



УДК 582.688.3:577.13

Эколого-географическая изменчивость морфометрических показателей и состава флавоноидов *Rhododendron parvifolium*

А. В. Каракулов¹, Е. А. Карпова¹, В. Г. Васильев²

¹Центральный сибирский ботанический сад СО РАН, ул. Золотодолинская, 101, г. Новосибирск, 630090, Россия.
E-mail: krk007@rambler.ru

²Институт органической химии СО РАН им. Н. Н. Ворожцова, пр. Академика Лаврентьева, 9, г. Новосибирск, 630090, Россия

Ключевые слова: кластерный анализ, морфометрия, популяции, флавоноиды, *Rhododendron parvifolium*.

Аннотация. *Rhododendron parvifolium* обладает обширным ареалом в Восточной Сибири и Дальнем Востоке России, включая остров Сахалин. Значительный полиморфизм морфологических и химических признаков вида слабо изучен. Нами проведено изучение морфологических показателей и состава флавоноидов в образцах растений из четырех популяций этого вида, в том числе растений из популяции, расположенной в Иркутской области (г. Слюдянка), отличающейся от остальных значительной высотой растений и размерами листьев. Климат в месте ее произрастания был значительно более мягким по сравнению с местообитаниями остальных популяций. Определяли длину и ширину листовой пластинки, длину черешка, листовой индекс – отношение ширины к длине листа. В результате кластерного анализа морфометрических данных выявлено обособление популяции из Иркутской области от остальных, образующих единый кластер. Методом высокоэффективной жидкостной хроматографии в гидролизатах образцов удалось идентифицировать пять агликонов (дигидрокверцетин, мирицетин, кверцетин, лютеолин и кемпферол), главными из которых были кверцетин и дигидрокверцетин. Методом высокоэффективной жидкостной хроматографии–масс-спектрометрии в нативных экстрактах всех образцов идентифицированы гиперозид, авикулярин, а также пентозиды дигидрокверцетина и кверцетина, дезоксигексозид дигидрокверцетина, кверцетин и кемпферол в свободном виде. Основными гликозидными компонентами во всех образцах были пентозид дигидрокверцетина и гиперозид. Кластерный анализ данных по составу флавоноидов показал наличие двух кластеров, характеризующихся различными эдафическими условиями. Популяции, произрастающие на гольцах, отличались от растущих на болотах повышенным содержанием флавоноидов, в том числе гликозидов дигидрокверцетина, мирицетина, кверцетина, а также свободных агликонов.

Ecological and geographical variation of morphometric parameters and flavonoid composition of *Rhododendron parvifolium*

A. V. Karakulov¹, E. A. Karpova¹, V. G. Vasiliev²

¹Central Siberian Botanical Garden of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences,
Zolotodolinskaya str., 101, Novosibirsk, 630090, Russia

²N. N. Vorozhtsov Institute of Organic Chemistry of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences,
Academician Lavrentyev Avenue, 9, Novosibirsk, 630090, Russia

Keywords: cluster analysis, flavonoids, morphometry, populations, *Rhododendron parvifolium*.

Summary. *Rhododendron parvifolium* has a broad area in Eastern Siberia and the Russian Far East, including Sakhalin island. Significant polymorphism of morphological and chemical characters of the species is poorly studied. Morphological parameters and composition of flavonoids in plant samples from four populations of this species, including samples from a population located in the Irkutsk Region (Slyudyanka), differed from typical by significant plant height and leaf size, were studied. The climate in the place of its growth was much softer compared to the habitats of other populations. The length and width of the leaf blade, the length of the petiole, and leaf index (the ratio of width to length) were determined. As a result of the cluster analysis of morphometric data, the separation of the population from the Irkutsk Region from the rest formed a single cluster was revealed. Five aglycones (dihydroquercetin, myricetin, quercetin, luteolin and kaempferol), the main of which were quercetin and dihydroquercetin, were identified in hydrolysates of the samples using high performance liquid chromatography. Hyperoside and avicularin, as well as dihydroquercetin and quercetin pentosides, dihydroquercetin desoxyhexoside, and quercetin and kempferol in free form were identified in native extracts of all samples using high-performance liquid chromatography–mass spectrometry. The main glycosides in all samples were dihydroquercetin pentoside and hyperoside. Cluster analysis of the data on the flavonoid composition indicated the presence of two clusters, characterized by different edaphic conditions. Populations growing on the rocky peaks, differed from those growing on the marshes, a high content of flavonoids, including glycosides of taxifolin, myricetin, quercetin, and free aglycones.

Введение

Rhododendron parvifolium Adams (syn. *R. lapponicum* (L.) Wahlenb., *R. lapponicum* subsp. *parvifolium* (Adams) Malyshev, *R. palustre* Turcz., *R. parviflorum* F. Schmidt) (рододендрон мелколистный) обладает обширным ареалом, простирающимся от Восточного Саяна до восточных окраин бассейна Колымы и от устья Лены до южных отрогов Сихотэ-Алиня, включая остров Сахалин (рис. 1) (Когорачинский, 2015). Данный вид произрастает в горных и арктических тундрах на каменистых россыпях, среди зарослей кустарников, реже – на сфагновых болотах. По классификации Д. Чемберлена (Chamberlain, 1996), *R. parvifolium* относится к подсекции *Lapponica* (Hutchinson) Sleumer секции *Rhododendron*, а по классификации, принятой в российской ботанической литературе, – к ряду *Parvifolia* E. Busch типового подрода (Aleksandrova, 1975). Несмотря на обширный ареал и значительный полиморфизм, вид является слабоизученным.

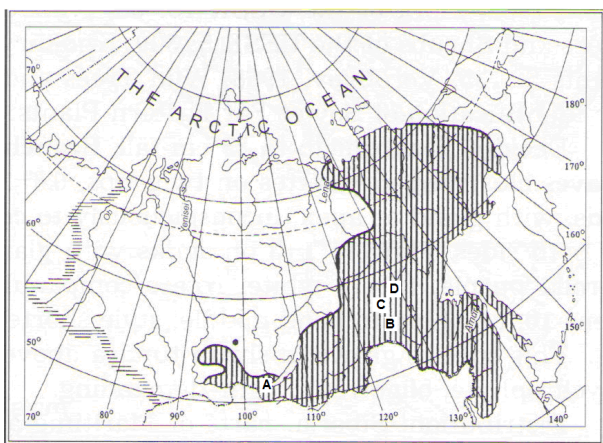


Рис. 1. Ареал *Rhododendron parvifolium* Adams (цит. по: Когорачинский, 2015) и места сбора образцов из популяций А–D (пояснения в тексте).

Нами в процессе экспедиционных исследований в районе г. Слюдянка (Иркутская область, Россия) была обнаружена популяция *R. parvifolium*, заметно отличающаяся от типичных по высоте растений и размерам листьев. Это послужило причиной для изучения географической и экологической изменчивости вида.

Род *Rhododendron* L. характеризуется значительным разнообразием флавоноидов, которые во многом определяют высокую биологическую активность растений этого рода (Belousov et al., 2006). При исследовании 206 видов рода Д. Харборн и К. Уильямс (Harborne, Williams, 1971) к основным его агликонам отнесли кверцетин, кемпферол, мирицетин, их 5-метилловые эфиры и дигидропроизводные, госсипетин. В качестве наиболее вероятных гликозидных структур определены 3-*O*-галактозиды кверцетина, кемпферола и мирицетина, 3-*O*-рамнозиды и 3-*O*-арабинозиды кверцетина и мирицетина, 3-*O*-глюкозид кемпферола (астрагалин) (Zhang et al., 1984; Mok et al., 2013), 3-*O*-арабинозид дигидрокверцетина, 3-*O*-галактозид госсипетина (Harborne, Williams, 1971; Liang et al., 2014). Эти гликозиды, наряду с 3-*O*-рамнозидом дигидрокверцетина (астильбином), обнаружены у многих видов рододендрона (Oganesyan et al., 1967; Komissarenko, Levashova, 1980; Li et al., 2009; Luo et al., 2009; Olennikov, Tankhaeva, 2010; Zhou et al., 2012). Гиперозид, авикулярин и кверцетин относятся к константным веществам рода *Rhododendron* (Belousov et al., 1998). В некоторых видах были обнаружены также 3-*O*-ксилозид кверцетина (Dai, Yu, 2005), изокверцитрин (Erdemoglu et al., 2008), рутин (Swaroop et al., 2005; Prakash et al., 2007; Komarova et al., 2009; Li et al., 2014), лютеолин и изорамнетин (Zhao et al., 2008;

Li et al., 2009), 3-*O*-галактозид и 3-*O*-рамнозид 5-метилового эфира мирицетина (De Loose, 1970).

Состав флавоноидов *R. parvifolium* изучен недостаточно. Из растений этого вида, собранных в Иркутской области и Республике Бурятия, методом колоночной и препаративной хроматографии на бумаге были выделены агликоны кверцетин и мирицетин в свободном виде, а также гликозиды кверцетина (гиперозид, авикулярин) и дигидрокверцетина (арабинофуранозид) (Mirovich, 2010). Нами методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) в составе листьев *R. parvifolium* из Амурской области и Республики Саха (Якутия) выявлены гиперозид, рутин, кверцитрин, а также – кверцетин, кемпферол и дигидрокверцетин. Мирицетин не был обнаружен ни в свободном виде, ни в виде гликозида (Кагорова, Karakulov, 2013).

Целью настоящего исследования является сравнительное изучение морфометрических показателей, а также состава и содержания флавоноидов в листьях *R. parvifolium* из четырех популяций Восточной Сибири и Дальнего Востока.

Материалы и методы

Сбор образцов *R. parvifolium* проводили в первой декаде августа 2013 г. в природных популяциях в фазе созревания семян, когда наблюдается максимальное развитие морфологических признаков (табл. 1). Гербарные материалы собирали с 30-ти особей из каждой популяции. С растений срезали ветви с максимальным приростом. Обмерялись по пять листьев из средней

части годичного прироста. Замеры производили электронным штангенциркулем «Matrix» (Matrize Handels GmbH, Hamburg, Germany). Измеряли длину и ширину листовых пластинок, длину черешков, вычисляли листовой индекс (ЛИ) – отношение ширины к длине листа. Обработка морфометрических данных проводилась общепринятыми статистическими методами (определение среднего арифметического \bar{x} , ошибки среднего арифметического $\pm \Delta x$ и коэффициента вариации V) с оценкой принадлежности отклоняющихся вариантов к совокупности данных при 5%-м уровне значимости, а также методом кластерного анализа в программе «Statistica» 7.0 (Statsoft Inc., Tulsa, OK, USA).

Образцы растений до анализа хранили в силикагеле при температуре 4 °С. Состав и содержание флавоноидов изучали методом ВЭЖХ в водно-спиртовых экстрактах листьев, высушенных до воздушно-сухого состояния, до и после гидролиза. Для этого отбирали среднюю пробу листьев 30-ти растений из каждой популяции. Точную навеску воздушно-сухого материала (0,1 г), измельченного до размера частиц 1 мм, помещали в колбу с обратным холодильником емкостью 50 мл и проводили исчерпывающую экстракцию 70%-м этанолом на водяной бане при температуре +60... +70 °С (Petruk et al., 2013). Экстракт фильтровали. Фильтрат в мерной колбе доводили до объема 25 мл 70%-м этанолом и использовали для определения содержания гликозидов и свободных агликонов флавоноидов (нативный экстракт).

Таблица 1

Происхождение исследованных образцов *Rhododendron parvifolium*

Популяции	Место сбора
А	Иркутская обл., г. Слюдянка, болото (N51.680941°, E103.696919°)
В	Амурская обл., хребет Тукурингра, гольцы (N54.141079°, E126.849424°)
С	Республика Саха (Якутия), Становой хребет, болото (N55.943824°, E124.946472°)
Д	Республика Саха (Якутия), хребет Западный Янги, гольцы (N57.540437°, E125.185425°)

Для проведения кислотного гидролиза 5 мл экстракта и равный объем 2 М соляной кислоты нагревали на кипящей водяной бане в колбе с обратным холодильником в течение 2 ч. Гидролизированный экстракт фильтровали, доводили до объема 50 мл дистиллированной водой, пропускали через концентрирующий патрон Диапак С16 (ЗАО БиоХимМак СТ, Москва, Россия), элюировали 96%-м этанолом до финального объема 5 мл и использовали для определения

суммарного содержания агликонов флавоноидов (в свободном виде и в форме гликозидов).

Перед анализом методом ВЭЖХ аликвоты нативного и гидролизованного экстрактов пропускали через мембранный фильтр с диаметром пор 0,45 мкм.

Анализ состава флавоноидов проводили с использованием высокоэффективного жидкостного хроматографа «Agilent 1200» (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA), снабженно-

го колонкой Zorbax SB-C18 (4,6 мм × 150 мм × 5 мкм; Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA), диодноматричным детектором и системой для сбора и обработки хроматографических данных ChemStation. В качестве элюентов применяли 0,1%-й водный раствор ортофосфорной кислоты (элюент А) и метанол (элюент В). Хроматографическое разделение проводили в градиентном режиме в следующих условиях: 0–15 мин. 50–52 % В, 15–17 мин. 52–100 % В, 17–20 мин. 100–50 % В (образцы после гидролиза; режим 1); 0–27 мин. 32–33 % В, 28–38 мин. 33–46 % В, 39–50 мин. 46–56 % В, 51–54 мин. 56–100 % В, 55–56 мин. 100–32 % В (образцы до гидролиза; режим 2). Объем вводимой пробы – 5 мкл. Температура колонки 25 °С. Скорость потока растворителя – 1 мл/мин. Детектирование проводили при 255, 270, 290, 325, 340, 350, 360, 370 нм. Идентификацию известных соединений осуществляли сравнением со стандартными образцами кверцетина, кемпферола, дигидрокверцетина, лютеолина (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA), мирицетина, гиперозида, авикулярина, кверцитрина (Fluka, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Munich, Germany). Стандартные образцы готовили в концентрации 1 мг/мл в метаноле, их использовали для построения калибровочных кривых в диапазоне концентраций 2–100 мкг/мл. Расчет содержания неидентифицированных гликозидов проводили по гиперозиду, содержание неидентифицированных агликонов – по кверцетину. Анализ образцов проводили в пятикратной повторности.

Идентификация отдельных компонентов проводилась методом хромато-масс-спектрометрического анализа с использованием хроматографа Agilent 1200 SL, оснащенного гибридным квадруполь-времяпролетным масс-спектрометром micrOTOF-Q (Bruker, Billerica, MA, USA). Для разделения использовали колонку Zorbax SB-C18 (2,1 мм × 150 мм × 3,5 мкм). Объем вводимой пробы – 3 мкл. Температура колонки 25 °С. Скорость потока растворителя – 0,2 мл/мин. В качестве элюентов применяли 2%-й водный раствор муравьиной кислоты (элюент А) и метанол (элюент В). Хроматографическое разделение проводили в градиентном режиме в следующих условиях: 0–5 мин. 20 % В, 6–26 мин. 20–100 % В, 27–37 мин. 100 % В (режим 3). Детектирование осуществляли при 260, 270 и 340 нм. В качестве способа получения ионов использовалась ионизация электрораспылением (ESI). Параметры ионизации: давление газа-распыли-

теля – 1,6 бар, скорость подачи газа-осушителя (азот) – 8 л/мин, температура осушителя 230 °С, напряжение на конце капилляра – 4 кВ. Диапазон регистрации m/z : 80–3000 а. е. м., точность определения массы ± 0,01 Да. Масс-детектирование велось в режиме отрицательных ионов.

Идентификацию кверцетина, гиперозида и авикулярина проводили по стандартным образцам. Предполагаемую структуру остальных соединений определяли сравнением УФ- и масс-спектров со спектрами известных соединений, приведенными в литературе (Mabry et al., 1970; Campos, Markham, 2007; Korul'kin et al., 2007) и в базах данных по спектральным и физико-химическим свойствам флавоноидов (RIKEN MSn spectral database for phytochemicals. URL: <http://spectra.psc.riken.jp>; MassBank. URL: <http://www.massbank.jp>; The Human Metabolome Database (HMDB). URL: <http://www.hmdb.ca>).

Результаты и их обсуждение

Морфометрический анализ *R. parvifolium* показал, что линейные размеры особей, листовых пластинок и черешков в исследованных популяциях уменьшались с юго-запада на северо-восток, то есть от популяции А к популяции D (табл. 2). При этом листовой индекс у популяций изменялся незначительно. Листья растений из популяции А имели наименьшее значение листового индекса, однако ее отличие по этому признаку от остальных популяций было недостоверно. Увеличение размеров листьев из популяции А, вероятно, было связано с наиболее благоприятными условиями обитания. Дендрограмма, построенная по результатам кластерного анализа морфометрических данных, показала, что популяция А отделилась от всех, а оставшиеся три популяции (В, С, D) образовали единый кластер (рис. 2).

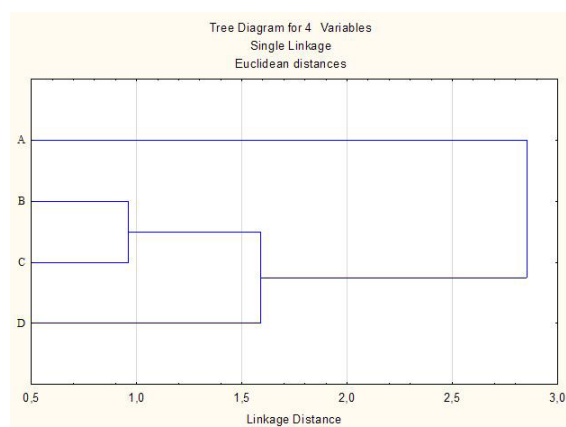


Рис. 2. Дендрограмма распределения популяций *Rhododendron parvifolium* по результатам кластерного анализа морфометрических данных.

Таблица 2
Размеры особей и листовых пластинок *Rhododendron parvifolium* в популяциях А–D

Популяции	А		В		С		D	
	$\bar{x} \pm \Delta x$	V, %	$\bar{x} \pm \Delta x$	V, %	$\bar{x} \pm \Delta x$	V, %	$\bar{x} \pm \Delta x$	V, %
Высота растений (мм)	1560 ± 57	19,82	423 ± 43	14,23	567 ± 39	16,32	334 ± 38	15,08
Длина листа (мм)	15,63 ± 0,62	15,76	12,82 ± 0,44	12,38	11,97 ± 0,35	10,20	10,68 ± 0,60	18,59
Ширина листа (мм)	6,58 ± 0,32	12,63	6,17 ± 0,26	10,44	5,72 ± 0,27	11,40	4,84 ± 0,42	19,36
Длина черешка (мм)	2,32 ± 0,29	18,77	2,05 ± 0,18	12,87	2,01 ± 0,13	9,04	1,71 ± 0,26	20,05
Листовой индекс	0,42 ± 0,05	7,32	0,49 ± 0,06	8,88	0,48 ± 0,06	8,06	0,46 ± 0,05	7,52

В нативных экстрактах листьев *R. parvifolium* (до гидролиза) обнаружено 32 соединения. Согласно данным УФ-спектров, 18 соединений были отнесены к флавоноидам. Сопоставление времен удерживания и УФ-спектров компонентов на хроматограммах анализируемых образцов с таковыми стандартных образцов позволило идентифициро-

вать кверцетин (t_R 40,75 мин.) и его 3-*O*-гликозиды гиперозид (t_R 18,16 мин.), авикулярин (t_R 28,49 мин.) и кверцитрин (t_R 31,28 мин.), а также кемпферол (t_R 47,40 мин.) и его 3-*O*-гликозид астрагалин (t_R 32,64 мин.). Основными компонентами нативных экстрактов был компонент 9 и гиперозид (табл. 3).

Таблица 3
Содержание флавоноидов в листьях *Rhododendron parvifolium* из популяций А–D

Компоненты	t_R , мин.*	λ max, нм	Содержание в образцах, % от абсолютно сухой массы			
			А	В	С	D
Компонент 9	7,99	292, 327 пл.	0,273 ± 0,012	0,284 ± 0,017	0,374 ± 0,017	0,381 ± 0,022
Компонент 10	8,37	292, 327 пл.	0,092 ± 0,007	0,112 ± 0,008	0,118 ± 0,004	0,111 ± 0,004
Компонент 16	16,48	256, 370	0,122 ± 0,003	0,147 ± 0,007	0,078 ± 0,002	0,110 ± 0,007
Гиперозид	18,16	256, 356	0,121 ± 0,004	0,213 ± 0,012	0,113 ± 0,003	0,178 ± 0,015
Авикулярин	28,49	254, 362	0,058 ± 0,004	0,039 ± 0,002	0,033 ± 0,002	0,152 ± 0,012
Кверцитрин	31,28	256, 350	0,033 ± 0,003	0,024 ± 0,002	0,011 ± 0,001	0,034 ± 0,004
Астрагалин	32,64	266, 350	0,042 ± 0,003	0,033 ± 0,003	0,004 ± 0,001	0,021 ± 0,002
Кверцетин	40,75	256, 374	0,038 ± 0,003	0,054 ± 0,004	0,067 ± 0,003	0,072 ± 0,007
Кемпферол	47,40	270, 372	0,037 ± 0,002	0,013 ± 0,001	0,044 ± 0,003	0,001 ± 0,000
Сумма флавоноидов **			1,253 ± 0,032	1,183 ± 0,028	1,123 ± 0,023	1,324 ± 0,033

Примеч.: * Условия ВЭЖХ: режим 2. ** – в сумму входит также содержание минорных компонентов, концентрация которых не отражена в таблице.

В гидролизованных экстрактах листьев *R. parvifolium* с помощью метода ВЭЖХ обнаружено девять флавоноидных соединений. Сопоставление времен удерживания компонентов на хроматограммах анализируемых образцов и их УФ-спектров с таковыми стандартных образцов позволило идентифицировать пять агликонов: дигидрокверцетин, мирицетин, кверцетин, лютеолин и кемпферол (табл. 4). Неидентифицированные агликоны 6 и 9 по спектральным характеристикам отнесены к флавонолам, агликон 4 – к флавонам. Характерная форма спектра компонента 2 с пятью выраженными максимумами (рис. 3), позволила

идентифицировать этот компонент как госсипетин.

Основными агликонами листьев *R. parvifolium* были кверцетин и дигидрокверцетин. Популяции В (Амурская обл., хр. Тукурингра) и D (Якутия, хр. Западный Янги) выделялись значительным суммарным содержанием агликонов флавоноидов с высокой долей дигидрокверцетина. Листья растений из популяции с хребта Западного Янги и ранее отличались по этим признакам (Карпова, Karakulov, 2013).

Исследованные популяции *R. parvifolium* различались по наличию лютеолина, обнаружен-

ного только в популяции А, для которой было характерно относительно высокое содержание агликона 4 (t_R 4,94 мин.) (рис. 4).

Содержание свободных агликонов (кверцетина и кемпферола) в сумме агликонов у популя-

ций варьировало от 6,60 до 11,02 %. Кемпферол присутствовал преимущественно в свободном виде, а кверцетин и мирицетин – в связанном, так же, как и в исследованных ранее образцах (Karpova, Karakulov, 2013).

Таблица 4

Состав и содержание агликонов флавоноидов в листьях *Rhododendron parvifolium*
из популяций А–D

№	Компоненты	t_R , мин.*	λ_{max} , нм	Содержание в образцах, % от абсолютно сухой массы			
				А	В	С	Д
1	Дигидрокверцетин	2,55	290	0,382 ± 0,020	0,52 ± 0,050	0,431 ± 0,026	0,523 ± 0,015
2	Госсипетин	3,46	260, 276, 307, 340, 385	0,034 ± 0,003	0,043 ± 0,005	0,030 ± 0,002	0,104 ± 0,007
3	Мирицетин	3,82	254, 272 пл., 301 пл., 374	0,040 ± 0,003	0,074 ± 0,007	0,042 ± 0,002	0,072 ± 0,003
4	Компонент 4	4,94	270, 340	0,094 ± 0,012	0,030 ± 0,003	0,044 ± 0,002	0,024 ± 0,002
5	Кверцетин	6,87	256, 370	0,429 ± 0,029	0,532 ± 0,018	0,364 ± 0,012	0,591 ± 0,015
6	Компонент 6	7,25	270, 370	0,052 ± 0,006	0,081 ± 0,002	0,041 ± 0,002	0,070 ± 0,002
7	Лютеолин	8,86	250, 350	0,007 ± 0,000	н.о.**	н.о.	н.о.
8	Кемпферол	11,78	269, 372	0,033 ± 0,004	0,043 ± 0,001	0,044 ± 0,002	0,032 ± 0,002
9	Компонент 9	13,16	270, 370	0,024 ± 0,003	0,023 ± 0,002	0,022 ± 0,001	0,062 ± 0,004
	Сумма агликонов			1,078 ± 0,069	1,424 ± 0,035	1,000 ± 0,040	1,644 ± 0,049
	Сумма свободных агликонов			0,075 ± 0,004	0,067 ± 0,002	0,111 ± 0,006	0,073 ± 0,002
	Доля свободных агликонов в сумме, %			6,60 ± 0,42	4,36 ± 0,10	11,02 ± 0,69	4,37 ± 0,27

Примеч.: * Условия ВЭЖХ: режим 1. ** н.о. – не обнаружено.

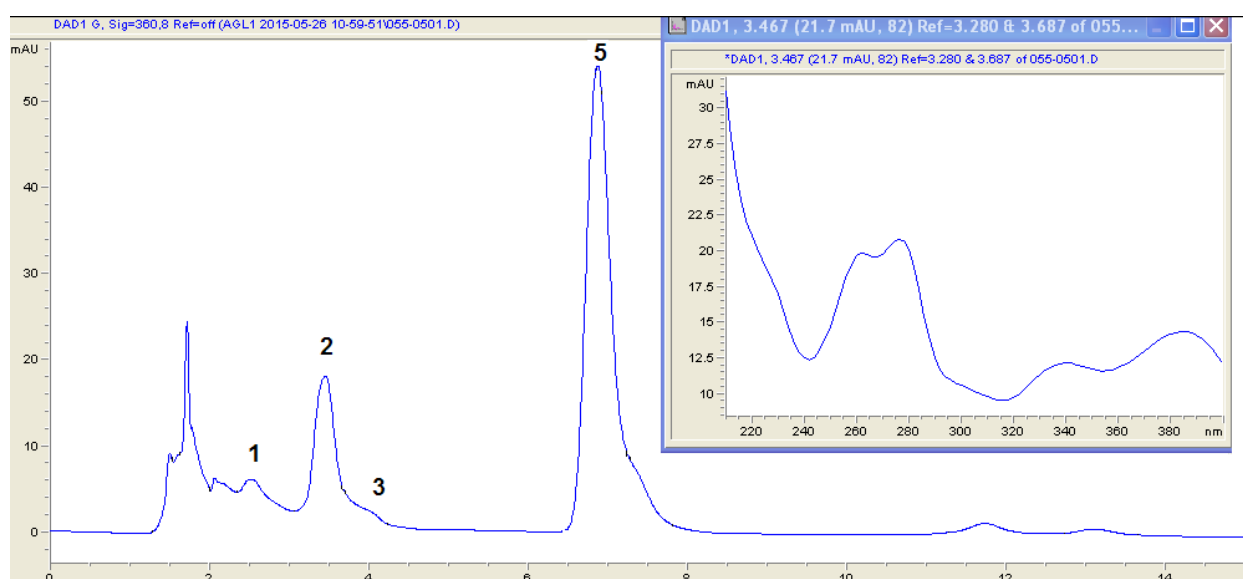


Рис. 3. Фрагмент хроматограммы гидролизованного экстракта листьев *Rhododendron parvifolium* из популяции D (режим разделения 1, детектирование при 360 нм) и ультрафиолетовый спектр компонента со временем удерживания 3,46 мин.

Условные обозначения: в соответствии с табл. 4.

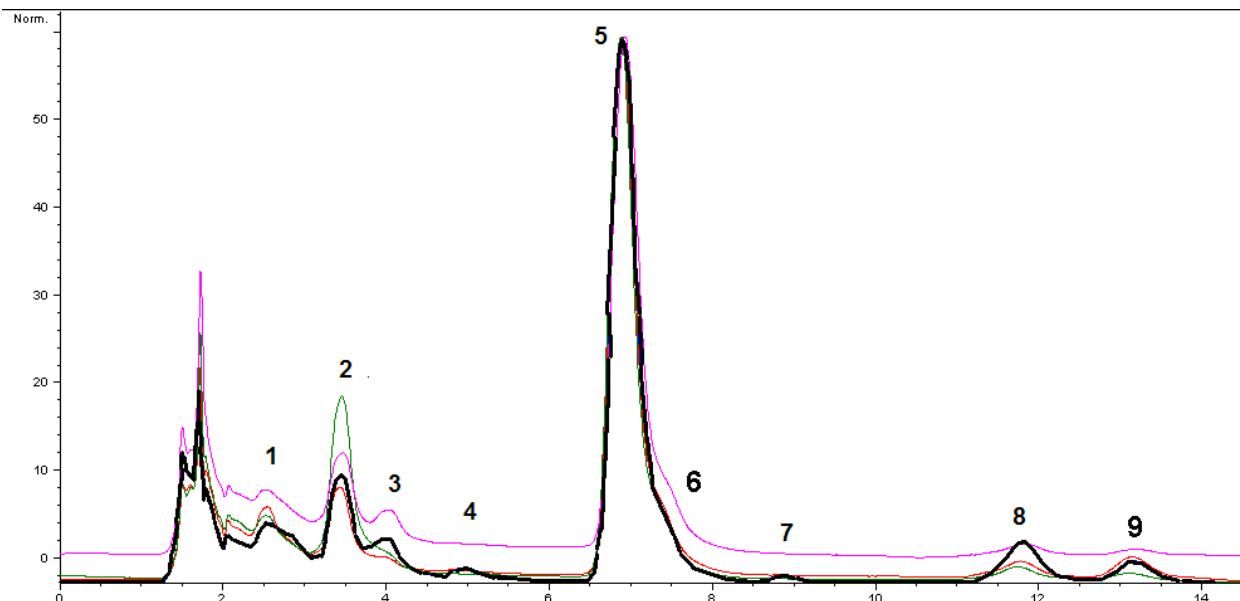


Рис. 4. Хроматограммы гидролизованных экстрактов листьев *Rhododendron parvifolium* из исследованных популяций (режим разделения 1, детектирование при 360 нм). Выделена хроматограмма гидролизованного экстракта листьев растений из популяции А.

Условные обозначения: в соответствии с табл. 4.

Для дальнейшей идентификации флавоноидов использовали метод ВЭЖХ-МС. При сравнении хроматограмм нативных экстрактов листьев *R. parvifolium* и смеси стандартных образ-

цов были идентифицированы гиперозид (t_r 18,51 мин.), авикулярин (t_r 19,54 мин.) и кверцетин (t_r 21,46 мин.). Остальные пики были идентифицированы по УФ- и масс-спектрам (табл. 5).

Таблица 5

Основные флавоноидные компоненты листьев *Rhododendron parvifolium*

№ пика	t_R , мин.*	λ_{max} , нм	ESI-МС, m/z [M-H] ⁻	Соединение
7	14,30	260, 274, 306, 342, 365	479	гексозид госсипетина
9	16,07	292, 327 пл.	435	пентозид дигидрокверцетина
10	16,30	292, 327 пл.	449	дезоксигексозид дигидрокверцетина
17	18,51	256, 362	463	3- <i>O</i> -галактозид кверцетина (гиперозид)**
19	18,97	256, 362	433	пентозид кверцетина
20	19,20	254, 362	433	пентозид кверцетина
23	19,54	252, 354	433	3- <i>O</i> -арабинозид кверцетина (авикулярин)**
28	21,46	256, 374	301	кверцетин**

Примеч.: * Условия ВЭЖХ: режим 3. ** Соединения идентифицированы в сравнении с данными стандартных образцов.

Спектральные данные компонента 7 со временем удерживания 14,30 мин. характеризовали его как гексозид госсипетина (m/z 479). Госсипетин и его гликозиды отличаются от аналогичных производных мирицетина, имеющих одинаковые массы молекулярных ионов, более длинноволновым положением второй полосы поглощения: 261–276 нм для госсипетина и 250–255 нм для мирицетина. Максимумы УФ-спектра компонента 7 (274 и 342 нм) соответствовали максимумам

3-*O*-галактозида и 3-*O*-глюкозида госсипетина (Suzuki et al., 2008).

Известно, что 3-*O*-гликозиды госсипетина являются таксономическими маркерами семейств Ericaceae, Fabaceae и Malvaceae (Harborne, 1969). В листьях представителей рода *Rhododendron* госсипетин был обнаружен только в форме 3-*O*-галактозида (De Loose, 1970; Harborne, Williams, 1971). Отсутствие современных данных по идентификации производных госсипетина

у представителей рода не позволяет исключить вероятности наличия и альтернативных структур, в первую очередь, 3-*O*-глюкозида. При этом следует отметить, что вероятность обнаружения такого соединения у этого вида крайне мала, так как сообщения об обнаружении глюкозидов госсипетина у представителей семейства Ericaceae отсутствуют.

Характерная форма УФ-спектров компонентов 9 и 10 (λ_{\max} , нм: 292 нм) указывала на их принадлежность к флаванонолам (дигидрофлавонолам). Массы молекулярных ионов этих компонентов (m/z 435 и 354 соответственно) позволили идентифицировать их как пентозид и дезоксигексозид дигидрокверцетина. Наиболее вероятной структурой пентозида является 3-*O*-арабинозид дигидрокверцетина – один из наиболее известных маркеров рода *Rhododendron* (Harborne, Williams, 1971; Li et al., 2009; Zhou et al., 2012). Однако полностью нельзя исключить возможность наличия ксилозида дигидрокверцетина, который был выделен из листьев и стеблей другого представителя секции *Rhododendron* (Luo et al., 2009). Наиболее вероятной структурой дезоксигексозида может быть 3-*O*-рамнозид дигидрокверцетина (астильбин) (Luo et al., 2009).

Данные УФ-спектра и масса молекулярного иона m/z 463 компонента 18 со временем удерживания 18,67 мин. соответствовали 3-*O*-рамнозиду мирицетина (мирицитрину) (Batista et al., 2011), обнаруженному во многих видах рода *Rhododendron* (Komissarenko, Levashova, 1980; Yang et al., 2009; Jaiswal et al., 2012; Mok, Lee, 2013).

УФ-спектры и массы молекулярных ионов компонентов 19 и 20 характеризовали их как гликозиды кверцетина, углеводная часть молекул которых представлена пентозами арабинозой или ксилозой. Ранее в листьях представителей рода *Rhododendron* были выявлены различные изомер-

ры пентозидов кверцетина с молекулярной массой 434 а.е.м., в том числе 3-*O*- α -L-арабинофуранозид (авикулярин) (Oganesyan et al., 1971; Komissarenko, Levashova, 1980), 3-*O*- β -D-арабинопиранозид (гвайаверин), 3-*O*- β -L-арабинофуранозид (полистахозид), 3-*O*- β -D-ксилопиранозид (рейнутрин) (Dai, Yu, 2005; Song et al., 2009).

Таким образом, результаты идентификации, проведенной методом ВЭЖХ-МС, в целом соответствуют данным, полученным методом ВЭЖХ. Подтверждено наличие в листьях *R. parvifolium* гликозидов кверцетина и дигидрокверцетина, а также отсутствие мирицетина в свободном виде. При этом не были обнаружены рутин и дигидрокверцетин, идентифицированные ранее в растениях этого вида (Karpova, Karakulov, 2013; Li et al., 2014).

Отличия популяций в составе гликозидов флавоноидов были выявлены только по одному минорному компоненту 29 с m/z 447, охарактеризованному как гексозид кемпферола или лютеолина. Это соединение было выявлено только в листьях растений из популяции А (рис. 5), гидролизованные экстракты листьев которой отличались присутствием лютеолина.

Дендрограмма, построенная по результатам кластерного анализа данных по содержанию агликонов флавоноидов в листьях, показала, что популяции разбились на две группы (рис. 6). В одну группу вошли популяции А и С, в другую – В и D. Такое распределение, вероятно, объясняется влиянием биотопов, в которых произрастали данные популяции. Популяции А и С произрастали на сфагновых болотах, а популяции В и D – на гольцах. В последних популяциях отмечено повышенное содержание суммы флавоноидов, в том числе гликозидов дигидрокверцетина, мирицетина, кверцетина, агликонов 6 и 9, а также свободных кверцетина и кемпферола.

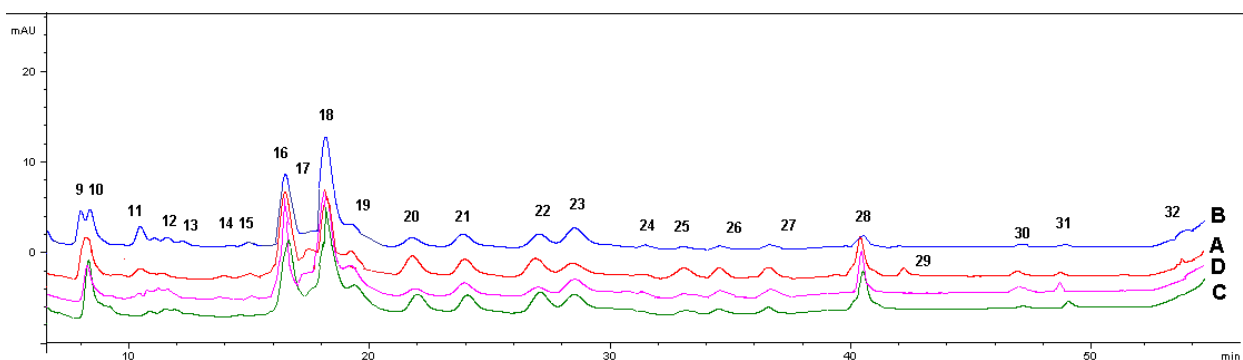


Рис. 5. Фрагменты хроматограмм экстрактов листьев *Rhododendron parvifolium* (режим разделения 2, детектирование при 350 нм).

Примеч.: время удерживания основных компонентов в соответствии с таблицей 3.

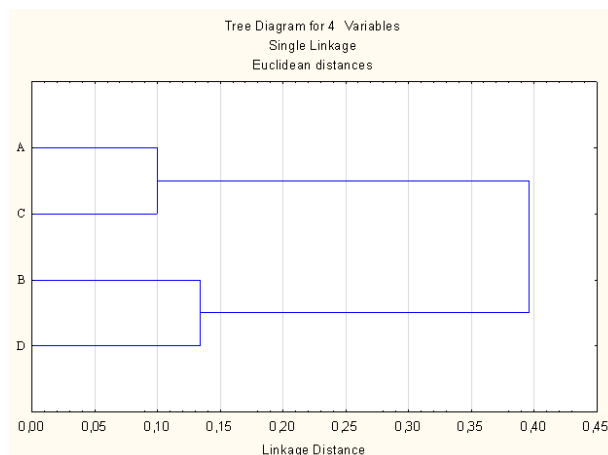


Рис. 6. Дендрограмма распределения популяций *Rhododendron parvifolium* по результатам кластерного анализа данных содержания агликонов флавоноидов в гидролизованных экстрактах листьев.

Варьирование состава агликонов и *O*-гликозидов флавоноидов в объектах из различных условий произрастания было описано ранее для различных видов (Harborne, Williams, 2000; Fini et al., 2011). Оно может затрагивать как содержание компонентов (Khramova, Vysochina, 2010), так и их состав (Sosa et al., 2005). При этом нередко наиболее существенные изменения

концентрации наблюдаются у компонентов, содержащихся в небольших количествах (Morales et al., 2010). В стрессовых условиях может изменяться и агликоновый состав листьев (Karpova et al., 2016a).

Поэтому, несмотря на обособление двух кластеров, основанное на разнице в содержании флавоноидных компонентов, минимальные различия в составе агликонов листьев *R. parvifolium* из разных популяций свидетельствовало о незначительных различиях в составе флавоноидов между ними. Единственным и наиболее значимым является отличие популяции А по содержанию минорного компонента – гликозида лютеолина, вероятно, связанное с разницей в условиях произрастания.

Место локализации популяции А отличается от мест локализации остальных популяций более мягким климатом. Среднегодовая температура здесь близка к 0 °С, а средние значения температур июля и января выше аналогичных показателей остальных местообитаний *R. parvifolium*. Другой особенностью экотопа является пониженное количество осадков (488 мм), которое компенсируется высокой влажностью воздуха из-за близости оз. Байкал (табл. 6).

Таблица 6

Климатические условия районов произрастания популяций А–D

Показатель	А	В	С	Д
Среднегодовая температура, t °С	-0,1	-0,8	-6,9	-5,5
Средняя температура июля, t °С	+18	+17,5	+16,1	+16,6
Средняя температура января, t °С	-19,5	-24,2	-30,4	-26,3
Максимальная температура, t °С	+34	+40	+34,8	+35,2
Минимальная температура, t °С	-46	-48,9	-61	-48,7
Среднегодовое количество осадков, мм	488	557	570	718

Разница в составе минорных агликонов была обнаружена нами и у других таксонов растений, имеющих определенные морфологические отличия (Karpova et al., 2016b), что указывает на перспективность изучения минорных агликонов как маркеров физиологического и таксономического статуса растений.

Заключение

Результаты морфометрического анализа свидетельствуют о достоверных отличиях исследованных популяций по высоте растений, длине и ширине листьев. Длина черешка и листовой индекс различаются незначительно.

Флавоноиды листьев растений исследованных популяций представлены гликозидами диги-

дрокверцетина (3-*O*-арабинозид, 3-*O*-рамнозид), кверцетина (3-*O*-галактозид, 3-*O*-арабинозиды), госсипетина, кемпферола (3-*O*-глюкозид), миритетина, а также кверцетином и кемпферолом в свободном виде.

Популяция А (Иркутская область, окрестности г. Слюдянка), место произрастания которой характеризуется относительно более высокими температурами и пониженным количеством осадков по сравнению с местообитаниями остальных изученных популяций, отличается от них по морфологическим признакам и по составу агликонов флавоноидов. Это дает основание для уточнения ее таксономического статуса.

Популяции, произрастающие на гольцах и щебнистых субстратах (В и D), в отличие от

популяций, растущих на сфагновых болотах, характеризовались повышенным содержанием суммы флавоноидов, в том числе гликозидов дигидрокверцетина, мирицетина, кверцетина, агликонов 6 и 9, а также свободных кверцетина и кемпферола.

Анализ морфометрических показателей и состава флавоноидов *R. parvifolium* из популяций Сибири и Дальнего Востока свидетельствует о наличии эколого-географической изменчивости. Межпопуляционные различия по морфометрическим показателям более значительны, чем по химическим. При этом первые более связаны с климатическими, а вторые – с эдафическими

факторами произрастания.

Благодарности

Работа выполнена в рамках государственного задания Центрального сибирского ботанического сада СО РАН № АААА – А17 – 117012610054 – 6 по проекту «Анализ внутривидовой структуры ресурсных растений Азиатской России, отбор и сохранение генофонда», УНУ № USU 4400534.

При подготовке публикации использовались материалы биоресурсной научной коллекции ЦСБС СО РАН «Гербарий высших сосудистых растений, лишайников и грибов (NSK)», УНУ № USU 440537.

REFERENCES/ЛИТЕРАТУРА

- Aleksandrova M. S.** 1975. *Rhododendrony prirodnoy flory SSSR [Rhododendrons of natural flora of the USSR]*. Nauka, Moscow, 112 pp. [In Russian]. (**Александрова М. С.** Рододендроны природной флоры СССР. М.: Наука, 1975. 112 с.).
- Batista A. N. L., Colombo R., Pascoli I. C., Teles H. L., Silva G. H., Bomfim G. C. C., Burgos R. C. R., Cavaleiro A. J., Bolzani V. S., Silva D. H. S., Reimberg M. C. H.** 2011. Development and validation of a HPLC method for standardization of herbal and commercial extracts of *Myrcia uniflora*. *Braz. J. Pharmacogn.* 21(3): 402–406. DOI: 10.1590/S0102-695X2011005000066
- Belousov M. V., Berezovskaya T. P., Komissarenko N. F., Tikhonova L. A.** 1998. Flavonoids of Siberian and Far-Eastern species of rhododendrons of the subgenus *Rhodorastrum*. *Chem. Nat. Compd.* 34(4): 510–511.
- Belousov M. V., Saratikov A. S., Akhmedjanov R. R., Berezovskaya T. P., Yusubov M. S., Basova E. V.** 2006. The biological activity of family Ericaceae species of flora of the Far East and Siberia. *Rastitelnyye resursy [Plant Resources]* 42, 2: 90–101 [In Russian]. (**Белоусов М. В., Саратиков А. С., Ахмеджанов Р. Р., Бerezovskaya Т. П., Юсубов М. С., Дмитриук С. Е., Басова Е. В.** Биологическая активность видов семейства *Ericaceae* флоры Сибири и Дальнего Востока // Растительные ресурсы, 2006. Т. 42, вып. 2. С. 90–101).
- Campos M. G., Markham K. R.** 2007. *Structure information from HPLC and on-line measured absorption spectra: flavones, flavonols and phenolic acids*. Coimbra University Press, Coimbra Portugal, 118 pp.
- Chamberlain D.** 1996. *The genus Rhododendron, its classification and synonymy*. Royal Botanic Gardens, Edinburgh, 181 pp.
- Dai S. J., Yu D. Q.** 2005. Studies on the flavonoids in stem of *Rhododendron anthopogonoide* II. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi [China Journal of Materia Medica]* 30(23): 1830–1833.
- De Loose R.** 1970. Flavonoid glycosides in the petals of some *Rhododendron* species and hybrids. *Phytochemistry* 9(4): 875–879.
- Erdemoglu N., Akkol E. K., Yesilada E., Calis I.** 2008. Bioassay-guided isolation of anti-inflammatory and anti-nociceptive principles from a folk remedy, *Rhododendron ponticum* L. leaves. *J. Ethnopharmacol.* 119(1): 172–178. DOI: 10.1016/j.jep.2008.06.021
- Fini A., Brunetti C., Di Ferdinando M., Ferrini F., Tattini M.** 2011. Stress-induced flavonoid biosynthesis and the antioxidant machinery of plants. *Plant Signal Behav.* 6(5): 709–711. DOI: 10.4161/psb.6.5.15069
- Harborne J. B.** 1969. Gossypetin and herbacetin as taxonomic markers in higher plants. *Phytochemistry* 8(1): 177–183.
- Harborne J. B., Williams C. A.** 1971. Leaf survey of flavonoids and simple phenols in the genus *Rhododendron*. *Phytochemistry* 10(11): 2727–2744.
- Harborne J. B., Williams C. A.** 2000. Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry* 55(6): 481–504.
- Jaiswal R., Jayasinghe L., Kuhnert N.** 2012. Identification and characterization of proanthocyanidins of 16 members of the *Rhododendron* genus (Ericaceae) by tandem LC-MS. *J Mass Spectrom.* 47(4): 502–15. DOI: 10.1002/jms.2954
- Karpova E. A., Fershalova T. D., Petruk A. A.** 2016a. Flavonoids in Adaptation of *Begonia grandis* Dryander subsp. *grandis* Introduced in West Siberia (Novosibirsk). *Journal of Stress Physiology & Biochemistry* 12, 3: 44–56 [In Russian]. (**Карпова Е. А., Фершалова Т. Д., Петрук А. А.** Flavonoids in Adaptation of *Begonia grandis* Dryander subsp. *grandis* Introduced in West Siberia (Novosibirsk) // Журнал-стресс физиологии и биохимии, 2016а. Т. 12, вып. 3. С. 44–56).

Karpova E. A., Imetkhenova O. V. 2015. Phenolic compounds of representatives of sect. *Glomerati* of genus *Spiraea* L. of the flora of Siberia. *Turczaninowia* 18, 4: 108–115 [In Russian]. (**Карпова Е.А., Иметхенова О.В.** Фенольные соединения представителей секции *Glomerati* рода *Spiraea* L. флоры Сибири // *Turczaninowia*, 2015. Т. 18, вып. 4. С. 108–115). DOI: 10.14258/turczaninowia.18.4.14

Karpova E. A., Karakulov A. V. 2013. Flavonoids of some species of the genus *Rhododendron* flora of Siberia and the Far East. *Khimiya rastitelnogo syrya* [Chemistry of plant raw material] 2: 119–126 [In Russian]. (**Карпова Е. А., Каракулов А. В.** Флавоноиды некоторых видов рода *Rhododendron* флоры Сибири и Дальнего Востока // *Химия растительного сырья*, 2013. № 2. С. 119–126). DOI: 10.14258/jcprm.1302119

Karpova E. A., Polyakova T. A., Bochkin V. D. 2016b. Flavonoids in the leaves of *Spiraea media* var. *media* and *Spiraea media* var. *sericea* (Rosaceae). *Rastitelnyy mir Aziatskoy Rossii* [Plant Life of Asian Russia] 2: 56–64 [In Russian]. (**Карпова Е. А., Полякова Т. А., Бочкин В. Д.** Флавоноиды листьев *Spiraea media* var. *media* и *Spiraea media* var. *sericea* // *Растительный мир Азиатской России*, 2016. № 2. С. 56–64).

Khranova E. P., Vysochina G. I. 2010. Flavonoids composition and content in *Potentilla fruticosa* (Rosaceae) under the technogenic pollution in Novosibirsk. *Rastitelnyye resursy* [Plant Resources] 46, 2: 74–86 [In Russian]. (**Храмова Е. П., Высочина Г. И.** Состав и содержание флавоноидов в *Potentilla fruticosa* (Rosaceae) в условиях техногенного загрязнения в г. Новосибирске // *Растительные ресурсы*, 2010. Т. 46, вып. 2. С. 74–86).

Komarova N. I., Rogachev A. D., Chernyak E. I., Morozov S. V., Fomenko V. V., Salakhutdinov N. F. 2009. Quantitative HPLC determination of main flavonoid content of *Rhododendron adamsii* leaves and stems. *Chem. Nat. Compd.* 45(1): 27–31. DOI: 10.1007/s10600-009-9215-3

Komissarenko N. F., Levashova I. G. 1980. Biologically active substances of leaves of *Rhododendron luteum*. *Rastitelnyye resursy* [Plant Resources] 16, 3: 406–411 [In Russian]. (**Комиссаренко Н. Ф., Левашова И. Г.** Биологически активные вещества листьев рододендрона желтого // *Растительные ресурсы*. 1980. Т. 16, вып. 3. С. 406–411).

Koropachinsky I. Yu. 2015. *North Asian Woody Plants*. Vol. 2. Ed. by D. N. Shaulo. Academic publishing house “Geo”, Novosibirsk, 391 pp.

Korul'kin D. Yu., Abilov Zh. A., Muzychkina R. A., Tolstikov G. A. 2007. *Natural flavonoids*. Academic publishing house “Geo”, Novosibirsk, 232 pp. [In Russian]. (**Корулькин Д. Ю., Абилов Ж. А., Музычкина Р. А., Толстиков Г. А.** Природные флавоноиды. Новосибирск: академическое издательство «Гео», 2007. 232 с.).

Li G., Luo Y., Li S., Yang C., Tian Q., Zuo M. 2014. Chemical constituents in flowers of *Rhododendron lapponicum*. *Chinese Traditional and Herbal Drugs* 12. URL: http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTotat-ZCYO201412004.htm (Accessed 13 March 2017).

Li X., Jin H., Chen G., Yang M., Zhu Y., Shen Y., Yan S., Zhang W. 2009. Flavonoids from the aerial parts of *Rhododendron primulaeflorum*. *Natural Product Research & Development* 21(4): 612–615.

Liang J. Y., Du X. Y., Chen Y., Ma X. M., Xie R., Zhang J. 2014. Chemical constituents from leaf of *Rhododendron przewalskii*. *Zhong Yao Cai* [Journal of Chinese medicinal materials] 37(8): 1381–1382.

Luo G.-J., Ren R., Li H.-M., Li H.-Z., Li R.-T. 2009. Flavonoids from *Rhododendron spinuliferum*. *Natural Product Research & Development* 21(1): 6.

Mabry T. J., Markham K. R., Thomas M. B. 1970. *The systematic identification of flavonoids*. Springer-Verlag, Berlin – Heidelberg – New York, 354 pp.

Mirovich V. M. 2010. *Pharmacognostic study of the genera Origanum L. and Rhododendron L. of the flora of Eastern Siberia*. Abstract of the thesis of the doctor of pharmaceutical sciences. Ulan-Ude, 41 pp. [In Russian]. (**Мирович В. М.** Фармакогностическое исследование представителей родов *Origanum* L. и *Rhododendron* L. флоры Восточной Сибири: автореф. дис. ... докт. фарм. наук. Улан-Удэ, 2010. 41 с.).

Mok S., Kim H., Lee S. 2013. Isolation of astragalins from flowers of *Rhododendron mucronulatum* for. *albiflorum*. *Hortic. Environ. Biotechnol.* 54(5): 450–455. DOI: 10.1007/s13580-013-0144-5

Mok S. Y., Lee S. 2013. Identification of flavonoids and flavonoid rhamnosides from *Rhododendron mucronulatum* for. *albiflorum* and their inhibitory activities against aldose reductase. *Food Chem.* 136(2): 969–74. DOI: 10.1016/j.foodchem.2012.08.091

Morales L., Tegelberg R., Brosche M., Keinänen, M., Lindfors A., Aphalo P. J. 2010. Effects of solar UV-A and UV-B radiation on gene expression and phenolic accumulation in *Betula pendula* leaves. *Tree Physiol.* 30(7): 923–934. DOI: 10.1093/treephys/tpq051

Oganesyanyan E. T., Bandyukova V. A., Shinkarenko A. L. 1967. Flavonoids of *Rhododendron luteum* and *Rh. dahuricum*. *Khimiya prirodnykh soedineniy* [Chemistry of Natural Compounds] 3, 4: 279 [In Russian]. (**Оганесян Э. Т., Бандюкова В. А., Шинкаренко А. Л.** Флавоноиды *Rhododendron luteum* и *Rh. dahuricum* // *Химия природных соединений*, 1967. Т. 3, вып. 4. С. 279).

Oganesyanyan E. T., Bandyukova V. A., Shinkarenko A. L. 1971. Araboglycosides of quercetin in some species of the genus *Rhododendron*. *Khimiya prirodnykh soedineniy* [Chemistry of Natural Compounds] 7, 3: 346 [In Russian]. (**Оганесян Э. Т., Бандюкова В. А., Шинкаренко А. Л.** Арабогликозиды кверцетина в некоторых видах рода *Rhododendron* // *Химия природных соединений*, 1971. Т. 7, вып. 3. С. 346).

- Olennikov D. N., Tankhaeva L. M.** 2010. Phenolic compounds from *Rhododendron dauricum* from the Baical region. *Chem. Nat. Compd.* 46(3): 471–473.
- Petruk A. A., Vysochina G. I., Ershova E. A.** 2013. The dynamics of astragalins, isoquercitrin and 20-hydroxyecdysone in fronds of *Pteridium aquilinum* and *Matteuccia struthiopteris*, growing in the vicinity of Novosibirsk. *Khimiya Rastitelnogo Syr'ya [Chemistry of plant raw material]* 4: 151–157 [In Russian]. (Петрук А. А., Высочина Г. И., Ершова Э. А. Динамика астрагалина, изокверцитрина и 20-гидроксиэкдизона в вайях *Pteridium aquilinum* и *Matteuccia struthiopteris*, произрастающих в окрестностях Новосибирска // Химия растительного сырья, № 4. С. 151–157). DOI: 10.14258/jcprm.1304151
- Prakash D., Upadhyay G., Singh B.N., Dhakarey R., Kumar S., Singh K. K.** 2007. Free-radical scavenging activities of Himalayan rhododendrons. *Curr. Sci.* 92(4): 526–532.
- Song H. J., Pan Y. Y., Wang W. G., Fu L. Z., Li H. Z., Li H. M., Li R. T.** 2009. Studies on the chemical constituents from *Rhododendron delavayi*. *Zhong Yao Cai [Journal of Chinese medicinal materials]* 32(12): 1840–1843.
- Sosa T., Alias J. C., Escudero J. C., Chaves N.** 2005. Interpopulational variation in the flavonoid composition of *Cistus ladanifer* L. exudates. *Biochem. Syst. Ecol.* 33(4): 353–364. DOI: 10.1016/j.bse.2004.10.011
- Suzuki H., Sasaki R., Ogata Y., Nakamura Y., Sakurai N., Kitajima M., Takayama H., Kanaya S., Aoki K., Shibata D., Saito K.** 2008. Metabolic profiling of flavonoids in *Lotus japonicus* using liquid chromatography Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry. *Phytochemistry* 69(1): 99–111.
- Swaroop A., Prakash G. A., Kumar S. A.** 2005. Simultaneous determination of quercetin, rutin and coumaric acid in flowers of *Rhododendron arboreum* by HPTLC. *Chromatographia* 62(12): 649–652. DOI: 10.1365/s10337-005-0669-6
- Yang X., Zhang X., Yuan Z., Li X., Zhang L., Fan L.** 2009. Simultaneous determination of myricitrin, hyperin, quercitroside, and quercetin in *Folium Rhododendri micranthi* by RP-HPLC. *J. Chromatogr. Sci.* 47(8): 714–717. DOI: 10.1093/chromsci/47.8.714
- Zhang Y., Cui J., Zhao S.** 1984. TLC densitometric determination of flavonoid contents in the leaves and tablets of *Rhododendron micranthum* Turcz. *Chinese Journal of Pharmaceutical Analysis* 4(1): 1–3.
- Zhao L., Ge J., Qiao C., Zhang H., Jiang S.** 2008. Separation and quantification of flavonoid compounds in *Rhododendron anthopogonoides* Maxim by High-Performance Liquid Chromatography. *Acta Chromatographica* 20(1): 135–146. DOI: 10.1556/AChrom.20.2008.1.11
- Zhou X., Zhang Y., Liang H., Huang S., Wang C., Ping A.** 2012. Chemical constituents of *Rhododendron leptodum*. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi [China Journal of Chinese Materia Medica]* 37(4): 483–489.