

УДК 581.526.3 [(547.56:510.633) : 543.544.5.068.7]

О. М. Усенко, И. Н. Коновец

АНАЛИЗ СОДЕРЖАНИЯ ФЕНОЛКАРБОНОВЫХ КИСЛОТ В ФИТОМАССЕ ВЫСШИХ ВОДНЫХ РАСТЕНИЙ

С помощью метода HPLC/MS исследован количественный и качественный состав фенолкарбоновых кислот высших водных растений *Scirpus lacustris*, *Ceratophyllum demersum*, *Potamogeton perfoliatus* и *Nuphar lutea*. На основе кластеризации признаков с помощью коэффициента корреляции Пирсона проведен сравнительный анализ содержания фенолкарбоновых кислот. Предложена гипотетическая схема образования флавоноидов в процессе биосинтеза этих веществ.

Ключевые слова: высшие водные растения, фенолкарбоновые кислоты, флавоноиды, высокоэффективная жидкостная хроматография.

Высшие водные растения — мощный экологический фактор, который играет важную роль в формировании гидробиоценозов и влияет на жизнедеятельность разных гидробионтов. Тем не менее, в области изучения механизмов таких взаимоотношений пока что есть лишь фрагментарные исследования, хотя в последнее время количество публикаций, посвященных этому вопросу, увеличилось. Значительный интерес традиционно вызывает аллелопатическое взаимодействие высших водных растений и водорослей, поскольку установление его механизмов поспособствовало бы разработке эффективных и экологически безопасных способов управления гидробиоценозами.

Известно, что растения со значительной биологической активностью содержат большое количество фенольных кислот. Фракции, которые содержат эти соединения, отличаются высокой способностью нейтрализовать свободные радикалы, в том числе гидроксильный радикал, а также ингибировать перекисное окисление липидов [22].

Растительные фенольные соединения (ФС) представляют собой группу органических веществ, весьма неоднородную по химическому строению. Обычно их относят к разным группам соединений (фенолкарбоновые кислоты, кумарины, дубильные вещества, флавоноиды), в результате чего утра-

чивается общий подход и целостная характеристика этой важной группы природных веществ [1].

Эндогенные фенолы выполняют в клетках разнообразные, в том числе защитные функции, участвуя в окислительно-восстановительных процессах, в модификации ксенобиотиков и в функционировании антиоксидантной системы. С другой стороны, они могут выступать ингибиторами жизнедеятельности клетки в целом, способствуя образованию токсичных соединений. Следует отметить, что разнообразные фенольные соединения отличаются схожим действием — влиянием на процессы фотосинтеза, мембранный транспорт, проницаемость мембран [25]. Выполняя различные физиологические функции, ФС в одной группе растений могут играть главную роль, а в других она может быть не столь значительной.

Цитоплазма растительных клеток не содержит большого количества фенольных соединений, а в клеточном соке они часто находятся в виде гликозидов. Некоторые группы ФС широко распространены во всем растительном мире, другие типичны лишь для определенных родов или встречаются в отдельных вегетативных органах растений [1].

Среди разнообразия естественных фенольных соединений большой интерес представляют фенолкарбоновые кислоты (ФКК). Исследования на наземных растениях показали, что содержание в них феруловой, ванилиновой, *п*-кумаровой и кофейной кислот коррелировало с антиоксидантной активностью растительных экстрактов, а противорадикальная эффективность зависела от продолжительности реакции и свойств генотипа. В то же время сорта растений с повышенным содержанием феруловой, *п*-кумаровой и кофейной кислот имели кроме высокой антиоксидантной активности еще и способность связывать свободные радикалы [26].

Широкий спектр функциональной активности фенолов в растительных клетках предопределяет и неспецифичность их действия как аллелопатических агентов. Взаимодействие видов — это форма обмена веществ и информации за счет выделения метаболитов, которые прямо или опосредованно могут влиять на рост и развитие гидробионтов [11], например разнонаправлено регулировать интенсивность развития представителей альгофлоры [15, 28].

Химическая регуляция в растительном сообществе заключается в том, что каждое растение, накапливая физиологически активные вещества, тем самым образует вокруг себя определенную аллелопатическую сферу [6]. Аллелопатические сферы всех растений ценоза объединяются, формируя общий уровень этих веществ. Чем выше этот уровень, тем хуже растут компоненты ценоза; чем слабее рост и накопление биомассы, тем меньше общая продукция физиологически активных веществ, но при этом возрастает вероятность накопления отдельных соединений, способных выполнять сигнальную или защитную роль.

Высшие водные растения отличаются высоким аллелопатическим потенциалом, который проявляется даже внутри этой группы гидробионтов. При

этом их продукция при общем росте и под влиянием метаболитов других видов отличается от одновидовых популяций. В частности, установлено, что *Myriophyllum spicatum* угнетает другие макрофиты, например *Najas marina* [20]. Приводятся сведения, что водные вытяжки из молодых листьев и корней *Stratiotes aloides*, *Hippuris vulgaris*, *Hydrocharis morsus* ингибируют движение хлоропластов листа элодеи, хотя к осени это влияние ослабевает [8]. Установлено, что содержание фенольных соединений у высших водных растений на порядок больше, чем у водорослей [15]. Особенно высокая биологическая активность фенолкарбоновых кислот подтверждается и другими авторами у *Nuphar lutea* [24] и *Potamogeton pusillus* [31], где в зарослях, по сравнению с другими макрофитами, наиболее выражен эффект снижения численности микрофлоры [16].

На наш взгляд, ФКК могут играть очень важную роль в формировании взаимоотношений макрофитов и водорослей. Тем не менее, этот вопрос в научной литературе освещен недостаточно. Известно также, что к наиболее аллелопатически активным ФКК относятся кофейная, коричная, кумаровая, феруловая, галловая, ванилиновая кислоты [27], и как аллелохимические агенты они вызывают многочисленные физиологические эффекты. На разных объектах установлено их влияние на содержание хлорофилла и проницаемость плазматических мембран, интенсивность пероксидного окисления липидов [21], ферментативных процессов [23], дыхание [30]. В связи с этим, исследование фенольных соединений макрофитов представляет значительный интерес для выяснения как особенностей функционирования этих гидробионтов, так и формирования их аллелопатической активности относительно других организмов.

Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) — наиболее современный и информативный метод определения ФС. Его широко применяют для определения содержания этих соединений в разнообразном естественном сырье — лекарственных растениях, соках, экстрактах из овощей и фруктов и продуктах их переработки. Тем не менее, для определения эндогенных фенолкарбоновых кислот у фитогидробионтов этот метод в мировой практике практически не применялся. Поэтому наша работа содержала и элементы разработки методики.

Основной целью наших исследований было определить содержание фенолкарбоновых кислот в фитомассе высших водных растений, относящихся к разным экологическим группам, а также проанализировать возможное участие этих соединений в биосинтезе флавоноидов.

Материал и методика исследований. Объектами исследований служили высшие водные растения, отобранные в июле 2011 г. в Каневском водохранилище (зал. Собачье гирло). Были изучены представители разных экологических групп сосудистых макрофитов: воздушно-водных (*Scirpus lacustris* L. — камыш озерный), погруженных (*Potamogeton perfoliatus* L. — рдест пронзеннолистный, *Ceratophyllum demersum* L. — роголистник погруженный) и с плавающими листьями (*Nuphar lutea* — кубышка желтая) [13].

Для изучения спектра фенолкарбоновых кислот использовали наземные части растений — стебли и листья. Фенолкарбоновые кислоты из фитомассы выделяли с помощью ионообменных смол КУ-2 та ЭДЭ-10П согласно [17]. Для этого 3 г сухой массы растений экстрагировали 50 см³ 70%-ного метанола, добавляли 30 см³ дистиллята и выдерживали при температуре 40—60°C в течение 1 ч. В дальнейшем экстракт доводили дистиллированной водой до 150 см³, фильтровали, а затем пропускали через колонки с вышеуказанными ионообменными смолами. ФКК из анионита элюировали при помощи 0,2 н H₂SO₄. Серную кислоту нейтрализовали 0,1 н BaSO₄ до выпадения осадка белого цвета. Образовавшуюся смесь сгущали выпариванием при температуре 70—80°C, а затем фильтровали. Замеряли объем образовавшегося фильтрата, который пропускали в дальнейшем через ионообменную смолу КУ-2-8.

Определение ФКК проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии-масс-спектрометрии на приборе AGILENT 1200/Quadrupole 6130 Гидробиологического аналитического центра Института гидробиологии НАН Украины. Использовали колонку Zorbax Eclipse XDB-C18 Na-grow-Bore 2,1×150 мм и систему растворителей вода — ацетонитрил с добавлением 0,1%-ной муравьиной кислоты. Скорость потока составляла 1 мл/мин, объем инъекции — 100 мкл. Источник ионизации — ESI(+), напряжение на фрагментаторе — 70В. Детектирование производили в режиме мониторинга одиночных ионов (123, 139, 149, 155, 165, 169, 171, 181, 182, 195, 199, 209, 225 m/z).

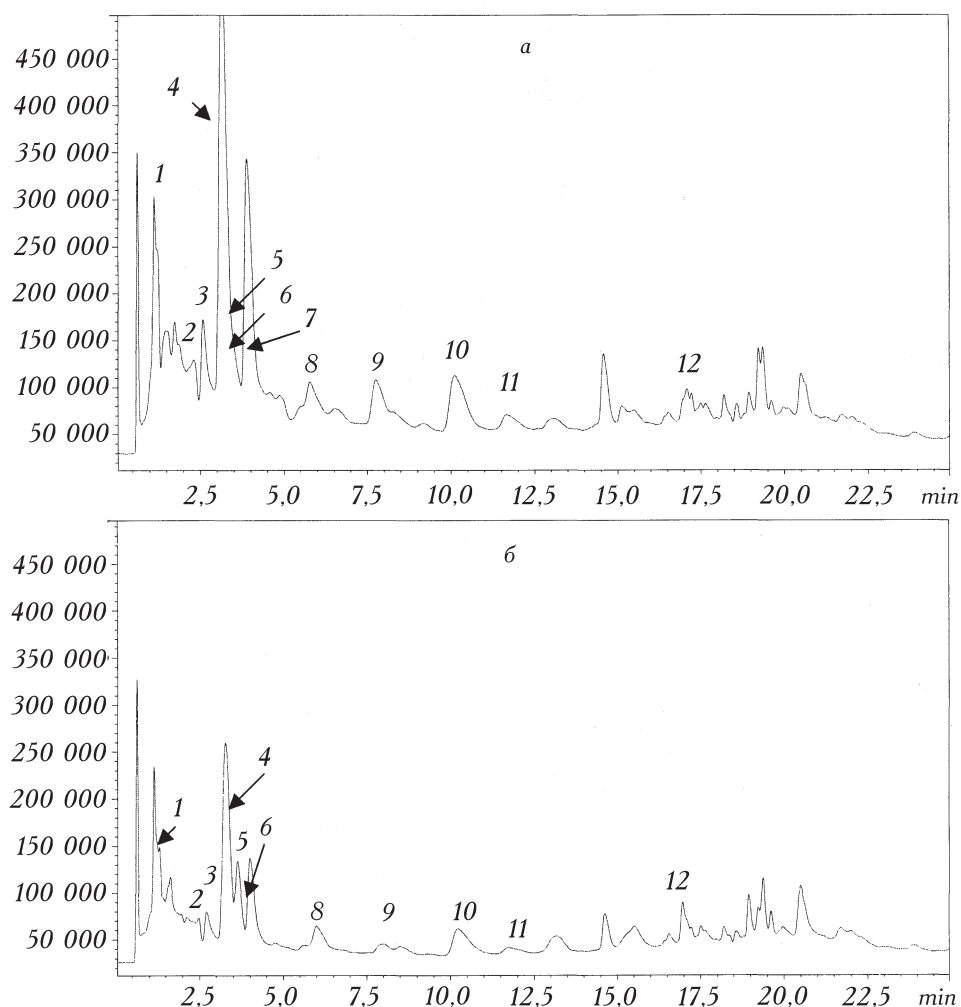
Для качественного и количественного определения фенолкарбоновых кислот использовали хроматографически чистые бензойную, *п*-оксибензойную, салициловую, галловую, протокатеховую, ванилиновую, сиреневую, α -резорциловую, β -резорциловую, коричную, *п*-кумаровую, кофейную, феруловую и синаповую кислоты (производство фирмы Sigma-Aldrich)¹. Идентификацию веществ проводили путем сравнения времени их удержания на хроматограммах опытного и контрольного исследуемого раствора. Полученные результаты обработаны статистически с помощью программы Statistica 6.0.

Корреляционный анализ проводили с применением коэффициента корреляции Пирсона, который выражает не только обусловленность одного признака другим, но и взаимную согласованность изменения признаков. Показателем интенсивности связи служила величина используемого коэффициента. С помощью кластерного анализа респонденты были разбиты на группы, сходные по ряду признаков [19].

Результаты исследований и их обсуждение

Результаты проведенного хроматографического анализа свидетельствуют о том, что в фитомассе изученных растений присутствуют такие ФКК, как бензойная, *п*-оксибензойная, салициловая, коричная, α -резорциловая,

¹ Стандарты ФКК любезно предоставил ст.н.с. хроматографического Центра ЦРБС НАНУ В. П. Грахов.

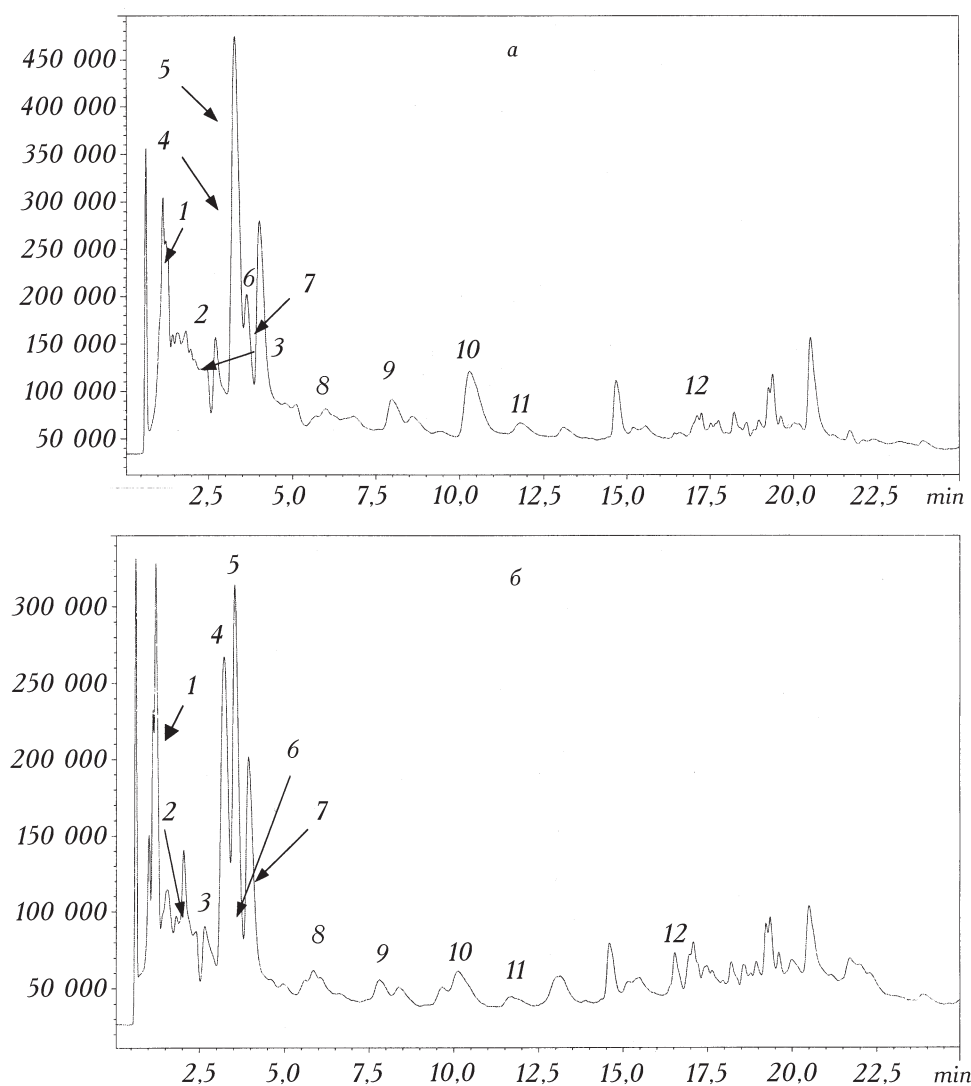


1. Хроматограмма комплекса фенолкарбоновых кислот *Potamogeton perfoliatus* (а) и *Ceratophyllum demersum* (б). Здесь и на рис. 2: 1 — галловая; 2 — *n*-оксибензойная; 3 — протокатеховая; 4 — ванилиновая; 5 — кофейная; 6 — сиреневая; 7 — α -резорциловая; 8 — *n*-кумаровая; 9 — феруловая; 10 — бензойная; 11 — салициловая; 12 — коричная.

протокатеховая, кумаровая, ванилиновая, галловая, кофейная, феруловая и сиреневая кислоты (рис. 1, 2).

Известно, что фенольным соединениям присуща таксономическая специфичность, в связи с различием ферментных систем, участвующих в процессе их биосинтеза [7], а также отличия даже на уровне одного вида растений — у одного сорта могут преобладать антоцианы и фенольные кислоты, у другого — катехины и рутин [5].

В связи с этим существенное значение приобретает выяснение количественного состава ФКК высших водных растений, которые могут обуслов-



2. Хроматограмма комплекса фенолкарбоновых кислот *Scirpus lacustris* (а) и *Nuphar lutea* (б).

ливать формирование пула экзометаболитов и, тем самым, оказывать влияние на видовой состав сообществ водорослей.

В результате проведенных исследований были получены и количественные показатели фенольных кислот в фитомассе высших водных растений (табл. 1).

Наибольшее количество фенолкарбоновых кислот обнаружено в фитомассе *N. lutea* — 2819,6 мкг/г, а наименьшее — в *C. demersum* — 397,2 мкг/г. *S. lacustris* и *P. perfoliatus* занимали в этом плане промежуточное положение.

1. Содержание фенолкарбоновых кислот в фитомассе некоторых видов высших водных растений, мкг/г сухой массы

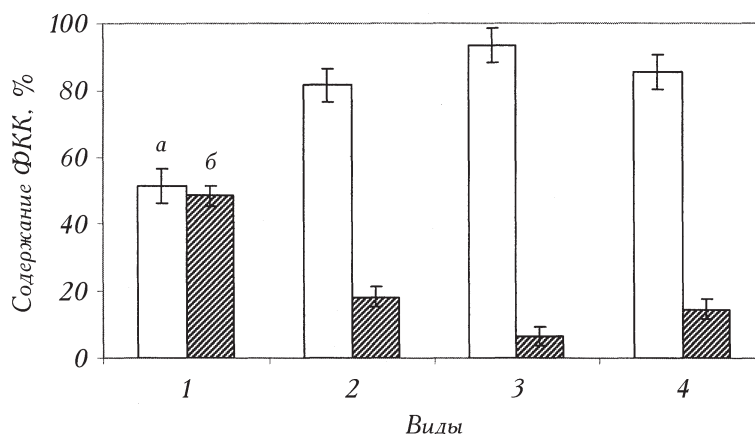
m/z	Фенолкарбоновые кислоты	Время удерживания, мин	<i>Scirpus lacustris</i>	<i>Ceratophyllum demersum</i>	<i>Potamogeton perfoliatus</i>	<i>Nuphar lutea</i>
123	Бензойная	10,2	833,6	192,1	824,8	377,2
139	<i>p</i> -Оксибензойная	2,6	143,2	34,1	232,0	102,2
139	Салициловая	11,7	130,0	17,8	196,8	110,2
149	Коричная	17,1	22,8	22,4	31,2	87,2
155	α -Резорциловая	3,8	31,6	0	46,8	26,6
155	Протокатеховая	2,7	50,0	10,1	59,8	43,6
165	Кумаровая	6,2	11,8	6,6	20,4	29,4
169	Ванилиновая	3,3	192,6	14,6	257,0	632,2
171	Галловая	1,2	245,2	62,8	491,0	144,2
181	Кофейная	3,5	273,2	16,7	59,8	1194,8
195	Феруловая	8,5	64,6	12,0	37,6	56,4
199	Сиреневая	3,6	31,2	8,0	23,0	15,6
	Общая сумма		2029,8	397,2	2280,2	2819,6

Максимальное количество кофейной кислоты (1194,8 мкг/г) выявлено у *N. lutea*, что составляло около половины суммы всех фенолкарбоновых кислот, минимальное — у *P. perfoliatus* и *C. demersum*, где ее содержание было на 1—2 порядка ниже. Наибольшее содержание бензойной кислоты обнаружено в фитомассе *S. lacustris* и *P. perfoliatus*, тогда как ее содержание у *N. lutea* и *C. demersum* было соответственно в 2 и 4 раза меньше. По количеству ванилиновой кислоты вид *N. lutea* в 43 раза превосходил *C. demersum*.

P. perfoliatus, помимо высокого содержания бензойной кислоты, характеризовался наибольшим количеством галловой, *p*-оксибензойной и салициловой кислот, а у *N. lutea* содержание коричной и кумаровой кислот было значительно выше, чем у других видов макрофитов.

Интересно отметить, что на фоне низкого общего содержания фенолокислот в фитомассе *C. demersum*, этот вид характеризуется сравнительно высоким содержанием бензойной кислоты, составляющей около половины суммы всех исследуемых соединений.

Что касается других ФКК, то наибольшее количество феруловой кислоты найдено в фитомассе *S. lacustris*, а наименьшее — у *C. demersum*. При этом у последнего не выявлена α -резорциловая кислота. Содержание сиреневой кислоты у всех видов довольно низкое, возможно из-за образования ее в результате разрушения флавоноидов. Ванилиновая кислота в наибольшем количестве содержалась в фитомассе *N. lutea*, а наименьшем — у *C. de-*



3. Содержание фенолкарбоновых кислот (а — оксибензойные; б — оксикоричные) в фитомассе высших водных растений (%): 1 — *Nuphar lutea*; 2 — *Scirpus lacustris*; 3 — *Potamogeton perfoliatus*; 4 — *Ceratophyllum demersum*.

mersum. Количество протокатеховой кислоты были практически на одном уровне у *P. perfoliatus*, *S. lacustris* и у *N. lutea* и в несколько раз меньше — у *C. demersum*.

Таким образом, в экстрактах из фитомассы исследованных высших водных растений преобладают оксибензойные кислоты, и только у *N. lutea* оксибензойные и оксикоричные кислоты находятся в равном соотношении (рис. 3).

Доминирование оксибензойных кислот над оксикоричными подтверждают и другие авторы, проводившие исследования с наземными растениями. Так, в частности, в опавших листьях персика обнаружено высокое содержание бензойной кислоты — 1200—1300 мкг/г, в то время как содержание кумаровой составляло лишь 200—300 мкг/г [4].

Преобладание оксибензойных кислот, отличающихся высокой биологической активностью, очевидно, имеет важное значение в формировании аллопатической активности высших водных растений и способствует их расселению.

Следует подчеркнуть, что образовавшиеся фенольные соединения всех основных классов и подклассов могут в дальнейшем подвергаться дополнительному окислению с увеличением числа фенольных ОН-групп в их молекуле. Через эти группы легко могут происходить реакции метилирования, гликозилирования и ацилирования, ведущие к включению разных заместителей в молекулу. В обширную группу вторичных веществ фенольной природы входит более десяти классов различных по строению основного углеродного скелета природных соединений. Каждый из этих классов объединяет огромное количество индивидуальных соединений с существенными ва-

риациями прикрепленного к основному остову их молекулы набора заместителей (остатков сахаров, органических кислот и других) [29].

Для установления особенностей накопления ФКК в клетках высших водных растений был использован корреляционный анализ полученных данных и составлена корреляционная матрица содержания этих веществ (табл. 2). Выявлена высокая степень связей между содержанием определенных ФКК. Использование коэффициента корреляции Пирсона в качестве меры связи для кластеризации признаков позволило предложить схему взаимосвязи этих кислот в цепочке биосинтетических превращений (рис. 4).

Показано, что ФКК подразделяются на четыре стабильные группы, независимо от вида макрофитов: А — кофейная, кумаровая, коричневая; Б — ванилиновая, α -резорциловая, протокатеховая; В — галловая, *p*-оксибензойная, салициловая; Г — феруловая, сиреневая, бензойная. Адекватность этого распределения подтверждается высоким уровнем значимости ($p < 0,05$). Следует также отметить, что изменение соотношения указанных веществ характерно только внутри группы.

Эти группы, очевидно, имеют важное значение в цепи биосинтетических превращений с образованием флавоноидов, которые способны выполнять защитные функции [7], а также играть роль сигнальных соединений при биотических взаимодействиях [3].

Существенной отличительной особенностью строения флавоноидов по сравнению со строением других полифенолов является двоякое биогенетическое происхождение двух бензольных колец их структуры. Одно из них синтезируется по шикиматному пути и является, таким образом, продуктом вторичных превращений аминокислоты L-фенилаланина. Другое образуется по поликетидному механизму формирования углеродного скелета и получает свое начало от простейших продуктов обмена сахаридов. При этом результатом образования первого кольца являются оксикоричные кислоты, а второго — оксибензойные [9].

В общих чертах биосинтез флавоноидов изучен достаточно хорошо, однако многие детали, главным образом касающиеся участия ферментов, еще требуют глубокого анализа. Удобнее всего рассматривать биосинтетический путь по стадиям: 1) образование основного $C_6-C_3-C_6$ -скелета, включая два главных пути биосинтеза фенольных соединений — поликетидный и шикиматный, 2) пути, по которым флавоноиды различных классов образуются из основного $C_6-C_3-C_6$ -предшественника, и возможные взаимопревращения между флавоноидами различных классов, 3) окончательные модификации, такие как гидроксילирование, метилирование и гликозилирование, которые дают начало многим индивидуальным флавоноидам внутри каждого класса [2].

В то же время, анализируя биосинтетические схемы образования различных фенольных производных, авторы указывают, что жесткой привязанности химического класса природных соединений к одному биосинтети-

2. Корреляционная матрица содержания фенолкарбоновых кислот в фитомассе четырех представителей высших водных растений

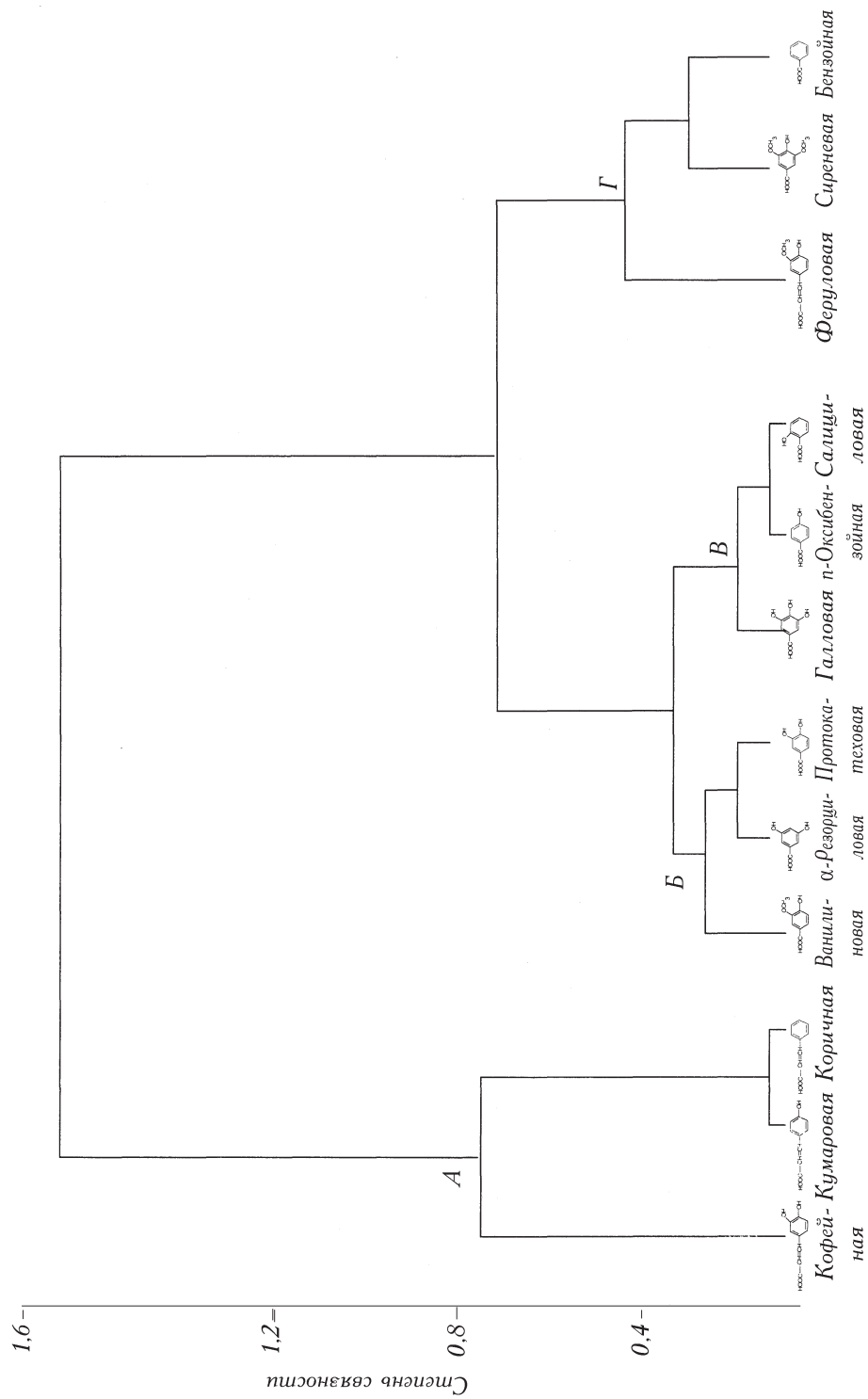
№	Кислоты	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1	Бензойная											
2	л-Оксибензойная	0,85										
3	Салициловая	0,86	1,00									
4	Коричная	-0,23	0,27	0,22								
5	α-Резорциловая	0,79	0,94	0,91	0,41							
6	Протокатеховая	0,90	0,95	0,92	0,20	0,98						
7	Кумаровая	-0,27	0,23	0,17	1,00	0,37	0,17					
8	Ванилиновая	0,84	0,99	0,98	0,33	0,97	0,97	0,28				
9	Галловая	0,79	0,98	0,99	0,27	0,87	0,87	0,22	0,96			
10	Кофейная	-0,67	-0,61	-0,68	0,37	-0,32	-0,43	0,42	-0,52	-0,70		
11	Феруловая	0,79	0,53	0,49	-0,20	0,67	0,76	-0,21	0,58	0,37	-0,09	
12	Сиреневая	0,87	0,52	0,57	-0,67	0,38	0,56	-0,71	0,48	0,50	-0,76	0,63

ческому пути нет — шикиматный и поликетидный (через малонил-S-CoA) пути синтеза проходят параллельно [14].

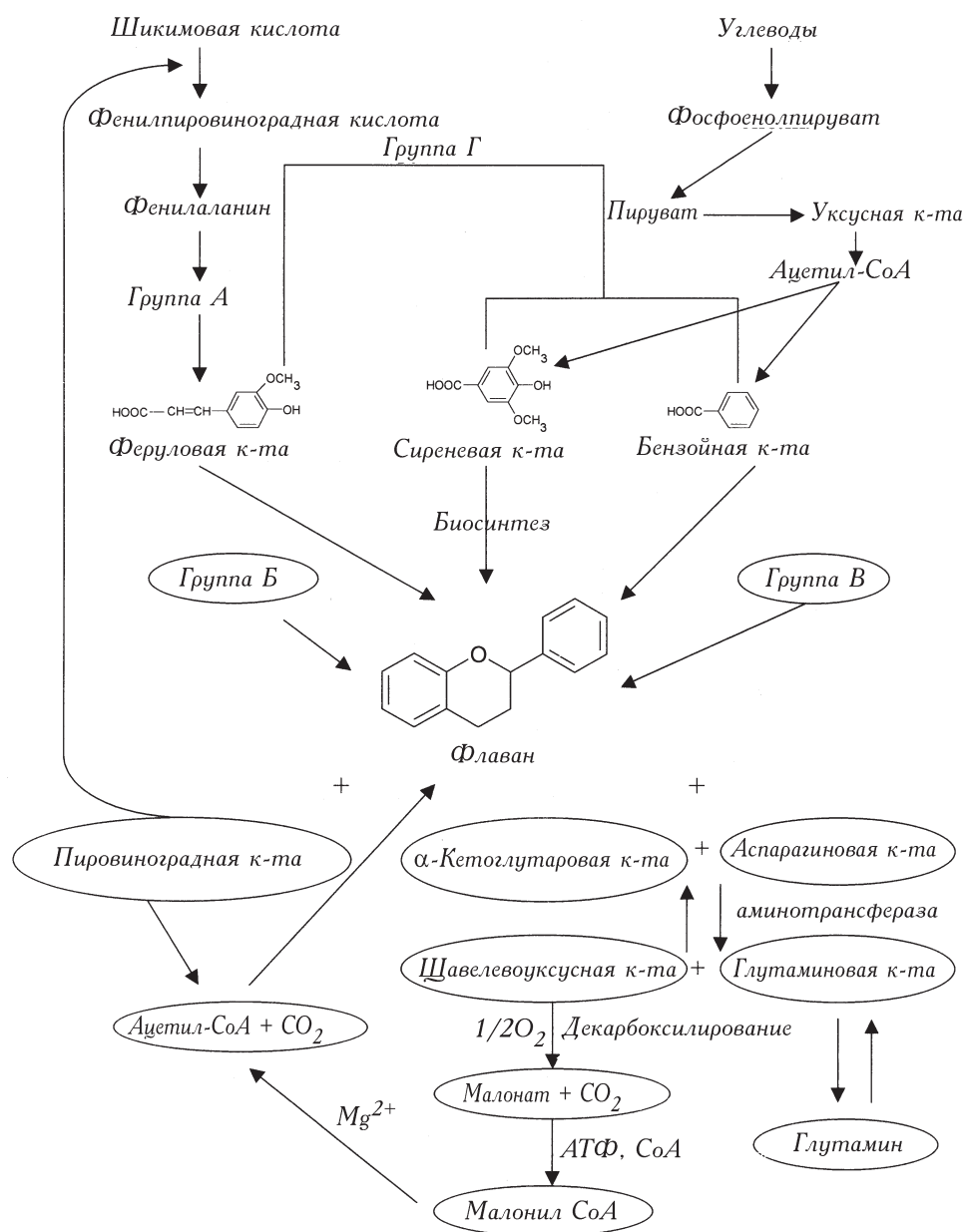
Анализ полученных результатов и литературных данных по соотношению ФКК, а также использование уравнения Гаммета, описывающего распределение электронов через бензольные и другие ароматические кольца [12], позволило нам объединить известные моменты в биосинтезе флавоноидов и предложить следующую гипотетическую схему их образования у водных макрофитов (рис. 5).

Следует подчеркнуть, что наличие группы А является ранее установленным фактом. В частности указывается, что образовавшиеся коричные кислоты затем активируются в реакции с коферментом А аналогичной синтезу ацетил-S-CoA из ацетата [2].

Группы Б и В, вероятно, принимают участие в регулировании образования разных видов флавоноидов, состав кото-



4. Кластерный анализ связующих признаков фенолкарбоновых кислот с помощью коэффициента корреляции Пирсона.



5. Гипотетическая схема образования флавоноидов в процессе биосинтеза фенолкарбоновых кислот: А — кофейная, кумаровая, коричная; В — ванилиновая, α-резорциловая, протокатеховая; В — галловая, *n*-оксibenзойная, салициловая; Г — феруловая, сиреневая, бензойная.

рых является чрезвычайно важным таксономическим признаком как при установлении родства между видами, относящимися к одному семейству, так и при выявлении различий между близкородственными видами. В этом отношении характерной чертой может быть присутствие флавоноидов тех

или иных классов и распределение заместителей у индивидуальных соединений.

Наибольший интерес представляет группа Г, в которую входят феруловая, сиреневая и бензойная кислоты. По нашему мнению, именно в процессе биосинтеза этих кислот и их соотношения в группе, образуется основа флавоноида — флаван. Кроме этого, синтезируются триорганические кислоты (завышенные величины которых обнаружены в процессе разгонки со временем удержания 0,6—1,0 мин). Это пировиноградная, α -кетоглутаровая и аспарагиновая кислоты, которые в дальнейшем участвуют в формировании фенолкарбоновых кислот и, по всей видимости, регулируют количество того или иного флавоноида. Для выполнения этих условий, очевидно, необходимо наличие возле бензойной кислоты одной из оксибензойных кислот с метокси-группой для соблюдения правила распределения электронов по ароматическим кольцам.

Образовавшаяся пировиноградная кислота является важнейшим промежуточным продуктом при диссимиляции углеводов у растений, а α -кетоглутаровая и аспарагиновая кислоты участвуют в образовании глутаминовой и щавелевоуксусной кислот в процессе переаминирования. С увеличением концентрации α -кетоглутаровой кислоты увеличивается содержание глутаминна, предотвращающего окисление аспарагиновой и глутаминовой кислот. Таким образом, создается резерв для образования дикарбоновых кислот, наряду с обезвреживанием аммиака у растений. Совместно с глутаминовой кислотой образуется щавелевоуксусная кислота, которая впоследствии под действием декарбоксилазы при участии АТФ, коэнзима А и ионов магния участвует в образовании ацетил-СоА, который, по нашему мнению, служит заправкой в поликетидном процессе, тем самым способствуя сшиванию и образованию флавоноида.

Учитывая высокую аллелопатическую активность оксибензойных и оксикоричных кислот, существенное значение имеет не только компонентный состав, но и концентрация этих веществ, так как образующийся в результате их посмертных выделений пул фенолкарбоновых кислот влияет не только на структуру фитопланктона, но и на качество воды. Ранее нами установлено, что в зарослях *Phragmites communis* наибольшее количество этих веществ выделяется в активной форме (в первую очередь, это бензойная и галловая кислоты), особенно в весенний период. В то же время следует отметить, что изменения содержания ФКК, происходящие в течение вегетационного периода, можно объяснить с позиции нашей концепции о соотношении этих веществ внутри группы. Так, в марте максимальное содержание бензойной кислоты сопровождалось небольшим количеством феруловой кислоты, а с уменьшением концентрации бензойной кислоты в августе и октябре увеличивалось количество феруловой кислоты. Такие же закономерности отмечены и для галловой, *n*-оксибензойной и салициловой кислот, изменения содержания которых напрямую зависели от соотношения внутри группы [18].

Важно отметить, что в современной литературе очень мало освещен вопрос о непосредственном месте биосинтеза флавоноидов, что является про-

белом в общебиологическом представлении об их значении [10]. Таким образом, наш анализ дает возможность полнее изучить свойства флавоноидов, тем самым, приблизив исследователей к раскрытию их состава и путей формирования, а также к выяснению их роли в таксономии высших водных растений.

Заключение

Высшие водные растения содержат широкий спектр ФКК, количество и соотношение которых является видоспецифической характеристикой. Общее содержание фенолкарбоновых кислот у *S. lacustris* составляло 2029,8 мкг/г, у *C. demersum* — 397,2, у *P. perfoliatus* — 2280,2 и у *N. lutea* — 2819,6 мкг/г. Содержание фенолкарбоновых кислот у высших водных растений мало зависит от принадлежности к определенной экологической группе. Отличия в концентрации и соотношении исследованных соединений, вероятно, в большей степени связаны с физиологическими особенностями видов.

Наиболее высоким содержанием в фитомассе высших водных растений характеризуется бензойная, *p*-оксибензойная, салициловая, ванилиновая и галловая кислоты. В клетках большинства исследованных макрофитов преобладают оксибензойные кислоты. Исключение составляет *N. lutea*, соотношение оксибензойных и оксикоричных кислот у которого было практически равным, за счет большого количества кофейной кислоты. Высокое содержание оксибензойных кислот в фитомассе макрофитов, очевидно, обуславливает также их значительную концентрацию во внешней среде, что может способствовать расселению этих растений и освоению ими новых ареалов.

Использование коэффициента корреляции Пирсона позволило установить 4 стабильные группы эндогенных фенолкарбоновых кислот. Их соотношение внутри каждой группы носит видоспецифический характер. Одна из установленных групп исследованных соединений, в состав которой входили феруловая, сиреневая и бензойная кислоты, является основой образования флавана в предложенной гипотетической схеме с участием остальных групп в биосинтезе флавоноидов.

**

*За допомогою методу HPLC/MS досліджено кількісний і якісний склад фенолкарбонових кислот у фітомасі вищих водних рослин різних екологічних груп (*Scirpus lacustris*, *Ceratophyllum demersum*, *Potamogeton perfoliatus*, *Nuphar lutea*). Проведено аналіз вмісту фенолкарбонових кислот на основі кластеризації ознак з використанням коефіцієнта кореляції Пірсона. Запропоновано гіпотетичну схему утворення флавоноїдів у процесі біосинтезу цих речовин у макрофітів.*

**

*The qualitative and quantitative composition of phenolcarboxylic acids in the phytomass of higher aquatic plants of different ecological groups (*Scirpus lacustris*, *Ceratophyllum demersum*, *Potamogeton perfoliatus* and *Nuphar lutea*) was investigated by HPLC/MS the method. Analysis of the content of phenolcarboxylic acids in plants using clusterization method based on the Pearson's correlation coefficient is presented. Hypothetical scheme of flavonoids formation during the process of phenolcarboxylic acids biosynthesis in macrophytes has been proposed.*

**

1. Блажей А., Шутый Л. Фенольные соединения растительного происхождения. — М.: Мир, 1977. — 240 с.
2. Бриттон Г. Биохимия природных пигментов: Пер. с англ. — М.: Мир, 1986. — 422 с.
3. Воробьев Н.И., Казаков А.Е., Рогов С.А. и др. Спин-поляризованная кодировка органических молекул в каналах обмена информацией между организмами // Бюлл. МОИП, Отд. биол. — 2009. — Т. 114, № 2. — С. 31—33.
4. Грахов В.П., Безменов А.Я., Мороз П.А. Фенолкарбоновые кислоты растительных остатков и опада персиковых деревьев // Физиология и биохимия культурных растений. — 1991. — Т. 23, № 5. — С. 462—467.
5. Гребенникова О.А., Ежов В.Н. Содержание фенольных соединений в плодах алычи в процессе созревания // Там же. — 2011. — Т. 43, № 5. — С. 378—383.
6. Гродзинский А.М. Аллелопатия в жизни растений и их сообществ. — Киев: Наук. думка, 1965. — 200 с.
7. Запрометов М.Н. Фенольные соединения: Распространение, метаболизм и функции в растениях. — М: Наука, 1993. — 272 с.
8. Котова Н.Н. Биологическая активность некоторых гидрофитов Воронежской области // Изв. Воронеж. гос. пед. ин-та. — 1979. — 206. — С. 40—50.
9. Кретович В.Л. Биохимия растений. — М.: Высшая школа, 1980. — 447 с.
10. Макаренко О.А., Левицкий А.П. Физиологические функции флавоноидов в растениях // Физиология и биохимия культурных растений. — 2013. — Т. 45, № 2. — С. 100—112
11. Метейко Т.Я. Метаболиты высших водных растений и их роль в гидробиоценозах (обзор) // Гидробиол. журн. — 1981. — Т. 17, № 4. — С. 3—14.
12. Мецлер Д. Химические реакции в живой клетке.— М.: Мир. — Т. 1, 1980. — 408 с.
13. Определитель высших водных растений. — Киев: Наук. думка, 1987. — 548 с.
14. Племенков В.В. Введение в химию природных соединений.— Казань, 2001. — 376 с.
15. Сакевич О.Й., Усенко О.М. Аллелопатія в гідроекосистемах. — К.: Логос, 2008. — 342 с.
16. Семенченко В.П., Разлуцкий В.И., Бусева Ж.Ф. и др. Влияние макрофитов на планктонное сообщество в прибрежной зоне озер // Современ. пробл. гидрoэкологии.: Тез. докл. 4-й Междунар. науч. конф., посвященной памяти проф. Г. Г. Винберга, 11—15 окт. 2010 г., Россия, С.-Петербург. — СПб., 2010. — С. 161.
17. Солдатенков С.В., Мазурова Т.А. Анализ органических кислот растений методом ионообменных смол и хроматографии на бумаге // Методика количественной бумажной хроматографии сахаров, органических кис-

- лот и аминокислот у растений. — М; Л. : Изд-во АН СССР, 1962. — С. 27—42.
18. Усенко О.М., Кірпенко Н.І., Коновець І.М. Сезонна динаміка фенолкарбонових кислот у заростях *Phragmites communis* Trin. // Современные проблемы гидроэкологии. Перспективы, пути и методы решений: Материалы III Междунар. науч. конф. — Херсон, 2012. — С. 128—131.
 19. Факторный, дискриминантный и кластерный анализ: Пер. с англ. / Под ред. И. С. Енюкова. — М.: Финансы и статистика, 1989. — 215 с.
 20. Adami M., Waisel G. Inter-relationships between *Najas marina* L. and three other species of aquatic macrophytes // Hydrobiologia. — 1985. — Vol. 126, N 2. — P. 169—173.
 21. Baziramakenga R., Leroux G.D., Simard R.R. Effects of benzoic and cinnamic acids on membrane permeability of soybean roots // J. Chem. Ecol. — 1995. — Vol. 21. — P. 1271—1285.
 22. Choi C.-S., Kim K.-I., Hong H.-D. et al. Phenolic acid composition and antioxidative activity of white (*Panax ginseng* C. A. Meyer) // J. Ginseng Res. — 2008. — Vol. 30, N 1. — С. 22—30.
 23. Devi S.R., Prasad M.N.V. Effect of ferulic acid on the growth and hydrolytic enzymes of germinating maize (*Zea mays* L.) seeds // J. Chem. Ecol. — 1992. — Vol. 18. — P. 1981—1990.
 24. Elakovich S.D., Wooten G.W. Allelopathic potential of *Nuphar lutea* (L.) Sibth. a. Sm. // J. Chem. Ecol. (N.Y.). — 1991. — Vol. 17, N 4. — P. 707—714.
 25. Macías F.A., Molinillo J.M.G., Varela R.M. et al. Allelopathy — a natural alternative for weed control // Pest Manag. Sci. — 2007. — Vol. 63, N 4. — P. 327—348.
 26. Makarska E., Michalak M. Aktywność przeciwutleniająca kwasów fenolowych jęczmienia jarego // Ann. UMCS. E. — 2005. — Vol. 60. — С. 263—269.
 27. Patterson D.T. Effects of allelopathic chemical on growth and physiological responses of soybean (*Glycine max.*) // Weed Sci. — 1981. — Vol. 29, N 1. — P. 53—59.
 28. Ratushnyak A.A. The investigation of Exometabolism of some aquatic macrophytes // Global J. Environ. Research. — 2008. — Vol. 2 (2). — P. 92—95.
 29. Robbins R.J. Phenolic Acids in Foods: An Overview of Analytical Methodology // J. Agric. Food Chem. — 2003. — Vol. 51. — P. 2866—2887.
 30. Souto C., Pellissier F., Chiapusio G. Allelopathic effects of humus phenolics on growth and respiration of mycorrhizal fungi // J. Chem. Ecol. — 2000. — Vol. 26. — P. 2015—2023.
 31. Takeda F., Nakano K., Nishimura O. et al. Allelopathic Potential of *Potamogeton pusillus* Community Against *Microcystis aeruginosa* // J. Water and Environ. Technol. — 2011. — Vol. 9, N 1. — P. 21—28.