

## О таксоноспецифичности флавоноидного состава в роде *Salix* L.

Г. И. ВЫСОЧИНА, Т. Н. ВСТОВСКАЯ

Центральный сибирский ботанический сад СО РАН  
630090 Новосибирск, ул. Золото долинская, 101

### АННОТАЦИЯ

Изучены флавоноиды 14 видов рода *Salix* L. – ива, произрастающих в дендрарии ЦСБС СО РАН. Обнаружены разнообразные сочетания двух флавонов – апигенина и лютеолина и трех флавонолов – кемпферола, кверцетина и мирицетина. Растения одного вида имели одинаковый качественный состав гликозидов, количество их несколько варьировало. Установлена четкая видовая специфичность гликозидированных флавоноидов.

Известно, что флавоноиды являются наиболее популярными хемотаксономическими маркерами сосудистых растений [1–3]. Особенно показательны эти вещества на родовом и видовом уровнях [4–6].

Флавоноиды рода *Salix* L. – ива обычно привлекали внимание исследователей в связи с возможностью их использования в качестве лекарственных средств; никто не рассматривал вопросы о связи этих веществ с систематическим положением растений. R. Julkunen-Tiitto [7] изучала в этом плане фенолгликозиды ив и установила их относительную видоспецифичность.

Род *Salix* L. – один из наиболее многочисленных родов древесных растений флоры России. В Сибири представлен 65 видами [8]. Ареалы ив простираются от самых южных сибирских регионов до крайних северных, где их роль в растительном покрове особенно велика. Ивы – влаголюбивые растения и чаще предпочитают берега водоёмов и речные долины.

Почти все ивы являются медоносами, кормовыми растениями, могут широко использоваться в мелиоративных целях и, отличаясь декоративностью, применяться в зелёном строительстве. Многие виды – источник дешевой

древесины и служат материалом для изготовления плетёных изделий. В народной медицине кора, листья, соцветия ивы применяются как противовоспалительные, антисептические, ранозаживляющие и болеутоляющие средства [9]. Считают, что целебные свойства ивы обусловлены в основном наличием фенолгликозидов и флавоноидов [10, 11].

Цель настоящего исследования – изучение качественного состава и содержания флавоноидов в листьях 14 видов рода *Salix* L., принадлежащих к 7 секциям, и интерпретация полученных результатов в хемотаксономическом аспекте. Исследовали растения, высаженные черенками в дендрарии ЦСБС СО РАН и в августе 1993 г., когда отбирали пробы, находившиеся в фазе вегетации после плодоношения в возрасте 8–30 лет.

Содержание флавоноидов определяли по следующей методике.

Точную навеску сырья (0,1–0,5 г), измельченного до размера частиц 1 мм, помещали в колбу емкостью 100 мл, заливали 30 мл 40%-го этанола и кипятили на водяной бане с обратным холодильником 30 мин. Повторную экстракцию проводили с 20 мл 40%-го этанола в течение 15 мин. После фильтрации сырьё в колбе и

на фильтре промывали 5 мл спирта. При соблюдении указанных условий происходит практически исчерпывающая экстракция флавоноидов. Объединенный фильтрат сгущали в фарфоровых чашечках в вытяжном шкафу до 2–3 мл (точный объем). Полученные экстракты исследовали двухмерной хроматографией на бумаге Filtrak № 15 в системах растворителей: изопропанол – муравьиная кислота – вода (2 : 5 : 5) (первое направление); н-бутанол – уксусная кислота – вода (40 : 12 : 28) (второе направление). На один лист наносили 0,10–0,15 мл экстракта в зависимости от навески и количества экстракта. Каждую пробу анализировали в трех повторностях. Одну хроматограмму проявляли парами аммиака и 5%-м раствором хлористого алюминия, две другие использовали для количественного определения. По проявленной хроматограмме уточняли расположение пятен. Каждое обнаруженное на хроматограмме пятно вырезали, измельчали, заполняли бумажной стружкой стеклянные колонки диаметром в верхней части 0,6 см, в нижней 0,1 см и высотой 0,6–0,7 см. Элюировали флавоноиды 40%-м этанолом порциями по 0,5 мл до получения объема элюата не менее 3 мл. При описанном динамическом способе элюции происходит достаточно полная десорбция флавоноидов с бумаги.

Оптическую плотность элюатов определяли на спектрофотометре СФ-26 при длине волны 360 нм. В качестве контроля использовали 40%-й этанол.

Расчет количества флавоноидных гликозидов (%) производили по формуле:

$$X = \frac{D \times V_1 \times V_2 \times 100}{M \times V_3 \times 1000},$$

где D – показатель по калибровочному графику, построенному по рутину;  $V_1$  – объем экстракта, мл;  $V_2$  – объем элюата, мл;  $V_3$  – объем экстракта, нанесенный на хроматограмму, мл; M – масса абсолютно сухого сырья, г.

Для построения калибровочного графика использовали раствор рутина в 40%-м этаноле (концентрация 1 мг/мл), который подвергали хроматографированию и элюции при условиях, описанных выше для разделения комплексов флавоноидов в исследуемых экстрактах. Общее содержание флавоноидов вычисляли суммированием количества индивидуальных

компонентов образца. Относительная ошибка использованной нами методики  $\pm 1,39\%$  [12]. Элюаты после измерения оптической плотности использовали для установления агликоновой части гликозидов.

Агликоновый состав флавоноидов исследовали хроматографией на бумаге Filtrak № 14 в системах растворителей:

1) уксусная кислота – соляная кислота – вода (30 : 3 : 10);

2) 60%-я уксусная кислота;

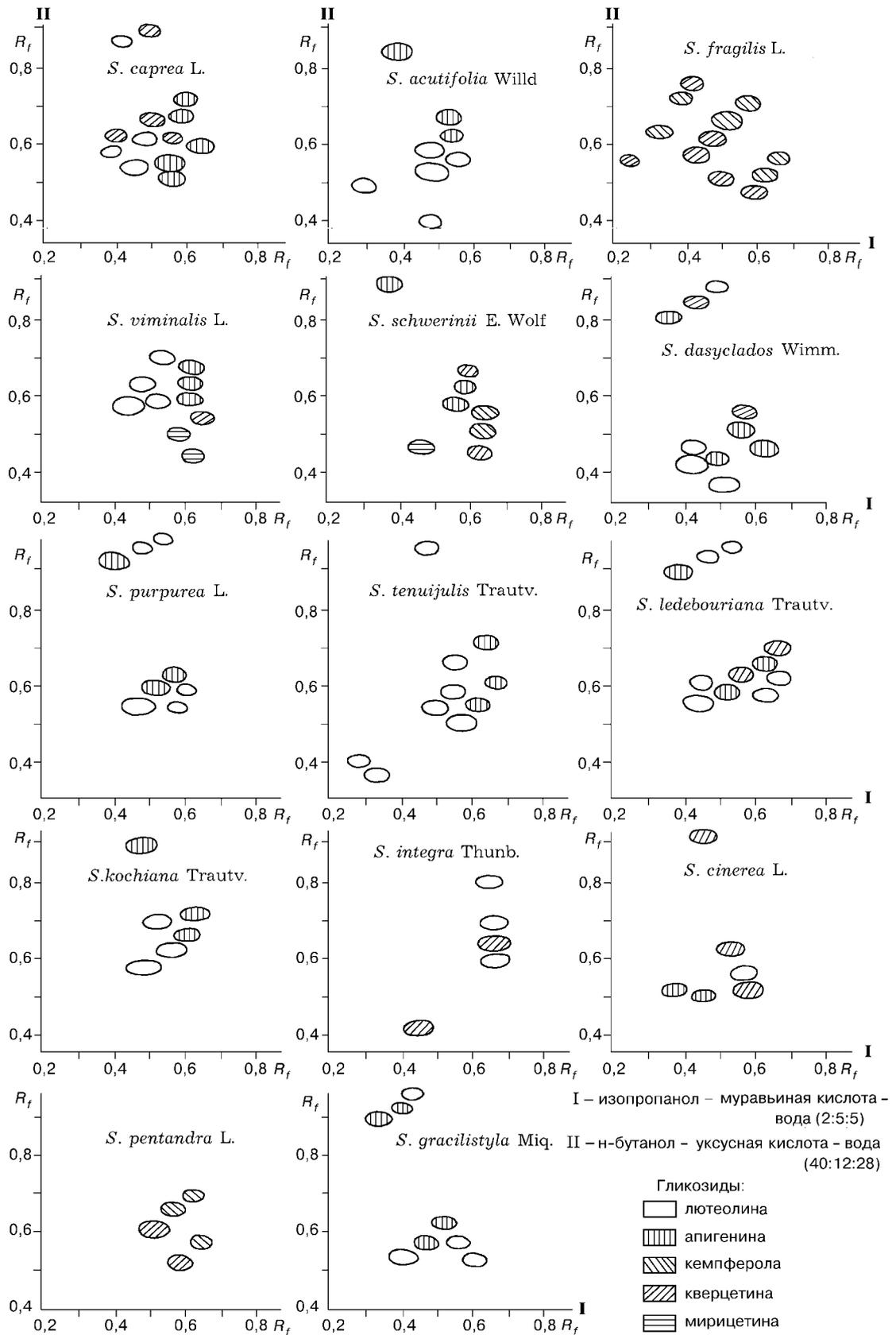
3) уксусная кислота – муравьиная кислота – вода (10 : 2 : 3).

Проявители: пары аммиака, 5%-й спиртовой раствор хлористого алюминия. Для сравнения использовали чистые вещества: флавоны апигенин, лютеолин, флавонолы кемпферол, кверцетин, мирицетин.

Для получения суммы агликонов отдельных видов проводили гидролиз гликозидов 5%-й серной кислотой в течение 2 ч на кипящей водяной бане при соотношении этанольного экстракта и кислоты 1 : 1. Извлекали агликоны диэтиловым эфиром трехкратно. Эфир удаляли в вытяжном шкафу под струей воздуха. Оставшуюся в фарфоровой чашечке смесь агликонов растворяли в 96%-м этаноле и наносили на хроматограммы. Разделив агликоны препаративно на бумаге Filtrak № 8 в одной из указанных систем и очистив их от кислот, снимали УФ-спектры индивидуальных агликонов на спектрофотометре Specord с целью подтверждения достоверности хроматографической идентификации.

Наиболее высоким содержанием флавоноидов (более 1,0 %) отличаются следующие виды: *Salix ledebouriana* Trautv., *S. kochiana* Trautv., *S. integra* Thunb., *S. acutifolia* Willd., *S. fragilis* L., *S. viminalis* L., *S. schwerinii* E. Wolf, *S. dasyclados* Wimm. Они представляют интерес для дальнейших исследований как источник флавоноидов. Наименьшее содержание – в *S. purpurea* L. и *S. caprea* L. Эти виды отличаются значительным варьированием содержания флавоноидов, во всех остальных видах оно было нормальным [13] (табл. 1).

Несмотря на разницу в содержании флавоноидов, индивидуальные растения одного вида имели одинаковый качественный состав флавоноидов, т. е. обнаруживается четкая видовая



Схемы двухмерных хроматограмм этанольных экстрактов листьев видов рода *Salix* L.

специфичность флавоноидов. Вероятно, в дикорастущих особях мы могли бы наблюдать некоторое варьирование по этому признаку. На рисунке представлены схемы хроматограмм этанольных экстрактов листьев 14 видов ивы. Для каждого гликозида установлена агликоновая часть. Можно отметить сходство некоторых видов, например, *S.purpurea* L. и *S.gracilistyla* Miq., *S.ledebouriana* Trautv. и *S.dasyclados* Wimm., однако для каждого вида состав гликозидов индивидуален.

При исследовании агликонового состава флавоноидов обнаружены разнообразные сочетания двух флавонов – апигенина и лютеолина и трех флавонолов – кемпферола, кверцетина и мирицетина (табл. 2). В пяти видах присутствуют одни флавоны, в двух – одни флавонолы, в семи видах – и те и другие. Наиболее распространенными агликонами являются апигенин и лютеолин (каждый обнаружен в одиннадцати видах) и кверцетин (в девяти видах). Кемпферол найден только в трех видах, мирицетин – в двух.

Рассматривая агликоновый состав видов ивы в связи с секционной принадлежностью, нельзя не отметить тенденцию к сходству его в пределах секции. Так, для секции *Helix* лютеолин является главенствующим флавоном, гликозиды лютеолина во всех ее видах преобладают. Лютеолину сопутствует второй флавоны, апигенин. Гликозиды апигенина отсутствуют в *S.integra* Thunb. Этот вид ивы вообще стоит особняком в этой секции и значительно отличается от близкого к нему, по мнению ботаников, *S.kochiana* Trautv. Наличием кверцетина *S.integra* Thunb. сходен с *S.ledebouriana* Trautv. К сожалению, остальные секции представлены 1–3 видами. *S.acutifolia* Willd. и *S.gracilistyla* Miq. из секций *Daphnella* и *Subviminalis*, как и виды секции *Helix*, имеют в качестве главного агликона лютеолин, ему сопутствует апигенин. Оба вида секции *Vetrix* – *S.cinerea* L. и *S.caprea* L. имеют одинаковый состав агликонов, но у первого вида преобладают гликозиды кверцетина, у второго – апигенина. Выделяются полным отсутствием флавонов *S.fragilis* L. и *S.pentandra* L. из секций *Salix* и *Pentandrae*, причем главным агликоном в обоих случаях является кемпферол. В секции *Vimen* появляется мирицетин – в *S.viminalis* L. и *S.schwerinii*

*E.Wolf. S.dasyclados* Wimm. очень близок к *S.ledebouriana* Trautv. В *S.schwerinii* E.Wolf. преобладают гликозиды кемпферола.

Обнаруженная нами тенденция к сходству агликонового состава флавоноидов видов, принадлежащих к одной секции, требует подтверждения на более обширном в систематическом плане материале по этому роду.

В заключение следует отметить, что дендрофлора вообще по сравнению с травянистыми растениями изучается гораздо меньше в биохимическом отношении, хотя народная медицина высоко оценивает древесные растения в качестве источника лечебных средств. Именно эта группа растений представляет огромное биохимическое разнообразие.

Что касается хемотаксономических исследований, то дендрохемосистематика, имеющая свою специфику, испытывает определенные трудности в своем развитии, особенно в связи с проблемой изменчивости химических признаков. В долговечных древесных растениях очень сильны возрастные изменения. Существует также ярко выраженная эндогенная изменчивость, которая "бывает порой весьма велика, и ее уровни могут по отдельным признакам превышать индивидуальную изменчивость" [14]. Следует отметить также позднее наступление репродуктивной фазы, огромный генетический полиморфизм в пределах обширных ареалов и сложность популяционно-генетической структуры доминирующих в фитоценозах видов древесных. Все это создает определенные трудности в исследовании систематики этих растений. Использование флавоноидов в качестве хемотаксономических маркеров вследствие их таксоноспецифичности может помочь в решении тех проблем, которые обычными методами решить затруднительно.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. М. Г. Пименов, Л. Ф. Борисова, *Итоги науки и техники. Сер. Ботаника*, 1987, 1, 7–95.
2. T. Swain, Flavonoids as Chemotaxonomic Markers in Plants, Pigments in Plants, Berlin, 1981, 224–236.
3. J. B. Harborne, *Biochem. Systematics and Ecology*, 1977, 5, 7–22.
4. R. Paris, P. Delaveau, *Memoires*, 1965, 143–149.
5. A. Cronquist, *Chemosystematics: Principles and Practice*, L., NY, Ac.Press, 1980.
6. D. J. Crawford, *Bot. Rev.*, 1978, 44, 431–456.
7. R. Julkunen-Tiitto, *Phytochemistry*, 1986, 25: 3, 663–667.

8. И. Ю. Коропачинский, Древесные растения Сибири, Новосибирск, Наука, Сиб. отд-ние, 1983.
9. Растительные ресурсы СССР: цветковые растения, их химический состав, использование; Семейства Раеопі-асеае – Thymelaeaceae, Л., Наука, Ленингр. отд-ние, 1985.
10. А. И. Шретер, Лекарственная флора советского Дальнего Востока, М., Медицина, 1975.
11. В. Г. Минаева, Лекарственные растения Сибири, Новосибирск, Наука, Сиб. отд-ние, 1991.
12. Г. И. Высочина, Т. Г. Кульпина, Т. П. Березовская, *Растит. ресурсы*, 1987, 2, 229–234.
13. Г. Н. Зайцев, Математика в экспериментальной ботанике, М., Наука, 1990.
14. С. А. Мамаев, Л. А. Семкина, *Растит. ресурсы*, 1981, 1, 15–23.

### **On Taxonspecificity of Flavonoid Composition of the Genus *Salix* L.**

G. I. VYSOCHINA, T. N. VSTOVSKAYA

Flavonoids of 14 species of the genus *Salix* L. growing in the arboretum of Central Siberian Botanical Garden, SB RAS were studied. Different combinations of two flavones – apigenin and luteolin and three flavonols – kaempferol, quercetin and myricetin have been found. Individuals of the same species have identical compositions of glycosides but their quantity varies. A well-defined species specificity of flavonoid glycosides has been established.

Т а б л и ц а 1

Содержание флавоноидов в листьях некоторых видов рода *Salix* L., %

№	Вид	Отдельные растения									М	V
		1	2	3	4	5	6	7	8	9		
1.	<i>Salix purpurea</i>	0,21	0,61	0,39							0,40	50,0
2.	<i>S. tenuijulis</i>	0,87	0,82	0,36							1,02	29,2
3.	<i>S. ledebouriana</i>	1,23	1,90	1,44	1,54						1,53	18,3
4.	<i>S. kochiana</i>	1,81	2,57	2,05	1,97	2,27	1,92	2,92	1,87	1,48	2,10	20,5
5.	<i>S. integra</i>	1,32	1,58								1,45	12,7
6.	<i>S. cinerea</i>	0,20	0,62	0,49	0,24	0,40					0,39	44,7
7.	<i>S. caprea</i>	0,63	0,76	0,74	0,86	0,67	0,74				0,73	10,8
8.	<i>S. acutifolia</i>	1,09	2,17	1,78							1,68	32,5
9.	<i>S. fragilis</i>	1,07	0,99	1,08							1,05	4,6
10.	<i>S. viminalis</i>	1,05	1,63	1,07	1,50	1,31					1,31	19,6
11.	<i>S. schwerinii</i>	1,31	1,20	1,32	0,76	1,18	1,04				1,12	17,6
12.	<i>S. dasyclados</i>	1,85	2,10	1,15	1,78	1,74					1,72	20,3
13.	<i>S. pentandra</i>	0,94	1,17	0,83	0,81						0,94	17,6
14.	<i>S. gracilistyla</i>	0,64	0,57	0,64	0,82						0,67	13,8

Т а б л и ц а 2

Агликоны флавоноидных соединений в листьях некоторых видов рода *Salix* L.

Агликоны УФ спектр (нм) в этаноле	Секции													
	Helix					Vetrix		Daph- nella	Salix	Vimen			Pentandrae	Subvi- minalis
	<i>S. pur- purea</i>	<i>S. tenui- julis</i>	<i>S. lede- bouriana</i>	<i>S. ko- chiana</i>	<i>S. in- tegra</i>	<i>S. ci- nerea</i>	<i>S. caprea</i>	<i>S. acu- tifolia</i>	<i>S. fragilis</i>	<i>S. vimi- nalis</i>	<i>S. schwe- rinii</i>	<i>S. dasy- clados</i>	<i>S. pen- tandra</i>	<i>S. graci- listyla</i>
Апигенин 269, 336	+	+	+	+		+	+	+		+	+	+		+
Лютеолин 255, 350	+	+	+	+	+	+	+			+		+		+
Кемпферол 268, 368									+		+		+	
Кверцетин 255, 374			+		+	+	+		+	+	+	+	+	
Мирицетин 256, 374										+	+			

П р и м е ч а н и е. Знак + означает присутствие агликона в указанном виде.