

ФИЗИОЛОГИЯ И БИОХИМИЯ РАСТЕНИЙ

УДК 582.998.3:577.19(571.1)

doi: 10.17223/19988591/38/7

Т.А. Кукушкина, Т.И. Фомина

Центральный сибирский ботанический сад СО РАН, г. Новосибирск, Россия

Содержание биологически активных веществ в листьях некоторых видов рода *Sampanula* L. (Sampanulaceae)

Определено содержание фенольных соединений (катехинов, флавонолов, танинов), сапонинов, пектиновых веществ, аскорбиновой кислоты и каротиноидов в листьях 8 видов рода *Sampanula*, интродуцированных в лесостепную зону Западной Сибири. Установлены высокие показатели содержания основных групп биологически активных веществ, за исключением катехинов: флавонолов – до 9,4%, танинов – до 34,7%, сапонинов – до 39,6%, пектиновых веществ – до 18,3%, аскорбиновой кислоты – до 272,8 мг%, каротиноидов – до 327,7 мг%, и их значительная межвидовая и индивидуальная изменчивость. Сезонная динамика вторичных метаболитов в листьях различна: количество танинов и сапонинов выше в фазу весеннего отрастания, флавонолов и пектиновых веществ – в фазу цветения, накопление аскорбиновой кислоты и каротиноидов имело разнонаправленный характер.

Ключевые слова: фенольные соединения; пектиновые вещества; аскорбиновая кислота; каротиноиды; колокольчики; Западная Сибирь.

Введение

Исследование фитохимического состава полезных видов растений при интродукции необходимо для комплексной оценки их адаптационного потенциала и перспективности культивирования в данном регионе. Количественное содержание различных групп биологически активных веществ служит показателем уровня метаболизма и фактором устойчивости растений в конкретных условиях обитания, определяет практическую значимость видов. Представители рода колокольчик *Sampanula* L. издавна используются в народном хозяйстве, прежде всего, как декоративные растения [1–4]. Применение некоторых видов в эмпирической медицине обосновано современными исследованиями, подтвердившими противовоспалительную, противосудорожную, антимикробную и антиоксидантную активность препаратов из надземных органов колокольчиков [5–8]. В них выявлено присутствие алкалоидов, терпеноидов, дубильных веществ, сапонинов, кумаринов [9],

показана перспективность как источника флавоноидных соединений [10, 11]. Между тем большинство колокольчиков в фитохимическом отношении слабо изучены, сведения о содержании различных метаболитов и их динамике в различных органах растений на видовом уровне фрагментарные или отсутствуют, что обуславливает актуальность подобных исследований. Ранее [12, 13] нами установлено высокое содержание в листьях некоторых видов флавонолов, танинов, сапонинов, пектиновых веществ, аскорбиновой кислоты и каротиноидов, тогда как содержание катехинов оказалось незначительным.

Цель исследования – сравнительная характеристика содержания основных групп биологически активных веществ в листьях восьми видов рода *Campanula*, интродуцированных в лесостепную зону Западной Сибири.

Материалы и методики исследования

Работа выполнена в 2015–2016 гг. в Центральном сибирском ботаническом саду СО РАН (г. Новосибирск) на коллекции декоративных растений природной флоры. Объектами исследования были следующие виды колокольчика из секции *Campanula*: болонский (*C. bononiensis* L.), жестковолосистый (*C. cervicaria* L.), скученный (*C. glomerata* L.), молочноцветковый (*C. lactiflora* Bieb. (*Gadellia lactiflora* (M. Bieb.) Schulkina)), точечный (*C. punctata* Lam.), круглолистный (*C. rotundifolia* L.), Такесима (*C. takesimana* Nakai), тирсовидный (*C. thyrsooides* L.). Большинство из них принадлежит к жизненной форме травянистых поликарпиков с длительно вегетирующими феноритмотипами; *C. cervicaria* и *C. thyrsooides* в условиях культуры развиваются, как правило, по типу двулетних монокарпиков. Материалом для исследования послужили растения: *C. cervicaria* – из семян, собранных в Новосибирской области, *C. rotundifolia* – репродукции Сибирского ботанического сада (г. Томск), у остальных видов – выращенные из семян местных репродукций от интродукционных образцов различного происхождения.

Для определения содержания групп биологически активных веществ использовали свежие листья, собранные в фазы весеннего отрастания и полного цветения. В условиях Новосибирска отрастание растений колокольчиков начинается в третьей декаде апреля – первой декаде мая, но куст из побегов с вполне развитыми листьями (когда проводится сбор сырья) формируется в третьей декаде мая. Цветение *C. rotundifolia* наступает в середине июня, *C. cervicaria*, *C. lactiflora* и *C. thyrsooides* – в конце июня, остальные виды зацветают в первой половине июля. В связи с разновременным отрастанием и цветением разных видов сбор сырья проводили в 2–3 срока (табл. 1, 2). Погодные условия периода исследования характеризовались следующими особенностями. Май 2015 г. – умеренно теплый, избыточно увлажненный, 2016 г. – в пределах нормы. Среднедекадные температуры июня обоих лет превышали климатическую норму на 2–4°C, распределение осадков было крайне неравномерным.

Т а б л и ц а 1 [Table 1]

**Содержание групп биологически активных веществ (%) в листьях видов *Campanula*
в фазу весеннего отрастания**

**[Content of groups of biologically active substances (%) in *Campanula* leaves
in the spring growth phase]**

Вид [Species]	Дата сбора сырья [Date of raw material collection]	Катехины [Catechins]	Флавонолы [Flavonols]	Танины [Tannins]	Сапонины [Saponins]	Пектиновые вещества [Pectic substances]
<i>C. bononiensis</i>	<u>27.05</u>	0,28	<u>3,2</u>	20,7	22,2	10,9
	19.05	0,32	4,4	32,4	27,8	11,2
<i>C. cervicaria</i>	<u>21.05</u>	<u>0,12</u>	<u>3,5</u>	<u>23,1</u>	<u>20,9</u>	<u>10,9</u>
	19.05	0,20	5,3	32,4	23,9	13,6
<i>C. glomerata</i>	<u>21.05</u>	<u>0,11</u>	<u>3,8</u>	<u>30,4</u>	<u>17,8</u>	<u>11,0</u>
	19.05	0,13	4,9	33,0	23,5	11,8
<i>C. lactiflora</i>	<u>21.05</u>	<u>0,12</u>	<u>1,9</u>	<u>26,1</u>	<u>12,6</u>	<u>6,1</u>
	02.06	0,19	3,3	23,4	18,4	13,2
<i>C. punctata</i>	<u>27.05</u>	<u>0,09</u>	<u>3,7</u>	<u>15,5</u>	<u>26,5</u>	<u>6,1</u>
	19.05	0,16	5,5	25,1	31,1	6,8
<i>C. rotundifolia</i>	<u>21.05</u>	<u>0,18</u>	<u>4,2</u>	<u>30,1</u>	<u>23,3</u>	<u>5,2</u>
	19.05	0,31	7,3	33,4	24,4	9,1
<i>C. takesimana</i>	<u>27.05</u>	<u>0,11</u>	<u>3,1</u>	<u>14,8</u>	<u>31,3</u>	<u>5,0</u>
	19.05	0,15	4,5	25,5	39,6	8,5
<i>C. thyrsoides</i>	<u>21.05</u>	<u>0,09</u>	<u>3,0</u>	<u>19,7</u>	<u>24,0</u>	<u>9,5</u>
	02.06	0,09	5,0	18,0	14,6	10,8

Примечание. Здесь и в табл. 2: над чертой – значение 2015 г., под чертой – значение 2016 г.
[Note: Above the line - the value of 2015, below the line - the value of 2016].

Т а б л и ц а 2 [Table 2]

**Содержание групп биологически активных веществ (%) в листьях видов *Campanula*
в фазу цветения**

[Content of groups of biologically active substances (%) in *Campanula* leaves in the flowering phase]

Вид [Species]	Дата сбора сырья [Date of raw material collection]	Катехины [Catechins]	Флавонолы [Flavonols]	Танины [Tannins]	Сапонины [Saponins]	Пектиновые вещества [Pectic substances]
<i>C. bononiensis</i>	<u>15.07</u>	0,09	<u>2,4</u>	16,0	13,0	8,4
	18.07	0,23	1,8	28,6	11,9	14,4
<i>C. cervicaria</i>	<u>29.06</u>	<u>0,12</u>	<u>4,3</u>	<u>13,9</u>	<u>18,0</u>	<u>10,3</u>
	04.07	0,11	4,1	19,5	22,7	13,0
<i>C. glomerata</i>	<u>15.07</u>	<u>0,11</u>	<u>4,0</u>	<u>19,0</u>	<u>24,0</u>	<u>8,5</u>
	18.07	0,15	7,4	34,4	7,2	18,3
<i>C. lactiflora</i>	<u>29.06</u>	<u>0,17</u>	<u>4,6</u>	<u>21,8</u>	<u>9,7</u>	<u>10,3</u>
	11.07	0,06	4,3	26,5	9,3	10,7
<i>C. punctata</i>	<u>15.07</u>	<u>0,01</u>	<u>6,1</u>	<u>25,0</u>	<u>16,1</u>	<u>8,7</u>
	11.07	0,16	4,5	24,4	23,1	10,5
<i>C. rotundifolia</i>	<u>29.06</u>	<u>0,19</u>	<u>5,3</u>	<u>34,7</u>	<u>20,7</u>	<u>9,0</u>
	04.07	0,17	9,4	13,5	22,8	12,3
<i>C. takesimana</i>	<u>15.07</u>	<u>0,07</u>	<u>3,2</u>	<u>17,6</u>	<u>33,9</u>	<u>7,2</u>
	11.07	0,10	3,3	21,4	20,3	8,5
<i>C. thyrsoides</i>	<u>29.06</u>	<u>0,09</u>	<u>3,4</u>	<u>11,2</u>	<u>18,8</u>	<u>11,0</u>
	04.07	0,08	5,2	14,8	6,5	12,0

Первая декада июля этих лет отличалась умеренно теплой погодой, вторая была теплее нормы на 3°C, увлажнение – избыточным.

Количество катехинов определяли спектрофотометрическим методом (Agilent 8453 UV-Vis, США), основанным на их способности давать малиновое окрашивание с раствором ванилина в концентрированной соляной кислоте. Плотность раствора измеряли при длине волны 504 нм. Содержание катехинов в пробе определяли по калибровочной кривой, построенной по (\pm)-катехину «Sigma» С-1788 (США) [14]. Количество флавонолов определяли методом, основанным на реакции комплексообразования флавонолов с хлоридом алюминия. Плотность раствора измеряли на спектрофотометре при длине волны 415 нм. Концентрацию флавонолов определяли по калибровочному графику, построенному по рутину [15]. Содержание танинов (гидролизуемых дубильных веществ) определяли спектрофотометрическим методом с использованием 2%-ного водного раствора аммония молибденовокислого. Интенсивность полученной окраски измеряли при длине волны 420 нм. Расчет дубильных веществ производили по ГСО танина [16]. Содержание сапонинов определяли весовым методом. Экстрагировали сырье этанолом, затем упаривали экстракт до отсутствия запаха спирта и добавляли 7-кратный объем ацетона. Образовавшийся осадок через 18 ч отфильтровывали, высушивали при 70°C, взвешивали и вычисляли содержание «сырого сапонины» [17].

Содержание пектиновых веществ (пектинов и протопектинов) определяли бескарбазольным спектрофотометрическим методом, основанным на получении специфического желто-оранжевого окрашивания уроновых кислот с тимолом в сернокислой среде. Для получения воспроизводимых результатов из сырья удаляли сахара. Плотность растворов измеряли на спектрофотометре (Agilent 8453 UV-Vis, США) при длине волны 480 нм в кювете с рабочей длиной 1 см. Количество пектиновых веществ определяли по калибровочной кривой, построенной по галактурановой кислоте [18]. Определение аскорбиновой кислоты проводили титриметрическим методом, основанным на ее редуцирующих свойствах (реакция Тильманса). Суммарное количество каротиноидов определяли в ацетоново-этанольном экстракте спектрофотометрическим методом. Оптическую плотность раствора измеряли при длинах волн, соответствующих максимумам поглощения хлорофиллов *a* (662 нм) и *b* (644 нм), каротиноидов (440,5 нм). Расчет концентрации пигментов проводили по формулам: $Ca + Cb = 5,134D_{662} + 20,436D_{644}$; $Скар = 4,695D_{440,5} - 0,268(Ca + Cb)$ [19]. Все биохимические показатели, кроме аскорбиновой кислоты, рассчитаны на массу абсолютно сухого сырья. За результат принимали среднее из трех параллельных определений по каждому показателю.

Результаты исследования и обсуждение

Впервые определено количественное содержание в листьях исследованных видов фенольных соединений: катехинов, флавонолов, танинов.

Активная роль в метаболизме растений этих веществ как регуляторов роста, развития и репродукции служит фактором экологической пластичности и адаптивной изменчивости видов [20]. Содержание катехинов незначительное: 0,09–0,32% в молодых листьях и 0,01–0,23% – в листьях цветущих растений, с максимальными значениями у *C. bononiensis* и *C. rotundifolia* (см. табл. 1, 2).

Установлено высокое содержание флавонолов. Их количество в фазу цветения по сравнению с фазой отрастания, как правило, возрастает, но амплитуда погодичных флуктуаций показателя более значительная. В 2015 г. содержание флавонолов в молодых листьях варьировало от 1,9 (*C. lactiflora*) до 4,2% (*C. rotundifolia*), в период цветения предельные значения составили соответственно 2,4 (*C. bononiensis*) и 6,1% (*C. punctata*). Погодные условия 2016 г. более благоприятствовали синтезу флавонолов, количество которых в весенний период колебалось на уровне 3,3–7,3% с минимальным и максимальным значениями у тех же видов. В листьях цветущих растений содержание флавонолов сильно варьировало: от 1,8% у *C. bononiensis* до 9,4% у *C. rotundifolia*. Ранее у представителей секции *Campanula* были обнаружены в надземных органах флавонолы кемпферол, кверцетин, рамнетин, рутин, у *C. bononiensis* – также мирицетин [11, 21].

Выявлено высокое содержание в листьях колокольчиков танинов. Весной их количество варьировало в пределах 14,8–33,4% с устойчиво высокими значениями для *C. glomerata*, *C. rotundifolia* и сравнительно низкими – для *C. thyrsoides*. В период цветения содержание танинов в большинстве случаев снизилось, при этом диапазон варьирования показателя увеличился от 11,2 до 34,7%. Наибольшие количества этих веществ в листьях цветущих растений обнаружены у поликарпиков *C. glomerata*, *C. punctata*, *C. rotundifolia*, *C. lactiflora*, а минимальные – у завершающих жизненный цикл монокарпиков *C. cervicaria* и *C. thyrsoides*. Судя по полученным данным, условия инсоляции, тепло- и влагообеспеченности сезона 2016 г. в большей мере способствовали накоплению танинов. Ранее отмечалось наличие дубильных веществ в надземных органах *C. glomerata* (4%) и *C. rotundifolia* [9].

Важную роль в растениях выполняют сапонины, регулирующие ростовые процессы и обеспечивающие фитопатогенную защиту [22]. В весенний период количество сапонинов в листьях исследованных видов варьировало в пределах 12,6–39,6%, причем подавляющее число значений превышало 20%. Сравнение данных показало, что погодные условия весны 2015 г. были менее благоприятными для биосинтеза сапонинов, вероятно, из-за избыточного увлажнения. Наиболее высокое содержание этих соединений отмечено в молодых листьях *C. takesimana*, *C. punctata*, минимальное – у *C. lactiflora*. В фазу цветения количество сапонинов снизилось по сравнению с весенним периодом, особенно существенно у *C. bononiensis*, *C. lactiflora* и *C. thyrsoides*. Диапазон варьирования показателя для листьев цветущих растений составил 11,2–34,7%.

Впервые у исследованных видов *Campanula* определено содержание пектиновых веществ, имеющих большое значение в формировании засу-

хо- и холодоустойчивости растений [23]. Их количество в листьях весной колебалось от 5,0 до 13,6% с максимумом у *C. cervicaria*, *C. glomerata* и *C. bononiensis*. В фазу цветения содержание пектиновых веществ возросло до 7,2–18,3%. Заметно беднее пектинами и протопектинами листья *C. takesimana*. Все полученные данные по содержанию пектиновых веществ в листьях колокольчиков выше для 2016 г. Большое варьирование значений по годам отмечено в фазу отрастания. Вероятно, это связано с контрастными условиями мая лет исследования.

Ранее нами установлено для других видов рода *Campanula* высокое содержание аскорбиновой кислоты и каротиноидов [12, 13]. В молодых листьях количество аскорбиновой кислоты, как правило, наибольшее: *C. bononiensis* – 247,2–272,8 мг%, *C. rotundifolia* – до 250,7 мг%, *C. punctata* – до 238,2 мг% (рис. 1). Значения показателя для всех видов, кроме *C. bononiensis*, в фазу отрастания были выше в 2016 г. Динамика накопления витаминов, как и других вторичных метаболитов, сильно зависит от внешних условий и потому неоднозначна. В 2015 г. содержание аскорбиновой кислоты ко времени цветения у ряда видов, напротив, повысилось по сравнению с весенним периодом (до 40%). В листьях цветущих растений колокольчиков определено от 109,6 до 246,0 мг% аскорбиновой кислоты. Из исследованных видов наибольшая С-витаминная активность отмечена у *C. bononiensis* и *C. rotundifolia*.

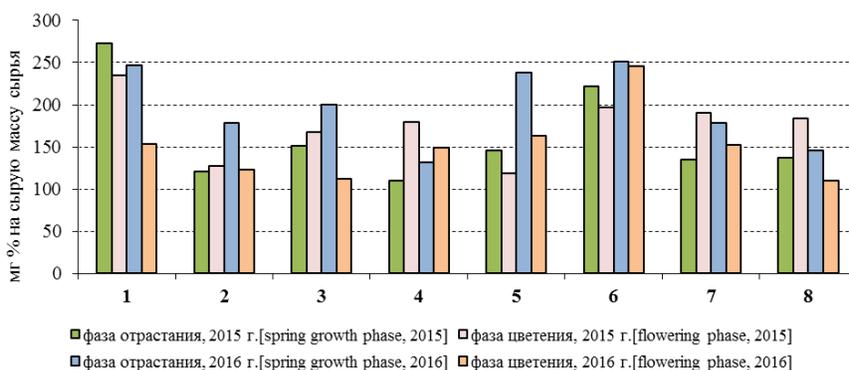


Рис. 1. Изменчивость содержания аскорбиновой кислоты в листьях видов *Campanula*: 1 – *C. bononiensis*; 2 – *C. cervicaria* L.; 3 – *C. glomerata*; 4 – *C. lactiflora*; 5 – *C. punctata*; 6 – *C. rotundifolia*; 7 – *C. takesimana*; 8 – *C. thyrsoidea* L.

[Fig. 1. Variability of ascorbic acid content in *Campanula* leaves.

On the Y axis - Content of ascorbic acid in mg% per wet mass of raw material]

Суммарное количество каротиноидов значительно варьирует у видов по годам. В фазу отрастания показатель составил 84,9–209,1 мг% при существенно меньших значениях для 2016 г. Однако у *C. glomerata* значения двух лет сопоставимы, у *C. cervicaria* содержание каротиноидов заметно ниже в 2015 г. (рис. 2).

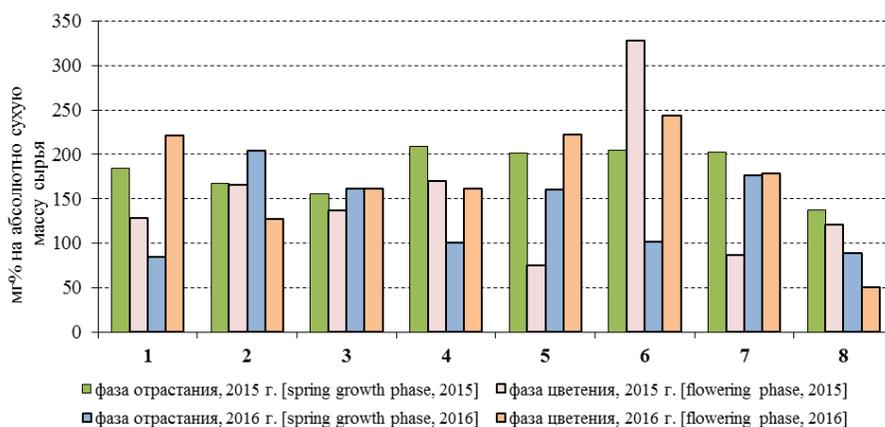


Рис. 2. Изменчивость содержания каротиноидов в листьях видов *Campanula*: 1 – *C. bononiensis*; 2 – *C. cervicaria* L.; 3 – *C. glomerata*; 4 – *C. lactiflora*; 5 – *C. punctata*; 6 – *C. rotundifolia*; 7 – *C. takesimana*; 8 – *C. thyrsoidea* L.
[Fig. 2. Variability of carotenoid content in *Campanula* leaves.

On the Y axis - Content of carotenoids in mg % per absolutely dry mass of raw material]

В период цветения динамика накопления каротиноидов была разнонаправленной, диапазон варьирования увеличился: 74,6–327,7 мг% в 2015 г. и 50,9–243,3 мг% в 2016 г. Максимальное содержание этих веществ отмечено в молодых листьях *C. takesimana*, *C. cervicaria*, *C. punctata* и в листьях цветущих растений *C. rotundifolia*. Сравнительно бедны каротиноидами, особенно в фазу цветения, листья *C. thyrsoidea*.

Проведенное исследование показало, что виды рода *Campanula* характеризуются высоким содержанием в листьях флавонолов, танинов, сапонинов, пектиновых веществ, аскорбиновой кислоты и каротиноидов, но в них мало катехинов. Все показатели, кроме количества катехинов, значительно варьируют на видовом уровне и по годам. Наиболее высоким содержанием основных групп биологически активных веществ отличаются *C. rotundifolia*, *C. glomerata*, *C. punctata* и *C. bononiensis*, сравнительно низким – *C. lactiflora* и *C. thyrsoidea*. Сезонная динамика вторичных метаболитов в листьях различна. По полученным данным, количество танинов и сапонинов выше в фазу весеннего отрастания, флавонолов и пектиновых веществ – в фазу цветения, тогда как накопление аскорбиновой кислоты и каротиноидов оказалось разнонаправленным.

Заключение

Исследовано содержание основных групп биологически активных веществ в листьях в фазы весеннего отрастания и цветения в 2015–2016 гг., у 8 видов рода колокольчик *Campanula* L.: болонского (*C. bononiensis* L.), жестковолосистого (*C. cervicaria* L.), скученного (*C. glomerata* L.), молоч-

ноцветкового (*C. lactiflora* Bieb. (*Gadellia lactiflora* (M. Bieb.) Schulkina)), точечного (*C. punctata* Lam.), круглолистного (*C. rotundifolia* L.), Такесима (*C. takesimana* Nakai), тирсовидного (*C. thyrsoides* L.), интродуцированных в лесостепную зону Западной Сибири (г. Новосибирск). Установлено высокое содержание в листьях флавонолов (до 9,4%), танинов (до 34,7%), сапонинов (до 39,6%), пектиновых веществ (до 18,3%), аскорбиновой кислоты (до 272,8 мг%) и каротиноидов (до 327,7 мг%); количество катехинов незначительное (до 0,32%). Полученные данные подтверждают результаты ранее проведенного исследования о перспективности видов рода *Campanula* как источника флавоноидов, танинов, сапонинов и их пищевой ценности благодаря высокому содержанию в листьях витаминов и пектиновых веществ.

Литература

1. Bailey L.H. Manual of cultivated plants. Revised edition. New York : The Macmillan company, 1949. 1116 p.
2. Крупина М.Г. Колокольчики. М. : Сельхозгиз, 1954. 78 с.
3. Халипова Г.И. Колокольчики. М. : АСТ/Астрель, 2005. 144 с.
4. Scariot V., Seglie L., Gaiano W., Devecchi M. Evaluation of European native bluebells for sustainable floriculture // Acta Horticulturae. 2012. Vol. 937. PP. 273–279. doi: 10.17660/ActaHortic.2012.937.33
5. Барнаулов О.Д., Лимаренко А.Ю., Маничева О.А., Теслов Л.С. Противоальтеративная активность препаратов из растений семейства колокольчиковых // Проблемы освоения лекарственных ресурсов Сибири и Дальнего Востока : тез. докл. Всесоюз. конф. Новосибирск : СО АМН, 1983. С. 174–175.
6. Барнаулов О.Д., Лимаренко А.Ю., Теслов Л.С. Противосудорожные свойства препаратов из некоторых видов сем. Campanulaceae // Растительные ресурсы. 1983. Т. 19, вып. 1. С. 20–27.
7. Kim M-S., Kim K-H., Yook H-S. Antioxidative effects of *Campanula takesimana* Nakai extract // J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 2012. Vol. 41, № 10. PP. 1331–1337. doi: 10.3746/jkfn.2012.41.10.1331
8. Sinek K., Iskender N.Y., Yayli B., Karaoglu S.A., Yayli N. Antimicrobial activity and chemical composition of the essential oil from *Campanula glomerata* L. subsp. *hispidata* (Witasek) Hayek // Asian J. Chem. 2012. Vol. 24, № 5. PP. 1931–1934.
9. Растительные ресурсы СССР: цветковые растения, их химический состав, использование; семейства Hippuridaceae–Lobeliaceae / отв. ред. П.Д. Соколов. СПб. : Наука. С.-Петербург. отд-ние, 1991. 200 с.
10. Теслов Л.С. Сравнительное изучение флавоноидного состава видов рода *Campanula* L. ряда *Glomeratae* Charadze из секции *Campanula* // Растительные ресурсы. 1995. Т. 36, вып. 1. С. 44–52.
11. Теслов Л.С. Сравнительное изучение флавоноидного состава видов рода *Campanula* L. ряда *Rapunculooides* Charadze из секции *Campanula* // Растительные ресурсы. 2000. Т. 36, вып. 1. С. 3–17.
12. Фомина Т.И., Кукушкина Т.А. Содержание основных групп биологически активных веществ в молодых листьях видов рода *Campanula* L. (Campanulaceae) // Растительные ресурсы. 2014. Т. 50, вып. 4. С. 135–141.
13. Фомина Т.И., Кукушкина Т.А. Содержание основных групп биологически активных веществ в надземных органах видов рода *Campanula* (Campanulaceae) // Растительный мир Азиатской России. 2015. № 2 (18). С. 39–44.

14. Кукушкина Т.А., Зыков А.А., Обухова Л.А. Манжетка обыкновенная (*Alchemilla vulgaris* L.) как источник лекарственных средств // Актуальные проблемы создания новых лекарственных препаратов природного происхождения : материалы VII Междунар. съезда. СПб. : Фитофарм, 2003. С. 64–69.
15. Беликов В.В., Шрайбер М.С. Методы анализа флавоноидных соединений // Фармация. 1970. № 1. С. 66–72.
16. Федосеева Л.М. Изучение дубильных веществ подземных и надземных вегетативных органов бадана толстолистного (*Bergenia crassifolia* (L.) Fitch.), произрастающего на Алтае // Химия растительного сырья. 2005. № 2. С. 45–50.
17. Киселева А.В., Волхонская Т.А., Киселев В.Е. Биологически активные вещества лекарственных растений Южной Сибири / отв. ред. А.Г. Валуцкая. Новосибирск : Наука, 1991. 135 с.
18. Кривенцов В.И. Бескарбазольный метод количественного спектрофотометрического определения пектиновых веществ // Сборник научных трудов Государственного Никитского ботанического сада. 1989. Т. 109. С. 128–137.
19. Ермаков А.И., Арасимович В.В., Ярош Н.П. Методы биохимического исследования растений / ред. А.И. Ермаков. Л. : Агропромиздат, 1987. 420 с.
20. Борисова П.И., Булатова С.В., Бахтенко Е.Ю., Лапшин П.В. Фенольный метаболизм сабельника болотного (*Cotarnum palustre* L.) в связи с эколого-ценотическими факторами // Фенольные соединения: фундаментальные и прикладные аспекты / отв. ред. Н.В. Загоскина, Е.Б. Бурлакова; Ин-т физиологии растений РАН. М. : Научный мир, 2010. С. 257–264.
21. Джумырко С.Ф. Флавоноиды растений рода *Campanula* // Химия природных соединений. 1973. № 2. С. 273–274.
22. Анисимов М.М., Чирва В.Я. О биологической роли тритерпеновых гликозидов // Успехи современной биологии. 1980. Т. 90, вып. 3 (6). С. 351–364.
23. Оводов Ю.С. Современные представления о пектиновых веществах // Биоорганическая химия. 2009. Т. 35, № 3. С. 293–310.

Поступила в редакцию 24.01.2017 г.; повторно 12.04.2017 г.;
принята 26.04.2017 г.; опубликована 15.06.2017 г.

Авторский коллектив:

Кукушкина Татьяна Абдулханловна – с.н.с. лаборатории фитохимии Центрального сибирского ботанического сада СО РАН (Россия, 630090, г. Новосибирск, ул. Золотодолинская, 101).

E-mail: kukushkina-phyto@yandex.ru

Фомина Татьяна Ивановна – канд. биол. наук, с.н.с. лаборатории интродукции декоративных растений Центрального сибирского ботанического сада СО РАН (Россия, 630090, г. Новосибирск, ул. Золотодолинская, 101).

E-mail: fomina-ti@yandex.ru

Kukushkina TA, Fomina TI. Content of the major groups of biologically active substances in leaves of some *Campanula* species (Campanulaceae). *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya – Tomsk State University Journal of Biology*. 2017;38:122-133. doi: 10.17223/19988591/38/7 In Russian, English summary

Tatyana A. Kukushkina, Tatyana I. Fomina

Central Siberian Botanical Garden, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russian Federation

**Content of the major groups of biologically active substances
in leaves of some *Campanula* species (Campanulaceae)**

The present research is a continuation of publications on the phytochemical composition of *Campanula* species introduced in the forest-steppe zone of Western

Siberia (Novosibirsk). The importance of the work is due to the recent studies confirming the biological activity of preparations from above-ground parts of bellflowers and incomplete knowledge of the majority of them. The aim of this study was a comparative characteristics of the major groups of biologically active substances (catechins, flavonols, tannins, saponins, pectic substances, ascorbic acid and carotenoids) in leaves of 8 species: *C. bononiensis* L., *C. cervicaria* L. *C. glomerata* L., *C. lactiflora* Bieb. (*Gadellia lactiflora* (M. Bieb.) Schulkina), *C. punctata* Lam., *C. rotundifolia* L., *C. takesimana* Nakai, and *C. thyrsoides* L.

We studied the collection of ornamental plants of the natural flora of the Central Siberian Botanical Garden, SB RAS in 2015-2016. The material was plants grown from seeds of different origin: Novosibirsk region (*C. cervicaria*), Siberian Botanical Garden, Tomsk (*C. rotundifolia*) and local reproductions of introduced samples (other species). To determine the quantity of metabolites, we used freshly collected raw material - leaves in the spring growth phase and leaves of flowering plants. We determined the amount of catechins spectrophotometrically (504 nm), basing on their ability to give crimson colour with vanillin solution in concentrated hydrochloric acid. A calibration curve constructed from (\pm)-catechin "Sigma" C-1788 (USA) was used to determine the content of catechins in a sample. The amount of flavonols was determined spectrophotometrically (415 nm) by a reaction of complexation of flavonols with aluminium chloride. A calibration schedule constructed from rutin was used to determine the concentration of flavonols. The content of tannins (hydrolysable tanning substances) was determined spectrophotometrically (420 nm) using a 2% aqueous solution of ammonium molybdate. Tanning substances were calculated according to state standard reference samples of tannins. The content of saponins was determined by weighing. The content of pectic substances (pectins and protopectins) was determined by noncarbazole spectrophotometric method (480 nm), based on obtaining a specific yellow-orange colour of uronic acids with thymol in sulfuric acid medium. To obtain reproducible results, we removed sugars from raw material. The percentage of pectic substances was determined using a calibration curve constructed from galacturonic acid. Ascorbic acid was determined by titrimetric method based on its reducing properties (Tilman's reaction). The total amount of carotenoids was determined in acetone-ethanol extract spectrophotometrically. The optical density of the solution was measured at wavelengths corresponding to absorption maxima of chlorophylls *a* (662 nm) and *b* (644 nm) carotenoids (440.5 nm). Pigment concentration was calculated according to the formulae: $Ca + Cb = 5,134D662 + 20,436D644$; $C_{\text{carotenoids}} = 4,695D440,5 - 0,268(Ca + Cb)$. All biochemical parameters, except for ascorbic acid, were calculated in relation to the mass of absolutely dry raw material.

We noted a high content of flavonols (up to 9.4%), tannins (up to 34.7%), saponins (up to 39.6%), pectic substances (up to 18.3%), ascorbic acid (up to 272.8 mg%), carotenoids (up to 327.7 mg%), and small amount of catechins (up to 0.32%) in leaves (See Tables). We revealed significant interspecific and individual variability of metabolites. Their seasonal dynamics was different: the amount of tannins and saponins was higher in the phase of spring growth, but that of flavonols and pectins - in the flowering phase, while the accumulation of ascorbic acid and carotenoids was mixed. From two years of studies, more favorable conditions for the synthesis of the major metabolites formed in 2016. We determined the highest content of various groups of biologically active substances for *C. rotundifolia*, *C. glomerata*, *C. punctata*, *C. bononiensis*, and relatively low - for *C. lactiflora*, *C. thyrsoides* (See Figures and Tables). The obtained data confirmed the results of a previous study on the prospects of species of the genus *Campanula* as a source of flavonoids, tannins, saponins and their nutritional value due to a high content of vitamins and pectic substances in their leaves.

The article contains 2 Figures, 2 Tables, 23 References.

Key words: phenolic compounds; saponins; pectic substances; ascorbic acid; carotenoids; bellflowers; Western Siberia.

References

1. Bailey LH. Manual of cultivated plants. Revised edition. New York: The Macmillan company; 1949. 1116 p.
2. Krupina MG. Kolokol'chiki [Bellflowers]. Moscow: Sel'khozgiz Publ.; 1954. 78 p. In Russian
3. Khalipova GI. Kolokol'chiki [Bellflowers]. Moscow: AST/Astel' Publ.; 2005. 144 p. In Russian
4. Scariot V, Seglie L, Gaiano W, Devecchi M. Evaluation of European native bluebells for sustainable floriculture. *Acta Hort.* 2012;937:273-279. doi: [10.17660/ActaHortic.2012.937.33](https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2012.937.33)
5. Barnaulov OD, Limarenko AYu, Manicheva OA, Teslov LS. Protivoal'terativnaya aktivnost' preparatov iz rasteniy semeystva kolokol'chikovykh [Antialterative activity of preparations from Campanulaceae plants]. In: *Problemy osvoeniya lekarstvennykh resursov Sibiri i Dal'nego Vostoka: teziy dokladov Vsesoyuznoy konf.* [Problems of development of medicinal resources in Siberia and the Far East. Proc. of the All-Russian Conf. (Novosibirsk, Russia, 18-20 October, 1983). Deryapa NR, editor. Novosibirsk: Academy of Medical Sciences, Siberian Branch Publ.; 1983. pp. 174-175. In Russian
6. Barnaulov OD, Limarenko AYu, Teslov LS. Protivosudorozhnye svoystva preparatov iz nekotorykh vidov sem. Campanulaceae [Anticonvulsant properties of preparations from some Campanulaceae species]. *Rastitel'nye resursy.* 1983;19(1):20-27. In Russian
7. Kim M-S, Kim K-H, Yook H-S. Antioxidative effects of *Campanula takesimana* Nakai extract. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 2012;41(10):1331-1337. doi: [10.3746/jkfn.2012.41.10.1331](https://doi.org/10.3746/jkfn.2012.41.10.1331)
8. Sinek K, Iskender NY, Yayli B, Karaoglu SA, Yayli N. Antimicrobial activity and chemical composition of the essential oil from *Campanula glomerata* L. subsp. *hispid*a (Witasek) Hayek. *Asian J. Chem.* 2012;24(5):1931-1934.
9. *Rastitel'nye resursy SSSR: Tsvetkovye rasteniya, ikh khimicheskiy sostav, ispol'zovanie; Semeystva Hippuridaceae-Lobeliaceae* [Plant resources of the USSR: Flowering plants, their chemical compounds, using; Fam. Hippuridaceae-Lobeliaceae.]. Sokolov PD, editor. St. Petersburg: Nauka Publ.; 1991. 200 p. In Russian
10. Teslov LS. Comparative study of flavonoid composition in species of the genus *Campanula* L. of the series *Glomeratae* Charadze of the section *Campanula*. *Rastitel'nye resursy.* 1995;36(1):44-52. In Russian, English summary
11. Teslov LS. Comparative study of flavonoid constituencies in some species of the genus *Campanula* L. of the series *Rapunculoideae* Charadze from the section *Campanula*. *Rastitel'nye resursy.* 2000;36(1):3-17. In Russian, English summary
12. Fomina TI, Kukushkina TA. Content of the major groups of biologically active substances in young leaves of *Campanula* species (Campanulaceae). *Rastitel'nye resursy.* 2014;50(4):135-141. In Russian, English summary
13. Fomina TI, Kukushkina TA. Content of the major groups of biologically active substances in under-ground parts of *Campanula* species (Campanulaceae). *Rastitel'nyy Mir Aziatskoj Rossii.* 2015;2(18):39-44. In Russian, English summary
14. Kukushkina TA, Zykov AA, Obukhova LA. Lady's mantle (*Alchemilla vulgaris* L.) as a source of the medicinal preparations. In: *Actual problems of creation of new medicinal preparations of natural origin.* Proc. of the 7-th Int. Congress. Phytopharm (St.-Petersburg-Pushkin, Russia, July 3-5, 2003). Aleksandrova AE, Zenkevich IG and Makarov VG, editors. St. Petersburg: 2003. pp. 64-69. In Russian

15. Belikov VV, Shrayber MS. Metody analiza flavonoidnykh soedineniy [Methods of analysis of flavonoid compounds]. *Farmaciya – Pharmacy*. 1970;1:66-72. In Russian
16. Fedoseeva LM. Izuchenie dubil'nykh veshchestv podzemnykh i nadzemnykh vegetativnykh organov badana tolstolistnogo (*Bergenia crassifolia* (L.) Fitsch.), proizrastayushchego na Altae [An assay of tannic substances in underground and overground vegetative parts of leather bergenia (*Bergenia crassifolia* (L.) Fitsch) native of Altai area]. *Khimija Rastitel'nogo Syr'ya – Chemistry of Plant Raw Material*. 2005;2:45-50. In Russian
17. Kiseleva AV, Volkhonskaya TA, Kiselev VE. Biologicheski aktivnyye veshchestva lekarstvennykh rasteniy Yuzhnoy Sibiri [Biologically active substances of medicinal plants in Southern Siberia]. Valutskaya AG, editor. Novosibirsk: Nauka, Siberian Branch Publ.; 1991. 135 p. In Russian
18. Kriventsov VI. Beskarbazol'nyy metod kolichestvennogo spektrofotometricheskogo opredeleniya pektinovykh veshchestv [Noncarbazole method of quantitative spectrophotometric determination of pectic substances]. *Sbornik Nauchnykh Trudov Gosudarstvennogo Nikitskogo Botanicheskogo Sada [Proceedings of State Nikitsky Botanical Garden]*. 1989;109:128-137. In Russian
19. Ermakov AI, Arasimovich VV, Yarosh NP. Metody biokhimitskogo issledovaniya rasteniy [Methods of biochemical studies of plants]. 3rd ed.: Revised and Updated. Ermakov AI, editor. Leningrad: Agropromizdat Publ.; 1987. 420 p. In Russian
20. Borisova PI, Bulatova SV, Bakhtenko EYu, Lapshin PV. Fenol'ny metabolizm sabel'nika bolotnogo (*Comarum palustre* L.) v svyazi s ekologo-cenoticheskimi faktorami [Phenolic metabolism of the cowberry (*Comarum palustre* L.) in connection with the ecological and cenotic factors]. In: *Phenolic compounds: Fundamental and applied aspects*. Zagoskina NV, Burlakova EB, editors. Moscow: Scientific World Publ.; 2010. pp. 257-264. In Russian
21. Dzhumyrko SF. Flavonoidy rasteniy roda *Campanula* [Flavonoids of plants of the genus *Campanula*]. *Chemistry of Natural Compounds*. 1973;2:273-274. In Russian
22. Anisimov MM, Chirva VYa. O biologicheskoy roli triterpenovykh glikozidov [On the biological role of triterpene glycosides]. *Uspekhi sovremennoi biologii – Biology Bulletin Reviews*. 1980;90(3):351-364. In Russian
23. Ovodov YuS. Current views on pectin substances. *Russ J Bioorg Chem*. 2009;35:2690284. doi: [10.1134/S1068162009030017](https://doi.org/10.1134/S1068162009030017)

Received 24 January, 2017; Revised 12 April, 2017;

Accepted 26 April, 2017; Published 15 June, 2017

Author info:

Kukushkina Tatyana A, Senior Researcher, Laboratory of Biochemistry, Central Siberian Botanical Garden, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, 101 Zolotodolinskaya Str., Novosibirsk 630090, Russian Federation.

E-mail: kukushkina-phyto@yandex.ru

Fomina Tatyana I, Cand. Sci. (Biol.), Laboratory of Ornamental Plants Introduction, Central Siberian Botanical Garden, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, 101 Zolotodolinskaya Str., Novosibirsk 630090, Russian Federation.

E-mail: fomina-ti@yandex.ru