

УДК 582.711.71:577.13

ОСОБЕННОСТИ НАКОПЛЕНИЯ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В РАСТЕНИЯХ *POTENTILLA FRUTICOSA* (ROSACEAE) В ТЕЧЕНИЕ СУТОК

© Е.П. Храмова

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

Исследованы суточные изменения состава и содержания фенольных соединений в надземных органах *Potentilla fruticosa* при интродукции с использованием метода высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Идентифицированы шесть флавонолгликозидов – гиперозид, изокверцитрин, рутин, авикулярин, кверцитрин и астрагалин, два агликона – кверцетин и кемпферол, а также эллаговые соединения – эллаговая кислота и ее гликозид. Состав фенольных соединений надземных органов *P. fruticosa* в течение суток не изменяется. Наибольшее суммарное содержание фенольных соединений в листьях (28–29 мг/г от абсолютно-сухой массы) и стеблях (4–4,5 мг/г) *P. fruticosa* обнаружено в вечернее и ночное время. В цветках, напротив, максимальное содержание фенольных соединений наблюдалось в середине дня (42 мг/г). Уровень варибельности суммарного содержания фенольных соединений оценивался как низкий ($C_V = 10–11\%$). Установлено трехкратное повышение содержания свободных агликонов – кверцетина и кемпферола в листьях с 3 до 6 ч утра на фоне снижения содержания соответствующих флавонолгликозидов в 1,5–2,5 раза. В цветках максимальное накопление гликозидов кверцетина на фоне минимального содержания свободного кверцетина наблюдалось в 12 ч дня. Отмечено преимущественное накопление эллаговых соединений, кверцитрина, компонента 10, гиперозида, изокверцитрина и рутина в листьях в вечернее и ночное время, в цветках – в середине дня. Уровень варибельности содержания большинства отдельных компонентов во всех органах *P. fruticosa* в течение суток оценивался как высокий ($C_V \geq 21\%$). Отмечен факт несовпадения динамики флавонолгликозидов и их агликонов.

Ключевые слова: *Potentilla fruticosa*, Rosaceae, фенольные соединения, суточная динамика.

Введение

Изучение суточного ритма накопления фенольных соединений имеет большое значение как для выяснения метаболической роли этих соединений, так и для установления оптимальных сроков сбора лекарственного сырья. Имеющиеся литературные данные по динамике накопления фенольных соединений в растениях свидетельствуют об их значительных суточных изменениях [1–7]. Авторы этих работ связывают накопление флавоноидных веществ с ходом ассимиляционных процессов в растении, с характером и интенсивностью освещения, экологическими факторами, активностью ферментов.

Лапчатка кустарниковая (*Potentilla fruticosa* L. = *Pentaphylloides fruticosa* (L.) O. Schwarz = *Dasiphora fruticosa* (L.) Rydb.) широко распространена в азиатской части России, Японии, Китае, Монголии, проникает в Северную Америку, изредка встречается в Западной Европе, на Кавказе, Урале [8–11]. Вид давно и повсеместно известен в культуре, успешно интродуцирован [12]. *P. fruticosa* применяется в народной и традиционной медицине, а также в качестве пищевого продукта, характеризуется высокой антиоксидантной, гипогликемической, иммуномодулирующей, антиаллергической, антимикробной, противовирусной и другими типами активности, во многом благодаря наличию фенольных соединений [12–18]. *P. fruticosa* относится к растениям, продуцирующим значительное количество фенольных соединений, в основном флавонолов, содержание которых варьирует от 0,7 до 6,0% [12, 18–20]. Фенольный состав *P. fruticosa* изучен достаточно подробно. Из надземной части растения выделены и идентифицированы 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)

Храмова Елена Петровна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории фитохимии, e-mail: khramova@ngs.ru

и 4 ацилированных флавонолгликозида – кверцетин-6"-О-галлат-3-β-D-галактопиранозид, кемпферол-3-О-β-(6"-О-(Е)-п-кумарил)–глюкопиранозид, тернифлорин и трибулозид, 3 агликона – кверцетин, кемпферол и рамнетин, 2 эллаговых соединения – эллаговая кислота и ее гликозид [17, 20–25]. Использование *P. fruticosa* в качестве лекарственного и пищевого сырья перспективно, что делает актуальным исследование особенностей накопления фенольных соединений этого растения.

Цель работы заключалась в изучении суточной динамики содержания фенольных соединений в надземных органах *Potentilla fruticosa* в условиях выращивания в Новосибирской области.

Экспериментальная часть

Исследования проводили в Центральном сибирском ботаническом саду СО РАН (ЦСБС СО РАН) Новосибирска. Материалом служили образцы *P. fruticosa*, высаженные в 2004 г. в ЦСБС трехлетними саженцами, выращенными на экспериментальном участке Алтайского филиала ЦСБС СО РАН (с. Камлак, Республика Алтай) из семян природной популяции.

Образцы с растений отбирали 9 августа 2008 г. в фазе цветения в малооблачную погоду без осадков со среднесуточной температурой воздуха 21,8 °С и относительной влажностью 61%. Климатические данные 9 августа 2008 г. приведены на рисунке 1.

Для определения содержания фенольных соединений (суммарного содержания, по группам и отдельным компонентам) брали среднюю пробу с 25 особей каждые 3 ч с 0,0 по 24,0 (всего 9 сборов). Годичные облиственные побеги длиной 15–20 см срезали равномерно по поверхности кроны, разделяли на листья, цветки и стебли. Точную навеску свежесобранного растительного материала (0,5 г) заливали 96%-ным этанолом, настаивали 20–30 дней, затем исчерпывающе экстрагировали 70% и 96%-ным этанолом при нагревании на водяной бане при $T = 60\text{--}70\text{ }^{\circ}\text{C}$ [1]. Подробное описание методики пробоподготовки приведено ранее [20, 26].

Анализ фенольных соединений изученных образцов выполняли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) на жидкостном хроматографе Agilent 1100 (Agilent Technologies, США) с УФ-спектрофотометрическим детектором и программным обеспечением обработки хроматографических данных ChemStation. Разделение проводили на колонке Hypersil ODS размером 125×2,0 мм с октадецилсиликагелем (C18) с диаметром частиц 3,5 мкм. Изократическое элюирование в системе метанол – 0,1% H_3PO_4 (31 : 69) в течение 27 мин. Далее 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 – 0,25 мл/мин. Температура колонки – 26 °С. Объем вводимой пробы – 5 мкл. Детектирование осуществляли при λ 360 нм.

Для приготовления стандартных образцов использовали кверцетин и кемпферол (Sigma), рутин, гиперозид, авикулярин и кверцитрин (Fluka). Стандартные растворы готовили в концентрации 10 мкг/мл в метиловом спирте. Объем вводимой пробы – 5 мкл.

Количественное определение индивидуальных компонентов в образцах *P. fruticosa* проводили по методу внешнего стандарта как наиболее оптимальному для хроматографического анализа многокомпонентных смесей.

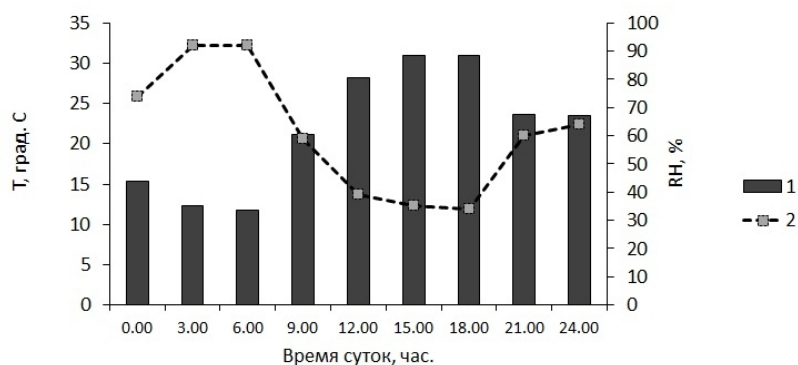


Рис. 1. Климатические данные 9 августа 2008 г. в г. Новосибирске. 1 – температура воздуха, °С (T), 2 – относительная влажность, % (RH).

Суммарное содержание фенольных соединений 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 и кемпферола в отдельности) методом ВЭЖХ проводили анализ агликонов – кверцетина и кемпферола, образующихся после кислотного гидролиза соответствующих гликозидов [27–28]. 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 и кемпферола) в образцах рассчитывали по содержанию агликонов, образующихся после кислотного гидролиза, применяя известные из литературных данных коэффициенты для пересчета концентрации агликона на соответствующий гликозид: 2,504 для кверцетина и 2,588 для кемпферола [27–28]. Содержание флавонолов определяли как сумму флавонолгликозидов и свободных агликонов – кверцетина и кемпферола.

Результаты и их обсуждение

В результате исследования водно-этанольных экстрактов из листьев, цветков и стеблей *P. fruticosa* установлено не менее 20 соединений (рис. 2). На основании полученных спектральных данных (УФ- и масс-спектропии) и сопоставления времен удерживания пиков веществ на хроматограммах анализируемых образцов с временем удерживания пиков стандартных образцов установлены шесть флавонолгликозидов – гиперозид, изокверцитрин, рутин, авикулярин, кверцитрин, астрагалин, два агликона – кверцетин и кемпферол, а также эллаговая кислота и ее гликозид [20]. Остальные компоненты (1–3, 10, 13, 16, 17, 19, 20) пока не идентифицированы, но в процессе хроматографирования в режиме online 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) области – полоса II, другая – в более длинноволновой (340–380 нм) – полоса I. На основании этих данных все компоненты отнесены к флавоноидным структурам. Сравнительный анализ хроматограмм экстрактов листьев, цветков и стеблей показал идентичность основного фенольного состава (рис. 2). В цветках, в отличие от листьев и стеблей, дополнительно отмечены компоненты 19 и 20. Установлено, что в течение суток качественный состав надземных органов не изменялся.

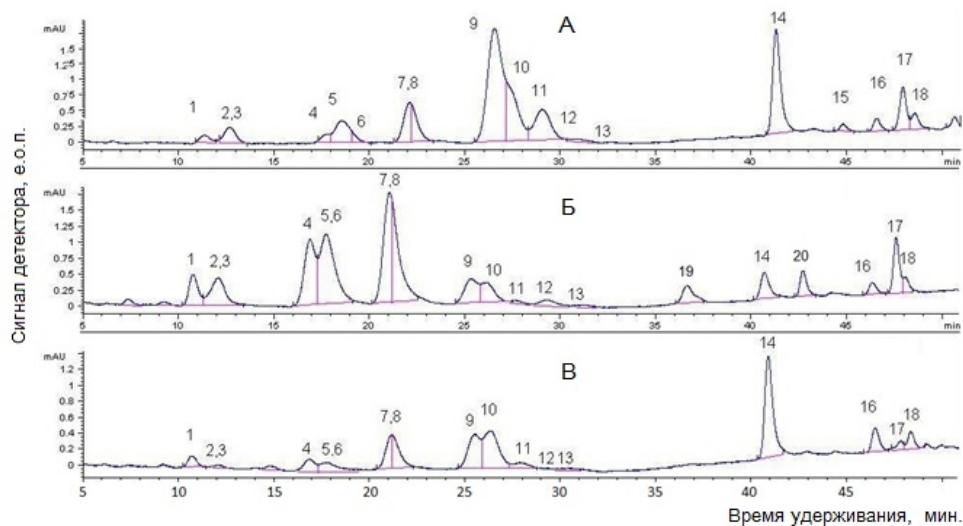


Рис. 2. Хроматограммы водно-этанольных экстрактов листьев (А), цветков (Б) и стеблей (В) *Potentilla fruticosa* в 9-00 утра. 4 – гиперозид ($t_R = 17,25$ мин), 5, 6 – изокверцитрин+рутин ($t_R = 18,50$ мин), 7 – эллаговая кислота ($t_R = 20,93$ мин), 8 – гликозид эллаговой кислоты ($t_R = 22,13$ мин), 9 – авикулярин ($t_R = 26,74$ мин), 11 – кверцитрин ($t_R = 29,40$ мин), 12 – астрагалин ($t_R = 31,42$ мин), 14 – кверцетин ($t_R = 41,85$ мин), 18 – кемпферол ($t_R = 49,60$ мин), 1–3, 10, 13, 16, 17 – флавоноидные компоненты. По горизонтали – время удерживания, мин.; по вертикали – сигнал детектора, е.о.п.

В листьях отмечалось снижение суммарного содержания фенольных соединений с 0 до 12 ч при небольшом повышении в 9 ч, затем их содержание увеличивалось и достигало максимума (29 мг/г абсолютно-сухой массы) в 21 ч, после чего следовал спад до 24 мг/г (рис. 3).

В цветках динамика накопления фенольных соединений в периоды с 0 до 9 ч и с 15 до 24 ч в основном аналогична таковой в листьях. Однако в интервале с 9 до 15 ч кривые накопления для цветков имели прямо противоположный характер по сравнению с листьями: максимальное содержание (42 мг/г) в цветках наблюдалось в 12 часов при минимальном значении в листьях (21 мг/г) в это же время.

В стеблях суммарное содержание фенольных соединений изменялось следующим образом: отмечено 3 максимума (4 мг/г) в 3, 18 и 24 ч и 2 минимума (3 мг/г) – в 6 и 21 ч.

В целом колебания в содержании фенольных соединений *P. fruticosa* выражены незначительно. Уровень варибельности содержания фенольных соединений в течение суток оценивался как низкий для листьев и цветков ($C_V = 10\text{--}11\%$) и средний для стеблей ($C_V = 15\%$) согласно шкале уровней изменчивости, предложенной С.А. Мамаевым [29].

Максимум свободных агликонов (кверцетина и кемпферола) в листьях отмечен в 6 утра (3,1 мг/г и 0,4 мг/г соответственно), минимум – в 12 ч (1,0 и 0,1 мг/г). Затем в 15 ч наблюдалось небольшое повышение кверцетина до 1,7 мг/г и кемпферола до 0,2 мг/г с последующим спадом в 18 ч и небольшим подъемом до конца суток кверцетина до 2,0 мг/г (рис. 4).

Установлен факт несовпадения динамики накопления агликонов и их гликозидов в листьях и цветках. Максимум гликозидов кверцетина (20,8 мг/г) в листьях отмечен в 3 ч ночи на фоне минимума свободного кверцетина (1,0 мг/г). Затем в 6 ч утра наблюдался подъем в накоплении кверцетина до максимального значения (3,1 мг/г), при этом содержание его гликозидов снижалось до 16,1 мг/г. Далее концентрация гликозидов кверцетина несколько возрастала, после чего снова снижалась до минимального значения в 12 ч дня (13,6 мг/г). К концу суток содержание свободного кверцетина и его гликозидов возрастало. В накоплении кемпферола и его гликозидов отмечалась сходная тенденция. Минимум гликозидированного кемпферола (0,3 мг/г) установлен с 6 до 9 утра при максимуме свободного кемпферола в 6 ч (0,4 мг/г). Затем в накоплении кемпферола следовал спад к 12 ч на фоне подъема его гликозидов до 0,5 мг/г.

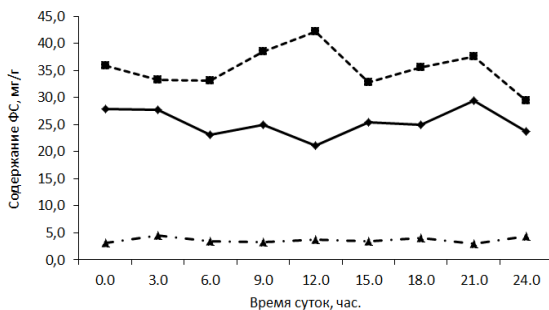


Рис. 3. Суточная динамика суммарного содержания фенольных соединений в надземных органах *Potentilla fruticosa*.

1 – листья, 2 – цветки, 3 – стебли.

По горизонтали – время суток, час; по вертикали – содержание фенольных соединений, мг/г абсолютно-сухой массы

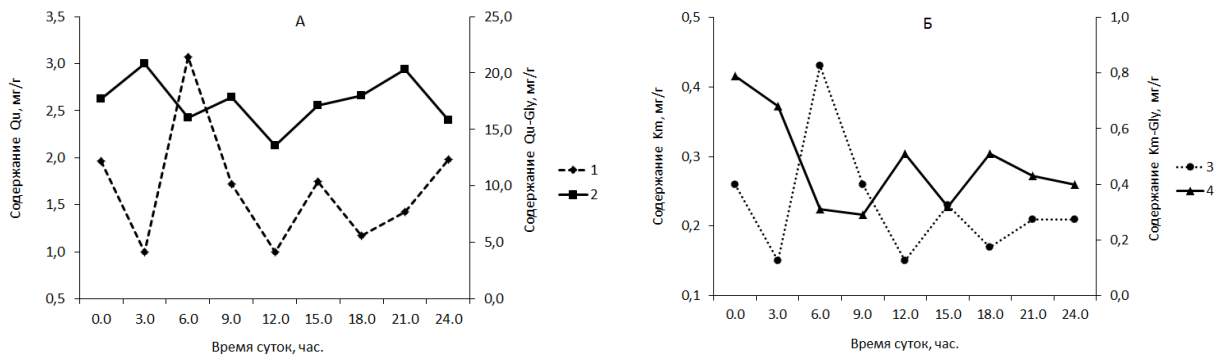


Рис. 4. Суточная динамика агликонов и их гликозидов в листьях *Potentilla fruticosa*. А – кверцетин (1) и гликозиды кверцетина (2); Б – кемпферол (3), гликозиды кемпферола (4). По горизонтали – время суток, час.; по вертикали – содержание агликонов, мг/г; по дополнительной вертикали – содержание флавонолгликозидов, мг/г

Возможно, снижение содержания флавонолгликозидов на фоне значительного повышения свободных агликонов в интервале с 3 до 9 ч и в конце суток указывает на то, что образование флавоноидов тесно связано с фотосинтезом. Известно, что в условиях полной этиоляции подавляется синтез флавонолгликозидов в хлоропластах [30]. Снабжение начального пункта синтеза флавоноидов происходит за счет первичных продуктов фотосинтеза – сахаров. По мере исчерпания легкодоступных сахаров и ассимиляционного крахмала в обмен вовлекаются более труднооблизуемые фенольные соединения [31]. В данном случае ими могут являться флавонолгликозиды, при расщеплении которых образуются агликоны и сахара, что находит подтверждение в литературе. Так, М.Н. Запрометов [31] отмечает, что фенольные соединения способны выступать в роли специфического запасного энергетического материала.

В интервале с 12 до 15 ч уровень агликонов и их гликозидов в листьях растений повышается. Полученные результаты поддерживают точку зрения об экофизиологической роли флавоноидов в экссудате для защиты растений от вредного воздействия УФ-облучения, поскольку известно, что основным индуктором повышения секреции флавоноидов является УФ-облучение, синергически дополненное высокими температурами на фоне пониженной влажности [32].

В цветках максимальное накопление кверцетина (0,7 мг/г) наблюдалось в 3 ч, после чего следовал резкий спад до минимума (0,1 мг/г) в 6 утра, затем концентрация кверцетина вновь возрастала к 9 ч утра до 0,6 мг/г, снижаясь к 12 часам и незначительно повышаясь к концу суток (рис. 5). В отличие от накопления кверцетина максимумы содержания его гликозидов отмечены в 12 ч (25,2 мг/г), а минимумы – в 6 и 21 ч (21,3–22,2 мг/г). Кривые накопления кемпферола и его гликозидов в цветках имели сходный вид с таковыми у листьев. В цветках также отмечен факт несовпадения динамики накопления кемпферола и его гликозидов. Так, если содержание кемпферола в цветках возрастало в 9 и 24 ч, то в это же время накопление его гликозидов снижалось.

Обращает на себя внимание сдвиг во времени в накоплении кверцетина и его гликозидов в цветках: в начале суток резкое снижение кверцетина на фоне повышения его гликозидов отмечено на 3 ч позже, чем в листьях и стеблях.

Динамика накопления агликонов и их гликозидов в стеблях имеет сходный характер с таковой в листьях. Максимумы гликозидов кверцетина (3,0 и 2,8 мг/г) отмечены в 3 ч ночи и в конце суток, агликонов (0,5 мг/г) – в 6, 12 и 24 ч. Наибольшее содержание гликозидов кемпферола в стеблях растений наблюдалось в 0, 12 и 18 ч (0,6, 0,3 и 0,3 мг/г соответственно), свободного кемпферола – в 6 и 12 ч (0,6 и 0,7 мг/г).

При общем взгляде на суточную динамику накопления отдельных компонентов фенольной природы в листьях отмечено, что в ранние утренние часы (6 ч) наблюдалось снижение содержания компонентов 3, 10, суммы изокверцитрина и рутина, авикулярина, кверцитрина, гиперозида, астрагалина, эллаговой кислоты и ее гликозида (рис. 6).

Затем в зависимости от структуры компонента содержание либо постепенно возрастало к 9–12 утра, как в случае с авикулярином, кверцитрином, астрагалином, компонентом 3, кемпферолом, изокверцитрином и рутином, либо уменьшалось, достигая минимума к 12 ч, как для гиперозида и компонента 10. Во второй половине дня наблюдался подъем в накоплении компонентов к 18–21 ч и спад к концу суток, за исключением авикулярина, содержание которого изменялось незначительно с 15 до 24 ч. Максимум изокверцитрина и рутина, гиперозида, компонента 3, эллаговой кислоты и ее гликозида приходится на 21 ч, авикулярина, астрагалина – на 9 ч утра, компонента 10 – на 15 ч.

В цветках *P. fruticosa* колебания в накоплении отдельных компонентов менее заметны, чем в листьях (рис. 7).

В отличие от листьев для большинства компонентов характерно снижение концентрации отдельных компонентов в начале суток к 3 часам, при этом колебания наиболее заметны у эллаговой кислоты, авикулярина, кверцитрина, астрагалина и незначительны у изокверцитрина и рутина, гликозида эллаговой кислоты и компонента 10. Далее в течение суток кривые накопления отдельных компонентов отличались. Так, эллаговой кислоте, изокверцитрину и рутину свойственны максимумы накопления к 12 ч и резкий спад в 15 ч. Напротив, астрагалин и компонент 10 максимально накапливались в 15 ч. Содержание авикулярина повышалось в 0, 6, 15 и 21 ч, а кверцитрина – в 0 и 9 ч. Иная тенденция отмечена в накоплении компонента 3 и гиперозида. В отличие от остальных компонентов динамика накопления компонента 3 в цветках аналогична таковой в листьях: максимумы наблюдались в 3, 12 и 21 ч, минимумы – в 6 и 15 ч. Гиперозид в цветках в наибольших количествах накапливался в 3, 9 и 21 ч, в наименьших – в 6, 15 и 24 ч.

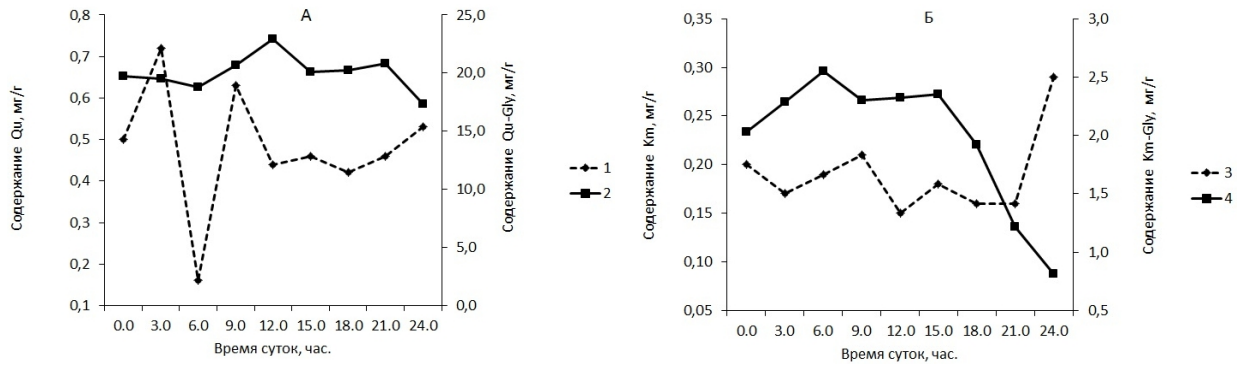


Рис. 5. Суточная динамика накопления агликонов и их гликозидов в цветках *Potentilla fruticosa*. А – кверцетин (1) и гликозиды кверцетина (2); Б – кемпферол (3) и гликозиды кемпферола (4). По горизонтали – время суток, час; по вертикали – содержание агликонов, мг/г; по дополнительной вертикали – содержание флавонолгликозидов, мг/г

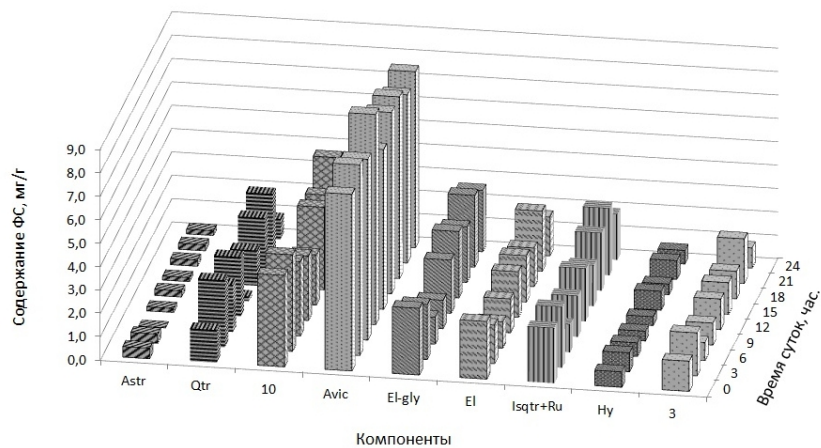


Рис. 6. Суточная динамика фенольных компонентов в листьях *Potentilla fruticosa*. Ну – гиперозид, Isqtr+Ru – сумма изокверцитрина и рутина, El – эллаговая кислота, El-gly – гликозид эллаговой кислоты, Avic – авикулярин, Qtr – кверцитрин, Astr – астрагалин, 3, 10 – компоненты флавоноидной природы. По основной горизонтальной оси – время суток, час; по вертикали – содержание компонентов, мг/г; по оси Z – компоненты

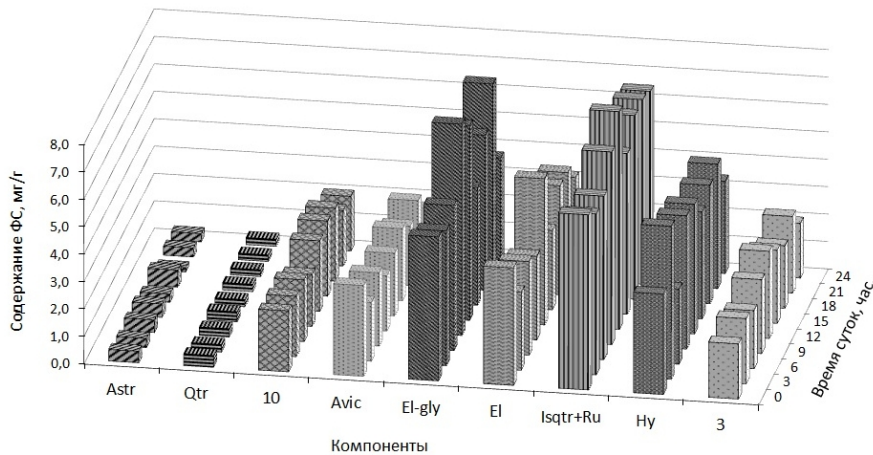


Рис. 7. Суточная динамика фенольных компонентов в цветках *Potentilla fruticosa*. Isqtr+Ru – сумма изокверцитрина и рутина, Ну – гиперозид, Qtr – кверцитрин, Avic – авикулярин, Astr – астрагалин, El – эллаговая кислота, El-gly – гликозид эллаговой кислоты, 3, 10 – компоненты флавоноидной природы. По основной горизонтальной оси – время суток, час; по вертикали – содержание компонентов, мг/г; по оси Z – компоненты

В стеблях *P. fruticosa* более заметны колебания в накоплении компонентов 3 и 10, изокверцитрина и рутина в сумме, эллаговой кислоты и ее гликозида.

В целом, накопление компонентов в стеблях зачастую подобно таковому в листьях. Так, содержание большинства компонентов повышалось к 3 ч, за исключением компонента 13, авикулярина и эллаговой кислоты.

Минимум авикулярина отмечен в 6 ч утра, затем следует подъем в 9 утра и снова снижение с незначительным возрастанием в 18 ч. В динамике накопления гиперозида наблюдалось повышение к 6 утра, после чего следовал спад к 9 ч и подъем в 18 ч. Кривые накопления эллаговой кислоты и ее гликозида в стеблях носят противоположный характер.

Уровень варибельности содержания большинства отдельных компонентов во всех органах *P. fruticosa* в течение суток оценивался как высокий ($C_V \geq 21\%$). Исключение составили авикулярин и компонент 10 в листьях, а также компоненты 3, 10, изокверцитрин и рутин, авикулярин в цветках, которые имели низкую или среднюю изменчивость ($C_V = 8-20\%$) (рис. 8).

Колебания в накоплении фенольных соединений в надземных органах *P. fruticosa* в течение суток, возможно, связаны с выполнением ими различных функций в растении – запасного энергетического материала в темное время суток и защиты от вредного воздействия УФ-облучения в дневное время. Растительное сырье *P. fruticosa* с повышенным суммарным содержанием фенольных соединений рекомендуется заготавливать во вторую половину дня.

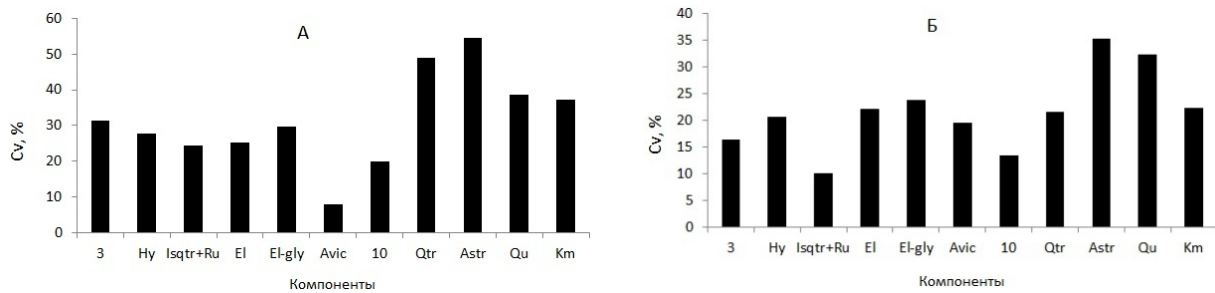


Рис. 8. Коэффициенты вариации (C_V , %) биохимических показателей в листьях (А) и цветках (Б) *Potentilla fruticosa*. По горизонтали – фенольные соединения; по вертикали – C_V , %.

Заключение

В результате проведенного исследования надземных органов *P. fruticosa* установлено:

- 1) фенольный состав идентичен вне зависимости от времени суток и органа растения;
- 2) наибольшее суммарное содержание фенольных соединений в листьях (28–29 мг/г) и стеблях (4–4,5 мг/г) *P. fruticosa* обнаружено в вечернее и ночное время, в цветках, напротив, максимальное содержание фенольных соединений наблюдалось в середине дня (42 мг/г);
- 3) трехкратное повышение содержания свободных агликонов – кверцетина и кемпферола в листьях с 3 до 6 часов утра на фоне снижения содержания соответствующих флавонолгликозидов в 1,5–2,5 раза;
- 4) в листьях преимущественное накопление эллаговых соединений, кверцитрина, компонента 10, гиперозида, изокверцитрина и рутина в вечернее и ночное время, в цветках – в середине дня;
- 5) уровень варибельности содержания большинства отдельных компонентов во всех органах *P. fruticosa* в течение суток оценивался как высокий, за исключением авикулярина и компонента 10 в листьях и цветках, а также компонента 3, изокверцитрина и рутина в цветках, которые имели низкую или среднюю изменчивость.

Список литературы

1. Минаева В.Г. Флавоноиды в онтогенезе растений и их практическое использование. Новосибирск, 1978. 253 с.
2. Дурмишидзе С.В., Шалашвили А.Г., Мжаванадзе В.В., Циклаури Г.Ч. Флавоноиды и оксикоричные кислоты некоторых представителей дикорастущей флоры Грузии. Тбилиси, 1981. 197 с.
3. Киселёв В.Е., Коваленко В.И., Минаева В.Г., Киселёва А.В., Волхонская Т.А., Жанаева Т.А., Лаптев А.В. Гречиха как источник флавоноидов. Новосибирск, 1985. 96 с.
4. Коротаева М.С. Фармакогностическое изучение четырех видов рода *Ledum* L.: автореф. дис. ... канд. фарм. наук. Ярославль, 2006. 20 с.

5. Живетьев М.А., Рудиковская Е.Г., Дударева Л.В., Граскова И.А., Войников В.К. Влияние сезонного понижения суточных температур на суточную адаптацию и динамику биологически активных веществ в листьях лекарственных растений // Известия Иркутского гос. ун-та. Серия «Биология. Экология». 2013. Т. 6. №3 (1). С. 3–8.
6. Zhivetiev M.A., Rudicovskaja E.G., Dudareva L.V., Graskova I.A., Voinikov V.K. Diurnal Influence on Phenol Compound Dynamic into Leaves of Medicinal Plants // Journal of Stress Physiology & Biochemistry. 2014. Vol. 10. N4. Pp. 51–55.
7. Аббасова Т.Ю., Новрузов Э.Н. Суточная динамика накопления флавоноидов в листьях и цветках *Crataegus caucasica* С. Koch. // Амеа-нин хәбәрләри (biologiya və tibb elmləri). 2015. Cild 70. №1. Səh. 21–27. (Азербайджан).
8. Горчаковский П.Л. О распространении и условиях произрастания дазифоры кустарниковой (*Dasiphora fruticosa* (L.) Rydb.) в связи с реликтовой природой и уральских местонахождений // Зап. Свердл. отд-ние Всесоюз. Бот. общ-ва. 1966. Вып. 1. С. 3–22.
9. Соколов С.Я., Связева О.А., Кубли В.А. Род *Dasiphora* Raf. – Курильский чай. Ареалы деревьев и кустарников СССР. Л., 1980. Т. 2. С. 85–86.
10. Курбатский В.И. Род *Pentaphylloides* Duhamel – Пятилистник. Флора Сибири. Новосибирск, 1988. Т. 8. С. 36–38.
11. Камелин Р.В. Род Лапчатка – *Potentilla* L. Флора Восточной Европы. СПб., 2001. Т. 10. С. 394–452.
12. Триль В.М., Стальная М.И., Иващенко Т.А. Курильский чай в природе и культуре (перспективы его использования). Майкоп, 2008. 264 с.
13. Горячкина Е.Г. Фармакогностическое исследование некоторых представителей рода лапчатка, произрастающих на территории Восточной Сибири: автореф. дис. ... канд. фарм. наук. Уфа, 1994. 15 с.
14. Арьяева М.М., Ажунова Т.А., Николаев С.М., Асеева Т.А., Асеева Е.Е., Лесиовская Е.Е., Николаева И.Г. Влияние экстракта из побегов *Pentaphylloides fruticosa* (L.) O. Schwarz на течение экспериментального сахарного диабета // Растительные ресурсы. 1999. Т. 35, вып. 1. С. 91–97.
15. Евстропов А.Н., Бутова Л.Г., Грек О.Р., Захарова Л.Н., Волхонская Т.А. Применение полифенольного комплекса, экстрагированного из пятилистника кустарникового (*Pentaphylloides fruticosa* (L.) O. Schwarz), для профилактики Коксаки-вирусной инфекции // Бюллетень сибирской медицины. 2002. №4. С. 27–31.
16. Николаева И.Г. Разработка и стандартизация средств растительного происхождения, обладающих адаптогенной активностью: автореф. дис. ... докт. фарм. н. Улан-Удэ, 2012. 47 с.
17. Miliuskas G., van Beek T.A., Venskutonis P.R., Linsen 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.
18. Tomczyk M., Pleszczyńska 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.
19. Николаева И.Г., Хобракова В.Б., Арьяева М.М. Пятилистник кустарниковый (Курильский чай кустарниковый). Улан-Удэ, 2001. 110 с.
20. Храмова Е.П. Род *Pentaphylloides* Hill (Rosaceae) Азиатской России (фенольные соединения, элементный состав в природе и культуре, хемотаксономия): дис. ... докт. биол. наук. Новосибирск, 2016. 437 с.
21. Федосеева Г.М. Фенольные соединения *Potentilla fruticosa* // Химия природных соединений. 1979. №4. С. 575–576.
22. 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.
23. 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.
24. 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.
25. Bate-Smith, E.C. Chromatography and taxonomy in the Rosaceae with special reference to *Potentilla* and *Prunus* // J. Linnean Soc. London. Botany. 1961. Vol. 58(370). Pp. 39–54.
26. Храмова Е.П., Комаревцева Е.К. Изменчивость флавоноидного состава листьев *Potentilla fruticosa* (Rosaceae) разных возрастных состояний в условиях Горного Алтая // Растительные ресурсы. 2008. Т. 44, вып. 3. С. 96–102.
27. Юрьев Д.В., Эллер К.И., Арзамасцев А.П. Анализ флавонолгликозидов в препаратах и БАД на основе экстракта *Gingo biloba* // Фармация. 2003. №2. С. 7–9.
28. Van Beek T.A. Chemical analysis of *Gingo biloba* leaves and extracts // J. of Chromatography A. 2002. Vol. 967. Pp. 21–35.
29. Мамаев С.А. Основные принципы методики исследования внутривидовой изменчивости древесных растений // Труды УНЦ АН СССР: Индивидуальная эколого-географическая изменчивость растений. Свердловск, 1975. Вып. 94. С. 9–14.
30. Сарапуу Л.П., Кефели В.И. Фенольные соединения и рост растений // Фенольные соединения и их биологические функции. М., 1968. С. 129.
31. Запрометов М.Н. Основы биохимии фенольных соединений. М., 1974. 214 с.
32. Chaves N., Escuredo J.C., Gutierrez-Merino C. Role of Ecological Variables in the Seasonal Variation of Flavonoid Content of *Cistus ladanifer* Exudate // Journal of Chemical Ecology. 1997. Vol. 23. N3. Pp. 579–603.

Поступило в редакцию 9 марта 2017 г.

После переработки 31 марта 2017 г.

Khramova E.P. FEATURES ACCUMULATION OF PHENOLIC COMPOUNDS OF *POTENTILLA FRUTICOSA* (ROSACEAE) DURING THE DAY

Central Siberian Botanical Garden, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, ul. Zolotodolinskaya, 101, Novosibirsk, 630090 (Russia), e-mail: khramova@ngs.ru

Daily changes in the composition and content of phenolic compounds in the aerial parts *Potentilla fruticosa* L., growing in culture of the Novosibirsk Region, using the method of high performance liquid chromatography (HPLC) was investigated. Six glycosides of flavonol (hyperoside, isoquercitrin, rutin, avicularin, quercitrin and astragalol), two aglycones (quercetin and kaempferol) and tannins (ellagic acid and its glycoside) were identified. Established that phenolic composition of *P. fruticosa* is the time of day remains constant. The highest total content of phenolic compounds in the leaves (28–29 mg/g of absolutely dry solid matter) and stems (4–4,5 mg/g) of *P. fruticosa* found in the evening and at night. In the flowers, in contrast, the maximum content of phenolic compounds was observed in the middle of the day (42 mg/g). The level of variability of the total content of phenolic compounds was evaluated as the lowest for leaves and flowers ($C_V = 10–11\%$). It was found a threefold increase in free aglycones - quercetin and kaempferol in the leaves with 3 to 6 o'clock in the morning on the background of reduction of the relevant glycosides in 1,5–2,5 times. Maximum accumulation of glycosides of quercetin and minimum content of free quercetin in flowers was observed at 12 o'clock. It is shown predominant accumulation of ellagic compounds quercitrin, component 10, hyperoside, isoquercitrin and rutin in the leaves in the evening and at night, in the flowers – in the middle of the day. The level of variability content of most of the individual components in the above-ground organs of *P. fruticosa* during the day was estimated as high ($C_V \geq 21\%$).

Keywords: *Potentilla fruticosa*, Rosaceae, phenolic compounds, daily dynamics.

References

1. Minaeva V.G. *Flavonoidy v ontogeneze rastenii i ikh prakticheskoe ispol'zovanie*. [Flavonoids in plant ontogeny and their practical use]. Novosibirsk, 1978, 253 p. (in Russ.).
2. Durmishidze S.V., Shalashvili A.G., Mzhavanadze V.V., Tsiklauri G.Ch. *Flavonoidy i oksikorichnye kisloty nekotorykh predstavitelei dikorastushchei flory Gruzii*. [Flavonoids and oxycoric acids of some representatives of the wild flora of Georgia]. Tbilisi, 1981, 197 p. (in Russ.).
3. Kiselev V.E., Kovalenko V.I., Minaeva V.G., Kiseleva A.V., Volkhonskaia T.A., Zhanaeva T.A., Laptev A.V. *Grechikha kak istochnik flavonoidov*. [Buckwheat as a source of flavonoids]. Novosibirsk, 1985, 96 p. (in Russ.).
4. Korotaeva M.S. *Farmakognosticheskoe izuchenie chetyrekh vidov roda Ledum L.: avtoref. dis. ... kand. farm. nauk*. [Pharmacognostic study of four species of the genus *Ledum* L.: avtoref. dis. ... cand. farm. science]. Iaroslavl', 2006, 20 p. (in Russ.).
5. Zhivet'ev M.A., Rudikovskaia E.G., Dudareva L.V., Graskova I.A., Voinikov V.K. *Izvestiia Irkutskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya «Biologiya. Ekologiya»*, 2013, vol. 6, no. 3 (1), pp. 3–8. (in Russ.).
6. Zhivet'ev M.A., Rudicovskaja E.G., Dudareva L.V., Graskova I.A., Voinikov V.K. *Journal of Stress Physiology & Biochemistry*, 2014, vol. 10, no. 4, pp. 51–55.
7. Abbasova T.Iu., Novruzov E.N. *Amea-nun xəbərləri (biologiya və tibb elmləri)*, 2015, vol. 70, no. 1, pp. 21–27. (in Azer.).
8. Gorchakovskii P.L. *Zap. Sverdl. otd-nie Vsesoiuzn. Bot. obshch-va*, 1966, no. 1, pp. 3–22. (in Russ.).
9. Sokolov S.Ia., Sviazeva O.A., Kubli V.A. *Rod Dasiphora Raf. – Kuril'skii chai. Arealy derev'ev i kustarnikov SSSR*. [The genus *Dasiphora* Raf. – Kuril tea. Areas of trees and shrubs of the USSR]. Leningrad, 1980, vol. 2, pp. 85–86. (in Russ.).
10. Kurbatskii V.I. *Rod Pentaphylloides Duhamel – Piatilistnik. Flora Sibiri*. [Family Pentaphylloides Duhamel - Pentacost. Flora of Siberia]. Novosibirsk, 1988. vol. 8, pp. 36–38. (in Russ.).
11. Kamelin R.V. *Rod Lapchatka – Potentilla L. Flora Vostochnoi Evropy*. [Rod Lapchatka - Potentilla L. Flora of Eastern Europe]. St. Petersburg, 2001, vol. 10, pp. 394–452. (in Russ.).
12. Tril' V.M., Stal'naia M.I., Ivashchenko T.A. *Kuril'skii chai v prirode i kul'ture (perspektivy ego ispol'zovaniia)*. [Kuril tea in nature and culture (prospects of its use)]. Maikop, 2008, 264 p. (in Russ.).
13. Goriachkina E.G. *Farmakognosticheskoe issledovanie nekotorykh predstavitelei roda lapchatka, proizrastaiushchikh na territorii Vostochnoi Sibiri: avtoref. dis. ...kand. farm. nauk*. [Pharmacognosy study of some representatives of the genus of the cattail, growing on the territory of Eastern Siberia: author's abstract. dis. ... cand. farm. science]. Ufa, 1994, 15 p. (in Russ.).
14. Ar'iaeva M.M., Azhunova T.A., Nikolaev S.M., Aseeva T.A., Aseeva E.E., Lesiovskaja E.E., Nikolaeva I.G. *Rastitel'nye resursy*, 1999, vol. 35, no. 1, pp. 91–97. (in Russ.).
15. Evstropov A.N., Burova L.G., Grek O.R., Zakharova L.N., Volkhonskaia T.A. *Biulleten' sibirskoi meditsiny*, 2002, no. 4, pp. 27–31. (in Russ.).
16. Nikolaeva I.G. *Razrabotka i standartizatsiia sredstv rastitel'nogo proiskhozhdeniia, obladaiushchikh adaptogennoi aktivnost'iu: avtoref. dis. ... dokt. farm. n.* [Development and standardization of herbal products with adaptogenic activity: author's abstract. dis. ... doct. farm. science]. Ulan-Ude, 2012, 47 p. (in Russ.).
17. Miliuskas 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.
18. Tomczyk M., Pleszczyńska M., Wiater A. *Molecules*, 2010, vol. 15, pp. 4639–4651.
19. Nikolaeva I.G., Khobrakova V.B., Ar'iaeva M.M. *Piatilistnik kustarnikoyi (Kuril'skii chai kustarnikoyi)*. [Five-leafed shrub (Kuril tea shrub)]. Ulan-Ude, 2001, 110 p. (in Russ.).

20. Khramova E.P. *Rod Pentaphylloides Hill (Rosaceae) Aziatskoi Rossii (fenol'nye soedineniia, elementnyi sostav v prirode i kul'ture, khemotaksonomiia): dis. ...dokt. biol. nauk.* [Genus Pentaphylloides Hill (Rosaceae) of Asian Russia (phenolic compounds, elemental composition in nature and culture, chemotaxonomy): dis. ... doct. biol. science]. Novosibirsk, 2016, 437 p. (in Russ.).
21. Fedoseeva G.M. *Khimiia prirodnikh soedinenii*, 1979, no. 4, pp. 575–576. (in Russ.).
22. Ganenko T.V., Vereshchagin A.L., Semenov A.A. *Khimiia prirodnikh soedinenii*, 1991, no. 2, p. 285. (in Russ.).
23. Ganenko T.V., Lutskii V.I., Larin M.F., Vereshchagin A.L., Semenov A.A. *Khimiia prirodnikh soedinenii*, 1988, no. 3, p. 451. (in Russ.).
24. Shkel' N.M., Khramova E.P., Kuzakov E.V., Volkhonskaia T.A., Tril' V.M. *Khimiia v interesakh ustoichivogo razvitiia*, 1997, vol. 5, no. 1, pp. 123–127. (in Russ.).
25. Bate-Smith, E.C. *J. Linnean Soc. London. Botany.*, 1961, vol. 58(370), pp. 39–54.
26. Khramova E.P., Komarevtseva E.K. *Rastitel'nye resursy*, 2008, vol. 44, no. 3, pp. 96–102. (in Russ.).
27. Iur'ev D.V., Eller K.I., Arzamastsev A.P. *Farmatsiia*, 2003, no. 2, pp. 7–9. (in Russ.).
28. Van Beek T.A. *J. of Chromatography A*, 2002, vol. 967, pp. 21–35.
29. Mamaev S.A. *Trudy UNTs AN SSSR: Individual'naiia ekologo-geograficheskaiia izmenchivost' rastenii.* [Proceedings of the UC of the USSR Academy of Sciences: Individual ecological and geographical variability of plants]. Sverdlovsk, 1975, no. 94, pp. 9–14. (in Russ.).
30. Sarapuu L.P., Kefeli V.I. *Fenol'nye soedineniia i ikh biologicheskie funktsii.* [Phenolic compounds and their biological functions]. Moscow, 1968, p. 129. (in Russ.).
31. Zaprometov M.N. *Osnovy biokhimii fenol'nykh soedinenii.* [Fundamentals of biochemistry of phenolic compounds]. Moscow, 1974, 214 p. (in Russ.).
32. Chaves N., Escuredo J.C., Gutierrez-Merino C. *Journal of Chemical Ecology*, 1997, vol. 23, no. 3, pp. 579–603.

Received March 9, 2017

Revised March 31, 2017