту (ос. ч.), бидистиллированную деионизированную воду. Для приготовления стандартных образцов применяли препараты кверцетина и кемпферола производства фирмы “Fluka” и мирицетина фирмы “Sigma”. Стандартные растворы готовили в концентрации 10 мкг/мл в этаноле.

Для извлечения флавоноидов проводили исчерпывающую экстракцию 70 %-м этано-

лом 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 % 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 (%):

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

где C_{cm} – концентрация соответствующего раствора флавонола, мкг/мл; S_1 – площадь пика флавонола в анализируемой пробе, е.о.п.; V_1 – объем элюата после вымывания флавонола 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 [23].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Все органы *B. vivipara* богаты фенольными соединениями, однако одной из основных групп веществ этого комплекса являются флавоноиды. В надземной части растений обнаружены гликозиды кемпферола, кверцетина и мирицетина, антоцианы и метилированные флавонолы [10, 24, 25]. Корневища содержат катехины: *d*-катехин, *l*-катехин, *l*-эпикатехин. Содержание дубильных веществ в корнях составляет 6 %, в корневищах – 8–19 % [26].

По данным М. К. Кукунова [25], содержание флавоноидов в листьях *B. vivipara* составляет 7,45 % (от абсолютно сухой массы), в соцветиях – 15,8 %, в стеблях – 2,9 %. Другие авторы сообщают об обнаружении 2,5–3,5 % флавоноидов в листьях *B. vivipara*, 3,15–5,0 % – в соцветиях, 0,58–2,05 % – в стеблях [27]. Листья содержат 1–2 мг квер-

цетина на 1 г сухой массы в виде глюкозида, рамнозида и рутинозида [28, 29].

Из надземной части *B. vivipara* выделены: 5-О-β-D-глюкозид кверцетина, изорамнетин, 3-О-β-D-глюкопиранозид кверцетина, 3-О-β-D-глюкопиранозид кемпферола, 7-О-β-D-рутинозид 5-гидрокси-4'-метоксифлавона, 5,8,2'-тригидрокси-5-метоксифлаванон, кверцетин-3-О-2-L-рамнетин, 3-О-β-D-ксилопиранозид 5,4'-диметокси-6,7-метилendioксифлавона (вивипарум А), 3-О-β-D-ксилопиранозид 3'-гидрокси-5,4'-диметокси-6,7-метилendioксифлавона (вивипарум В), 7-О-β-D-глюкопиранозид апигенина [30–33].

Из надземных органов *B. vivipara* выделены кофейная, хлорогеновая, феруловая и галловая кислоты [31, 34]. В составе летучих масел *Polygonum viviparum* содержатся терпеновые соединения (20,84 %), эфиры (9,43 %), гетероциклические соединения, альдегиды, алканы [35].

Растения *B. vivipara* с успехом используются в традиционной китайской медицине. Установлено, что они проявляют антидицентерийную и противораковую активность [30]. Экстракт из листьев обладает мощным антиоксидантным эффектом [20].

Так как фенольные соединения оказывают влияние на синтез жирных кислот в организме, растения *B. vivipara* можно использовать как продуцент кверцетина, снижающего уровень липидов в плазме крови [29]. Настой из растений *B. vivipara*, обладающий дубящими свойствами, используют при диарее и резах в животе. Отвар из корневищ применяют как желудочное средство, а также при простудных заболеваниях, болезнях мочеполовых путей. Порошок сухих корневищ и надземной части обладает кровоостанавливающим действием. Листья используют как желудочное средство [26].

Несмотря на уникальные лечебные свойства *B. vivipara*, степень изученности его незначительна, сведений о химическом составе и содержании в растениях этого вида веществ, которые ответственны за эти свойства, явно недостаточно.

По нашим данным, растения змеевика живородящего способны накапливать значительные количества флавоноидов – более 5,0 %, при этом диапазон изменчивости их содержания в период массового цветения расте-

ний из регионов Сибири составляет 1,2–5,6 % от массы воздушно-сухого сырья (в цветках), 1,7–5,0 % (в листьях). В конце цветения диапазон изменчивости содержания составляет 0,9–2,8 % (в репродуктивных органах) и 0,9–4,2 % (в листьях). В период массового цветения отмечается пик накопления веществ, к концу цветения происходит спад (см. табл. 1). Следует отметить, что в большинстве образцов содержание флавоноидов в листьях больше, чем в репродуктивных органах. В таране альпийском, изученном нами ранее, всегда в цветках содержалось флавоноидов больше, чем в листьях.

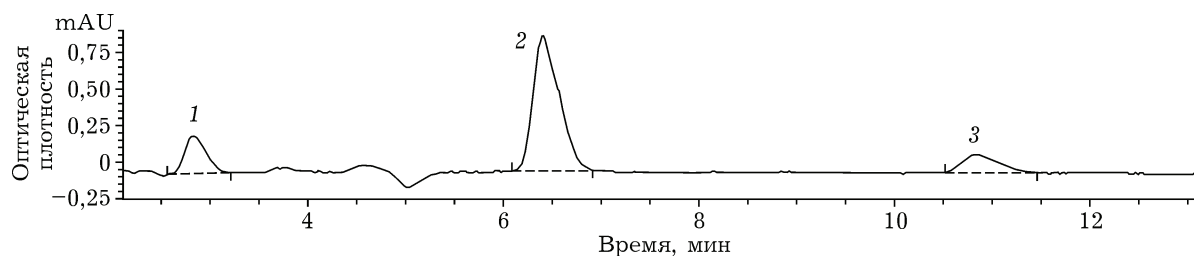
На Курайском хребте Горного Алтая верхний предел распространения *B. vivipara* находится в высокогорно-тундровом поясе на высоте 2650 м над ур. м., где он произрастает по каменистому берегу холодного горного ручья. Почва здесь прогревается слабо, влажность почвы высокая. Суточная амплитуда колебания температур летом в пределах 12–20 °С [36]. Однако в таких жестких условиях существования (альпийские лужайки вдоль ручья) растения содержат большое количество флавоноидов – 2,9 % в цветках и 4,4 % в листьях. Низкая температура воздуха и почвы высокогорно-тундрового пояса Курайского хребта, вероятно, не противодействует биосинтезу флавоноидов *B. vivipara*, и ведущим фактором в этом процессе является высота местности над уровнем моря.

На субальпийском лугу Курайского хребта (высота 2350 м) условия произрастания для *B. vivipara* исключительно благоприятны. Почвы здесь более мощные, чем в районах каменистой тундры. Микроклиматические условия в области альпийских луговых ценозов Курайского хребта более мягкие по сравнению с каменистой тундрой [36]. Однако вегетационный период длится недолго. В этих условиях происходит некоторое увеличение содержания флавоноидов – до 3,1 % в цветках и 4,7 % в листьях. Растения горно-лесного пояса (высота 2000 м), произрастающие в затененных местообитаниях под пологом леса, снижают синтез флавоноидов почти вдвое (в листьях). Открытые местообитания горно-степного пояса (высота 1750 м) характеризуются также высоким содержанием веществ (4,4 % – в листьях, 2,8 % – в цвет-

ках). В результате анализа данных, представленных в табл. 1, становится очевидным, что большинство проанализированных нами растений *B. vivipara*, произрастающих в условиях повышенной инсоляции на значительной высоте над ур. м., накапливает большое количество флавоноидов, и даже условия избыточного увлажнения не препятствуют этому. Ранее было показано, что с увеличением высоты произрастания содержание антиоксидантов в листьях *B. vivipara* увеличивается [20]. В недавних исследованиях *B. officinalis* нами также отмечен факт зависимости накопления флавоноидов от высоты местности над ур. м., что, по нашему мнению, косвенно подтверждает защитную функцию этих веществ [37]. Вполне вероятно, что флавоноидные пигменты играют роль фильтров, защищая ткани растений от вредного влияния ультрафиолетовых лучей, и количество их в растениях связано с освещенностью места произрастания [7]. Степень повреждающего действия ультрафиолетового облучения зависит от уровня накопления в них антоцианов, флавоноидов и других соединений фенольной природы, а также от индукции их образования [38, 39]. Установлено, что флавоноиды и антоцианы накапливаются преимущественно в эпидермальном слое растительной ткани, который таким образом защищает растения от действия ультрафиолета [6]. Адаптация растений к ультрафиолетовому излучению происходит за счет экранирующих соединений, аккумулированных в эпидермальных клетках.

Практически во всех образцах *B. vivipara* присутствуют антоцианы – производные цианидина, дельфинидина, придающие розовую окраску лепесткам цветков [40]. Наличие их является также экологически важным фактором, способствующим устойчивости растений в стрессовых условиях повышенной влажности и пониженных температур [10].

Одной из ведущих групп флавоноидного комплекса *B. vivipara* являются флавонолы. Исследование состава флавоноловых агликонов после гидролиза водно-спиртовых экстрактов из надземной части *B. vivipara* показало, что в гидролизатах содержится три агликона. Сопоставление времен удерживания сигналов веществ на хроматограммах



Хроматограмма гидролизата экстракта цветков *Bistorta vivipara* (L.) Delarbre (Онгудайский район, с. Кулада, выс. 1943 м над ур. м., злаково-разнотравный луг; массовое цветение): 1 – мирицетин ($t_R = 2,8$ мин), 2 – кверцетин ($t_R = 6,6$ мин); 3 – кемпферол ($t_R = 11,1$ мин)

анализируемых образцов со временами удерживания сигналов стандартных образцов и спектрами позволило идентифицировать мирицетин, кверцетин и кемпферол. На рисунке представлена хроматограмма образца из Онгудайского района Республики Алтай (окр. с. Кулада, выс. 1943 м над ур. м., злаково-разнотравный луг; массовое цветение).

Максимальное количество кверцетина обнаружено в цветках *B. vivipara*, собранных близ с. Большой Яломан (Онгудайский район) в луговых сообществах вдоль дороги (7,4 %), а также в цветках и листьях растений из окрестностей с. Кулада этого же района, произрастающих на высоте 1943 м над ур. м. (5,8 и 6,8 %). Максимальное количество кемпферола – в образцах листьев растений из Улаганского района (1,5 %). В листьях *B. vivipara* из окрестностей с. Большой Яломан, а

также в луковичках всех трех образцов обнаружено минимальное содержание кемпферола (следовые количества). Количество мирицетина не определяли (табл. 2).

Так как основным флавоноловым агликоном *B. vivipara* является кверцетин, а гликозиды кемпферола и мирицетина содержатся в незначительном количестве, растения змеевика живородящего могут быть использованы как продуцент гликозидов кверцетина, источник противовоспалительных, капилляроукрепляющих, желчегонных, противоопухолевых, иммуномодулирующих и иных лечебных средств [9]. 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 [9, 41].

Т а б л и ц а 2

Содержание агликонов флавонолов в надземных органах *Bistorta vivipara* (L.) Delarbre из районов Республики Алтай, доля от массы воздушно-сухого сырья, %

Район и место сбора образца	Кверцетин			Кемпферол		
	$\lambda = 258, 370$ нм			$\lambda = 257, 373$ нм		
	Листья	Цветки	Бульбочки	Листья	Цветки	Бульбочки
Улаганский район, с. Улаган, долина реки Башкаус, выс. 1368 м над ур. м., злаково-разнотравный луг; массовое цветение	3,5	1,5	0,6	0,5	0,4	Следовые количества
Онгудайский район, с. Большой Яломан, разнотравный луг, вдоль дороги; массовое цветение	1,7	7,4	1,8	Следовые количества	0,5	То же
Онгудайский район, с. Кулада, выс. 1943 м над ур. м., злаково-разнотравный луг; массовое цветение	6,8	5,8	0,6	0,5	0,7	»

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Растения змеевика живородящего *B. vivipara* накапливают значительные количества – более 5,0 % – флавоноидов, при этом диапазон изменчивости их содержания в период массового цветения растений из регионов Сибири составляет 1,2–5,6 % от массы воздушно-сухого сырья (в цветках), 1,7–5,0 % (в листьях). Содержание веществ в конце цветения снижается, и диапазон изменчивости составляет 0,9–2,8 % (в цветках) и 0,9–4,2 % (в листьях). В период массового цветения отмечается пик накопления веществ, к концу цветения происходит спад. Следует отметить, что чаще всего в листьях флавоноидов больше, чем в репродуктивных органах.

Большинство проанализированных нами растений *B. vivipara*, произрастающих в условиях повышенной инсоляции, накапливает большое количество флавоноидов, и даже условия избыточного увлажнения, низкая температура воздуха и почвы высокогорно-тундрового пояса, вероятно, не противодействуют их биосинтезу. В растениях затененных местообитаний, произрастающих под пологом леса, флавоноидов меньше. Вполне вероятно, что эти пигменты играют роль фильтров, защищая ткани растений от вредного влияния ультрафиолетовых лучей, и высота местности над уровнем моря является одним из ведущих экологических факторов. Адаптация растений к ультрафиолетовому излучению происходит за счет экранирующих соединений, аккумулированных в эпидермальных клетках.

В гидролизатах водно-спиртовых экстрактов органов надземной части *B. vivipara* впервые методами ВЭЖХ обнаружены три агликона, которые идентифицированы как флавонолы мирисетин, кверцетин и кемпферол. Основным флавоноловым агликоном змеевика живородящего является кверцетин (до 5,8 % в цветках, 6,8 % в листьях).

ЛИТЕРАТУРА

1. Запрометов М. Н. Основы биохимии фенольных соединений. М.: Высш. школа, 1974. 214 с.
2. Биохимия фенольных соединений / под ред. Дж. Харборна. М.: Мир, 1968. 452 с.
3. The flavonoids / by eds. J. V. Harborne, T. J. Mabry, H. Mabry. L.: Chapman & Hall, 1975. 1204 с.
4. Фрайкин Г. Я. Некоторые проблемы современной ультрафиолетовой фотобиологии // Физиология растений. 1987. Т. 34, вып. 4. С. 712 – 719.
5. Ауэрбах Ш. Проблемы мутагенеза. М.: Мир, 1978. 461 с.
6. Tevini M., Iwanzik N., Thoma U. Some effects of enhanced UV-B irradiation on the growth and composition of plants // Planta. 1981. Vol. 153. P. 388–394.
7. Запрометов М. Н. Фенольные соединения: распространение, метаболизм и функции в растениях. М.: Наука, 1993. 272 с.
8. Wiermann R. “Yellow Flavonols” as Components of Pollen Pigmentation // Z. Naturforsch. 1981. Bd. 36. S. 204–206.
9. Максютин Н. П., Комисаренко Н. Ф., Прокопенко А. П., Погодина Л. И., Липкан Г. Н. Растительные лекарственные средства. Киев: Здоровье, 1985. 280 с.
10. Высочина Г. И. Фенольные соединения в систематике и филологии семейства гречишных. Новосибирск: Наука. Сиб. отд-ние, 2004. 238 с.
11. Определитель растений Новосибирской области / под ред. И. М. Красноборова. Новосибирск: Наука. Сиб. отд-ние, 2000. 491 с.
12. Черепанов С. К. Сосудистые растения России и сопредельных государств (в пределах бывшего СССР). СПб.: Мир и семья, 1995. 990 с.
13. Цвелев Н. Н. Заметки о Polygonaceae во флоре Дальнего Востока // Нов. сист. высш. раст. 1987. Т. 29. С. 72–79.
14. Комаров В. Л. Сем. Гречишные – Polygonaceae Juss. // Флора СССР. М.; Л., 1936. Т. 5. С. 442–704.
15. Тупицына Н. Н., Кашина Л. И. Сем. 52. Polygonaceae – Гречишные // Флора Сибири. Новосибирск, 1992. Т. 5. С. 87–135.
16. Малышев Л. И., Пешкова Г. А. Семейство Polygonaceae – Гречишные // Флора Центральной Сибири. Новосибирск, 1979. Т. 1. С. 276–292.
17. Петровский В. В. Род *Polygonum* L. // Арктическая флора СССР. М.; Л., 1966. Вып. 5. С. 163–179.
18. Лавренко Е. М. История флоры и растительности СССР по данным современного распределения растений // Растительность СССР. М.; Л., 1938. Т. 1. С. 235–295.
19. Ревертато В. В. Ледниковые реликты во флоре Хакасских степей // Тр. ТГУ. 1934. Т. 86. 240 с.
20. Wang Y., He W., Huang H., An L., Wang D., Zhang F. Antioxidative responses to different altitudes in leaves of alpine plant *Polygonum viviparum* in summer // Acta Physiol. Plant. 2009. Vol. 31, N 4. P. 839–848.
21. Высочина Г. И., Кульпина Т. Г., Березовская Т. П. Содержание флавоноидов в некоторых видах *Polygonum* L. секции *Persicaria* (Mill.) DC. флоры Сибири // Раст. ресурсы. 1987. Т. 23, № 2. С. 229–234.
22. Beek T. A. Chemical analysis of *Ginkgo biloba* leaves and extracts // J. of Chromatography A. 2002. N 967. P. 21–35.
23. 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.
24. Соболевская К. А., Высочина Г. И. К изучению флавоноидов у алтайских представителей рода *Polygonum* L. // Там же. 1965. Т. 1, № 3. С. 367–369.

25. Кукунов М. К. Флавоноидсодержащие растения Юго-Востока Казахстана. Алма-Ата: Наука. Казах. ССР, 1984. 215 с.
26. Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование. Семейства Magnoliaceae – Limoniaceae. Л.: Наука. Ленингр. отделение, 1985. 460 с.
27. Курбатова Н. В., Музыкакина Р. А. Распределение флавоноидов по органам некоторых растений из семейства Polygonaceae Juss. (род *Polygonum* L.) // Мат-лы VII Междунар. симп. по фенольным соединениям: фундаментальные и прикладные аспекты. М.: Ин-т физиологии растений им. К. А. Тимирязева РАН, 2009. С. 135–136.
28. Hansel R., Horhammer L. Phytochemisch-systematische Untersuchung über die Flavonglycoside einiger Polygonaceen // Arch. Pharm. 1954. Bd 287/59, H. 4. S. 189–198.
29. Odbayar T.-O., Badamhand D., Kimura T., Takahashi Y., Tsushida T., Ide T. Comparative studies of some phenolic compounds (quercetin, rutin, and ferulic acid) affecting heparic acid fatty synthesis in mice // J. Agricult. Food Chem. 2006. Vol. 54, N 21. P. 8261–8265.
30. Zheng S., Li K., Wang J., Shen T., Shen X. Two new flavone glycosides from *Polygonum viviparum* L. // Indian J. Chem., B. 2001. Vol. 40, N 2. P. 167–169.
31. Que S., Zheng S.-Z., Ma X.-M., Shen X.-W. Studies on the chemical constituents of *Polygonum viviparum* L. // Xibei Shifan Daxue Xuebao, Ziran kexueban. 2003. Vol. 39, N 4. P. 51–53.
32. Zhang C., Li Y., Hu F. Chemical constituents in fruits of *Polygonum viviparum* // Xibei Zhiwu Xuebao. 2005. Vol. 25, N 2. P. 386–387 (Chin.).
33. Растительные ресурсы России: дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность. Т. 1. Семейства Magnoliaceae–Juglandaceae, Ulmaceae, Moraceae, Cannabaceae, Urticaceae. СПб.-М.: КМК, 2008. 419 с.
34. Horhammer L., Scherm A. Über das vorkommen zyklischer Pflanzensäuren bei einigen Polygonaceen und Betulaceen // Arch. Pharm. 1955. Bd 288/60, N 10. S. 441–447.
35. Li K.-L., Shen X.-W., Zheng S.-Z., Lu J.-S. Studies on the volatile constituents of *Polygonum viviparum* L. // Xibei Shifan Daxue Xuebao, Ziran Kexueban. 1999. Vol. 35, N 3. P. 65–67 (Chin.).
36. Днепровский Ю. М. Экологическая физиология горных растений Юго-Восточного Алтая (в связи с интродукцией): автореф. дис. ... канд. биол. наук. Новосибирск, 1967. 29 с.
37. Васильева М. С., Высочина Г. И. Хроматографическое исследование содержания и состава флавоноидов змеевика лекарственного *B. officinalis* Delarbre, произрастающего в Сибири // Раст. мир Азиатской России. 2010. № 1(5). С. 87–94.
38. Харборн Дж. Введение в экологическую биохимию. М.: Мир, 1985. 311 с.
39. Hashimoto T., Shichijo C., Yatsushashi H. Ultravioletaction spectra for the induction and inhibition of anthocyanin synthesis in broom sorghum seedlings // Photochem. Photobiol. B. 1991. Vol. 11, N 4. P. 353–363.
40. Yoshitama K., Hisada M., Ishikura N. Distribution pattern of anthocyanins in the Polygonaceae // Bot. Mag. Tokyo. 1987. Vol. 97. P. 31–38.
41. Барабой В. А. Биологическое действие растительных фенольных соединений. Киев: Наук. думка, 1976. 260 с.

On Flavonoids of *Bistorta vivipara* (L.) Delarbre in Relation to their Ecological Role

G. I. VYSOCHINA, M. S. VORONKOVA

Central Siberian Botanical Garden SB RAS
630090, Novosibirsk, Zolotodolinskaya str., 101
E-mail: vysochina_galina@mail.ru

Results of the studies of the flavonoid content and structure of *Bistorta vivipara* (L.) Delarbre from the natural habitats of Siberia are discussed. The plants growing under the conditions of enhanced insolation at the altitude of 1500 m above the sea level and higher accumulate a significant amount of flavonoids, even the conditions of superfluous humidity, low temperature of air and soil in a high-mountain tundra zone do not counteract their biosynthesis. The flavonoid content in the plants of shaded habitats is lower. It is quite probable that these pigments play a role of filters protecting plant tissues from the unwholesome influence of ultraviolet radiation, and the altitude of locality above the sea level is one of the leading ecological factors. Adaptation of plants to the UV radiation occurs due to the shielding compounds of the epidermal cells. Flavonol aglycones in the plants collected at the territory of the Altay were studied for the first time by means of HPLC. Three aglycons have been detected: myricetin, quercetin and kaempferol. The major aglycone of *B. vivipara* is quercetin (to 5,8 % in flowers, 6,8 % in leaves).

Key words: *Bistorta vivipara* (L.) Delarbre, insolation, flavonoids, flavonols, myricetin, quercetin, kaempferol, Siberia