

УДК 577.19:582.738

ФЕНОЛЬНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ В ЛИСТЬЯХ И СОЦВЕТИЯХ *HEDYSARUM ALPINUM* L. И *H. FLAVESCENS* REGEL ET SCHMALH., ИНТРОДУЦИРОВАННЫХ В ЛЕСОСТЕПНУЮ ЗОНУ ЗАПАДНОЙ СИБИРИ

© О.В. Коцуний*, И.Е. Лобанова

Центральный сибирский ботанический сад СО РАН, ул. Золотодолинская,
101, Новосибирск, 630090 (Россия), e-mail: olnevaster@gmail.com

Изучали изменение состава и содержания фенольных соединений в листьях и соцветиях *Hedysarum alpinum* L. и *H. flavescens* Regel et Schmalh., интродуцированных в лесостепную зону Западной Сибири. На примере *H. alpinum* исследовали изменение содержания фенольных соединений в зависимости от года сбора и от органа растения (листья, соцветия). Определяли содержание индивидуальных веществ (галловой, хлорогеновой кислот, мангиферина, гиперозида, рутина, авикулярина и 17 компонентов фенольной природы) и содержание фенольных соединений по группам (оксикоричные и оксibenзойные кислоты, ксантоны и флавонолы). Между двумя видами рода *Hedysarum* L. были обнаружены различия по содержанию фенольных соединений по группам (в мг/100 г): ксантонов и флавонолов (до 4614.9 ± 63.7 и 1280.0 ± 6.7 , соответственно) в листьях и ксантонов (до 847.9 ± 29.8) в соцветиях у *H. alpinum* накапливалось больше, чем ксантонов и флавонолов (2911.6 ± 79.0 и 976.2 ± 0.5 , соответственно) в листьях и ксантонов (76.2 ± 2.5) в соцветиях *H. flavescens*. В листьях *H. flavescens* по сравнению с листьями *H. alpinum* превалирует содержание оксibenзойных и оксикоричных кислот. В листьях изученных видов накапливается больше всего оксикоричных кислот и ксантонов, в соцветиях – флавонолов. Содержание оксibenзойных кислот, ксантонов и флавонолов *H. alpinum* значительно варьировало в зависимости от года наблюдения.

Ключевые слова: *Hedysarum alpinum* L., *H. flavescens* Regel et Schmalh., флавонолы, ксантоны, интродукция, Западная Сибирь.

Работа выполнена в рамках государственного задания ЦСБС СО РАН по проекту № АААА-А21-121011290025-2 «Анализ биоразнообразия, сохранение и восстановление редких и ресурсных видов растений с использованием экспериментальных методов». При подготовке публикации использовались материалы биоресурсной научной коллекции ЦСБС СО РАН «Коллекции живых растений в открытом и закрытом грунте», УНУ № USU 440534.

Введение

Виды семейства *Fabaceae* Lindl. *Hedysarum alpinum* L. (копеечник альпийский) и *H. flavescens* Regel et Schmalh. (копеечник желтеющий) известны своими лекарственными свойствами и широким применением в народной и традиционной медицине [1, 2].

Hedysarum alpinum – евразийское растение, в России произрастает в лесной и лесостепной зонах Сибири и Дальнего Востока, заходя в европейскую часть на Урал, в Предуралье, а также в Архангельскую и на юг Мурманской областей. Ареал за пределами России простирается до северных районов Монголии, Китая и Корейского полуострова [3, 4]. В Забайкальском крае находятся основные промысловые массивы растения. *H. flavescens* является эндемиком Средней Азии, широко распространен в горно-лесном поясе Западного Памиро-Алая и Западного Тянь-Шаня (в Узбекистане, на юге Казахстана и юго-западе Таджикистана), в лесном и субальпийском поясах [4]. Природные ресурсы этого копеечника значительно уступают ресурсам копеечника альпийского.

Коцуний Ольга Викторовна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, e-mail: olnevaster@gmail.com

Лобанова Ирина Евгеньевна – кандидат биологических наук, научный сотрудник, e-mail: irevlob@hgs.ru

* Автор, с которым следует вести переписку.

Содержащийся в изучаемых видах ксантон мангиферин представляет большую ценность в качестве противовирусного средства при острых и рецидивирующих формах простого герпеса [5], показывает антиоксидантное, болеутоляющее, противодиабетическое, антипролиферативное, химиопрофилактическое, радиопротекторное, кардиотоническое, иммуномодулирующее, мочегонное действие [6, 7]. В 1985 году в СССР на базе ВИЛАР из травы *H. flavescens* был выделен и рекомендован к производству противовирусный препарат «Алпизарин®» (*Alpizarinum*), действующим веществом которого является мангиферин [8].

Из фенольных соединений (ФС), обуславливающих широкое терапевтическое действие изучаемых копеечников, наряду с ксантонами имеют значение флавонолы и катехины, а также оксикоричные и оксибензойные кислоты.

По литературным данным, общее содержание флавоноидов в надземной части растений *H. alpinum*, произрастающих в Монголии, составило 15% [9]. Из флавонолов в надземной части обнаружили кверцетин и гликозиды кверцетина: полистахозид (кверцетин-3-β-L-арабинофуранозид), кверцитрин, авикулярин [10], гиперозид [10, 11], рутин, кверцетин-3-β-D-глюкозид (изокверцитрин) [9], в цветках – 3-L-α-рамнофуранозид кверцетина и авикулярин [12].

При изучении содержания БАВ в органах растений–интродуцентов *H. alpinum* лесостепной зоны Западной Сибири (ЦСБС СО РАН) обнаружено высокое содержание флавонолов: в листьях – 13.2, в соцветиях – 5%, на абсолютно-сухом сырье [13]. Из ксантонов найдены мангиферин (в %) в надземной части *H. alpinum* (0.8–1.9) [14, 15], у особей в природных условиях Забайкалья (1.94–2.36) [11], в листьях в условиях интродукции лесостепной зоны Западной Сибири (4.3) [16] и изомангиферин в надземной части (0.05–0.07) [15]. Обнаружено достаточно высокое содержание суммы ксантонов: у интродуцентов в листьях и соцветиях – до 3.43% [17], в надземной части до 4.1% [18], в листьях – до 6% [16, 19]. Особи *H. alpinum* в условиях интродукции синтезировали от 0.34 до 0.7% катехинов; старые генеративные особи – от 0.54 до 1.2% [19, 20].

В фитопрепарате травы *H. alpinum*, полученного на основе доступного аптечного сырья, обнаружены (в мг/100 мл): галловая кислота (0.12), хлорогеновая кислота (0.94), рутин (6.1), кверцетин (0.79), гиперозид (13.4), мангиферин, изомангиферин. Катехины не обнаружены [21].

Для листьев *H. flavescens* в литературных данных есть указание на общее содержание флавоноидов – до 13.2% [22], при интродукции в лесостепную зону Западной Сибири содержание флавонолов в листьях достигало 15% [13], ксантонов – 5.5% [16]. Из ксантонов (в %) в надземной части идентифицированы глюкомангиферин, глюкоизомангиферин, мангиферин (0.8–1.4), изомангиферин (0.08–0.1) [14, 15], в листьях и соцветиях – мангиферин (до 3.5) [17], в листьях – мангиферин (4.0) [16].

На примере *H. alpinum* из ЦСБС СО РАН (лесостепная зона Западной Сибири) показано варьирование содержания ксантонов в растениях-интродуцентах разных лет жизни и на протяжении вегетационного периода. Фазы вегетации, бутонизации и цветения характеризовались наиболее высоким содержанием ксантонов, при этом в цветении в ряде случаев было меньше веществ, чем в бутонизации [18]. Максимальные показатели содержания флавонолов отмечены для средневозрастных особей *H. alpinum* (4–6 лет), интродуцированных в Томскую область [20].

Дальнейшее изучение особенностей интродукции *H. alpinum* и *H. flavescens* и исследование их фитохимических характеристик остается актуальным и перспективным направлением ввиду того, что современное состояние сырьевой базы этих видов недостаточное для производства противовирусных препаратов, в частности «Алпизарина®». *H. alpinum* и *H. flavescens*, ранее используемые в производстве мангиферина, сейчас занесены в списки исчезающих растений. Недостатком мангиферина, получаемого из листьев *Mango indica*, является содержание в нем от 5 до 12% трудноотделяемой примеси гомоизомангиферина – метилированного структурного изомера мангиферина, отличающегося отсутствием фармакологической активности и повышенной токсичностью, по сравнению с мангиферином [23].

Цель нашего исследования – изучить изменение состава и содержания фенольных соединений листьев и соцветий растений *Hedysarum alpinum* и *H. flavescens*, интродуцированных в лесостепную зону Западной Сибири (ЦСБС СО РАН, Новосибирск); на примере *H. alpinum* оценить изменение содержания фенольных соединений в зависимости от года сбора и от органа растения (листья, соцветия).

Экспериментальная часть

Растения открытого грунта выращивали на экспериментальном участке лаборатории фитохимии ЦСБС СО РАН Новосибирск (географические координаты 54°49'9.87"с.ш. и 83°6'6.95"в.д.), в лесостепной

зоне Западной Сибири. Семена получены из Сибирского ботанического сада (Томск). Возраст растений *H. alpinum* – 7 и 8 лет, *H. flavescens* 7 лет. Образцы представляли собой средние пробы листьев и соцветий генеративных растений *H. alpinum* и *H. flavescens*, находящихся в фазе цветения в 2018–2019 гг. и в 2018 г., соответственно, высушенных на воздухе в тени до влажности 10%.

Для извлечения суммы ФС точную навеску (0.1 г) измельченного воздушно-сухого материала исчерпывающе экстрагировали 70% этанолом при нагревании на водяной бане. Полноту экстрагирования контролировали с помощью качественной реакции на флавоноиды с 10%-ным раствором натрия гидроксида. Извлечения объединяли и выпаривали, остаток разбавляли 70%-ым этанолом до 3 мл. Затем, используя метод твердофазной экстракции (ТФЭ), 1 мл экстракта разбавляли бидистиллированной водой до 5 мл и пропускали через концентрирующий патрон Диапак С16 (ЗАО «БиоХимМак») для освобождения от примесей гидрофильной природы [24]. Фенольные компоненты смывали с патрона небольшим количеством 70% этанола, затем – 96% этанола. Элюаты объединяли, измеряли объем, который обычно составлял 5–6 мл, и пропускали через мембранный фильтр с диаметром пор 0.45 мкм.

Анализ компонентов проводили на жидкостном хроматографе «Agilent 1200» с диодноматричным детектором (Agilent Technologies, USA) и системой для сбора и обработки хроматографических данных ChemStation. Вещества разделяли на колонке Zorbax SB-C18, размером 4.6×150 мм, с диаметром частиц 5 мкм, применив градиентный режим элюирования. Для хроматографирования водно-спиртовых экстрактов использовали систему 1, где в подвижной фазе содержание метанола в водном растворе ортофосфорной кислоты (0.1 %) изменялось с 19 до 70% за 30 мин, далее до 100% к 32 мин. Скорость потока элюента – 1 мл/мин. Температура колонки 25 °С. Объем вводимой пробы 10 мкл. Детектирование осуществляли на аналитических волнах $\lambda = 255, 270, 290, 325, 340, 350, 360, 370$ нм. Для приготовления подвижных фаз использовали метиловый спирт (ос.ч.), ортофосфорную кислоту (ос.ч.), бидистиллированную воду.

Для проведения кислотного гидролиза 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 разбавленный экстракт пропускали через концентрирующий патрон, агликоны смывали 96%-ным этанолом. Далее хроматографировали, применив градиентный режим элюирования. В подвижной фазе содержание метанола в водном растворе ортофосфорной кислоты (0.1%) изменялось от 50 до 52% за 15 мин, далее до 100% к 17 мин (система 2).

Анализ проводили с использованием стандартных растворов (10 мкг/мл) галловой, хлорогеновой кислот, рутина, гиперозида, авикулярина («Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA»), ксантонов (мангиферина) – с использованием препарата «Алпизарин» (таблетки 0.1 г.). Определение содержания проводили методом внешнего стандарта: агликонов флавонолов – по кверцетину и кемпферолу, гликозидов флавоноидов – по рутину, оксibenзойных и оксикоричных кислот – по галловой и хлорогеновой кислотам, соответственно, ксантонов – по алпизарину. Содержание ФС выражали в мг на 100 г абсолютно-сухого веса. Каждую пробу анализировали в 3-кратной повторности.

Статистическая оценка результатов производилась с помощью программного обеспечения Statistica 10.0 (Statsoft Inc., Tulsa, OK, USA). Значимые различия были определены с помощью однофакторного анализа ANOVA с последующим многограновым тестом Дункана при величине $P < 0.05$. Оценку изменчивости (вариабельности) проводили по абсолютным средним значениям изучаемых признаков и значению коэффициента вариации (C_v , %) с учётом шкалы уровней изменчивости, предложенной С.А. Мамаевым [25]: очень низкий – меньше 7; низкий – 7–15; средний – 15–25; повышенный – 26–35; высокий – 36–50; очень высокий – больше 50.

Результаты и обсуждения

В составе ФС водно-этанольных экстрактов *H. alpinum* и *H. flavescens* идентифицированы галловая, хлорогеновая кислоты, мангиферин, гиперозид, рутин, авикулярин, а также обнаружены неидентифицированные соединения с максимумами поглощения в одном диапазоне длин волн 250–270 нм (оксibenзойные кислоты) или в двух диапазонах 218–250 и 295–325 нм (оксикоричные кислоты), 255–270 и 350–360 нм (гликозиды флавоноидов), всего не менее 28 компонентов фенольной природы, для хроматографического разделения которых использована система 1 (рис. 1).

Обнаружение кверцетина, кемпферола и изорамнетина в составе гидролизатов экстрактов листьев и соцветий (рис. 2) и УФ-спектры ФС экстрактов позволяют предположить о преимущественном содержании гликозидов флавонолов в экстрактах изученных видов растений.

Содержание 23 индивидуальных компонентов и суммы четырех групп ФС (оксикоричные и оксибензойные кислоты, ксантоны, флавонолы) приведены в таблице 1. Гликозиды флавонолов представлены самой большой группой ФС: 14 и 16 компонентов, для *H. alpinum* и *H. flavescens*, соответственно. Сумма флавонолгликозидов в листьях и соцветиях *H. alpinum* не превышала 1280.0 ± 6.7 и 2180.3 ± 84.1 мг/100 г абсолютно-сухого сырья, соответственно. Гликозиды флавонолов *H. flavescens* также преобладают в соцветиях – 2116.0 ± 73.0 против 976.2 ± 0.5 мг/100 г в листьях (табл. 1).

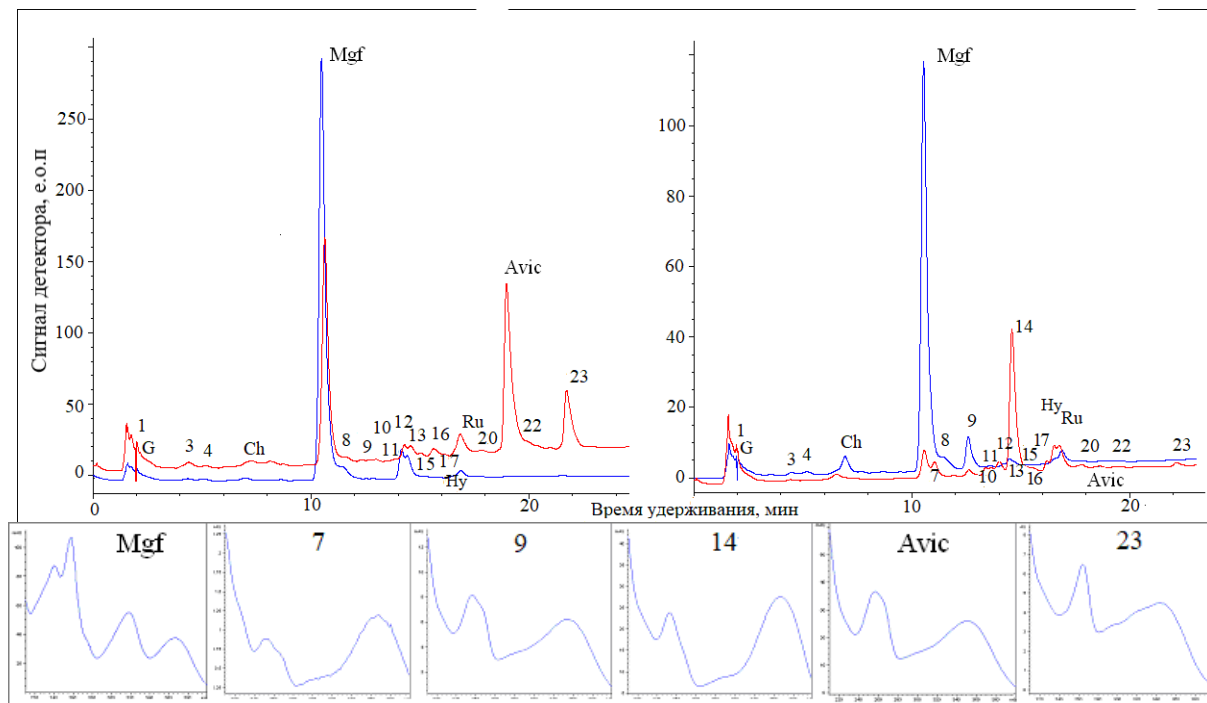


Рис. 1. Фрагменты хроматограмм экстрактов листьев (голубым цветом) и соцветий (красным цветом) *Hedysarum alpinum* (А) и *H. flavescens* (Б), спектры некоторых главных компонентов (В). Условные обозначения: G – галловая кислота, Ch – хлорогеновая кислота, Mgf – мангиферин, Hy – гиперозид, Ru – рутин, Avic – авикулярин

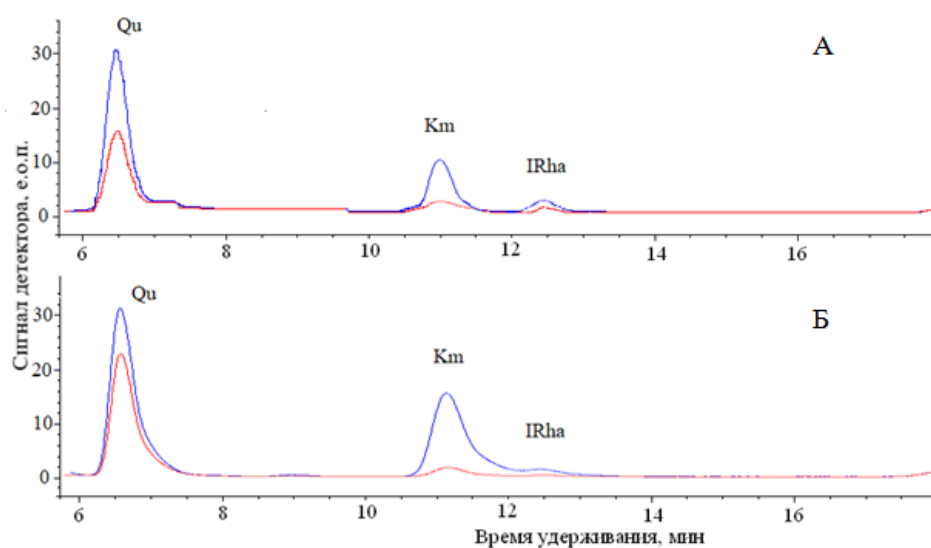


Рис. 2. Фрагменты хроматограмм гидролизатов экстрактов листьев (А) и соцветий (Б) *Hedysarum alpinum* (голубым цветом) и *H. flavescens* (красным цветом). Условные обозначения: Qu – кверцетин, Km – кемпферол, IRha – изорамнетин

Группа ксантонов представлена мангиферином и еще одним неидентифицированным компонентом. Их содержание преобладает над содержанием остальных групп ФС и варьирует в листьях *H. alpinum* двух разных лет сбора от 3644.0±148.6 до 4614.9±63.7, в соцветиях от 510.3±23.1 до 847.9±29.8 мг/100 г. В листьях *H. flavescens* сумма ксантонов составила 2911.6±79.0, в соцветиях – 76.2±2.5 мг/100 г (2018 г.). Полученные результаты соотносятся с более ранними исследованиями соединений группы ксантонов в органах наземной части *H. alpinum* и *H. flavescens*, где их содержание варьировало от 0.8 до 6.0% и от 0.8 до 5.5%, соответственно [13–15]. Так, флуороденситометрическое и спектрофотометрическое определение ксантонов после ТСХ показало значения 0.8–1.9% мангиферина и 0.05–0.07% изомангиферина в сырье *H. alpinum*, 0.8–1.4% мангиферина и 0.08–0.10% изомангиферина в сырье *H. flavescens* различных сроков сбора и мест произрастания [13, 14]. При количественном анализе ксантонов с помощью хроматоспектрофотометрии содержание мангиферина и суммы ксантонов в листьях семилетних растений *H. alpinum* при интродукции в лесостепную зону Западной Сибири (ЦСБС СО РАН) составило 4.3±0.1 и 6.0±0.1% на абсолютно-сухое сырье, соответственно; содержание в листьях *H. flavescens* – 4.0±0.1 и 5.5±0.1%, соответственно [15].

Содержание оксибензойных и оксикоричных кислот не велико. У *H. alpinum* в 2019 г. содержание этих кислот преобладало в листьях, в 2018 г. – не имело значимых отличий в листьях и соцветиях. В листьях *H. flavescens* по сравнению с соцветиями концентрация фенольных кислот выше.

Катехины не были обнаружены.

Таблица 1. Фенольные соединения в листьях и соцветиях *Hedysarum alpinum* и *H. flavescens*, в мг/100 г абсолютно-сухого сырья

Пик	t _r , мин	<i>Hedysarum alpinum</i>				<i>Hedysarum flavescens</i>	
		2018 г.		2019 г.		2018 г.	
		листья	соцветия	листья	соцветия	листья	соцветия
1hb	2	35.9±1.6 ^{cd}	26.1±1.5 ^b	38.7±3.2 ^d	19.1±1.4 ^a	38.6±2.8 ^d	30.5±2.5 ^{bc}
G	2.1	47.0±2.1 ^a	61.3±3.4 ^b	69.1±5.5 ^b	63.5±4.8 ^b	95.4±7.0 ^c	49.4±0.7 ^a
3hc	4	29.4±1.9 ^c	51.4±3.9 ^e	28.1±0.5 ^c	39.3±2.9 ^d	11.2±0.1 ^b	4.2±0.2 ^a
4hc	5.2	47.2±1.9 ^d	24.6±1.9 ^b	47.6±3.4 ^d	22.1±1.6 ^b	41.5±0.7 ^c	6.3±0.4 ^a
Ch	6.9	19.6±0.2 ^{ab}	16.9±1.2 ^a	30.7±2.5 ^c	24.9±1.8 ^{bc}	60.4±1.6 ^d	79.0±4.8 ^c
Mgf	10.6	4387.7±135.7 ^f	811.3±58.4 ^c	3482.7±308.9 ^e	490.8±44.3 ^b	2763.9±163.4 ^d	76.2±4.9 ^a
7fl	11	–	–	–	–	–	110.5±7.7
8ks	11.5	233.9±9.8 ^d	36.6±0.5 ^b	161.3±14.2 ^c	19.5±1.5 ^a	147.7±7.0 ^c	–
9fl	12.5	9.2±0.4 ^{ab}	17.1±0.2 ^c	27.4±1.8 ^d	7.2±0.5 ^a	324.2±5.3 ^e	14.7±1.1 ^{bc}
10fl	12.8	31.9±2.3 ^d	14.3±0.6 ^b	28.4±2.0 ^c	10.3±0.7 ^a	–	51.2±3.8 ^e
11fl	13.4	6.5±0.3 ^a	13.0±0.4 ^b	33.4±2.3 ^d	14.4±1.0 ^b	25.5±2.1 ^c	40.4±2.9 ^e
12fl	14.2	337.4±8.9 ^e	71.9±6.0 ^c	349.1±21.6 ^e	43.2±3.2 ^b	23.2±1.7 ^a	105.7±7.2 ^d
13fl	14.4	332.2±25.5 ^d	65.8±1.0 ^b	146.5±8.3 ^c	24.7±1.8 ^a	61.2±5.0 ^b	–
14fl	14.6	–	–	–	–	53.8±2.0 ^a	1154.8±84.8 ^b
15fl	15.2	45.0±0.3 ^c	43.4±3.2 ^c	49.7±3.5 ^d	35.0±2.6 ^b	11.6±0.8 ^a	71.0±5.0 ^e
16fl	15.6	–	63.4±4.8 ^b	–	103.0±7.7 ^c	–	49.6±3.0 ^a
17fl	15.8	50.8±4.0 ^c	26.7±1.9 ^b	58.7±3.2 ^d	65.9±4.9 ^e	20.0±1.0 ^a	62.5±4.1 ^{de}
Hу	16.6	59.7±2.6 ^b	–	84.3±2.1 ^c	–	53.5±3.3 ^a	131.2±7.7 ^d
Ru	16.8	130.2±5.7 ^a	180.0±14.4 ^{bc}	170.0±14.5 ^b	135.9±10.3 ^a	196.3±6.1 ^d	193.1±15.4 ^{cd}
20fl	17.7	52.2±4.2 ^b	46.7±0.3 ^b	121.5±7.7 ^d	32.9±2.5 ^a	61.2±5.1 ^c	60.7±4.9 ^c
Avic	18.9	76.9±6.1 ^a	1102.6±95.6 ^c	33.3±2.4 ^a	950.7±70.9 ^b	20.5±1.4 ^a	36.8±2.3 ^a
22fl	19.2	86.3±6.2 ^d	78.5±6.4 ^c	9.1±0.5 ^a	32.5±2.1 ^b	76.4±6.3 ^c	–
23fl	21.7	61.8±2.7 ^b	457.0±34.7 ^d	58.7±0.3 ^b	431.4±20.3 ^c	48.9±3.2 ^{ab}	32.7±2.0 ^a
Сумма		6074.0±73.4 ^e	3208.5±114.6 ^b	5028.3±165.4 ^d	2565.3±99.6 ^a	4134.8±77.3 ^c	2361.5±71.5 ^a
Оксибензойные кислоты		82.9±5.0 ^{ab}	87.5±2.9 ^b	107.8±2.1 ^c	82.5±6.0 ^{ab}	133.9±2.8 ^d	79.9±1.2 ^a
Оксикоричные кислоты		96.2±1.9 ^b	92.9±3.6 ^b	106.5±2.8 ^c	86.3±3.5 ^a	113.1±0.5 ^d	89.5±2.1 ^{ab}
Ксантоны		4614.9±63.7 ^f	847.9±29.8 ^c	3644.0±148.6 ^e	510.3±23.1 ^b	2911.6±79.0 ^d	76.2±2.5 ^a
Флавонолы		1280.0±6.7 ^b	2180.3±84.1 ^d	1170.1±11.9 ^b	1887.2±65.2 ^c	976.2±0.5 ^a	2116.0±73.0 ^d

Примечание. t_r – время удерживания, мин. Обозначения пиков соответствует рисунку 1. Буквенный индекс пиков: hb – оксибензойная кислота, hc – оксикоричная кислота, ks – ксантон, fl – гликозид флавонола. Средние значения в строках, за которыми следуют одинаковые буквы, не имеют значимого отличия друг от друга в соответствии с тестом Дункана при p<0.05.

Для сравнения содержания изученных групп ФС в листьях и соцветиях *H. alpinum* и *H. flavescens* 2018 года сбора применили двухфакторный дисперсионный анализ (табл. 2).

Межвидовые отличия *H. alpinum* и *H. flavescens* 2018 года сбора достоверны по содержанию всех групп ФС и их суммы. По сравнению с *H. flavescens*, у *H. alpinum* содержание ксантонов выше (в 1.6 раз в листьях и в 11 раз в соцветиях при среднем ($C_v=24.9\%$) и очень высоком ($C_v=91.7\%$) уровне изменчивости, соответственно), а содержание гликозидов флавонолов лишь немного превалирует в листьях (в 1.3 раза, при низком уровне изменчивости $C_v=14.8\%$) и не имеет достоверных отличий или чуть ниже в соцветиях ($C_v=4.9\%$). В листьях *H. flavescens* по сравнению с листьями *H. alpinum* обнаружено более высокое содержание оксibenзойных и оксикоричных кислот (в 1.6 и 1.2 раз, соответственно). Для содержания оксibenзойных кислот в листьях получен повышенный коэффициент изменчивости (26.1%), для оксикоричных – низкий (9%). В соцветиях изученных видов копеечников содержание оксibenзойных и оксикоричных кислот имело очень низкий уровень изменчивости (5.3 и 4.6%, соответственно). По сумме изученных полифенолов, растения *H. alpinum* накапливают немного больше веществ, чем растения *H. flavescens* (в 1.5 и 1.4 раза в листьях и соцветиях, соответственно, при $C_v=20.9$ и 17.2%, соответственно) (табл. 1).

Соцветия и листья изученных видов отличались по содержанию всех групп ФС и их суммы на максимальном уровне значимости. Сочетание факторов «вид» и «орган» оказывает достоверно значимое влияние на различие в содержании всех групп ФС и их суммы.

На основании результатов статистического анализа можно сделать выводы о различиях в содержании ФС *H. alpinum* в листьях и соцветиях в 2018 и 2019 годах сбора (табл. 3).

Листья и соцветия растений этого вида достоверно различаются по содержанию всех групп ФС и их суммы. Содержание оксibenзойных и оксикоричных кислот немного выше в листьях, по сравнению с содержанием в соцветиях, но лишь в один из двух годов наблюдения (2019). Листья накапливают больше ксантонов (в 5.4–7 раз) и меньше флавонолов (в 1.6–1.7 раз). Сумма всех ФС выше в листьях, чем в соцветиях в 1.9–2.0 раз (табл. 1). По эмпирической шкале С.А. Мамаева, изменчивость (C_v , %) оценена как очень низкая по содержанию оксикоричных кислот в листьях и соцветиях (6.3 и 6.9, соответственно), оксibenзойных кислот – в соцветиях (4.7), флавонолов – в листьях (5.0), как низкая – оксibenзойных кислот, ксантонов и суммы ФС в листьях (14.5, 13.3 и 10.7, соответственно), флавонолов и суммы ФС в соцветиях (9.2 и 13.0, соответственно) и как повышенная – ксантонов в соцветиях (27.7).

Таблица 2. Результаты двухфакторного дисперсионного анализа влияния видовой принадлежности (В) и органа растения (О) на содержание групп фенольных соединений *Hedysarum alpinum* и *H. flavescens*

Признак	Источники варьирования		
	В	О	В*О
Число степеней свободы	1	1	1
Оксibenзойные кислоты	***	***	***
Оксикоричные кислоты	**	***	***
Ксантоны	***	***	***
Флавонолы	**	***	*
Сумма	***	***	***

Таблица 3. Результаты двухфакторного дисперсионного анализа влияния года сбора (Г) и органа растения (О) на содержание групп фенольных соединений *Hedysarum alpinum*

Признак	Источники варьирования		
	О	Г	О*Г
Число степеней свободы	1	1	1
Оксibenзойные кислоты	***	***	***
Оксикоричные кислоты	**	n. s.	**
Ксантоны	***	***	**
Флавонолы	***	**	n. s.
Сумма	***	***	n. s.

Примечание к таблицам 2 и 3: * $p<0.05$; ** $p<0.01$; *** $p<0.001$; n. s. – недостоверно на 5% уровне значимости.

Содержание оксикоричных кислот *H. alpinum* не имело значимых отличий в 2018 и 2019 гг. сбора. В 2019 году по сравнению с 2018 годом содержание оксibenзойных кислот в листьях было выше в 1.3 раза, в соцветиях достоверных отличий по содержанию суммы этих кислот обнаружено не было. В соцветиях *H. alpinum* 2018 г. сбора больше ксантонов и флавонолов, в 1.7 и 1.2 раз, соответственно; в листьях в 1.3 раза больше ксантонов, по сравнению с 2019 годом. По содержанию флавонолов не обнаружено достоверных отличий в листьях двух годов сбора. Вариабельность (C_v , %) содержания оксibenзойных и оксикоричных кислот в 2018 г. была очень низкая (3.8 и 4.2, соответственно), в 2019 г. – низкая (14.8 и 12.7, соответственно), на протяжении двух годов наблюдения – повышенная для суммы флавонолов и суммы ФС (26.0–35.8) и очень высокая – для ксантонов (75.6 и 82.9, в 2018 и 2019 гг., соответственно).

Возможно, различия в содержании ФС в копеечниках может быть связано с отличающимися метеорологическими условиями на протяжении двух лет наблюдения. В Новосибирске в 2018 г. среднемесячная температура воздуха в июне, в период отрастания и последующей бутонизации копеечников, была выше на 2.7 градуса, чем в 2019 г. (19.1 °C). Май и июнь 2018 г., по сравнению с 2019 г., характеризовался более высокими условиями увлажненности, как и весь вегетационный период (с мая по сентябрь) и год. Возможно, более высокие температурные условия июня и повышенное количество осадков 2018 г. повлияли на увеличение содержания ксантонов в листьях и ксантонов и флавонолов в соцветиях, а также на уменьшение содержания оксibenзойных кислот в листьях *H. alpinum*.

Сочетание факторов «год» и «орган» достоверно влияет на содержание фенольных кислот и ксантонов и не достоверно – на содержание флавонолов и суммы всех групп ФС (табл. 3).

Таким образом, в водно-этанольных экстрактах листьев и соцветий растений *H. alpinum* сбора 2018–2019 гг. и *H. flavescens* 2018 г. сбора определен состав ФС, по группам (оксикоричные и оксibenзойные кислоты, ксантоны и флавонолы) и отдельным компонентам. Растения *H. alpinum* отличаются меньшим по количеству составом флавонолов по сравнению с *H. flavescens* (14 и 16 компонентов, соответственно). Кроме этого, межвидовые отличия достоверны по содержанию ФС по группам и их сумме. У *H. alpinum* в соцветиях и листьях выше содержание ксантонов, в листьях – гликозидов флавонолов. Растения *H. alpinum* накапливают сумму полифенолов выше в 1.5 и 1.4 раза, в листьях и в соцветиях, соответственно, в сравнении с *H. flavescens*. На примере *H. alpinum* было проведено статистический анализ, показывающий различия в содержании ФС в надземных органах растения (в соцветиях и листьях) и при погодичной изменчивости. Листья накапливают больше оксикоричных кислот и ксантонов и меньше флавонолов. Анализ содержания ФС в листьях и соцветиях растений *H. alpinum*, собранных в разные годы, показал, что оксibenзойные кислоты, ксантоны и флавонолы могут накапливаться неравномерно, возможно, из-за различающихся погодных условий.

Выводы

1. В листьях и соцветиях двух видов рода *Hedysarum* L. – *H. alpinum* и *H. flavescens* установлено 23 ФС, идентифицированы галловая и хлорогеновая кислоты, мангиферин, гиперозид, рутин, авикулярин. У *H. alpinum* обнаружено 14 гликозидов флавонолов, у *H. flavescens* – 16.

2. Межвидовые отличия *H. alpinum* и *H. flavescens* по содержанию ФС по группам достаточно хорошо выражены. В листьях *H. alpinum* больше ксантонов (до 4614.9 ± 63.7 мг/100 г) и флавонолов (до 1280.0 ± 6.7 мг/100 г), по сравнению с листьями *H. flavescens* (2911.6 ± 79.0 и 976.2 ± 0.5 мг/100 г, соответственно). В соцветиях *H. alpinum* концентрация ксантонов значительно выше, чем в соцветиях *H. flavescens* (510.3 ± 23.1 – 847.9 ± 29.8 и 76.2 ± 2.5 мг/100 г, соответственно). В листьях *H. flavescens* выше содержание оксibenзойных и оксикоричных кислот.

3. Показано, что содержание флавонолов в 1.6–1.7 раз выше в соцветиях по сравнению с листьями, содержание ксантонов, напротив, в 5.4–7 раз больше в листьях изученных растений.

4. Отмечена связь накопления оксibenзойных кислот, ксантонов и флавонолов в растениях *H. alpinum* с метеорологическими показателями года наблюдения.

Список литературы

1. Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование. Семейства: *Hydrangeaceae* – *Haloragaceae*. СПб., 1987. 460 с.
2. Телятьев В.В. Полезные растения Центральной Сибири. Иркутск, 1985. 384 с.

3. Флора Сибири / под ред. А.В. Положий, Л.И. Малышева. Новосибирск, 1994. Т. 9. 279 с.
4. Комаров В.Л., Шишкин Б.К., Бобров Е.Г. Флора СССР. М.; Л., 1948. Т. 13. 588 с.
5. Chattopadhyay U., Chaudhuri L., Ghosal S. Immunostimulatory activity of mangiferin, a naturally occurring xanthone-C-glucoside // *Pharmaceutical research*. 1986. Vol. 3. Pp. 307–308. DOI: 10.1023/A:1016371604578.
6. Prabhu S., Jainu M., Sabitha K.E., Devi C.S.S. Role of mangiferin on biochemical alteration and antioxidant status in isoproterenol-induced myocardial infarction in rats // *Journal of Ethnopharmacology*. 2006. Vol. 107. Pp. 126–133. DOI: 10.1016/j.jep.2006.02.014.
7. Benard O., Chi Y. Medicinal properties of mangiferin, structural features, derivative synthesis, pharmacokinetics and biological activities // *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*. 2015. Vol. 15 (7). Pp. 582–594. DOI: 10.2174/1389557515666150401111410.
8. Алпизарин. [Электронный ресурс]. URL: http://www.biomedservice.ru/preparat/libr_alpizarin.pdf.
9. Ganbaatar J., Khorolnorig O., Radnaeva L.D., Taraskin V.V., Shilo O.Yu. Flavonoids of *Hedysarum alpinum* L., growing in Mongolia // Курортная база и природные лечебно-оздоровительные местности Тувы и сопредельных регионов. 2017. №3. С. 129–132.
10. Комиссаренко А.Н., Надеждина Н.П., Комиссаренко Н.Ф. Флавоноиды и ксантоны *Hedysarum connatum* и *H. alpinum* // *Химия природных соединений*. 1994. №4. С. 564–565.
11. Фомина Л.И., Сациперова И.Ф., Бандюкова В.А. Оптимизация хроматографического разделения мангиферина и гиперозида, выделенных из надземной части *Hedysarum alpinum* L. // *Растительные ресурсы*. 1990. Т. 25, вып. 3. С. 431–437.
12. Маркова Л.П., Беленовская Л.М., Надеждина Т.П. Дикорастущие полезные растения флоры Монгольской народной республики. Л., 1985. Т. XXIII. 236 с.
13. Высочина Г.И., Кукушкина Т.А., Карнаухова Н.А., Селютин И.Ю. Флавоноиды дикорастущих и интродуцированных растений некоторых видов рода *Hedysarum* L. // *Химия устойчивого развития*. 2011. №4. С. 365–371.
14. Кривут Б.А., Федюнина Н.А., Кочерга С.И., Русакова С.В. Спектрофотометрическое определение мангиферина // *Химия природных соединений*. 1976. №1. С. 44–46.
15. Рыбаченко А.И., Кривут Б.А., Георгиевский В.П. Флуороденситометрическое определение мангиферина и изомангиферина в *Hedysarum flavescens* и *H. alpinum* // *Химия природных соединений*. 1976. №4. С. 448–450.
16. Кукушкина Т.А., Высочина Г.И., Карнаухова Н.А., Селютин И.Ю. Содержание мангиферина и суммы ксантонов в растениях некоторых дикорастущих и интродуцированных видов *Hedysarum* (*Fabaceae*) // *Растительные ресурсы*. 2011. Т. 47. №1. С. 99–106.
17. Соловьева Е.В., Хоциалова Л.И., Кривут Б.А., Глызин В.И., Майсурадзе Н.И. Содержание мангиферина у видов *Hedysarum* L., выращиваемых в Московской области // *Растительные ресурсы*. 1983. Т. 19, вып. 3. С. 356–360.
18. Кукушкина Т.А., Зиннер Н.С., Высочина Г.И., Свиридова Т.П. Содержание ксантонов в надземной части растений *Hedysarum theinum* Krasnob. и *H. alpinum* L. (*Fabaceae*) при выращивании в Сибирском ботаническом саду (Томск) // *Химия растительного сырья*. 2011. №3. С. 113–116.
19. Высочина Г.И., Кукушкина Т.А. Биологически активные вещества некоторых видов рода *Hedysarum* L. // *Химия растительного сырья*. 2011. №4. С. 251–258.
20. Зиннер Н.С., Высочина Г.И., Кукушкина Т.А., Свиридова Т.П. Биологически активные вещества *Hedysarum alpinum* L. и *H. theinum* Krasnob. (*Fabaceae*), интродуцируемых в Томскую область // *Вестник Томского государственного университета*. 2010. Т. 12. №4. С. 116–122.
21. Федорова Ю.С. Сравнительное фитохимическое исследование некоторых видов растений рода *Hedysarum*: автореф. дис. ... канд. фарм. наук. Самара, 2011. 23 с.
22. Амагельдин Е.А. К фитохимическому изучению копеечника желтоватого // *Фармакодинамика растительных и синтетических препаратов*. Алма-Ата, 1968. С. 144–145.
23. Тихонова Е.Д., Шемерянкина Т.Б., Сокольская Т.А. Алпизарин – современный препарат противовирусного действия. Усовершенствование технологии получения препарата // *Здоровье и образование в XXI веке*. 2008. Т. 10. №3. С. 395–396.
24. Сычев К.С. Методы жидкостной хроматографии и твердофазной экстракции. М., 2005. 165 с.
25. Мамаев С.А. Основные принципы методики исследования внутривидовой изменчивости древесных растений // *Индивидуальная эколого-географическая изменчивость растений*. Свердловск, 1975. Вып. 94. С. 3–14.

Поступила в редакцию 19 апреля 2021 г.

После переработки 27 мая 2021 г.

Принята к публикации 15 декабря 2021 г.

Для цитирования: Коцупий О.В., Лобанова И.Е. Фенольные соединения в листьях и соцветиях *Hedysarum alpinum* L. и *H. flavescens* Regel et Schmalh., интродуцированных в лесостепную зону Западной Сибири // *Химия растительного сырья*. 2022. №1. С. 203–212. DOI: 10.14258/jcrpm.2022019463.

*Kotsupiy O.V.**, *Lobanova I.E.* PHENOLIC COMPOUNDS IN LEAVES AND RACEMES *HEDYSARUM ALPINUM* L. AND *H. FLAVESCENS* REGEL ET SCHMALH., INTRODUCED INTO THE FOREST-STEPPE ZONE OF WESTERN SIBERIA

Central Siberian Botanical Garden SB RAS, ul. Zolotodolinskaya, 101, Novosibirsk, 630090 (Russia),
e-mail: olnevaster@gmail.com

The change in the composition and content of phenolic compounds in the leaves and racemes of *Hedysarum alpinum* L. and *H. flavescens* Regel et Schmalh., introduced into the forest-steppe zone of Western Siberia were studied. On the example of *H. alpinum*, the changes in the content of phenolic compounds depending on the year of harvest and on the plant organ (leaves, racemes) were studied. The content of individual substances (gallic, chlorogenic acids, mangiferin, hyperoside, rutin, avicularin and 17 components of a phenolic nature) and the content of phenolic compounds by groups (hydroxycinnamic and hydroxybenzoic acids, xanthenes and flavonols) were determined. Differences in the content of phenolic compounds by groups (in mg / 100 g) were found between the two species of the genus *Hedysarum* L.: xanthenes and flavonols (up to 4614.9±63.7 and 1280.0±6.7, respectively) in leaves and xanthenes (up to 847.9±29.8) in racemes in *H. alpinum* accumulated more than xanthenes and flavonols (2911.6±79.0 and 976.2±0.5, respectively) in leaves and xanthenes (76.2±2.5) in racemes *H. flavescens*. In the leaves of *H. flavescens*, in comparison with the leaves of *H. alpinum*, the content of hydroxybenzoic and hydroxycinnamic acids prevails. The leaves of the studied species accumulate the most hydroxycinnamic acids and xanthenes, while the racemes accumulate the most flavonols. The content of hydroxybenzoic acids, xanthenes, and flavonols *H. alpinum* varied significantly depending on the year of observation.

Keywords: *Hedysarum alpinum* L., *H. flavescens* Regel et Schmalh., xanthenes, flavonols, introduction, Western Siberia.

References

1. *Rastitel'nyye resursy SSSR: Tsvetkovyye rasteniya, ikh khimicheskiy sostav, ispol'zovaniye. Semeystva: Hydrangeaceae – Haloragaceae.* [Plant resources of the USSR: Flowering plants, their chemical composition, use. Families: Hydrangeaceae-Haloragaceae]. St.-Petersburg, 1987, 460 p. (in Russ.).
2. Telyat'yev V.V. *Poleznyye rasteniya Tsentral'noy Sibiri.* [Useful plants of Central Siberia]. Irkutsk, 1985, 384 p. (in Russ.).
3. *Flora Sibiri* [Flora of Siberia], ed. A.V. Polozhiy, L.I. Malyshev. Novosibirsk, 1994, vol. 9, 279 p. (in Russ.).
4. Komarov V.L., Shishkin B.K., Bobrov Ye.G. *Flora SSSR.* [Flora of the USSR]. Moscow; Leningrad, 1948, vol. 13, 588 p. (in Russ.).
5. Chattopadhyay U., Chaudhuri L., Ghosal S. *Pharmaceutical research*, 1986, vol. 3, pp. 307–308. DOI: 10.1023/A:1016371604578.
6. Prabhu S., Jainu M., Sabitha K.E., Devi C.S.S. *Journal of Ethnopharmacology*, 2006, vol. 107, pp. 126–133. DOI: 10.1016/j.jep.2006.02.014.
7. Benard O., Chi Y. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, 2015, vol. 15 (7), pp. 582–594. DOI: 10.2174/1389557515666150401111410.
8. *Alpizarin.* URL: http://www.biomedservice.ru/preparat/libr_alpizarin.pdf. (in Russ.).
9. Ganbaatar J., Khorolnorov O., Radnaeva L.D., Taraskin V.V., Shilo O.Yu. *Kurortnaya baza i prirodnyye lechebno-ozdorovitel'nyye mestnosti Tuvy i sopredel'nykh regionov*, 2017, no. 3, pp. 129–132.
10. Komissarenko A.N., Nadezhkina N.P., Komissarenko N.F. *Khimiya prirodnykh soyedineniy*, 1994, no. 4, pp. 564–565. (in Russ.).
11. Fomina L.I., Satsiperova I.F., Bandyukova V.A. *Rastitel'nyye resursy*, 1990, vol. 25, no. 3, pp. 431–437. (in Russ.).
12. Markova L.P., Belenovskaya L.M., Nadezhkina T.P. *Dikorastushchiye poleznyye rasteniya flory Mongol'skoy narodnoy respubliky.* [Wild useful plants of the flora of the Mongolian People's Republic]. Leningrad, 1985, vol. XXIII, 236 p. (in Russ.).
13. Vysochina G.I., Kukushkina T.A., Karnaukhova N.A., Selyutina I.Yu. *Khimiya ustoychivogo razvitiya*, 2011, no. 4, pp. 365–371. (in Russ.).
14. Krivut B.A., Fedyunina N.A., Kocherga S.I., Rusakova S.V. *Khimiya prirodnykh soyedineniy*, 1976, no. 1, pp. 44–46. (in Russ.).
15. Rybachenko A.I., Krivut B.A., Georgiyevskiy V.P. *Khimiya prirodnykh soyedineniy*, 1976, no. 4, pp. 448–450. (in Russ.).
16. Kukushkina T.A., Vysochina G.I., Karnaukhova N.A., Selyutina I.Yu. *Rastitel'nyye resursy*, 2011, vol. 47, no. 1, pp. 99–106. (in Russ.).
17. Solov'yeva Ye.V., Khotsialova L.I., Krivut B.A., Glyzin V.I., Maysuradze N.I. *Rastitel'nyye resursy*, 1983, vol. 19, no. 3, pp. 356–360. (in Russ.).
18. Kukushkina T.A., Zinner N.S., Vysochina G.I., Sviridova T.P. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2011, no. 3, pp. 113–116. (in Russ.).
19. Vysochina G.I., Kukushkina T.A. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2011, no. 4, pp. 251–258. (in Russ.).
20. Zinner N.S., Vysochina G.I., Kukushkina T.A., Sviridova T.P. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya*, 2010, vol. 12, no. 4, pp. 116–122. (in Russ.).

* Corresponding author.

21. Fedorova Yu.S. *Sravnitel'noye fitokhimicheskoye issledovaniye nekotorykh vidov rasteniy roda Hedysarum: avtoref. dis. ... kand. farm. nauk.* [Comparative phytochemical study of some plant species of the genus Hedysarum: author. dis. ... cand. farm. Sciences]. Samara, 2011, 23 p. (in Russ.).
22. Amagel'din Ye.A. *Farmakodinamika rastitel'nykh i sinteticheskikh preparatov.* [Pharmacodynamics of plant and synthetic preparations]. Alma-Ata, 1968, pp. 144–145. (in Russ.).
23. Tikhonova Ye.D. Shemeryankina T.B., Sokol'skaya T.A. *Zdorov'ye i obrazovaniye v XXI veke*, 2008, vol. 10, no. 3, pp. 395–396. (in Russ.).
24. Sychev K.S. *Metody zhidkostnoy khromatografii i tverdogaznoy ekstraktsii.* [Methods of liquid chromatography and solid-phase extraction]. Moscow, 2005, 165 p. (in Russ.).
25. Mamayev S.A. *Individual'naya ekologo-geograficheskaya izmenchivost' rasteniy.* [Individual ecological and geographical variability of plants]. Sverdlovsk, 1975, vol. 94, pp. 3–14. (in Russ.).

Received April 19, 2021

Revised May 27, 2021

Accepted December 15, 2021

For citing: Kotsupiy O.V., Lobanova I.E. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2022, no. 1, pp. 203–212. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.2022019463.