

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ СОРТОВ *PENTAPHYLLOIDES FRUTICOSA* (ROSACEAE)

Е.В. Андышева¹, Е.П. Храмова²

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

²Центральный сибирский ботанический сад СО РАН,
630090, Новосибирск, ул. Золотодолинская, 101, e-mail: khramova@ngs.ru

Изучены состав и содержание фенольных соединений листьев и цветков трех сортов *Pentaphylloides fruticosa*. Показано, что каждый исследованный сорт имеет свой фенольный профиль. Установлены сорта по основным типам флавонолгликозидов в зависимости от природы агликона: сортам *P. fruticosa* “Kobold” и “Tangerine” свойственны гликозиды кверцетина, сорту *P. fruticosa* “White moon” с белыми цветками – гликозиды кемпферола в цветках и гликозиды рамнетина в листьях. Выявлена специфичность сортов *P. fruticosa* по содержанию кверцитрина, астрагалина, кверцетина и рамнетина.

Ключевые слова: *Rosaceae*, *Pentaphylloides fruticosa*, сорт, фенольные соединения, Амурская область.

COMPARATIVE STUDY OF PHENOLIC COMPOUNDS OF *PENTAPHYLLOIDES FRUTICOSA* VARIETIES (ROSACEAE)

E.V. Andysheva¹, E.P. Khramova²

¹Amur Branch of Botanical Garden-Institute, FEB RAS,
675000, Amur Region, Blagoveshensk, High Road Ignatievsk 2^d km, e-mail: lenok-luchik@mail.ru

²Central Siberian Botanical Garden, SB RAS,
630090, Novosibirsk, Zolotodolinskaya str., 101, e-mail: khramova@ngs.ru

Composition and content of phenolic compounds in the leaves and flowers of three varieties of *Pentaphylloides fruticosa* were studied. Each of the variety was found to have its own phenolic profile. Main glycosides of flavonol types identified were as follows. Quercetin glycosides were characteristic for the varieties of *P. fruticosa* “Kobold” and “Tangerine”. The variety of *P. fruticosa* “White moon” with white flowers was characterized by kaempferol glycosides in flowers and rhamnetin glycosides in leaves. Specificity of the varieties was found regarding to the contents of quercitrin, astragaline, quercetin and rhamnetin.

Key words: *Rosaceae*, *Pentaphylloides fruticosa*, variety, phenolic compounds, Amur Region.

ВВЕДЕНИЕ

Пятилистник кустарниковый (*Pentaphylloides fruticosa* (L.) O. Schwarz) – красивоцветущий кустарник семейства *Rosaceae*. В культуре *P. fruticosa* известен с 1700 г. Вид ценен как высокодекоративное растение, используется в группах, бордюрах, альпинариях, как солитер в одиночных посадках. К настоящему времени имеет более 130 сортов с разной высотой куста и формой кроны, формой и окраской листовой пластинки и цветка. У большинства декоративных сортов листья зеленые, но цвет варьирует от светло-зеленого, серо-зеленого до темно-зеленого. Цветки имеют различную форму – от классической, сохранившейся от диких предков, до махровой. Цветки также сохранили желтый цвет, но с большим разнообразием оттенков. Существуют формы с белыми, розовыми, оранжевыми и красными цветками (Александрова,

2008; Сыева и др., 2013). Многообразие оттенков окраски, скорее всего, связано с различиями в составе и содержании фенольных соединений (ФС).

Фенольный состав *P. fruticosa* изучен достаточно подробно. Из его надземной части выделены и идентифицированы агликоны – кверцетин, кемпферол и рамнетин, не менее 10 флавонолгликозидов – кверцетин-3-β-глюкопиранозид (изокверцитрин), кверцетин-3-β-галактопиранозид (гиперозид), кверцетин-3-β-рутинозид (рутин), кверцетин-3-α-рамнопиранозид (кверцитрин), кверцетин-3-α-арабинофуранозид (авикулярин), кемпферол-3-β-рутинозид, рамнетин-3-β-глюкопиранозид, рамнетин-3-β-галактопиранозид, рамнетин-3-α-арабинофуранозид, кемпферол-3-β-глюкозид (астрагалин) и 4 ацилированных фла-

вонолгликозида – 6"-О-галлат-3-β-D-галактопиранозид кверцетина, кемпферол-3-О-β-(6"-О-(Е)-п-кумарил)–глюкопиранозид, тернифлорин и трибулозид (Федосеева, 1979; Ганенко и др., 1988, 1991; Шкель и др., 1997; Bate-Smith, 1961; Miliauskas et al., 2004). При достаточно подробной изученности *P. fruticosa* как вида, сведений по химическому составу сортов *P. fruticosa* в литературе недостаточно. В 2010 г. проведены исследования по определению содержания биологически активных веществ (дубильные вещества, полифенолы, флавоноиды) семи сортов *P. fruticosa* "Abbotswood", "Daydawn", "Goldfinger", "Goldteppich", "Goldstar", "Pink

Queen", "Red Ace" и по суммарному содержанию полифенолов выделены наиболее перспективные сорта для получения функциональных продуктов (Данилова и др., 2012). Сведений о фенольном составе (в сумме, по группам и отдельным компонентам) сортов *P. fruticosa* "Kobold", "Tangerine", "White moon" нами в литературе не обнаружено.

Цель работы заключалась в сравнительном изучении фенольных соединений в листьях и цветках трех сортов *Pentaphylloides fruticosa*, выращиваемых в Амурском филиале Ботанического сада-института Дальневосточного отделения РАН (АФ БСИ ДВО РАН) (г. Благовещенск).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Для исследования выбраны растения *P. fruticosa* трех сортов с разной окраской венчика – *P. fruticosa* "Kobold" с ярко желтыми цветками, *P. fruticosa* "White moon" с белыми цветками и *P. fruticosa* "Tangerine" с цветками оранжевого цвета.

Для определения содержания фенольных соединений (суммарного содержания, по группам и отдельным компонентам) брали среднюю пробу с 1–20 особей разных сортов в фазе массового цветения в 2013 г. Годичные облиственные побеги длиной 15–20 см срезали равномерно по поверхности кроны, разделяли на листья, стебли и цветки, высушивали до воздушно-сухого состояния. Точную навеску воздушно-сухого растительного материала (1 г) трижды исчерпывающе экстрагировали 80%-м этанолом на водяной бане при 60–70 °С. Извлечения объединяли и измеряли объем, который обычно составлял около 70 мл. Одновременно брали точную навеску (1 г) для определения влажности в образце для пересчета на абсолютно сухую массу (Ермаков и др., 1987).

1 мл водно-этанольного экстракта разбавляли бидистиллированной водой до объема 5 мл и пропускали через концентрирующий патрон Диапак С16 (ЗАО "БиохимМак") для освобождения от примесей гидрофильной природы. Флавонолгликозиды смывали с патрона небольшим количеством 70%-го этанола, агликоны – 96%-го этанола. Элюаты объединяли, измеряли объем, который обычно составлял 5–8 мл, и пропускали через мембранный фильтр с диаметром пор 0.45 мкм.

Анализ ФС изученных сортов выполняли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) на жидкостном хроматографе Agilent 1200 (Agilent Technologies, США) с диодноматричным детектором, автосамплером и программным обеспечением обработки хроматографических данных ChemStation. Условия хроматографирования: колонка Zorbax SB-C18, 4.6 × 150 мм, 5 мкм. Изократическое элюирование в системе метанол – 0.1 % H_3PO_4 (31:69) в течение 27 мин. Да-

лее хроматографировали, применив градиентный режим элюирования. 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.

Количественное определение индивидуальных компонентов в образцах сортов *P. fruticosa* проводили по методу внешнего стандарта как наиболее оптимальному для хроматографического анализа многокомпонентных смесей (van Beek, 2002).

Суммарное содержание ФС оценивали по сумме площадей хроматографических пиков на $\lambda = 360$ 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.

Для определения флавонолгликозидов (гликозидов кверцетина, кемпферола и рамнетина в отдельности) методом ВЭЖХ проводили анализ свободных агликонов – кверцетина, кемпферола и рамнетина, образующихся после кислотного гидролиза соответствующих гликозидов (Юрьев и др., 2003; van Beek, 2002). Для проведения кислотного гидролиза к 0.5 мл водно-этанольного извлечения прибавляли 0.5 мл HCl (2 н) и нагревали на кипящей водяной бане в течение 2 часов. После охлаждения разбавленный экстракт пропускали через концентрирующий патрон, агликоны смывали 96%-м этанолом. Далее хроматографировали, применив градиентный режим 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 коэф-

фициенты для пересчета концентрации агликона на соответствующий гликозид: 2.504 для кверцетина и 2.588 для кемпферола (Юрьев и др., 2003; van Beek, 2002). Пересчет концентрации рамнети-

на на соответствующий гликозид проводили по кверцетину. Содержание флавонолов определяли как сумму флавонолгликозидов и агликонов – кверцетина, кемпферола и рамнетина.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате исследования выявлено, что в водно-этанольных экстрактах из листьев и цветков исследованных сортов содержится не менее 26 соединений (см. таблицу). На основании полученных спектральных данных (УФ- и масс-спектрокопии) и сопоставления времен удерживания пиков веществ на хроматограммах анализируе-

мых образцов с временем удерживания пиков стандартных образцов установлены пять флавонолгликозидов – гиперозид, изокверцитрин, авикулярин, кверцитрин и астрагалин, три агликона – кверцетин, кемпферол и рамнетин, а также эллаговая кислота и ее гликозид. Остальные компоненты (1–4, 10, 13–17, 19–25) пока не идентифицированы,

Содержание фенольных соединений (суммарное и по группам) в листьях и цветках сортов *Pentaphylloides fruticosa* (мг/г от абсолютно сухой массы)

Фенольные соединения	Сорта <i>P. fruticosa</i>					
	“Kobold”		“White moon”		“Tangerine”	
	Листья	Цветки	Листья	Цветки	Листья	Цветки
1	0.22	0.48	0.24	0.32	0.42	0.70
2	0.48	1.59	0.31	0.23	0.66	1.78
3	0.63	0.18	0.21	0.15	0.55	0.73
4	–	–	0.41	0.36	–	–
Гиперозид	1.49	17.12	1.02	1.09	2.11	11.60
Изокверцитрин	0.72	10.85	1.65	3.37	2.62	11.07
Эллаговая кислота	0.80	2.64	2.96	3.02	0.66	2.85
Гликозид эллаговой кислоты	0.62	3.44	1.58	0.25	2.22	2.68
Авикулярин	1.18	1.09	1.15	0.63	2.77	2.10
10	0.45	0.72	0.50	0.20	3.88	1.94
Кверцитрин	0.11	–	0.55	2.63	0.09	0.28
Астрагалин	0.08	0.27	0.11	4.81	0.12	1.49
13	–	–	–	–	0.10	0.74
14	–	0.14	–	–	0.12	–
15	–	–	0.13	0.32	–	–
16	0.09	0.12	–	–	–	–
17	–	–	–	0.25	–	–
Кверцетин	0.14	0.07	–	0.08	0.14	0.22
19	–	–	0.20	0.26	–	–
20	2.77	1.95	0.80	0.46	–	0.78
21	0.43	0.85	0.16	0.83	0.25	0.39
22	1.33	0.92	0.73	0.54	–	0.30
23	–	–	0.35	–	–	–
24	–	–	0.79	0.16	–	–
25	–	0.08	–	–	–	–
Рамнетин	–	–	0.24	0.12	–	–
Суммарное содержание ФС	11.5	42.5	14.1	20.1	16.7	39.7
В том числе:						
Гликозиды:						
кверцетина	3.7	18.8	4.7	6.9	9.9	18.6
кемпферола	0.4	0.6	0.1	4.1	0.4	1.4
рамнетина	3.0	1.7	4.0	1.5	–	0.4
Сумма агликонов	0.14	0.07	0.24	0.20	0.14	0.22
Сумма флавонолов*	7.2	21.3	9.0	12.7	10.5	20.6
Сумма эллаговых дубильных веществ**	1.42	6.07	4.54	3.27	2.88	5.53

Примечание. Прочерк – содержание компонента находится ниже предела обнаружения (0.01 мг/г).

* Сумма флавонолов представляет сумму флавонолгликозидов и свободных агликонов.

** Сумма эллаговых дубильных веществ представляет сумму эллаговой кислоты и ее гликозида.

но в процессе хроматографирования в режиме “*on-line*” были зарегистрированы УФ-спектры некоторых из них. Для неидентифицированных компонентов характерно поглощение в УФ-видимой области спектра, при этом спектр поглощения содержит две полосы, одна из которых находится в низковолновой (250–290 нм) части – полоса I, другая – в более длинноволновой (340–380 нм) – полоса II. На основании этих данных компоненты отнесены к флавоноидным структурам.

Сравнительный анализ хроматограмм водно-этанольных экстрактов из листьев и цветков показал, что максимальное число компонентов обнаружено в экстрактах сорта *P. fruticosa* “White moon” с белыми цветками (21 компонент), причем в цветках на 1 компонент больше, чем в листьях, наименьшее – у сортов *P. fruticosa* “Kobold” и “Tangerine” с желтыми и оранжевыми цветками. Гиперозид, изокверцитрин, авикулярин, астрагалин, кверцитрин, кверцетин, а также эллаговая кислота и ее гликозид свойственны всем образцам вне зависимости от органа растения, за исключением кверцитрина в цветках сорта *P. fruticosa* “Kobold” и кверцетина в листьях сорта *P. fruticosa* “White moon”. Компоненты 1–3, 10, 20–22 присутствуют в листьях и цветках всех исследуемых образцов, за исключением компонентов 20 и 22 в листьях сорта *P. fruticosa* “Tangerine”. Компонент 13 найден только в листьях и цветках сорта *P. fruticosa* “Tangerine”. Компонент 14 отмечен в цветках сорта *P. fruticosa* “Kobold” и листьях сорта *P. fruticosa* “Tangerine”. В листьях и цветках сорта *P. fruticosa* “Kobold” дополнительно обнаружен компонент 16, а в цветках – компонент 25. В цветках сорта *P. fruticosa* “White moon” присутствует компонент 17, в листьях – компонент 23, а также вне зависимости от органа растения выявлены свободный рамнетин и компоненты 4, 15, 19 и 24, что отличает его от других исследованных сортов.

Анализ содержания отдельных компонентов в листьях и цветках всех исследованных сортов также выявил различия в их накоплении в зависимости от сорта и органа растения. Так, в цветках сортов *P. fruticosa* “Kobold” и “Tangerine” преобладают гиперозид (11.60 и 17.12 мг/г соответственно) и изокверцитрин (10.85 и 11.07 мг/г) (см. таблицу). В цветках сорта *P. fruticosa* “White moon” отмечено наибольшее содержание астрагалина, эллаговой кислоты и кверцитрина (4.81, 3.02 и 2.63 мг/г), в листьях *P. fruticosa* “Tangerine” – компонента 10 и авикулярина (3.88 и 2.77 мг/г), в цветках кверцетина (0.22 мг/г). Сорт *P. fruticosa* “Kobold” выделяется по наибольшему накоплению в листьях и цветках компонента 20 (2.77 и 1.95 мг/г). Во всех трех сортах вне зависимости от органа растения компоненты 1–4, 13–17, 19, 21–25 отмечены в минорных количествах.

В результате определения суммарного содержания ФС выявлено, что оно значительно различается в зависимости от сорта и органа растения. Суммарное содержание ФС в цветках сортов в 1.4–3.7 раза выше, чем в листьях. Так, максимальное накопление фенольных соединений отмечено в цветках сортов *P. fruticosa* “Kobold” и “Tangerine” (42.5 и 39.7 мг/г соответственно) при минимальном содержании в листьях (11.5 и 16.7 мг/г). В цветках сорта *P. fruticosa* “White moon” суммарное содержание фенольных соединений в 1.5 раза выше по сравнению с листьями (20.1 и 14.1 мг/г).

По результатам анализа свободных агликонов, образующихся после кислотного гидролиза гликозидов, установлены три агликона – кверцетин, кемпферол и рамнетин. Кверцетин и кемпферол выявлены в листьях и цветках всех исследуемых сортов, рамнетин не обнаружен в листьях сорта “Tangerine”. Соотношение кверцетина : кемпферола : рамнетина в гидролизатах листьев трех сортов “Kobold”, “White moon” и “Tangerine” равно 53 : 5 : 42, 52 : 1 : 47, 96 : 4 : 0; в цветках – 89 : 2 : 9, 56 : 31 : 13, 92 : 6 : 2 соответственно. Интересно отметить, что производные кверцетина в большей мере накапливались в цветках растений по сравнению с листьями, при этом максимум накопления гликозидов кверцетина наблюдался в цветках сорта *P. fruticosa* “Kobold” (18.8 мг/г), минимум – у сорта *P. fruticosa* “White moon” (6.9 мг/г) (см. таблицу). Максимум гликозидов кемпферола отмечен в цветках (4.1 мг/г), а минимум – в листьях *P. fruticosa* “White moon” (0.1 мг/г). Максимум гликозидов рамнетина установлен в листьях сорта *P. fruticosa* “White moon” (4.0 мг/г).

Доля флавонолов в суммарном содержании ФС в листьях и цветках изучаемых сортов составляет от 50 до 64 %. Максимальное содержание флавонолов отмечено в цветках сортов *P. fruticosa* “Kobold” и “Tangerine” (21.3 и 20.6 мг/г соответственно), что в 2–3 раза выше по сравнению с листьями (7.2 и 10.5 мг/г) (см. таблицу). Сумма флавонолов в листьях (9.0 мг/г) и цветках (12.7 мг/г) сорта *P. fruticosa* “White moon” находится практически на одном уровне, при этом в цветках в 2 раза меньше по сравнению с сортами *P. fruticosa* “Kobold” и “Tangerine”.

Суммарное содержание эллаговых дубильных веществ сортов *P. fruticosa* “Kobold” и “Tangerine” в цветках (6.07 и 5.53 мг/г соответственно) в 2–3 раза выше, чем в листьях (1.42 и 2.88 мг/г). В цветках и листьях сорта *P. fruticosa* “White moon” содержание эллаговых дубильных веществ находится практически на одном уровне (4.54 и 3.27 мг/г), что в 2 раза ниже, чем в цветках сортов *P. fruticosa* “Kobold” и “Tangerine”, но в 1.6–3.2 раза выше, чем в листьях тех же сортов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследованы состав и содержание фенольных соединений в листьях и цветках трех сортов *Pentaphylloides fruticosa* при интродукции на юге Амурской области – “Kobold”, “White moon” и “Tangerine”.

Наибольшее число компонентов фенольной природы отмечено у сорта *P. fruticosa* “White moon” с белыми цветками (21), минимальное – у *P. fruticosa* “Kobold” и “Tangerine” с желтыми и оранжевыми цветками (16). Кверцитрин не обнаружен в цветках *P. fruticosa* “Kobold”, кверцетин – в листьях *P. fruticosa* “White moon”, рамнетин – в цветках и листьях *P. fruticosa* “Kobold” и “Tangerine”.

Установлено, что суммарное содержание ФС в цветках исследуемых растений в 1.4–3.7 раза выше,

чем в листьях. По суммарному содержанию ФС в цветках, в том числе флавонолов, выделены сорта с желтыми и оранжевыми цветками – *P. fruticosa* “Kobold” и “Tangerine”.

Выявлены сортовые различия в зависимости от природы агликона: сортам *P. fruticosa* “Kobold” и “Tangerine” свойственны гликозиды кверцетина, сорту *P. fruticosa* “White moon” с белыми цветками – гликозиды кемпферола в цветках и гликозиды рамнетина в листьях.

По максимальному суммарному содержанию эллаговых дубильных веществ в цветках выделены сорта с желтыми и оранжевыми цветками – *P. fruticosa* “Kobold” и “Tangerine”, в листьях – сорт *P. fruticosa* “White moon” с белыми цветками.

ЛИТЕРАТУРА

- Александрова М.С. Курильский чай. М., 2008. 30 с.
- Ганенко Т.В., Верещагин А.Л., Семенов А.А. Химический состав *Potentilla fruticosa*. 3. Флавоноиды и свободные стеринны // Химия природ. соединений. 1991. № 2. С. 285.
- Ганенко Т.В., Луцкий В.И., Ларин М.Ф. и др. Химический состав *Potentilla fruticosa*. 1. Флавоноиды // Химия природ. соединений. 1988. № 3. С. 451.
- Данилова Е.Д., Долотовский И.М., Баширова Р.М., Борисова Н.С. Фитохимическое сравнение интродукционных сортов курильского чая *Pentaphylloides fruticosa* (L.) O. Schwarz в Республике Башкортостан // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2012. № 7. С. 54–55.
- Ермаков А.И., Арасимович В.В., Ярош Н.П. и др. Методы биохимического исследования растений. 3-е изд. Л., 1987. 430 с.
- Сыва С.Я., Храмова Е.П., Дорогина О.В. Пятилистники Горного Алтая. Новосибирск, 2013. 180 с.
- Федосеева Г.М. Фенольные соединения *Potentilla fruticosa* // Химия природ. соединений. 1979. № 4. С. 575–576.
- 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.
- 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.
- Bate-Smith E.C. Chromatography and taxonomy in the *Rosaceae* with special reference to *Potentilla* and *Prunus* // J. Linnean Soc. London. 1961. Botany. V. 58, No. 370. P. 39–54.
- Miliauskas G., van Beek T.A., Venskutonis P.R. et al. Antioxidant activity of *Potentilla fruticosa* // J. Sci. Food Agr. 2004. V. 84. P. 1997–2009.
- Van Beek T.A. Chemical analysis of *Ginkgo biloba* leaves and extracts // J. Chromat. A. 2002. V. 967, No. 1. P. 21–35.