

ОРГАНО- И ТКАНЕСПЕЦИФИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПРОЯВЛЕНИЯ АНТИРАДИКАЛЬНОГО ПОТЕНЦИАЛА И СОДЕРЖАНИЯ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В РАСТЕНИЯХ РОДА *TAXUS* spp.

С. Н. ФИЛИПОВА¹⁾, А. О. ЛОГВИНА¹⁾, Е. В. СПИРИДОВИЧ²⁾

¹⁾Белорусский государственный университет, пр. Независимости, 4, 220030, г. Минск, Беларусь

²⁾Центральный ботанический сад НАН Беларуси, ул. Сурганова, 2В, 220012, г. Минск, Беларусь

Проведен анализ антирадикальной активности, общего содержания растворимых фенольных соединений и уровня накопления флавоноидов в надземных и подземных органах и тканях представителей рода *Taxus* spp. (*T. baccata* L. cv. *Sempereaugea*, *T. cuspidata* Sieb. et Zucc. и *T. wallichiana* Zucc.), интродуцированных в Республике Беларусь. Выявлена зависимость величины антирадикальной активности и содержания анализируемых групп вторичных метаболитов от органной и тканевой локализации в растении. Установлено, что максимальная антирадикальная активность, а также наиболее высокий уровень накопления суммы растворимых фенольных соединений и флавоноидов наблюдаются в экстрактах вторичной покровной ткани (перидермы) корня интактных растений всех исследуемых видов *Taxus* spp. Так, антирадикальная активность экстрактов данного типа ткани *T. wallichiana* Zucc. составляла $(28,7 \pm 1,0)$ мг эквивалента аскорбиновой кислоты на 1 г сухой массы, *T. cuspidata* Sieb. et Zucc. – $(26,1 \pm 0,8)$ мг эквивалента аскорбиновой кислоты на 1 г сухой массы, а *T. baccata* L. cv. *Sempereaugea* – $(22,4 \pm 0,7)$ мг эквивалента аскорбиновой кислоты на 1 г сухой массы, что на 78–81 % превышало активность экстрактов корки ствола и на 42–64 % – активность экстрактов хвои. Содержание суммы фенольных соединений в экстрактах перидермы корней исследуемых растений варьировало от $(129,9 \pm 2,9)$ до $(154,2 \pm 4,3)$ мг эквивалента галловой кислоты на 1 г сухой массы и было максимальным у *T. wallichiana* Zucc. Наиболее высокий уровень накопления флавоноидов среди анализируемых экстрактов указанного типа ткани обнаружен у *T. cuspidata* Sieb. et Zucc. ($(13,0 \pm 0,4)$ мг эквивалента кверцетина на 1 г сухой массы).

Ключевые слова: *Taxus*; тис; фенольные соединения; флавоноиды; антирадикальная активность; метод DPPH; метод Фолина – Чокальтеу.

Благодарность. Работа выполнена при финансовой поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (проект № Б20Р-236).

Образец цитирования:

Филиппова СН, Логвина АО, Спиридович ЕВ. Органо- и тканеспецифические особенности проявления антирадикального потенциала и содержания фенольных соединений в растениях рода *Taxus* spp. *Экспериментальная биология и биотехнология*. 2022;1:48–58.

For citation:

Filipava SN, Lohvina HO, Spiridovich EV. Organ- and tissue-specific variation in antiradical potential and phenolic compounds content in plants of the genus *Taxus* spp. *Experimental Biology and Biotechnology*. 2022;1:48–58. Russian.

Авторы:

Светлана Николаевна Филиппова – кандидат биологических наук, доцент; доцент кафедры клеточной биологии и биоинженерии растений биологического факультета.

Анна Олеговна Логвина – кандидат биологических наук; доцент кафедры клеточной биологии и биоинженерии растений биологического факультета.

Елена Владимировна Спиридович – кандидат биологических наук, доцент; заведующий лабораторией прикладной биохимии отдела биохимии и биотехнологии растений.

Authors:

Sviatlana N. Filipava, PhD (biology), docent; associate professor at the department of plant cell biology and bioengineering, faculty of biology.

svetlan_rom@mail.ru

Hanna O. Lohvina, PhD (biology); associate professor at the department of plant cell biology and bioengineering, faculty of biology.

hanna.lohvina@gmail.com

Elena V. Spiridovich, PhD (biology), docent; head of the laboratory of applied biochemistry, department of plant biochemistry and bioengineering.

a.spirydovich@gmail.com

ORGAN- AND TISSUE-SPECIFIC VARIATION
IN ANTIRADICAL POTENTIAL AND PHENOLIC COMPOUNDS
CONTENT IN PLANTS OF THE GENUS *TAXUS* spp.S. N. FILIPAVA^a, H. O. LOHVINA^a, E. V. SPIRIDOVICH^b^aBelarusian State University, 4 Niezaliežnasci Avenue, Minsk 220030, Belarus^bCentral Botanical Garden, National Academy of Sciences of Belarus,
2B Surhanava Street, Minsk 220012, Belarus

Corresponding author: S. N. Filipava (svetlan_rom@mail.ru)

The paper presents the results of an investigation of the antiradical activity, total phenolic and flavonoid contents in aboveground and underground organs and tissues of *Taxus* spp. plants (*T. baccata* L. cv. *Semperaurea*, *T. cuspidata* Sieb. et Zucc. and *T. wallichiana* Zucc.) introduced in the Republic of Belarus. The analysis indicates the dependence of antiradical activity value and the level of phenolic compounds on the organ- and tissue-specific localisation. Root periderm (secondary dermal tissue) extracts of all *Taxus* spp. species studied showed the best antiradical activity with the highest total phenolic and flavonoid contents. Thus, the extracts from the root periderm of *T. wallichiana* Zucc., *T. cuspidata* Sieb. et Zucc. and *T. baccata* L. cv. *Semperaurea* had antiradical activity of (28.7 ± 1.0) , (26.1 ± 0.8) and (22.4 ± 0.7) mg ascorbic acid equivalent per 1 g dry weight, respectively, which was 78–81 % higher than the antioxidant activity of the trunk-bark extracts and 42–64 % higher than the activity of the needle extracts. The total phenolic content of the root periderm extracts of all investigated plants varied from (129.9 ± 2.9) to (154.2 ± 4.3) mg gallic acid equivalent per 1 g dry weight, and was found to be highest in the *T. wallichiana* Zucc. extract. The greatest flavonoid content was observed with extracts of the root periderm of *T. cuspidata* Sieb. et Zucc. (13.0 ± 0.4) mg quercetin equivalent per 1 g dry weight).

Keywords: *Taxus*; yew; phenolic compounds; flavonoids; antiradical activity; DPPH method; Folin – Ciocalteu method.

Acknowledgements. The work was performed with financial support of the Belarusian Republican Foundation for Fundamental Research (project No. B20R-236).

Введение

Тис (*Taxus* spp.) – род вечнозеленых хвойных кустарников или деревьев высотой от 1 до 28 м с диаметром ствола до 1,5 м. Представители данного рода характеризуются медленным ростом и большой продолжительностью жизни (от 1500 до 4000 лет) [1]. Они широко распространены и естественно произрастают во влажных лесах умеренной зоны по всему миру, особенно вдоль побережий Тихого и Атлантического океанов, в регионе Великих озер Северной Америки, в Западной, Северной и Южной Европе, Алжире, юго-восточной части России, Восточном Китае, Непале, Бирме, Лаосе, Таиланде, Вьетнаме, Иране, на островах Суматра и Целебес [2]. Один из наиболее известных представителей данного рода – тис ягодный (*T. baccata* L.) – распространен спорадически почти по всей Северной и Западной Европе (от Скандинавии до Средиземноморья), на Кавказе, части территории Малой Азии и Северной Африки. В Альпах он произрастает на высоте до 1100–1400 м, в Пиренеях и Карпатах – до 1600, на Кавказе – до 1500, в Малой Азии – до 2300 м [1; 3; 4]. В Беларуси представители данного рода в естественных условиях произрастания не распространены и выращиваются только в культуре, к примеру, в Центральном ботаническом саду Национальной академии наук Беларуси (ЦБС НАН Беларуси).

Растения семейства Тахасеае рода *Taxus* spp., в том числе тис ягодный, – крайне ценное сырье для фармакологической промышленности. Это обусловлено присутствием в них дитерпеноида паклитаксела (Таксол®), который на сегодняшний день является одним из самых известных антинеопластических агентов [5]. При этом фитохимический состав представителей данного рода очень многообразен. Например, в древесине, коре и хвое, кроме ценных терпеноидов (паклитаксел и др.), содержатся стероиды (ситостерин, кампестерин), цианогенные соединения (таксифиллин), лигнаны (неолигнаны и терпенолигнаны), флавоноиды (в частности, димерный флавоноид аментофлавоноид II типа и др.), дубильные вещества, витамины, высшие жирные кислоты и высшие алифатические спирты и иные классы соединений [6], в семенах присутствуют терпеновые алкалоиды (до 0,92 %) [7]. Такой широкий спектр фармакологически активных метаболитов закономерно обуславливает и потенциально высокое разнообразие биологических активностей у препаратов на основе растительного сырья *Taxus* spp. Так, например, в литературных источниках упоминается про их иммуномодулирующую, антимикробную, антимикотическую и анальгезирующую активности, а также жаропонижающее и противосудорожное действие [8]. В последние годы значительное внимание уделяется исследованию антиоксидантных свойств экстрактов, полученных из сырья представителей семейства Тахасеае [9].

Благодаря способности к снижению скорости генерации свободных радикалов и ингибированию перекисного окисления липидов биологических мембран, которое ведет к патологическим изменениям функции клеток, антиоксиданты играют важнейшую роль в механизмах протекторного действия в отношении клеток животных и растений [10]. Свободные радикалы постоянно образуются в аэробных организмах в результате нормальных физиологических процессов. Тем не менее их избыточное накопление может приводить к развитию различных патофизиологических состояний, включая сердечно-сосудистые заболевания, болезнь Альцгеймера, диабет и т. д. [11]. Защита от окислительного стресса и хронических повреждений достигается благодаря функционированию ферментативных антиоксидантных систем и комплекса низкомолекулярных антиоксидантов. Как упоминалось выше, в растениях *Taxus spp.* синтезируется высокое количество соединений фенольной природы, в частности флавоноидов (антоцианы, катехины, флаваноны и т. п.), терпеноидов и др., которые являются сильными низкомолекулярными антиоксидантами [9; 11].

Важно отметить, что состав и количественное содержание ценных вторичных метаболитов в растениях *Taxus spp.* могут значительно варьировать у разных видов одного рода, а также в зависимости от условий и ареала произрастания [12; 13]. Например, известно, что у популяций растений *T. wallichiana* Zucc., которые растут в наиболее высоких горных регионах Гималаев, наблюдается повышенное содержание фармакологически ценных таксоидов по сравнению с их содержанием в растениях, произрастающих более низко [14]. Также уровень накопления определенных биологически активных соединений в растениях может значительно варьировать в зависимости от тканевой либо органной локализации [15].

До настоящего времени основное внимание исследователей уделялось преимущественно биохимическому анализу надземных органов [8; 16; 19] вида *T. baccata* L. [8; 17–19]. В связи с этим представлялось весьма актуальным проанализировать антирадикальную активность экстрактов и содержание фенольных соединений в различных тканях надземных и подземных органов растений *Taxus spp.* (*T. baccata* L. cv. *Semperaurea*, *T. cuspidata* Sieb. et Zucc. и *T. wallichiana* Zucc.), интродуцированных на территории Республики Беларусь.

Материалы и методы исследования

Объекты исследования. В исследовании использовали три вида растений рода *Taxus spp.*, выращиваемых в коллекциях ЦБС НАН Беларуси, – *T. baccata* L. cv. *Semperaurea* (тис ягодный сорта Золотистый), *T. cuspidata* Sieb. et Zucc. (тис остроконечный) и *T. wallichiana* Zucc. (тис Валлиха). Внешний вид данных растений представлен на рис. 1.

Биологический материал собирали с июня по август. Собранные гербарные образцы депонированы в гербарии ЦБС НАН Беларуси (MSKH). Для проведения сравнительного анализа органо- и тканеспецифического накопления фенольных соединений и антирадикальной активности использовались следующие образцы:

- 1) перидерма корня (вторичная покровная ткань (красновато-коричневая наружная часть коры корня));
- 2) центральный цилиндр корня;
- 3) корка ствола (ритидом (коричневая наружная отслаивающаяся пластинчатая часть коры));
- 4) хвоя (листья тиса);
- 5) ювенильные побеги (молодые побеги текущего года, включающие стебель и лист с недревесневшими ветками).

Следует отметить, что для анализа использовали корни 2–3-го года жизни диаметром 0,3–0,7 см, расположенные близко к поверхности почвы. Хвою (листья тиса) собирали со старых одревесневших побегов прошлых лет.

Приготовление спиртовых экстрактов. В работе получали водно-спиртовые экстракты различных частей растений тиса. Для этого образцы растительных тканей высушивали при 60 °С в сухожаровом шкафу с обдувом в течение 24 ч. Сухой растительный материал измельчали. Точную навеску высушенного растительного сырья (0,3 г) переносили в круглодонную колбу объемом 100 мл и добавляли к ней 30 мл 70 % этанола и центры кипения, после чего колбу взвешивали. Экстрагирование проводили в течение 120 мин при нагревании на водяной бане с обратным холодильником. Далее колбу с экстрактом охлаждали при комнатной температуре, взвешивали, при необходимости потерю в весе восполняли 70 % этанолом. Затем экстракт фильтровали через бумажный фильтр в стеклянные флаконы объемом 30 мл, плотно закрывали и хранили при 4 °С.

Анализ антирадикальной активности. Для определения антирадикальной активности экстрактов использовали спектрофотометрический метод, основанный на взаимодействии антиоксидантов со стабильным хромоген-радикалом 2,2-дифенил-1-пикрилгидразилом (метод DPPH) [20], с небольшими модификациями [21]. Антирадикальную активность проб выражали в миллиграммах эквивалента аскорбиновой кислоты на грамм сухой массы (далее – мг АК/г сух. м.).



Рис. 1. Внешний вид растений *T. baccata* L. cv. Semperaurea (а), *T. cuspidata* Sieb. et Zucc. (б) и *T. wallichiana* Zucc. (в)

Fig. 1. Visual appearance of *T. baccata* L. cv. Semperaurea (a), *T. cuspidata* Sieb. et Zucc. (b) and *T. wallichiana* Zucc. (c)

Определение общего содержания фенольных соединений. В ходе количественного анализа фенолов в растительных объектах использовали метод Фолина – Чокальтеу [22]. Содержание суммы фенольных соединений в пробах определяли в пересчете на галловую кислоту [23] и выражали в миллиграммах эквивалента галловой кислоты на грамм сухой массы (далее – мг ГК/г сух. м.).

Определение содержания флавоноидов. Расчет суммарного количества флавоноидов проводили с помощью спектрофотометрического метода, основанного на реакции комплексообразования биофлавоноидов с хлоридом алюминия [24]. Содержание флавоноидов в пробах выражали в миллиграммах эквивалента кверцетина на грамм сухой массы (далее – мг Кв/г сух. м.).

Статистическая обработка данных. В работе представлены результаты трех опытов (биологические образцы каждого из вариантов собирались трижды, каждый из образцов подвергался экстракции в 3-кратной повторности). Эксперименты выполнялись в 4-кратной повторности. Обработку данных производили с помощью пакета статистического анализа программы *Microsoft Excel*. Основными статистическими характеристиками служили средняя арифметическая величина, среднее квадратическое отклонение, ошибка средней величины. Различия между средними показателями оценивались как достоверные при уровне значимости $p \leq 0,05$ (ANOVA-тест). Оценку линейной связи между двумя количественными переменными осуществляли с помощью коэффициента Пирсона (r_{xy}). Гипотезу о наличии достоверной положительной корреляции между анализируемым числом пар значений переменных (n) считали подтвержденной при $p < 0,05$. На диаграммах представлены средние значения \pm ошибка средней величины.

Результаты и их обсуждение

Органы и ткани растений тиса, благодаря различному фитохимическому составу, могут характеризоваться разной способностью к проявлению антиоксидантной активности. Поэтому на первом этапе исследований представлялось актуальным провести сравнительный анализ одной из основных характеристик антиоксидантных свойств растительного сырья – антирадикальной активности экстрактов перидермы и центрального цилиндра корня, корки ствола, хвои и ювенильных побегов трех видов растений (*T. baccata* L. cv. Semperaurea, *T. cuspidata* Sieb. et Zucc. и *T. wallichiana* Zucc.).

Антирадикальная активность экстрактов различных частей интактных растений *Taxus* spp. представлена на рис. 2. В результате проведенных экспериментов было показано, что максимальная антирадикальная активность наблюдалась в экстрактах перидермы корней всех исследуемых видов тиса и варьировала от $(28,7 \pm 1,0)$ мг АК/г сух. м. у *T. wallichiana* Zucc. до $(22,4 \pm 0,7)$ мг АК/г сух. м. у *T. baccata* L. cv. *Semperaurea*. Минимальный радикалингибирующий потенциал $(0,7–1,9)$ мг АК/г сух. м.) выявлен в случае вытяжек из тканей центрального цилиндра корней анализируемых растений. В частности, антирадикальная активность данных экстрактов была на 93–97 % меньше по сравнению с исследуемым типом активности экстрактов перидермы корня.

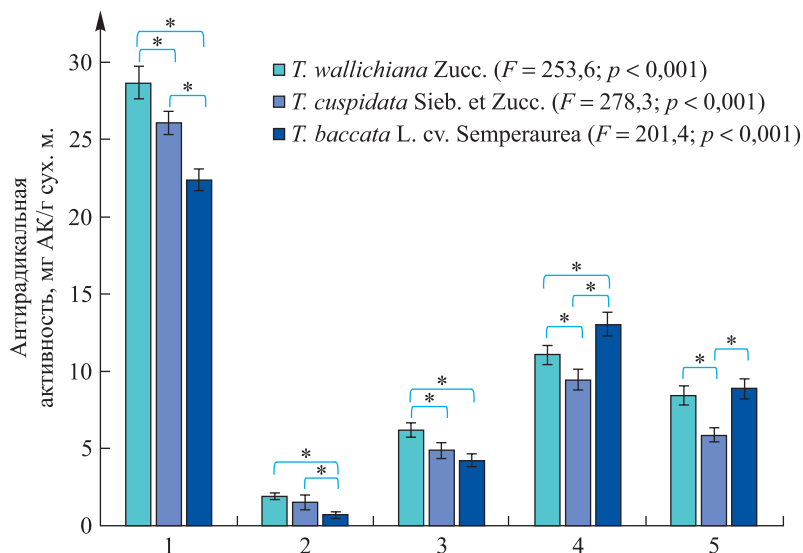


Рис. 2. Антирадикальная активность экстрактов различных частей *Taxus* spp.:
1 – перидерма корня, 2 – центральный цилиндр корня, 3 – корка ствола, 4 – хвоя, 5 – ювенильные побеги;
* – статистически значимо, $p < 0,05$ (межвидовые отличия отдельно для каждой части растения).

Для каждого вида тиса указаны значения F -критерия и уровня значимости p (однофакторный дисперсионный анализ) (сравнение различных частей растений)

Fig. 2. Antiradical activity of the extracts from different parts of *Taxus* spp.:

1 – root periderm, 2 – root's central cylinder, 3 – trunk bark, 4 – needles, 5 – juvenile shoots;
* – statistically significant, $p < 0.05$ (interspecific differences separately for each part of the plant).

For each yew species, the value of F -statistic and the p -value are indicated (one-way ANOVA) (comparison of different parts of plants)

При сравнительном анализе антирадикальной активности экстрактов хлорофиллсодержащих органов (хвои и ювенильных побегов) было отмечено, что наиболее высокий показатель исследуемой активности наблюдался в образцах, полученных из хвои *T. baccata* L. cv. *Semperaurea* ($(13,1 \pm 0,8)$ мг АК/г сух. м.), а наиболее низкий – в экстрактах ювенильных побегов *T. cuspidata* Sieb. et Zucc. ($(5,9 \pm 0,5)$ мг АК/г сух. м.).

Антирадикальная активность образцов, полученных из корки ствола всех исследуемых видов тиса ($4,2–6,2$ мг АК/г сух. м.), была существенно менее выраженной по сравнению с данным типом активности образцов, полученных из перидермы корня (на 78–81 % ниже) и хвои (на 44–68 % ниже). В целом, как видно из рис. 2, значения радикалингибирующей активности экстрактов анализируемых органов и тканей у трех изучаемых видов тиса варьировали в сопоставимых пределах.

Антиоксидантная активность присуща многим группам вторичных метаболитов. Однако наиболее ярко она выражена у фенольных соединений [25]. Поэтому на втором этапе исследований был проведен сравнительный анализ содержания суммы растворимых фенолов и флавоноидов в перидерме и центральном цилиндре корня, корке ствола, хвое и ювенильных побегах трех видов растений рода *Taxus* spp.

Исходя из полученных данных, для изучаемых видов тиса наблюдалась общая закономерность в локализации накопления фенолов (рис. 3). Было установлено, что максимальное их содержание у всех исследуемых видов растений обнаруживалось в перидерме корня. Так, в экстрактах перидермы *T. wallichiana* Zucc. этот показатель составлял $(154,2 \pm 4,3)$ мг ГК/г сух. м., *T. cuspidata* Sieb. et Zucc. – $(140,8 \pm 3,8)$ мг ГК/г сух. м., а *T. baccata* L. cv. *Semperaurea* – $(129,9 \pm 2,9)$ мг ГК/г сух. м., в то время как в корке ствола уровень накопления фенольных соединений был на 71–82 % ниже по сравнению с содержанием данного класса метаболитов в перидерме корня.

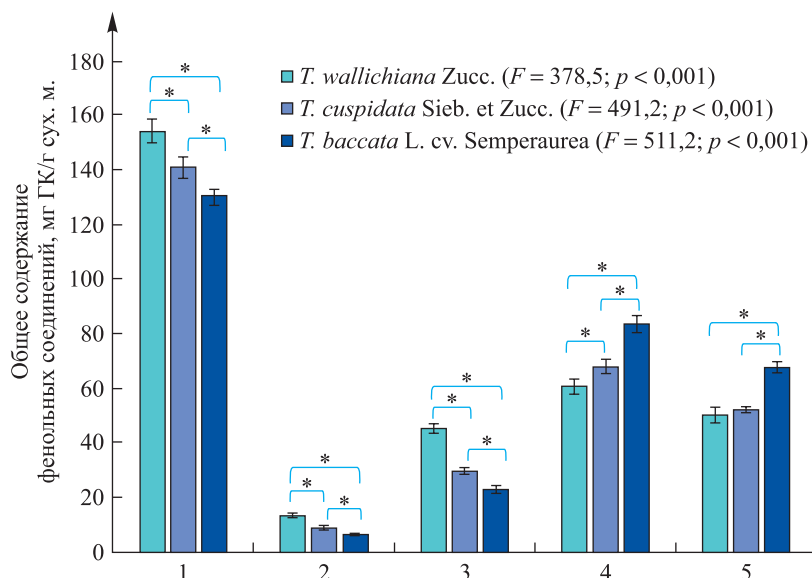


Рис. 3. Общее содержание фенольных соединений в различных частях *Taxus* spp.:
1 – перидерма корня, 2 – центральный цилиндр корня, 3 – корка ствола, 4 – хвоя, 5 – ювенильные побеги;
* – статистически значимо, $p < 0,05$ (межвидовые отличия отдельно для каждой части растения).
Для каждого вида тиса указаны значения F -критерия и уровня значимости p
(однофакторный дисперсионный анализ) (сравнение различных частей растений)

Fig. 3. Total phenolic content in different parts of *Taxus* spp.:
1 – root periderm, 2 – root's central cylinder, 3 – trunk-bark, 4 – needles, 5 – juvenile shoots;
* – statistically significant, $p < 0.05$ (interspecific differences separately for each part of the plant).
For each yew species, the value of F -statistic and the p -value are indicated
(one-way ANOVA) (comparison of different parts of plants)

Экстракты центрального цилиндра корней всех исследуемых видов тиса характеризовались наименьшим содержанием фенольных соединений по сравнению с остальными экстрактами изучаемых органов и тканей. В данном случае этот показатель варьировал в диапазоне от $(6,3 \pm 0,5)$ мг ГК/г сух. м. у *T. baccata* L. cv. Semperaurea до $(13,4 \pm 1,0)$ мг ГК/г сух. м. у *T. wallichiana* Zucc., что было на 95 и 91 % меньше, чем в перидерме корня указанных видов тиса. Кроме того, стоит отметить, что в перидерме и центральном цилиндре корня, а также в корке ствола максимальное содержание фенолов выявлено в экстрактах *T. wallichiana* Zucc., а минимальное – в экстрактах *T. baccata* L. cv. Semperaurea.

Анализ содержания суммы растворимых фенольных соединений в ювенильных побегах тиса показал, что оно изменялось от $(50,0 \pm 2,7)$ и $(52,4 \pm 1,3)$ мг ГК/г сух. м. у *T. wallichiana* Zucc. и *T. cuspidata* Sieb. et Zucc. соответственно до $(67,8 \pm 2,0)$ мг ГК/г сух. м. у *T. baccata* L. cv. Semperaurea. В хвое уровень накопления данных метаболитов был несколько выше, чем в ювенильных побегах. Так, суммарное содержание фенолов в экстрактах хвои составляло $(60,7 \pm 2,7)$, $(67,9 \pm 2,7)$ и $(83,5 \pm 3,7)$ мг ГК/г сух. м. у *T. wallichiana* Zucc., *T. cuspidata* Sieb. et Zucc. и *T. baccata* L. cv. Semperaurea соответственно. Следует отметить, что при сравнительном анализе накопления фенолов у трех изучаемых видов тиса в хлорофиллсодержащих органах (хвоя и ювенильных побегах) более высокое содержание исследуемого класса вторичных метаболитов выявлено у *T. baccata* L. cv. Semperaurea, а в перидерме, центральном цилиндре корня и корке ствола – у *T. wallichiana* Zucc.

Сравнительный анализ содержания суммы флавоноидов в различных частях интактных растений *Taxus* spp. показал, что максимальный их уровень, как и в случае антирадикальной активности экстрактов и общего накопления фенольных соединений, обнаруживался в перидерме корня всех изучаемых видов (рис. 4). При этом наиболее высокое содержание флавоноидов $(13,0 \pm 0,4)$ мг Кв/г сух. м. было выявлено в перидерме корня *T. cuspidata* Sieb. et Zucc. В экстрактах данного типа ткани *T. wallichiana* Zucc. уровень накопления флавоноидов составлял $(11,2 \pm 0,2)$ мг Кв/г сух. м., а *T. baccata* L. cv. Semperaurea – $(8,4 \pm 0,3)$ мг Кв/г сух. м.

Помимо этого, довольно высокое содержание $(6,1-7,7)$ мг Кв/г сух. м. исследуемого класса метаболитов выявлено в хвое растений тиса. Причем разница в накоплении флавоноидов между перидермой корня и хвоей у *T. wallichiana* Zucc. и *T. cuspidata* Sieb. et Zucc. была существенно более значительной (41–46 %), чем у *T. baccata* L. cv. Semperaurea (15 %). По сравнению с содержанием изучаемых соединений в хвое их уровень в ювенильных побегах был ниже на 57–73 % и составлял 2,1–2,6 мг Кв/г сух. м. Важно отметить, что, как и в случае суммы фенольных соединений, содержание флавоноидов в корке

ствола исследуемых растений *Taxus* spp. также было существенно ниже по сравнению с их содержанием в перидерме корня: различия составляли 60; 70 и 73 % для *T. wallichiana* Zucc., *T. cuspidata* Sieb. et Zucc. и *T. baccata* L. cv. *Sempereurea* соответственно. Наименьшим уровнем накопления флавоноидов отличался центральный цилиндр корня. Так, например, содержание исследуемых соединений в данной части растений тиса было на 95 % ниже (для всех видов), чем в перидерме корня.

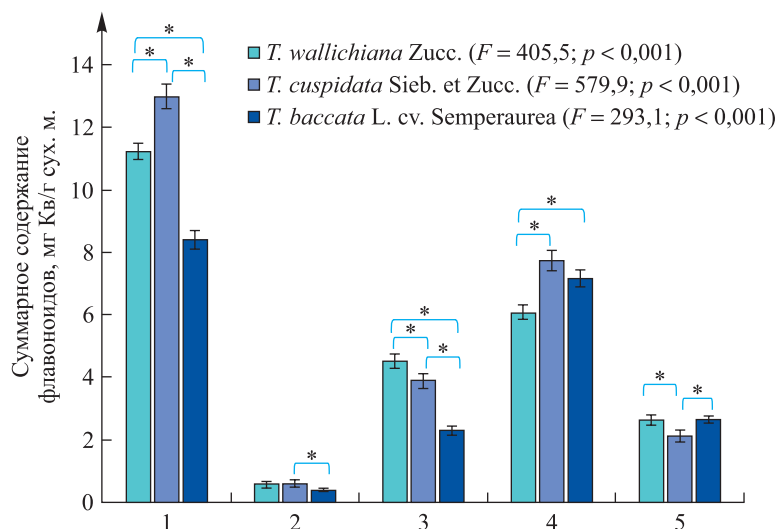


Рис. 4. Суммарное содержание флавоноидов в различных частях *Taxus* spp.:
 1 – перидерма корня, 2 – центральный цилиндр корня, 3 – корка ствола, 4 – хвоя, 5 – ювенильные побеги;
 * – статистически значимо, $p < 0,05$ (межвидовые отличия отдельно для каждой части растения).

Для каждого вида тиса указаны значения F -критерия и уровня значимости p (однофакторный дисперсионный анализ) (сравнение различных частей растений)

Fig. 4. Flavonoid content in different parts of *Taxus* spp.:

1 – root periderm, 2 – root's central cylinder, 3 – trunk bark, 4 – needles, 5 – juvenile shoots;
 * – statistically significant, $p < 0.05$ (interspecific differences separately for each part of the plant).

For each yew species, the value of F -statistic and the p -value are indicated (one-way ANOVA) (comparison of different parts of plants)

Далее нами был проведен статистический корреляционный анализ для установления связи между исследуемыми наборами данных (антирадикальная активность, содержание фенольных соединений и флавоноидов). Результаты корреляционного анализа при оценке характера взаимосвязи между общим содержанием фенольных соединений и накоплением флавоноидов в органах и тканях растений различных видов *Taxus* spp. представлены в табл. 1. Проведенный корреляционный анализ показал сильную положительную связь между общим содержанием фенолов и уровнем флавоноидов ($p < 0,05$).

Таблица 1

Данные корреляционного анализа взаимосвязи
 между общим содержанием фенольных соединений
 и накоплением флавоноидов в органах и тканях растений *Taxus* spp.

Table 1

Data of correlation analysis of the relationship between total phenolic content
 and flavonoid content in the organs and tissues of *Taxus* spp. plants

Объекты	r_{xy}	n	p
<i>T. wallichiana</i> Zucc.	0,961	5	<0,05
<i>T. cuspidata</i> Sieb. et Zucc.	0,943	5	<0,05
<i>T. baccata</i> L. cv. <i>Sempereurea</i>	0,926	5	<0,05

Кроме того, была оценена взаимосвязь антирадикальной активности экстрактов с общим содержанием фенольных соединений и флавоноидов (табл. 2, 3). В данном случае также выявлена линейная корреляция между антирадикальными свойствами экстрактов и содержанием фенольных соединений, антирадикальной активностью и суммой флавоноидов у всех исследуемых видов тиса. Таким образом,

наблюдаемое сходство в закономерностях проявлений антирадикальной активности экстрактов, уровнях суммы фенольных соединений и содержании флавоноидов в различных органах и тканях у трех исследуемых видов тиса подтверждают данные проведенного корреляционного анализа. Полученные нами результаты согласуются с данными других исследователей, которыми также была выявлена положительная корреляционная связь между антирадикальной активностью и содержанием суммы флавоноидов в экстрактах хвои *T. baccata* L. [8; 19].

Таблица 2

Данные корреляционного анализа взаимосвязи между общим содержанием фенольных соединений в органах и тканях растений *Taxus* spp. и антирадикальной активностью их экстрактов

Table 2

Data of correlation analysis of the relationship between total phenolic content in the organs and tissues of *Taxus* spp. plants and antiradical activity of their extracts

Объекты	r_{xy}	n	p
<i>T. wallichiana</i> Zucc.	0,996	5	<0,05
<i>T. cuspidata</i> Sieb. et Zucc.	0,981	5	<0,05
<i>T. baccata</i> L. cv. <i>Semperaurea</i>	0,989	5	<0,05

Таблица 3

Данные корреляционного анализа взаимосвязи между содержанием флавоноидов в органах и тканях растений *Taxus* spp. и антирадикальной активностью их экстрактов

Table 3

Data of correlation analysis of the relationship between flavonoid content in the organs and tissues of *Taxus* spp. plants and antiradical activity of their extracts

Объекты	r_{xy}	n	p
<i>T. wallichiana</i> Zucc.	0,953	5	<0,05
<i>T. cuspidata</i> Sieb. et Zucc.	0,951	5	<0,05
<i>T. baccata</i> L. cv. <i>Semperaurea</i>	0,946	5	<0,05

Как известно, флавоноиды являются важнейшими уникальными неферментными антиоксидантами, способными прямо или косвенно ослаблять либо предупреждать клеточные повреждения, вызываемые свободными радикалами [26]. Этот факт, а также результаты проведенных нами экспериментов позволяют предположить, что флавоноиды и вещества фенольной природы в целом играют первостепенную роль в антиоксидантной защите клеток растений тиса, несмотря на то, что, кроме широкого спектра фенольных соединений, в древесине, коре и хвое тиса содержатся биологически активные терпеноиды, стероиды, цианогенные соединения, лигнаны, дубильные вещества и другие соединения [6].

Стимуляция биосинтеза антиоксидантных соединений в клетках растений наблюдается при воздействии различных стрессовых факторов, таких как избыточная интенсивность освещения для предотвращения фотооксидативного повреждения, пониженная температура, УФ-облучение, влияние патогенов, засоление и ранения [27]. Например, при воздействии патогенов растения производят вещества, подавляющие их размножение и рост (терпеноиды, смолы, дубильные вещества и алкалоиды). Согласно литературным данным, большинство из этих соединений могут накапливаться в вакуолях и клеточных стенках покровных тканей [28]. Так, в исследованиях отдельных авторов показано, что в перидерме корня *Taxus × media* Rehd. сорта Брауни концентрация противоопухолевого вещества (таксола) была в 1,5 раза выше, чем в хвое растения [29].

На основании данных литературы, а также результатов проведенных нами исследований можно предположить, что именно у периферической части корневой системы растений *Taxus* spp. может реализовываться наиболее мощная программа защиты от различных стрессовых факторов окружающей среды. В частности, высокое содержание фенольных соединений в перидерме корней у исследованных представителей рода *Taxus* spp. может объясняться важнейшей ролью данной ткани в защите растений от проникновения почвенных патогенных микроорганизмов.

Заключение

Таким образом, для *T. baccata* L. cv. *Semperaurea*, *T. cuspidata* Sieb. et Zucc. и *T. wallichiana* Zucc., интродуцированных в Республике Беларусь, отмечены органо- и тканеспецифические особенности проявления антирадикальной активности и содержания суммы фенольных соединений и флавоноидов в зависимости от локализации в растении. В результате проведенного биохимического анализа экстрактов надземных и подземных органов и тканей растений *Taxus* spp. установлено, что наиболее высокие уровни антирадикальной активности, содержания суммы растворимых фенольных соединений и флавоноидов были характерны для перидермы корней. Так, антирадикальная активность в перидерме корней *T. wallichiana* Zucc. составляла ($28,7 \pm 1,0$) мг АК/г сух. м., *T. cuspidata* Sieb. et Zucc. – ($26,1 \pm 0,8$) мг АК/г сух. м., а *T. baccata* L. cv. *Semperaurea* – ($22,4 \pm 0,7$) мг АК/г сух. м., что на 78–81 % выше активности экстрактов корки ствола и на 42–64 % выше активности экстрактов хвои. В экстрактах перидермы корня содержание суммы фенольных соединений варьировало в пределах от ($129,9 \pm 2,9$) мг ГК/г сух. м. у *T. baccata* L. cv. *Semperaurea* до ($154,2 \pm 4,3$) мг ГК/г сух. м. у *T. wallichiana* Zucc. Максимальное накопление флавоноидов обнаружено в перидерме корня *T. cuspidata* Sieb. et Zucc. ($13,0 \pm 0,4$) мг Кв/г сух. м.). Самая слабая способность к нейтрализации свободных радикалов и наиболее низкое содержание фенольных соединений и флавоноидов были характерны для экстрактов центрального цилиндра корня.

Полученные данные могут служить основой для прогнозирования биологических активностей экстрактов тканей и органов различных представителей растений семейства Тахасеае, произрастающих в других регионах мира, а также при разработке биотехнологических подходов к получению фармакологически ценных метаболитов, оценке потенциала объектов *in vitro*, способствуя рациональному использованию природного растительного сырья интактных растений *Taxus* spp.

Библиографические ссылки

1. Белосельская ЗГ, Васильев ЯЯ, Ванин СИ, Воинов ГВ, Забелин ИА, Лапин ПИ и др., составители. *Деревья и кустарники СССР: дикорастущие, культивируемые и перспективные для интродукции. Том I. Голосеменные*. Соколов СЯ, Шишкин БК, редакторы. Москва: Издательство Академии наук СССР; 1949. 462 с.
2. DeLong JM, Prange RK. *Taxus* spp.: botany, horticulture, and source of anti-cancer compounds. In: Janick J, editor. *Horticultural Reviews. Volume 32*. Hoboken: John Wiley & Sons; 2006. p. 299–327.
3. Поляков АК, Сулова ЕП. *Хвойные на юго-востоке Украины*. Донецк: Норд-пресс; 2004. 197 с.
4. Patel RN. Tour de paclitaxel: biocatalysis for semisynthesis. *Annual Review of Microbiology*. 1998;52:361–395. DOI: 10.1146/annurev.micro.52.1.361.
5. Zhang B, Maiti A, Shively S, Lakhani F, McDonald-Jones G, Bruce J, et al. Microtubule-binding drugs offset tau sequestration by stabilizing microtubules and reversing fast axonal transport deficits in a tauopathy model. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2005;102(1):227–231. DOI: 10.1073/pnas.0406361102.
6. Shirmohammadli Y, Hosseinihashemi SK, Jalaligoldeh A, Efhamsisi D, Mousavinezhad SH. Chemical composition of *Taxus baccata* L. leaves and male cones water: methanol extracts. *Celal Bayar University Journal of Science*. 2020;16(3):251–255. DOI: 10.18466/cbayarfb.689482.
7. Baloglu E, Kingston DGI. The taxane diterpenoids. *Journal of Natural Products*. 1999;62(10):1448–1472. DOI: 10.1021/np990176i.
8. Bekhouche M, Benyammi R, Khelifi Slaoui M, Khelifi L, Morsli A. Free radical scavenging activity and detailed flavonoid profiling of algerian yew (*Taxus baccata* L.) by LC-ESI-MS/MS. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 2021;12(5):2613–2619. DOI: 10.13040/IJPSR.0975-8232.12(5).2613-19.
9. Pisoschi AM, Pop A. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: a review. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2015;97:55–74. DOI: 10.1016/j.ejmech.2015.04.040.
10. Di Meo S, Venditti P. Evolution of the knowledge of free radicals and other oxidants. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2020;9829176. DOI: 10.1155/2020/9829176.
11. Gonzalez-Burgos E, Gomez-Serranillos MP. Terpene compounds in nature: a review of their potential antioxidant activity. *Current Medicinal Chemistry*. 2012;19(31):5319–5341. DOI: 10.2174/092986712803833335.
12. Wheeler NC, Jech K, Masters S, Brobst SW, Alvarado AB, Hoover AJ, et al. Effects of genetic, epigenetic, and environmental factors on taxol content in *Taxus brevifolia* and related species. *Journal of Natural Products*. 1992;55(4):432–440. DOI: 10.1021/np50082a005.
13. Chunna Yu, Xijun Luo, Xiaori Zhan, Juan Hao, Lei Zhang, Yao-Bin L Song, et al. Comparative metabolomics reveals the metabolic variations between two endangered *Taxus* species (*T. fuana* and *T. yunnanensis*) in the Himalayas. *BMC Plant Biology*. 2018;18:197. DOI: 10.1186/s12870-018-1412-4.
14. Mukherjee S, Ghosh B, Jha TB, Jha S. Variation in content of taxol and related taxanes in Eastern Himalayan populations of *Taxus wallichiana*. *Planta Medica*. 2002;68(8):757–759. DOI: 10.1055/s-2002-33808.
15. Vidensek N, Lim P, Campbell A, Carlson C. Taxol content in bark, wood, root, leaf, twig, and seedling from several *Taxus* species. *Journal of Natural Products*. 1990;53(6):1609–1610. DOI: 10.1021/np50072a039.
16. Ahmad M, Yaseen M, Bhat A, Ganai BA, Zargar MA, Ganie SA, et al. *Taxus wallichiana* as a potential *in vitro* antioxidant with good lethal effect on pathogenic bacterial strains. *American Journal of Phytomedicine and Clinical Therapeutics*. 2015;3(3):209–221.
17. Prakash V, Rana S, Sagar A. Analysis of antibacterial and antioxidant activity of *Taxus baccata* Linn. *Journal of Medicinal Plants Studies*. 2018;6(5 part A):40–44.

18. Tabaszewska M, Antoniewska A, Rutkowska J, Skoczylas Ł, Słupski J, Skoczeń-Słupska R. Bioactive components, volatile profile and *in vitro* antioxidative properties of *Taxus baccata* L. red arils. *Molecules*. 2021;26(15):4474. DOI: 10.3390/molecules26154474.
19. Milutinović MG, Stanković MS, Cvetković DM, Topuzović MD, Mihailović VB, Marković SD. Antioxidant and anticancer properties of leaves and seed cones from European yew (*Taxus baccata* L.). *Archives of Biological Sciences*. 2015;67(2):525–534. DOI: 10.2298/ABS141006015M.
20. Marxen K, Vanselow KH, Lippemeier S, Hintze R, Ruser A, Hansen U-P. Determination of DPPH radical oxidation caused by methanolic extracts of some microalgal species by linear regression analysis of spectrophotometric measurements. *Sensors*. 2007;7(10):2080–2095. DOI: 10.3390/s7102080.
21. Lohvina H, Sándor M, Wink M. Effect of ethanol solvents on total phenolic content and antioxidant properties of seed extracts of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) varieties and determination of phenolic composition by HPLC-ESI-MS. *Diversity*. 2022;14(1):7. DOI: 10.3390/d14010007.
22. Slinkard K, Singleton VL. Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods. *American Journal of Enology and Viticulture*. 1977;28(1):49–55.
23. Parthasarathy S, Azizi JB, Ramanathan S, Ismail S, Sasidharan S, Said MIM, et al. Evaluation of antioxidant and antibacterial activities of aqueous, methanolic and alkaloid extracts from *Mitragyna speciosa* (Rubiaceae family) leaves. *Molecules*. 2009;14(10):3964–3974. DOI: 10.3390/molecules14103964.
24. Гаврилин МВ, Попова ОИ, Губанова ЕА. Фенольные соединения надземной части шалфея мускатного (*Salvia sclarea* L.), культивируемого в Ставропольском крае. *Химия растительного сырья*. 2010;4:99–104.
25. Stagos D. Antioxidant activity of polyphenolic plant extracts. *Antioxidants*. 2020;9(1):19. DOI: 10.3390/antiox9010019.
26. Pietta P-G. Flavonoids as antioxidants. *Journal of Natural Products*. 2000;63(7):1035–1042. DOI: 10.1021/np9904509.
27. Steyn WJ, Wand SJE, Holcroft DM, Jacobs G. Anthocyanins in vegetative tissues: a proposed unified function in photoprotection. *New Phytologist*. 2002;155(3):349–361. DOI: 10.1046/j.1469-8137.2002.00482.x.
28. Sz wajkowska-Michałek L, Przybylska-Balcerek A, Rogoziński T, Stuper-Szablewska K. Phenolic compounds in trees and shrubs of Central Europe. *Applied Sciences*. 2020;10(19):6907. DOI: 10.3390/app10196907.
29. Wickremesinhe ERM, Artega RN. Roots of hydroponically grown *Taxus* plants as a source of taxol and related taxanes. *Plant Science*. 1994;101(2):125–135. DOI: 10.1016/0168-9452(94)90248-8.

References

1. Belosel'skaya ZG, Vasil'ev YaYa, Vanin SI, Voinov GV, Zabelin IA, Lapin PI, et al., compilers. *Derev'ya i kustarniki SSSR: dikorastushchie, kul'tiviruemye i perspektivnye dlya introduksii. Tom 1. Golosemnyye* [Trees and shrubs of the USSR: growing wild, cultivated and promising for introduction. Volume 1. Gymnosperms]. Sokolov SYa, Shishkin BK, editors. Moscow: Izdatel'stvo Akademii nauk SSSR; 1949. 462 p. Russian.
2. DeLong JM, Prange RK. *Taxus* spp.: botany, horticulture, and source of anti-cancer compounds. In: Janick J, editor. *Horticultural Reviews. Volume 32*. Hoboken: John Wiley & Sons; 2006. p. 299–327.
3. Polyakov AK, Suslova EP. *Khvoynye na yugo-vostoke Ukrainy* [Coniferous trees in the south-east of Ukraine]. Donetsk: Nordpress; 2004. 197 p. Russian.
4. Patel RN. Tour de paclitaxel: biocatalysis for semisynthesis. *Annual Review of Microbiology*. 1998;52:361–395. DOI: 10.1146/annurev.micro.52.1.361.
5. Zhang B, Maiti A, Shively S, Lakhani F, McDonald-Jones G, Bruce J, et al. Microtubule-binding drugs offset tau sequestration by stabilizing microtubules and reversing fast axonal transport deficits in a tauopathy model. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2005;102(1):227–231. DOI: 10.1073/pnas.0406361102.
6. Shirmohammadli Y, Hosseinihashemi SK, Jalaligoldeh A, Efhamsisi D, Mousavinezhad SH. Chemical composition of *Taxus baccata* L. leaves and male cones water: methanol extracts. *Celal Bayar University Journal of Science*. 2020;16(3):251–255. DOI: 10.18466/cbayarfbe.689482.
7. Baloglu E, Kingston DGI. The taxane diterpenoids. *Journal of Natural Products*. 1999;62(10):1448–1472. DOI: 10.1021/np990176i.
8. Bekhouche M, Benyammi R, Khelifi Slaoui M, Khelifi L, Morsli A. Free radical scavenging activity and detailed flavonoid profiling of algerian yew (*Taxus baccata* L.) by LC-ESI-MS/MS. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 2021;12(5):2613–2619. DOI: 10.13040/IJPSR.0975-8232.12(5).2613-19.
9. Pisoschi AM, Pop A. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: a review. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2015;97:55–74. DOI: 10.1016/j.ejmech.2015.04.040.
10. Di Meo S, Venditti P. Evolution of the knowledge of free radicals and other oxidants. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2020;9829176. DOI: 10.1155/2020/9829176.
11. Gonzalez-Burgos E, Gomez-Serranillos MP. Terpene compounds in nature: a review of their potential antioxidant activity. *Current Medicinal Chemistry*. 2012;19(31):5319–5341. DOI: 10.2174/092986712803833335.
12. Wheeler NC, Jech K, Masters S, Brobst SW, Alvarado AB, Hoover AJ, et al. Effects of genetic, epigenetic, and environmental factors on taxol content in *Taxus brevifolia* and related species. *Journal of Natural Products*. 1992;55(4):432–440. DOI: 10.1021/np50082a005.
13. Chunna Yu, Xiujun Luo, Xiaori Zhan, Juan Hao, Lei Zhang, Yao-Bin L Song, et al. Comparative metabolomics reveals the metabolic variations between two endangered *Taxus* species (*T. fuana* and *T. yunnanensis*) in the Himalayas. *BMC Plant Biology*. 2018;18:197. DOI: 10.1186/s12870-018-1412-4.
14. Mukherjee S, Ghosh B, Jha TB, Jha S. Variation in content of taxol and related taxanes in Eastern Himalayan populations of *Taxus wallichiana*. *Planta Medica*. 2002;68(8):757–759. DOI: 10.1055/s-2002-33808.
15. Vidensek N, Lim P, Campbell A, Carlson C. Taxol content in bark, wood, root, leaf, twig, and seedling from several *Taxus* species. *Journal of Natural Products*. 1990;53(6):1609–1610. DOI: 10.1021/np50072a039.

16. Ahmad M, Yaseen M, Bhat A, Ganai BA, Zargar MA, Ganie SA, et al. *Taxus wallichiana* as a potential *in vitro* antioxidant with good lethal effect on pathogenic bacterial strains. *American Journal of Phytomedicine and Clinical Therapeutics*. 2015;3(3):209–221.
17. Prakash V, Rana S, Sagar A. Analysis of antibacterial and antioxidant activity of *Taxus baccata* Linn. *Journal of Medicinal Plants Studies*. 2018;6(5 part A):40–44.
18. Tabaszewska M, Antoniewska A, Rutkowska J, Skoczylas Ł, Słupski J, Skoczeń-Słupska R. Bioactive components, volatile profile and *in vitro* antioxidative properties of *Taxus baccata* L. red arils. *Molecules*. 2021;26(15):4474. DOI: 10.3390/molecules26154474.
19. Milutinović MG, Stanković MS, Cvetković DM, Topuzović MD, Mihailović VB, Marković SD. Antioxidant and anticancer properties of leaves and seed cones from European yew (*Taxus baccata* L.). *Archives of Biological Sciences*. 2015;67(2):525–534. DOI: 10.2298/ABS141006015M.
20. Marxen K, Vanselow KH, Lippemeier S, Hintze R, Ruser A, Hansen U-P. Determination of DPPH radical oxidation caused by methanolic extracts of some microalgal species by linear regression analysis of spectrophotometric measurements. *Sensors*. 2007;7(10):2080–2095. DOI: 10.3390/s7102080.
21. Lohvina H, Sándor M, Wink M. Effect of ethanol solvents on total phenolic content and antioxidant properties of seed extracts of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) varieties and determination of phenolic composition by HPLC-ESI-MS. *Diversity*. 2022;14(1):7. DOI: 10.3390/d14010007.
22. Slinkard K, Singleton VL. Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods. *American Journal of Enology and Viticulture*. 1977;28(1):49–55.
23. Parthasarathy S, Azizi JB, Ramanathan S, Ismail S, Sasidharan S, Said MIM, et al. Evaluation of antioxidant and antibacterial activities of aqueous, methanolic and alkaloid extracts from *Mitragyna speciosa* (Rubiaceae family) leaves. *Molecules*. 2009;14(10):3964–3974. DOI: 10.3390/molecules14103964.
24. Gavrilin MV, Popova OI, Gubanova EA. [Phenolic compounds of the aboveground part of nutmeg sage (*Salvia sclarea* L.) cultivated in the Stavropol Territory]. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*. 2010;4:99–104. Russian.
25. Stagos D. Antioxidant activity of polyphenolic plant extracts. *Antioxidants*. 2020;9(1):19. DOI: 10.3390/antiox9010019.
26. Pietta P-G. Flavonoids as antioxidants. *Journal of Natural Products*. 2000;63(7):1035–1042. DOI: 10.1021/np9904509.
27. Steyn WJ, Wand SJE, Holcroft DM, Jacobs G. Anthocyanins in vegetative tissues: a proposed unified function in photoprotection. *New Phytologist*. 2002;155(3):349–361. DOI: 10.1046/j.1469-8137.2002.00482.x.
28. Sz wajkowska-Michalek L, Przybylska-Balcerek A, Rogoziński T, Stuper-Szablewska K. Phenolic compounds in trees and shrubs of Central Europe. *Applied Sciences*. 2020;10(19):6907. DOI: 10.3390/app10196907.
29. Wickremesinhe ERM, Arteca RN. Roots of hydroponically grown *Taxus* plants as a source of taxol and related taxanes. *Plant Science*. 1994;101(2):125–135. DOI: 10.1016/0168-9452(94)90248-8.

Получена 05.01.2022 / исправлена 19.01.2022 / принята 19.01.2022.
Received 05.01.2022 / revised 19.01.2022 / accepted 19.01.2022.