

БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ ВЕЩЕСТВА *LATHYRUS VERNUS*THE BIOLOGICALLY ACTIVE
COMPOUNDS OF *LATHYRUS VERNUS*O. Kotsupiy
I. Lobanova

Summary. A phytochemical assessment of the composition and content of some groups of natural compounds of the *Lathyrus vernus* (L.) Bernh. was carried out. The periods of maximum accumulation of flavonoids (flavonols and catechins), saponins, tannins and coumarins in raw materials *L. vernus* are defined. By HPLC method rutin and p-hydroxybenzoic acid in the extract from the leaves, and quercetin, kaempferol, luteolin, p-coumaric acid in an hydrolysate of the extract are identified. The presented data allow us to consider the *L. vernus* as a medicinal raw material with biological activity.

Keywords: *Lathyrus vernus* Bernh., biologically active compounds, high performance liquid chromatography (HPLC).

Современными исследованиями установлена высокая биологическая активность растений рода *Lathyrus* L. (сем. Fabaceae). Однако виды этого рода не являются официальными. Только для *L. pratensis* L. (чина луговая) и *L. sativus* L. (чина посевная) представлено научное обоснование их применения в медицине и фармации в качестве источника биологически активных веществ (БАВ). Из сырья чины посевной получен препарат «Латифен» антиаритмического действия [1–4].

Lathyrus vernus (L.) Bernh. (= *Orobus vernus* L.) — чина весенняя по сведениям народной медицины обладает обезболивающим и ранозаживляющим действием, восстанавливает и укрепляет стенки кровеносных сосудов, способствует выведению токсичных веществ, понижает внутриглазное давление при глаукоме [5]. В традиционной медицине Сибири используется при заболеваниях нервной системы, стенокардии, паронихиях и диарее. Чина весенняя является кормовым и медоносным растением [6, 7]. Биологическую активность чины весенней обуславливают соединения различной химической природы: белки (протеины), витамины, незаменимые аминокислоты, макро- и микроэлементы, флавоноиды (кверцетин, rutin, кемпферол и 3-софорозид-7-гликозид кемпферола, кверцитрин, лутеолин, ононин, формонетин), алкалоиды. В листьях и стеблях были найдены циклитолы, а в цветках — антоцианы дельфинидин, петунидин, мальвидин [2, 7–9]. В листьях

Коцупий Ольга Викторовна

К.б.н., н.с., ФГБУН Центральный сибирский ботанический сад Сибирского отделения Российской академии наук (ЦСБС СО РАН) (Новосибирск)
olnevaster@gmail.com

Лобанова Ирина Евгеньевна

К.б.н., с.н.с., ФГБУН Центральный сибирский ботанический сад Сибирского отделения Российской академии наук (ЦСБС СО РАН) (Новосибирск)
irevlob@ngs.ru

Аннотация. Проведена фитохимическая оценка состава и содержания некоторых групп природных соединений *Lathyrus vernus* (L.) Bernh. Определены периоды максимального накопления флавоноидов (флавонолов и катехинов), сапонинов, дубильных веществ и кумаринов в сырье чины весенней. Методом ВЭЖХ в экстракте из листьев идентифицированы rutin и п-оксибензойная кислота, в гидролизате экстракта — кверцетин, кемпферол, лутеолин и п-кумаровая кислота. Представленные данные позволяют рассматривать чину весеннюю в качестве лекарственного сырья, обладающего биологической активностью.

Ключевые слова: *Lathyrus vernus* (L.) Bernh., биологически активные соединения, высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ).

растений этого вида, произрастающего в лесостепной зоне Западной Сибири, в течение вегетационного периода было определено содержание флавоноидов, сапонинов, танинов и кумаринов [10]. Из надземной части *L. vernus* флоры Украины выделено 11 веществ: 7 флавоноидов, представленных производными лутеолина, кверцетина, кемпферола и формонетина, 2 оксикумарина и 2 оксикоричные кислоты [11]. В последние годы стало известно о наличии у *L. vernus* антиоксидантных и противовирусных свойств, а также антибиотической активности [14–16].

Целью настоящей работы является фитохимическая оценка состава и содержания флавоноидов, танинов, сапонинов и кумаринов чины весенней, произрастающей в условиях лесостепной зоны Западной Сибири, в качестве потенциально лекарственного сырья.

Материал и методы

Чина весенняя — *L. vernus* — многолетнее травянистое растение высотой до 25–50 см. Встречается в Европейской части России, на Кавказе, в Западной и Восточной Сибири по тенистым лесам и в кустарниках [17].

Образцы листьев, стеблей, семян, створок бобов чины весенней были собраны в окрестностях г. Новосибирска (смешанный лес) в течение вегетационного пе-

Таблица 1. Содержание биологически активных веществ в отдельных органах *Lathyrus vernus* в течение вегетационного периода 2015 года

Органы чины	Содержание биологически активных веществ, % от массы возд.— сух. сырья				
	Кумарины*	Флавонолы	Катехины	Сапонины	Танины
Начало вегетации					
листья	–	0,52	0,15	3,39	0,72
стебли	–	0,31	0,21	6,14	0,85
корни	++++	–	0,12	1,34	0,96
Цветение					
листья	–	2,22	0,16	2,25	0,90
стебли	+++	0,74	0,13	4,02	1,27
цветки	++	1,47	0,18	2,51	0,84
корни	++++	0,28	0,14	2,16	0,77
Начало плодоношения					
листья	–	2,03	0,17	2,25	1,46
стебли	+++	0,45	0,09	2,59	1,25
семена бурые	н. о.	0,37	1,29	2,46	5,15
створки зеленых бобов	+++	2,41	0,57	1,70	1,30
Окончание плодоношения					
листья	–	1,59	0,22	2,12	1,61
стебли	+++	0,41	0,11	1,81	0,76
семена спелые	+	0,13	0,26	0,92	1,09
створки спелых бобов	+++	0,55	0,17	1,64	1,52
корни	+++	0,14	0,15	2,12	1,15

Примечание: «*» — визуальная оценка содержания кумаринов: «+» — следовые количества кумаринов; «+ +» — незначительные; «+ + +» — средние; «+ + + +» — высокое содержание; «н. о.» — не определяли; «–» — вещества отсутствуют.

риода 2015 года по фазам: начало вегетации, цветение, начало и окончание плодоношения.

Определяли содержание флавонолов, катехинов, сапонинов, танинов (в % на воздушно-сухую массу) и наличие кумаринов в сырье чины весенней. Флавонолы и катехины определяли спектрофотометрическим методом. Количество флавонолов в пробе рассчитывали по калибровочному графику, построенному по рутину (Россия), а катехинов — по катехину фирмы «Sigma» (США) [18, 19].

Количество сапонинов (сырой сапонин) определяли весовым методом [20], дубильные вещества (танины) [21] — титриметрическим. Присутствие кумаринов оценивали визуально по интенсивности флюоресценции в ультрафиолете. Бескумариновые экстракты флюоресцировали слабо буро-красным цветом, с низким содержанием кумаринов — красно-зеленым, а высококумариновые — давали блестящую зеленую флюоресценцию [22]. Для оценки содержания кумаринов были приняты следующие обозначения: следовые количества кумаринов — «+», незначительные — «+ +», средние — «+ + +», высокие — «+ + + +».

Качественный анализ фенольных соединений (ФС) проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Для извлечения суммы ФС из листьев чины весенней проводили исчерпывающую экстракцию 70% этанолом при нагревании на водяной бане. После охлаждения разбавленный экстракт пропускали через концентрирующий патрон (Диапак С18), смывали 70% — ным этанолом. Для проведения кислотного гидролиза к 1 мл водно-этанольного извлечения прибавляли 1 мл HCl (2 М) и нагревали на кипящей водяной бане в течение 2-х часов. После охлаждения разбавленный гидролизат пропускали через концентрирующий патрон, агликоны смывали 96% -ным этанолом.

Анализ компонентов проводили на жидкостном хроматографе «Agilent 1200» с диодноматричным детектором и системой для сбора и обработки хроматографических данных ChemStation. Вещества разделяли на колонке Zorbax SB-C18, размером 4,6×150 мм, с диаметром частиц 5 мкм, применив градиентный режим элюирования. В подвижной фазе содержание метанола в водном растворе ортофосфорной кислоты (0,1%)

Таблица 2. Спектральные характеристики некоторых ФС в экстракте листьев растений *Lathyrus vernus*

№ пика	Время удерживания (t_R), мин	Соединение	Спектральные характеристики соединения, λ_{max} нм
1	6,1	–	315
2	7,5	<i>n</i> -оксибензойная кислота	207, 256
3	10,4	–	315
4	12,7	кемпферол-3-D-(ди- <i>n</i> -кумароил) глюкозид	267, 314, 314, 350
5	15	флавоногликозид	265, 290 пл., 347
6	17	рутин	256, 272 пл., 357
7	18,8	гликозид флавоноида	255, 360
8	19,2	гликозид флавоноида	255, 360
9	22	гликозид флавоноида	265, 292 пл., 345
10	29,3	–	220, 275

Примечание: пл.— плечо.

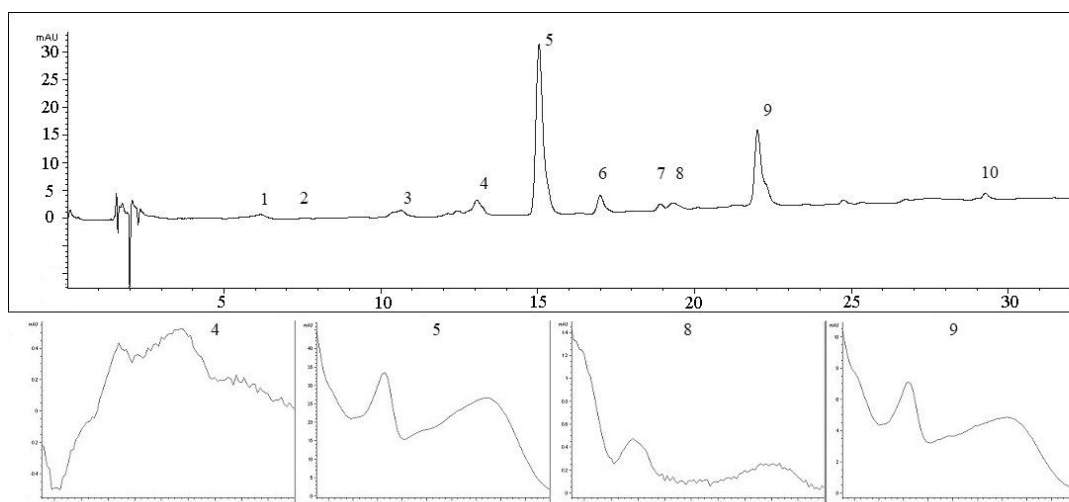


Рис. 1. Хроматограмма экстракта и спектры индивидуальных веществ листьев растений *Lathyrus vernus*. Детектирование: УФ 270 нм. Обозначение компонентов (1–10) совпадает с нумерацией в таблице 2. По оси абсцисс — время удерживания, мин., по оси ординат — сигнал детектора, е.о.п.

изменялось от 19 до 70% за 30 мин, далее до 100% к 32 мин. Скорость потока элюента — 1 мл/мин. Температура колонки 26° С. Объем вводимой пробы 10 мкл. Детектирование осуществляли на аналитических волнах $\lambda = 270, 325$ нм. Для приготовления подвижных фаз использовали метиловый спирт (ос. ч.), ортофосфорную кислоту (ос. ч.), бидистиллированную воду, в качестве метчиков — стандартные образцы кверцетина, кемпферола, лютеолина, рутина («Sigma», «Fluka») и *n*-оксибензойной и *n*-кумаровой кислот (Россия). Анализ каждого образца проводили в 2-кратной повторности [23].

Результаты и их обсуждение

Результаты фитохимической характеристики *L. vernus* представлены в таблице 1. Содержание ис-

следованных БАВ в течение вегетационного периода зависело от фазы развития чины и ее органа. В течение всего периода вегетации во всех органах чины присутствовали катехины, сапонины, танины и флавонолы, но последние отсутствовали в корнях в начале вегетации. Максимальные количества флавонолов, катехинов и танинов накапливались в фазе начала плодоношения: катехины и танины — в бурых семенах, а флавонолы — в створках зеленых бобов. Максимальное количество сапонинов присутствовало в фазе начала вегетации в стеблях. Максимум кумаринов отмечен в фазах начала вегетации и цветения в корнях. Обращает на себя внимание факт отсутствия в течение всего периода вегетации кумаринов в листьях, в фазе начала вегетации — в стеблях (табл. 1). Количественная оценка содержания БАВ показала, что надземная часть

Таблица 3.
Спектральные характеристики некоторых ФС в гидролизате экстракта листьев растений
Lathyrus vernus

№ пика	Время удерживания (t_R), мин	Соединение	Спектральные характеристики соединения, λ_{max} нм
1	10,4	—	315
2	12,7	эфир фенолокислоты с моносахаридом	229, 312
3	14,6	<i>n</i> -кумаровая кислота	210, 227, 298 пл., 306 пл, 310
4	17,6	кверцетин	255, 299 пл., 370
5	18,7	<i>n</i> -кумароилсофороза	224, 313
6	22,5	лютеолин	253, 267, 291 пл., 350
7	26	кемпферол	265, 322 пл., 367

Примечание: пл.— плечо.

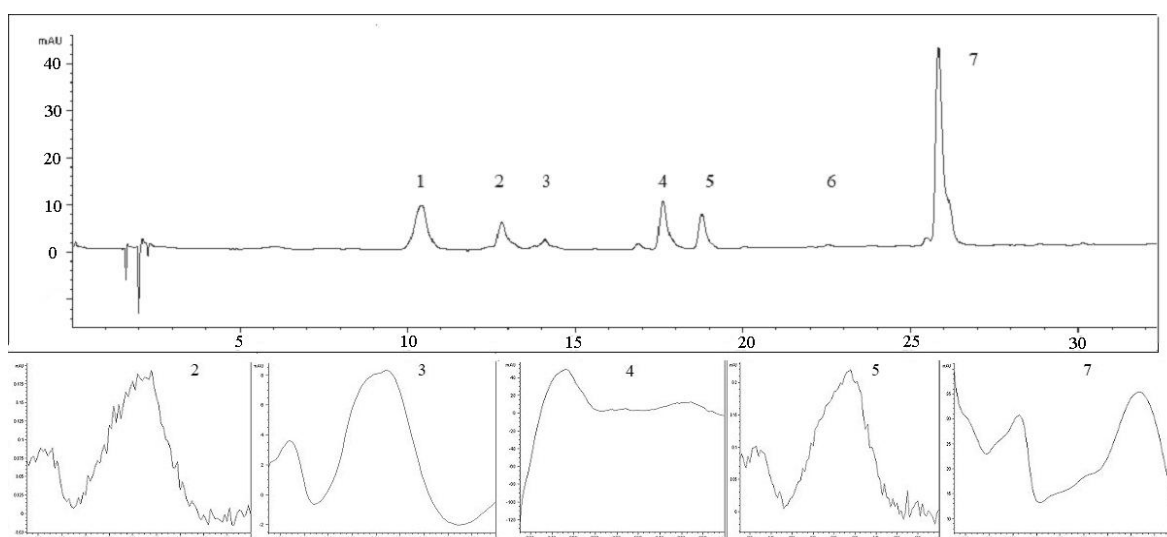


Рис. 2. Хроматограмма гидролизата и спектры индивидуальных веществ экстракта листьев растений *Lathyrus vernus*. Детектирование: УФ 325 нм. Обозначение компонентов (1–7) совпадает с нумерацией в таблице 3. По оси абсцисс — время удерживания, мин., по оси ординат — сигнал детектора, е.о.п.

чины весенней, собранная в периоды цветения и начала плодоношения, может служить источником флавонолов и катехинов.

Методами ВЭЖХ в экстракте листьев чины весенней было обнаружено не менее 24 компонентов ФС. Компоненты № 6 и № 2 идентифицированы как рутин и *n*-оксибензойная кислота. Большая часть главных компонентов по максимумам УФ-спектров была отнесена к гликозидам флавоноидов [24], компонент № 4 — к ацилированным гликозидам флавонолов [25] (рис. 1, табл. 2).

В гидролизате экстракта листьев чины найдено не менее 14 ФС, из них идентифицированы кверцетин, кемпферол, лютеолин и *n*-кумаровая кислота. Два компонента (№ 2 и № 5) по максимумам УФ-спектров были

отнесены к эфирам фенолокислот с моно- и дисахаридами [25] (рис. 2, табл. 3).

Полученные спектральные характеристики дополняют сведения о составе полифенольных соединений чины весенней из сибирского региона. Наличие феноло- и оксикоричных кислот (*n*-оксисбензойной и *n*-кумаровой) открывает новые перспективы в применении этого растения в качестве источника антиоксидантов.

Таким образом, в вегетативных и генеративных органах растений чины весенней из дикорастущей популяции лесостепной зоны Западной Сибири были определены следующие биологически активные вещества: флавонолы (0,13–2,41%), катехины (0,09–1,29%), сапонины (0,92–6,14%), танины (0,72–5,15%). Во всех органах,

кроме листьев, обнаружены кумарины. Методом ВЭЖХ в экстракте листьев чины весенней идентифицированы рутин и *n*-оксибензойная кислота, в гидролизате экстракта — кверцетин, кемпферол, лютеолин и *n*-кумаровая кислота. Полученные данные свидетельствуют о возможности использования *Lathyrus vernus* в качестве лекарственного сырья, содержащего комплекс биологически активных соединений, содержание которых

изменяется в зависимости от фазы развития чины и ее органа.

Работа выполнена в рамках государственного задания ЦСБС СО РАН № АААА-А17-117012610051-5 по проекту «Оценка морфогенетического потенциала популяций растений Северной Азии экспериментальными методами».

ЛИТЕРАТУРА

1. Бондарь А. А. Ботанико-фармакогностическое изучение чины луговой (*Lathyrus pratensis* L.): Автореф. дис. ... канд. фарм. наук.—Москва, 2003.— 24 с.
2. Зайчикова С. Г. // Ботанико-фармацевтическое изучение некоторых представителей рода чина семейства бобовые и оценка их биологической активности: Автореф. дис. ... д-ра фарм. наук.—Москва.— 2003.— 48 с.
3. Шмараева И. Э., Ковалев В. Н., Волковой В. А. Растения рода чина и перспективы их использования // Фітотерапія в Україні.— 1998.— № 1.— С. 19–21.
4. Шмараева И. Э. Фитохимическое изучение растений рода чина.— Автореф. дисс. канд. фарм. н.— Харьков, 1993.— 22 с.
5. Суханов Н. В. Целебные снадобья // Православная газета Севера России «Вера»-«Эском».— 2003.— № 439.— С. 13.
6. Растительные ресурсы России: Дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность. Т. 3. / Отв. ред. А. Л. Буданцев. СПб; М.: Товарищество научных изданий КМК, 2010. С. 48–50.
7. Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование. Семейства Hydrangeaceae—Haloragaceae.— Л.: Наука, 1987.— 326 С.
8. Zaichikova S. G., Samylina I. A., Novozhilova T. I. // Study of the lipid and flavonoid composition of some species from *Lathyrus* genus // Pharm. chem. J.— 2001.— Vol. 35, № 5.— P. 271–273.
9. Куркин В. А., Запесочная Г. Т., Кривенчук П. Е. Флавоноиды // Химия природных соединений.— 1981.— № 5.— С. 661–662.
10. Лобанова И. Е. Биологически активные вещества листьев *Lathyrus vernus* // Химия растительного сырья.— 2014.— № 4.— С. 301–303.
11. Дабаньез М. Ф. Фармакогностическое изучение травы чины нутовой и чины весенней: Дис. ... канд. фарм. наук.— Харьков, 2004.— 196 с.
12. Зайчикова С. Г., Самылина И. А., Бурляева М. О. // Белковый, аминокислотный и минеральный состав отдельных представителей рода чина // Химико-фармацевтический журнал.— 2001.— Т. 35, № 6.— С. 51–53.
13. Лобанова И. Е., Чанкина О. В. Элементный состав чины весенней (*Lathyrus vernus*) // Растительный мир Азиатской России.— 2012.— № 2 (10).— С. 56–61.
14. Лобанова И. Е., Динамика содержания аскорбиновой кислоты в растениях астрагала сладколистного и чины весенней // Сибирский вестник с-х науки.— 2010.— № 4.— С. 19–23.
15. Лобанова И. Е., Якимович Ю. Л. // Антимикробная активность масляных экстрактов *Lathyrus vernus* // Вестник НГУ. Серия биология и клиническая медицина.— 2014.— Том 12, вып.3.— С. 31–36.
16. Лобанова И. Е., Филиппова Е. И., Высочина Г. И., Мазуркова Н. А. Противовирусные свойства дикорастущих и культивируемых растений Юго-Западной Сибири // Растительный мир Азиатской России.— 2016, № 2 (22).— С. 64–72.
17. Флора Сибири в 14 томах — Т. 9: Fabaceae (*Leguminosae*) — Новосибирск: Наука, 1994.— 280 с.
18. Беликов В. В., Шрайбер М. С. Методы анализа флавоноидных соединений // Фармация.— 1970.— № 1.— С. 66–72.
19. Кукушкина Т. А., Зыков А. А., Обухова Л. А. // Манжетка обыкновенная (*Alchemilla vulgaris* L.) как источник лекарственных средств // Актуальные проблемы создания новых лекарственных препаратов природного происхождения: Материалы VII Международного съезда.— СПб — Пушкин, 2003.— С. 64–69.
20. Киселева А. В., Волхонская Т. А., Киселев В. Е. Биологически активные вещества лекарственных растений Южной Сибири / Отв. ред. А. Г. Валуцкая.— Новосибирск: Наука, 1991.— 136 с.
21. Государственная Фармакопея СССР. 11-е изд.— Вып. 1.— М., 1987.— С. 286–287.
22. Методы биохимического исследования растений / Ермаков А. И. [и др.].— Л.: Агропромиздат, 1987.— 430 с.
23. Храмова Е. П., Комаревцева Е. К. Изменчивость флавоноидного состава листьев *Potentilla fruticosa* (Rosaceae) разных возрастных состояний в условиях Горного Алтая // Растительные ресурсы.— 2008.— Т. 44, № 3.— С. 96–102.
24. Запретов М. Н. Основы биохимии фенольных соединений: учебное пособие.— М.: Наука, 1974.— 213 с.
25. Бандюкова В. А. Фенолокислоты растений, их эфиры и гликозиды // Химия природных соединений.— 1983.— № 3.— С. 265–173.

© Коцупий Ольга Викторовна (olnevaster@gmail.com),

Лобанова Ирина Евгеньевна (irevlob@ngs.ru).

Журнал «Современная наука: актуальные проблемы теории и практики»