

УДК 577.13:582.711.71:571.61

ДИНАМИКА СОДЕРЖАНИЯ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ЛИСТЬЯХ *DASIPHORA MANDSHURICA* В УСЛОВИЯХ КУЛЬТУРЫ

© *Е.В. Андышева*^{1*}, *Е.П. Храмова*²

¹ Амурский филиал Ботанического сада-института ДВО РАН,
Игнатьевское шоссе, 2-й км, Благовещенск, 675000 (Россия),
e-mail: lenok-luchik@mail.ru

² Центральный сибирский ботанический сад СО РАН, ул. Золотодолинская,
101, Новосибирск, 630090 (Россия)

В статье представлены результаты сезонного изменения фенольного состава и содержания в листьях *Dasiphora mandshurica* при интродукции на юге Амурской области. Анализ фенольных соединений выполнен методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Выделены и идентифицированы шесть флавонолгликозидов – гиперозид, изокверцитрин, рутин, авикулярин, кверцитрин, астрагалин, два свободных агликона – кверцетин и рамнетин, а также эллаговая кислота и ее гликозид. Фенольный состав *D. mandshurica* в течение вегетационного сезона практически не изменяется, варьирование происходит за счет минорных компонентов. Максимальное число фенольных компонентов (25) установлено в период набухания почек и в периоды начала и массового цветения. Наибольшее суммарное содержание фенольных соединений в листьях *D. mandshurica* установлено в фазе вегетации в период формирования молодых листьев (35.3 мг/г), агликонов – в период окончания цветения (0.48 мг/г), а флавонолов – в период массового цветения (22.2 мг/г). Гликозиды кверцетина, кемпферола и рамнетина обнаружены во всех фазах развития в течение всего вегетационного сезона. Максимум флавонолгликозидов отмечен в фазах вегетации, бутонизации и цветения, агликонов (кверцетина и рамнетина) – в начале вегетации и конце цветения. Выявлены факты несовпадения динамики накопления гликозидов и их агликонов. Содержание большинства отдельных фенольных компонентов максимально как в молодых листьях в фазе вегетации и бутонизации, так и в зрелых листьях в фазе цветения. Авикулярин и гиперозид являются преобладающими гликозидами в течение всего вегетационного сезона. Наибольшее накопление танинов установлено в молодых листьях, эллаговой кислоты – в фазе вегетации, а ее гликозида – в фазе бутонизации.

Ключевые слова: Rosaceae, *Dasiphora mandshurica*, фенольные соединения, сезонная динамика, Амурская область, высокоэффективная жидкостная хроматография.

Работа выполнена в рамках государственного задания Ботанического сада-института ДВО РАН (122040800085-4) и Центрального сибирского ботанического сада СО РАН (проект АААА-А21-121011290025-2).

Введение

Курильский чай маньчжурский *Dasiphora mandshurica* (Maxim.) Juz. из семейства Rosaceae Juss. имеет ограниченный ареал распространения. В России вид встречается на юге Дальнего Востока: Хабаровский и Приморский края. Вне России – на полуострове Корея, Японии и в Северо-Восточном Китае. Произрастает на сухих горных и прибрежных склонах, известняковых скалах и каменных россыпях [1–4]. *D. mandshurica* включен в Красные книги Приморского и Хабаровского краев, на территории Приморского края является уязвимым видом и охраняется в Лазовском и Сихотэ-Алинском заповедниках, в Хабаровском крае является сокращающимся в численности видом и охраняется в государственном природном заповеднике «Ботчинский» [5–7].

D. mandshurica входит в род *Dasiphora* Raf. (син. *Pentaphylloides* Hill = *Potentilla* L.), который на российском Дальнем Востоке представлен четырьмя

Андышева Елена Владимировна – научный сотрудник,
e-mail: lenok-luchik@mail.ru

Храмова Елена Петровна – доктор биологических наук,
ведущий научный сотрудник, e-mail: khramova@ngs.ru

видами – *D. fruticosa* (L.) Rydb., *D. davurica* (Nestl.) Kom. et Aliss, *D. gorovoi* Pshenn. и *D. mandshurica*

* Автор, с которым следует вести переписку.

[2, 8, 9]. Наиболее изученным видом рода в настоящее время является *D. fruticosa*, результаты его исследования достаточно широко представлены в литературе [10–15], в том числе сезонная динамика содержания фенольных соединений [16]. Биохимический состав *D. mandshurica*, напротив, практически не изучен. Ранее нами представлены результаты исследований по содержанию фенольных соединений пяти видов рода *Dasiphora*, в том числе *D. mandshurica*, для выявления видовой специфичности [17–19]. Сведений по исследованию фенольного комплекса *D. mandshurica* в связи с сезонным развитием в условиях интродукции нами не обнаружено. При этом хорошо известно, что стадия развития, генотип, условия произрастания растения влияют на состав и содержание фенольных соединений [20–24].

Цель работы – изучение сезонной динамики содержания фенольных соединений в листьях *D. mandshurica* в условиях выращивания на юге Амурской области.

Экспериментальная часть

Исследования проводили на базе «Коллекции генетических ресурсов растений Амурского филиала Ботанического сада-института ДВО РАН» в г. Благовещенске. Материалом служили образцы *D. mandshurica* 2-го года жизни, выращенные на территории сада и собранные с апреля по июль, начиная с периода набухания почек и заканчивая периодом массового формирования семян (табл. 1).

Для определения содержания фенольных соединений (суммарного содержания, по группам и отдельным компонентам) брали среднюю пробу с 30 особей в каждую стадию вегетационного периода. Годичные облиственные побеги длиной 15–20 см срезали равномерно по поверхности кроны, отделяли листья и высушивали их до воздушно-сухого состояния. Точную навеску растительного материала (1.000 г), экстрагировали 82%-ным этанолом на водяной бане при температуре 60–70 °С с обратным холодильником в три приема: заливали 35 мл, 30 и 25 мл 82%-ного спирта и исчерпывающе экстрагировали в каждый прием по 30 мин [25]. После тройного экстрагирования измеряли общий объем, который обычно составлял около 70 мл. Одновременно брали точную навеску (1.000 г) для определения влажности в образце для пересчета на массу абсолютно сухого сырья [25].

Водно-этанольный экстракт (1 мл) разбавляли бидистиллированной водой до объема 5 мл и пропускали через концентрирующий патрон Диапак С16 (ЗАО «БиоХимМак») для освобождения от примесей гидрофильной природы. Флавонолгликозиды экстрагировали с патрона небольшим количеством 70%-ного этанола, агликоны – 96%-ного этанола. Элюаты объединяли, измеряли объем, который обычно составлял 5–8 мл, и пропускали через мембранный фильтр с диаметром пор 0.45 мкм.

Анализ фенольных соединений, изученных образцов выполняли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) на жидкостном хроматографе Agilent 1200 (Agilent Technologies, США) с диодно-матричным детектором, автосамплером и программным обеспечением обработки хроматографических данных ChemStation. Условия разделения: колонка Zorbax SB-C18, 4.6 × 150 мм, 5 мкм. Хроматографический анализ в первые 27 мин проводили в изократическом режиме элюирования в системе метанол – 0.1% H₃PO₄ (31 : 69), затем – в градиентном режиме. В подвижной фазе содержание метанола в водном растворе ортофосфорной кислоты (0.1%) изменялось от 33 до 46% за 11 мин, затем от 46 до 56% за следующие 12 мин и от 56 до 100% за 4 мин. Скорость потока элюента – 1 мл/мин. Температура колонки – 26 °С. Объем вводимой пробы – 5 мкл. Аналитические длины волн – 254, 270, 290, 340, 360 и 370 нм.

Таблица 1. Фенофазы *D. mandshurica* в условиях выращивания в Амурской области

Фаза	Период
Вегетация	I – период набухания почек (сбор образцов 24 апреля)
	II – период формирования листьев, когда листовые пластинки приняли присущую им форму, но не достигли нормального размера (сбор образцов 19 мая)
Бутонизация	III – начало бутонизации (сбор образцов 3 июня)
	IV – массовая бутонизация (сбор образцов 10 июня)
Цветение	V – начало цветения (сбор образцов 17 июня)
	VI – массовое цветение (сбор образцов 24 июня)
	VII – конец цветения (сбор образцов 30 июня)
Плодоношение	VIII – начало плодоношения (сбор образцов 7 июля)
	IX – массовое плодоношение (сбор образцов 14 июля)

Количественное определение индивидуальных компонентов в образцах *D. mandshurica* проводили по методу внешнего стандарта. Для приготовления стандартных образцов использовали образцы кверцетина, кемпферола, рамнетина, изокверцитрина, гиперозида, кверцитрина и авикулярина («Fluka» и «Sigma»). Стандартные растворы готовили в концентрации 10 мкг/мл в метиловом спирте.

Суммарное содержание фенольных соединений оценивали по сумме площадей хроматографических пиков при $\lambda=360$ нм, так как для многих наиболее активных флавоноидов максимумы поглощения находятся в длинноволновой области (362 ± 14 нм), что позволяет легко отличить их от других классов веществ.

Из-за отсутствия доступных стандартных образцов и сложных условий разделения для определения содержания флавонолгликозидов в экстрактах из листьев *D. mandshurica* методом ВЭЖХ проводили анализ свободных агликонов, образующихся после кислотного гидролиза соответствующих гликозидов. Для проведения кислотного гидролиза к 0.5 мл водно-этанольного экстракта прибавляли 0.5 мл HCl (2 н) и нагревали на кипящей водяной бане в течение 2 ч. После охлаждения разбавленный экстракт пропускали через концентрирующий патрон, агликоны экстрагировали 96%-ным этанолом. Далее проводили хроматографический анализ в режиме градиентного элюирования. В подвижной фазе содержание метанола в водном растворе ортофосфорной кислоты (0.1%) изменялось от 45 до 48% за 18 мин. Суммарное содержание флавонолгликозидов (отдельно гликозидов кверцетина, кемпферола и рамнетина) в образцах рассчитывали по содержанию свободных агликонов, образующихся после кислотного гидролиза, применяя известные из литературных данных коэффициенты для пересчета концентрации агликона на соответствующий гликозид со средней молекулярной массой 756: для кверцетина – 2.504, для кемпферола – 2.588 [26, 27]. Как отмечает Т.А. van Beek с соавторами [26], такой расчет истинного содержания гликозидов несколько завышен (примерно на 24%), так как многие флавонолгликозиды обладают более низкой молекулярной массой и в анализируемых образцах также присутствуют свободные агликоны. Однако поскольку используется один и тот же метод расчета, то это позволяет определять содержание флавонолгликозидов без идентификации каждого компонента. Пересчет концентрации рамнетина на соответствующий гликозид проводили по кверцетину.

Результаты и обсуждение

В результате исследования фенольного состава водно-этанольных экстрактов из листьев *D. mandshurica* в течение сезонного развития, обнаружено содержание не менее 26 соединений (табл. 2). Из них идентифицированы шесть флавонолгликозидов – гиперозид, изокверцитрин, рутин, авикулярин, кверцитрин, астрагалин, два свободных агликона – кверцетин и рамнетин, а также эллаговая кислота и ее гликозид. Остальные компоненты (1–3, 10, 13–16, 18–25) пока не идентифицированы, но в процессе хроматографирования в режиме online были зарегистрированы УФ-спектры некоторых из них, на основании которых компоненты отнесены к флавоноидным структурам.

Оценив состав компонентов фенольной природы в образцах *D. mandshurica* в течение всего вегетационного сезона, следует отметить, что он достаточно стабилен, наблюдались лишь незначительные вариации за счет минорных компонентов. Наименьшее количество компонентов (21) обнаружено в фазе плодоношения, а наибольшее число компонентов (25) – в период набухания почек и в периоды начала и массового цветения (табл. 2).

Установлено, что в период набухания почек суммарное содержание фенольных соединений в них минимально и составляет 17.3 мг/г, а в период формирования молодых листьев достигает максимума 35.3 мг/г. Начиная с периода бутонизации и до периода начала цветения, отмечен плавный спад в динамике суммарного содержания фенольных соединений с 30.3 мг/г до 25.2 мг/г. В фазу массового цветения отмечен подъем в накоплении суммы фенольных соединений до 29.2 мг/г, затем наблюдали снижение до 22.6 мг/г до периода массового плодоношения (табл. 2).

Доля флавонолов в суммарном содержании фенольных соединений в листьях *D. mandshurica* в течение вегетационного сезона составляет от 50 до 83%. Следует отметить, что в начале вегетационного сезона в период набухания почек доля флавонолов высокая (70%), а в период формирования молодых листьев она снижалась до 54%. Далее отмечен рост доли флавонолов до максимального значения в период начала цветения (83%). Начиная с периода массового цветения и до периода массового плодоношения доля флавонолов уменьшалась до минимума 50% (табл. 2). Более высокое содержание флавонолов отмечено в период массового цветения (22.2 мг/г), а наименьшее – в период массового плодоношения (11.2 мг/г) и период набухания почек (12.2 мг/г) (табл. 2).

Различия изучаемых образцов отмечены и в неодинаковом соотношении агликонов в гидролизатах листьев. Для того чтобы проанализировать содержание флавонолгликозидов по отдельности, проведен кислотный гидролиз водно-этанольных экстрактов листьев. В результате в течение всего вегетационного периода в листьях *D. mandshurica* установлено три соединения: кверцетин, кемпферол и рамнетин. Следует отметить, что производные кемпферола отмечены в минорных количествах и в их накоплении не установлено значительных колебаний, во всех фазах развития кемпферол находился практически на одном уровне. В накоплении гликозидов кверцетина и рамнетина отмечены два максимума (рис. 1, 2).

Таблица 2. Содержание фенольных соединений (по компонентам, суммарное и по группам) в листьях *D. mandshurica* (мг/г абсолютно сухого сырья)

Фенольное соединение	Время выхода, мин	Фаза вегетации								
		Вегетация		Бутонизация		Цветение			Плодоношение	
		I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX
Компонент 1	10.08	0.76±0.01	1.13±0.01	1.12±0.01	0.58±0.01	0.58±0.01	0.56±0.01	0.42±0.00	0.48±0.01	0.39±0.00
Компонент 2	11.26	0.71±0.01	0.66±0.01	0.88±0.01	0.76±0.01	0.51±0.01	0.61±0.01	0.26±0.00	0.36±0.00	0.30±0.00
Компонент 3	13.49	0.35±0.00	0.20±0.00	0.33±0.00	0.26±0.00	0.31±0.00	0.20±0.00	0.21±0.00	0.16±0.00	0.14±0.00
Гиперозид	17.03	1.07±0.01	2.06±0.02	1.30±0.01	1.22±0.01	1.71±0.02	1.32±0.01	1.01±0.01	1.42±0.02	1.15±0.01
Изокверцитрин	17.76	0.54±0.01	1.01±0.01	0.36±0.00	0.45±0.00	0.65±0.01	0.57±0.01	0.43±0.00	0.54±0.01	0.34±0.00
Рутин	19.27	0.15±0.00	0.35±0.00	0.27±0.00	0.36±0.00	0.16±0.00	0.18±0.00	0.12±0.00	н.о. ¹	0.15±0.00
Эллаговая кислота	20.46	3.26±0.04	5.74±0.06	2.04±0.02	4.62±0.05	3.07±0.03	3.67±0.04	2.97±0.03	3.21±0.04	2.68±0.03
Гликозид эллаговой кислоты	20.66	0.88±0.04	3.05±0.03	5.25±0.06	1.51±0.02	1.88±0.02	2.20±0.02	1.22±0.01	1.56±0.02	1.33±0.1
Авикулярин	26.18	1.66±0.02	2.78±0.03	2.05±0.02	1.82±0.02	1.49±0.02	0.66±0.01	1.76±0.02	1.37±0.02	3.14±0.03
Компонент 10	26.78	0.41±0.00	0.88±0.01	0.52±0.01	0.28±0.00	1.39±0.02	1.19±0.01	0.39±0.00	1.73±0.02	0.13±0.00
Кверцитрин	28.33	0.21±0.00	0.55±0.01	0.14±0.00	0.16±0.00	0.18±0.00	0.40±0.00	0.27±0.00	0.14±0.00	0.22±0.00
Астрагалин	31.52	0.12±0.00	н.о.	0.18±0.00	0.18±0.00	0.24±0.00	0.18±0.00	0.13±0.00	0.12±0.00	н.о.
Компонент 13	32.92	0.11±0.00	н.о.	0.32±0.00	0.13±0.00	0.18±0.00	0.24±0.00	н.о.	н.о.	н.о.
Компонент 14	36.59	0.14±0.00	0.60±0.01	н.о.	н.о.	0.20±0.00	0.34±0.00	0.14±0.00	н.о.	0.14±0.00
Компонент 15	37.45	н.о.	н.о.	0.41±0.00	0.39±0.00	н.о.	н.о.	н.о.	н.о.	н.о.
Компонент 16	39.85	0.19±0.00	0.25±0.00	н.о.	н.о.	0.19±0.00	0.45±0.00	0.46±0.01	0.42±0.00	0.28±0.00
Кверцетин	40.28	0.07±0.00	0.10±0.00	0.11±0.00	0.06±0.00	0.07±0.00	0.09±0.00	0.06±0.00	0.06±0.00	0.04±0.00
Компонент 18	43.39	0.14±0.00	0.21±0.00	0.19±0.00	0.14±0.00	0.19±0.00	0.26±0.00	0.18±0.00	0.17±0.00	н.о.
Компонент 19	44.08	2.27±0.02	4.52±0.05	3.73±0.04	3.72±0.04	3.03±0.03	5.94±0.07	4.86±0.05	3.40±0.04	2.96±0.03
Компонент 20	45.90	0.90±0.01	0.56±0.01	0.59±0.01	0.41±0.00	0.43±0.00	0.38±0.00	0.40±0.00	н.о.	0.53±0.01
Компонент 21	46.31	0.23±0.00	1.12±0.01	0.58±0.01	0.62±0.01	0.72±0.01	0.39±0.00	н.о.	0.48±0.01	н.о.
Компонент 22	47.10	1.97±0.02	6.61±0.07	6.35±0.07	5.48±0.06	4.64±0.05	6.60±0.07	5.25±0.06	6.48±0.07	4.97±0.05
Компонент 23	49.14	0.55±0.01	0.88±0.01	1.09±0.01	1.02±0.01	1.24±0.01	0.82±0.01	1.76±0.02	1.20±0.01	1.24±0.01
Компонент 24	49.68	0.13±0.00	1.57±0.02	1.95±0.02	1.79±0.02	1.47±0.02	1.32±0.01	2.12±0.02	1.65±0.02	1.63±0.02
Компонент 25	51.00	0.34±0.00	0.29±0.00	0.30±0.00	0.24±0.00	0.57±0.01	0.43±0.00	0.81±0.01	0.46±0.01	0.53±0.01
Рамнетин	53.54	0.12±0.00	0.20±0.00	0.22±0.00	0.13±0.00	0.07±0.00	0.16±0.00	0.42±0.00	0.20±0.00	0.31±0.00
Сумма фенольных соединений		17.3±0.19	35.3±0.39	30.3±0.33	26.3±0.29	25.2±0.28	29.2±0.32	25.7±0.28	25.6±0.28	22.6±0.25
Сумма флавонолов ²		12.2±0.1	19.3±0.2	21.0±0.2	19.5±0.2	21.1±0.2	22.2±0.2	20.1±0.2	17.1±0.2	11.2±0.1
Сумма агликонов		0.19±0.00	0.30±0.00	0.33±0.00	0.19±0.00	0.14±0.00	0.25±0.00	0.48±0.01	0.27±0.00	0.35±0.00
Количество компонентов		25	23	24	24	25	25	23	21	21
В том числе гликозиды:										
кверцетина		5.4±0.1	8.9±0.1	7.4±0.1	6.9±0.1	9.7±0.1	7.7±0.1	5.4±0.1	6.0±0.1	3.4±0.0
кемпферола		1.1±0.0	0.9±0.0	0.8±0.0	0.8±0.0	0.9±0.0	0.9±0.0	0.8±0.0	0.8±0.0	0.5±0.0
рамнетина		5.5±0.1	9.2±0.1	12.5±0.1	11.6±0.1	10.3±0.1	13.3±0.1	13.5±0.1	10.1±0.1	6.9±0.1
Доля флавонолов		70	54	69	74	83	76	78	67	50
Соотношение кверцетина : кемпферола : рамнетина		45 : 9 : 46	47 : 5 : 49	36 : 4 : 60	36 : 4 : 60	46 : 4 : 49	35 : 4 : 61	27 : 4 : 69	35 : 5 : 60	31 : 5 : 64

Примечание: ¹н.о. – означает, что содержание компонента находится ниже предела обнаружения (0.1 мг/г). ² – суммарное содержание флавонолов представляет сумму флавонолгликозидов и свободных агликонов.

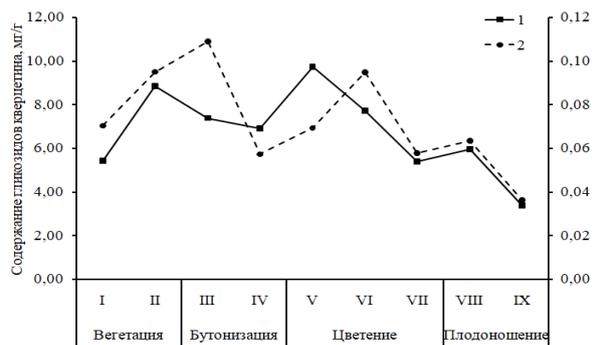


Рис. 1. Динамика накопления гликозидов кверцетина (1) и свободного кверцетина (2) в листьях *D. mandshurica*. По горизонтали – фазы вегетации. По вертикалям – содержание гликозидов кверцетина (левая ось) и свободного кверцетина (правая ось), мг/г абсолютно сухого сырья

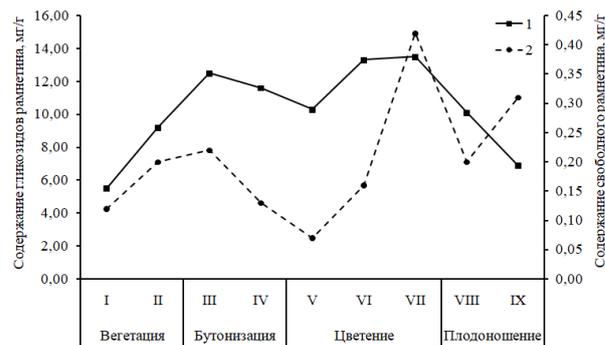


Рис. 2. Динамика накопления гликозидов рамнетина (1) и свободного рамнетина (2) в листьях *D. mandshurica*. По горизонтали – фазы вегетации. По вертикалям – содержание гликозидов рамнетина (левая ось), содержание свободного рамнетина (правая ось), мг/г абсолютно сухого сырья

Для кверцетина первый максимум установлен в фазе вегетации и достигает 8.9 мг/г, второй – в фазе начала цветения – 9.7 мг/г, для рамнетина первый пик отмечен в фазе начала бутонизации – 12.5 мг/г, второй – в фазе цветения и составляет 13.3 мг/г и 13.5 мг/г соответственно (табл. 2, рис. 1, 2). Наибольшее содержание производных кемпферола – 1.1 мг/г установлено в начале вегетации в период набухания почек (табл. 2).

Установлено, что в гидролизатах экстрактов из листьев *D. mandshurica* преобладал рамнетин, его доля 46–69% в течение всего вегетационного периода значительно выше, чем производных кверцетина 27–46% и кемпферола 4–9%. Следует отметить, что доля производных кверцетина выше в начале вегетационного сезона в фазе вегетации и в период начала цветения в диапазоне от 45 до 47%. Наименьшая доля производных кверцетина отмечена в периоды начала и массового плодоношения в диапазоне от 35 до 31%. Доля производных кемпферола своих максимальных значений достигала в период набухания почек – 9%, а минимальных – в фазах бутонизации и цветения (4%). Более высокая доля производных рамнетина установлена в период окончания цветения и массового плодоношения и соответствовала 64 и 69%, а наименьшая – 46% в период набухания почек (табл. 2).

В результате анализа накопления свободных форм кверцетина и рамнетина в водно-этанольных экстрактах из листьев *D. mandshurica*, выявлено, что их содержание в основном находилось в минорных и следовых количествах (табл. 2). Установлены факты несовпадения динамики накопления агликонов и их гликозидов – повышение уровня агликонов на фоне снижения гликозидов, что свидетельствует о взаимопревращениях гликозилированных и негликозилированных форм (табл. 2, рис. 1, 2).

Наибольшее содержание свободного кверцетина установлено в начале вегетации в период формирования молодых листьев – 0.10 мг/г и в период начала бутонизации – 0.11 мг/г, минимальное – в период массового формирования плодов – 0.04 мг/г (рис. 1). Отмечены факты несовпадения накопления свободного кверцетина и его гликозидов в начале и середине вегетационного периода, в конце вегетации, напротив, кривые накопления в листьях *D. mandshurica* совпадают (табл. 2, рис. 1). Отмечено, что кривые накопления агликонов достигали максимумов раньше, чем кривые накопления их гликозидов. Резкое снижение содержания гликозидов в период бутонизации и массового цветения может свидетельствовать о том, что при общей трате флавонолов их гликозилированные формы расходуются в большей степени, чем свободные. Максимум гликозидов в листьях обнаружен в период начала цветения, агликонов – в период начала бутонизации.

Наибольшее содержание свободного рамнетина установлено в листьях *D. mandshurica* в период окончания цветения – 0.42 мг/г, а наименьшее в период начала цветения – 0.07 мг/г. При этом также отмечается несовпадение динамики накопления гликозилированных и негликозилированных форм рамнетина (табл. 2, рис. 2).

Содержание большинства компонентов, в целом, отмечено в минорных количествах, за исключением гиперозида, авикулярина и компонентов 19 и 22, которые являлись главными компонентами на протяжении всего вегетационного периода (табл. 2). Отмечено, что содержание фенольных компонентов в водно-этанольных экстрактах из листьев *D. mandshurica* значительно варьировало в течение сезона. Так, в период

начала формирования молодых листьев установлены максимальные концентрации: гиперозида (2.06 мг/г), изокверцитрина (1.01 мг/г), кверцитрина (0.55 мг/г), компонентов 1, 14, 21 и 25 (1.13, 0.60, 1.12 и 6.61 мг/г, соответственно), в период набухания почек отмечено наибольшее содержание компонентов 3 и 20 (0.35 и 0.90 мг/г). В фазе бутонизации в период начала формирования бутонов в наибольшем количестве синтезировались компоненты 2, 13 и 15 (0.88, 0.32 и 0.41 мг/г). В период массовой бутонизации отмечен максимум рутина (0.36 мг/г), но в период начала формирования плодов он не обнаружен. Часть компонентов максимально накапливалась в период цветения. Например, наибольшее содержание астрагалина (0.24 мг/г) обнаружено в период начала цветения, компонентов 18 и 19 (0.26 и 5.94 мг/г) в период массового цветения, компонентов 16, 23, 24 и 28 (0.46, 1.76, 2.12 и 0.81 мг/г, соответственно) – в период окончания цветения. В период начала плодоношения выявлено наибольшее накопление компонента 11 (1.73 мг/г), а в период массового плодообразования – авикулярина (3.14 мг/г) (табл. 2).

Анализ динамики накопления эллаговых дубильных веществ показал, что более высокое содержание отмечено в молодых листьях растений *D. mandshurica* в начале вегетационного сезона (табл. 2). Максимум содержания эллаговой кислоты до 5.7 мг/г отмечен в фазу вегетации в период формирования листьев, что в 1.8 раза ниже, чем наибольшее содержание эллаговой кислоты в листьях растений другого ранее исследованного вида – *D. fruticosa* [22]. Наименьшее накопление эллаговой кислоты отмечено в период начала бутонизации – 2.0 мг/г, при этом следует отметить, что именно в этот период установлено более высокое накопление гликозида эллаговой кислоты – 5.2 мг/г. Минимум гликозида эллаговой кислоты выявлен в период набухания почек и составляет 0.9 мг/г. В целом, отмечено снижение содержания танинов в листьях растений *D. mandshurica* в конце вегетационного сезона (табл. 2). Данный факт согласуется с сезонными изменениями, выявленными для других видов растений, где отмечается увеличение содержания эллаговых дубильных веществ в начале и середине вегетационного сезона (в фазах вегетации, бутонизации и цветения) и снижение к концу вегетации в фазу плодоношения [16, 28–30].

Заключение

В листьях *D. mandshurica* обнаружено 26 фенольных соединений, из них идентифицированы шесть флавонолгликозидов – гиперозид, изокверцитрин, рутин, авикулярин, кверцитрин, астрагалин, два агликона – кверцетин и рамнетин, а также эллаговая кислота и ее гликозид. Состав фенольных соединений, в целом, постоянен, варьирование в течение вегетационного сезона происходит за счет минорных компонентов. Более высокое суммарное содержание фенольных соединений в листьях *D. mandshurica* установлено в фазе вегетации в период формирования молодых листьев. Содержание большинства отдельных компонентов максимально в начале вегетационного сезона в фазах вегетации, бутонизации и цветения. Гликозиды рамнетина и кверцетина преобладают в фазе цветения, а гликозиды кемпферола – в начале вегетации. Максимальное накопление свободных агликонов установлено в конце цветения для рамнетина, в начале вегетации для кверцетина. Отмечены факты несовпадения динамики накопления флавонолгликозидов и их агликонов. Более высокое накопление суммы агликонов установлено в период окончания цветения, а суммы флавонолов – в период массового цветения. Наибольшее накопление эллаговой кислоты и ее гликозида отмечено в молодых листьях и находится примерно на одном уровне. Более высокое содержание эллаговой кислоты установлено в фазе вегетации, а гликозида эллаговой кислоты – в период начала бутонизации. Сбор сырья растений *D. mandshurica* в условиях выращивания юга Амурской области для практических целей с наибольшим накоплением фенольных соединений рекомендован в период массового цветения.

Список литературы

1. Соколов С.Я., Связева О.А., Кублин В.А., Соколова Ю.Д., Мусаева И.Ф., Ловелиус О.Л. Ареалы деревьев и кустарников СССР. Л., 1980. Т. 2. 144 с.
2. Сосудистые растения советского Дальнего Востока / отв. ред. С.С. Харкевич. СПб., 1996. Т. 8. 383 с.
3. Lingdi L., Cui zhi G., Chaoluan L., Alexander C., Bartholomew B., Brach A.R., Boufford D.E., Ikeda H., Ohba H., Robertson K.R., Spongberg S.A. Flora of China (Rosaceae). Science Press, Beijing, and Missouri Botanical Garden Press, St. Louis., 2003. Vol. 9. Pp. 46–434.
4. Растения, грибы и лишайники Сихотэ-Алинского заповедника / отв. ред. Е.А. Пименова. Владивосток, 2016. 557 с.
5. Красная книга Приморского края: Растения. Редкие и находящиеся под угрозой исчезновения виды растений и грибов. Владивосток, 2008. 688 с.

6. Красная книга Хабаровского края: Редкие и находящиеся под угрозой исчезновения виды растений, грибов и животных: официальное издание. Воронеж, 2019. 604 с.
7. Сосудистые растения, водоросли и грибы Государственного природного заповедника «Ботчинский». Владивосток, 2015. 136 с.
8. Конспект флоры Азиатской России: Сосудистые растения / под ред. К.С. Байкова. Новосибирск, 2012. 640 с.
9. Камелин Р.В. Род Лапчатка – *Potentilla* L. // Флора Восточной Европы. СПб., 2001. Т. 10. С. 394–452.
10. Ганенко Т.В., Луцкий В.И., Ларин М.Ф., Верещагин А.Л., Семенов А.А. Химический состав *Potentilla fruticosa*. 1. Флавоноиды // Химия природных соединений. 1988. №3. С. 451.
11. Ганенко Т.В., Верещагин А.Л., Семенов А.А. Химический состав *Potentilla fruticosa* 3. Флавоноиды и свободные стеринны // Химия природных соединений. 1991. №2. С. 285.
12. Шкель Н.М., Храмова Е.П., Кузаков Е.В., Волхонская Т.А., Триль В.М. Фенольные соединения *Pentaphylloides fruticosa* (L.) O. Schwarz // Химия в интересах устойчивого развития. 1997. Т. 5. №1. С. 123–127.
13. Miliuskas G., van Beek T.A., Venskutonis P.R., Linszen J.P.H., de Waard P., Sudhölter E.J. Antioxidant activity of *Potentilla fruticosa* // Journal of the Science of Food and Agriculture. 2004. Vol. 84. Pp. 1997–2009.
14. Tomczyk M., Pleszczynska M., Wiater A. Variation in Total Polyphenolics Contents of Aerial Parts of *Potentilla* Species and their Anticariogenic Activity // Molecules. 2010. Vol. 15. Pp. 4639–4651.
15. Храмова Е.П. Состав и содержание флавоноидов *Pentaphylloides fruticosa* в природе и культуре // Химия растительного сырья. 2014. №1. С. 185–193.
16. Андышева Е.В., Храмова Е.П. Сезонная динамика содержания фенольных соединений в листьях *Pentaphylloides fruticosa* (Rosaceae) при интродукции на юге Амурской области // Растительные ресурсы. 2016. Т. 52. №2. С. 272–281.
17. Храмова Е.П., Андышева Е.В. Фенольные соединения видов рода *Pentaphylloides* (Rosaceae) Дальнего Востока // Растительный мир Азиатской России. 2014. №2. С. 65–70.
18. Andysheva E.V., Khramova E.P. A chemotaxonomic study of phenolic compounds in the species of the genus *Dasiphora* (Rosaceae) from the Russian Far East and Eastern Siberia // Botanica Pacifica. 2020. Vol. 9. N1. Pp. 77–83. DOI: 10.17581/bp.2020.09103.
19. Храмова Е.П. Хемотаксономическое исследование сибирских видов рода *Pentaphylloides* Hill. // Turczaninowia. 2013. Т. 16. №4. С. 55–62. DOI: 10.14258/turczaninowia.16.4.10.
20. Минаева В.Г. Флавоноиды в онтогенезе растений и их практическое использование. Новосибирск, 1978. 253 с.
21. Chaves N., Escudero J.C., Gutierrez-Merino C. Role of ecological variables in the seasonal variation of flavonoids content of *Cistus ladanifer* exudates // Journal of Chemical Ecology. 1997. Vol. 23. N3. Pp. 579–603.
22. Riipi M., Ossipov V., Lempa K., Haukioja E., Koricheva J., Ossipova S., Pihlaja K. Seasonal changes in birch leaf chemistry: are there trade-offs between leaf growth and accumulation of phenolic // Oecologia. 2002. Vol. 130. N3. Pp. 380–390.
23. Berini J.L., Brockman S.A., Hegeman A.D., Reich P.B., Muthukrishnan R., Montgomery R.A., Forester J.D. Combinations of abiotic factors differentially alter production of plant secondary metabolites in five woody plant species in the boreal-temperate transition zone // Frontiers in Plant Science. 2018. Vol. 9. DOI: 10.3389/fpls.2018.01257.
24. Isah T. Stress and defense responses in plant secondary metabolites production // Biological Research. 2019. Vol. 52. Article 39. DOI: 10.1186/s40659-019-0246-3.
25. Ермаков А.И., Арасимович В.В., Ярош Н.П. Методы биохимического исследования растений. 3-е изд. Л., 1987. 430 с.
26. Van Beek T.A. Chemical analysis of *Ginkgo biloba* leaves and extracts // Journal of Chromatography A. 2002. Vol. 967. Pp. 21–55. DOI: 10.1016/S0021-9673(02)00172-3.
27. Юрьев Д.В., Эллер К.И., Арзамасцев А.П. Анализ флавонолгликозидов в препаратах и БАД на основе экстракта *Ginkgo biloba* // Фармация. 2003. №2. С. 7–10.
28. Петрук А.А. Сезонная динамика содержания дубильных веществ в листьях и соцветиях некоторых видов рода *Salix* (Salicaceae) при интродукции // Химия растительного сырья. 2013. №2. С. 135–138. DOI: 10.14258/jcrpm.1302135
29. Высочина Г.И., Кукушкина Т.А., Васфилова Е.С., Шалдаева Т.М. Динамика накопления биологически активных веществ в растениях *Filipendula ulmaria* и *F. denudata* // Вестник Новосибирского государственного университета. Серия: Биология, клиническая медицина. 2014. Т. 12. №3. С. 25–30.
30. Костикова В.А., Кукушкина Т.А., Высочина Г.И. Динамика содержания основных групп биологически активных веществ в *Rheum altaicum* Losinsk. при интродукции в Новосибирскую область // Химия в интересах устойчивого развития. 2017. Т. 25. №5. С. 527–531. DOI: 10.15372/KhUR20170507.

Поступила в редакцию 3 июня 2022 г.

После переработки 14 июня 2022 г.

Принята к публикации 20 декабря 2022 г.

Для цитирования: Андышева Е.В., Храмова Е.П. Динамика содержания фенольных соединений в листьях *Dasiphora mandshurica* в условиях культуры // Химия растительного сырья. 2023. №2. С. 153–161. DOI: 10.14258/jcrpm.20230211452.

Andysheva E.V.^{1*}, Khranova E.P.² PHENOLIC COMPOUNDS *DASIPHORA MANDSHURICA* DEPENDING ON THE PHASE DEVELOPMENT

¹ Amur branch of the Botanical Garden-Institute of the Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences, Ignatievskoe shosse, 2nd km, Blagoveshchensk, 675000 (Russia), e-mail: lenok-luchik@mail.ru

² Central Siberian Botanical Garden SB RAS, ul. Zolotodolinskaya, 101, Novosibirsk, 630090 (Russia)

Results of seasonal changes of phenolic compounds are presented in the article for leaves of *Dasiphora mandshurica* grown in culture of the south of the Amur Region. The phenolic compounds were analyzed by the method of a high-performance liquid chromatography. Six glycosides of flavonol (hyperoside, isoquercitrin, rutin, avicularin, quercitrin, astragalin), two aglycones (quercetin and rhamnetin) and tannins (ellagic acid and its glycoside) were found. It was found that phenolic composition of *D. mandshurica* is constant, but the changes of qualitative composition occur at the expense of minor compounds. The largest number of phenolic components (25) was established in stage the period of bud swelling of the leaf buds and periods of beginning and the mass of a blossoming. A higher total content of phenolic compounds in leaves of *D. mandshurica* was established in the stages the period of full isolation of leaves (35.3 mg/g), of total aglycones – in the period of ending of a blossoming (0.48 mg/g), and of total flavonols – in the period of mass blossoming (22.2 mg/g). Quercetin, kaempferol, rhamnetin glycosides were found in all stages of development. The largest glycosides of flavonol were found in the phases of the vegetation, budding and blossoming, and aglycones (quercetin and rhamnetin) at the beginning of vegetation and the ending of a blossoming. A fact of contrariety of the dynamics of accumulation of glycosides and their aglycones was revealed. A higher content of most individual phenolic compounds was found as in young leaves in the vegetation and budding, so in mature leaves in the blossoming phase. Avicularin and hyperoside are the predominant glycosides during the growing season. A higher content of the tannins was established in young leaves, ellagic acid dominated in the phase of the vegetation whereas ellagic acid glycoside was the predominant in the phase of the budding.

Keywords: Rosaceae, *Dasiphora mandshurica*, phenolic compounds, HPLC, seasonal dynamics, Amur oblast.

References

1. Sokolov S.Ya., Svyazeva O.A., Kublin V.A., Sokolova Yu.D., Musayeva I.F., Lovelius O.L. *Arealy derev'yev i kustarnikov SSSR*. [Areas of trees and shrubs of the USSR]. Leningrad, 1980, vol. 2, 144 p. (in Russ.).
2. *Sosudistyye rasteniya sovetskogo Dal'nego Vostoka* [Vascular plants of the Soviet Far East], ed. S.S. Kharkevich. St. Petersburg, 1996, vol. 8, 383 p. (in Russ.).
3. Lingdi L., Cui Zhi G., Chaoluan L., Alexander C., Bartholomew B., Brach A.R., Boufford D.E., Ikeda H., Ohba H., Robertson K.R., Spongberg S.A. *Flora of China (Rosaceae)*. Science Press, Beijing, and Missouri Botanical Garden Press, St. Louis., 2003, vol. 9, pp. 46–434.
4. *Rasteniya, griby i lishayniki Sikhote-Alinskogo zapovednika* [Plants, fungi and lichens of the Sikhote-Alin Reserve], ed. Ye.A. Pimenova. Vladivostok, 2016, 557 p. (in Russ.).
5. *Krasnaya kniga Primorskogo kraya: Rasteniya. Redkiye i nakhodyashchiesya pod ugrozoy ischeznoveniya vidy rasteniy i gribov*. [Red Book of Primorsky Krai: Plants. Rare and endangered species of plants and fungi]. Vladivostok, 2008, 688 p. (in Russ.).
6. *Krasnaya kniga Khabarovskogo kraya: Redkiye i nakhodyashchiesya pod ugrozoy ischeznoveniya vidy rasteniy, gribov i zhivotnykh: ofitsial'noye izdaniye*. [Red Book of the Khabarovsk Territory: Rare and endangered species of plants, fungi and animals: official publication]. Voronezh, 2019, 604 p. (in Russ.).
7. *Sosudistyye rasteniya, vodorosli i griby Gosudarstvennogo prirodnogo zapovednika «Botchinskiy»*. [Vascular plants, algae and fungi of the Botchinsky State Nature Reserve]. Vladivostok, 2015, 136 p. (in Russ.).
8. *Konspekt flory Aziatskoy Rossii: Sosudistyye rasteniya* [Synopsis of the flora of Asiatic Russia: Vascular plants], ed. K.S. Baykov. Novosibirsk, 2012, 640 p. (in Russ.).
9. Kamelin R.V. *Flora Vostochnoy Yevropy*. [Flora of Eastern Europe]. St. Petersburg, 2001, vol. 10, pp. 394–452. (in Russ.).
10. Ganenko T.V., Lutskiy V.I., Larin M.F., Vereshchagin A.L., Semenov A.A. *Khimiya prirodnykh soyedineniy*, 1988, no. 3, p. 451. (in Russ.).
11. Ganenko T.V., Vereshchagin A.L., Semenov A.A. *Khimiya prirodnykh soyedineniy*, 1991, no. 2, p. 285. (in Russ.).
12. Shkel' N.M., Khranova Ye.P., Kuzakov Ye.V., Volkhonskaya T.A., Tril' V.M. *Khimiya v interesakh ustoychivogo razvitiya*, 1997, vol. 5, no. 1, pp. 123–127. (in Russ.).
13. Miliauskas G., van Beek T.A., Venskutonis P.R., Linssen, J.P.H., de Waard P., Sudhölter E.J. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2004, vol. 84, pp. 1997–2009.
14. Tomczyk M., Pleszczyńska M., Wiater A. *Molecules*, 2010, vol. 15, pp. 4639–4651.
15. Khranova Ye.P. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2014, no. 1, pp. 185–193. (in Russ.).
16. Andysheva Ye.V., Khranova Ye.P. *Rastitel'nyye resursy*, 2016, vol. 52, no. 2, pp. 272–281. (in Russ.).
17. Khranova Ye.P., Andysheva Ye.V. *Rastitel'nyy mir Aziatskoy Rossii*, 2014, no. 2, pp. 65–70. (in Russ.).
18. Andysheva E.V., Khranova E.P. *Botanica Pacifica*, 2020, vol. 9, no. 1, pp. 77–83. DOI: 10.17581/bp.2020.09103.
19. Khranova Ye.P. *Turczaninowia*, 2013, vol. 16, no. 4, pp. 55–62. DOI: 10.14258/turczaninowia.16.4.10. (in Russ.).
20. Minayeva V.G. *Flavonoidy v ontogeneze rasteniy i ikh prakticheskoye ispol'zovaniye*. [Flavonoids in plant ontogenesis and their practical use]. Novosibirsk, 1978, 253 p. (in Russ.).
21. Chaves N., Escudero J.C., Gutierrez-Merino C. *Journal of Chemical Ecology*, 1997, vol. 23, no. 3, pp. 579–603.

* Corresponding author.

22. Riipi M., Ossipov V., Lempa K., Naukioja E., Koricheva J., Ossipova S., Pihlaja K. *Oecologia*, 2002, vol. 130, no. 3, pp. 380–390.
23. Berini J.L., Brockman S.A., Hegeman A.D., Reich P.B., Muthukrishnan R., Montgomery R.A., Forester J.D. *Frontiers in Plant Science*, 2018, vol. 9. DOI: 10.3389/fpls.2018.01257.
24. Isah T. *Biological Research*, 2019, vol. 52, article 39. DOI: 10.1186/s40659-019-0246-3.
25. Yermakov A.I., Arasimovich V.V., Yarosh N.P. *Metody biokhimicheskogo issledovaniya rasteniy. 3-ye izd.* [Methods of biochemical research of plants. 3rd ed.]. Leningrad, 1987, 430 p. (in Russ.).
26. Van Beek T.A. *Journal of Chromatography A*, 2002, vol. 967, pp. 21–55. DOI: 10.1016/S0021-9673(02)00172-3.
27. Yur'yev D.V., Eller K.I., Arzamastsev A.P. *Farmatsiya*, 2003, no. 2, pp. 7–10. (in Russ.).
28. Petruk A.A. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2013, no. 2, pp. 135–138. DOI: 10.14258/jcprm.1302135. (in Russ.).
29. Vysochina G.I., Kukushkina T.A., Vasfilova Ye.S., Shaldayeva T.M. *Vestnik Novosibirskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Biologiya, klinicheskaya meditsina*, 2014, vol. 12, no. 3, pp. 25–30. (in Russ.).
30. Kostikova V.A., Kukushkina T.A., Vysochina G.I. *Khimiya v interesakh ustoychivogo razvitiya*, 2017, vol. 25, no. 5, pp. 527–531. DOI: 10.15372/KhUR20170507. (in Russ.).

Received June 3, 2022

Revised June 14, 2022

Accepted December 20, 2022

For citing: Andysheva E.V., Khranova E.P. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2023, no. 2, pp. 153–161. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.20230211452.

