

## ФИТОХИМИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ НЕКОТОРЫХ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ СЕКЦИИ *OTITES OTTH* РОДА *SILENE* L. (CARYOPHYLLACEAE)

Бадулина А.А., Зибарева Л.Н.

ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский государственный университет», Сибирский ботанический сад, Россия (634050, г. Томск, пр. Ленина, 36) e-mail: zibareva.lara@yandex.ru

Представители рода *Silene* L. являются ценными источниками биологически активных веществ, таких как экидистероиды и флавоноиды, которые могут служить хемотаксономическими маркерами при решении проблем систематики полиморфного рода *Silene*. В настоящее время нет единого взгляда на классификацию видов как в отдельных секциях, так и в роде *Silene* в целом. В данной работе рассмотрена тенденция выделения секции *Otites Otth* (род *Silene*) в род *Otites* Adans. Приведены результаты хемотаксономического изучения некоторых видов секции *Otites* рода *Silene*. Изучены экидистероидные профили типового вида секции *Otites* - *Silene otites* и подвида *S. otites* ssp. *hungarica*, интродуцированных в Западной Сибири. В результате детального изучения экидистероидных профилей восьми видов и одного подвида *Silene* в подобранных хроматографических системах идентифицированы мажорные компоненты: 20-гидроксиэкидизон, 2-деоксиэкидизон и экидизон.

Ключевые слова: экидистероиды; хемосистематика; *Silene*, *Otites*, *Caryophyllaceae*; 20-гидроксиэкидизон.

## PHYTOCHEMICAL STUDY OF SOME SPECIES OF THE SECTION *OTITES OTTH* OF THE GENUS *SILENE* L. (CARYOPHYLLACEAE)

Badulina A.A., Zibareva L.N.

National Research Tomsk State University, Siberian Botanical Garden, Russia (634050, Tomsk, Lenin Avenue 36), e-mail: zibareva.lara@yandex.ru

Representatives of the genus *Silene* L. are valuable sources of bioactive substances, such as flavonoids and ecdysteroids. These biologically active substances of plants can be as chemotaxonomic markers with solving problems of taxonomy of a polymorphic type of genus *Silene*. It has been shown that at present there is no single view of classification of species, both in separate sections, and in the *Silene* Genus. In this article the trend selection section *Otites Otth* (genus *Silene*) in the genus *Otites* Adans. were considered. The results of the chemotaxonomic study of some species of sections *Otites* of the genus *Silene* are shown. Ecdysteroids profiles of the model species *Silene otites* and subspecies *S. otites* ssp. *hungarica* introduced in Western Siberia, were studied. As a result of a detailed study of the ecdysteroids profiles of eight species and one subspecies of *Silene* in selected chromatographic systems were identified major components: 20-hydroxyecdysone, 2-deoxyecdysone, ecdysone.

Keywords: ecdysteroids; chemosystematics; *Silene*, *Otites*; *Caryophyllaceae*, 20-hydroxyecdysone.

Род *Silene* является одним из многочисленных родов мировой флоры. По данным Greuter [8], в нем насчитывается более 700 видов. Классификация рода довольно сложна - некоторые исследователи включают в него роды *Lychnis*, *Gastrolychnis*, *Otites*, *Melandrium*, *Cucubalus*, *Heliosperma*, *Pleconax* [7; 8]. Ряд секций другие авторы выделяют в самостоятельные роды (*Oberna* Adans., *Otites* Adans.) [4-6]. Главной причиной разногласий по этому вопросу, по всей вероятности, являются естественный полиморфизм рода, наличие гибридов близкородственных видов, сложная система внутренней классификации, включающая неоднозначную систему подродов, секций и подсекций. Вероятно, хемотаксономическое изучение этого рода будет способствовать выяснению целого ряда спорных вопросов о филогенетическом статусе некоторых видов.

Современная классификация рода *Silene* основана преимущественно на морфологических

признаках растений. Для решения возникших проблем систематики необходим комплексный подход, включающий и биохимические, молекулярно-генетические характеристики видов. При решении спорных вопросов о статусе некоторых видов исследователи часто привлекают данные о химическом составе растений. Изучение состава и содержания некоторых групп вторичных метаболитов, таких как флавоноиды, тритерпеновые сапонины и экдистероиды, дает возможность проведения хемотаксономических исследований близкородственных видов, секций и родов. Ранее было показано, что флавоноиды семейства Гречишных [1] и экдистероиды видов секции *Sclerocalycinae* рода *Silene* могут быть использованы в качестве хемотаксономических маркеров растений [9].

В данной работе рассмотрена одна из наиболее спорных секций рода *Silene* – *Otites* Otth, виды которой ряд авторов выделяют в род *Otites*. Секция *Otites* близка к двум родственным секциям *Holopetalae* Schischk. и *Balcanosilene* Šourková, объединяемых некоторыми авторами совместно с секцией *Otites* в подрод *Otites* Peterm. [3]. Все виды трех данных секций имеют сходное строение лепестков и очень близкое строение соцветий [3]. Исследователи рода неоднозначно определяют границы секции. Так, во Flora Europaea [7] в указанную секцию выключены 18 видов и несколько подвидов, включая *S. borysthenica*, *S. sibirica*. Эти же виды во флоре Сибири [5] и во флоре Восточной Европы [4] внесены в род *Otites* Adans (ушанки).

Достаточно часто встречаются расхождения и в выделении отдельных подвидов или отнесении их к другим видам смолевков. Так, типовой вид секции *Otites* *S. otites*., по разным данным, насчитывает от одного до четырех подвидов, включая эндемик Центральной и Восточной Европы *S. otites* ssp. *hungarica* [7].

Целью работы является изучение состава фитоэкдистероидов некоторых видов секции *Otites* рода *Silene*, интродуцированных в Томскую область.

#### **Материалы и методики исследования**

В секцию *Otites* включены преимущественно многолетние и двулетние растения с высотой надземной части от 30 до 200 см [7]. Ареал исследуемых видов включает юго-восточную часть Западной Европы и юг европейской части России. В качестве объектов исследования выбраны 8 видов и 1 подвид *Silene* секции *Otites* Otth: *Silene colpophylla* Wrigley, *S. sendtneri* Boiss., *S. roemerii* Friv., *S. otites* Wibel., *S. pseudotites* Besser. ex Reichenb., *S. otites* ssp. *hungarica* Wrigley, *S. baschkirorum* Janisch., *S. exaltata* Friv., *S. borysthenica* (Gruner) Walters. Растения выращивали на территории Сибирского ботанического сада в условиях Западной Сибири из семян, полученных из различных ботанических садов мира: Muséum National d'Histoire Naturelle, Франция (*Silene colpophylla*); Martin-Luther-University, Германия (*S. sendtneri*); Botanischer Garten und Botanisches Museum Berlin-Dahlem, Германия (*S. roemerii*, *S. otites*, *S. pseudotites* и *S. otites* ssp. *hungarica*), Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, Россия (*S. baschkirorum*, *S. exaltata* и *S. borysthenica*). Для анализа использовали надземные

части растений, высушенные воздушно-сухим способом.

Для получения суммы экистероидов и флавоноидов готовили 70%-ные этанольные экстракты, которые в дальнейшем фракционировали и очищали от полисахаридов. Экстрагент удаляли при помощи вакуумного ротационного испарителя. Исследование проводили методами ТСХ, ВЭЖХ и УФ-спектроскопии.

Качественный анализ образцов осуществляли методом тонкослойной хроматографии на пластинках марки Sorbfil UV 254. Для хроматографического разделения использовали систему растворителей хлороформ-этанол 4:1 (v:v). Биологически активные вещества выявляли в ультрафиолетовом свете ( $\lambda=254$  нм) сравнением  $R_f$  на фоне эталонов. В качестве проявителя применяли ванилин-серный реактив с добавлением концентрированной серной кислоты. Для проявления пятен обработанные пластинки нагревали до температуры 110 °С. Порог чувствительности метода составляет 60 мкг.

Условия ВЭЖХ-анализа: хроматографическая колонка Perfect Sil Target ODS-3; 4,6\*250 мм, размер зерна сорбента 5 мкм, элюирование смесью ацетонитрила и изопропилового спирта (3:2, v/v) в градиенте 0,1%-ной трифторуксусной кислоты от 15 до 35%. Скорость элюирования 1 мл/мин. Аналитическая длина волны  $\lambda_{\max} = 254$  нм для регистрации фитоэкистероидов и  $\lambda_{\max} = 272$  нм для флавоноидов, время анализа от 40 до 70 мин. Анализ выполнен на жидкостном хроматографе Shimadzu LC20 (Япония) с диодноматричным детектором. УФ-анализ элюатов при препаративном разделении в тонком слое проводили на спектрофотометре UV-1800 (Shimadzu, Япония) в диапазоне длин волн от 200 до 500 нм в кюветах с толщиной слоя 1 см.

### **Результаты эксперимента и их обсуждение**

Одним из распространенных способов хематаксономического изучения является изучение состава вторичных метаболитов близкородственных видов. В настоящей работе большей частью исследовали профиль экистероидов интродуцированных растений. Кроме того, выделены комплексы флавоноидов из экстрактов наземной части видов *S. sendtneri*, *S. roeteri* и *S. colpophylla*.

Предварительные исследования флавоноидного состава *S. colpophylla* методами ИК- и УФ-спектроскопии (рис. 1) показали присутствие С-гликозилированных флавонов с апигениновым остовом.

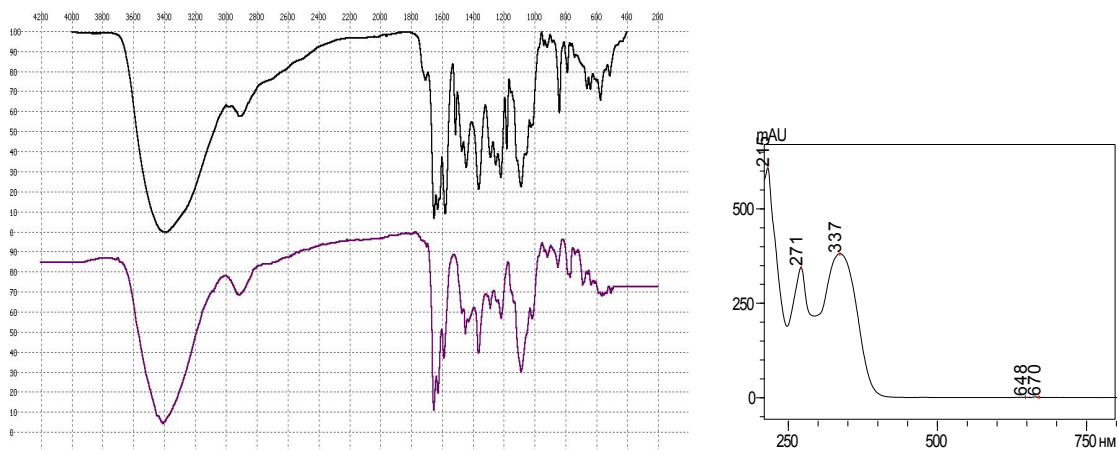


Рис. 1. **А.** ИК-спектр мажорного флавоноида, выделенного из *S. Colpophylla*.  
**Б.** Спектр сравнения 8- $\alpha$ -l-арабинозил-5,7-дигидрокси-6- $\beta$ -d-глюкопиранозилфлавона.  
**В.** УФ-спектр мажорного флавоноида, выделенного из *S. Colpophylla*.

Уширенная полоса поглощения в области  $3400\text{ см}^{-1}$  соответствует гидроксильным группам, полосы  $1500, 1580$  (сопряжение ароматического кольца с ненасыщенной группировкой),  $1450\text{ см}^{-1}$  – ароматическому кольцу, деформационные колебания ароматического кольца проявляются в области  $845\text{--}700\text{ см}^{-1}$ . Характерная для флавоноидов полоса в области  $1650\text{ см}^{-1}$  соответствует карбонильной группе  $\gamma$ -пирона.

Присутствие С-гликозилированных флавонов характерно для смолёвок. Так, в литературе имеются данные о наличии как моно-, так и дигликозилированных флавонов в видах *Silene* [2]. Наиболее распространенными флавонами являются виценин, изовиценин, витексин, изовитексин, аврозид, изоаврозид, ориентин и изоориентин. Реже встречаются дигликозилированные флавоны с пентозным и гексозным углеводными остатками - шафтозид и изошафтозид.

Проведенные исследования флавоноидных профилей методами УФ-спектроскопии и ОФ-ВЭЖХ свидетельствовали о наличии двух мажорных флавоноидов во всех видах секции. Данные соединения имеют сходные УФ-спектры ( $271$  и  $336\text{ нм}$ ,  $272$  и  $334\text{ нм}$ ) и идентичные времена удерживания ( $13,6$  мин и  $15,7$  мин).

Особое внимание при изучении секции заслуживают экистероидные и флавоноидные профили состава *S. borysthena*. Наряду с такими видами, как *S. exaltata*, *S. cyri* Schischkin in Grossh. и *S. wolgensis* (Hornem.) Otth in DC. некоторые авторы [4-6] предлагают выделить этот вид в род *Otites* Adans. Однако имеющиеся в литературе [2] и полученные экспериментальные данные свидетельствуют о сходстве флавоноидного состава этих видов с другими представителями рода *Silene*, что наряду со сходством экистероидного состава является дополнительным аргументом в пользу отнесения *S. borysthena* к смолёвкам.

Многие виды смолёвок признаны сверхконцентраторами экистероидов и рекомендованы в качестве источников их получения [9]. При исследовании экстрактов наземных частей

растений, интродуцированных на территории Сибирского ботанического сада, установлено, что изучаемые виды могут служить источниками фитостероидов. Семь из исследованных видов содержат более 1% 20-гидроксиэкдизона. Исключение составляют *S. exaltata*, *S. borystenica*. В результате детального изучения экдистероидных профилей данных видов идентифицированы мажорные компоненты: 20-гидроксиэкдизон, 2-дезоксизэкдизон и экдизон. На рисунке 2 представлена хроматограмма бутанольного экстракта нового источника экдистероидов *S. colpophylla*.

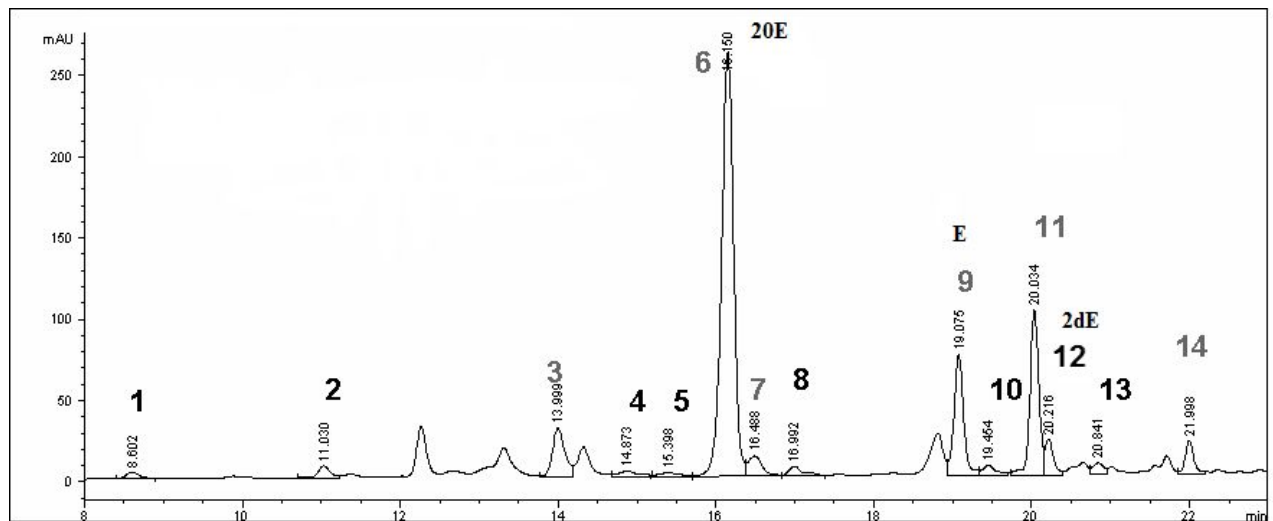


Рис.2. Экдистероидный профиль *S. colpophylla*. 20E – 20-гидроксиэкдизон, E – экдизон, 2dE – 2-дезоксизэкдизон

Немаловажным с точки зрения хемосистематики является сравнительное изучение экдистероидных профилей полиморфных видов с неоднозначно выраженными подвидами. Примером может служить изучение *S. otites* и *S. otites* ssp. *hungarica*. Вопрос о количестве подвидов для *S. otites* до сих пор остается открытым. Полученные данные свидетельствуют о достаточно близком экдистероидном составе данных растений и совпадают по составу мажорных компонентов (рисунок 3), однако профили *S. otites* ssp. *hungarica* и *S. otites* имеют ряд существенных отличий. В полярной части профилей в *S. otites* ssp. *hungarica* не обнаружен пик экдистероида ( $t_R=15,3$  мин), который присутствует в экстракте *S. otites*. Напротив, в *S. Otites*, в отличие от *S. otites* ssp. *Hungarica*, не обнаружен полиподин В ( $t_R=19,2$  мин). Существенные отличия наблюдаются в среднеполярной части экдистероидного профиля, между 20-гидроксиэкдизоном и экдизоном. В этой части у *S. otites* ssp. *hungarica* практически нет пиков экдистероидов (один пик  $t_R=28,5$  мин), тогда как в *S. otites* в этой области наблюдаются 4 экдистероидных пика. В неполярной части экстракты имеют схожий состав, однако в области от 35 до 40 мин в *S. otites* ssp. *hungarica* также не обнаружены пики экдистероидов, которые присутствуют в *S. otites* (3 экдистероида).

Следует отметить, что доминирующие экдистероиды в данных видах также различны: в *S.*

*otites* содержание 20E превышает 2dE в 3,6 раза, в то время как в *S. otites ssp. hungarica* мажорным экистероидом является 2-дезоксизон, содержание которого в 1,3 раза больше 20E. Поскольку в составе экистероидов данного вида и подвида имеются как общие, характерные для рода и секции стероиды, так и специфичные маркеры, то это подтверждает статус подвида *S. otites ssp. hungarica*.

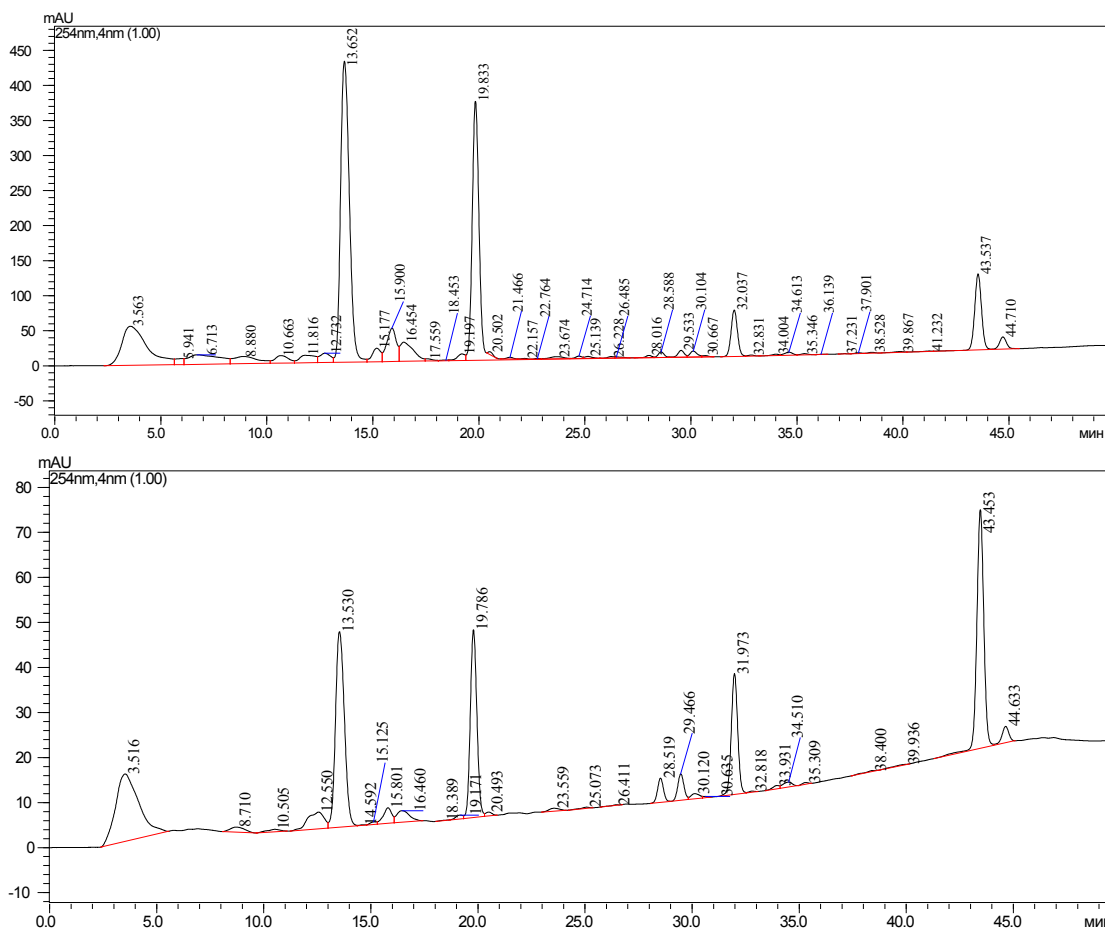


Рис.3. Экистероидные профили *S. otites* и *S. otites ssp. hungarica*. 20E: 20-гидроксиэкидизон, 2dE: 2- дезоксиэкидизон.

Таким образом, изучен химический состав основных экистероидов видов секции *Otites*. Показано, что они синтезируют одинаковые мажорные компоненты: 20-гидроксиэкидизон, 2-дезоксизон и экидизон. На основе флавоноидных профилей установлено присутствие С-гликозилированных флавонов с апигениновым остовом и сходство этих видов.

Интродуцированные виды *S. colpophylla*, *S. sendtneri*, *S. roemeri*, *S. otites*, *S. pseudotites*, *S. otites ssp. hungarica*, *S. baschkirorum* - рекомендованы в качестве богатых источников БАВ.

### Список литературы

1. Высочина Г.И. Фенольные соединения в систематике и филогении семейства гречишных. – Нск : Наука, 2004. – 240 с.

2. Дармограй В.Н. Фармакогностическое изучение некоторых видов семейства гвоздичных и перспективы использования их в медицинской практике : дис. в виде доклада ... д-ра фармац. наук: 15.00.02. – Рязань, 1996. – 92 с.
3. Лазьков Г.А. Обзор секции *Holopetalae* рода *Silene* (*Caryophyllaceae*) // Ботанический журнал. – 1998. – Т. 83, № 5. – С. 89–95.
4. Флора Восточной Европы / под ред. Н.Н. Цвелева. – СПб., 2004. – Т. XI. – С. 233–256.
5. Флора Сибири / под ред. Л.И. Малышевой, Г.А. Пешковой. - Новосибирск, 1993. – Т. 6. – С. 62–71.
6. Цвелев Н.Н. О родах трибы смолевковых (*Caryophyllaceae*) в Восточной Европе // Новости систематики высших растений. - 2001. - Т. 33. - С. 90–113.
7. Flora Europaea / Tutin T. G. et al. Ed 2. // Cambridge at the University press. – 1993. – Vol. 1. – P. 191–219.
8. Greuter W. *Silene* (*Caryophyllaceae*) in Greece: a subgeneric and sectional classification // Taxon. – 1995. – Vol. 44. – P. 543 – 581.
9. Zibareva L. The phytoecdysteroid profiles of 7 species of *Silene* (*Caryophyllaceae*) / L. Zibareva, V.I. Yeriomina, N. Munkhjargal, J.-P. Girault, L. Dinan, R. Lafont // Archives of insect biochemistry and physiology. – 2009. – V. 72. – № 4. – P. 234–248.

**Рецензенты:**

Астафурова Т.П., д.б.н., профессор, заведующая кафедрой агрономии, Томский государственный университет, Биологический институт, г. Томск.

Ревушкин А.С., д.б.н., профессор, заведующий кафедрой ботаники, Томский государственный университет, Биологический институт, г. Томск.