

УДК 582.711.711: 577.13

DOI: 10.15372/ChUR2021276

## Изменение состава и содержания флавоноидов и фенолкарбоновых кислот в листьях *Spiraea betulifolia* subsp. *aemiliana* (Rosaceae) при интродукции в условиях г. Новосибирска

В. А. КОСТИКОВА<sup>1,2</sup>, А. А. КУЗНЕЦОВ<sup>2</sup><sup>1</sup>Центральный сибирский ботанический сад СО РАН, Новосибирск (Россия)

E-mail: serebryakova-va@yandex.ru

<sup>2</sup>Томский государственный университет, Томск (Россия)

(Поступила 18.05.20; после доработки 05.08.20)

### Аннотация

Проведено сравнение состава и содержания фенольных соединений в водно-этанольных экстрактах из листьев растений *Spiraea betulifolia* subsp. *aemiliana* (Schneid.) Hara (Rosaceae), отобранных из двух природных популяций с о-ва Кунашир и в условиях интродукции в Академгородок (Новосибирск). В экстрактах обнаружены флавоноиды и фенолкарбоновые кислоты. Методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) выявлено 19 фенольных соединений в водно-этанольных экстрактах из листьев растений из природных популяций и 26 – из листьев растений интродукционной популяции. Установлены различия в ВЭЖХ-профилях фенольных соединений растений из природных и интродукционной популяций. В листьях растений интродукционной популяции обнаружено пять новых фенолоксилов и один флавонол. При переносе кустов спиреи из природы в условия интродукции также отмечено изменение содержания некоторых фенольных соединений. Мажорным компонентом в листьях растений из природных популяций является гиперозид (3.36–9.99 мг/г), из интродукционной популяции – кверцетин (2.86–5.07 мг/г). Разность в содержании кверцетина и гиперозида между растениями различных популяций статистически достоверна при уровне значимости  $P \geq 0.05$ . Концентрации хлорогеновой, *n*-кумаровой и коричной кислот, таксифолина, изокверцитрина, рутина, авикулярина, астрагалина, кемпферола в экстрактах из листьев растений из интродукционной и природной (о-в Кунашир, берег оз. Кипящее) популяций равнозначны. Выявлена неоднородность распределения отдельных фенольных соединений по фазам в экстрактах из листьев интродукционных растений *S. betulifolia* subsp. *aemiliana*.

**Ключевые слова:** Rosaceae, *Spiraea betulifolia* subsp. *aemiliana*, флавоноиды, фенолкарбоновые кислоты, ВЭЖХ

### ВВЕДЕНИЕ

Фенольные соединения – одни из наиболее распространенных представителей вторичного метаболизма в тканях растений. Они выполняют жизненно важную роль в структурной целостности, УФ-защите, размножении растений, регуляции физиологических функций и пере-

даче сигналов растительных клеток [1, 2]. Благодаря высокой биологической активности растительные полифенолы успешно используются в промышленности, а также в медицине и фармакологии в качестве веществ, обладающих антиоксидантными, нейрорегуляторными, капилляроукрепляющими, иммуномодулирующими, противораковыми и другими свойствами [2–6]. Синтез

и накопление веществ вторичного метаболизма во времени зависит от вида растения, типа вторичного метаболита и его физиологической роли и особенно от внешних факторов. Общих закономерностей в изменении вторичного метаболизма в онтогенезе растений, по-видимому, не существует [7–9]. Поэтому сравнительное исследование состава и содержания фенольных соединений у растений в природе и при интродукции, а также динамики их накопления необходимо проводить индивидуально для каждого вида растения.

Представители рода *Spiraea* L. (спирея) отличаются высокой декоративностью, имеют множество форм и сортов, являются медоносными растениями, обладают разнообразной биологической активностью и другими полезными свойствами [10, 11]. Вид *S. betulifolia* subsp. *aemiliana* (Schneid.) Nara. (syn. *S. aemiliana* Schneid.) входит в состав полиморфного комплекса растений секции *Calospira* C. Coch. рода *Spiraea* (Rosaceae Juss.), произрастает только на островной восточной части России (о-в Сахалин, Курильские о-ва) и в Японии. Отличительные признаки подвида: высота до 30 см, компактная крона, густые белые щитковидные соцветия, мелкая округлая листовая пластинка и отсутствие опушения веточек соцветия, а также ряд метрических признаков, средние значения которых не перекрываются со средними значениями близкородственных таксонов *S. betulifolia* Pall. и *S. beauverdiana* C. K. Schneid. [12–14]. Исследование состава и содержания фенольных соединений в листьях *S. betulifolia* subsp. *aemiliana* из природных популяций выявило перспективность данного растения как источника флавоноидов, особенно флавонолов – гиперози-

да, изокверцитрина, рутина, кверцетина, кемпферола, астрагалина [15]. Флавоноиды проявляют антиоксидантные, противовоспалительные, нейротропные и другие важнейшие фармакологические свойства [2]. Близкородственные виды к *S. betulifolia* subsp. *aemiliana* обладают хозяйственно полезными свойствами. Растение *S. betulifolia* проявляет антимикробную активность, на Чукотке используется как заменитель чая, а также имеет кормовое значение. Сок листьев показал фитонцидную активность [10, 16]. Листья и цветки *S. betulifolia* и *S. beauverdiana* содержат различные биологически активные вещества и проявляют антиоксидантную и противовирусную активность [17, 18].

Цель работы – сравнительное исследование фенольных соединений в листьях *S. betulifolia* subsp. *aemiliana* в природе и при интродукции методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

#### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Объектом для исследования фенольных соединений послужили листья *S. betulifolia* subsp. *aemiliana*. Материал собран в 2016 г. в двух природных популяциях о-ва Кунашир (П1 и П2) и на интродукционном участке лаборатории фитохимии Центрального сибирского ботанического сада СО РАН (ЦСБС СО РАН, Академгородок, г. Новосибирск) в фазах бутонизации (И1), цветения (И2) и плодоношения (И3) в 2017 г., а также в фазе цветения в 2018 г. (И4) и в 2019 г. (И5) (табл. 1). Растения на интродукционный участок привезены с о-ва Кунашир, кальдера влк. Головнина, берег оз. Кипящее (П2). Для ис-

ТАБЛИЦА 1

Характеристика исследованных образцов *S. betulifolia* subsp. *aemiliana*

Образец	Место сбора	Дата сбора	Фаза вегетации
П1	Курильские о-ва, о-в Кунашир, Курильский заповедник, руч. Кислый, приток р. Лесная; заболоченный берег; еловый замшелый лес	03.07.2016 г.	Цветение– плодоношение
П2	Курильские о-ва, о-в Кунашир, Курильский заповедник, кальдера влк. Головнина, берег оз. Кипящее; каменистые россыпи, кустарничковая тундра	27.07.2016 г.	Цветение– плодоношение
И1	г. Новосибирск, Академгородок, экспериментальный участок ЦСБС СО РАН	28.06.2017 г.	Бутонизация
И2	То же	17.07.2017 г.	Цветение
И3	»	30.08.2017 г.	Плодоношение
И4	»	19.07.2018 г.	Цветение
И5	»	22.07.2019 г.	То же

следования отбирались только здоровые экземпляры, не пораженные заболеваниями и вредителями. Климат исследуемых районов различается по гидротермическим условиям и инсоляции. Климат о-ва Кунашир типично морской, характерный для умеренных широт. Наблюдается незначительное влияние муссонов, обилие атмосферных осадков (до 1100–1400 мм/год) и высокая влажность (средняя относительная влажность воздуха 80 %). Продолжительность безморозного периода до 190 сут. Сумма активных температур по о-ву Кунашир в среднем составляет ~1700 °С. Для острова характерна резкая смена погоды в течении суток, мягкая зима и прохладное лето. Уровень инсоляции по многолетним данным в июне составляет 4.16 кВт/м<sup>2</sup> в г. Южно-Курильске [19]. Климат г. Новосибирска континентальный, средняя продолжительность безморозного периода – до 120 сут, сумма активных температур (выше 10 °С) – 1920 °С, общее годовое количество осадков – 425 мм. Новосибирская область характеризуется более высокой инсоляцией, которая по многолетним данным в июне составляет 5.02 кВт/м<sup>2</sup> [20].

Листья высушивали на воздухе в затененном месте. После сушки сырье измельчали до 2–3 мм, перемешивали и отбирали репрезентативную пробу.

Для изучения фенольных соединений использовали водно-этанольные извлечения (40 %) из листьев *S. betulifolia* subsp. *aemiliana*, полученные экстракцией на водяной бане. Точную навеску (0.5000 г) измельченного воздушно-сухого материала экстрагировали дважды: сначала 30 мл – в течение 30 мин, затем 20 мл – в течение 20 мин. После фильтрации остаток в колбе и на фильтре промывали 5 мл 40 % этанола. Далее объединенный экстракт концентрировали в фарфоровых чашечках до 10–15 мл (точный объем). Анализ проводили в двух повторностях [21].

Для освобождения от примесей 1 мл водно-этанольного экстракта разбавляли бидистиллированной водой до 5 мл и пропускали через концентрирующий патрон Диапак С16 (ЗАО «БиоХимМак», Россия). Вещества смывали с патрона небольшим количеством 40 % этанола (3 мл), а затем 96 % этанолом (2 мл). Объединенный элюат пропускали через мембранный фильтр с диаметром пор 0.45 мкм.

Анализ фенольных соединений, содержащихся в элюате, проводили с помощью аналитической ВЭЖХ-системы, состоящей из жидкостного хроматографа Agilent 1200 (Agilent Techno-

logies, США) с диодно-матричным детектором, автосамплером и системой для сбора и обработки хроматографических данных ChemStation, модифицировав методику Т. А. van Beek [22]. Колонка Agilent Zorbax SB-C18, 4.6 × 150 мм, 5 мкм. Разделение проводили при градиенте метанола в водном растворе 0.1 % ортофосфорной кислоты в режиме: от 31 до 33 % – в течение 27 мин, далее от 33 до 46 % – за 11 мин, затем от 46 до 56 % – за 12 мин и от 56 до 100 % – за 4 мин (система I). Скорость потока элюента 1 мл/мин. Температура колонки 26 °С. Объем вводимой пробы 10 мкл. Детектирование осуществляли при длинах волн  $\lambda = 254, 270, 290, 340, 360$  и  $370$  нм. Для приготовления стандартных образцов использовали коричную кислоту (Serva, Германия), таксифолин (Austrowaren, Австрия), хлорогеновую и *n*-кумаровую кислоты, кверцетин, кемпферол (Sigma-Aldrich, Германия), изокверцитрин, рутин, авикулярин, астрагалин и гиперозид (Fluka, Германия). Стандартные растворы готовили в концентрации 10 мкг/мл. Известные соединения идентифицировали путем сравнения со стандартными образцами. Количественное определение индивидуальных компонентов в образцах растений проводили по методу внешнего стандарта [22]. Содержание неидентифицированных компонентов рассчитывали по стандартным площадям пиков гиперозида (для флавоноидов) и хлорогеновой кислоты (для фенолокислот) [23, 24].

Содержание индивидуальных компонентов ( $C_x$ ) вычисляли по формуле (в мг/г от массы абсолютно сухого сырья):

$$C_x = C_{\text{ст}} S_1 V_1 V_2 / (S_2 M V_3)$$

где  $C_{\text{ст}}$  – концентрация соответствующего стандартного раствора флавонола, мг/мл;  $S_1$  – площадь пика флавонола в анализируемой пробе, единицы оптической плотности (е. о. п.);  $V_1$  – объем элюата после вымывания флавонолов с концентрирующего патрона, мл;  $V_2$  – общий объем экстракта, мл;  $S_2$  – площадь пика стандартного флавонола, е. о. п.;  $M$  – масса навески, г;  $V_3$  – объем экстракта, взятый на анализ, мл.

Для выявления статистически значимых различий использовали дисперсионный анализ (ANOVA) с последующим тестом Тьюки (HSD). В работе обсуждаются различия, достоверные при уровне значимости  $P \geq 0.05$ . Для статистической обработки результатов использовали пакет программ Statistica 10. Значения приведены в виде: среднее арифметическое ± ошибка среднего.

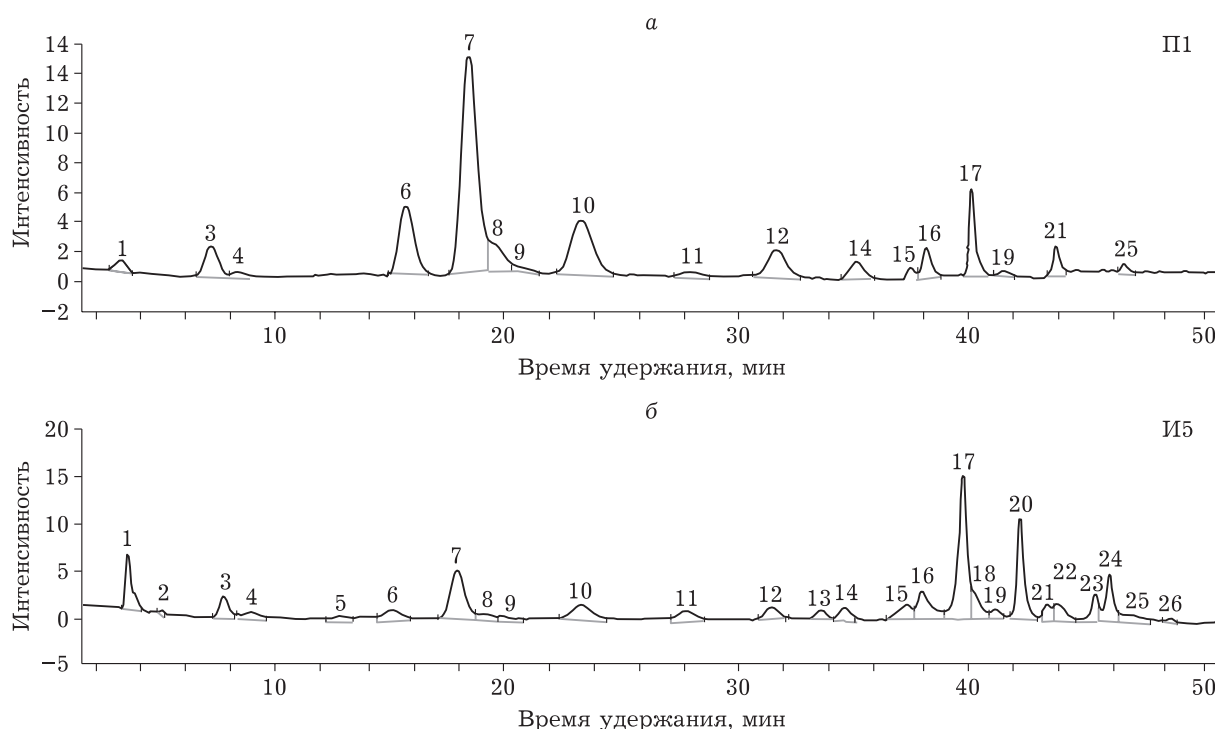


Рис. 1. Хроматограммы 40 % водно-этанольных экстрактов из листьев *S. betulifolia* subsp. *aemiliana*. Измерения выполнены при длине волны детектора  $\lambda = 360$  нм; номера пиков соответствуют соединениям, приведенным в табл. 2.

**РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ**

Исследование состава фенольных соединений показало, что в водно-этанольных извлечениях из листьев *S. betulifolia* subsp. *aemiliana* содержится 26 соединений (рис. 1, табл. 2). Из них идентифицированы коричная кислота и оксикоричные кислоты (хлорогеновая и *n*-кумаровая), флавонолы (кверцетин, кемпферол, гиперозид, изокверцитрин, рутин, авикулярин, астрагалин) и дигидрофлавонол (таксифолин). Остальные компоненты не идентифицированы, но в процессе хроматографирования в режиме “online” были зарегистрированы их УФ-спектры. Неидентифицированные соединения согласно спектральным характеристикам отнесены к флавонолам (длина волны максимума поглощения  $\lambda_{max} = 250-270, 350-390$  нм), фенокарбоновым кислотам – оксibenзойным ( $\lambda_{max} = 235-270, 290-305$  нм) или оксикоричным кислотам ( $\lambda_{max} = 230-240, 290-320$  нм) и флавонам ( $\lambda_{max} = 250-270, 210-350$  нм) [1, 25]. Состав фенольных соединений из листьев спиреи в основном представлен флавонолами и фенолкарбоновыми кислотами. Обнаружен в листьях исследуемого растения также один флавонол.

В водно-этанольных экстрактах из листьев спиреи из двух природных популяций выявлено по 17 соединений (табл. 2). Имеются некото-

рые отличия в фенольных профилях экстрактов из листьев *S. betulifolia* subsp. *aemiliana* из природных популяций. В растениях из популяции П1 содержится таксифолин и флавонол 15, которых нет в листьях растений другой популяции. В листьях растений из популяции П2 присутствуют дополнительные соединения (фенолокислота 13 и флавонол 26), которые не выявлены в популяции П1. Всего в экстрактах из листьев спиреи из природных популяций обнаружено 19 соединений (см. табл. 2). Основные соединения, определенные у *S. betulifolia* subsp. *aemiliana* из природных популяций, – гиперозид, изокверцитрин, астрагалин, кверцетин, *n*-кумаровая кислота, флавонолы 6 и 16, флавонол 10 (см. рис. 1, табл. 3). В листьях растений из популяции П1 кроме перечисленных веществ к основным соединениям относится коричная кислота, а из популяции П2 – кемпферол.

Состав и содержание фенольных соединений в листьях образцов *S. betulifolia* subsp. *aemiliana* из интродукционной популяции, привезенной из П2 (берег оз. Кипящее), изучали в фазе цветения растений в 2017 г. (И2), 2018 г. (И4) и 2019 г. (И5) (см. табл. 1 и 2). Фенольный профиль листьев растений из интродукционной популяции *S. betulifolia* subsp. *aemiliana* существенно изменился по сравнению с природными популяциями (см. рис. 1, табл. 2). В листьях образцов интроду-

ТАБЛИЦА 2

Характеристика фенольных соединений, обнаруженных в 40 % водно-этанольных экстрактах из листьев растений *S. betulifolia* subsp. *aemiliana*

№ пика	Соединение	Время удерживания ( $t_R$ ), мин	Спектральная характеристика ( $\lambda_{max}$ ), нм	Образец
1	Хлорогеновая кислота	3.2	244, 300 пл, 330	П1, П2, И1–И5
2	Фенолоксиклота*	4.7	235, 315	И2–И5
3	<i>n</i> -Кумаровая кислота	7.9	226, 293, 320	П1, П2, И1–И5
4	Таксифолин	8.5	290	П1, И1–И5
5	Фенолоксиклота*	13.8	235, 320	И2–И5
6	Флавонол	15.2	250, 265, 355	П1, П2, И1–И5
7	Гиперозид	18.0	225, 268 пл, 355	П1, П2, И1–И5
8	Изокверцитрин	19.3	259, 266 пл, 358	П1, П2, И2–И5
9	Рутин	20.0	256, 358	П1, П2, И2–И5
10	Флавонол*	23.8	250, 340	П1, П2, И1–И5
11	Авикулярин	28.4	260, 270 пл, 360	П1, П2, И1–И5
12	Астрагалин	32.5	265, 300 пл, 350	П1, П2, И1–И5
13	Фенолоксиклота*	34.2	240, 300 пл, 330	П2, И1–И5
14	Коричная кислота	35.9	216, 270	П1, П2, И2–И5
15	Флавонол*	37.8	260, 300 пл, 360	П1, И2–И5
16	Флавонол*	38.1	265, 300 пл, 355	П1, П2, И1–И5
17	Кверцетин	40.6	255, 372	П1, П2, И1–И5
18	Фенолоксиклота*	41.5	225, 300 пл, 315	И2–И5
19	Флавонол*	42.0	255, 300 пл, 355	П1, П2, И1–И5
20	Фенолоксиклота*	43.1	255, 265 пл, 315	И1–И5
21	Фенолоксиклота*	44.0	235, 300 пл, 315	П1, П2, И1–И5
22	Компонент 22	44.4	–**	И1–И5
23	Флавонол*	45.7	270, 300 пл, 350	И1–И5
24	Фенолоксиклота*	46.1	270, 300 пл, 315	И1–И5
25	Кемпферол	46.9	266, 370	П1, П2, И1–И5
26	Флавонол*	48.3	250, 300 пл, 360	П2, И2–И5

Примечание. пл – плечо.

\* Группа веществ определена по спектральным характеристикам [1, 25].

\*\* Отсутствует.

цированной популяции обнаружено 26 веществ фенольной природы. Добавились дополнительные компоненты: фенолоксиклоты 2, 5, 18, 20 и 24, флавонол 23 и компонент 22. В водно-этанольных экстрактах из растений популяции в культуре обнаружен весь спектр веществ. Кроме состава изменилось также содержание фенольных соединений в листьях интродуцированных образцов. Основные компоненты в листьях популяции в культуре – гиперозид, астрагалин, кверцетин, флавонол 10, флавонол 16, фенолоксиклоты 20 и 24 (см. рис. 1, табл. 3).

Содержание фенольных соединений в листьях *S. betulifolia* subsp. *aemiliana* рассчитано для идентифицированных соединений и основных неидентифицированных веществ, концентрация которых в экстрактах более 1 мг/г (см. табл. 3). В листьях растений из природной популяции П1 обнаружено самое высокое со-

держание *n*-кумаровой (1.37 мг/г) и коричной (0.92 мг/г) кислот, гиперозид (9.99 мг/г), изокверцитрина (1.11 мг/г), астрагалина (1.90 мг/г) и флавонола 6 (3.05 мг/г). В растениях из популяции П2 установлено самое высокое содержание основного компонента – флавонола 16 (2.96 мг/г). Разность в содержании этих компонентов статистически достоверна при  $P \geq 0.05$ . Концентрация основного компонента флавонола 6 в листьях *S. betulifolia* subsp. *aemiliana* из природных популяций (3.05 мг/г – в П1 и 1.63 мг/г – в П2) статистически достоверно выше, чем в листьях растений интродукционной популяции (0.50–0.85 мг/г). Содержания хлорогеновой, *n*-кумаровой и коричной кислот, таксифолина, изокверцитрина, рутина, авикулярина, астрагалина, кемпферола и других неидентифицированных флавонолов и фенолоксиклот равновалны в экстрактах из листьев



ТАБЛИЦА 3

Содержание фенольных соединений, идентифицированных и основных неидентифицированных ( $C \geq 1$  мг/г), в экстрактах из листьев растений *S. betulifolia* subsp. *aemiliana* (мг/г от массы абсолютно сухого сырья)

№ пика	Соединение	Образец				
		Природная популяция		Интродукционная популяция		
		П1	П2	И2	И4	И5
1	Хлорогеновая кислота	0.42±0.03 b	0.16±0.03 b	0.32±0.03 b	0.79±0.06 a	1.01±0.09 a
3	<i>n</i> -Кумаровая кислота	1.37±0.07 a	0.59±0.04 b, c	0.34±0.04 c	0.54±0.05 b, c	0.84±0.09 b
4	Таксифолин	0.59±0.05 a	–	0.22±0.03 b	0.24±0.07 b	0.56±0.05 a
6	Флавонол 6	3.05±0.10 a	1.63±0.10 b	0.50±0.02 b	0.67±0.04 b	0.85±0.06 b
7	Гиперозид	9.99±0.13 a	3.36±0.07 b	2.20±0.10 c	1.39±0.06 d	1.70±0.10 c, d
8	Изокверцитрин	1.11±0.06 a	0.63±0.10 b	0.49±0.06 b, c	0.21±0.09 c	0.28±0.03 b, c
9	Рутин	0.27±0.07 a	0.18±0.07 a	0.40±0.05 a	0.14±0.03 a	0.19±0.03 a
10	Флавонол 10	1.13±0.05 a	1.19±0.06 a	0.77±0.04 b	1.31±0.06 a	1.33±0.05 a
11	Авикулярин	0.53±0.08 a, b	0.32±0.07 b	0.20±0.05 b	0.34±0.05 a, b	0.68±0.05 a
12	Астрагалин	1.90±0.09 a	0.78±0.08 c	0.78±0.05 c	1.24±0.06 b	0.65±0.06 c
14	Коричная кислота	0.92±0.07 a	0.09±0.06 c	0.28±0.03 b, c	0.27±0.04 b, c	0.43±0.07 b
16	Флавонол 16	0.88±0.07 c	2.96±0.07 a	1.43±0.08 b	1.00±0.04 b	1.56±0.11 b
17	Кверцетин	1.43±0.08 d	2.02±0.13 c	2.97±0.07 b	2.86±0.14 b	5.07±0.07 a
20	Фенолокислота 20	–	–	2.22±0.09 b	1.90±0.10 b	2.66±0.09 a
24	Фенолокислота 24	–	–	0.88±0.04 b	0.92±0.07 b	1.49±0.04 a
25	Кемпферол	0.29±0.03 b	0.77±0.05 a	0.32±0.04 b	0.19±0.06 b	0.75±0.10 a

Примечание. Здесь и в табл. 4: 1. Прочерк – вещество не обнаружено. 2. Значения представлены в виде: среднее значение из трех измерений±ошибка среднего. 3. a–d – результаты сравнения по тесту Тьюки (уровень значимости  $P \leq 0.05$ ).

растений интродукционной популяции и природной (П2), откуда были привезены культивируемые растения.

Мажорным компонентом в экстрактах из листьев природных популяций является гиперозид. Самое высокое содержание гиперозида обнаружено в природной популяции П1 (9.99 мг/г), в популяции П2 оно в три раза ниже (3.36 мг/г). В листьях *S. betulifolia* subsp. *aemiliana* из интродукционной популяции можно проследить снижение содержания гиперозида. На второй год культивирования кустов спиреи в ЦСБС СО РАН (И2) выявлено самое высокое его содержание (2.20 мг/г). Далее концентрация гиперозида в листьях спиреи уменьшается в 1.6 раз на третий год интродукции (И4) и в 1.3 раза – на четвертый год (И5) по сравнению с первым годом культивирования растений. Разность в содержании гиперозида в листьях природных и интродукционной популяций статистически достоверна при  $P \geq 0.05$ . Мажорным компонентом в листьях растений из интродукционной популяции является кверцетин. Его концентрация в листьях по сравнению с природными популяциями (1.43 мг/г – П1 и 2.02 мг/г – П2) значительно возрастает от 2.86 мг/г (2018 г.) до 5.07 мг/г (2019 г.). Разность в содержании кверцетина в

водно-этанольных экстрактах из листьев природных и интродукционной популяций статистически достоверна при  $P \geq 0.05$ . Можно проследить постепенное увеличение содержания и других идентифицированных соединений в водно-этанольных экстрактах из листьев (например, хлорогеновой, *n*-кумаровой, коричной кислот, кемпферола, таксифолина, авикулярина, флавонола 6, флавонола 10 и фенолокислоты 24). В листьях интродукционной популяции максимальное количество этих соединений обнаружено в 2019 г. Содержание рутина, изокверцитрина и гиперозида, наоборот, снижается. Максимальная их концентрация наблюдается в листьях растений в 2017 г. Возможно, таким образом путем регулирования содержания разных соединений происходит постепенное приспособление фенольного метаболизма *S. betulifolia* subsp. *aemiliana* к условиям Академгородка г. Новосибирска. В 2018 г. зафиксирован некоторый спад концентрации гиперозида, изокверцитрина, рутина, кемпферола, кверцетина, флавонола 16 и фенолокислоты 20 в листьях спиреи из культуры по сравнению с образцами, собранными в 2017 и 2019 гг.

Выявленные различия в составе и содержании фенольных соединений в листьях спиреи

из природных и культурных образцов, привезенных из природных популяций, вероятно, обусловлены разными климатическими условиями регионов. На синтез фенольных соединений особое влияние оказывает УФ-радиация и гидротермический стресс. Отмечено увеличение содержания флавоноидов у растений под действием повышенной солнечной инсоляции [26, 27]. В листьях *Lonicera caerulea* subsp. *altaica* (Pall.) Gladkova наблюдается рост содержания производных гидроксикоричных кислот и флавонолов в засушливый 2012 г. (более чем в 2 раза) по сравнению с влажным и холодным 2013 г. [28]. Увеличение общего количества флавоноидов в листьях *Cyclocarya paliurus* (Batal.) Pjinskaja определяется при более низких температурах. Такая особенность связана с высоким уровнем активных форм кислорода. Флавоноиды оказывают ингибирующее действие на активные формы кислорода [29]. Изменения в составе фенольных соединений в растениях при переносе в условия интродукции происходят не всегда. Часто при одинаковом хроматографическом профиле меняется содержание веществ у растений. Данные особенности наблюдаются для некоторых представителей семейства Rosaceae при интродукции в условиях Академгородка г. Новосибирска. Например, сравнительный анализ ВЭЖХ-хроматограмм показал, что в целом фенольный состав и суммарное содержание листьев близкого к спиреям растения *Sibiraea altaicensis* (Laxm.) Schneid. из природных популяций Горного Алтая и интродукционной популяции в Академгородке г. Новосибирска сходны [30]. Однако выявлено, что в интродуцированных растениях сумма гликозидов кверцетина снижается в три раза, гликозидов изорамнетина – в два раза, а гликозидов кемпферола, наоборот, повышается по сравнению с природными растениями. Следовательно, меняется количественное содержание отдельных компонентов при одинаковом составе веществ. Подобные закономерности прослеживаются при изучении содержания отдельных флавоноидов у другого представителя семейства Rosaceae – *Pentaphylloides fruticosa* (L.) O. Schwarz [27]. В условиях Республики Алтай наблюдается повышенное содержание в органах надземной части *P. fruticosa* гиперозида, изокверцитрина, рутина, гликозида эллаговой кислоты, кверцетина и кемпферола по сравнению с интродуцированными новосибирскими экземплярами. Вероятно, для этих растений создается экологический оптимум в условиях культуры, поэтому происходит снижение содержания

фенольных соединений. В случае ухудшения условий произрастания в культуре (по сравнению с природными) их концентрация в экстрактах из растений увеличивается [28, 31]. При интродукции *Lonicera caerulea* subsp. *pallasii* из южно-таежной подзоны и Горного Алтая в условия правобережной лесостепи Приобья (Новосибирск) содержание в листьях дикофеилхинной кислоты, флавонолов и флавонов увеличивалось во много раз по сравнению с природными популяциями. Авторы считают, что низкая влагообеспеченность – основной стрессующий фактор, вызывающий резкое увеличение уровня накопления флавоноидов и гидроксикоричных кислот в лесостепной зоне для *L. caerulea* subsp. *pallasii* [28]. Морской климат о-ва Кунашир отличается повышенной влажностью, что способствует накоплению гликозидов кверцетина (гиперозида, рутина, изокверцитрина) в листьях спиреи. Для континентального климата г. Новосибирска характерны более высокая инсоляция и не такое обилие осадков. Скорее всего, в условиях Академгородка под действием повышенной инсоляции и более сухого климата реализуются потенциальные возможности спиреи к синтезу дополнительных соединений (фенолкарбоновых кислот и флавоноидов), а также к уменьшению концентрации гиперозида, рутина и изокверцитрина и увеличению содержания хлорогеновой, *n*-кумаровой и коричной кислот, кемпферола, таксифолина, авикулярина, флавонола 6, флавонола 10 и фенолокислоты 24. Наблюдаемый в 2018 г. спад концентрации гиперозида, изокверцитрина, рутина, кемпферола, флавонола 16, кверцетина и фенолокислоты 20 в листьях спиреи из культуры (по сравнению с образцами, собранными в 2017 и 2019 гг.), возможно, также связан с климатическими условиями.

На климатограммах видно (рис. 2), что июнь и июль 2017 г. выделяются обилием дождей по сравнению с многолетними показателями. Июль 2019 г. – дождливый, а предшествующий ему июнь – прохладный и сухой. Июль 2018 г. не отличался по температурным данным и осадкам от многолетних данных. Вероятно, условия повышенной влажности в июле 2017 и 2019 гг. способствовали более высокому накоплению некоторых соединений в листьях *S. betulifolia* subsp. *aemiliana* в эти вегетационные сезоны. Зависимость содержания фенольных соединений в растениях от количества выпадаемых осадков в конкретный вегетационный сезон была выявлена ранее. В некоторых случаях повышенное содержание фенольных соединений в растениях

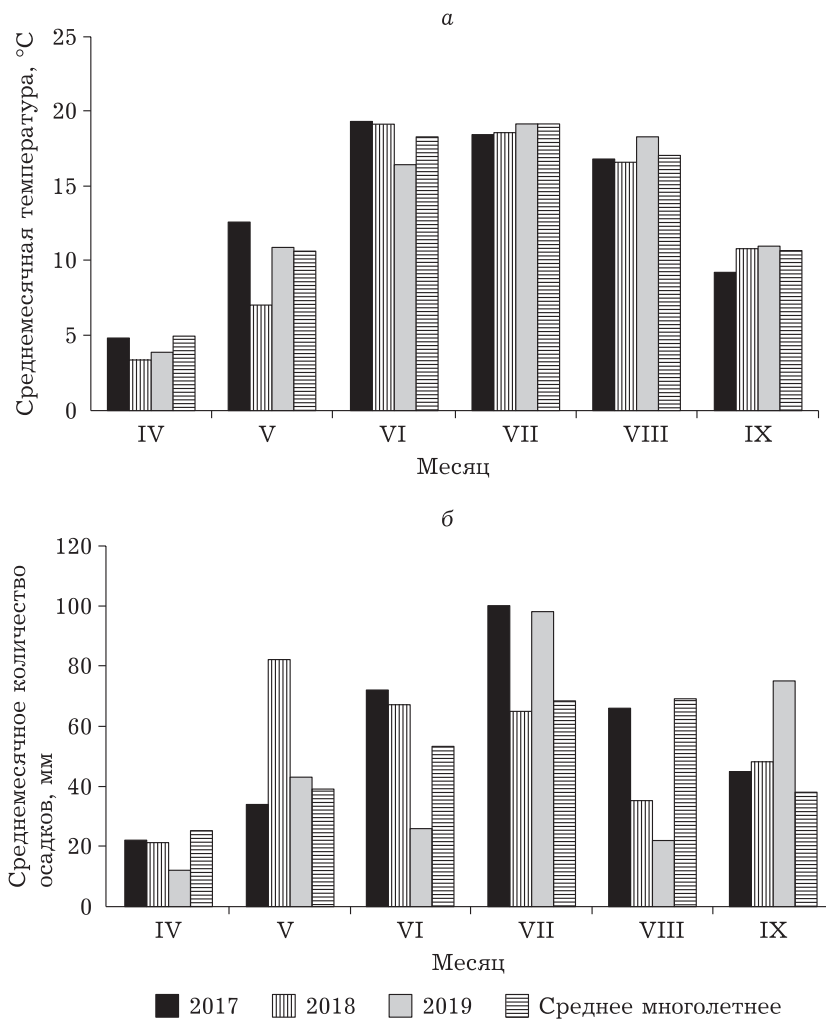


Рис. 2. Среднемесячные и средние многолетние значения температуры (а) и количества осадков (б) за 2017–2019 гг. для г. Новосибирска [32].

обнаружено в засушливые годы [28], в других, наоборот, наблюдается снижение содержания фенольных соединений в условиях засухи [33]. Так, например, значительное и резкое увеличение количества осадков вызвало повышенный синтез розмариновой кислоты в листьях *Salvia officinalis* L. [34]. Ответ растений на стрессовые факторы (в том числе количество выпадаемых осадков) индивидуален для каждого вида, и общих закономерностей выявить невозможно.

Содержание фенольных соединений, а также всех остальных вторичных метаболитов зависит от фазы вегетации растений. Различия в динамике накопления отдельных фенольных соединений наблюдаются даже у близких видов [35]. Исследование сезонности накопления фенольных соединений крайне важно при выборе сроков сбора сырья для дальнейшего применения в фармацевтической или пищевой промышленности [34]. Анализ сезонной динамики

накопления фенольных соединений в листьях *Spiraea media* var. *sericea* (Turcz.) Regel показало, что содержание флавонолгликозидов гипериозида и рутина постепенно увеличивалось и достигало максимума в фазе плодоношения, а некоторые флавонолгликозиды доминировали в сумме флавоноидов в фазе цветения [36].

Накопление идентифицированных флавоноидов и фенолкарбоновых кислот в листьях *S. betulifolia* subsp. *aemiliana* по фазам вегетации также оказалось неоднородным (табл. 4). Состав и содержание фенольных соединений в листьях этого растения из интродукционной популяции изучали в 2017 г. по фазам развития растений: бутонизации (И1), цветения (И2) и плодоношения (И3) (см табл. 1). В листьях спиреи в фазе бутонизации обнаружены не все вещества – отсутствуют рутин, изокверцитрин, коричная кислота, фенолокислоты 2 и 5 (см. табл. 2). В остальные фазы в экстракте из листьев представлен



ТАБЛИЦА 4

Содержание фенольных соединений, идентифицированных и основных неидентифицированных ( $C \geq 1$  мг/г), в экстрактах из листьев растений *S. betulifolia* subsp. *aemiliana* в зависимости от фазы вегетации (мг/г от массы абсолютно сухого сырья)

№ пика	Соединение	Образец		
		И1	И2	И3
1	Хлорогеновая кислота	0.75±0.05 a	0.32±0.03 b	0.43±0.07 b
3	<i>n</i> -Кумаровая кислота	0.26±0.06 a	0.34±0.04 a	0.48±0.03 a
4	Таксифолин	0.15±0.04 a	0.22±0.03 a	0.34±0.06 a
6	Флавонол 6	0.27±0.04 c	0.50±0.02 b	0.85±0.05 a
7	Гиперозид	0.39±0.05 c	2.20±0.10 a	1.47±0.09 b
8	Изокверцитрин	–	0.49±0.06 a	0.22±0.07 a
9	Рутин	–	0.40±0.05 a	0.24±0.06 a
10	Флавонол 10	0.30±0.05 c	0.77±0.04 b	1.32±0.03 a
11	Авикулярин	0.47±0.03 a	0.20±0.05 b	0.34±0.05 a, b
12	Астрагалин	0.49±0.04 c	0.78±0.05 b	1.28±0.04 a
14	Коричная кислота	–	0.28±0.03 a	0.28±0.07 a
16	Флавонол 16	0.40±0.05 c	1.43±0.08 a	0.95±0.10 b
17	Кверцетин	1.23±0.07 c	2.97±0.07 a	1.96±0.09 b
20	Фенолоксикислота 20	2.13±0.08 a	2.22±0.09 a	1.45±0.06 b
24	Фенолоксикислота 24	0.69±0.04 b	0.88±0.04 a	0.59±0.04 b
25	Кемпферол	0.23±0.03 a	0.32±0.04 a	0.18±0.05 a

Примечание. Обозн. см. табл. 3.

весь спектр веществ. Самое высокое содержание в листьях хлорогеновой кислоты (0.75 мг/г) и авикулярина (0.47 мг/г) можно наблюдать в фазе бутонизации. Затем содержание данных соединений в фазе цветения уменьшается, а в фазе плодоношения – несколько увеличивается. Количество коричной кислоты не изменяется по фазам развития растений. Концентрация *n*-кумаровой кислоты, таксифолина, астрагалина, флавонола 6, флавонола 10 постепенно возрастает от стадии бутонизации к стадии плодоношения. Максимальное содержание остальных флавонолов – гиперозида (2.20 мг/г), изокверцитрина (0.49 мг/г), рутина (0.40 мг/г), кверцетина (2.97 мг/г), кемпферола (0.32 мг/г), флавонола 16 (1.43 мг/г), фенолоксикислоты 20 (2.22 мг/г) и фенолоксикислоты 24 (0.88 мг/г) – наблюдается в фазе цветения растений, а в фазах бутонизации и плодоношения оно снижается.

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Методом ВЭЖХ в водно-этанольных экстрактах из листьев растений *S. betulifolia* subsp. *aemiliana* выявлено 26 фенольных соединений с высокой биологической активностью. Установ-

лены различия в профилях фенольных соединений растений из интродуцированной и природных популяций. Отмечено изменение содержания отдельных фенольных соединений в листьях спиреи при переносе кустов из природы в условия интродукции. Мажорным компонентом в листьях растений из природных популяций является гиперозид, а в листьях растений интродукционной популяции – кверцетин. Выявлена неоднородность распределения отдельных фенольных соединений по фазам в экстрактах из листьев интродукционных растений *S. betulifolia* subsp. *aemiliana*. Данные изменения в составе и содержании фенольных соединений в листьях могут существенно изменить биологическую активность образцов этих растений при интродукции в Академгородок г. Новосибирска по сравнению с природными экземплярами.

Работа выполнена в рамках государственного задания ЦСБС СО РАН (проект № АААА-А21-121011290025-2), а также при финансовой поддержке гранта Президента РФ для молодых ученых – кандидатов наук (проект № МК-1045.2020.4).

При подготовке публикации использовались материалы биоресурсной научной коллекции ЦСБС СО РАН “Коллекция живых растений в открытом и закрытом грунте”, УНУ № USU 440534.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1 Запретов М. Н. Фенольные соединения: распространение, метаболизм и функции в растениях. М.: Наука, 1993. 272 с.
- 2 Falcone Ferreyra M. L., Rius S., Casati P. Flavonoids: Biosynthesis, biological functions and biotechnological applications // *Frontiers in Plant Science*. 2012. Vol. 3. P. 1–15.
- 3 Weinreb O., Amit T., Youdim M. B. H. The application of proteomics for studying the neurorescue activity of the polyphenol (–)-epigallocatechin-3-gallate // *Arch. Biochem. Biophys.* 2008. Vol. 476, No. 2. P. 152–160.
- 4 Kim W., Seong K. M., Youn B. H. Phenylpropanoids in radioregulation: Double edged sword // *Exp. Mol. Med.* 2011. Vol. 43, No. 6. P. 323–333.
- 5 Alamgir A. N. M. Therapeutic Use of Medicinal Plants and Their Extracts. Vol. 2. Phytochemistry and Bioactive Compounds. Switzerland: Springer, 2018. 826 p.
- 6 Bepalov V. G., Alexandrov V. A., Vysochina G. I., Kostikova V. A., Baranenko D. A. The inhibiting activity of meadowsweet extract on neurocarcinogenesis induced transplacentally in rats by ethylnitrosourea // *Journal of Neuro-Oncology*. 2017. Vol. 131, No. 3. P. 459–467.
- 7 Yang L., Wen K. S., Ruan X., Zhao Y. X., Wei F., Wang Q. Response of plant secondary metabolites to environmental factors // *Molecules*. 2018. Vol. 23, No. 4. P. 1–26.
- 8 Uddin M. Environmental factors on secondary metabolism of medicinal plants // *ASPS*. 2019. Vol. 3, No. 8. P. 34–46.
- 9 Карпова Е. А., Храмова Е. П. Динамика состава и содержания фенольных соединений представителей рода *Spiraea* L. в условиях транспортно-промышленного загрязнения г. Новосибирска // *Химия уст. разв.* 2019. Т. 27, № 2. С. 173–184.
- 10 Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование: Семейства Hydraginaceae – Haloragaceae. Л.: Наука, 1987. С. 95.
- 11 Sun S., Liu Y., Liu X., Zhang S., Wang W., Wang R., Hou Y., Wang W. Neolignan glycosides from *Spiraea salicifolia* and their inhibitory activity on pro-inflammatory cytokine interleukin-6 production in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 cells // *Nat. Prod. Res.* 2019. Vol. 33, No. 22. P. 3215–3222.
- 12 Ohwi J. Flora of Japan. Washington: Smithsonian Institution, 1965. 1067 p.
- 13 Костикова В. А., Кузнецов А. А., Трошкина В. И., Беланова А. П. Морфологический и таксономический анализ полиморфного комплекса *Spiraea betulifolia* – *Spiraea beauverdiana* в России // *Acta Biol. Sib.* 2019. Т. 5, № 3. С. 22–32.
- 14 Kostikova V., Troshkina V. Notes on the taxonomy of *Spiraea aemiliana* and related species (Rosaceae) in Russia // *BIO Web of Conferences*. EDP Sciences. 2019. Vol. 16. Article 00014.
- 15 Костикова В. А., Кузнецов А. А., Тищенко Э. Д., Файзылхакова А. Н. Хемотаксономическое изучение *Spiraea aemiliana* в сравнении с близкородственными видами *S. betulifolia* и *S. beauverdiana* // *Acta Biol. Sib.* 2019. Т. 5, № 3. С. 15–21.
- 16 Киселева Т. И., Чиндяева Л. Н., Цыбуля Н. В. Биологические особенности и антимикробные свойства видов рода *Spiraea* L. в Новосибирске // *Вестн. ИрГСХА*. 2011. № 44-1. С. 65–72.
- 17 Костикова В. А., Филиппова Е. И., Высочина Г. И., Мазуркова Н. А. Противовирусная активность растений рода *Spiraea* (Rosaceae), произрастающих в азиатской части России // *Материалы Международной конференции, посвященной 70-летию Центрального сибирского ботанического сада “Сохранение разнообразия растительного мира в ботанических садах: традиции, современность, перспективы”*. Новосибирск, 1–8 августа 2016. С. 156–157.
- 18 Kostikova V. A., Shaldaeva T. M. The antioxidant activity of the Russian Far East representatives of the genus *Spiraea* L. (Rosaceae Juss.) // *Russ. J. Bioorg. Chem.* 2017. Vol. 43, No. 7. P. 790–794.
- 19 Южные Курильские острова (природно-экономический очерк). Южно-Сахалинск: Сахалин. обл. книж. изд-во, 1992. 158 с.
- 20 Климат Новосибирска. Л.: Гидрометеиздат, 1979. 223 с.
- 21 Костикова В. А. Определение оптимальных условий экстракции для исследования состава фенольных соединений *Spiraea betulifolia* Pall. методом ВЭЖХ // *Химия раст. сырья*. 2017. № 1. С. 159–162.
- 22 Van Beek T. A. Chemical analysis of *Ginkgo biloba* leaves and extracts // *J. Chromatogr. A*. 2002. Vol. 967, No. 1. P. 21–55.
- 23 Карпова Е. А., Полякова Т. А., Бочкин В. Д. Флавоноиды листьев *Spiraea media* var. *media* и *Spiraea media* var. *sericea* (Rosaceae) // *Раст. мир Азиат. России*. 2016. № 2. С. 56–63.
- 24 Valkama E., Salminen J. P., Koricheva J., Pihlaja K. Comparative analysis of leaf trichome structure and composition of epicuticular flavonoids in Finnish birch species // *Annals of Botany*. 2003. Vol. 91, No. 6. P. 643–655.
- 25 Mabry T. J., Markham K. R., Thomas M. B. The Systematic Identification of Flavonoids. NY, Berlin–Heidelberg: Springer, 1970. 138 p.
- 26 Jaakola L., Määttä-Riihinen K., Kärenlampi S., Hohtola A. Activation of flavonoid biosynthesis by solar radiation in bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) leaves // *Planta*. 2004. Vol. 218, No. 5. P. 721–728.
- 27 Храмова Е. П. Состав и содержание флавоноидов *Pentaphylloides fruticosa* в природе и культуре // *Химия раст. сырья*. 2014. № 1. С. 185–193.
- 28 Боярских И. Г., Васильев В. Г., Кукушкина Т. А. Содержание биологически активных полифенолов *Lonicera caerulea* subsp. *pallasii* в природе и культуре // *Химия раст. сырья*. 2018. № 2. С. 86–96.
- 29 Cao Y., Fang S., Fu X., Shang X., Yang W. Seasonal variation in phenolic compounds and antioxidant activity in leaves of *Cyclocarya paliurus* (Batal.) Pjinskaja // *Forests*. 2019. Vol. 10, No. 8. P. 1–17.
- 30 Костикова В. А., Храмова Е. П., Сыева С. Я. Сравнительное исследование фенольных соединений в листьях *Spiraea altaiensis* (Rosaceae) в природе и при интродукции // *Раст. ресурсы*. 2018. Т. 54, № 3. С. 409–419.
- 31 Высочина Г. И., Кукушкина Т. А. Биологически активные вещества некоторых видов рода *Hedysarum* L. // *Химия раст. сырья*. 2011. № 4. С. 251–258.
- 32 Погода и климат [Электронный ресурс]. Режим доступа: [http://pogodaiklimat.ru/history/29638\\_2.htm](http://pogodaiklimat.ru/history/29638_2.htm) (дата обращения: 10.05.2020 г.).
- 33 Кавеленова Л. М., Лищинская С. Н., Карандаева Л. Н. Особенности сезонной динамики водорастворимых фенольных соединений в листьях березы повислой в условиях урбосреды в лесостепи (на примере Самары) // *Химия раст. сырья*. 2001. № 3. С. 91–96.
- 34 Generalić I., Skroza D., Šurjak J., Možina S. S., Ljubenković I., Katalinić A., Katalinić V. Seasonal variations of phenolic compounds and biological properties in sage (*Salvia officinalis* L.) // *Chemistry & Biodiversity*. 2012. Vol. 9, No. 2. P. 441–457.
- 35 Raal A., Boikova T., Püssa T. Content and dynamics of polyphenols in *Betula* spp. leaves naturally growing in Estonia // *Rec. Nat. Prod.* 2015. Vol. 9, No. 1. P. 41–48.
- 36 Карпова Е. А., Полякова Т. А. Сезонная динамика состава фенольных соединений листьев *Spiraea media* var. *sericea* (Turcz.) Regel // *Химия раст. сырья*. 2014. № 3. С. 145–149.