

УДК 615.322:547.6+543.544

ДИНАМИКА НАКОПЛЕНИЯ ФЛАВОНОИДОВ В ЛИСТЬЯХ *AMARANTHUS RETROFLEXUS*, *AGASTACHE RUGOSA* И *THLASPI ARVENSE*, СОБРАННЫХ В ЦЕНТРАЛЬНОЙ ЯКУТИИ

© И.В. Слепцов*, А.Н. Журавская

Институт биологических проблем криолитозоны СО РАН, пр. Ленина, 41,
Якутск, 677980 (Россия), e-mail: neroxasg@mail.ru

В работе исследовалось изменение содержания флавоноидов в листьях *Amaranthus retroflexus*, *Agastache rugosa* и *Thlaspi arvense*, собранных на территории Центральной Якутии в различные фенологические фазы. Установлено, что в листьях *Amaranthus retroflexus*, собранного в Центральной Якутии, содержится рутин, в листьях *Agastache rugosa* – лютеолин-7-О-гликозид, апигенин-7-О-гликозид, лютеолин и апигенин, а в листьях *Thlaspi arvense* – лютеолин-7-О-гликозид. Показано, что наибольшее содержание рутина в листьях *Amaranthus retroflexus* приходилось на фазу цветения. Выявлено, что максимальная концентрация лютеолин-7-О-гликозида, лютеолина и апигенина в листьях *Agastache rugosa* наблюдалась в период бутонизации и цветения, а апигенин-7-О-гликозида – в фазу цветения. Содержание лютеолин-7-О-гликозида в листьях *Thlaspi arvense* было наибольшим во время бутонизации и цветения. Таким образом, для получения растительного материала с максимальным содержанием флавоноидов у *Amaranthus retroflexus*, *Agastache rugosa*, *Thlaspi arvense*, выросших на территории Центральной Якутии, сбор следует проводить в период цветения.

Ключевые слова: *Amaranthus retroflexus*, *Agastache rugosa*, *Thlaspi arvense*, флавоноиды, Центральная Якутия, ВЭЖХ, хроматография, фенологические фазы.

Работа выполнена в рамках НИР VI.56.1.5. «Физиолого-биохимические механизмы формирования адаптивного потенциала, устойчивости и продуктивности растительных компонентов экосистем Южной и Центральной Якутии» (№ госрегистрации – 01201282194).

Введение

Флавоноиды – это вторичные метаболиты растений, обладающие антиоксидантными свойствами [1]. Они играют важную роль в метаболизме растений и принимают участие в их развитии и росте [2]. Известно, что содержание биологически активных веществ (БАВ) в растениях зависит от фенологической фазы, абиотических и антропогенных факторов [3, 4]. В результате адаптации растительных организмов к условиям криолитозоны, в том числе к короткому вегетационному сезону, в тканях дикорастущих растений Якутии увеличивается содержание БАВ [5]. Изучение динамики накопления флавоноидов в растениях в течение вегетационного периода является актуальным для выявления роли флавоноидов в развитии и росте растений, а также для определения времени сбора с максимальным их содержанием. Подобные исследования по выявлению изменения качественного состава и концентрации флавоноидов в листьях *Amaranthus retroflexus*, *Agastache rugosa* и *Thlaspi arvense*, собранных на территории Центральной Якутии, ранее не проводились.

Цель работы – изучить динамику накопления флавоноидов в листьях *Amaranthus retroflexus*, *Agastache rugosa* и *Thlaspi arvense*, собранных в Центральной Якутии, в различные фенологические фазы.

Экспериментальная часть

Слепцов Игорь Витальевич – аспирант,
e-mail: neroxasg@mail.ru

Журавская Алла Николаевна – доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник,
e-mail: jan43@mail.ru

В работе использовались растения *Amaranthus retroflexus* L. (семейство *Amaranthaceae* Juss.), *Agastache rugosa* (Fisch. & C.A.Mey.) Kuntze (семейство *Lamiaceae* Martinov) и *Thlaspi arvense* L. (семейство *Brassicaceae* Burnett).

* Автор, с которым следует вести переписку.

Amaranthus retroflexus и *Thlaspi arvense* являются однолетними, дикорастущими, травянистыми растениями, широко распространенными на территории Центральной Якутии. *Agastache rugosa* – многолетнее дикорастущее травянистое растение, произрастающее в Восточной Азии. *Amaranthus retroflexus* используется в народной медицине при болезнях желудочно-кишечного тракта, печени и желудочного пузыря. *Thlaspi arvense* применяют в народной медицине как антигистаминное, ранозаживляющее и противомикробное средство. *Agastache rugosa* широко используют в традиционной китайской медицине как иммуностимулятор, седативное и противовоспалительное средство.

Семена растений высевали в открытый грунт в конце мая на территории Ботанического сада Института биологических проблем криолитозоны СО РАН (Якутск). Отбор листьев исследуемых растений проводили в 10 часов, с 30 июня по 4 августа с интервалом в одну неделю.

Воздушно-сухое сырье экстрагировали метанолом (J.T. Baker) в соотношении 1 : 10, в течение 1 дня, при постоянном перемешивании, в комнатных условиях, после чего полученные экстракты пропускали через мембранный фильтр с диаметром пор 0,20 мкм. Определение содержания флавоноидов в метанольных экстрактах осуществляли методом ВЭЖХ на микроколоночном хроматографе Милихром А-02 фирмы «ЭкоНова» (Россия) с последующей компьютерной обработкой результатов исследования, используя программу «Мулити-Хром» для «Windows».

Разделение проводили по усовершенствованной методике [6] в целях более полного разделения 8 флавоноидов на хроматографической колонке ProntoSIL 120-5-C18 AQ (Россия) размером 2×75 мм. Оптимальное разделение соединений было достигнуто при следующих условиях: подвижная фаза элюент А – 1%-ный водный раствор уксусной кислоты (Panreac AppliChem); В – метанол (J.T. Baker), в градиентном режиме элюирования с возрастанием доли В от 5 до 30% в течение 2 мин, от 30 до 45% – в течение 16 мин, от 45 до 55% – в течение 5 мин и от 55 до 65% – в течение 7 мин при скорости потока 100 мкл/мин и температуре колонки 40 °С. Общее время анализа занимало 30 мин. Объем проб, вводимых в колонку, составлял 4 мкл. Детектирование проводили с помощью УФ-спектрофотометрического детектора при длинах волн 260, 280, 300, 320, 340 и 360 нм.

В качестве стандартных образцов использовали рутин, апигенин-7-О-гликозид, лютеолин-7-О-гликозид, кверцетин, дигидрокверцетин, лютеолин, апигенин и наригенин производства Sigma-Aldrich. Смесь растворов стандартных образцов готовили в концентрациях 6,25, 12,5, 25,0, 50,0, 100,0 мкг/мл в метаноле. В качестве градуировочных зависимостей использовали уравнения линейной регрессии, связывающие концентрации характеризующих соединений и площади пиков.

Эксперимент выполнялся в трех биологических и в трех аналитических повторностях. Результаты представлены в виде средней арифметической величины. Статистический разброс определяли с использованием доверительного интервала по критерию Стьюдента [7].

Обсуждение результатов

Как указывалось выше, флавоноиды участвуют в процессах роста и развития растения [2]. Вследствие этого их содержание в различные фенологические фазы варьирует. Считается, что максимальное количество флавоноидов наблюдается в фазы бутонизации и цветения [8, 9]. В работе [10] показано, что некоторые соединения флавоноидного ряда имеют наибольшее содержание не только во время бутонизации и цветения, но и в другие фенологические фазы. Также известно, что фенологическая фаза, в которой содержание флавоноидов максимально, может зависеть от места произрастания [10, 11]. Это может быть связано с адаптацией растения к климатическим условиям региона.

Основными флавоноидами в *Amaranthus retroflexus* является рутин и кверцетин [12]. В листьях *Amaranthus retroflexus*, произрастающей в Центральной Якутии, мы обнаружили только рутин, что может быть обусловлено условиями произрастания.

На рисунке 1 показано, что в период вегетации и на начальном этапе бутонизации (с 30 июня по 7 июля) концентрация рутина в листьях *Amaranthus retroflexus* варьировала от 1,2 до 2,4 мг/г. В фазе бутонизации (с 14 по 28 июля) содержание рутина в листьях составляло от 6,9 до 10,0 мг/г. С 4 августа началось цветение и концентрация рутина в листьях растений повысилась до 16,3 мг/г. Таким образом, максимальное содержание рутина в листьях *Amaranthus retroflexus* приходилось на фазу цветения.

Известно, что *Agastache rugosa* содержит семь флавоноидов, четыре из которых являются гликозидами: лютеолин-7-О-, апигенин-7-О-, диосметин-7-О- и акацетин-7-О-гликозид и три агликона: лютеолин, апигенин и акацетин [13]. В листьях *Agastache rugosa* нами было обнаружено четыре флавоноида: лютеолин-7-О-гликозид, апигенин-7-О-гликозид, лютеолин и апигенин.

В фазе вегетации (с 30 июня по 14 июля) содержание лютеолин-7-О-гликозид в листьях *Agastache rugosa* варьировало от 0,06 до 0,11 мг/г, а лютеолина – от 0,54 до 0,66 мг/г. Во время бутонизации и цветения (с 21 июля по 4 августа) в листьях *Agastache rugosa* концентрация лютеолин-7-О-гликозид статистически достоверно не отличалась и варьировала от 0,25 до 0,28 мг/г. Такая же тенденция наблюдалась и в отношении лютеолина, содержание которого изменялось от 2,5 до 2,8 мг/г (рис. 2).

Содержание апигенин-7-О-гликозида в листьях *Agastache rugosa* в фазе вегетации (с 30 июня по 14 июля) варьировало от 0,36 до 0,46 мг/г, а апигенина – от 0,51 до 0,58 мг/г. Во время бутонизации (21 июля) в листьях *Agastache rugosa* содержание апигенин-7-О-гликозида было 0,64 мг/г, а в период цветения (с 28 июля по 4 августа) увеличилось от 0,79 до 1,25 мг/г. Концентрация апигенина в листьях *Agastache rugosa* во время бутонизации и цветения (с 21 июля по 4 августа) статистически достоверно не изменялась и варьировала от 0,70 до 0,78 мг/г (рис. 3).

Таким образом, максимальное содержание всех изученных нами флавоноидов в листьях *Agastache rugosa* приходится на период бутонизации и цветения, за исключением апигенин-7-О-гликозида, наибольшая концентрация которого наблюдалась в фазе цветения.

Известно, что в *Thlaspi arvense* содержится лютеолин-7-гликозид и апигенин-7-гликозид [14]. Но нами в листьях был обнаружен только лютеолин-7-гликозид, что может быть обусловлено условиями произрастания растения.

В фазе вегетации (с 30 июня по 7 июля) содержание лютеолин-7-гликозида в листьях *Thlaspi arvense* варьировало от 0,08 до 0,09 мг/г, а в период бутонизации и цветения (с 14 по 21 июля) увеличилось до 0,11 мг/г. Вместе с тем в фазе плодоношения (с 28 июля по 4 августа) оно уменьшилось до 0,10 мг/г (рис. 4). Таким образом, в период бутонизации и цветения содержание лютеолин-7-гликозида в листьях *Thlaspi arvense* было максимальным.

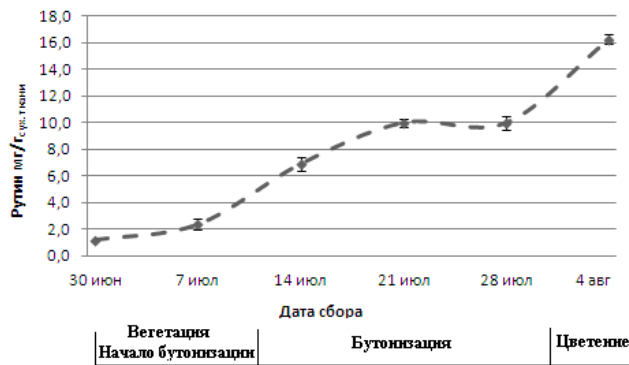


Рис. 1. Динамика накопления рутина в листьях *Amaranthus retroflexus* в различные фенологические фазы

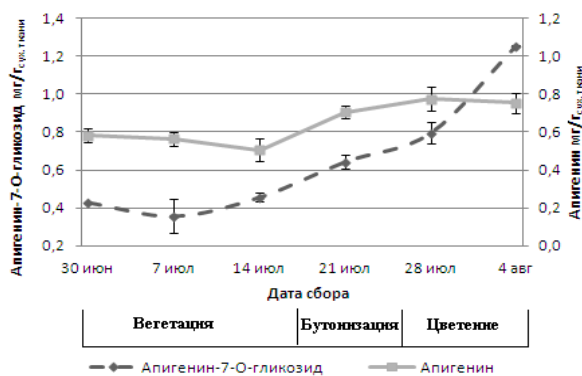


Рис. 3. Динамика накопления апигенин-7-гликозида и апигенина в листьях *Agastache rugosa* в различные фенологические фазы

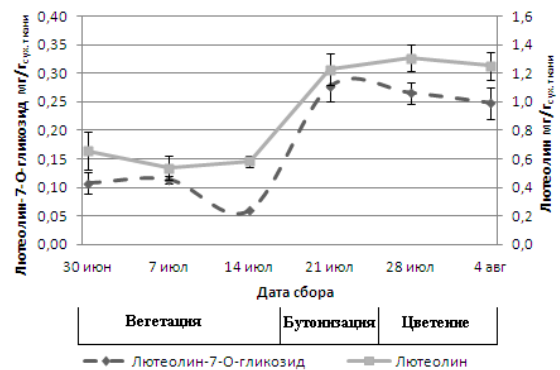


Рис. 2. Динамика накопления лютеолин-7-гликозида и лютеолина в листьях *Agastache rugosa* в различные фенологические фазы

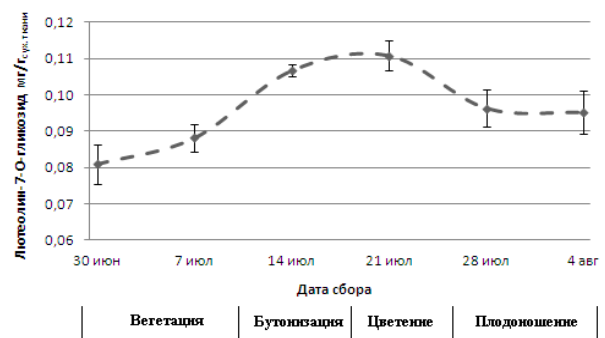


Рис. 4. Динамика накопления лютеолин-7-гликозида в листьях *Thlaspi arvense* в различные фенологические фазы

По результатам исследования установлено, что максимальное содержание рутина в листьях *Amaranthus retroflexus* было в фазе цветения; лютеолин-7-О-гликозида, лютеолина и апигенина в листьях *Agastache rugosa* – в период бутонизации и цветения, апигенин-7-О-гликозида – в фазе цветения; лютеолин-7-О-гликозида в листьях *Thlaspi arvense* – во время бутонизации и цветения. Это согласуется с исследованиями ряда авторов на примере других видов, где показано, что наибольшее содержание флавоноидов приходится на фазы цветения и плодоношения [8, 9].

Это может быть обусловлено тем, что флавоноиды необходимы для привлечения насекомых для опыления [15] и образования пыльцевой трубки [16]. Благодаря этому, возможно, начинается повышенный синтез флавоноидов во всем растении. Также высокое содержание флавоноидов может быть связано с их защитными функциями, и необходимо для выживания растения на таких важных стадиях развития, как бутонизация и цветение, так как известно, что флавоноиды защищают растения от травоядных насекомых, патогенных бактерий и грибов [17–19].

Выводы

Изучено изменение содержания некоторых флавоноидов в различные фенологические фазы в листьях *Amaranthus retroflexus*, *Agastache rugosa*, *Thlaspi arvense*, собранных в условиях криолитозоны Центральной Якутии. Установлено, что в листьях *Amaranthus retroflexus* содержится рутин, в листьях *Agastache rugosa* – лютеолин-7-О-гликозид, апигенин-7-О-гликозид, лютеолин и апигенин, в листьях *Thlaspi arvense* – лютеолин-7-О-гликозид. Показано, что в листьях *Amaranthus retroflexus* наибольшее содержание рутина приходилось на фазу цветения. Выявлено, что максимальная концентрация лютеолин-7-О-гликозида, лютеолина и апигенина в листьях *Agastache rugosa* наблюдалась в период бутонизации и цветения, апигенин-7-О-гликозида – в фазе цветения. Содержание лютеолин-7-О-гликозида в листьях *Thlaspi arvense* было наибольшим во время бутонизации и цветения. Таким образом, для получения растительного материала с максимальным содержанием флавоноидов в листьях *Amaranthus retroflexus*, *Agastache rugosa*, *Thlaspi arvense*, выросших в условиях Центральной Якутии, сбор вегетативной массы следует проводить в период цветения.

Список литературы

1. Andersen O.M., Markham K.R. Flavonoids: chemistry, biochemistry and applications. CRC Press, 2005. 1256 p.
2. Тараховский Ю.С., Ким Ю.А., Абдрасилов Б.С., Музафаров Е.Н. Флавоноиды: биохимия, биофизика, медицина. Пушино, 2013. 310 с.
3. Минаева В.Г. Флавоноиды в онтогенезе растений и их практическое использование. Новосибирск, 1978. 252 с.
4. Кершенгольд Б.М. Неспецифические биохимические механизмы адаптации организмов к экстремальным условиям среды // Наука и образование. 1996. Т. 3. С. 130–138.
5. Кершенгольд Б.М. Структурное разнообразие биологически активных веществ – биохимическая основа толерантности организмов в стрессовых условиях среды // Терпимость: идеи и традиции : материалы Международной научной конференции. Якутск, 1995. С. 179–184.
6. Шейн А.А., Прокопьев И.А., Филиппова Г.В., Журавская А.Н. Влияние техногенного загрязнения на содержание фотосинтетических пигментов и флавоноидов *Matricaria Chamomila (Asteraceae)* // Растительные ресурсы. 2014. №2. С. 235–241.
7. Лакин Г.Ф. Биометрия. М., 1980. 456 с.
8. Ломбоева С.С., Танхаева Л.М., Олейников Д.Н. Динамика накопления флавоноидов в надземной части ортилии однобокой (*Orthilia Secunda* (L.) House) // Химия растительного сырья. 2008. №3. С. 83–88.
9. Костикова В.А., Высочина Г.И., Петрук А.А. Особенности накопления флавоноидов в органах надземной части *Rheum compactum* L. // Химия растительного сырья. 2015. №4. С. 147–150.
10. Çirak C., Radušienė J., Janulis V., Ivanauskas L. Secondary metabolites in *Hypericum perforatum*: variation among plant parts and phenological stages // Botanica Helvetica. 2007. Vol. 117. N1. Pp. 29–36.
11. Kazlauskas S., Bagdonaite E. Quantitative analysis of active substances in St. John's wort (*Hypericum perforatum* L.) by the high performance liquid chromatography method // Medicina. 2003. Vol. 40. N10. Pp. 975–981.
12. Kalinova J., Dadakova E. Rutin and total quercetin content in amaranth (*Amaranthus* spp.) // Plant foods for human nutrition. 2009. Vol. 64. N1. Pp. 68–74.
13. Vogelmann J.E. Flavonoids of *Agastache* section *Agastache* // Biochemical systematics and ecology. 1984. Vol. 12. N4. Pp. 363–366.

14. Llugany M., Tolrà R., Martín S.R., Poschenrieder C., Barceló J. Cadmium induced changes in glutathione and phenolics of *Thlaspi* and *Noccaea* species differing in Cd accumulation // *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*. 2013. Vol. 176. N6. Pp. 851–858.
15. Formica J.V., Regelson W. Review of the biology of quercetin and related bioflavonoids // *Food and chemical toxicology*. 1995. Vol. 33. N12. Pp. 1061–1080.
16. Минаева В.Г., Горбалева Г.Н. О влиянии флавоноидов на прорастание пыльцы и рост пыльцевых трубок // *Полезные растения природной флоры Сибири*. Новосибирск, 1967. С. 231–237.
17. Harborne J.B., Williams C.A. Advances in flavonoid research since 1992 // *Phytochemistry*. 2000. Vol. 55. N6. Pp. 481–504.
18. Dai G.H., Nicole M., Andary C., Martinez C., Bresson E., Boher B., Daniel J.F., Geiger J.P. Flavonoids accumulate in cell walls, middle lamellae and callose-rich papillae during an incompatible interaction between *Xanthomonas campestris* pv. *malvacearum* and cotton // *Physiological and Molecular Plant Pathology*. 1996. Vol. 49. N5. Pp. 285–306.
19. Mierziak J., Kostyn K., Kulma A. Flavonoids as important molecules of plant interactions with the environment // *Molecules*. 2014. Vol. 19, N10. Pp. 16240–16265.

Поступило в редакцию 8 апреля 2016 г.

После переработки 18 мая 2016 г.

*Sleptsov I.V.**, *Zhuravskaia A.N.* DYNAMICS OF ACCUMULATIONS IN LEAVES FLAVONOIDS *AMARANTHUS RETROFLEXUS*, *AGASTACHE RUGOSA* AND *THLASPI ARVENSE* GATHERED IN THE CENTRAL YAKUTIA

Institute of Biological Problems Cryolithozone, pr. Lenina, 41, Yakutsk, 677980 (Russia), e-mail: Neroxasg@mail.ru

We investigated changes in the content of flavonoids in the leaves of *Amaranthus retroflexus*, *Agastache rugosa* and *Thlaspi arvense*, gathered in the Central Yakutia in different phenological phases. It is established that in leaves *Amaranthus retroflexus*, grown in the Central Yakutia contains rutin, in leaves *Agastache rugosa* – luteolin-7-O-glucoside, apigenin-7-O-glucoside, luteolin and apigenin, and leaves *Thlaspi arvense* – luteolin-7-O-glycoside. It is shown that the highest content of rutin in leaves *Amaranthus retroflexus* were in the flowering stage. It was revealed that the maximum concentration of luteolin-7-O-glucoside, luteolin and apigenin in leaves *Agastache rugosa* observed in the period of budding and flowering, and apigenin-7-O-glucoside – in the flowering stage. The content of luteolin-7-O-glucoside in *Thlaspi arvense* leaves was highest during budding and flowering. Thus, to obtain plant material with a maximum content of flavonoids in *Amaranthus retroflexus*, *Agastache rugosa*, *Thlaspi arvense* grown in Central Yakutia collecting should be carried out in the flowering stage.

Keywords: *Amaranthus retroflexus*, *Agastache rugosa*, *Thlaspi arvense*, flavonoids, Central Yakutia, HPLC, chromatography, phenological phases.

References

1. Andersen O.M., Markham K.R. *Flavonoids: chemistry, biochemistry and applications*. CRC Press, 2005. 1256 p.
2. Tarakhovskii Iu.S., Kim Iu.A., Abdrasilov B.S., Muzafarov E.N. *Flavonoidy: biokhimiia, biofizika, meditsina*. [Flavonoids: biochemistry, biophysics, medicine]. Pushchino, 2013, 310 p. (in Russ.).
3. Minaeva V.G. *Flavonoidy v ontogeneze rastenii i ikh prakticheskoe ispol'zovanie*. [Flavonoids in plant ontogeny and their practical use]. Novosibirsk, 1978, 252 p. (in Russ.).
4. Kershengol'ts B.M. *Nauka i obrazovanie*, 1996, vol. 3, pp. 130–138. (in Russ.).
5. Kershengol'ts B.M. *Terpimost': idei i traditsii (materialy Mezhduna-rodnoi nauchnoi konferentsii)*. [Tolerance: the ideas and traditions (proceedings of the International Scientific Conference)]. Yakutsk, 1995, pp. 179–184. (in Russ.).
6. Shein A.A., Prokop'ev I.A., Filippova G.V., Zhuravskaia A.N. *Rastitel'nye resursy*, 2014, no. 2, pp. 235–241. (in Russ.).
7. Lakin G.F. *Biometriia*. [Biometrics]. Moscow, 1980, 456 p. (in Russ.).
8. Lomboeva S.S., Tankhaeva L.M., Oleinikov D.N. *Khimiia rastitel'nogo syr'ia*, 2008, no. 3, pp. 83–88. (in Russ.).
9. Kostikova V.A., Vysochina G.I., Petruk A.A. *Khimiia rastitel'nogo syr'ia*, 2015, no. 4, pp. 147–150. (in Russ.).
10. Çırak C., Radušienė J., Janulis V., Ivanauskas L. *Botanica Helvetica*, 2007, vol. 117, no. 1, pp. 29–36.
11. Kazlauskas S., Bagdonaite E. *Medicina*, 2003, vol. 40, no. 10, pp. 975–981.
12. Kalinova J., Dadakova E. *Plant foods for human nutrition*, 2009, vol. 64, no. 1, pp. 68–74.
13. Vogelmann J.E. *Biochemical systematics and ecology*, 1984, vol. 12, no. 4, pp. 363–366.
14. Llugany M., Tolrà R., Martín S.R., Poschenrieder C., Barceló J. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 2013, vol. 176, no. 6, pp. 851–858.
15. Formica J.V., Regelson W. *Food and chemical toxicology*, 1995, vol. 33, no. 12, pp. 1061–1080.
16. Minaeva V.G., Gorbaleva G.N. *Poleznye rasteniia prirodnoi flory Sibiri*. [Useful plants of the natural flora of Siberia]. Novosibirsk, 1967, pp. 231–237. (in Russ.).
17. Harborne J.B., Williams C.A. *Phytochemistry*, 2000, vol. 55, no. 6, pp. 481–504.
18. Dai G.H., Nicole M., Andary C., Martinez C., Bresson E., Boher B., Daniel J.F., Geiger J.P. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 1996, vol. 49, no. 5, pp. 285–306.
19. Mierziak J., Kostyn K., Kulma A. *Molecules*, 2014, vol. 19, no. 10, pp. 16240–16265.

Received April 8, 2016

Revised May 18, 2016

* Corresponding author.