

УДК 581.1:615.322:581.192:543.544:58.085

РЕДКОЕ РАСТЕНИЕ ЦЕНТРАЛЬНОЙ ЯКУТИИ *Polygala sibirica* L.: ФИТОХИМИЧЕСКИЙ ПРОФИЛЬ И ПОЛУЧЕНИЕ МОРФОГЕННОЙ КУЛЬТУРЫ *in vitro*¹

© 2023 г. Ж. М. Охлопкова^{a, *}, М. П. Разгонова^{b, c}, Е. В. Кучарова^a,
П. С. Егорова^d, К. С. Голохваст^{b, e, f}

^aФедеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования
Северо-Восточный федеральный университет имени М. К. Аммосова, Якутск, Россия

^bФедеральное государственное бюджетное научное учреждение Федеральный исследовательский центр
Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова (ВИР), Санкт-Петербург, Россия

^cФедеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования
Дальневосточный федеральный университет, Передовая инженерная школа Институт биотехнологий,
биоинженерии и пищевых систем, Владивосток, Россия

^dИнститут биологических проблем криолитозоны Сибирского отделения Российской академии наук, Якутск, Россия

^eФедеральное государственное бюджетное научное учреждение Сибирский федеральный научный центр
агробиотехнологий Российской академии наук, Краснообск, Россия

^fФедеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования
Национальный исследовательский Томский государственный университет, Национально-образовательный центр
Передовая инженерная школа Агробиотек, Томск, Россия

*e-mail: zhm.okhlopkova@s-vfu.ru

Поступила в редакцию 01.10.2023 г.

После доработки 02.11.2023 г.

Принята к публикации 13.11.2023 г.

Polygala sibirica L. (истод сибирский) – редкий и исчезающий вид растения, который занесен в Красную книгу Республики Саха (Якутия) по категории “3 в” как вид, имеющий узкую экологическую приуроченность к выходам известняковых горных пород. Впервые исследован фитохимический профиль надземной фитомассы истода сибирского, произрастающего в Центральной Якутии, и выполнена индукция культуры *in vitro*. Методами ВЭЖХ-МС/МС и tandemной масс-спектрометрии в метанольных экстрактах надземной фитомассы истода сибирского предположительно идентифицировано 74 соединения, из них 40 соединений идентифицировано впервые в пределах рода *Polygala* L., в том числе 22 полифенольных соединения, включая флавоны (изоформонетин, сирингетин, апигенин 7-О-глюкозид и др.), флавонолы (гербацетин, мирицетин и др.), флаван-3-олы (афзелехин, эпикатехин и др.), флаваноны (гесперитин, эриоцитрин), фенольная кислота и антоцианы. Получена первичная каллусная культура истода сибирского на основе листовых эксплантов интактных растений с изучением динамики роста сырой и сухой биомассы клеток. На основе каллусной ткани инициирован непрямой морфогенез с обильным побегообразованием. Таким образом, заложена основа для последующего размножения редкого растения *P. sibirica* с целью реинтродукции в условиях Якутского ботанического сада.

Ключевые слова: *Polygala sibirica*, ВЭЖХ–МС/МС, каллусная культура, полифенолы, растения Якутии, tandemная масс-спектрометрия, *in vitro* морфогенез

DOI: 10.31857/S0015330323600973, **EDN:** BESXUH

ВВЕДЕНИЕ

Polygala sibirica L. (истод сибирский) – многолетнее травянистое растение рода *Polygala* L. семейства *Polygalaceae* (Истодовые). Отмечено распространение в Румынии, Сибири, на Дальнем Востоке, Кавказе, Монголии, Китае и Японии. Из-за

сбора на лекарственное сырье и нарушения естественных местообитаний численность популяций истода сибирского сокращается. Для охраны и сохранения малочисленных ценопопуляций вид занесен в Красные книги 15 областей и 4 республик России, включая и Республику Саха (Якутия) [1].

В Якутии истод сибирский распространен на территории природного парка “Ленские Столбы”, в окрестностях с. Еланка Хангаласского района.

¹ Дополнительная информация для этой статьи доступна по doi 10.31857/S0015330323600973 для авторизованных пользователей.

Обитает на каменистых склонах, луговых степях, сухих сосновых лесах, по галечникам и на залежах [1, 2].

Известно активное использование истода сибирского в народной медицине Китая для лечения лихорадки, воспаления, артралгии и укусов гадюки [3–6].

Известно также, что из растения были выделены полисахариды, флавонолы и производные ксантонов [7, 8].

Истод сибирский применяется в качестве отхаркивающего средства при лечении острых и хронических заболеваний дыхательных путей. В лекарственных целях употребляются корневища и корни. Основным действующим средством являются сапонины, также в корнях содержатся гликозиды, дубильные вещества, смолы, эфирное и жирное масла, глюкоза [9].

В якутской народной медицине используется как лекарственное растение, применяемое в качестве отхаркивающего средства при лечении бронхитов и других острых и хронических заболеваний дыхательных путей. Для приготовления настоев и отваров используют подземные части, которые содержат сапонины, обладающие гемолитическим действием [10].

Первый интродукционный эксперимент с *P. sibirica* в Якутском ботаническом саду был проведен в 1983 г. Из-за сложностей семенного размножения в природных популяциях обнаруживалось очень мало растений прегенеративного возраста, для интродукции переносились растения во взрослом состоянии, которые практически не приживались. В 2004 г. растения были мобилизованы из окрестностей с. Еланка, из которых прижилась около 30%. В культуре у вида наблюдалось нерегулярное плодоношение, не было самовозобновления, из-за этого были сделаны выводы о неэффективности интродукции [11, 12].

Известны работы по введению в культуру *in vitro* на основе различных эксплантов и изучению влияния фитогормонов на размножение *in vitro* некоторых лекарственных видов *Polygala*. Например, для введения в культуру *in vitro* *Polygala myrtifolia* в качестве первичных эксплантов использовали сегменты стеблей верхушечных побегов. При этом высокая скорость пролиферации пазушных побегов наблюдалась при культивировании истода миртолистного на питательной среде МС с добавлением 1.8 мкМ БАП. Полученные микропобеги укоренялись при добавлении в питательную среду 14.3 мкМ ИУК [13].

Эндемичное растение *Polygala antillensis*, находящееся под угрозой исчезновения, вводили в культуру *in vitro* на основе семян и узловых эксплантов. Выращивание проростков *in vitro* проводили микроразмножением на среде МС с добавлением тиазурина в концентрации 0.3 мг/л.

Исследование позволило рассматривать возможность реинтродукции этого вида на охраняемых территориях [14].

Изучали влияние БАП на развитие культуры истода метельчатого *in vitro* и продукцию метилсалицилата в получаемых проростках. В проростках *Polygala paniculata*, культивируемых на питательной среде МС повышение концентрации БАП с 2 до 4 мг/л снижало продукцию метилсалицилата до 50%. Введение в культуру *in vitro* лекарственного истода метельчатого позволило быстро получать растительное сырье в качестве потенциального источника метилсалицилата [15].

В следующей работе индукцию каллуса истода обманчивого получали на питательной среде МС с добавлением 2,4-Д в концентрации 4 мкмоль/(л) из листовых эксплантов. При культивировании каллусной ткани на питательной среде МС с добавлением БАП в 2 мкмоль/(л) и НУК в 0.2 мкмоль/(л) через 20 дней появлялись адвентивные почки. Микропобеги *Polygala fallax* хорошо укоренялись при добавлении в питательную среду МС 2,4-Д в концентрации 0.5 мкмоль/(л) [16].

И относительно недавно было показано антагонистическое действие гелеобразующих агентов по отношению к концентрации сахарозы при культивировании *in vitro* лекарственного истода метельчатого. При этом рост культуры истода метельчатого на агаре с сахарозой в концентрации 30 г/л приводил к формированию более толстой листовой пластинки с расширенным губчатой мезофиллом, но более с рыхлыми межклеточными пространствами. В свою очередь рост культуры *Polygala paniculata* на Phytigel™ с сахарозой в концентрации 15 г/л приводил к значительному утолщению палисадного мезофилла листьев. Освещение люминесцентной лампой способствовало наилучшему развитию листьев истода при культивировании на агаризованной питательной среде. Спектральное качество света не влияло на толщину листовой пластинки у растений, выращенных на питательной среде на основе фитогеля. Таким образом, исследование показало влияние комбинации гелеобразователя, качества света и концентрации сахарозы на формирование и анатомическую структуру листьев проростков истода метельчатого, выращиваемых *in vitro* [17].

Однако к настоящему времени неизвестны работы по введению в культуру *in vitro* истода сибирского на основе образцов центрально-якутской популяции, а также по его фитохимическому составу.

Целью исследования является изучение фитохимического профиля надземной фитомассы редкого растения *P. sibirica*, произрастающего в Центральной Якутии, и индукция культуры *in vitro* для последующего размножения с целью реинтродукции.



Рис. 1. *Polygala sibirica* в окрестностях с. Еланка Хангаласского района Якутии (фото Кучаровой Е.В., июнь 2022 г.).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для сбора растительного материала истода сибирского *P. sibirica* L. была организована и проведена экспедиция на территории Хангаласского района Якутии (Центральная Якутия, 61°26'32" с.ш., 128°08'08" в.д.) в июне 2022 г. Для фитохимического анализа была собрана надземная фитомасса *P. sibirica*, которая сушилась открытым способом на горизонтальной поверхности без воздействия прямого солнечного света в хорошо проветриваемом помещении. Воздушно-сухую растительную массу хранили в бумажных крафт-пакетах в условиях холодильника при 4–6°C. Для клеточно-культуральных работ были собраны интактные растения истода сибирского с каменистых крутых степных склонов в окрестностях с. Еланка (рис. 1). Интактные растения после транспортировки содержались в условиях климатической камеры MLR-352H (Sanyo, Япония) при температуре $26 \pm 1^\circ\text{C}$, влажности $70 \pm 5\%$, интенсивности освещения 10000 лк с фотопериодом 18/6.

Для получения высококонцентрированных экстрактов применяли метод фракционной мацерации. Для приготовления экстрактов к навеске 10 г воздушно-сухой надземной фитомассы истода сибирского добавляли метиловый спирт (95%, ХЧ) в соотношении 1 : 20 и настаивали в течение 7 сут при комнатной температуре (20°C). Экс-

тракцию проводили в трех повторностях. Для выполнения разделения многокомпонентных смесей использовался жидкостный хроматограф высокого давления Shimadzu LC-20 Prominence HPLC (Shimadzu, Япония), оборудованный UV-детектором и обратнофазной колонкой Shodex ODP-40 4E (250 × 4.6, размер частиц 4 мкм). Элюировали в градиенте от воды к ацетонитрилу (А, %): 0.0 – 4 мин, 0% А; 4 – 60 мин, 0 – 25% А; 60 – 75 мин, 25 – 100% А; 75 – 120 мин, 100% А, скорость потока 0.5 мл/мин. Весь ВЭЖХ-анализ сделан с UV-VIS-детектором SPD-20A (Kanda-Nishikicho 1-chrome, Shimadzu, Chiyoda-ku, Токио, Япония) при длинах волн 230 и 330 нм; температура 50°C. Объем загрузочной петли составлял 200 мкл. Жидкостный хроматограф высокого давления при прохождении экспериментов был сопряжен с ионной ловушкой amaZon SL в онлайн-режиме. Масс-спектрометрические данные получены с помощью ионной ловушки amaZon SL (Bruker Daltonics, Германия), оснащенной источником ионизации электрораспылением ESI в режимах отрицательных и положительных ионов. Оптимизированные параметры получены следующим образом: температура источника ионизации: 70°C, поток газа гелия: 8 л/мин, газ-небилайзер (распылитель): 7.3 psi, капиллярное напряжение: 4500 V, напряжение на изгибе торцевой пластины:

1500 V, фрагментатор: 280 V, энергия столкновения: 60 eV. Масс-спектрометр использовался в диапазоне сканирования m/z 100 – 1.700 для MS/MS. Произведена фрагментация 4 порядка.

Идентификация соединений производилась путем сравнения значений m/z , RT и моделей фрагментации со спектральными данными MS2, взятыми из научной литературы или путем поиска в базах данных (MS2T, MassBank, HMDB). В качестве эксплантов для введения *P. sibirica* в культуру *in vitro* использовали различные части интактного растения – молодые листья, сегменты стеблей текущего года 0.5–1.5 см длиной с междоузлиями, срезанные с верхней части. Первичную обработку эксплантов проводили 2.5% раствором дезинфицирующего средства “Domestos” (Россия) в течение 15 мин. Затем экспланты выдерживали в 70% растворе этилового спирта в течение 1 мин. Далее экспланты обрабатывали 3% раствором перекиси водорода в течение 1 мин. После каждого реагента экспланты трижды промывали в стерильной дистиллированной воде. Для инициации процесса каллусогенеза простерилизованные экспланты помещали на питательную среду MS с добавлением сахарозы и регуляторов БАП и НУК в концентрациях 0.125/0.025, 0.25/0.05, 0.5/0.1, 0.75/0.15 мг/л, соответственно. Эксплантацию в каждом варианте проводили на чашки Петри по 5 эксплантов и в колбы на 100 мл по 3 экспланта в трех повторностях при температуре 24–25°C, влажности воздуха 60%, при фотопериоде 12/12.

Полученные первичные каллусы пересаживали и культивировали на питательной среде MS с добавлением 2,4-Д (1 мг/л), БАП (1 мг/л), НУК (1 мг/л) (вариант ДБН) и 2,4-Д (1 мг/л), НУК (1 мг/л), кинетина (1 мг/л) (вариант ДНК).

Для изучения динамики роста каллусной культуры истода сибирского одновременно выращивали в 30 чашках Петри (по 5 каллусов) в течение 30 сут. Каждые 3–4 сут производили взвешивание сырой и сухой массы клеток в трех повторностях по 5 объектов в каждой повторности на электронных весах с точностью до 0.0001 г. Для получения сухой массы клеток сырую массу высушивали в термостате при 60°C в течение 24 ч с последующим охлаждением при комнатной температуре [18]. Для инициации непрямого морфогенеза каллусные культуры *P. sibirica* были пересажены на питательную среду MS с добавлением БАП в концентрациях 0.5 и 1 мг/л. Эффективность индукции образования побегов фиксировали на 30 сут культивирования подсчетом количества образовавшихся побегов. Образовавшиеся микроростки разделяли и пересаживали для размножения на питательную среду MS с добавлением БАП в концентрации 1 мг/л. Клонально размноженные микрорастения культивировали в клима-

тической камере Sanyo MLR-352H (Sanyo, Япония) при температуре $26 \pm 1^\circ\text{C}$, влажности $70 \pm 5\%$, интенсивности освещения 5000 лк, а также в условиях фитостеллажа “Стеллар-ФИТО Line P6-C” (АНО “АВТех”, Москва, РФ) при температуре 25–27°C, влажности 60%, интенсивности освещения 5000 лк с фотопериодом 18/6.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Для анализа фитохимического профиля надземной фитомассы истода сибирского, произрастающего в Центральной Якутии, были подготовлены метанольные экстракты в трех повторностях. Для удобства идентификации была составлена унифицированная системная таблица целевых аналитов, выделенных из экстрактов надземной фитомассы *P. sibirica* (Дополнительные материалы, табл. 1). В результате проведенного масс-спектрометрического исследования всего предположительно идентифицировано 74 химических соединения, из них 43 соединения представляют полифенольную группу.

Впервые были идентифицированы 40 химических соединений в пределах рода *Polygala*, из них 22 полифенолов: флавонов – 5, флавонолов – 5, флаван-3-олов – 4, флаванонон – 2, фенольных кислот – 1, антоцианов – 5.

Для примера представлены масс-спектры впервые обнаруженных полифенолов. На рис. 2 представлен масс-спектр флавана синрингетина. Протонированный ион синрингетина с m/z 347.18 в результате фрагментации продуцирует два дочерних иона с m/z 332.13 и m/z 286.11. Далее фрагментарный ион с m/z 332.13 порождает один ион с m/z 286.16, после чего представлена четвертая по счету фрагментация с одним полученным в результате фрагментации ионом с m/z 271.11. По итогам данной масс-спектрометрии и сверяясь с научными данными из литературных источников, мы можем утверждать, что данная фрагментация ориентировочно представляет масс-спектр синрингетина. Наш вывод подтверждают данные полученных масс-спектров из экстрактов *Carpobrotus edulis* [26].

На рис. 3 представлен предположительно масс-спектр флаван-3-ола эпикатехина. Протонированный ион эпикатехина с m/z 291.27 в результате фрагментации произвел три дочерних иона с m/z 261.16, m/z 243.21 и m/z 157.20. Далее ион с m/z 261.16 фрагментировался на три иона с m/z 191.13, m/z 173.16 и m/z 143.19, после чего следовала четвертая по счету фрагментация, в результате которой получено три иона с m/z 161.04, m/z 143.15 и m/z 125.18. Ориентировочно данная фрагментация представляет масс-спектр эпикатехина, что подтверждают данные из научных статей, где представлены подобные масс-спектры

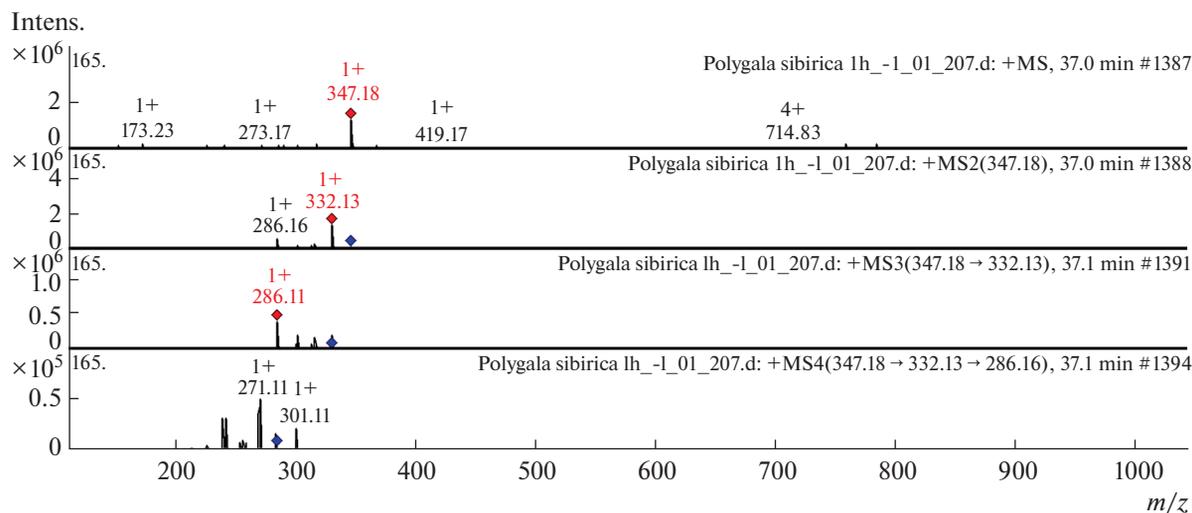


Рис. 2. Масс-спектр сирингетина из экстракта надземной фитомассы *Polygala sibirica*, m/z 347.18.

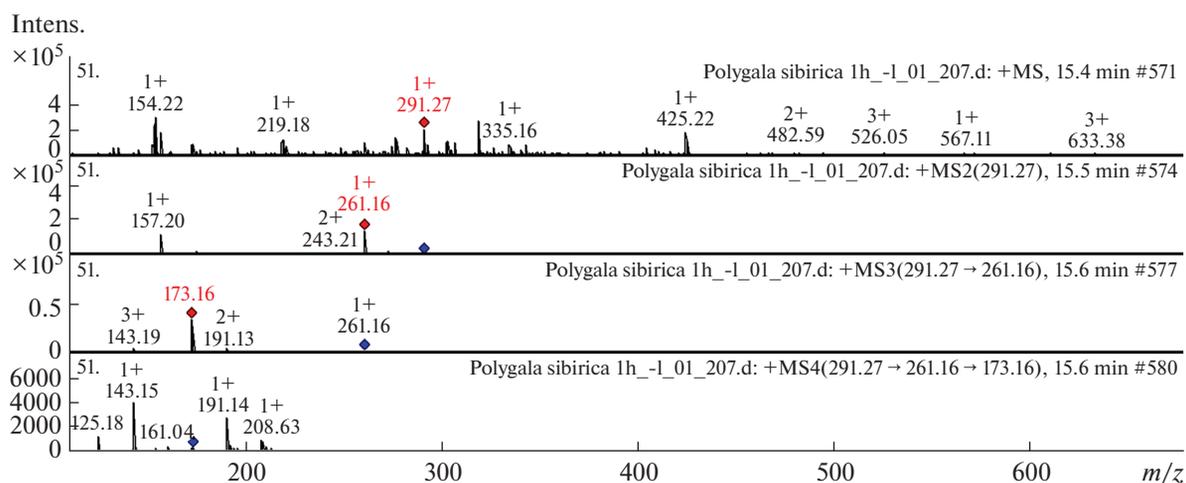


Рис. 3. Масс-спектр эпикатехина из экстракта надземной фитомассы *Polygala sibirica*, m/z 291.27.

из экстрактов *Grataegi Fructus* [27], *Camellia kucha* [40], *Cassia grandis* [41], *Cassia abbreviata* [42], *Radix polygoni multiflori* [43].

В ходе работ нами был получен первичный каллус *P. sibirica* из листовых эксплантов интактных растений при культивировании на питательной среде с добавлением БАП и НУК в концентрациях 0.25/0.05 и 0.5/0.1 мг/л (рис. 4а). При культивировании листовых эксплантов на среде МС с добавлением БАП и НУК в концентрациях 0.125/0.025; 0.75/0.15 мг/л, соответственно, а также стеблевых эксплантов на среде МС с добавлением всех апробированных концентраций БАП и НУК каллусогенеза в течение 30 сут не наблюдалось.

Сравнительный анализ динамики роста биомассы клеток каллусной культуры клеток истода сибирского показал, что при культивировании пер-

вичных каллусов на питательной среде МС с добавлением 2,4-Д (1 мг/л), БАП (1 мг/л), НУК (1 мг/л) наблюдался прирост сырой массы на 0.674 г, на среде с заменой НУК на кинетин (1 мг/л) прирост составил 0.267 г на 30 сутки культивирования (рис. 5). Прирост сухой массы клеток на варианте культивирования с НУК (1 мг/л) составил 0.087 г, а на варианте с кинетином — 0.035 г (рис. 6).

Часть полученных первичных каллусных культур истода сибирского была использована для инициации непрямого морфогенеза с добавлением в питательную среду МС разных концентраций фитогормона БАП. При этом непрямо морфогенез наблюдался на вариантах с добавлением БАП в концентрациях 0.5 и 1 мг/л (рис. 4б).

Однако, при культивировании на питательной среде МС с БАП (0.5 мг/л) побегообразование останавливалось через 2 нед. и растения начина-

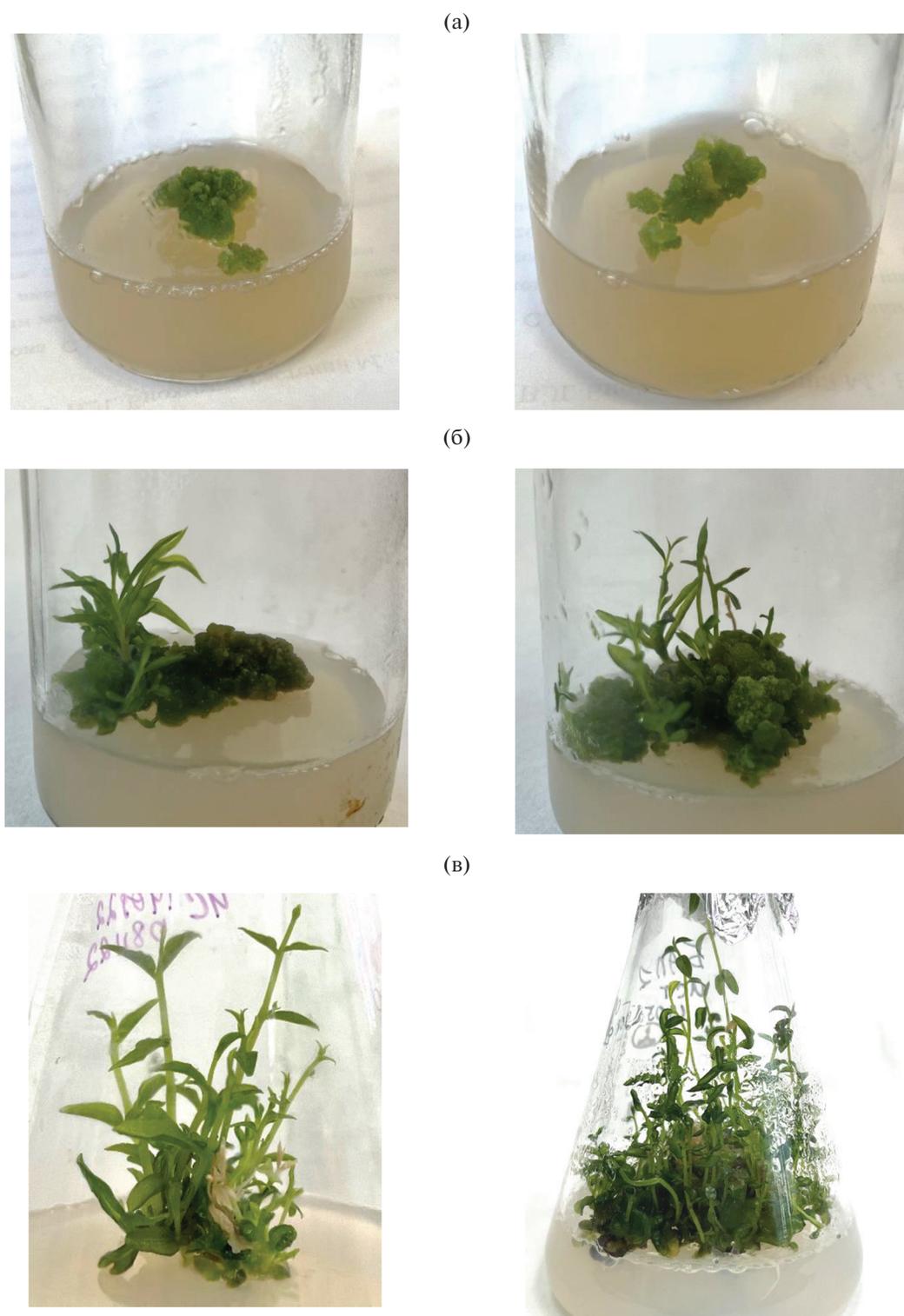


Рис. 4. Первичные каллусы (а), непрямого морфогенез (б) и побегообразование (в) *Polygala sibirica* in vitro.

ли желтеть и отмирать. При продолжении культивирования на МС-среде с добавлением БАП в концентрации 1 мг/л наблюдалось интенсивное побегообразование, окраска побегов растения была насыщенно-зеленой (рис. 4в). При этом в

одной колбе с каллусной тканью развивалось от 10 до 20 микропобегов в течение 30 суток культивирования. Микропобеги разделяли с последующей пересадкой для микроразмножения на МС-среду с таким же составом.

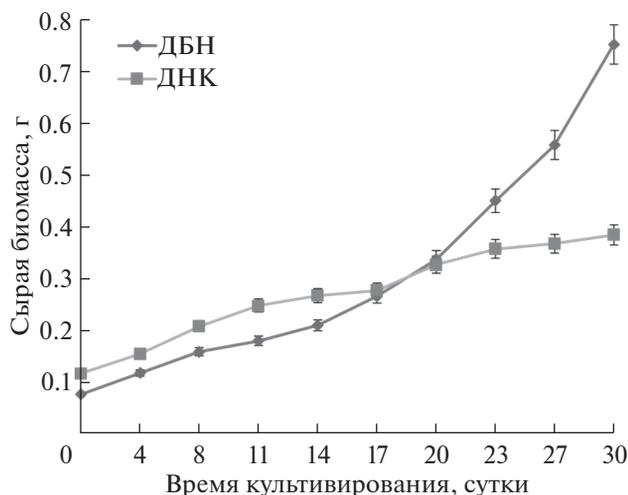


Рис. 5. Динамика роста сырой массы клеток каллусной культуры *Polygala sibirica* на питательной среде МС с добавлением 2,4-Д (1 мг/л), БАП (1 мг/л), НУК (1 мг/л) (вариант ДБН) и 2,4-Д (1 мг/л), НУК (1 мг/л), кинетина (1 мг/л) (вариант ДНК).

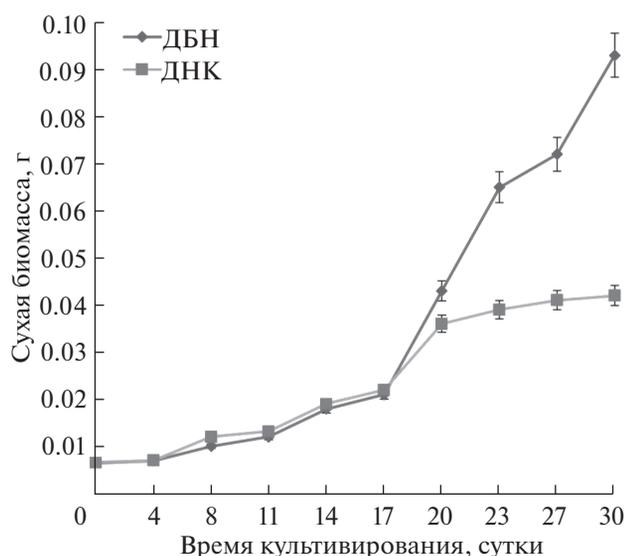


Рис. 6. Динамика роста сухой массы клеток каллусной культуры *Polygala sibirica* на питательной среде МС с добавлением 2,4-Д (1 мг/л), БАП (1 мг/л), НУК (1 мг/л) (вариант ДБН) и 2,4-Д (1 мг/л), НУК (1 мг/л), кинетина (1 мг/л) (вариант ДНК).

ОБСУЖДЕНИЕ

В более ранних исследованиях фитохимического состава корней истода сибирского, произрастающего в Китае, были идентифицированы ксантангены, флавоноиды, тритерпеноиды и сапонины, в том числе сибирикоза А₄ [58], рамнетин 3-*O*-бета-галактопиранозид, полигалатенозид А [38], тенуифолин [59], а также в надземной части — полигалины А и С, полигалин Е, рамнетин I и II,

рамнетин 3-*O*-бета-галактопиранозид, сибирикасапонины А, В и Е [29], а также полигалины I и H [30], которые также обнаружены и идентифицированы в метанольном экстракте надземной фитомассы *P. sibirica*, произрастающего в Центральной Якутии (табл. 1).

Как мы отмечали ранее, в экстракте надземной фитомассы истода сибирского центрально-якутской популяции впервые для рода *Polygala* выявлено 40 соединений. Из группы полифенольных соединений впервые идентифицированы 5 флавонов, в том числе изоформононетин, сирингетин, апигенин 7-*O*-глюкозид, 5 флавонолов, в том числе гербацетин, мирицетин, 4 флаван-3-ола (афзелехин, эпикатехин и др.), флавононы, гесперитин и эриоцитрин, фенольная кислота и 5 антоцианов, всего 22 полифенольных соединения. Из других групп соединений для рода *Polygala* впервые идентифицировано 18 индивидуальных соединений, включая L-триптофан, миристолеиновую, линоленовую, эйкозодиеновую и пентакозеновую кислоты, иридоиды, ксантангены, каротиноид, алкалоид (сеспендол) и другие (табл. 1).

Одним из первых введение в культуру *in vitro* из представителей рода *Polygala* было выполнено для истода миртолистного *Polygala myrtifolia*, где в качестве первичных эксплантов использовали сегменты стеблей верхушечных побегов. При этом активную индукцию побегов наблюдали при культивировании эксплантов на среде МС с добавлением 6-бензиладенина [13]. Эндемичное редкое растение *Polygala antillensis* было введено в культуру *in vitro* на основе семян и узловых эксплантов [14]. Успешно было введено в культуру *in vitro* лекарственное растение истод метельчатый *Polygala paniculata* при культивировании на питательной среде МС с добавлением БАП в концентрации 2 мг/л и с наибольшей продукцией метилсалицилата [15]. Индукцию каллусной культуры истода обманчивого *Polygala fallax* получали на питательной среде МС с добавлением 2,4-Д из листовых эксплантов, а при культивировании полученных каллусов на среде МС с добавлением БАП и НУК инициировался органогенез [16].

В настоящей работе получены первичные каллусы *P. sibirica* из листовых эксплантов на питательной среде МС с добавлением БАП и НУК (рис. 4а). На основе первичных каллусов были получены стабильно растущие каллусные культуры, на которых изучена динамика роста каллусной биомассы в течение 30 суток. Исходя из полученных данных, подходящим вариантом для лучшего прироста биомассы является среда МС с добавлением 2,4-Д (1 мг/л), БАП (1 мг/л), НУК (1 мг/л), где прирост сырого веса больше в 1.9 ± 0.2 раза, сухого веса в 5.5 ± 0.1 раза, чем на варианте питательной среды с добавлением 2,4-Д и НУК в соче-

тании с кинетином (рис. 5, 6). На основе полученных каллусов нами инициирован не прямой морфогенез с интенсивным побегообразованием при культивировании на среде МС с добавлением БАП в концентрации 1 мг/л (рис. 4в).

Данные анализа фитохимического профиля экстрактов наземной фитомассы истода сибирского, произрастающего в Центральной Якутии, показали присутствие большой разновариантности полифенолов и соединений других химических групп. Результаты по получению каллусной культуры, индукции морфогенеза *in vitro* и заложению основ к микроразмножению позволят выполнить масштабирование получения микроклонов *Polygala sibirica*, индукцию *in vitro* корнеобразования, затем адаптивное укорененных растений в условиях закрытого и открытого грунта.

Таким образом, заложена основа для размножения истода сибирского с целью реинтродукции в условиях Якутского ботанического сада и сохранения данного редкого вида, обладающего комплексом полифенольных и других групп соединений.

Исследование выполнено в Северо-Восточном федеральном университете за счет гранта Российского научного фонда № 22-14-20031, <https://rscf.ru/project/22-14-20031/> и гранта Якутского научного фонда на основании договора № 38 от 11 мая 2023 года.

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием людей в качестве объектов исследований.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Красная книга Республики Саха (Якутия)*. Т.1: Редкие и находящиеся под угрозой исчезновения виды растений и грибов / Отв. ред. Н.С. Данилова. Москва: Реарт, 2017. 412 с.
2. *Егорова А.А.* Сосудистые растения Юго-Западной Якутии. Новосибирск: Наука, 2013. 203 с.
3. *Chen S.K., Li H., Chen B.Y.* Flora of China. Beijing, China: Science Press, 1997. 195 p.
4. *Wu Z.Y., Li X.W.* Yunnan Plant Annals. Beijing, China: Science Press, 1983. 287 p.
5. *Luo X.R.* Practical color atlas of Chinese herbal medicine. Guangzhou, China: Guangdong Science and Technology Press, 1995. 16 p.
6. *Yu H.Z., Wu H.* Studies on anti-snake venom activity of ethanol extract from *Polygala sibirica* L. var *megalopha* Fr. // Chin. J. Ethnomed. Ethnopharm. 2008. V. 17. P. 3.
7. *Wei Y.J., Zhou Q.J., Huang S.Y., Zhou J., Zhang J.M., Wan Y., Wu H.* Extraction and purification of *Polygala sibirica* L. var *megalopha* Fr. Polysaccharides // J. Jiansu Norm. Univ. Nat. Sci. Ed. 2014. V. 31. P. 60.
8. *Wan Y., Yu H.Z., Ye L., Zhang F.R., Wu H.* Flavonol and xanthone derivatives from *Polygala sibirica* L. var *megalopha* Fr. // J. Southwest. Univ. 2006. V. 7. P. 51.
9. *Минаева В.Г.* Лекарственные растения Сибири. Новосибирск: Наука. Сибирское отделение, 1991. 431 с.
10. *Макаров А.А.* Лекарственные растения Якутии. Якутск: Бичик, 2001. 127 с.
11. *Борисова С.З.* Степи Центральной Якутии: интродукционный очерк. Новосибирск: Наука, 2008. 96 с.
12. *Данилова Н.С.* Результаты интродукции редких и эндемичных растений Якутии в Якутском ботаническом саду // Наука и образование. 2017. № 1. С. 97.
13. *Iapichino G.* Improved micropropagation in *Polygala myrtifolia* // In vitro cellular and developmental biology – Plant. 2004. V. 40(1). P. 86. <https://doi.org/10.1079/IVP2003478>
14. *Georges D., Le Hir F.* Multiplication in vitro d'une espèce menacée, endémique de l'île de La Martinique: *Polygala antillensis* Chodat, Polygalaceae // Acta Bot. Gallica. 2008. V. 155(4). P. 477. <https://doi.org/10.1080/12538078.2008.10516127>
15. *Victório C.P., Carriço J.B., Lage C.L.S.* *Polygala paniculata*: a source of methyl salicylate produced through plant tissue culture // Rev. Ceres. 2011. V. 58(3). P. 269. <https://doi.org/10.1590/S0034-737X2011000300003>
16. *Yang G., Luo J., Mo Y.W., Chen H.F.* Tissue culture and rapid propagation in vitro of *Polygala fallax* // Plant Physiol. J. 2016. V. 52(3). P. 349. <https://doi.org/10.13592/j.cnki.ppj.2015.0688>
17. *Nery L.A., Batista D.S., Rocha D.I., Felipe S.H.S., Queiroz M.da.S., Silva P.O., Ventrella M.C., Otoni W.C.* Leaf development and anatomy of *in vitro*-grown *Polygala paniculata* L. are affected by light quality, gelling agents, and sucrose // Vegetos. 2021. V. 34. P. 19. <https://doi.org/10.1007/s42535-021-00192-3>
18. *Носов А.М.* Методы оценки и характеристики роста культур клеток высших растений // Молекулярно-генетические и биохимические методы в современной биологии растений / Под ред. Вл.В. Кузнецова, В.В. Кузнецова, Г.А. Романова. Москва: Бином. Лаборатория знаний, 2012. С. 386.
19. *Wang F., Huang S., Chen Q., Hu Z., Li Z., Zheng P., Liu X., Li S., Zhang S., Chen J.* Chemical characterisation and quantification of the major constituents in the Chinese herbal formula Jian-Pi-Yi-Shen pill by UPLC-Q-TOF-MS/MS and HPLC-QQQ-MS/MS // Phytochem. Anal. 2020. V. 31(6). P. 915. <https://doi.org/10.1002/pca.2963>
20. *Trifan A., Zengin G., Sinan K.I., Sieniawska E., Sawicki R., Maciejewska-Turska M., Skalikca-Wozniak K., Luca S.V.* Unveiling the phytochemical profile and biological potential of five *Artemisia* species // Antioxidants. 2022. V. 11(5). P. 1017. <https://doi.org/10.3390/antiox11051017>
21. *Ikeya Y., Sugama K., Maruno M.* Xanthone C-glycoside and acylated sugar from *Polygala tenuifolia* // Chem. Pharm. Bull. 1994. V. 42(11). P. 2305. <https://doi.org/10.1248/cpb.42.2305>
22. *Yin Y., Zhang K., Wei L., Chen D., Chen Q., Jiao M., Li X., Huang J., Gong Z., Kang N., Li F.* The molecular mechanism of antioxidation of hiolisu oral liquid based on serum analysis and network analysis // Front Pharmacol. 2021. V. 12. P. 710976. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.710976>

23. Belmehdi O., Bouyahya A., Jeko J., Cziaky Z., Zengin G., Sotko G., El Baaboua A., Senhaji N.S., Abrini J. Synergistic interaction between propolis extract, essential oils, and antibiotics against *Staphylococcus epidermidis* and methicillin resistant *Staphylococcus aureus* // Int. J. Second Metab. 2021. V. 8(3). P. 195. <https://doi.org/10.21448/ijsm.947033>
24. Zengin G., Mahomoodally M.F., Sinan K.I., Ak G., Etienne O.K., Sharmeen J.B., Brunetti L., Leone S., Di Simone S.C., Recinella L., Chiavaroli A., Menghini L., Orlando G., Jekő J., Cziaky Z., Ferrante C. Chemical composition and biological properties of two *Jatropha* species: Different parts and different extraction methods // Antioxidants. 2021. V. 10(5). P. 792. <https://doi.org/10.3390/antiox10050792>
25. Xu L.L., Xu J.J., Zhong K.R., Shang Z.P., Wang F., Wang R.F., Liu B. Analysis of non-volatile chemical constituents of *Menthae haplocalycis* herba by ultra-high performance liquid chromatography – high resolution mass spectrometry // Molecules. 2017. V. 22(10). P. 1756. <https://doi.org/10.3390/molecules22101756>
26. Hamed A.R., El-Hawary S.S., Ibrahim R.M., Abdelmohsen U.R., El-Halawany A.M. Identification of chemopreventive components from halophytes belonging to Aizoaceae and Cactaceae through LC/MS bioassay guided approach // J. Chrom. Sci. 2021. V. 59(7). P. 618. <https://doi.org/10.1093/chromsci/bmaa112>
27. Huang Y., Yao P., Leung K.W., Wang H., Kong X.P., Wang L., Dong T.T.X., Chen Y., Tsim K.W.K. The yin-yang property of Chinese medicinal herbs relates to chemical composition but not anti-oxidative activity: an illustration using spleen-meridian herbs // Front. Pharmacol. 2018. V. 9. P. 1304. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.01304>
28. Li T.-Z., Zhang W.-D., Yang G.-J., Liu W.-Y., Liu R.-H., Zhang C., Chen H.-S. New flavonol glycosides and new xanthone from *Polygala japonica* // J. Asian Nat. Prod. Res. 2006. V. 8(5). P. 401. <https://doi.org/10.1080/10286020500172558>
29. Song Y.-L., Zhou G.-S., Zhou S.-X., Jiang Y., Tu P.-F. Polygalins D–G, four new flavonol glycosides from the aerial parts of *Polygala sibirica* L. (Polygalaceae) // Natural Product Research: Formerly Natural Product Letters. 2013. V. 27(13). P. 1220. <https://doi.org/10.1080/14786419.2012.724412>
30. Huang Y.-J., Zhou L.-Y., Wang J.-M., Li Q., Geng Y.-Y., Liu H.-Y., Hua Y. Two New Flavonol Glycosides from *Polygala sibirica* L. var *megalopha* Fr. // Molecules. 2015. V. 20(12). P. 21494. <https://doi.org/10.3390/molecules201219775>
31. Geng P., Sun J., Zhang M., Li X., Harnly J. M., Chen P. Comprehensive characterization of C-^oglycosyl flavones in wheat (*Triticum aestivum* L.) germ using UP-LC^o-PDA^o-ESI/HRMSn and mass defect filtering // J. Mass Spectrom. 2016, V. 51(10). P. 914. <https://doi.org/10.1002/jms.3803>
32. Abu-Reidah I.M., Ali-Shtayeh M.S., Jamous R.M., Arraes-Roman D., Segura-Carretero A. HPLC–DAD–ESI-MS/MS screening of bioactive components from *Rhus coriaria* L. (Sumac) fruits // Food Chem. 2015. V. 166. P. 179. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.06.011>
33. Yin N.-W., Wang S.-X., Jia L.-D., Zhu M.-C., Yang J., Zhou B.-J., Yin J.-M., Lu K., Wang R., Li J.-N., Qu C.-M. Identification and characterization of major constituents in different-colored rapeseed petals by UP-LC–HESI-MS/MS // Agricult. Food Chem. 2019. V. 67(40). P. 11053. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b05046>
34. El-Sayed M.A., Abbas F.A., Refaat S., El-Shafae A.M., Fikry E. UPLC-ESI-MS/MS profile of the ethyl acetate fraction of aerial parts of *Bougainvillea* “Scarlett O’Hara” cultivated in Egypt // Egypt. J. Chem. 2020. V. 64(2). P. 793. <https://doi.org/10.21608/ejchem.2020.45694.2933>
35. Zapesochnaya G.G., Kurkin V.A., Shchavlinskii A.N. Flavonoids of the above-ground part of *Rhodiola rosea*. II. Structure of novel glycosides of herbacetin and gossypetin // Chem. Nat. Compd. 1985. V. 4. P. 496.
36. Aabideen Z.U., Mumtaz M.W., Akhtar M.T., Mukhtar H., Raza S.A., Touqeer T., Saari N. Anti-obesity attributes; UHPLC-QTOF-MS/MS-based metabolite profiling and molecular docking insights of *Taraxacum officinale* // Molecules. 2020. V. 25(21). P. 4935. <https://doi.org/10.3390/molecules25214935>
37. Chen Y., Cai X., Li G., He X., Yu X., Yu X., Xiao Q., Xiang Z., Wang C. Chemical constituents of radix *Actinidia chinensis* planch by UPLC-QTOF-MS // Biomed. Chromatogr. 2021. 35(7). e5103. <https://doi.org/10.1002/bmc.5103>
38. Zhou Y.-H., Zhang S.-Y., Guo Q., Chai X.-Y., Jiang Y., Tu P.-F. Chemical investigation of the roots of *Polygala sibirica* L. // Chin. J. Nat. Med. 2014. V. 12(3). P. 225.
39. Hassan W., Abdelaziz S., Yousef H. Chemical composition and biological activities of the aqueous fraction of *Parkinsonia aculeata* L. growing in Saudi Arabia // Arabian J. Chem. 2019. V. 12(3). P. 377. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2018.08.003>
40. Qin D., Wang Q., Li H., Jiang X., Fang K., Wang Q., Li B., Pan C., Wu H. Identification of key metabolites based on non-targeted metabolomics and chemometrics analyses provides insights into bitterness in Kucha (*Cammellia kucha* (Chang et Wang) Chang) // Food Res. Int. 2020. V. 138 (Pt B). 109789. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109789>
41. Marcia Fuentes J.A., Lopez-Salas L., Borrás-Linares I., Navarro-Alarcon M., Segura-Carretero A., Lozano-Sanchez J. Development of an innovative pressurized liquid extraction procedure by response surface methodology to recover bioactive compounds from Carao tree seeds // Foods. 2021. V. 10(2). P. 398. <https://doi.org/10.3390/foods10020398>
42. Sobeh M., Mahmoud M.F., Abdelfattah M.A.O., Cheng H., El-Shazly A.M., Wink M. A proanthocyanidin-rich extract from *Cassia abbreviata* exhibits antioxidant and hepatoprotective activities *in vivo* // J. Ethnopharmacol. 2018. V. 213. P. 38. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2017.11.007>
43. Zhu Z.-W., Li J., Gao X.-M., Amponse E., Kang L.-Y., Hu L.-M., Zhang B.-L., Chang Y.-X. Simultaneous determination of stilbenes, phenolic acids, flavonoids and anthraquinones in *Radix polygoni multiflori* by LC-MS/MS // J. Pharm. Biomed. Anal. 2012. V. 62. P. 162. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2011.11.002>

44. Razgonova M.P., Tekutyeva L.A., Podvolotskaya A.B., Steepochkina V.D., Zakharenko A.M., Golokhvast K.S. *Zostera marina* L.: supercritical CO₂-extraction and mass spectrometric characterization of chemical constituents recovered from seagrass // *Separations*. 2022. V. 9(7). P. 182. <https://doi.org/10.3390/separations9070182>
45. Songserm P., Klanrit P., Phetcharaburanin J., Thanonkeo P., Apiraksakorn J., Phomphrai K., Klanrot P. Antioxidant and anticancer potential of bioactive compounds from *Rhinacanthus nasutus* cell suspension culture // *Plants*. 2022. V. 11(15). P. 1994. <https://doi.org/10.3390/plants11151994>
46. Ruiz A., Hermosín-Gutiérrez I., Vergara C., von Baer D., Zapata M., Hitschfeld A., Obando L., Mardones C. Anthocyanin profiles in south Patagonian wild berries by HPLC-DAD-ESI-MS/MS // *Food Res. Int.* 2013. V. 51(2). P. 706. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.01.043>
47. Ruiz A., Hermosín-Gutiérrez I., Mardones C., Vergara C., Herlitz E., Vega M., Dorau C., Winterhalter P., von Baer D. Polyphenols and antioxidant activity of calafate (*Berberis microphylla*) fruits and other native berries from Southern Chile // *J. Agric. Food Chem.* 2010. V. 58(10). P. 6081. <https://doi.org/10.1021/jf100173x>
48. Oertel A., Matros A., Hartmann A., Arapitsas P., Dehmer K.J., Martens S., Mock H.P. Metabolite profiling of red and blue potatoes revealed cultivar and tissue specific patterns for anthocyanins and other polyphenols // *Planta*. 2017. V. 246(2). P. 281. <https://doi.org/10.1007/s00425-017-2718-4>
49. Zhu Z., Guan Q., Koubaa M., Barba F.J., Roohenejad S., Cravotto G., Yang X., Li S., He J. HPLC-DAD-ESI-MS2 analytical profile of extracts obtained from purple sweet potato after green ultrasound-assisted extraction // *Food Chem.* 2017. V. 215. P. 391. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.07.157>
50. Mekam P.N., Martini S., Nguetack J., Tagliacuzzi D., Stefani E. Phenolic compounds profile of water and ethanol extracts of *Euphorbia hirta* L. leaves showing antioxidant and antifungal properties // *S. Afr. J. Bot.* 2019. V. 127(3). P. 319. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.11.001>
51. Wu Y., Xu J., He Y., Shi M., Han X., Li W., Zhang X., Wen X. Metabolic profiling of pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) during fruit development and maturation // *Molecules*. 2019. V. 24(6). P. 1114. <https://doi.org/10.3390/molecules24061114>
52. Ozarowski M., Piasecka A., Paszel-Jaworska A., Siqueira de A., Chaves D., Romaniuk A., Rybczynska M., Gryszczynska A., Sawikowska A., Kachlicki P., Mikolajczak P.L., Seremak-Mrozikiewicz A. Comparison of bioactive compounds content in leaf extracts of *Passiflora incarnata*, *P. caerulea* and *P. alata* and *in vitro* cytotoxic potential on leukemia cell lines // *Braz. J. Pharmacol.* 2018. V. 28(2). P. 179. <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2018.01.006>
53. Marston A., Hamburger M., Sordat-Diserens I., Msonthi J.D., Hostettmann K. Xanthones from *Polygala nyikensis* // *Phytochemistry*. 1993. V. 33(4). P. 809. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(93\)85279-Z](https://doi.org/10.1016/0031-9422(93)85279-Z)
54. Ekeberg D., Flate P.-O., Eikenes M., Fongen M., Naess-Andresen C.F. Qualitative and quantitative determination of extractives in heartwood of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) by gas chromatography // *J. Chromatogr. A*. 2006. V. 1109(2). P. 267. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2006.01.027>
55. Llorent-Martinez E.J., Spinola V., Gouveia S., Castilho P.C. HPLC-ESI-MSn characterization of phenolic compounds, terpenoid saponins, and other minor compounds in *Bituminaria bituminosa* // *Ind. Crops Prod.* 2015. V. 69. P. 80. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.02.014>
56. Sun L., Tao S., Zhang S. Characterization and quantification of polyphenols and triterpenoids in thinned young fruits of ten pear varieties by UPLC-Q TRAP-MS/MS // *Molecules*. 2019. V. 24(1). P. 159. <https://doi.org/10.3390/molecules24010159>
57. Heffels P., Buhrle F., Schieber A., Weber F. Influence of common and excessive enzymatic treatment on juice yield and anthocyanin content and profile during bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) juice production // *Eur. Food Res. Technol.* 2017. V. 243. P. 59. <https://doi.org/10.1007/s00217-016-2722-0>
58. Miyase T., Noguchi H., Chen X.-M. Sucrose esters and xanthone C-glycosides from the roots of *Polygala sibirica* // *J. Nat. Prod.* 1999. V. 62(7). P. 993. <https://doi.org/10.1021/np990084t>
59. Zhou Y.-H., Zhang S.-Y., Guo Q., Chai X.-Y., Jiang Y., Tu P.-F. Chemical investigation of the roots of *Polygala sibirica* L. // *Chin. J. Nat. Med.* 2014. V. 12(3). P. 225. [https://doi.org/10.1016/S1875-5364\(14\)60038-8](https://doi.org/10.1016/S1875-5364(14)60038-8)
60. Cheng M.-C., Li C.-Y., Ko H.-C., Ko F.-N., Lin Y.-L., Wu T.-S. Antidepressant principles of the roots of *Polygala tenuifolia* // *J. Nat. Prod.* 2006. V. 69(9). P. 1305. <https://doi.org/10.1021/np060207r>
61. Han D., Chen C., Zhang C., Zhang Y., Tang X. Determination of mangiferin in rat plasma by liquid-liquid extraction with UPLC-MS/MS // *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2010. V. 51(1). P. 260. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2009.07.021>
62. Delgado-Pelayo R., Hornero-Mendez D. Identification and quantitative analysis of carotenoids and their esters from sarsaparilla (*Smilax aspera* L.) Berries // *J. Agric. Food Chem.* 2012. V. 60(33). P. 8225. <https://doi.org/10.1021/jf302719g>
63. Zhang D., Miyase T., Kuroyanagi M., Umehara K., Noguchi H. Oligosaccharide polyesters from roots of *Polygala glomerata* // *Phytochemistry*. 1998. V. 47(1). P. 45. [https://doi.org/10.1016/s0031-9422\(97\)00490-1](https://doi.org/10.1016/s0031-9422(97)00490-1)