

СЕЗОННАЯ ДИНАМИКА ИЗМЕНЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ ФЛАВОНОИДОВ И ДУБИЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ В ЛИСТЬЯХ И СОЦВЕТИЯХ *SALIX ALBA* (*SALICACEAE*)

А.А. Петрук

Центральный сибирский ботанический сад,
630090, Новосибирск, ул. Золотодолинская, 101, e-mail: pet.a@mail.ru

Определена сезонная динамика изменения содержания флавоноидов и дубильных веществ у *Salix alba*, *S. alba* var. *vitellina* и *S. alba* × *S. blanda*. Наибольшее количество веществ находится в листьях изученных растений. Максимумы содержания флавоноидов и дубильных веществ в соцветиях приходятся на период полного цветения, в листьях – в период их активного роста, а также в конце вегетационного периода, перед началом листопада.

Ключевые слова: *Salicaceae*, *Salix*, флавоноиды, дубильные вещества.

THE SEASONAL DYNAMIC OF THE CONTENTS OF FLAVONOIDS AND TANNINS IN *SALIX ALBA* (*SALICACEAE*)

A.A. Petruk

Central Siberian Botanical Garden, SB RAS,
630090, Novosibirsk, Zolotodolinskaya str., 101, Russia, e-mail: pet.a@mail.ru

In this study we determined the concentration of flavonoids and tannins in *Salix alba*, *S. alba* var. *vitellina*, and *S. alba* × *S. blanda*. The highest concentrations of these compounds were observed in leaves. In inflorescences, the concentration of flavonoids and tannins is at maximum during the full bloom; in leaves, during the phase of active growth and in the end of the vegetation period before defoliation.

Key words: *Salicaceae*, *Salix*, flavonoids, tannins.

ВВЕДЕНИЕ

Флавоноиды и дубильные вещества относятся к фенольным соединениям, которые представляют собой один из наиболее распространенных классов природных соединений, обладающих широким спектром биологической активности (Харборн, 1968; Запрометов, 1994; и др.).

Очевидный интерес по содержанию фенольных соединений представляют виды рода *Salix* L. Ивы – один из наиболее активно изучаемых таксонов по химическому содержанию веществ. Наиболее известные в мире лекарственные препараты, в составе которых содержатся экстрактивные вещества ивы, созданы в России, Канаде, США, Германии, Голландии, Франции и Польше (Зузук и др., 2005). Чаще всего основным компонентом препаратов является сухой экстракт коры ивы белой (*S. alba* L.). Она также востребована в тибетской, монгольской, бурятской медицине. Это обусловлено тем, что кора ивы белой обладает вяжущим, гемостатическим, диуретическим, жаропонижающим и дезинфицирующим действием. Использование коры может быть рекомендовано при лечении таких заболеваний, как простуда, ревматизм, подагра, невроты и др. По сравнению с корой, листья и соцветия

ивы используются в приготовлении лекарственных препаратов в меньшей степени, однако они также обладают важными терапевтическими свойствами: листья – как жаропонижающее, мужские соцветия – для лечения тахикардии, листья и соцветия – для лечения невроты (Буданцев, Лесиовская, 2001).

В настоящее время ведутся работы по фармакологическому изучению и биологически активным веществам ивы (Шиков и др., 2004). В листьях *S. alba* обнаружены такие флавоноиды, как апигенин, 7-*O*-(4-*O*-п-кумароил)глюкозид апигенина, кверцетин, изокверцитрин, рутин, лютеолин, 7-глюкозид лютеолина, моноглюкозид рамнетина, изорамнетин, 3-*O*-глюкозид изорамнетина, нарциссин, альбозид, диосметин, аментофлавоин, купрессусфлавоин, нарингенин; в пыльце – астрагалин, кверцимеритрин, 3,7-ди-*O*-глюкозид кверцетина (Растительные ресурсы СССР..., 1986; Растительные ресурсы России..., 2009; Qizhen et al., 2004).

Цель настоящего исследования – сравнительное изучение динамики содержания флавоноидов и дубильных веществ в листьях и соцветиях дикорастущих и интродуцированных представителей *S. alba*, ее культурной формы и гибрида.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для работы послужили сборы автора (май–сентябрь 2010 г.) листьев и соцветий *S. alba* (мужской и женский экземпляры) из природной флоры Алтайского края (Павловский р-н, окр. с. Колыванское), а также сборы интродуцированных культурной формы и гибрида ивы белой: *S. alba* var. *vitellina* (L.) Stokes (женский экземпляр) и *S. alba* × *S. blanda* Anderss. (экземпляр с мужскими и обоеполыми соцветиями) на территории дендропарка Центрального сибирского ботанического сада СО РАН (г. Новосибирск).

Количественное определение флавоноидов проводили по методике, основанной на методе В.В. Беликова (1970), в котором использована реакция комплексообразования флавоноидов с хлоридом алюминия. Спектрофотометрическое определение суммарного содержания флавоноидов в листьях проводили следующим образом. Точную навеску воздушно-сухого сырья (около 0.5 г), измельченного и просеянного через сито с отверстиями диаметром 1 мм, помещали в колбу объемом 100 мл и исчерпывающе экстрагировали 70%-м этиловым спиртом, контролируя полноту экстракции реакцией с 5%-м раствором NaOH (до исчезновения желтой окраски), далее измеряли объем профильтрованного объединенного экстракта. Затем в мерную пробирку вносили 0.1 мл экстракта, приливали 0.2 мл 2%-го раствора $AlCl_3$ в 96%-м этиловом спирте и доводили объем до 5 мл этанолом такой же концентрации. В контрольном варианте к 0.1 мл экстракта приливали 1–2 капли 30%-й уксусной кислоты и доводили объем до 5 мл. Растворы перемешивали и через 40 мин измеряли оптическую плотность с хлоридом алюминия на спектрофотометре СФ-26 при 415 нм в кювете с толщиной слоя 1 см, используя для

сравнения раствор с кислотой. Суммарное содержание флавоноидов (x , в % от массы воздушно-сухого сырья) определяли по формуле

$$x = \frac{Y \times V_1 \times V_2 \times 100}{M \times V_3 \times 1\,000\,000},$$

где Y – содержание флавоноидов в 1 мл испытываемого раствора, найденное по калибровочному графику, построенному по рутину, мкг; V_1 – объем экстракта, мл; V_2 – объем разведения, мл; V_3 – объем экстракта, взятый для анализа, мл; M – масса воздушно-сухого сырья, г. Ошибка определения составляет ± 0.4 %.

Количественное определение дубильных веществ проводили весовым способом путем окисления перманганатом калия в присутствии индигокармина по методу Левенталя–Нейбауера в модификации Курсанова (Государственная фармакопея, 1987). На реакцию брали 5 мл вытяжки, добавляли 10 мл индигокармина и доводили водой до 300 мл с последующим титрованием 0.01 N $KMnO_4$. Суммарное содержание дубильных веществ (x , в % от массы воздушно-сухого сырья) рассчитывали по формуле

$$x = \frac{(a-b) \times 4.157 \times V \times 100}{n \times V_1 \times 1000},$$

где a – объем раствора $KMnO_4$, израсходованного на титрование, мл; b – объем раствора $KMnO_4$, израсходованного на титрование в контрольном опыте, мл; 4.157 – количество дубильных веществ, соответствующее 1 мл 0.01 N $KMnO_4$, мг; V – общий объем извлечения, мл; n – масса сырья, мг; V_1 – объем, взятый на титрование, мл.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В динамике суммы флавоноидов *S. alba* (рис. 1) выявлено, что для женского экземпляра этого вида наибольшее содержание флавоноидов в листьях характерно для середины июня – 1.80 % (большой максимум) и для середины августа – 1.25 % (меньший максимум). В соцветиях максимум веществ (0.85 %) приходится на середину июня, минимум (0.30 %) – на середину июля. У мужского экземпляра, в отличие от женского, максимум веществ в листьях отмечен для середины июля – 1.70 %, в соцветиях содержание веществ 1.25 % наблюдалось также в середине июня. Минимум веществ в листьях (0.85 %) зафиксирован для женского экземпляра в середине июля, для мужского – в середине августа.

Для *S. alba* var. *vitellina* (рис. 2) характерно наличие двух максимумов: содержание в листьях более 2 % флавоноидов (меньший максимум) отмечено в период конца мая–начала июня (время активного роста листьев), в конце июня наблюдалось содержание

4.60 % (большой максимум). Минимальное содержание – 0.95 и 0.85 % – приходится на окончание вегетационного периода. В соцветиях максимум веществ

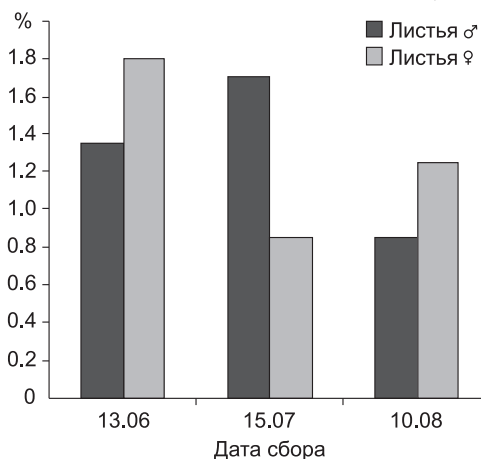


Рис. 1. Динамика содержания флавоноидов в листьях *S. alba*.

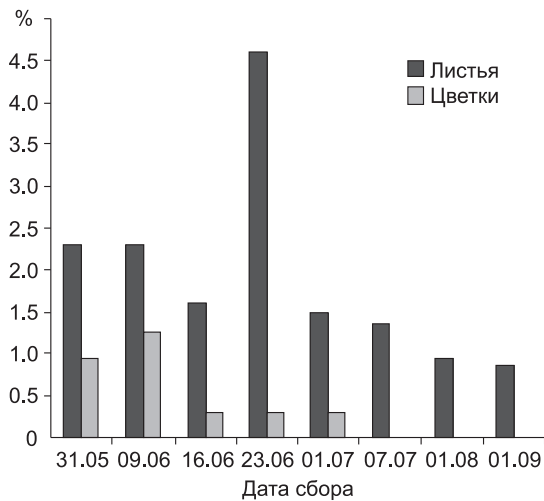


Рис. 2. Динамика содержания флавоноидов в листьях и соцветиях *S. alba var. vitellina*.

(1.25 %) зафиксирован в начале июня, в период полного цветения этого экземпляра, после чего наступает фаза плодоношения, и содержание флавоноидов сводится до минимума – 0.30 %.

Для гибрида *S. alba × S. blanda* (рис. 3) содержание в листьях более 1.50 % флавоноидов отмечено в период с мая до середины июня (время активного роста листьев). Наибольшее значение (2.20 %) приходится на начало сентября (окончание вегетационного периода), наименьшие: 0.85 и 0.75 % – на конец июня, начало июля и начало августа. В мужских и обоеполых соцветиях максимум веществ (1.50–1.70 %) зафиксирован в начале июня, в период полного цветения.

Сравнивая максимумы и минимумы содержания флавоноидов в листьях и соцветиях исследованных экземпляров, можно отметить, что наибольшее количество веществ в листьях характерно для формы *S. al-*

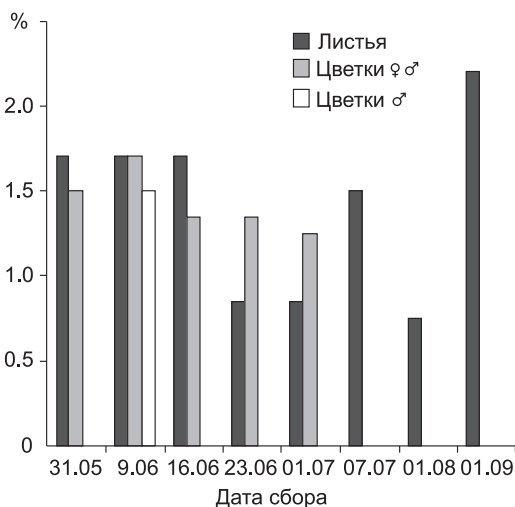


Рис. 3. Динамика содержания флавоноидов в листьях и соцветиях *S. alba × S. blanda*.

ba var. vitellina – 4.60 %, наименьшее – для гибрида *S. alba × S. blanda* – 0.75 %; наибольшее количество веществ в соцветиях наблюдается у *S. alba × S. blanda* (обоеполые соцветия) – 1.70 %, наименьшее – для *S. alba var. vitellina* и *S. alba* (женские экземпляры) – 0.30 %. В мужских соцветиях максимум веществ – 1.50 % (*S. alba × S. blanda*), в женских – 1.25 % (*S. alba var. vitellina*). Таким образом, наибольшее количество флавоноидов содержалось в обоеполых соцветиях по сравнению с мужскими и женскими. По количеству веществ мужские и женские соцветия практически неотличимы, так как для некоторых экземпляров характерны одинаковые максимумы, например, максимум веществ (1.25 %) зафиксирован для *S. alba var. vitellina* (женский экземпляр) и *S. alba* (мужской экземпляр). Следует отметить, что в листьях женского экземпляра *S. alba* количество флавоноидов несколько больше, чем мужского, а по содержанию веществ в соцветиях мы наблюдаем обратную картину. В образцах листьев у всех указанных экземпляров и для мужской и для женской особи *S. alba* количество флавоноидов (сравнивая только максимумы) больше, чем в соцветиях. Общими тенденциями для четырех изученных экземпляров стало то, что максимумы содержания флавоноидов в соцветиях отмечались в период полного цветения. В динамике содержания дубильных веществ в листьях и соцветиях *S. alba* (рис. 4) можно указать следующие особенности. Для женского экземпляра *S. alba* наибольшее содержание дубильных веществ в листьях зафиксировано в середине августа – 2.49 %, в соцветиях максимум веществ – 1.25 % – приходится на середину июня, минимум – 0.83 % – на середину июля. В отличие от женского, у мужского экземпляра *S. alba* максимум веществ в листьях (3.33 %) и соцветиях (2.49 %) отмечен в середине июня.

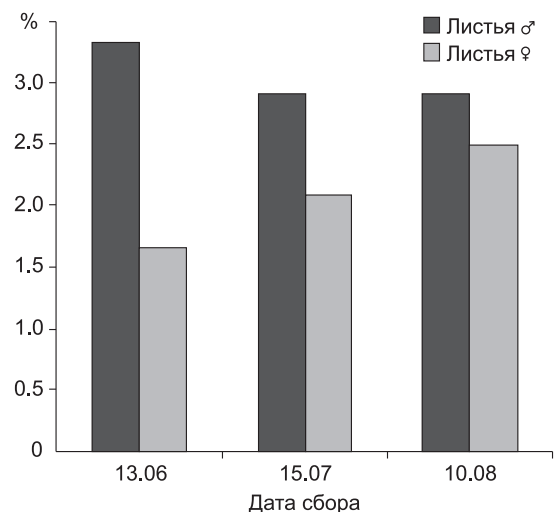


Рис. 4. Динамика содержания дубильных веществ в листьях *S. alba*.

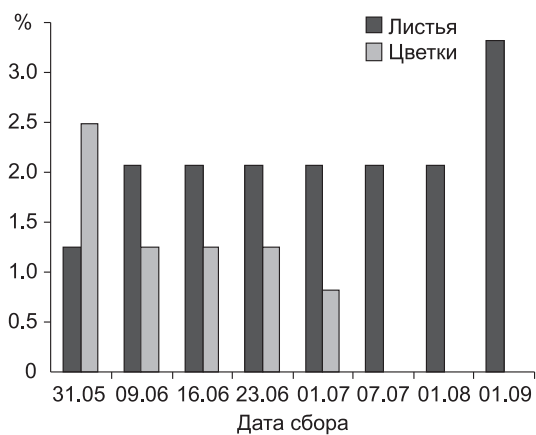


Рис. 5. Динамика содержания дубильных веществ в листьях *S. alba* var. *vitellina*.

Для *S. alba* var. *vitellina* (рис. 5) минимальное количество дубильных веществ в листьях (1.25 %) приходится на конец мая, наибольшее содержание – на начало сентября (3.33 %). В остальной период – с середины июня до конца августа этот показатель был стабильным – 2.08 % дубильных веществ. В соцветиях максимум веществ зафиксирован в начале июня, в период полного цветения, после чего содержание веществ постепенно сводится до минимума – 0.83 %.

Для листьев *S. alba* × *S. blanda* (рис. 6) характерно наличие двух максимумов: 3.16 % дубильных веществ (меньший максимум) – в начале июня, 4.57 % (большой максимум) – в начале сентября. Минимальное содержание дубильных веществ – 2.24 и 2.49 % – отмечено в конце мая и в период со середины июня до начала июля. В обоеполюх соцветиях максимум веществ зафиксирован в начале июня – 4.15 %, в период полного цветения, после чего содержание дубильных веществ постепенно сводится до минимума – 1.91 %. В мужских соцветиях по сравнению с обоеполюми дубильных веществ в период полного цветения меньше – 1.83 %.

Таким образом, сравнивая максимумы и минимумы содержания дубильных веществ, можно указать, что наибольшее количество веществ в листьях характерно для *S. alba* × *S. blanda* – 4.57 %, наименьшее – для *S. alba* var. *vitellina* – 1.25 %. Наибольшее количество дубильных веществ в соцветиях характерно для гибрида *S. alba* × *S. blanda* (обоеполюе соцветия) – 4.15 %, наименьшее для *S. alba* var. *vitellina* и *S. alba* (женские экземпляры) – 0.83 %. По количеству веществ мужские и женские соцветия у изучаемых представителей практически не отличаются. Наибольшее количество веществ содержалось в обоеполюх соцветиях по сравнению с женскими и мужскими.

Анализируя динамику дубильных веществ у *S. alba*, можно сказать, что у мужских экземпляров и в листьях, и в соцветиях содержание дубильных ве-

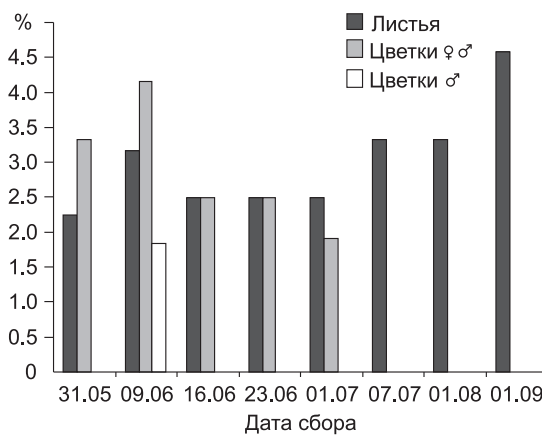


Рис. 6. Динамика содержания дубильных веществ в листьях и соцветиях *S. alba* × *S. blanda*.

ществ выше, чем у женских. Общей тенденцией для четырех изученных экземпляров стало то, что максимумы содержания дубильных веществ в соцветиях приходятся на период полного цветения. В образцах листьев всех изученных мужских и женских особей количество дубильных веществ больше, чем в соцветиях, как и в случае с содержанием флавоноидов. Кроме того, сравнивая динамику содержания флавоноидов и дубильных веществ, можно отметить следующие особенности. Для гибрида *S. alba* × *S. blanda* содержание их в соцветиях и листьях достигает максимума в одно и то же время; в соцветиях – в начале июня, в фазу полного цветения мужских цветков в обоеполюх соцветиях, в листьях – в начале сентября. Максимальное накопление веществ в соцветиях *S. alba* и *S. alba* var. *vitellina* происходит в одно и то же время – в середине июня.

В настоящее время опубликовано несколько работ, посвященных сезонной динамике накопления флавоноидов и дубильных веществ в коре, листьях и соцветиях разных видов ив (Кузьмичева и др., 1993; Оразов, 1998; Фаррахов, 2004; и др.). Полученные нами результаты по динамике содержания флавоноидов и дубильных веществ в листьях и соцветиях дополняют данные предыдущих исследователей и отчасти согласуются с работами Р.Ю. Фаррахова (2004), Н.А. Кузьмичевой и др. (1993). Некоторыми авторами отмечается наличие двух максимумов содержания флавоноидов в листьях – в только что развернувшихся листьях и перед листопадом (Кузьмичева и др., 1993). Другие выявили, что максимальное накопление флавоноидов в листьях происходит в период конца цветения–начала плодоношения, после чего идет постепенное снижение содержания веществ (Оразов, 1998). Для некоторых видов выявлена положительная корреляция в накоплении флавоноидов и дубильных веществ в ходе всего сезона вегетации (Фаррахов, 2004).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследование показало, что наибольшее количество флавоноидов и дубильных веществ находится в листьях изученных растений, среди них по сумме флавоноидов выделяется *S. alba* var. *vitellina* – 4.60 %, по содержанию дубильных веществ – *S. alba* × *S. blanda* – 4.57 %. Максимумы содержания флавоноидов и дубильных веществ в соцветиях приходятся на период полного цветения, в листьях – в период их активного роста, а также в конце вегетационного периода, перед началом листопада. Это время является оптимальным для сбора сырья. Наибольшее количество флавоноидов и дубильных веществ содержится в обоеполюх соцветиях по сравнению с женскими и мужскими.

Полученные результаты свидетельствуют о возможности применения такого показателя, как количественное содержание указанных фенольных соединений в качестве хемотаксономического маркера для рода *Salix* вследствие широкого диапазона их изменчивости. Так, например, в течение вегетационного периода содержание флавоноидов в листьях *S. alba* var. *vitellina* изменяется от 0.85 до 4.60 %.

Данное исследование позволяет рассматривать изученные образцы листьев и соцветий *S. alba*, *S. alba* var. *vitellina* и *S. alba* × *S. blanda* в качестве источника фенольных соединений как средств лечебного и профилактического назначения.

ЛИТЕРАТУРА

- Беликов В.В.** Методы анализа флавоноидных соединений // Фармация. 1970. № 1. С. 68.
- Буданцев А.Л., Лесиовская Е.Е.** Дикорастущие полезные растения России. СПб., 2001. 663 с.
- Государственная фармакопея СССР.** Общие методы анализа. М., 1987. Вып. 1. 335 с.
- Запроматов М.Н.** Фенольные соединения: распространение, метаболизм и функции в растениях. М., 1994. 240 с.
- Зузук Б.М., Куцик Р.В., Недоступ А.Т., Хоменец И.З., Пермяков В.В., Федущак Н.К.** Ива белая *Salix alba* L.: Аналитический обзор // Провизор. 2005. № 15. С. 16–18.
- Кузьмичева Н.А., Мазан И.Ф., Булат В.С.** Сезонная динамика накопления флавоноидов в листьях ивы трехтычинковой *Salix triandra* // Весці АН Беларусі. Сер. біял. н. 1993. № 5. С. 23–29.
- Оразов О.Э.** Состав и накопление флавоноидов и танидов у женских и мужских клонов видов рода *Salix* L.: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Уфа, 1998. 20 с.
- Растительные ресурсы СССР:** Цветковые растения, их химический состав, использование. Семейства *Ranunculaceae–Thymelaeaceae* / Отв. ред. П.Д. Соколов. Л., 1986. 336 с.
- Растительные ресурсы России:** Дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность. Т. 2: Семейства *Actinidiaceae – Malvaceae, Euphorbiaceae – Haloragaceae* / Отв. ред. А.Л. Буданцев. СПб., 2009. 513 с.
- Фаррахов Р.Ю.** Комплексное использование водоохранно-защитных лесных насаждений (на примере видов рода *Salix* L.): Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. Тольятти, 2004. 19 с.
- Харборн Дж.** Фенольные гликозиды и их распространение в природе // Биохимия фенольных соединений. М., 1968. С. 109–139.
- Шиков А.Н., Пожарицкая О.Н., Макаров В.Г., Фомичева Т.И.** Ива белая – биологически активные вещества, свойства и применение // 8 Международный съезд Фитофарм 2004 “Актуальные проблемы создания новых лекарственных препаратов природного происхождения”. СПб., 2004. С. 507–512.
- Qizhen Du, Gerold Jerz, Winterhalter P.** Preparation of three flavonoids from the bark of *Salix alba* by High-Speed Countercurrent Chromatographic Separation // J. Liquid Chromatogr. & Rel. Technol. 2004. V. 27, N 20. P. 3257–3264.