

## Эллаготаннины в растениях семейства Rosaceae из флоры республики Саха (Якутия)

© Кашенко<sup>1</sup> Нина Игоревна, Чирикова Надежда Константиновна<sup>2</sup>  
и Оленников<sup>1,2,\*+</sup> Даниил Николаевич

<sup>1</sup> Лаборатория медико-биологических исследований. Отдел биологически активных веществ. Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт общей и экспериментальной биологии. Сибирское отделение РАН. Ул. Сахьяновой, 6. г. Улан-Удэ, 670047. Россия.

Тел.: (3012) 43-47-43. E-mail: [olennikovdn@mail.ru](mailto:olennikovdn@mail.ru). Факс: +7 (3012) 43-47-43

<sup>2</sup> Кафедра биохимии и биотехнологии. Институт естественных наук. Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова. Ул. Белинского, 58. г. Якутск, 677000. Республика Саха (Якутия). Россия. E-mail: [hofnung@mail.ru](mailto:hofnung@mail.ru)

\*Ведущий направление; +Поддерживающий переписку

**Ключевые слова:** эллаготаннины, хеморазнообразие, Саха (Якутия), ВЭЖХ.

### Аннотация

Проведено исследование хеморазнообразия эллаготаннинов в надземной части представителей семейства Rosaceae, произрастающих в республике Саха (Якутия). Из 29 исследованных видов присутствие эллаготаннинов установлено только в 18 видах, входящих в подсемейство Rosoideae. Впервые установлено присутствие агримониина в *Fragaria orientalis* и *Comarum palustre*; гемина А – в надземной части *Geum urbanum*; педункулагина – в *Rubus idaeus*; сангуина Н-6, ламбертианина С, ламбертианина D и педункулагина – в *Rubus arcticus*, *R. matsumuranus* и *R. saxatilis*; ругозинов А, В<sub>1</sub>, В<sub>2</sub>, D, Е<sub>1</sub>, Е<sub>2</sub>, теллимаграндинов I<sub>1</sub>, I<sub>2</sub> и II – в *Rosa acicularis*, *R. majalis* и листьях *R. rugosa*; ругозинов А, D, Е<sub>1</sub> и Е<sub>2</sub> – в листьях *Rosa canina*.

### Введение

Республика Саха (Якутия), расположенная в северо-восточной части Евразийского материка, является самым большим субъектом Российской Федерации и обладает высоким уровнем природно-ресурсного экономического потенциала. Флора Саха (Якутии) характеризуется многообразием видов лекарственных растений, используемых в официальной и народной медицине; особенности климата, светового режима, доминирование криолитозоны способствуют активному накоплению биологически активных веществ в лекарственных растениях, что подтверждает необходимость изучения местных лекарственных растений с целью их применения в медицине. Кроме того, территория Якутии может служить сырьевой базой для фармацевтической промышленности.

Широкое распространение на территории Якутии получили лекарственные растения семейства розоцветные (Rosaceae), включающего около 100 родов и до 3 тыс. видов, распространённых преимущественно в умеренном и субтропическом поясах Северного полушария [1]. Для данного семейства характерным является наличие эллаготаннинов, обладающих широким спектром биологической активности. Согласно классификации Okuda Т. с соавт [2] типичными эллаготаннинами Rosaceae являются танины типов II и II+, а именно эллаготаннины (педункулагин и др.) и С-гликозидные эллаготаннины (казуаринин и др.), содержащие в структуре остатки галловой, дегидродигалловой, гексагидроксидифеновой, валоневой и сангвисорбовой кислот. Степень изученности растительных видов семейства Rosaceae, находящихся на территории республики, крайне низкая.

Целью настоящего исследования является изучение хеморазнообразия эллаготаннинов представителей семейства Rosaceae, произрастающих в республике Саха (Якутия).

## Экспериментальная часть

**Растительное сырье** было собрано в различных районах (улусах) республики Саха (Якутия) в 2010-2014 гг.: *Chamaerhodos erecta* (L.) Bunge (хамеродос прямой) – с. Еланка, Хангаласский улус; *Comarum palustre* L. (сабельник болотный) – с. Кобяй, Кобяйский улус; *Crataegus dahurica* Koehne ex C.K. Schneid. (боярышник даурский) – окрестности г. Якутск; *C. laevigata* (Poir.) DC. (боярышник сглаженный) – с. Кобяй, Кобяйский улус; *C. sanguinea* Pall. (боярышник кроваво-красный) – с. Агдары, Сунтарский улус; *Cotoneaster integerrimus* Medikus (кизильник цельнокрайный) – с. Кескил, Томпонский улус; *C. lucidus* Schlttdl. (кизильник блестящий) – с. Бетенкёс, Верхоянский район; *C. melanocarpus* Fisch. ex Blytt (кизильник черноплодный) – с. Сунтар, Сунтарский улус; *Filipendula palmata* (Pall.) Maxim (лабазник дланевидный) – с. Амга, Амгинский улус; *F. ulmaria* (L.) Maxim. (лабазник вязолистный) – с. Сатагай, Вилюйский улус; *Fragaria orientalis* Losinsk. (земляника восточная) – с. Крестях, Сунтарский улус; *F. vesca* L. (земляника лесная) – с. Абага, Амгинский улус; *Geum aleppicum* Jacq. (гравилат аллепский) – окрестности г. Якутск; *G. urbanum* L. (гравилат городской) – с. Еланка, Хангаласский улус; *Padus asiatica* Kom. (черемуха азиатская) – с. Кюпцы, Усть-Майский улус; *Pentaphylloides fruticosa* (L.) O. Schwarz (пятилистник кустарниковый) – с. Бестях, Хангаласский улус; *Rosa acicularis* Lindl. (шиповник иглистый) – окрестности г. Якутск; *R. canina* L. (шиповник собачий) – с. Сыныяхтах, Олёкминский район; *R. majalis* Nees (шиповник майский) – с. Верхневилуёйск, Верхневилуёйский улус; *R. rugosa* Thunb (шиповник морщинистый) – с. Сымах, Мегино-Кангаласский улус; *Rubus arcticus* L. (княженика обыкновенная) – с. Ытык-Кюёль, Таттинский улус; *R. idaeus* L. (малина обыкновенная) – с. Чериктей, Усть-Алданский улус; с. Харыялах, Намский улус; с. Харбала, Верхневилуёйский улус; *R. matsumuranus* H. Lev. & Vaniot (малина Мацумуры) – с. Намцы, Намский улус; *R. saxatilis* L. (костяника) – окрестности г. Якутск; *Sanguisorba officinalis* L. (кровохлебка лекарственная) – с. Сунтар, Сунтарский улус; *Sorbaria sorbifolia* (L.) A. Braun (рябинник рябинолистный) – окрестности г. Якутск; *Sorbus sibirica* Hedl. (рябина сибирская) – с. Чагда, Алданский район; *Spiraea dahurica* (Rupr.) Maxim. (спирея даурская) – с. Балыктах, Мегино-Кангаласский улус; *S. salicifolia* L. (спирея иволистная) – с. Чурапча, Чурапчинский улус.

**Реактивы.** В работе использовали следующие реактивы: лития перхлорат ( $\geq 98.0\%$ , *Sigma-Aldrich*), кислота перхлорная ( $\geq 70.0\%$ , *Sigma-Aldrich*). Остальные реактивы имели степень чистоты чда.

**Количественный анализ.** Для определения количественного содержания основных групп фенольных соединений применяли спектрофотометрические методики: флавоноиды – дифференциальный метод в присутствии алюминия хлорида (в пересчете на гиперозид) [3], катехины – ванилин-серно-кислотный метод (в пересчете на (+)-катехин) [4], процианины – метод Porter (в пересчете на процианидин В1) [5], эллаготаннины – метод Wilson-Hagermann (в пересчете на эллаговую кислоту) [6].

**Экстракция и выделение.** Для выделения эллаготаннинов применяли листья растительных видов, высушенных до воздушно-сухого состояния. Схема выделения включала предварительную экстракцию сырья 70% ацетоном, с последующими концентрированием, жидкофазной экстракцией (гексан, этилацетат, *n*-бутанол) и хроматографическим разделением (колоночная хроматография на нормально-фазовом и обращено-фазовом силикагеле, полиамиде, Сефадексе LH-20, Амберлите, препаративная ВЭЖХ на обращено-фазовом силикагеле); основные моменты описаны нами ранее [7]. В результате из *Chamaerhodos erecta* (560 г) были выделены и идентифицированы агримониин (120 мг) [8], потенциллин (62 мг) [8], педункулагин (16 мг) [9]; из *Comarum palustre* (620 г) – агримониин (144 мг); из *Fragaria orientalis* (370 г) – агримониин (48 мг); из *Geum urbanum* (914 г) – гемин А (263 мг) [10]; из *Rubus matsumuranus* (1.2 кг) – педункулагин (21 мг), сангуин Н-2 (14 мг), сангуин Н-6 (1.47 г), ламбертианин С (352 мг), ламбертианин D (28 мг) [11]; из *Sanguisorba officinalis* (1.9 кг) – казуаринин (318 мг) [9], сангуин Н-6 (218 мг), сангуин Н-11 (108 г), ламбертианин С (25 мг); из *Rosa canina* (1.5 кг) – ругозин А (154 мг), ругозин В (смесь изомеров; 39 мг) [12], ругозин D (311 мг), ругозин Е (смесь изомеров; 47 мг) [13], теллимаграндин I (смесь изомеров; 14 мг), теллимаграндин II (22 мг) [14].

**ВЭЖХ.** Исследования проводили на микроколоночном жидкостном хроматографе *Милхром А-02* (Эконова), снабженным автосемплером, УФ-детектором и колонкой с обращено-фазовым сорбентом *ProntoSIL-120-5-C18 AQ* (2 × 75 мм, Ø 5 мкм; *Metrohm AG*). Методика пробоподготовки и ВЭЖХ-анализа описана нами ранее [15].

## Результаты и их обсуждение

### 1. Общая характеристика фенольных соединений растений семейства Rosaceae из флоры республики Саха (Якутия)

На предварительном этапе исследования были отобраны растительные виды семейства Rosaceae, представляющие определенный хозяйственный интерес и обладающие удовлетворительными сырьевыми запасами в пределах республики. В результате для 29 видов, пред-

ставителей 15 родов и 4 подсемейств, было определено содержание основных групп фенольных соединений, характерных для изучаемого семейства (флавоноидов, катехинов, процианидинов, гидролизуемых танинов) (табл. 1).

**Табл. 1.** Содержание фенольных соединений в листьях некоторых видов семейства Rosaceae, произрастающих в республике Саха (Якутия), мг/г\*

Вид	Флавоноиды	Катехины	Процианидины	Эллаготаннины	Суммарное содержание
Подсемейство Rosoideae					
Колено Potentilleae					
<i>Rubus</i>					
<i>R. arcticus</i>	10.28 ± 0.16	4.01 ± 0.07	6.83 ± 0.12	11.95 ± 0.20	33.07
<i>R. idaeus</i>	21.20 ± 0.40	9.09 ± 0.15	3.13 ± 0.06	52.01 ± 0.99	85.43
<i>R. matsumuranus</i>	17.93 ± 0.34	5.75 ± 0.12	1.25 ± 0.03	40.28 ± 0.81	65.21
<i>R. saxatilis</i>	24.38 ± 0.39	3.67 ± 0.06	4.25 ± 0.08	43.18 ± 0.82	75.48
<i>Fragaria</i>					
<i>F. orientalis</i>	17.77 ± 0.30	14.42 ± 0.22	4.71 ± 0.08	13.30 ± 0.27	50.20
<i>F. vesca</i>	17.78 ± 0.36	10.47 ± 0.19	5.30 ± 0.10	28.64 ± 0.57	62.19
<i>Comarum</i>					
<i>C. palustre</i>	25.41 ± 0.46	1.51 ± 0.02	5.83 ± 0.10	21.21 ± 0.40	53.96
<i>Pentaphylloides</i>					
<i>P. fruticosa</i>	27.44 ± 0.47	7.29 ± 0.12	16.83 ± 0.29	7.38 ± 0.15	58.94
<i>Chamaerhodos</i>					
<i>C. erecta</i>	24.28 ± 0.49	8.10 ± 0.13	3.24 ± 0.06	53.06 ± 1.06	88.68
<i>Geum</i>					
<i>G. aleppicum</i>	12.62 ± 0.20	9.42 ± 0.19	2.88 ± 0.05	50.87 ± 1.07	75.79
<i>G. urbanum</i>	15.21 ± 0.27	9.90 ± 0.20	1.42 ± 0.02	51.35 ± 0.92	77.88
Колено Ulmarieae					
<i>Filipendula</i>					
<i>F. palmata</i>	37.43 ± 0.67	16.61 ± 0.33	18.15 ± 0.39	14.81 ± 0.25	87.00
<i>F. ulmaria</i>	28.09 ± 0.56	8.86 ± 0.19	13.46 ± 0.22	21.56 ± 0.47	71.97
Колено Sanguisorbeae					
<i>Sanguisorba</i>					
<i>S. officinalis</i>	35.36 ± 0.53	24.00 ± 0.43	4.66 ± 0.08	25.94 ± 0.52	89.96
Колено Roseae					
<i>Rosa</i>					
<i>R. acicularis</i>	40.01 ± 0.64	10.28 ± 0.15	8.10 ± 0.18	9.95 ± 0.21	68.34
<i>R. canina</i>	25.00 ± 0.48	5.77 ± 9.23	4.59 ± 0.11	9.71 ± 0.18	45.07
<i>R. majalis</i>	26.98 ± 0.53	11.70 ± 0.22	7.68 ± 0.12	4.26 ± 0.08	50.62
<i>R. rugosa</i>	20.74 ± 0.43	сл.	0.93 ± 0.02	21.09 ± 0.38	42.76
Подсемейство Spiraeoideae					
<i>Spiraea</i>					
<i>S. dahurica</i>	43.63 ± 0.74	30.04 ± 0.57	41.80 ± 0.84	сл.	115.47
<i>S. salicifolia</i>	46.24 ± 0.74	18.37 ± 0.37	32.98 ± 0.59	сл.	97.59
<i>Sorbaria</i>					
<i>S. sorbifolia</i>	29.11 ± 0.44	18.44 ± 0.30	23.31 ± 0.40	сл.	70.86
Подсемейство Pomoideae					
<i>Cotoneaster</i>					
<i>C. integerrimus</i>	25.37 ± 0.43	51.21 ± 0.82	36.08 ± 0.68	сл.	112.66
<i>C. lucidus</i>	11.74 ± 0.26	183.53 ± 3.30	119.37 ± 2.03	сл.	314.64
<i>C. melanocarpus</i>	14.95 ± 0.29	14.30 ± 0.27	19.96 ± 0.36	сл.	49.21
<i>Sorbus</i>					
<i>S. sibirica</i>	17.09 ± 0.29	42.27 ± 0.68	42.11 ± 0.72	сл.	101.47
<i>Crataegus</i>					
<i>C. dahurica</i>	20.07 ± 0.36	58.76 ± 1.17	45.69 ± 0.87	сл.	124.52
<i>C. sanguinea</i>	33.22 ± 0.63	69.77 ± 1.47	47.39 ± 0.85	сл.	150.38
<i>C. laevigata</i>	18.48 ± 0.37	62.85 ± 1.45	41.47 ± 0.82	сл.	122.80
Подсемейство Prunoideae					
<i>Padus</i>					
<i>P. asiatica</i>	15.61 ± 0.28	65.60 ± 1.38	63.80 ± 1.08	сл.	145.01

\* от массы воздушно-сухого сырья.

Содержание флавоноидов в наземной части исследованных видов варьировало от 10.28 (*Rubus arcticus*) до 46.24 мг/г (*Spiraea salicifolia*), катехинов – от 1.51 (*Comarum palustre*) до 183.53 мг/г (*Cotoneaster lucidus*), процианидинов – от 0.93 (*Rosa rugosa*) до 119.37 мг/г (*Cotoneaster lucidus*), гидролизуемых танинов – от 4.26 (*Rosa majalis*) до 53.06 мг/г

**Полная исследовательская публикация** \_\_\_\_\_ Кашенко Н.И., Чирикова Н.К. и Оленников Д.Н. (*Chamaerhodos erecta*). Таким образом, можно отметить, что распределение отдельных классов фенольных соединений в различных видах крайне неравномерное. Максимальные показатели содержания отличались от минимальных в 4.5, 121.5, 128.4 и 12.5 раз, соответственно для флавоноидов, катехинов, процианидинов и гидролизуемых танинов.

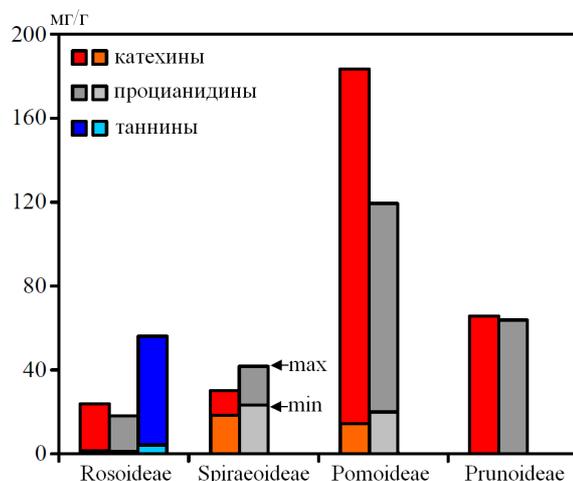
Изучая показатели распределения растительных видов согласно содержанию в них фенольных соединений, было установлено, что к концентраторам флавоноидов (содержание >4%) относятся 3 вида (~10% от общего числа видов; *Spiraea salicifolia*, *S. dahurica*, *Rosa acicularis*), к концентраторам катехинов и процианидинов (содержание >10%) – 1 вид (~3% от общего числа видов; *Cotoneaster lucidus*), к концентраторам гидролизуемых танинов (содержание >4%) – 6 видов (~21% от общего числа видов; *Chamaerhodos erecta*, *Rubus idaeus*, *R. saxatilis*, *R. matsumuranus*, *Geum urbanum*, *G. allepicus*) (табл. 2).

**Табл. 2.** Распределение растительных видов согласно содержанию в них фенольных соединений

Флавоноиды		Катехины		Процианидины		Гидролизуемые танины	
Показатель	Количество видов*	Показатель	Количество видов*	Показатель	Количество видов*	Показатель	Количество видов*
> 4%	3 (~10%)	> 10%	1 (~3%)	> 10%	1 (~3%)	> 4%	6 (~21%)
3-4%	3 (~10%)	5-10%	5 (~17%)	5-10%	1 (~3%)	2-4%	5 (~17%)
2-3%	12 (~41%)	1-5%	11 (~39%)	1-5%	12 (~41%)	1-2%	3 (~10%)
< 2%	11 (~39%)	< 1%	12 (~41%)	< 1%	15 (~53%)	< 1%	15 (~52%)

\* в скобках приведены величины распределения относительно общего числа видов.

Показатели содержания в различных подсемействах Rosaceae варьировали в широких пределах (рис. 1). Для представителей подсемейства Rosoideae были отмечены минимальные концентрации катехинов и процианидинов, однако присутствие гидролизуемых танинов было отмечено только в видах данного подсемейства. Виды Pomoideae (особенно виды *Cotoneaster* и *Crataegus*) характеризуются как (гипер)концентраторы катехинов и процианидинов. Промежуточные показатели содержания были отмечены для представителей подсемейств Spiraeoideae и Prunoideae.

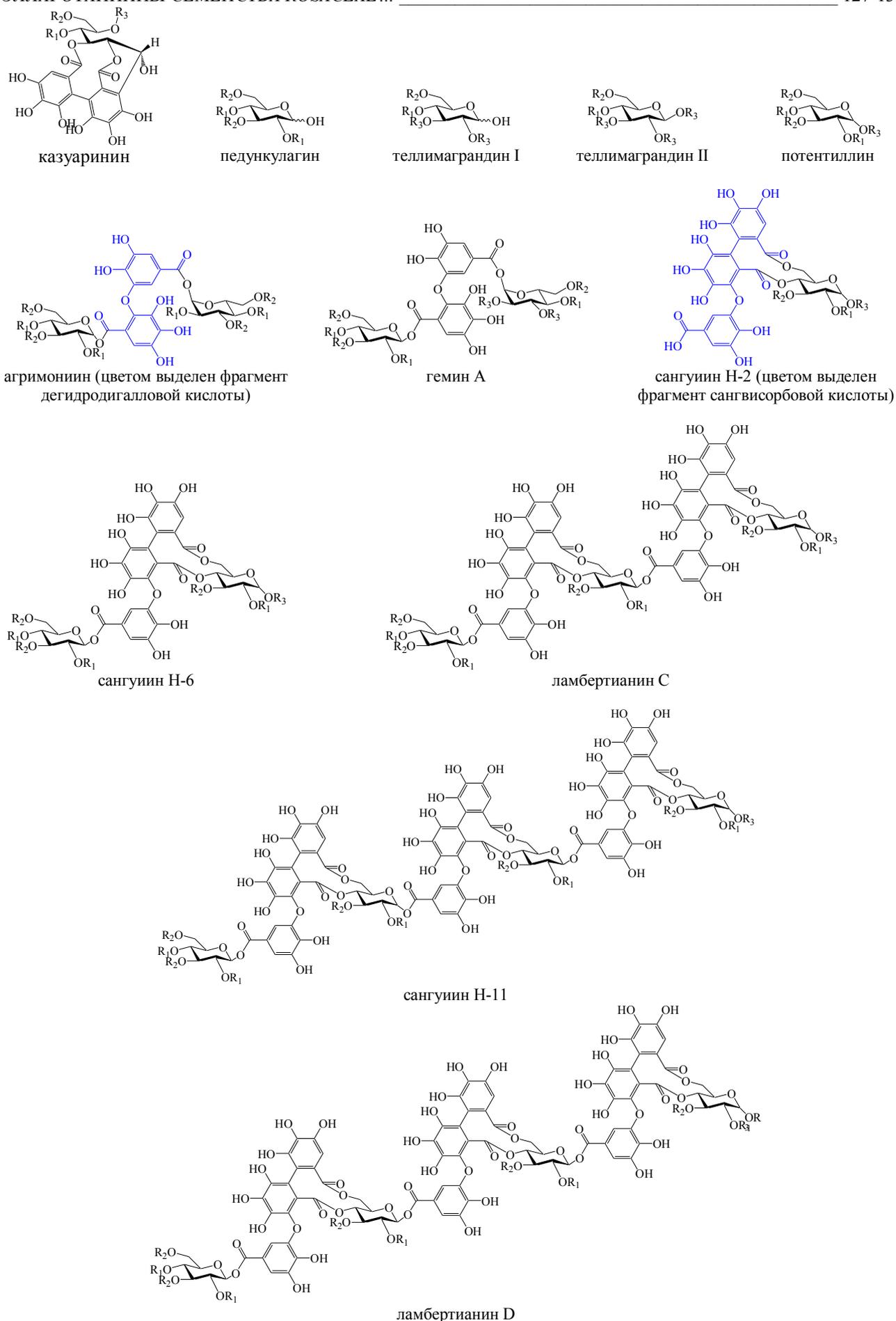


**Рис. 1.** Варьирование показателей содержания катехинов, процианидинов и гидролизуемых танинов в исследованных видах из четырех подсемейств Rosaceae.

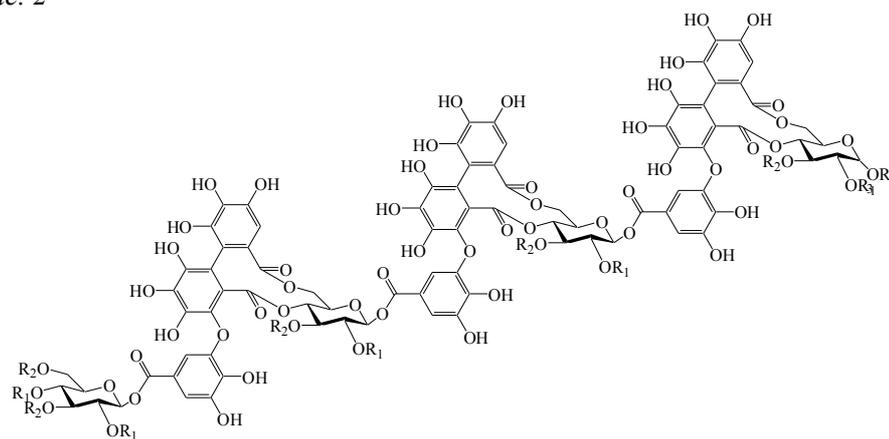
Присутствие целевого класса фенольных соединений – эллаготаннинов, было выявлено только у видов подсемейства Rosoideae, которые были подвергнуты дальнейшему изучению.

## 2. Эллаготаннины подсемейства Rosoideae

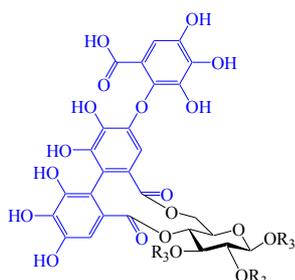
С применением комплекса хроматографических методов из ряда представителей исследуемого подсемейства было выделено 16 соединений, идентифицированных как С-гликозидные эллаготаннины (казуаринин), гексагидроксифеноил-глюкозы (педункулагин), гексагидроксифеноилгаллоил-глюкозы (теллимаграндины I, II, потенциаллин), дегидрогидгаллоильные эллаготаннины (агримониин, гемин А), сангвисорбоильные эллаготаннины (сангуины Н-2, Н-6, Н-11, ламбертианины С, D) и валонеильные эллаготаннины (ругозины А, В, D, E) (рис. 2).



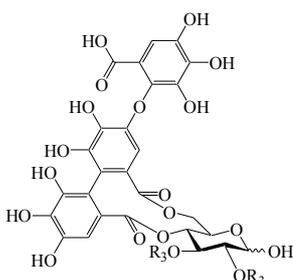
**Рис. 2.** Структурные формулы эллаготаннинов, обнаруженных в исследованных видах Rosaceae. Заместители:  $R_1$ - $R_2$  = (S)-HHDP,  $R_3$  = галлоил.



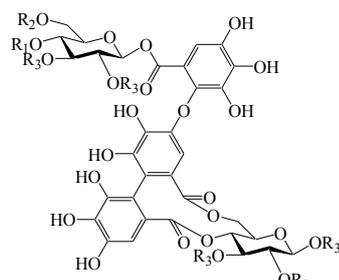
ламбертианин D



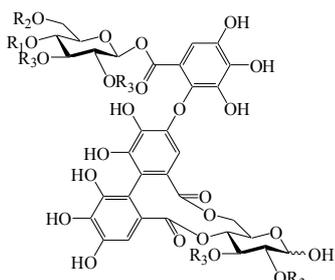
ругозин А (цветом выделен фрагмент валеновой кислоты)



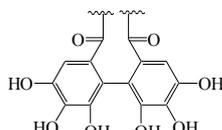
ругозин В



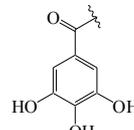
ругозин D



ругозин E



(S)-HHDP = гексагидроксиdifеноил



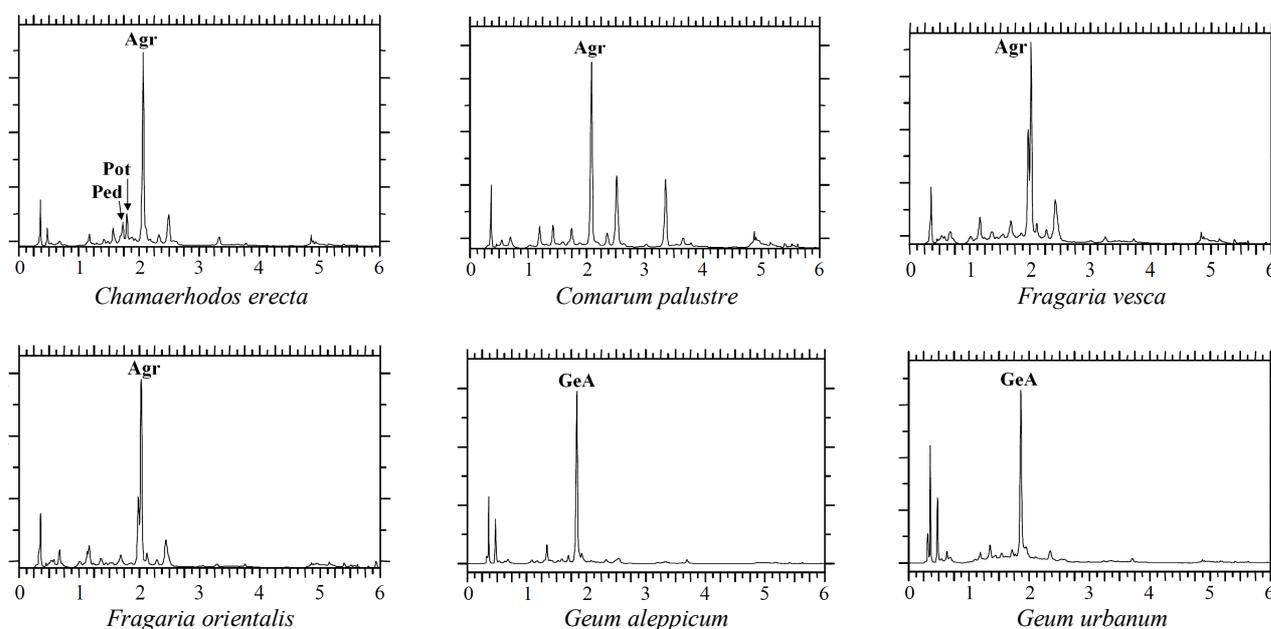
галлоил

### 3. Растительные виды, содержащие эллаготаннины с остатком дегидродигалловой кислоты. Эллаготаннины родов *Chamaerhodos*, *Comarum*, *Fragaria* и *Geum*.

В исследованных видах нами было обнаружено два эллаготаннина с остатком дегидродигалловой кислоты – агримониин в видах *Chamaerhodos*, *Comarum*, *Fragaria* и гемин А в видах *Geum* (рис. 3). Данные соединения являются изомерами: у агримониина с карбоксильной группой при 3,4,5-тригидроксизамещенном фрагменте дегидродигалловой кислоты связана  $\alpha$ -глюкопираноза, у гемина А –  $\beta$ -глюкопираноза. Агримониин для видов *Chamaerhodos*, *Comarum*, *Fragaria* и гемин А для видов *Geum* являются доминирующими соединениями. В *Chamaerhodos erecta* также было показано присутствие потенцилина и педункулагина, обнаруженных ранее в сырье, произрастающем в Монголии [16]. Наличие агримониина в *Fragaria vesca* было показано ранее [17]; присутствие данного соединения в *Fragaria orientalis* и *Comarum palustre*, широко распространенных видов в республике Саха (Якутия), установлено нами впервые.

Исследование двух видов *Geum* показало, что оба вида являются накопителями гемина А, рассматриваемого в качестве типичного эллаготаннина данного рода [18]. Ранее было установлено наличие гемина А в листьях и корнях *G. japonicum* [10, 19], в листьях *G. allepicum* и *G. calthifolium* var. *nipponicum* [20], в корнях *G. urbanum* [18]. В надземной части *G. urbanum* гемин А обнаружен впервые.

Фармакологические исследования агримониина показали, что данный эллаготаннин оказывает выраженное противоопухолевое действие на клетки карциномы ММ2, гепатомы МН134 и фиброкарциномы Meth-A [21]. Вероятным механизмом цитотоксического действия



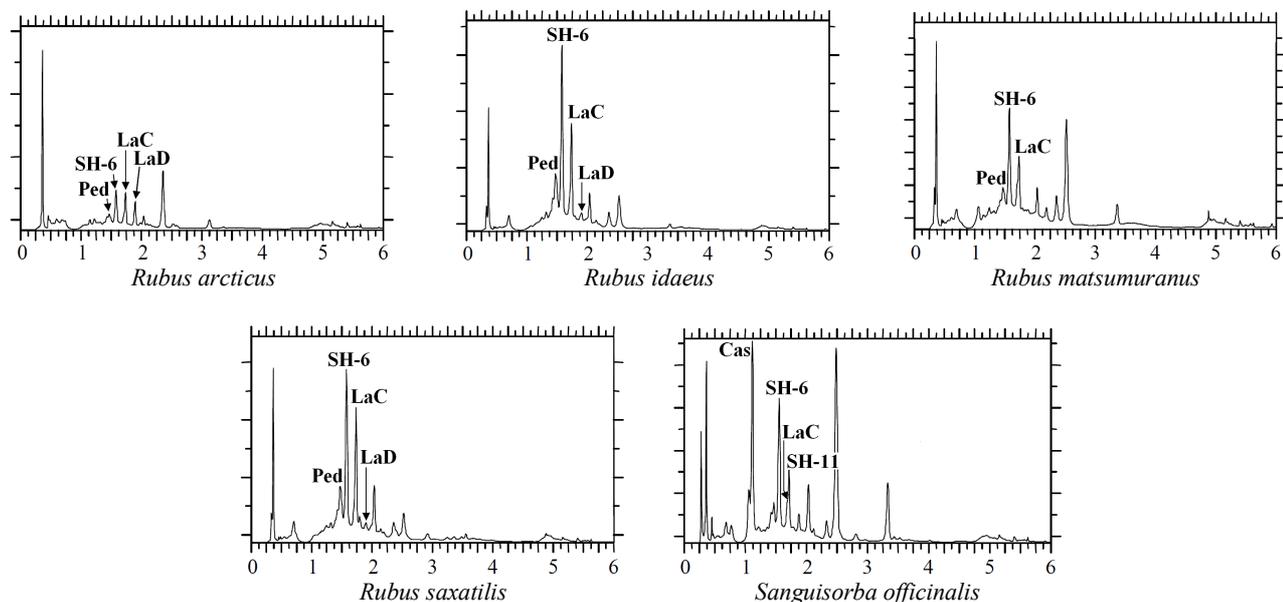
**Рис. 3.** Хроматограммы (МК-ВЭЖХ) спиртовых экстрактов из растительных видов, содержащих эллаготаннины с остатком дегидродигалловой кислоты (Agr – агримониин, GeA – гемин А). Дополнительно указано положение педункулагина (Ped) и потенциллина (Pot).

агримониина может быть его иммуномодулирующий эффект, выражающийся в способности к повышению иммунного статуса организма [22]. Позднее было показано, что агримониин повышает концентрацию ионов  $\text{Ca}^{2+}$  и внутриклеточный уровень реактивных форм кислорода в опухолевых клетках, при одновременном снижении митохондриального трансмембранного потенциала, что в свою очередь приводит к индукции апоптоза [23]. Наличие антиоксидантного и противовоспалительной активности у некоторых видов Rosaceae, также объясняется высокой концентрацией агримониина [24]. Выраженный ингибирующий эффект эллаготаннина на *Helicobacter pilori* позволяет рассматривать его в качестве перспективного агента для лечения ряда гастроуденальных заболеваний [25]. Наличие антиоксидантной активности было выявлено также у гемина А [26]. Следует отметить, что гемин А способствует неоваскуляризации ишемизированного миокарда, защищая, таким образом, кардиомиоциты от апоптоза и улучшая сердечную функцию [27]. Противовоспалительное действие гемина А обусловлено ингибирующим эффектом на ключевые ферменты воспаления, в том числе липоксигеназу, эластазу и гиалуронидазу [28]. Выраженный противоопухолевый эффект гемина А в отношении клеток BGC-823 вызван способностью ингибировать синтазу жирных кислот [29].

#### 4. Растительные виды, содержащие эллаготаннины с остатком сангвисорбовой кислоты. Эллаготаннины родов *Rubus* и *Sanguisorba*.

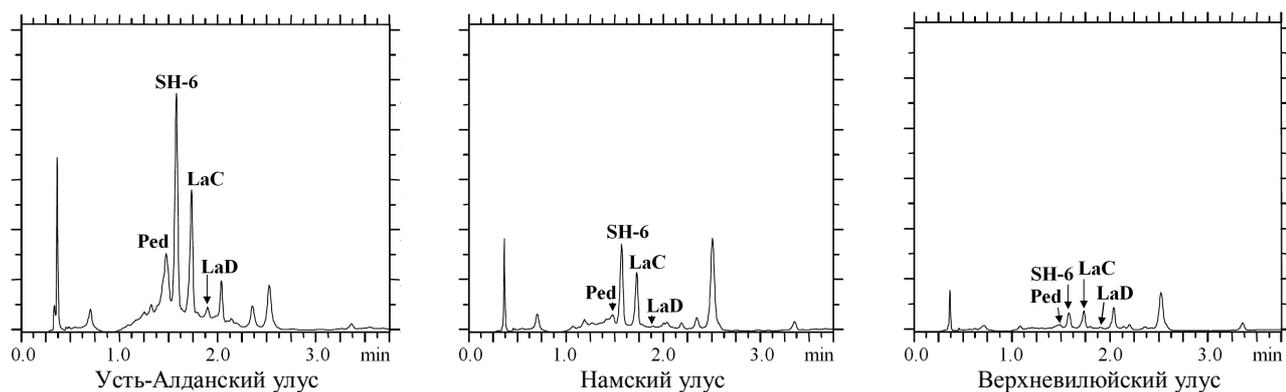
Из листьев *R. idaeus* было выделено 5 соединений – сангуинин Н-2, сангуинин Н-6, ламбертианин С, ламбертианин D и педункулагин. Ранее в результате хроматографического исследования 30 японских видов рода *Rubus* Okuda T. с соавт. [20] показали, что доминирующими эллаготаннинами данного рода являются сангуинины Н-6 и Н-11. Позднее Tanaka T. с соавт. [11] доказали ошибочность представления о наличии сангуинина Н-11, выделив из *R. lambertianus* тетрамер ламбертианин D, представляющий собой изомер сангуинина Н-11. В качестве основной причины данной ошибки авторы указывали на близость времен удерживания ламбертианина D и сангуинина Н-11 в условиях нормально-фазовой ВЭЖХ. Присутствие ламбертианина D было доказано для 15 видов *Rubus*, в том числе и для *R. idaeus*. Согласно сведениям научной литературы о составе эллаготаннинов *R. idaeus*, в листьях данного вида было установлено наличие четырех соединений – сангуинина Н-2 [30], сангуинина Н-6, ламбертианина С и ламбертианина D [11]. Таким образом, педункулагин обнаружен нами в *R. idaeus* впервые. Хроматографический анализ спиртовых извлечений из листьев *R. arcticus*, *R. matsumuranus* и *R. saxatilis* выявил наличие сангуинина Н-6, ламбертианина С, ламбертианина

**Полная исследовательская публикация** \_\_\_\_\_ Кашенко Н.И., Чирикова Н.К. и Оленников Д.Н. D и педункулагина, присутствие которых в данных видах обнаружено впервые. Полученные результаты подтверждают раннее предположение о важной хемосистематической роли сангвисорбоил-содержащих эллаготаннинов (сангуинин Н-6, ламбертианин С, ламбертианин D) для рода *Rubus* [20].



**Рис. 4.** Хроматограммы (МК-ВЭЖХ) спиртовых экстрактов из растительных видов, содержащих эллаготаннины с остатком сангвисорбовой кислоты (LaC – ламбертианин С, LaD – ламбертианин D, SH-6 – сангуинин Н-6, SH-11 – сангуинин Н-11). Дополнительно указано положение казуаринина (Cas) и педункулагина (Ped).

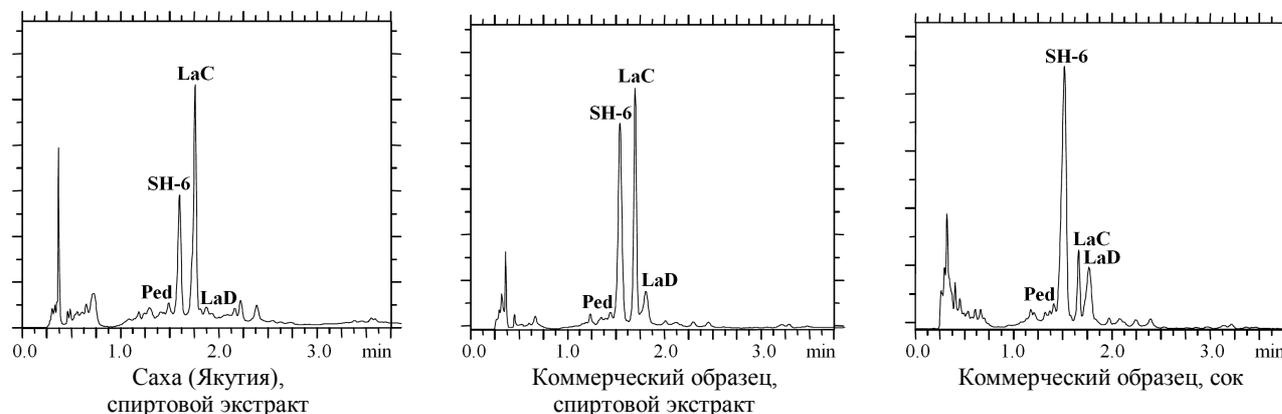
На примере *R. idaeus* было показано, что для сырья, собранного в различных районах республики Саха (Якутия), отмечалась различная способность к накоплению эллаготаннинов; максимальные показатели содержания были выявлены для Усть-Алданского улуса, минимальные – для Верхневилуйского улуса (рис. 5). Дальнейшие исследования помогут установить причины данных различий с целью выявления факторов, оказывают максимально положительное влияние на накопление эллаготаннинов в *R. idaeus*.



**Рис. 5.** Хроматограммы (МК-ВЭЖХ) спиртовых экстрактов из листьев *R. idaeus*, собранных в трех районах (улусах) республики Саха (Якутия). Соединения: ламбертианин С (LaC), ламбертианин D (LaD), педункулагин (Ped), сангуинин Н-6 (SH-6).

Состав эллаготаннинов ягод *R. idaeus*, типичен таковому листьев, однако в отличие от последних, доминирующим соединением в ягодах является ламбертианин С (рис. 6). Полученные результаты отличаются от таковых, приведенных в литературе, т.к. традиционно сангуинин Н-6 рассматривался в качестве безусловной доминанты плодов малины [31]. Исследование ряда коммерческих образцов ягод в аналогичных условиях также показало доминирование ламбертианина С.

Предполагаемой причиной данных различий является способ пробоподготовки ягод перед анализом; учитывая текстуру сырья, наиболее часто анализу подвергают супернатант (сок), полученный после гомогенизации и центрифугирования (фильтрования) свежих или замороженных ягод *R. idaeus*. Результаты анализа свежего сока малины подтвердил данное предположение – сангуин Н-6 является основным эллаготаннином такого образца (рис. 6). В связи с этим, для более полной характеристики состава ягод *R. idaeus* рекомендуется применение экстракционных процедур с использованием водных растворов органических растворителей (этанол, метанол).



**Рис. 6.** Хроматограммы (МК-ВЭЖХ) извлечений из ягод *R. idaeus*. Соединения: ламбертианин С (LaC), ламбертианин D (LaD), педункулагин (Ped), сангуин Н-6 (SH-6).

В траве *Sanguisorba officinalis* было обнаружено 4 соединения, идентифицированных, как сангуин Н-6, сангуин Н-11, ламбертианин С, а также казуаринин, являющийся С-гликозидным эллаготаннином. Все указанные соединения были ранее обнаружены в траве *S. officinalis* [11, 20].

Сведения о биологической активности эллаготаннов рода *Rubus* указывают на перспективность их практического использования. Кроме «традиционных» для таннинов видов активности (антиоксидантная, антибактериальная), было установлено, что ламбертианин С и сангуин Н-6 оказывают антиульцерогенное действие в условиях этанол-индуцированного повреждения слизистой желудка [32]. Применение указанных соединений приводило к выраженному снижению продукции цитокин-индуцированного нейтрофильного хемоаттрактанта 1 (CINC-1; аналог интерлейкина-8 у крыс) и транскрипционного фактора NF- $\kappa$ B, что указывает на прямое противовоспалительное действие эллаготаннинов. Более того, продукты трансформации сангвисорбоил-содержащих эллаготаннинов микробиотой кишечника – урוליцины, обладают противовоспалительным действием, в результате ингибирования продукции фактора некроза опухоли- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) [30].

## 5. Растительные виды, содержащие эллаготаннины с остатком валоневой кислоты. Эллаготаннины родов *Filipendula* и *Rosa*.

Для листьев *Filipendula* характерно накопление валонеил-содержащих эллаготаннинов, в том числе мономеров (ругозины А и В) и димеров (ругозины D и E), а также гексагидроксидифеноил-галлоил-глюкоз (теллимаграндины I и II) [7]. Исследование листьев *F. palmata*, собранных в республике Саха (Якутия), указывает на близость химического состава к такому сырью, произрастающему в республике Бурятия (рис. 7). Значительные отличия были выявлены при изучении листьев *F. ulmaria*, в которых было обнаружено только два соединения – ругозин D и E<sub>2</sub>. Вероятной причиной данного явления может быть эколого-географические особенности, влияющие на биохимический профиль популяции *F. ulmaria* из Саха (Якутии), что будет дополнительно исследовано в дальнейшей работе.

Согласно сведениям литературы в листьях *R. canina* установлено присутствие теллимаграндина I, ругозина В [33], казуариктина и теллимаграндина II [34]. Данные о таннинах листьев *R. acicularis* и *R. majalis* отсутствуют. В отношении наиболее исследованного вида – *R. rugosa*, следует указать на значительный «перевес» в сторону изучения фенольных соединений цветков, из которых было выделено около 20 эллаготаннинов [35].



**Выводы**

1. Присутствие эллаготаннинов в семействе Rosaceae выявлено только в видах, входящих в подсемейство Rosoideae.
2. Накопление отдельных групп эллаготаннинов в подсемействе Rosoideae характеризуется родо-специфичностью; так, эллаготаннины, содержащие остаток дегидроггалловой кислоты отмечены в родах *Chamaerhodos*, *Comarum*, *Fragaria* и *Geum*, сангвисорбоил-содержащие эллаготаннины накапливаются в родах *Rubus* и *Sanguisorba*, а валонеильные эллаготаннины – в родах *Filipendula* и *Rosa*. Родо-специфичность в распространении гексагидроксидифеноил/галлоил-содержащих эллаготаннинов не наблюдается.

**Благодарности**

Работа выполнена при финансовой поддержке проекта РФФИ 14-33-50342.

**Литература**

- [1] А.Г. Еленевский. *Ботаника высших или наземных растений*. М.: Академия, **2000**. 310 с.
- [2] T. Okuda, T. Yoshida, T. Hatano. Correlation of oxidative transformation of hydrolysable tannins and plant evolution. *Phytochemistry*. **2000**. Vol.55. P.513-529.
- [3] N.K. Chirikova, D.N. Olennikov, L.M. Tankhaeva. Quantitative determination of flavonoid content in the aerial parts of Baikal skullcap (*Scutellaria baicalensis* Georgi). *Russ. J. Bioorg. Chem.* **2010**. Vol.36. P.915-922.
- [4] B. Sun, J.M. Ricardo-da-Silva, I. Spranger. Critical factors of vanillin assay for catechins and proanthocyanidins. *J. Agric. Food Chem.* **1998**. Vol.46. P.4267-4274.
- [5] A. Cáceres-Mella, Á. Peña-Neira, J. Narváez-Bastias, C. Jara-Campos, R. López-Solis, J.M. Canals. Comparison of analytical methods for measuring proanthocyanidins in wines and their relationship with perceived astringency. *Int. J. Food Sci. Technol.* **2013**. Vol.48. P.2588-2594.
- [6] T.C. Wilson, A.E. Hagerman. Quantitative determination of ellagic acid. *J. Agric. Food Chem.* **1990**. Vol.38. P.1678-1683.
- [7] D.N. Olennikov, M.Yu. Kruglova. New quercetin glucoside and other phenolic compounds from *Filipendula* genus. *Chem. Nat. Comp.* **2013**. Vol.49. P.524-529.
- [8] T. Okuda, T. Yoshida, M. Kuwahara, M.U. Memon, T. Shingu. Tannins of Rosaceous medicinal plants. I. Structures of potentillin, agrimonic acid A and B, and agrimoniin, a dimeric ellagitannin. *Chem. Pharm. Bull.* **1984**. Vol.32. P.2165-2173.
- [9] T. Okuda, T. Yoshida, M. Ashida, K. Yazaki. Tannins of *Casuaria* and *Stachyurus* species. Part 1. Structures of pedunculagin, casuarinin, strictinin, casuarinin, and stachyurin. *J. Chem. Soc. Perkin Trans.* **1983**. P.1765-1772.
- [10] T. Yoshida, T. Okuda, M.U. Memon, T. Shingu. Structure of gemin A, a new dimeric ellagitannin having  $\alpha$ - and  $\beta$ -glucose cores. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1982**. P.351-353.
- [11] T. Tanaka, H. Tachibana, G. Nonaka, I. Nishioka, F. Hsu, H. Konda, O. Tanaka. Tannins and related compounds. CXXII. New dimeric, trimeric and tetrameric ellagitannins, lambertianins A-D, from *Rubus lambertianus* Seringe. *Chem. Pharm. Bull.* **1993**. Vol.41. P.1214-1220.
- [12] T. Hatano, N. Ogawa, T. Yasuhara, T. Okuda. Tannins of Rosaceous plants. VIII. Hydrolysable tannin monomers having a valoneoyl group from flower petals of *Rosa rugosa* Thunb. *Chem. Pharm. Bull.* **1990**. Vol.38. P.3308-3310.
- [13] T. Hatano, N. Ogawa, T. Yasuhara, T. Okuda. Tannins of Rosaceous plants. IX. Rugosins D, E, F and G, dimeric and trimeric hydrolysable tannins with valoneoyl group(s), from flower petals of *Rosa rugosa* Thunb. *Chem. Pharm. Bull.* **1990**. Vol.38. P.3341-3346.
- [14] I. Fecka. Qualitative and quantitative determination of hydrolysable tannins and other polyphenols in herbal products from meadowsweet and dog rose. *Phytochem. Anal.* **2009**. Vol.20. P.177-190.
- [15] D.N. Olennikov, N.I. Kashchenko, N.K. Chirikova, S.S. Kuz'mina. Rapid method for simultaneous determination of major phenolics in *Potentilla anserina* L. (Rosaceae) herb by microcolumn RP-HPLC-UV. *Molecules*. **2014**. Vol.19. (in press).
- [16] E. Selenge, G. Odontuya, T. Murata, K. Sasaki, K. Kobayashi, J. Batkhuu, F. Yoshizaki. Phytochemical constituents of Mongolian traditional medicinal plants, *Chamaerhodos erecta* and *C. altaica*, and its constituents prevents the extracellular matrix degradation factors. *J. Nat. Med.* **2013**. Vol.67. P.867-875.
- [17] I. Fecka. Development of chromatographic methods for determination of agrimoniic and related polyphenols in pharmaceutical products. *J. AOAC Int.* **2009**. Vol.92. P.410-418.

- [18] J.P. Piwowarski, S. Granica, M. Kosiński, A.K. Kiss. Secondary metabolites from roots of *Geum urbanum* L. *Biochem. Syst. Ecol.* **2014**. Vol.53. P.46-50.
- [19] T. Yoshida, T. Okuda, M.U. Memon, T. Shingu. Tannins of Rosaceous medicinal plants. Part 2. Gemins A, B, and C. New dimeric ellagitannins from *Geum japonicum*. *J. Chem. Soc. Perkin. Trans.* **1985**. P.315-321.
- [20] T. Okuda, T. Yoshida, T. Hatano, M. Iwasaki, M. Kubo, T. Orime, M. Yoshizaki, N. Naruhashi. Hydrolysable tannins as chemotaxonomic markers in the Rosaceae. *Phytochemistry.* **1992**. Vol.31. P.3091-3096.
- [21] K. Miyamoto, N. Kishi, R. Koshiura. Antitumor effect of agrimoniin, a tannin of *Agrimonia pilosa* L. ebed., on transplantable rodent tumors. *Jap. J. Pharmacol.* **1987**. Vol.43. P.187-195.
- [22] K. Miyamoto, N. Kishi, T. Murayama, T. Furukawa, R. Koshiura. Induction of cytotoxicity of peritoneal exudates cells by agrimoniin, a novel immunomodulatory tannin of *Agrimonia pilosa* Ledeb. *Cancer Immunol. Immunotherl.* **1988**. Vol.27. P.59-62.
- [23] B. Wang, Z. Jin. Agrimoniin induced SGC7901 cell apoptosis associated mitochondrial transmembrane potential and intracellular calcium concentration. *J. Med. Plants Res.* **2011**. Vol.5. P.3513-3519.
- [24] A. Bazyłko, J.P. Piwowarski, A. Filippek, J. Bonarewicz, M. Tomczyk. *In vitro* antioxidant and anti-inflammatory activities of extracts from *Potentilla recta* and its main ellagitannin, agrimoniin. *J. Ethnopharmacol.* **2013**. Vol.149. P.222-227.
- [25] K. Funatogawa, S. Hayashi, H. Shimomura, T. Yoshida, T. Hatano, H. Ito, Y. Hirai. Antibacterial activity of hydrolysable tannins derived from medicinal plants against *Helicobacter pylori*. *Microbiol. Immunol.* **2004**. Vol.48. P.251-261.
- [26] X. Cheng, H. Jin, J. Qin, J. fu, W. Zhang. Chemical constituents of plants from the genus *Geum*. *Chem. Biodiv.* **2011**. Vol.8. P.203-222.
- [27] M. Li, C.M. Yu, L. Cheng, M. Wang, X. Gu, K.H. Lee, T. Wang, Y.T. Sung, J.E. Sanderson. Repair of infarcted myocardium by an extract of *Geum japonicum* with dual effects on angiogenesis and myogenesis. *Clin. Chem.* **2006**. Vol.52. P.1460-1468.
- [28] J.P. Piwowarski, S. Granica, A.K. Kiss. Isolation of ellagitannins from *Geum urbanum* radix cum rhizoma and determination of extract's anti-inflammatory activity. *Planta Med.* **2013**. Vol.79. P.12.
- [29] H. Liu, J. Li, W. Zhao, L. Bao, X. Song, Y. Xia, X. Wang, C. Zhang, X. Wang, X. Yao, M. Li. Fatty acid synthase inhibitors from *Geum japonicum* Thunb. var. *chinense*. *Chem. Biodiv.* **2009**. Vol.6. P.402-410.
- [30] J.P. Piwowarski, S. Granica, M. Zwierzynska, J. Stefanska, P. Schopohl, M.F. Melzig, A.K. Kiss. Role of human gut microbiota metabolism in the anti-inflammatory effect of traditionally used ellagitannin-rich plant material. *J. Ethnopharmacol.* **2014**. Vol.155. P.801-809.
- [31] J. Beekwilder, H. Jonker, P. Meesters, R.D. Hall, I.M. van der Meer, C.H. Ric de Vos. Antioxidants in raspberry: On-line analysis links antioxidant activity to a diversity of individual metabolites. *J. Agric. Food Chem.* **2005**. Vol.53. P.3313-3320.
- [32] E. Sangiovanni, U. Vrhovsek, G. Rossoni, E. Colombo, C. Brunelli, L. Brembati, S. Trivulzio, M. Gasperotti, F. Mattivi, E. Bosisio, M. Dell'Agli. Ellagitannins from *Rubus* berries for the control of gastric inflammation: *In Vitro* and *In Vivo* studies. *PLoS ONE.* **2013**. Vol.8. e71762.
- [33] S. Shiota, M. Shimizu, T. Mizusima, H. Ito, T. Hatano, T. Yoshida, T. Tsuchiya. Restoration of effectiveness of beta-lactams on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* by tellimagrandin I from rose red. *FEMS Microbiol. Lett.* **2000**. Vol.185. P.135-138.
- [34] R.K. Gupta, S.M.K. Al-Shafi, K. Layden, E. Haslam. The metabolism of gallic acid and hexahydroxydiphenic acid in plants. Part 2. Esters of (S)-hexahydroxydiphenic acid with D-glucopyranose (<sup>4</sup>C<sub>1</sub>). *J. Chem. Soc. Perkin Trans.* **1982**. P.2525-2534.
- [35] Y. Hashidoko. The phytochemistry of *Rosa rugosa*. *Phytochemistry.* **1996**. Vol.43. P.535-549.
- [36] L. Bao, Eerdunbayaer, A. Nozaki, E. Takahashi, K. Okamoto, H. Ito, T. Hatano. Hydrolysable tannins isolated from *Syzygium aromaticum*: Structure of a new C-glucosidic ellagitannin and spectral features of tannins with a tergalloyl group. *Heterocycles.* **2012**. Vol.85. P.365-381.
- [37] Y. Nitta, H. Kikuzaki, T. Azuma, Y. Ye, M. Sakaye, Y. Higuchi, H. Komori, H. Ueno. Inhibitory activity of *Filipendula ulmaria* constituents on recombinant human histidine decarboxylase. *Food Chem.* **2013**. Vol.138. P.1551-1556.
- [38] P.L. Kuo, Y.L. Hsu, T.C. Lin, W.S. Tzeng, Y.Y. Chen, C.C. Lin. Rugosin E, an ellagitannin, inhibits MDA-MB-231 human breast cancer cell proliferation and induces apoptosis by inhibiting nuclear factor- $\kappa$ B signaling pathway. *Cancer Lett.* **2007**. Vol.248. P.280-291.
- [39] K. Miyamoto, N. Kishi, R. Koshiura, T. Yoshida, T. Hatano, T. Okuda. Relationship between the structures and the antitumor activities of tannins. *Chem. Pharm. Bull.* **1987**. Vol.35. P.814-822.