

Гусев Н.Ф.*, Немершина О.Н.**

*Оренбургский государственный аграрный университет

**Оренбургская государственная медицинская академия

К ИССЛЕДОВАНИЮ ФЛАВОНОИДОВ *VERONICA INCANA* L. СТЕПНОГО ПРЕДУРАЛЬЯ

Виды рода вероника – *Veronica* L. семейства норичниковых – *Scrophulariaceae* Juss. относятся к широко распространенным растениям в Евразии (Борисова, 1955; Вакар, 1964; Еленевский, 1978; Флора Европейской части СССР, 1981). Среди многообразия вероник заметным видом в различных ассоциациях степного Предуралья является вероника седая – *Veronica incana* L. (Определитель..., 1989; Рябинина, 1998).

Вероника седая применяется в народной медицине Поволжья, Сибири, Алтая и Монголии при заболеваниях сердечно-сосудистой системы и желудочно-кишечного тракта, печени, почек, нарушениях обмена веществ, дерматитах, неврозах (Уткин, 1931; Махлаук, 1964; Хайдав, 1978). Препараты вероники седой в виде примочек и обмываний применяют для лечения кожных болезней – угри, гнойники, дерматиты, ожоги (Уткин, 1933). На Украине трава вероники седой издавна используется для лечения простудных болезней и гипертонии (Носаль, 1997). Препараты вероники седой применяют в качестве седативного и улучшающего сердечную деятельность средства (Мельников, Полуэктов, 1963; Ермолин, 1971). Спиртовые и водные извлечения травы вероники седой оказывают гипотензивное действие, вызывают расслабление гладкой мускулатуры кишечника и уменьшение перистальтики (Поплыко, Семенова, 1963). Среди сельского населения Оренбургской области (Кувандыкский, Акбулакский, Переволоцкий районы) веронику седую используют под названием «сердечная трава» для лечения гипертонии, а в восточных районах (Адамовский, Светлинский, Домбаровский) – под названием «шалфей» при заболеваниях верхних дыхательных путей, что установлено нами в период экспедиций по территории региона.

Химический состав вероники седой почти изучен. В ее надземной части обнаружены флавоноиды (Блинова и др., 1961), витамины (Якунина, 1961).

Ранее некоторые исследователи (Горчаковский, Рябинина, 1984; Рябинина, 1998) отмечали распространение вероники седой на территории Оренбургской области. Однако в ряде районов области места обитания указанного вида

авторами не отмечены, а также не изучены количественные показатели вероники седой и обилие ее в различных ассоциациях степной зоны.

Задачи нашей работы – изучение вероники седой в степном Предуралье, учет ее обилия в различных ассоциациях, исследование состава флавоноидов в надземной части растений (трава) и их количественное содержание в зависимости от экологических условий.

В результате экспедиционных исследований нами установлено, что вероника седая, как ксерофит, распространена на значительной части степного Предуралья.

В Башкирском Предуралье она произрастает в западных и юго-западных районах в степной и, реже, в лесостепной зонах. Основными местообитаниями вероники седой здесь являются ковыльные, ковыльно-типчаковые и каменистые степные участки, часто на склонах с южной и юго-западной экспозицией. Вероника седая в незначительном обилии – сор¹, а иногда сор², отмечена в типчаково-ковыльных степных участках в Бирско-Уфимском районе, на Белебеевской возвышенности и башкирской части Общего Сырта, прилегающей к Оренбургской области.

На указанных степных участках видовой состав не отличается многообразием. Преобладают *Festuca sulcata*, *Stipa lessingiana*, *St. capillata*, *Festuca valensiana*, *Origanum vulgare*, реже – *Veronica spicata* (до 2-х растений на 1 м²).

В Оренбургской области вероника седая встречается более обильно – сор¹–сор² в южных, центральных и юго-западных районах (Акбулакский, Саракташский, Кувандыкский, Соль-Илецкий, Грачевский). Как сухолюбивое растение вероника седая распространена в сухих характерных для нее местообитаниях – сухие ковыльные, ковыльно-типчаковые, типчаково-ковыльные и каменистые степи. Южные районы Оренбургской области отличаются незначительным видовым разнообразием (до 22 – 26 видов в фитоценозе). В значительной части фитоценозов здесь преобладают ксерофиты, приспособляющиеся к местному климату и сухим песчаным, а иногда засоленным почвам. На повышенных участках рельефа и на склонах преобладают *Stipa lessingiana*, *St.*

Таблица 1. Хроматографические характеристики флавоноидов травы вероники седой - *Veronica incana* L. Предуралья

Вещества (пятна) на хроматограммах	Rf в системах		Окраска в УФ-свете		
	I	II	до проявления	в парах аммиака	после проявления р-ром хлорида алюминия
1	0,06	0,18	темно-коричневая	желтовато-зеленая	желто-зеленая
2	0,11	0,08	–	светло-желтая	желто-зеленая
3	0,15	0,17	–	желто-зеленая	светло-желто-зеленая
4	0,25	0,23	темная	желто-зеленая	желто-зеленая
5	0,44	0,21	темно-коричневая	желто-зеленая	ярко-желто-зеленая
6	0,57	0,32	коричневая	желто-зеленая	желто-зеленая
7	0,84	0,11	темно-коричневая	ярко-желто-зеленая	ярко-желто-зеленая
8	0,92	0,76	–	ярко-желто-зеленая	желто-зеленая

capillata, *Elytrigia pruinifera*, *Onosma simplicissima*, *Centaurea sibirica*, *Crinitaria villosa*, *Coeleria gracilis*, *Echinops ritro*, *Artemisia austriaca*, *Veronica incana*.

В Акбулакском районе Оренбургской области на участках каменистых степей и в типчаково-разнотравных ассоциациях насчитывается незначительное число видов – до 18 растений. Среди них преобладают – *Festuca valensiacae*, *Artemisia sericea*, *A. austriaca*, *Achillea nobilis*, *Astragalus testiculatus*, *Veronica incana* (до 4 – 12 растений на м²).

Изучение состава флавоноидов и определение их количественного содержания проводили в траве вероники седой, собранной в период цветения – начала плодоношения в окрестностях г. Саракташ в типчаково-разнотравной ассоциации на склонах с южной и юго-западной экспозицией.

Воздушно-сухое и измельченное сырье вероники седой обрабатывали хлороформом в аппарате Сокслета для освобождения от смол, хлорофилла и сопутствующих веществ, затрудняющих исследование.

Высушенное после удаления хлороформа сырье в количестве 5 г истощают экстрагировали этанолом на кипящей водяной бане до истощения материала. Затем извлечение объединяли, отфильтровывали и упаривали до минимального объема.

Остаток экстракта растворяли в небольшом количестве этанола (0,5 – 1 мл) и наносили на хроматографическую бумагу марки FN-1 «Filtrak». Хроматографирование проводили восходящим способом в двух системах растворителей: 1н-бутанол – уксусная кислота – вода

(4: 1: 5) – система I, а затем в системе II – уксусная кислота – вода (15: 85).

Высушенную хроматограмму просматривали в УФ-свете при длине волны 360 нм. Видимые пятна на хроматограмме обводили простым карандашом и отмечали их флюоресценцию условными знаками.

При просматривании хроматограмм в УФ-свете, парах аммиака и после обработки хромогенными реактивами (Хайс, Мацек, 1912; Бандюкова, 1965) обнаружили не менее восьми пятен веществ (табл. 1), относящихся к группе флавоноидов (Harborne, 1975; Бандюкова, 1965). Пять веществ обнаружили на хроматограмме до проявления реактивами, а три – после проявления. Три вещества (пятна 5, 6, 7), обнаруженные на хроматограмме до проявления реактивами, имели интенсивную флюоресценцию и значительные размеры, что позволило считать их основными соединениями в траве вероники седой. По значению Rf в системе I – 0,43; 0,57; 0,84 и Rf в системе II – 0,21; 0,32; 0,11, а также окраске реактивами указанные вещества идентифицировали с достоверными образцами, взятыми в качестве «свидетелей», как цинарозид, апигенин-7-глюкуронид и лютеолин. Одно вещество (пятно 8) с Rf 0,92 в системе I и Rf 0,06 в системе II, обнаруженное на хроматограмме только после проявления хромогенными реактивами, идентифицировали как апигенин.

Для полной идентификации и установления структуры флавоноидов нами проведено их выделение с хроматограмм методом элюирования, что позволило получить индивидуальные вещества. Выделенные указанным способом вещества условно назвали как А, В и С (табл. 2).

Хроматографические и спектральные характеристики веществ А, В и С и их окрашивание на хроматограммах соответствуют образцам как цинарозид, апигенин-7-глюкуронид и лютеолин. Вещества А, В и С дают положительную цианидиновую реакцию с оранжево-красным окрашиванием и соответствующее окрашивание с хромогенными реактивами, что свидетельствует о наличии свободной оксигруппы в 5-м положении (Geissman, 1962; Литвиненко, 1965).

Гликозид А восстанавливает на холоду аммиачный раствор нитрата серебра, что указывает на наличие орто-диоксигрупп у C₃¹ и C₄¹ бокового фенильного радикала (Geissman, 1962). Отмеченное подтверждает и батохромный сдвиг в УФ-спектре вещества А в присутствии ацетата натрия и раствора борной кислоты (табл. 2).

Наличие отрицательной реакции с раствором диазотированной сульфаниловой кислоты и отсутствие заметных сдвигов обеих полос поглощения в УФ-спектре при добавлении ацетата натрия указывают на наличие замещенной гидроксильной группы в 7-м положении у веществ А и В (Литвиненко, Максютин, 1965; Сухина, 2001).

УФ-спектр веществ А, В, С в присутствии хлорокиси циркония показывает сдвиги максимума длинноволновой полосы на 49–58 нм, а в коротковолновой – на 3–13 нм, что свидетельствует о наличии свободной гидроксильной группы в 5-м положении (Geissman, 1962).

Наличие свободной гидроксильной группы у веществ А, В, С в положении C₅ подтверждается и отсутствием сдвигов обеих полос УФ-спектра при добавлении лимонной кислоты (Geissman, 1962; Барковский, 1989).

УФ-спектры нейтрального спиртового раствора агликонов веществ А и В показывают полосы поглощения, идентичные константам

лютеолина и апигенина соответственно (Литвиненко, Максютин, 1965).

На основании исследований установлено, что флавоноид А представляет собой 5,3,4-триоксифлавоон-7-0-D-глюкозид или цинарозид (лютеолин-7-0-D-глюкозид), флавоноид В – 5,7,4-триоксифлавоон-7-глюкуронид (апигенин-7-глюкуронид), флавоноид С – 5,7,3,4-тетраоксифлавоон или лютеолин.

Флавоноиды как биологически активные соединения являются неотъемлемой частью высших растений и участвуют в важных обменных процессах. Ряд авторов (Георгиевский и др., 1989; Немерешина, 2002) выдвигают предположение, что флавоноиды повышают толерантность растений к неблагоприятным условиям среды. Указанная гипотеза послужила нам поводом для количественного определения флавоноидов в растениях в зависимости от экологических условий.

Количественное определение суммы флавоноидов проводили в траве вероники седой, собранной в период цветения (2004 г.) в различных местообитаниях на территории Оренбургской области (табл. 3).

Определение суммы флавоноидов проводили фотоколориметрическим методом с использованием ионизирующих и комплексообразующих реактивов. Для этого 1 г (точная навеска) измельченного сырья (размер частиц до 1 мм) последовательно экстрагировали этанолом различной концентрации (90%, 60%, 20%) до получения 100 мл извлечения. Определение содержания флавоноидов в элюате проводили по модифицированному методу (Мурри, 1959; Волхонская, 1968). Оптическую плотность раствора измеряли на фотоколориметре КФК-2 при длине волны 400 нм и с использованием в качестве раствора сравнения дистиллированной воды.

Таблица 2. Спектральная характеристика флавоноидов, выделенных из травы вероники седой – *Veronica incana* L.

Вещества	Полосы поглощения	Нейтральный спиртовой раствор	Комплексообразующие и ионизирующие вещества							
			ацетат натрия		ацетат натрия и борная кислота		хлорокись циркония		хлорокись циркония и лимонная кислота	
			Лмакс (нм)	• Л	Лмакс	• Л	Лмакс	• Л	Лмакс	• Л
1. Вещество А	I	350	352	2	376	26	410	60	354	4
	II	268, 254	256	2	259	5	272	2	256	2
2. Вещество В	I	336	336	0	335	1	392	56	340	4
	II	270	272	2	270	0	350,278	17	268	-2
3. Вещество С	I	350	364	14	372	22	408	58	352	2
	II	268, 254	262	-4	260	-8	273	5	252	2

Таблица 3. Результаты количественного содержания суммы флавоноидов в траве *Veronica incana* L.

Местообитание	Ассоциации	Содержание суммы флавоноидов (% на абс. сухой вес)
1. Окрестности г. Саракташ, юго-зап. склон	Разнотравно-ковыльно-типчаковая	2,03
2. Окрестности г. Акбулак, равнина	Полынно-типчаково-каменистая степь	2,34
3. Окрестности п.Черноречье Оренбургского района (зона влияния Оренбургского газоперерабатывающего завода)	Типчаково-разнотравная	3,47

Сумму флавоноидов рассчитывали по калибровочному графику, построенному по чистому цинарозиду. Расчет проводили с учетом влажности сырья (6,34%). Оптическая погрешность опыта составила 0,34%.

Из таблицы видно, что наибольшее содержание суммы флавоноидов (3,47%) отмечено в растениях, собранных в зонах с повышенной техногенной нагрузкой под влиянием промышленных выбросов предприятий.

ВЫВОДЫ

1. *Veronica incana* L. отмечена в значительном обилии в южных, юго-западных и восточных районах степного Оренбуржья, а в Баш-

кирском Предуралье – в западных и юго-западных районах, на степных участках, расположенных на склонах с южной и юго-западной экспозицией.

2. В надземной части *Veronica incana* L., произрастающей в степном Предуралье, обнаружено не менее восьми флавоноидов, четыре из которых идентифицированы – цинарозид, апигенин-7-глюкуронид, лютеолин и апигенин.

3. Максимальное содержание суммы флавоноидов отмечено в траве *Veronica incana* L., произрастающей в зоне влияния промышленных предприятий (газоперерабатывающего завода), что, по-видимому, следует считать ответной реакцией растений на воздействие поллютантов.

Список использованной литературы:

- Бандюкова В.А. Применение цветных реакций для обнаружения флавоноидов путем хроматографии на бумаге // Раст. ресурсы. 1965. Т.1, вып.4. С.591.
- Барковский В.Ф., Ганапольский В.И. Дифференциальный спектрофотометрический анализ. М., 1989.
- Борисова А.Г. Флора СССР. М.-Л. Изд. АН СССР. 1955. т. 22.
- Вакар Б.А. Определитель растений Урала. Средне-Ур. Кн. изд. Свердловск, 1964.
- Волхонская Т.А. Изучение флавоноидов рода *Vulpurium* L. Западной Сибири. Автореф. Дисс. На соискание ученой степени кандидата биол. наук. Томск, 1968. – 19 с.
- Георгиевский В.П. и др. Физико-химические и аналитические характеристики флавоноидных соединений. // Северо-Кавк. Науч. центр высш. шк. – Ростов на/Д.: Изд. Ростовск. ун-та, 1988. – 143 с.
- Горчаковский П.Л., Рябинина З.Н. Степи южной части Оренбургской области (Урало-Илекское междуречье). // Растит. сообщ. Урала и их антропогенная деградация. Свердловск, 1984. – С. 3-64.
- Еленевский А.Г. Систематика и география вероник СССР и прилегающих стран. М.: «Наука», 1978. – 259 с.
- Ермолин А.В. Материалы фармакологического действия препаратов некоторых видов вероник. // Материалы 4-й Уральской конф. физиологов, фармакологов и биохимиков. Свердловск, 1969.
- Литвиненко В.И., Максютин Н.П. Спектральное исследование флавоноидов. // Химия природных соединений. 1965. №6. С. 420.
- Махлаюк В.П. Лекарственные растения в народной медицине. М.: Нива России, 1992.
- Мельников Е.А., Полуэктов М.Н. К фармакологии вероники белойлочной. // Тр. Красноярского мед. ин-та, 1963, №7. – С. 96-97.
- Мурри И.К. Определение содержания рутина в гречихе. // Витаминные ресурсы и их использование. М., 1959. вып.4. С.195-201.
- Немерешина О.Н. Биологические особенности растительного покрова степного Предуралья в зоне влияния выбросов газоперерабатывающего предприятия. Автореф. дис. На соискание уч. степени кан. биол. наук. Оренбург, 2001.
- Носаль М.А., Носаль И.М. Лекарственные арстения и способы их применения в народе. Минск «Польмя», 1997.
- Определитель высших растений Башкирской АССР. М., Наука, 1998.
- Поплыко А.И., Семенова О.Ню К фармакологии вероники сибирской и белойлочной. // Тр. Красноярского мед. ин-та, 1963, №7, – С. 95-96.
- Рябинина З.Н. Конспект флоры Оренбургской области. Екатеринбург: УрО РАН, 1998.
- Сухинина Т.В. и др. Флавоноиды рода *Euphrasia* L. // Перспективы развития ест. наук в высшей школе: Труды междуна-родн. науч. конф. Пермь, 2001. Т.1. С.206-210.
- Уткин Л.А. Народные лекарственные растения Сибири. М.-Л., 1993.
- Хайдав Ц, Меншикова Т.А. Лекарственные растения в монгольской медицине. Улан-Батор, 1078, 192 с.
- Хайс И., Маецк К. Хроматография на бумаге. М.: ИЛ, 1962. – 851 с.
- Якунина Т.Г. и др. Предварительное исследование на алкалоиды некоторых представителей флоры Иркутской области. // Лек. сырьевые ресурсы Иркутской обл., 1961. в.3.
- Geissman T.A. The chemistry of Flavonoid compounds. Pergamon Press., New.Jork., 107. Oxford-London, 1982.
- Harborne J.V. The chromatography of the flavonoid pigments. J.Chromatogr., 1975, 2,6, p. 581.