

УДК 582.998:581.192

ЗАВИСИМОСТЬ СОСТАВА ФЛАВАНОИДНОГО КОМПЛЕКСА *HELICHRYSUM ARENARIUM* (L.) Moench ОТ УСЛОВИЙ ПРОИЗРАСТАНИЯ В САРАТОВСКОЙ ОБЛАСТИ

Н.В. Машурчак¹, А.С. Кашин¹, В.В. Игнатов²

¹ Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского
Россия, 410012, Саратов, Астраханская, 83

E-mail: kashinas@sgu.ru

² Институт биохимии, физиологии растений и микроорганизмов РАН
Россия, 410049, Саратов, просп. Энтузиастов, 13

Поступила в редакцию 10.10.08 г.

Зависимость состава флаваноида комплекса *Helichrysum arenarium* (L.) Moench от условий произрастания в Саратовской области. – Машурчак Н.В., Кашин А.С., Игнатов В.В. – Изучен качественный и количественный состав флаваноида комплекса у растений 28 естественных популяций *Helichrysum arenarium* (L.) Moench из 17 районов Саратовской области. Показано, что при отсутствии различий в качественном составе основных компонентов флаваноида комплекса в растениях из различных районов области наблюдаются различия по числу флаваноидов, присутствующих в следовых количествах. Однако строгой зональной приуроченности этой изменчивости не обнаружено. Максимальная концентрация нарингенина наблюдалась в популяциях из центральных и западных районов Правобережья. В северном и южном направлении в Правобережье концентрация нарингенина снижалась. Но особенно низкая концентрация нарингенина была у растений в Левобережье, достигая минимума на крайнем востоке области. В пределах области в направлении с севера на юг содержание нарингенина в растениях, обитающих в степном биотопе, возрастало с большей интенсивностью, чем у растений биотопа остепнённого соснового бора.

Ключевые слова: *Helichrysum arenarium*, флаваноиды, популяция, изменчивость, Саратовская область.

Dependence of the composition of the flavonoid complex *Helichrysum arenarium* (L.) Moench on the vegetation conditions in the Saratov region. – Mashurchak N.V., Kashin A.S., and Ignatov V.V. – The qualitative and quantitative composition of the flavonoid complex in plants of 28 natural populations of *Helichrysum arenarium* (L.) Moench from 17 districts of the Saratov region was studied. Distinctions in the number of flavonoids presented in trace quantities are observed in plants from various districts of the region in the absence of distinctions in the qualitative composition of the basic components of the flavonoid complex. However, no strict zonal distribution of this variability has been revealed. The maximum concentration of naringenin was observed in the populations from the central and western districts of the right-Volga-bank region. In the northern and southern directions in the right-Volga-bank region the concentration of naringenin was reduced. But an especially low concentration of naringenin was detected in plants from the Trans-Volga region, reaching a minimum in the extreme east. Within the region in the direction from north to south the content of naringenin in plants from the steppe biotop increased with a higher intensity than in plants from the biotop of a steppe pine forest.

Key words: *Helichrysum arenarium*, flavonoids, population, variability, Saratov region.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время в медицинской практике, прежде всего, из-за роста токсико-аллергических заболеваний и лекарственной резистентности вследствие применения синтетических препаратов всё более популярными становятся лекарственные

ЗАВИСИМОСТЬ СОСТАВА ФЛАВАНОИДНОГО КОМПЛЕКСА

средства растительного происхождения. Среди действующих веществ растительного происхождения выделяются флавоноиды – биологически активные вещества, обладающие широким спектром фармакологического (желчегонного и гепатопротекторного) действия, (Запрометов, 1974). Одним из перспективных источников флавоноидов является лекарственное растительное средство – цветки бессмертника песчаного (*Helichrysum arenarium* (L.) Moench) из семейства Asteraceae. Основные из них – нарингенин, его 5-О-глюкозид (салипурпозид) и 7-О-глюкозид (прунин). Среди доминирующих флавоноидов этого растения известен ещё и халкон изосалипурпозид. В растениях *H. arenarium* содержится также ряд сопутствующих веществ, включая полисахариды, кумарины, коричные кислоты и др. (Куркина, 2007).

H. arenarium – многолетнее травянистое растение, широко распространенное в степных районах европейской части России и стран СНГ, хотя Саратовская область считается находящейся вне его ценоареала (районов массового распространения). Однако основные запасы сырья данного вида растений после распада СССР остались за пределами России: Украина и Белоруссия (Атлас..., 1983). В связи с недостатком сырья этого растения возникла острая необходимость поиска новых районов, пригодных для организации его заготовок, и отбора растений, наиболее продуктивных в отношении количества и качества действующих веществ, для введения в культуру. Вообще в ассортименте лекарственных средств гепатопротекторного, желчегонного, антиоксидантного, антирадиационного, иммуномодулирующего и адаптогенного спектров действия, представленных на фармацевтическом рынке Российской Федерации, сложилась неблагоприятная ситуация, заключающаяся в доминировании зарубежных препаратов. В связи с этим представляется целесообразным расширение ассортимента отечественных препаратов указанного спектра действия (Куркина, 2007), что делает необходимыми систематизацию и углубленное изучение химического состава лекарственного растительного сырья. Кроме того, необходимо развивать концепцию определения ведущей группы биологически активных соединений в отношении соединений флавоноидной природы для решения на современном уровне проблем разработки технологических способов выделения целевых групп веществ и методов объективного контроля качества сырья и препаратов.

Целью данной работы является выявление закономерностей изменчивости качественного и количественного состава флавоноидного комплекса *H. arenarium* от условий произрастания на территории Саратовской области.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Для исследования использовали растения *H. arenarium*, взятые из 28 естественных популяций 17 районов Саратовской области (таблица). Сбор растений проводили в период массового цветения данного вида с 23 июня по 1 августа 2008 года. В каждой популяции случайным образом производили выборку 30 растений зрелого возрастного состояния (G_2). Растения разделяли на 3 фракции: соцветия, листостебельный побег и корни. Каждую фракцию измельчали и помещали в 95%-ный этиловый спирт.

Общее число флавоноидов в исследуемых экстрактах *Helichrysum arenarium*

Район исследования	Популяция	Количество зон адсорбции		
		соцветия	побег	корни
Саратовское Правобережье				
Аткарский	Сосновый бор	13	8	6
	Степной биотоп	13	11	5
Балашовский	Сосновый бор	13	6	4
Базарно-Карабулакский	То же	12	7	3
	Степной биотоп	12	8	3
Воскресенский	Сосновый бор	10	7	3
Калининский	Степной биотоп	10	7	5
	Сосновый бор	10	7	5
Красноармейский	Степной биотоп	10	7	3
Лысогорский	То же	10	7	3
	Сосновый бор	10	8	3
Петровский	То же	10	7	5
	Степной биотоп	10	7	5
Ртищевский	То же	14	8	6
Саратовский	«	10	7	3
Татищевский	«	13	8	4
Хвалынский	«	10	7	5
	«	10	7	5
	«	10	7	5
	«	10	8	5
Саратовское Заволжье				
Балаковский	Сосновый бор	12	7	3
Краснокутский	То же	10	7	5
	Степной биотоп	13	7	5
Марковский	То же	13	10	5
	Сосновый бор	10	7	5
	Степной биотоп	10	7	5
Озинский	То же	13	8	6
Энгельский	Сосновый бор	11	7	4

Экстракты для исследования готовили по следующей методике (Запрометов, 1974; Ладыгина, 1983): 10 г сырья заливали 25 мл 95%-ного этилового спирта. Кипятили на водяной бане 10 мин. После кипячения спирт сливали, а остаток растительного материала растирали в ступке, многократно промывали 95% этиловым спиртом и фильтровали. Полученный в результате экстракт доводили до объема 100 мл. После чего спирт выпаривали насухо на водяной бане. Для предотвращения окисления флавоноидов в процессе упаривания к спиртовым экстрактам добавляли 0.01 г аскорбиновой кислоты. Сухой остаток заливали 10 мл горячей воды. К полученному охлажденному экстракту добавляли 5 мл хлороформа, энергично встряхивали и оставляли в плотно закупоренной посуде на 5 – 10 ч (для удаления хлорофилла, эфирных масел и дубильных веществ). После удаления хлороформного слоя операцию повторяли. Далее все манипуляции проводили с водным экстрактом. Для анализа экстрактов использовали метод ТСХ (Запрометов, 1974; Кирхнер, 1981; Шилина, 2004) и УФ-спектрофотометрию (Запрометов, 1974; Копнин, 2007). Хроматографию в тонком слое сорбента проводили на пластинах

ЗАВИСИМОСТЬ СОСТАВА ФЛАВАНОИДНОГО КОМПЛЕКСА

«Sorbfil» ПТСХ-АФ-В-УФ. В качестве подвижной фазы использовали следующие системы растворителей: а) для выделения нарингенина и последующего спектрофотометрического анализа – бутанол : уксусная кислота (2 : 3) (элюент подобран экспериментальным путем); б) для определения качественного состава флаваноидного комплекса – этилацетат : уксусная кислота : вода (5 : 1 : 1) (Шилина, 2004). УФ-спектрофотометрию проводили на спектрофотометре «Specord-40».

Детектирование зон адсорбции осуществляли в видимом свете, УФ-свете при длине волны 254 нм, а также с использованием качественных реакций на флавоноиды: взаимодействие с парами аммиака и взаимодействие с гидроксидом натрия (Запрометов, 1974; Ладыгина, 1983). Для определения концентрации нарингенина по калибровочной кривой измеряли его оптическую плотность при длине волны 292 нм.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В исследованиях с использованием в качестве подвижной фазы раствора этилацетат : уксусная кислота : вода – 5 : 1 : 1 в соцветиях обнаружено от 10 до 14 зон адсорбции, в побегах – от 7 до 11 зон адсорбции, а в корнях – от 3 до 6 зон (см. таблицу). Однако существенных различий в качественном составе основных компонентов флаваноидного комплекса в растениях из различных районов области не выявлено. Выявленные качественные различия обусловлены исключительно наличием или отсутствием в исследуемых экстрактах флавоноидов, обнаруженных в следовых количествах.

При этом наибольшее число флавоноидов обнаружено в экстракте из соцветий растений популяции степного участка из Ртищевского района (14 зон адсорбции). Также достаточно высоким был этот показатель у растений популяций степного участка из Татищевского и Аткарского районов и популяций соснового бора из Аткарского и Балашовского районов (13 зон адсорбции), т. е. из районов с умеренным климатом (западная и центральная часть Правобережья Саратовской области). Однако такое же количество зон адсорбции обнаружено и в экстрактах соцветий растений из популяций более аридных левобережных районов (степные участки Краснотутского, Озинского и Марковского районов).

В результате ТСХ анализа с использованием элюента бутанол : уксусная кислота (2 : 3) обнаружено: в соцветиях и побегах по 6 зон адсорбции, а в корнях – 2 зоны адсорбции. Идентификация нарингенина осуществлена по стандарту. По данным, полученным в ходе спектрофотометрического анализа, спектр поглощения нарин-

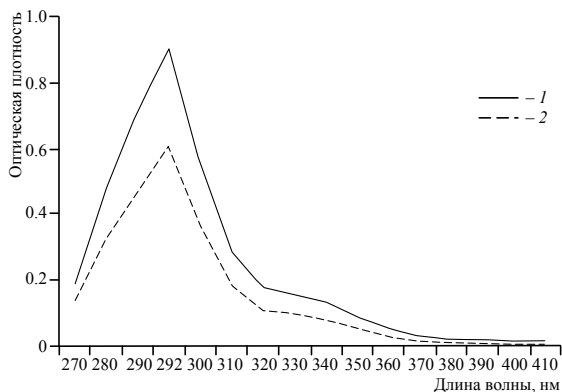


Рис. 2. Спектр поглощения стандарта нарингенина (1), извлечения из цветков цмина (2)

генина из экспериментальных экстрактов совпадал с таковым у стандартного образца (рис. 2, 3). Кроме того, по данным о величине R_f и цвету зон адсорбции при аналогичных условиях ТСХ анализа (Даргаева, 1994; Шилина, 2004; Куркина,

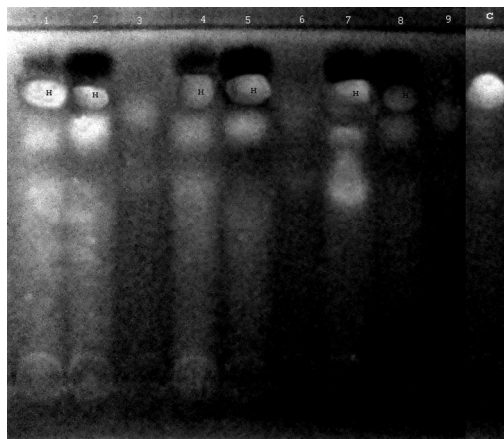


Рис. 3. Хроматограмма (в системе растворителей бутанол : ледяная уксусная кислота 2:3) экстрактов растений популяций степного участка Калининского района (1 – 3), остепненного соснового бора Калининского района (4 – 6), степного участка Лысогорского района (7 – 9). Фракции: 1, 4, 7 – соцветия; 2, 5, 8 – побег; 3, 6, 9 – корни. С – хроматограмма стандарта нарингенина. Н – зона адсорбции нарингенина

ценопопуляций степного биотопа Калининского района (45.57 ± 4.22 мг/10 мл), биотопа остепненного соснового бора Балашовского района (44.80 ± 0.26 мг/10 мл), степного биотопа Татищевского района (43.78 ± 1.66 мг/10 мл) и биотопа остепненного соснового бора Лысогорского района (41.09 ± 0.26 мг/10 мл). Средняя по величине, но близкая к вышеперечисленным концентрация нарингенина наблюдалась в экстрактах растений степного биотопа Аткарского района (38.78 ± 0.68 мг/10 мл) и биотопа остепненного соснового бора Калининского района (35.84 ± 3.20 мг/10 мл). Все вышеперечисленные районы расположены в центральной и западной части саратовского Правобережья (см. рис. 1).

Вторую группу ценопопуляций со средним уровнем концентрации нарингенина в растительных экстрактах составили ценопопуляции обоих типов биотопов Базарно-Карабулакского ($30.21 - 31.25$ мг/10 мл) и Петровского ($30.08 - 28.67$ мг/10 мл), ценопопуляции биотопа остепненного соснового бора Аткарского (31.36 ± 3.46 мг/10 мл), Воскресенского (31.36 ± 0.03 мг/10 мл), Балаковского (29.18 ± 1.66 мг/10 мл) районов, а также трёх из четырёх исследованных ценопопуляций степного биотопа Хвалынского района ($29.70 - 31.25$ мг/10 мл) и ценопопуляция степного биотопа Краснокутского района (29.18 ± 0.68 мг/10 мл). Все указанные в данной группе районы, в которых находятся исследованные ценопопуляции, расположены в север-

2007) идентифицированы рутин ($R_f = 0.29$), гиперозид ($R_f = 0.39$), лютеолин-7-гликозид ($R_f = 0.42$) и нарингенин-5-гликозид ($R_f = 0.53$).

Как следует из рис. 4, 5, максимальной концентрации нарингенин достигал в соцветиях (от 6.02 ± 0.51 до 55.42 ± 1.66 мг/ 10 мл экстракта). В побегах концентрация нарингенина была в среднем в два раза ниже, чем в соцветиях (от 2.94 ± 0.51 до 27.78 ± 0.26 мг/ 10 мл экстракта). Минимальная концентрация нарингенина наблюдалась в корнях (до 0.0001 мг/ 10 мл экстракта), а в большинстве экстрактов из корней растений нарингенин отсутствовал.

Максимальная достоверно отличная от всех концентрация нарингенина наблюдалась в экстрактах растений ценопопуляции степного биотопа Лысогорского района (55.42 ± 1.66 мг/10 мл), несколько ниже она была в экстрактах растений

ЗАВИСИМОСТЬ СОСТАВА ФЛАВАНОИДНОГО КОМПЛЕКСА

ной и северо-западной частях Приволжской возвышенности (Правобережье области). Исключения составляют лишь ценопопуляции Балаковского и Краснокутского районов, расположенные на северо-западе и юго-западе Левобережья.

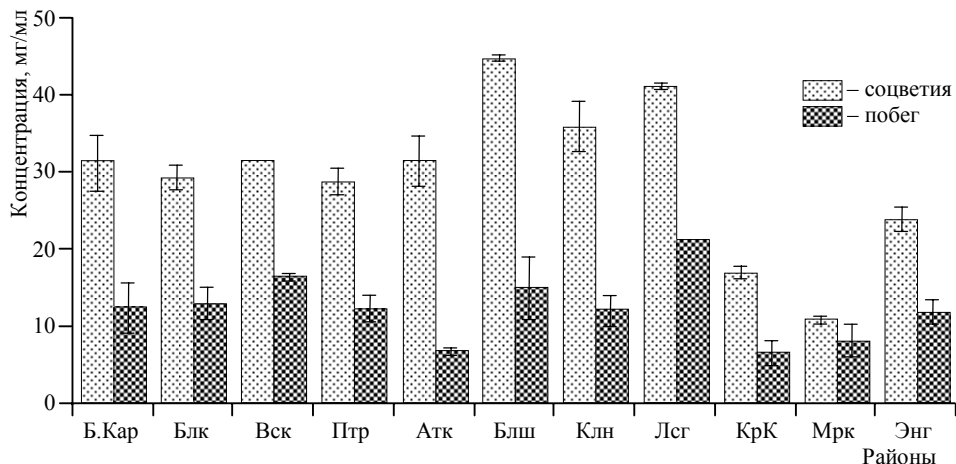


Рис. 4. Концентрация нарингенина в экстрактах растений *Helichrysum arenarium* из ценопопуляций биотопа остепненного соснового бора. Районы: Б.Кар – Базарно-Карабулакский, Блк – Балаковский, Вск – Воскресенский, Птр – Петровский, Атк – Аткарский, Блш – Балашовский, Клн – Калининский, Лсг – Лысогорский, КрК – Краснокутский, Мрк – Марковский, Энг – Энгельский

Третью группу ценопопуляций с концентрацией нарингенина в экстрактах растений на уровне 15.00 – 25.00 мг/10 мл составляют ценопопуляции биотопа остепнённого соснового бора Энгельского (23.68 ± 1.66 мг/10 мл) и Краснокутского (16.90 ± 0.68 мг/10 мл) районов, степных биотопов Красноармейского (25.60 ± 2.05 мг/10 мл), Ртищевского (23.81 ± 0.93 мг/10 мл), Саратовского (19.84 ± 1.66 мг/10 мл), Марковского ($16.90 - 19.84$ мг/10 мл) районов. Все эти районы расположены на крайнем северо-западе, крайнем юге и востоке Правобережья Саратовской области, либо на крайнем западе и юго-западе Левобережья.

Четвёртую группу ценопопуляций с низкой концентрацией нарингенина в экстрактах растений составляют ценопопуляции биотопа остепнённого соснового бора Марковского (10.75 ± 0.42 мг/10 мл) района, одного из степных биотопов Хвалынского района (11.78 ± 0.42 мг/10 мл). Особенно низкая концентрация нарингенина отмечена в ценопопуляции степного биотопа Озинского района (6.02 ± 0.51 мг/10 мл). Указанные районы находятся на северо-западе Правобережья, а также на юго-западе и крайнем востоке Левобережья области.

Из вышеизложенного очевидно, что максимальная концентрация нарингенина наблюдалась в популяциях из центральных и западных районов Саратовского Правобережья, последовательно понижаясь в северном, южном и восточном направлении, достигая минимума на крайнем востоке Левобережья.

При сравнении ценопопуляций различных типов биотопов, расположенных в одном районе, обращает на себя внимание тот факт, что в центральных районах Правобережья (Калининский, Лысогорский, Аткарский) более высокая концентрация нарингенина наблюдалась в экстрактах растений, обитающих в степных биотопах (38.78 – 55.42 мг/10 мл против 31.36 – 41.09 мг/10 мл соответственно), в то время как на севере Правобережья (Петровский, Базарно-Карабулакский районы) имела место достоверно неразличимая концентрация нарингенина в экстрактах растений, обитающих в обоих типах биотопов (30.08 – 30.21 мг/10 мл и 28.67 – 31.25 мг/10 мл соответственно), а в Левобережье (Марковский и Краснокутский районы) концентрация нарингенина в экстрактах растений, обитающих в степном биотопе, была выше, чем у растений, обитающих в биотопе остепнённого соснового бора (16.90 – 29.18 мг/10 мл и 10.75 – 16.90 мг/10 мл соответственно). Следовательно, в пределах области в направлении с севера на юг содержание нарингенина в растениях, обитающих в степном биотопе, возрастало с большей интенсивностью, чем у растений биотопа остепнённого соснового бора.

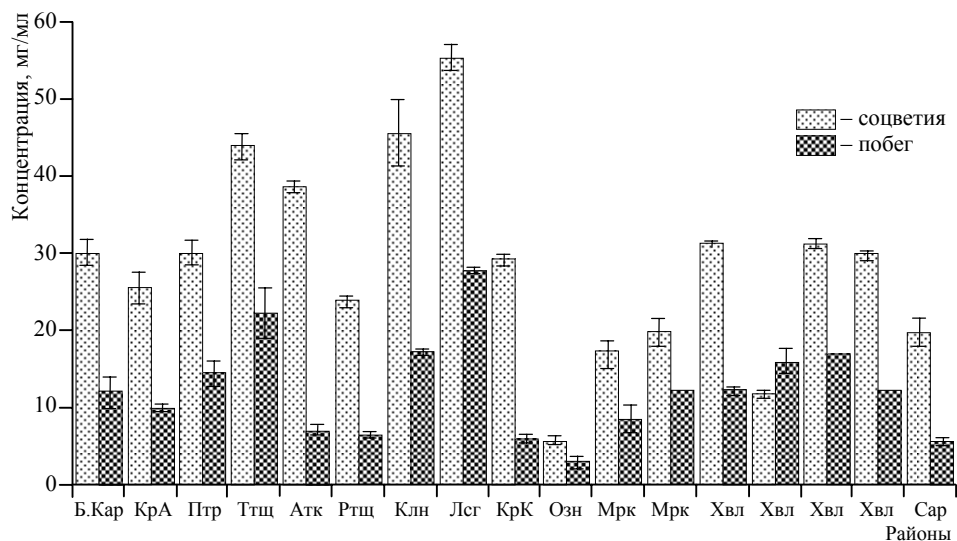


Рис. 5. Концентрация нарингенина в экстрактах растений *Helichrysum arenarium* из ценопопуляций степного биотопа. Районы: Б.Кар – Базарно-Карабулакский, КрА – Красноармейский, Птр – Петровский, Ттц – Татищевский, Атк – Аткарский, Ртц – Ртищевский, Клн – Калининский, Лсг – Лысогорский, КрК – Краснокутский, Озн – Озинский, Мрк – Марковский, Хвл – Хвалынский, Сар – Саратовский

Традиционно сырьем для получения флавоноидов из цмина песчаного служат соцветия (Ареал..., 1983). Однако концентрация нарингенина как основного действующего вещества флавоноидного комплекса *H. arenarium* в стеблях растений из ценопопуляций многих районов Правобережья Саратовской области оказывается достаточно высокой (15.00 – 30.00 мг/10 мл), для того чтобы использовать и их в качестве сырья для выделения нарингенина в промышленных масштабах. Это

ЗАВИСИМОСТЬ СОСТАВА ФЛАВАНОИДНОГО КОМПЛЕКСА

может позволить существенно увеличить объёмы извлечения нарингенина за счёт использования всей надземной массы растения на стадии цветения (в том числе и за счёт того, что масса листостебельной части растения *H. arenarium* значительно превосходит массу соцветий).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При отсутствии различий в качественном составе основных компонентов флаваноидного комплекса в растениях из различных районов области наблюдались различия по числу флавоноидов, присутствующих в следовых количествах. Однако строгой зональной приуроченности этой изменчивости не обнаружено.

Максимальная концентрация нарингенина наблюдалась в популяциях из центральных районов саратовского Правобережья. В западных, северных и южных районах саратовского Правобережья концентрация нарингенина снижалась. Но особенно низкая его концентрация была у растений из районов саратовского Левобережья, достигая минимума на крайнем востоке области.

В пределах области в направлении с севера на юг содержание нарингенина в растениях, обитающих в степном биотопе, возрастает с большей интенсивностью, чем у растений биотопа остепнённого соснового бора.

В ряде районов Правобережья Саратовской области в силу высокой концентрации нарингенина как основного действующего вещества флаваноидного комплекса в стеблях растений *H. arenarium* в качестве сырья для выделения его в промышленных масштабах можно использовать всю надземную массу растения на стадии цветения, что позволит существенно увеличить объёмы извлечения действующего вещества.

Работа выполнена при финансовой поддержке аналитической ведомственной целевой программы «Развитие научного потенциала высшей школы (2006 – 2008 годы)» (проект № РНП.2.2.3.1.2435).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Атлас ареалов и ресурсов лекарственных растений СССР. М.: Картография, 1983. 340 с.
- Даргаева Т.Г. Теоретическое и экспериментальное обоснование технологии и стандартизации многокомпонентных растительных препаратов, применяемых при заболеваниях пищеварительной системы: Дис. ... д-ра фарм. наук. М., 1994. 145 с.
- Запрометов М.Н. Основы биохимии фенольных соединений. М.: Высш. шк., 1974. 213 с.
- Кирхнер Ю. Тонкослойная хроматография: В 2 т. М.: Мир, 1981. Т. 1. 616 с.
- Копнин А.А. Стандартизация коровяка (*Verbascum*) и настоек гомеопатических матричных, получаемых на его основе: Автореф. дис. ... канд. фарм. наук. М., 2007. 23 с.
- Куркина А.В. Разработка новых подходов к стандартизации сырья и препаратов бесмертника песчаного // Новые достижения в химии и химической технологии растительного сырья: Материалы III Всерос. конф.: В 3 кн. / Под ред. Н.Г. Базарновой, В.И. Маркина. Барнаул: Изд-во Алт. ун-та, 2007. Кн. 2. С. 250 – 253.
- Ладыгина Е.Я., Сафронич Л.Н., Отряшенкова В.Э., Баландина И.А., Гринкевич Н.И., Сорокина А.А., Сокольский И.Н., Глызин В.И., Молодожижикова Л.М., Митин Ю.С., Самылина И.А., Ермакова В.А. Химический анализ лекарственных растений. М.: Высш. шк., 1983. 176 с.
- Шилина Т.С., Ермакова В.А., Самылина И.А., Бардаков А.И. Разработка технологии получения сухого экстракта из грудного сбора №3 и исследование его фенольного комплекса // Вестн. Воронеж. гос. ун-та. Сер. Химия, биология, фармация. 2004. №2. С. 282 – 287.