

**БИОЛОГИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ
И ЭКОЛОГИЯ**

УДК 582.632.11+547.814.5

**ОСОБЕННОСТИ НАКОПЛЕНИЯ И КАЧЕСТВЕННЫЙ
СОСТАВ ФЛАВОНОИДОВ В ЛИСТЬЯХ И ПОЧКАХ *Betula L.****Г.В. Демина, Р.Ш. Хазиев, Р.В. Егорова***Аннотация**

Целью работы явилось изучение содержания и качественного состава флавоноидов в листьях и почках *Betula pendula* Roth. и *Betula pubescens* Ehrh., произрастающих в разных местообитаниях. Качественный состав, количественное содержание и динамика накопления флавоноидов в листьях и почках *Betula pendula* Roth. и *Betula pubescens* Ehrh., произрастающих в Республике Татарстан, ранее не исследовались. В результате исследований выявлена динамика накопления флавоноидов в лекарственном сырье, описаны количественные и качественные составы флавоноидов, показаны отличия в содержании флавоноидов у *Betula pendula* Roth. и *Betula pubescens* Ehrh. Установлено влияние условий естественного освещения на количественный состав флавоноидов. На качественный состав флавоноидов заметного влияния условий освещения не выявлено. Определены периоды максимального содержания флавоноидов в листьях и почках исследуемых видов. Показаны различия в содержании этих веществ в листьях и почках. Уточнены и рекомендованы оптимальные сроки заготовки лекарственного сырья.

Ключевые слова: флавоноиды, качественный состав, количественный состав, береза, листья, почки.

Введение

Betula L. давно и широко использовалась человеком как в хозяйственной деятельности, так и при лечении различных заболеваний.

В научной и народной медицине широко применяются настои и отвары листьев и почек *Betula L.* в качестве мочегонного, потогонного, желчегонного, противовоспалительного, дерматологического и вяжущего средства. Они обладают низкой токсичностью при достаточно высокой эффективности и комплексным органопротекторным действием на организм больного [1]. Сухой экстракт листьев березы входит в состав комплексного желчегонного препарата «Сибектан» [2].

В отечественной медицинской практике разрешено использование двух видов *Betula L.*: *Betula pendula* Roth. (синоним *Betula verrucosa* Ehrh.) – береза повислая (береза бородавчатая) и *Betula pubescens* Ehrh. (синоним *Betula alba* L.) – береза пушистая (береза белая).

Betula L. встречается практически на всей территории России, природные ресурсы ее неограниченны. В Татарстане *Betula pendula* Roth. растет на всей тер-

ритории, образуя чистые березняки, березово-сосновые, смешанные леса. *Betula pubescens* Ehrh. Встречается преимущественно в северных районах Предкамья и в Западном Закамье. Она приурочена в основном к местам с повышенной влажностью почвы [3].

Официальными видами сырья являются почки и листья *Betula* L. Почки стандартизируются по содержанию эфирного масла [4, 5]. Исследования последнего времени к действующим веществам почек березы относят также флавоноиды, по содержанию которых предлагается стандартизовать это сырье [6]. Действующими веществами листьев березы признаются флавоноиды, по содержанию которых и осуществляется стандартизация сырья [7, 8]. Согласно этой же нормативной документации, листья *Betula* L. следует заготавливать в период вегетации в июне – июле.

К основным компонентам флавоноидного комплекса *Betula* L. относятся флавонолы – гиперозид и рутин (гликозиды) – в листьях и флавононы – пиностробин и пиноцембрин (агликоны) – в почках [6].

Качественный состав, количественное содержание и динамика накопления флавоноидов в листьях и почках *Betula* L., произрастающей в Татарстане, ранее не исследовались.

Целью настоящей работы было изучение динамики накопления флавоноидов и изменения их качественного состава в ходе вегетации для видов *Betula* L., произрастающих в Татарстане, а также влияния некоторых экологических факторов на эти процессы.

Материалы и методы

Сырье для исследований (листья) собиралось в период вегетации 2009–2011 гг. с мая по октябрь, через 30–31 день с 15–20 деревьев; почки были заготовлены 29–31 марта 2010–2011 гг. Заготовки проводились в разных местообитаниях *Betula* L., на освещенных и затененных участках: биостанция КФУ, Ачинский лес, п.г.т. Камские Поляны, г. Казань (Вахитовский р-н), лесополоса вдоль трассы Р-241 (Казань – Ульяновск), лесополоса вдоль трассы Р-239 (Казань – Чистополь).

Количественное определение флавоноидов в листьях *Betula* L. проводили методом дифференциальной спектрофотометрии продуктов реакции флавоноидов с хлоридом алюминия, используя для расчетов удельный показатель поглощения комплекса рутина с хлоридом алюминия при длине волны 412 нм, равный 248 [8].

Количественное определение флавоноидов в почках *Betula* L. проводили методом дифференциальной спектрофотометрии продуктов реакции флавоноидов с хлоридом алюминия в пересчете на лютеолин [6].

Изучение качественного состава флавоноидов листьев и почек *Betula* L. проводили методом двумерной бумажной хроматографии (бумага марки «Ленинградская М») в следующих системах 15%-ная уксусная кислота (первое направление) и *n*-бутанол – уксусная кислота – вода (БУВ) в соотношении 4 : 1 : 2 (второе направление). Флавоноиды обнаруживали на хроматограммах, просматривая их в ультрафиолетовом свете при 254 и 360 нм до и после опрыскивания 3%-ным раствором алюминия хлорида в этаноле.

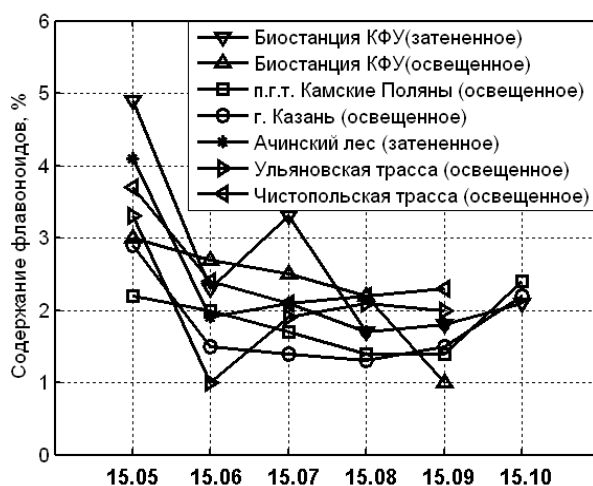


Рис. 1. Суммарное содержание флавоноидов в листьях *V. pendula*

Результаты и их обсуждение

Полученные результаты по динамике накопления флавоноидов в листьях *V. pendula* представлены на рис. 1.

Максимальное содержание флавоноидов в листьях наблюдается у *V. pendula*, произрастающей на территории биостанции (затененное местообитание), в мае. Минимальное же содержание флавоноидов – у *V. pendula*, произрастающей в лесополосе вдоль трассы Р-241, в июне. Четко выражена тенденция подъема содержания флавоноидов в листьях *V. pendula* дважды за период вегетации (в мае и сентябре – октябре) в загрязненных местообитаниях (п.г.т. Камские поляны, г. Казань, автотрассы Р-241 и Р-239) и трижды (в мае, июле и сентябре – октябре) в более экологически чистых местообитаниях (биостанция КФУ, Ачинский лес).

Наименьшее количество флавоноидов (не более 1%) наблюдалось у почек *V. pendula* (март – апрель).

На освещенном местообитании (биостанция КФУ) в течение всего вегетационного периода наблюдается снижение содержания флавоноидов в листьях *V. pendula*. В затененных местообитаниях в листьях *V. pendula* флавоноидов накапливается больше, чем в листьях *V. pendula*, на освещенных местообитаниях (~ на 20%).

Собранное в течение весны и лета сырье соответствует по суммарному содержанию флавоноидов требованиям нормативных документов (не менее 2%) [7, 8], однако наибольшее их количество содержится в листьях, заготовленных в мае, и превышает в среднем на 40–50% содержание флавоноидов в сырье, заготовленном в рекомендуемые сроки. Обнаружена также тенденция подъема содержания флавоноидов в октябре. Вероятно, опад также можно использовать в качестве лекарственного сырья.

Далее рассмотрим динамику накопления флавоноидов в листьях *B. pubescens*, результаты представлены на рис. 2.

Четко выражена тенденция подъема содержания флавоноидов в листьях *Betula pubescens* трижды в течение вегетации – в мае, июле и сентябре.

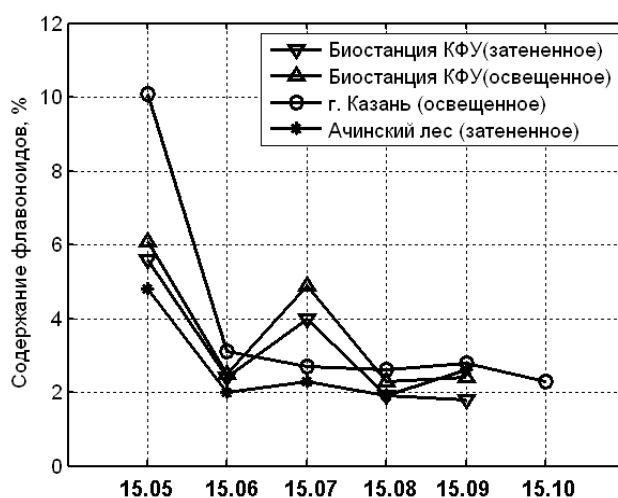


Рис. 2. Суммарное содержание флавоноидов в листьях *B. pubescens*

В листьях *B. pubescens* флавоноидов накапливается больше, чем в листьях *B. pendula* (~ на 35%). Максимальное количество флавоноидов содержат образцы, собранные в мае (в среднем на 40–50% больше, чем в сырье, заготовленном в рекомендуемые сроки). В отличие от *B. pendula*, не наблюдается тенденции подъема суммы в октябре. В освещенных местообитаниях в листьях *B. pubescens* флавоноидов накапливается больше, чем в затененных (~ на 30%).

Наименьшее количество флавоноидов (не более 2.6%) содержали почки *B. pubescens* (март – апрель).

Полученные данные по количественному содержанию флавоноидов в листьях *Betula* обрабатывались с помощью методов математической статистики, в частности, для сравнения результатов, полученных для затененных и освещенных мест, использовался *t*-критерий Стьюдента. Для большинства периодов наблюдений можно утверждать с вероятностью погрешности ≤ 0.05 , что условия освещенности оказывают определенное влияние на количество флавоноидов.

Коэффициенты вариаций количественного содержания флавоноидов в разные периоды наблюдений не превышали 7.4%.

В целом можно сделать вывод, что для исследуемой территории наиболее оптимальным сроком заготовки сырья является май, а не июнь – июль, рекомендуемые нормативными документами [7, 8].

Анализ водно-спиртовых извлечений показал различия в качественном составе флавоноидов в листьях и почках *B. pendula* и *B. pubescens* (табл. 1).

На хроматограмме водно-спиртового извлечения из листьев *B. pendula* обнаружено 11 пятен. Из них 6 по хроматографическому поведению отнесены нами к гликозидам, 5 – к агликонам. С использованием веществ-свидетелей идентифицировано 2 пятна: гиперозид (вещество Γ_1) и кверцетин (вещество A_1) с коэффициентами R_f , равными 0.36/0.54 и 0.05/0.93 соответственно. Рутин – один из основных флавоноидов – в извлечениях из листьев *B. pendula* не обнаружен.

На хроматограмме водно-спиртового извлечения из листьев *B. pubescens* обнаружено 9 пятен. Из них 4 отнесены нами к гликозидам, 5 – к агликонам. С использованием веществ-свидетелей идентифицировано 2 пятна: гиперозид (вещество

Табл. 1

Качественный состав флавоноидов в листьях и почках *B. pendula* и *B. pubescens*, (Rf в системе 15%-ная CH₃COOH / БУВ (4 : 1 : 2))

| Вещество | <i>B. pendula</i> | | <i>B. pubescens</i> | |
|-------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| | Листья | Почки | Листья | Почки |
| Гликозиды | | | | |
| Г1 (гиперозид) | 0.36/0.54 (0.37/0.52) | – | 0.36/0.54 (0.37/0.52) | – |
| Г2 | 0.43/0.59 | – | 0.43/0.59 | – |
| Г3 | 0.46/0.70 | – | 0.46/0.70 | – |
| Г4 | 0.26/0.36 | – | 0.26/0.36 | – |
| Г5 | 0.52/0.74 | – | – | – |
| Г6 | 0.27/0.56 | – | – | – |
| Агликоны | | | | |
| А1 (кверцетин) | 0.05/0.93 (0.05/0.92) | 0.05/0.93 (0.05/0.92) | 0.05/0.93 (0.05/0.92) | 0.05/0.93 (0.05/0.92) |
| А2 | 0.15/0.96 | 0.15/0.96 | 0.15/0.96 | 0.15/0.96 |
| А3 | 0.04/0.75 | 0.04/0.75 | 0.04/0.75 | 0.04/0.75 |
| А4 | 0.04/0.67 | 0.04/0.67 | 0.04/0.67 | 0.04/0.67 |
| А5 | 0.12/0.91 | 0.12/0.91 | – | – |
| А6 | – | – | 0.37/0.98 | 0.37/0.98 |

Г₁) и кверцетин (вещество А₁) с коэффициентами Rf, равными 0.36/0.54 и 0.05/0.93 соответственно. Рутин в извлечениях из листьев *B. pubescens* не обнаружен.

Другие вещества (Г₂, Г₃, Г₄, Г₅, Г₆, А₂, А₃, А₄, А₅, А₆) не были идентифицированы в связи с отсутствием веществ-свидетелей.

В почках *B. pendula* и *B. pubescens* флавоноиды представлены лишь агликонами. Преобладающими флавоноидами являются кверцетин (вещество А₁) и вещество А₂.

В листьях *B. pendula* флавоноиды представлены как гликозидами, так и агликонами. Преобладающими флавоноидами являются гиперозид (вещество Г₁), вещества Г₂, Г₃, Г₄, кверцетин (вещество А₁) и вещество А₂.

В листьях *B. pubescens* флавоноиды представлены также и гликозидами, и агликонами. Преобладающими флавоноидами являются гиперозид (вещество Г₁), вещества Г₂, Г₃, кверцетин (вещество А₁) и вещество А₂.

Таким образом, из анализа представленных данных следует, что качественный состав флавоноидов листьев и почек *B. pendula* и *B. pubescens* различен. В листьях *B. pendula* обнаружены флавоноиды гликозилированной формы, не встречающиеся в листьях *B. pubescens* (вещества Г₅, Г₆). Различен также качественный состав агликонов. В листьях и почках *B. pendula* обнаружено вещество А₅, отсутствующее в листьях и почках *B. pubescens*. В листьях и почках *B. pubescens* обнаружено вещество А₆, отсутствующее в листьях и почках *B. pendula*.

Исследования показали, что условия местообитания растений (затененное или открытое) не оказывают существенного влияния на качественный состав флавоноидов в их листьях и почках. Качественный состав флавоноидов у каждого из исследованных видов *Betula* остается практически неизменным в течение всего периода вегетации.

Выявлено, что количественное содержание флавоноидов в листьях и почках *B. pubescens* в целом выше, чем у *B. pendula*, что же касается качественного состава флавоноидов, наоборот, у *B. pendula* он богаче.

Поскольку качественный состав флавоноидов в почках *Betula L.* существенно беднее, а количественное содержание флавоноидов в них значительно ниже, чем в листьях *Betula L.*, представляется оправданной существующая в нормативной документации стандартизация листьев березы как лекарственного сырья по содержанию флавоноидов, а почек – по содержанию эфирного масла.

Заключение

Максимальное накопление флавоноидов в листьях *Betula L.* на исследованной территории наблюдается в мае, который рекомендуется как оптимальный период для заготовок лекарственного сырья.

Для качественного состава флавоноидов в листьях *Betula L.* на исследованной территории характерным является отсутствие рутина.

Фактор освещенности на накопление флавоноидов в листьях *B. pendula* и *B. pubescens* действует разнонаправлено: для *B. pubescens* увеличивает их содержание, для *B. pendula* – снижает.

Литература

1. Куцук Р.В., Зузук Б.М. Береза бородавчатая (Береза повислая) // Провизор. – 2001. № 10. – С. 17–20.
2. ФСП 42-0171175201 Сибектан таблетки / ГУП «ПЭЗ ВИЛАР». Введ. 26.09.01. – М., 2001. – 8 с.
3. Шевырева Н.А. Береза – дерево контрастов // Вестн. цветовода. – 2006. – № 11 (55). – С. 8–9.
4. Почки березовые: [фармакоп. ст.] // Государственная Фармакопея СССР. 11-е изд. – М.: Медицина, 1989. – Вып. 2: Лекарственное растительное сырье. – С. 298.
5. ФСП 42-0309624905 Березы почки / ОАО «Красногорсклексредства». Введ. 27.10.06. – М., 2006. – 11 с.
6. Стеняева В.В. Сравнительное фитохимическое исследование лекарственного растительного сырья березы бородавчатой (*Betula verrucosa* Ehrh.) Автореферат дис. ... канд. фарм. наук. – Самара, 2005. – 24 с.
7. ВФС 42-2487-95 Листья березы / Фармакоп. гос. ком. Введ. 02.07.96. – М., 1996. – 8 с.
8. ФСП 42-8679-07 Березы листья / ОАО «Красногорсклексредства». Введ. 18.06.07. – М., 2007. – 14 с.

Поступила в редакцию
25.04.13

Демина Галина Владимировна – кандидат биологических наук, доцент кафедры ботаники, Казанский (Приволжский) федеральный университет, г. Казань, Россия.

E-mail: deminagv@mail.ru

Хазиев Рамиль Шамилович – кандидат биологических наук, доцент кафедры фармакологии фармацевтического факультета с курсами фармакогнозии и ботаники, Казанский государственный медицинский университет, г. Казань, Россия.

E-mail: xaziev@inbox.ru

Егорова Регина Валентиновна – младший научный сотрудник Ботанического сада, Казанский (Приволжский) федеральный университет, г. Казань, Россия.
E-mail: *ReginaValentinovna@mail.ru*

* * *

ACCUMULATION FEATURES AND QUALITATIVE COMPOSITION OF FLAVANOIDS IN *Betula L.* LEAVES AND BUDS

G.V. Demina, R.Sh. Khaziev, R.V. Egorova

Abstract

The aim of the study was to examine the content and qualitative composition of flavonoids in the leaves and buds of *Betula pendula* Roth. and *Betula pubescens* Ehrh. growing in different environments. The qualitative composition, quantitative content and accumulation dynamics of flavonoids in the leaves and buds of *Betula pendula* Roth. and *Betula pubescens* Ehrh. growing in Tatarstan have not been studied before. As a result of the research, the dynamics of accumulation of flavonoids in crude drugs, their qualitative and quantitative composition, and the differences in their content in *Betula pendula* Roth. and *Betula pubescens* Ehrh. were determined. The effects of natural lighting conditions on the quantitative composition of flavonoids were revealed. At the same time the qualitative composition of flavonoids was not considerably affected by the lighting conditions. The periods of the highest flavonoids concentration in the leaves and buds of the species under study were defined. The differences in the flavonoids contents in leaves and buds were demonstrated. The optimal time for procurement of crude drugs were specified.

Keywords: flavonoids, qualitative composition, quantitative composition, birch, leaves, buds.

References

1. Kutsyk R.V., Zuzuk B.M. *Betula verrucosa* (*Betula pendula*). *Provizor*, 2001, no. 10, pp. 17–20. (In Russian)
2. Pharmacopoeial Description 42-0171175201 Sibectan Tablets. GUP “PEZ VILAR” (Start-up 26.09.01). Moscow, 2001. 8 p. (In Russian)
3. Shevyreva N.A. Birch is a tree of contrasts. *Vestnik tsvetovoda*, 2006, no. 11(55), pp. 8–9. (In Russian)
4. Birch Buds: [Pharmacopoeial Description]. *Gosudarstvennaya Farmakopeya SSSR. 11 izdanie. Vyp. 2: Lekarstvennoe rastitelnoe syrie* [State Pharmacopoeia of the USSR. 11th edition. Issue 2: Medicinal Plants]. Moscow, Meditsina, 1989, P. 298. (In Russian)
5. Pharmacopoeial Description 42-0309624905 Birch Buds. OJSC Krasnogorskleksredstva (Start-up 27.10.06). Moscow, 2006. 11 p. (In Russian)
6. Stenyaeva V.V. Comparative Phytochemical Research on Medicinal Plants of Warty Birch (*Betula verrucosa* Ehrh.): Extended Abstract of Cand. Pharmaceut. Sci. Diss. Samara, 2005. 24 p. (In Russian)
7. Temporary Pharmacopoeial Description 42-2487-95 Birch Leaves. State Pharmacopoeial Committee (Start-up 02.07.96). Moscow, 1996. 8 p. (In Russian)
8. Pharmacopoeial Description 42-8679-07 Birch Leaves. OJSC Krasnogorskleksredstva (Start-up 18.06.07). Moscow, 2007. 14 p. (In Russian)

Received
April 25, 2013

Demina Galina Vladimirovna – PhD in Biology, Associate Professor, Department of Botany, Institute of Fundamental Medicine and Biology, Kazan Federal University, Kazan, Russia.

E-mail: *deminagv@mail.ru*

Khaziev Ramil Shamilevich – PhD in Biology, Associate Professor, Department of Pharmacology, Pharmaceutical Faculty with the courses of Pharmacognosy and Botany, Kazan State Medical University, Kazan, Russia.

E-mail: *xaziev@inbox.ru*

Egorova Regina Valentinovna – Junior Research Fellow, Botanic Garden, Kazan Federal University, Kazan, Russia.

E-mail: *ReginaValentinovna@mail.ru*