

Н.С. Зиннер¹, Г.И. Высочина², Т.А. Кукушкина², Т.П. Свиридова¹

¹ Сибирский ботанический сад Томского государственного университета (г. Томск)

² Центральный сибирский ботанический сад (г. Новосибирск)

**БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ ВЕЩЕСТВА *HEDYSARUM ALPINUM* L. И *H. THEINUM* KRASNOB. (FABACEAE),
ИНТРОДУЦИРУЕМЫХ В ТОМСКУЮ ОБЛАСТЬ**

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 09-04-90782 – моб_ст).

При выращивании на юге Томской области растения *Hedysarum alpinum* L. и *H. theinum* Krasnob. способны синтезировать ценные биологически активные вещества как в подземной, так и в надземной частях. Обнаружено, что в подземной части копеечника альпийского в конце вегетационного сезона накапливается до 1,07% катехинов, копеечника чайного – до 5,90%, в то время как тритерпеновых сапонинов в корнях копеечника альпийского содержится до 15,40%, копеечника чайного – до 10,70%, при этом у растений исследуемых видов уже на втором году жизни отмечено высокое содержание этих веществ. Выявлены оптимальные сроки заготовки подземных органов копеечников: для получения максимального выхода тритерпеновых сапонинов – фаза начала вегетации, а для получения максимального количества катехинов – конец вегетации. Обнаружено, что в надземной части копеечника альпийского синтезируется до 9,80% флавонолов и до 1,20% катехинов, копеечник чайный содержит до 5,63% флавонолов и до 1,90% катехинов, а оптимальные сроки для заготовки надземной части – фазы бутонизации и цветения.

Ключевые слова: *Hedysarum alpinum* L.; *H. theinum* Krasnob.; флавонолы; тритерпеновые сапонины; катехины.

Род копеечник *Hedysarum* L. (сем. Fabaceae) насчитывает около 285 видов, распространенных по всему земному шару. Некоторые его представители известны своими лекарственными свойствами и широко применяются в медицине, другие его виды являются ценными кормовыми и декоративными растениями. Копеечник альпийский *Hedysarum alpinum* L. – ценное лекарственное растение, из надземной части которого был получен препарат «Алпизарин» – противовирусное средство при острых и рецидивирующих формах простого герпеса. Копеечник альпийский широко применяется в тибетской, китайской, дальневосточной медицинах при лечении простудных заболеваний вирусной природы, сердечных заболеваний, хронических легочных заболеваний, атеросклероза и как хорошее болеутоляющее [1]. Настой травы копеечника альпийского используют для промывания ран при экземе, кожных заболеваниях. Отвар корней применяют в качестве отхаркивающего средства при кашле, бронхитах и туберкулезе лёгких, а также в качестве седативного

средства при нервных расстройствах, бессоннице, эпилепсии, сердечных болях и атеросклерозе [2].

Копеечник альпийский – многолетнее травянистое растение, произрастающее на сырых лугах, в разреженных лесах Западной и Восточной Сибири, на Дальнем Востоке (Амурская область), на севере Монголии и Китая [3]. В надземной части копеечника альпийского обнаружены сапонины [4], флавоноиды (гиперозид, полистахозид, хедизерит-1), дубильные вещества, ксантоны (мангиферин и изомангиферин), кумарины, алкалоиды (следы), полисахариды, аскорбиновая кислота (до 137,5 мг %). В корнях содержатся крахмал, сапонины, полисахариды [1], флавоноиды и кумарины [5].

Копеечник чайный *Hedysarum theinum* Krasnob. широко используется в народной медицине. Вследствие нерегулируемых заготовок природные ресурсы этого вида значительно истощаются. В настоящий момент копеечник чайный занесен в Красную книгу Республики Алтай [6]. В связи с активной пропагандой в средствах массовой информации биологически активных добавок, в которых основным компонентом является копеечник чайный, началось хищническое истребление оставшихся природных популяций этого растения.

Копеечник чайный – редкий высокогорный альпийский вид, имеющий дизъюнктивный центрально-азиатский, южносибирский ареал [7, 3].

В надземной части копеечника чайного содержатся моносахара, дисахара, дубильные вещества, витамин С, каротин, вещества ксантоновой природы мангиферин и изомангиферин [8]. Исследованиями последних лет установлено наличие в подземной части копеечника чайного олигомерных катехинов [9], изофлавоноидов, бутилфенолов, а также жирных кислот – пальметиновой, линоленовой, олеиновой, бегеновой и лигноцериновой [10].

В связи с массовыми заготовками сырья в природных местообитаниях и для сохранения видов существует необходимость в их выращивании в культуре. В Сибирском ботаническом саду Томского государственного университета (СибБС ТГУ) в ходе многолетних интродукционных испытаний отобраны наиболее продуктивные особи, адаптированные к условиям юга Томской области, и созданы интродукционные популяции копеечника альпийского и копеечника чайного.

Данных по количественному содержанию веществ фенольной природы и сапонинов у особей копеечника альпийского и копеечника чайного в доступной литературе обнаружено недостаточно, по некоторым группам веществ не обнаружено вовсе. Отсутствие или наличие и содержание биологически активных веществ дают право судить о целесообразности интродукции видов лекарственных растений.

Целью настоящей работы являлось изучение содержания и динамики накопления веществ фенольной природы (флавонолов и катехинов) и тритерпеновых сапонинов, определение сроков их максимального накопления в копеечнике альпийском и копеечнике чайном, выращиваемых на юге Томской области.

Материалы и методы исследования

Копеечник альпийский впервые был выращен в СибБС ТГУ в 1996 г. из семян, полученных из Центрального сибирского ботанического сада СО РАН (лесостепная зона Западной Сибири, г. Новосибирск), копеечник чайный – в 1993 г. из семян, собранных сотрудником ЦСБС СО РАН С.Б. Володарской в природных местообитаниях (Республика Алтай, хр. Холзун, кедрово-лиственничное редколесье). В дальнейшем использовали семена ежегодных репродукций, полученные в условиях Томской области [11, 12].

Выращивание растений осуществляли на экспериментальном участке СибБС ТГУ (юго-восточная зона г. Томска) на светло-серых лесных оподзоленных почвах с содержанием гумуса 4,6%, рН–5,4. Биохимические исследования проводили в 2009 г. в лаборатории фитохимии ЦСБС СО РАН (г. Новосибирск).

Сбор растительного материала проводили в 2009 г. Растения находились на различных стадиях развития. Наличие и содержание веществ определяли как в подземной, так и в надземной частях растений. Подземная масса растений была собрана в основном в конце вегетационного сезона. Корни шестилетних особей копали как в начале, так и в конце вегетационного периода. Для анализа была взята средняя проба сырья с нескольких особей.

Определение флавоноловых гликозидов проводили спектрофотометрически [13]. Точную навеску сырья (0,5 г) исчерпывающе экстрагировали 70%-ным этанолом. В две пробирки брали по 0,1 мл объединенного экстракта, в одну из них приливали 0,2 мл 2%-ного раствора хлористого алюминия в этаноле, в другую (контроль) добавляли 1–2 капли 30%-ного раствора ледяной уксусной кислоты и обе пробирки доводили до 5 мл этанолом. Через 40 мин измеряли интенсивность окраски на спектрофотометре СФ-26 при длине волны 415 нм. Замеры проводили в трех повторностях. Количество флавоноловых гликозидов в пробе определяли по калибровочному графику, построенному по рутину.

Определение содержания катехинов проводили также спектрофотометрически. Навеску 0,5 г заливали 70%-ным этанолом и исчерпывающе экстрагировали на водяной бане при 70°C. В одну из двух пробирок (опыт и контроль) с 0,8 мл экстракта прибавляли 4 мл 1%-ного раствора ванилина в концентрированной соляной кислоте. Объем обеих пробирок доводили соляной кислотой до 5 мл. Оптическую плотность растворов измеряли через 5 мин на СФ-26 при длине волны 504 нм. Пересчетный коэффициент определяли по (+)-катехину [14–16].

Содержание тритерпеновых сапонинов определяли по ранее описанной методике [17]. Растительное сырье исчерпывающе экстрагировали 70%-ным этанолом при нагревании на водяной бане. Экстракты испаряли до исчезновения спирта и добавляли 7-кратный объем ацетона. Образовавшийся хлопьевидный осадок – сырой сапонин – отфильтровывали, сушили до постоянной массы и вычисляли его содержание.

Результаты исследования и обсуждение

При исследовании подземной части копеечников нами выявлено, что катехинов в копеечнике альпийском синтезируется от 0,05 до 1,07%, в копеечнике чайном – от 0,6 до 5,9% (табл. 1). Максимальное накопление катехинов отмечено у двулетних растений копеечника альпийского и у 6–7-летних особей копеечника чайного. Содержание катехинов в подземных органах копеечника чайного в десятки раз больше, чем в корнях копеечника альпийского. Обратная зависимость наблюдается по тритерпеновым сапонинам, которые в большем количестве накапливаются в подземных органах копеечника альпийского. Важное значение имеет время сбора сырья: катехины в большем количестве синтезируются у 6-летних растений копеечника чайного в конце вегетации. Противоположная тенденция отмечена для синтеза тритерпеновых сапонинов, которые у растений обоих видов в значительном количестве накапливаются в начале вегетации. Высокое содержание тритерпеновых сапонинов в корнях копеечника альпийского, возможно, обуславливает его широкое применение в народной медицине при различных легочных заболеваниях как отхаркивающего средства.

При исследовании надземной части копеечника альпийского выявлено, что в условиях культуры он способен синтезировать от 4,05 до 9,80% флавонолов и от 0,26 до 1,20% катехинов (табл. 2). В копеечнике чайном флавонолов меньше – от 2,30 до 5,63%, при этом катехинов синтезируется больше – от 0,56 до 1,90%. Наибольшее содержание флавонолов отмечено в фазы вегетации, бутонизации и цветения, однако оптимальными сроками для заготовки сырья следует считать фазы бутонизации и цветения в связи с наибольшей надземной массой в эти периоды. Растения исследуемых видов копеечников можно использовать как источник получения флавонолов, т.к. их содержание даже у 13- и 17-летних особей очень высокое. Содержание катехинов варьирует от фазы к фазе незначительно, за исключением особей 13 и 17 лет, у которых наблюдается снижение содержания катехинов к концу вегетации. У более молодых растений 4–7 лет отмечена тенденция к максимальному синтезу катехинов в первые фазы развития, особенно у вегетирующих растений, что, вероятно, связано с отсутствием или малой долей стеблей в анализируемой пробе.

При выращивании на юге Томской области *Hedysarum alpinum* L. и *H. theinum* Krasnob. способны синтезировать ценные биологически активные вещества как в подземной, так и в надземной частях. В подземной части копеечника альпийского в конце вегетационного сезона накапливается до 1,07% катехинов, копеечника чайного – до 5,90%. Тритерпеновых сапонинов в корнях копеечника альпийского до 15,40%, копеечника чайного – до 10,70%, при этом у растений исследуемых видов уже на втором году жизни отмечено высокое содержание этих веществ. Оптимальным сроком заготовки подземных органов с целью получения максимального выхода тритерпеновых сапонинов является фаза начала вегетации. Для максимального получения катехинов подземную часть копеечников следует заготавливать в конце вегетации.

Таблица 1

Содержание катехинов и тригтерпеновых сапонинов в подземной части *Neofusarium alpinum* и *H. theitum*, выращенных на юге Томской области (% от воздушно-сухой массы сырья)

Возраст растения, лет	<i>H. alpinum</i>		<i>H. theitum</i>	
	Катехины	Тригтерпеновые сапонины	Катехины	Тригтерпеновые сапонины
2	1,10	15,40	0,60	10,70
4	0,05	4,78	1,30	5,40
5	0,07	5,52	—	—
6	0,07 (0,08)	4,90 (11,3)	5,90 (0,80)	0,50 (8,60)
7	0,06	12,20	5,80	3,60
13	0,14	2,60	—	—
17	—	—	4,30	Следы

Примечание. В скобках приведены данные для сырья в фазе начала вегетации.

Таблица 2

Содержание флавонолов и катехинов в надземной части *Neofusarium alpinum* и *H. theitum*, выращенных на юге Томской области (% от воздушно-сухой массы сырья)

Биологически активные вещества	Возраст растений, лет																								
	4				5				6				7				13	17							
	В	Б	Ц	П	В	Б	Ц	П	В	Б	Ц	П	В	Б	Ц	П	В	Б	Ц	П					
<i>H. alpinum</i>	Флавонолы	9,70	4,70	5,80	4,05	8,01	6,30	7,13	4,80	5,70	8,90	7,40	5,04	6,41	9,80	4,80	5,70	7,10	6,40	5,70	4,90	—	—	—	—
	Катехины	0,57	0,55	0,53	0,40	0,73	0,47	0,49	0,41	0,76	0,51	0,35	0,35	0,76	0,47	0,53	0,26	0,54	1,20	0,70	0,54	—	—	—	—
<i>H. theitum</i>	Флавонолы	5,10	3,80	4,00	3,90	—	—	—	—	5,63	3,60	2,70	2,30	4,52	3,70	3,25	4,30	—	—	—	—	4,60	3,90	3,00	2,80
	Катехины	0,59	0,75	0,57	0,56	—	—	—	—	1,06	0,80	0,60	0,60	1,90	1,70	1,50	0,70	—	—	—	—	1,20	1,10	0,60	0,70

Примечание. Фазы развития: В – вегетация, Б – бутонизация, Ц – цветение, П – плодоношение.

В надземной части копеечника альпийского синтезируется до 9,80% флавонолов и до 1,20% катехинов, копеечник чайный содержит до 5,63% флавонолов и до 1,90% катехинов. Оптимальными сроками для заготовки надземной части следует считать фазы бутонизации и цветения.

Литература

1. *Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование. Семейства: Hydrangeaceae – Haloragaceae.* СПб.: Наука, 1987. С. 145–148.
2. *Телятьев В.В.* Полезные растения Центральной Сибири. Иркутск: Восточно-Сибирское книжное издательство, 1985. 384 с.
3. *Флора Сибири / Под ред. А.В. Положий, Л.И. Малышева.* Новосибирск: Наука, 1994. Т. 9. 279 с.
4. *Хамидуллина Е.А., Зинченко С.В., Семенов А.А.* Качественный состав сапониновой фракции из надземной части *Hedysarum alpinum* L. // Растительные ресурсы. 2002. Т. 38, вып. 1. С. 78–81.
5. *Маркова Л.П., Беленовская Л.М., Надеждина Т.П.* Дикорастущие полезные растения флоры Монгольской Народной Республики. Л.: Наука, 1985. Т. XXIII. 236 с.
6. *Красная книга Республики Алтай.* Новосибирск, 1996. С. 23–24.
7. *Красноборов И.М., Азовцев Г.Р., Орлов В.П.* Новый вид рода *Hedysarum* (Fabaceae) из Южной Сибири // Ботанический журнал. 1985. Т. 70, № 7. С. 968–973.
8. *Неретина О.В., Громова А.С., Луцкий И.В., Семенов А.А.* Компонентный состав видов рода *Hedysarum* (Fabaceae) // Растительные ресурсы. 2004. Т. 40, вып. 4. С. 111–137.
9. *Агафонова О.В., Володарская С.Б.* Продуктивность и содержание олигомерных катехинов у *Hedysarum theinum* Krasnob. в Центральном и Юго-Западном Алтае // Растительные ресурсы. 2000. Т. 36, вып. 3. С. 47–52.
10. *Нечепуренко И.В., Половинка М.П., Сальникова О.И. и др.* Компоненты этилацетатного экстракта корней *Hedysarum theinum* Krasnob. // Химия природных соединений. 2007. № 1. С. 6–9.
11. *Свиридова Т.П., Зиннер Н.С.* Интродукция флавоноидосодержащих лекарственных растений в Сибирском ботаническом саду Томского государственного университета // Вестник Томского государственного университета. 2007. № 305. С. 211–214.
12. *Свиридова Т.П., Зиннер Н.С.* Перспективы выращивания *Hedysarum alpinum* L. *Hedysarum theinum* Krasnob. в условиях Томской области // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2008. № 2(3). С. 5–11.
13. *Беликов В.В., Шрайбер М.С.* Методы анализа флавоноидных соединений // Фармация. 1970. № 1. С. 66–72.
14. *Запрометов М.Н.* Биосинтез катехинов. М.: Наука, 1964. 294 с.
15. А.с. 1073966 СССР. Способ получения Р-витаминного препарата / Азовцев Г.Р., Изюмов Е.Г., Зыков А.А. 1983.
16. Патент № 2128516 Россия. Способ получения Р-витаминного средства / Кукушкина Т.А., Жанаева Т.А., Зыков А.А. 1999.
17. *Киселева А.В., Волхонская Т.А., Киселев В.Е.* Биологически активные вещества лекарственных растений Южной Сибири. Новосибирск: Наука, 1991. 133 с.

Поступила в редакцию 03.09.2010 г.

Nadejda S. Zinner¹, Galina I. Vysochina²,
Tatyana A. Kukushkina², Tatyana P. Sviridova¹

¹ Siberian Botanical Garden of Tomsk State University, Tomsk, Russia

² Central Siberian Botanical Garden of SB RAS, Novosibirsk, Russia

**BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES *HEDYSARUM ALPINUM* L.
AND *H. THEINUM* KRASNOB. (*FABACEAE*) INTRODUCED TO TOMSK REGION**

This work was carried out with the support of RFFI grant (project № 09-04-90782 – mob_st)

It was shown that while being cultivated in the south of Tomsk oblast Hedysarum alpinum L and H. theinum Krasnob. can synthesize valuable biologically active substances both in underground and above-ground parts. It was found out that the underground part of H. alpinum accumulates up to 1,07% of catechins at the end of the vegetative season, H. theinum up to 5,90% whereas triterpenoid saponins are accumulated in the roots H. alpinum up to 15,40% and in those of H. theinum up to 10,70%. At the same time plants of the studied species are noted to contain a great number of these substances already at the second year of their life. Optimal terms for preparing underground organs of Hedysarum were found: it is the phase of the beginning of vegetation for preparing the maximum output of triterpenoid saponins whereas it is the end of vegetation for preparing the maximum number of catechins. It was established that in the above-ground part of H. alpinum up to 9,80% of flavonols and up to 1,20% of catechins are synthesized, H. theinum contains up to 5,63% of flavonols and up to 1,90% of catechins. Optimal terms for preparing the above-ground part are the phases of bud formation and flowering.

Key words: *Hedysarum alpinum* L.; *H. theinum* Krasnob.; flavonols; triterpenoid saponins; catechins.

Received September 3, 2010