

УДК 547.972

ФЛАВОНОИДЫ *EQUISETUM ARVENSE* L. И *LATHYRUS PRATENSIS* L.

© В.М. Боначева*, А.А. Дренин, Э.Х. Ботиров

Сургутский государственный университет, ул. Ленина, 1, Сургут, 628412
(Россия), e-mail: bwmbeml@mail.ru

Изучены флавоноиды надземных частей *Equisetum arvense* L. (хвощ полевой) и *Lathyrus pratensis* L. (чина луговая), произрастающих на территории Ханты-Мансийского автономного округа. Из надземной части хвоща полевого выделены лютеолин, лютеолин-7-О-β-D-глюкопиранозид, лютеолин-4'-О-β-D-глюкопиранозид, а из чины луговой – лютеолин-7-О-β-D-глюкопиранозид, лютеолин-4'-О-β-D-глюкопиранозид и кверцетин-3-О-β-D-глюкопиранозид. Полученные соединения идентифицированы на основании химических превращений и результатов изучения данных ИК-, УФ-, ¹H-ЯМР, ¹³C-ЯМР и масс-спектров.

Ключевые слова: *Equisetum arvense* (L.) Smeat – хвощ полевой, и *Lathyrus pratensis* L. – чина луговая, флавоноиды, лютеолин, лютеолин-7-О-β-D-глюкопиранозид, лютеолин-4'-О-β-D-глюкопиранозид, кверцетин-3-О-β-D-глюкопиранозид.

Введение

Среди многообразия флоры Западной Сибири вызывают интерес растения, содержащие флавоноиды. Большинство флавоноидов способны уменьшать хрупкость и проницаемость стенок капилляров. В настоящее время на основе флавоноидов созданы препараты с выраженной противовоспалительной, противоязвенной, диуретической, гипогликемической, желчегонной, гепатопротекторной активностью. В последние годы появились сообщения об их противоопухолевом и антивирусном действии [1, 2].

Хвощ полевой (*Equisetum arvense* L. семейств *Equisetaceae*) – многолетнее травянистое споровое растение, имеет космополитический тип ареала. Это самый распространенный вид хвоща, произрастающий в нашей стране почти повсюду [3].

Хвощ полевой как лекарственное растение используют не только в народной, но и в официальной медицине для лечения многих заболеваний. Такое многостороннее действие растения, по-видимому, обусловлено его богатым химическим составом. В нем найдены сапонины, алкалоиды, дубильные вещества, смолы, горечи, также обнаружена яблочная, аконитовая, кремневая и щавелевая кислоты, витамины С, В, каротин, флавоноиды и др. [3–5].

Чина луговая (*Lathyrus pratensis* L., семейство *Fabaceae*) – многолетнее растение с широким ареалом распространения. Применяется в официальной и народной медицине для лечения острых и хронических респираторных заболеваний, заболеваний печени, при пневмониях и туберкулезе легких, а также при бессоннице [6].

В составе экстрактов этого растения обнаружены циклитолы, витамины, фенолкарбоновые кислоты, хиноны, а также флавоноиды и их гликозиды [6, 7].

С целью поиска новых биологически активных веществ нами изучены флавоноиды надземных частей хвоща полевого и чины луговой, произрастающих на территории Ханты-Мансийского автономного округа.

Методика исследования

Экстракция и выделение флавоноидов из надземной части хвоща полевого. Воздушно-сухую измельченную надземную часть хвоща полевого (900 г), собранного на территории Сургутского района ХМАО летом в 2009 г., пятикратно экстрагиро-

Боначева Виктория Михайловна – аспирант кафедры химии, тел. (3462) 76-28-00, e-mail: bwmbeml@mail.ru,
Дренин Алексей Анатольевич – доцент кафедры химии, кандидат химических наук, тел. (3462) 76 28 00, e-mail: bioecologist@yandex.ru.
Ботиров Эркин Хожиабарович – заведующий кафедрой химии, профессор, тел. (3462) 76 30 91, e-mail: botirov-nepi@mail.ru,

* Автор, с которым следует вести переписку.

вали 85%-ным этиловым спиртом при комнатной температуре. Объединенный экстракт сгущали в вакууме, разбавляли водой в соотношении 1 : 1 и затем последовательно обрабатывали на делительной воронке петролейным эфиром, хлороформом, этилацетатом и *n*-бутанолом.

Хроматографированием этилацетатной фракции хвоща полевого (10,5 г) на колонке (90×3,5 см) с силикагелем (210 г) в градиентной системе этилацетат-этанол выделили три вещества, которые относятся к группе флавоноидов. Вещество 1 (выход 0,30 г) элюировано смесью растворителей – этанол в соотношении 98 : 2, вещество 2 (выход 0,40 г) – элюировано системой растворителей этилацетат – этанол (94 : 6), вещество 3 (выход 0,45 г) – этой же системой (92 : 8). Полученные вещества очищены колоночной хроматографией на полиамиде марки «Woelm» (Германия) в градиентной системе растворителей хлороформ – этанол.

Экстракция и выделение флавоноидов из надземной части чины луговой. Сбор растительного материала проводился в июле 2007 г., в Сургутском районе.

Воздушно-сухую навеску (763,9 г) измельченного растительного материала надземной части чины луговой экстрагировали 5 л 80%-ного этилового спирта при комнатной температуре в течение суток. Экстракт упаривали в вакууме до 0,5 л. Процедуру проводили пятикратно. Обобщенный сгущенный под вакуумом экстракт разбавляли водой (1 : 1) и последовательно обрабатывали на делительной воронке петролейным эфиром, хлороформом, этилацетатом, бутанолом.

Этилацетатную (8 г) и бутанольную фракцию (10 г) хроматографировали на колонках (3,5×90 см) с силикагелем (200 г) в градиенте спирта в хлороформе (0–30 и 4–35%). Фракции собирали по 100 мл. Из этилацетатной фракции спиртового экстракта был выделены вещества 2 и 3, а из бутанольной – соединение 4.

Полный кислотный гидролиз флавоноидных гликозидов проводили нагреванием на кипящей водяной бане с обратным холодильником раствора 10 мг вещества в 10 мл смеси 5% соляной кислоты и этанола в соотношении 1 : 1 в течение 2 ч [5]. Осадок агликона, выпавший при отгонке этанола в вакууме, отделяли фильтрованием. Фильтрат упаривали досуха, остаток растворяли в этаноле и углеводы анализировали методом тонкослойной хроматографии в присутствии подлинных образцов моносахаридов в системе растворителей *n*-бутанол – уксусная кислота – вода (6 : 1,5 : 2,5). Пластины проявляли смесью *n*-бутанол – вода – уксусная кислота – фосфорная кислота – анилин – дифениламин, мл (60 – 25 – 15 – 10 – 1 – 2 г), высушивали в термостате при 120 °С в течение 5 мин [6].

УФ-спектры регистрировали на спектрофотометре СФ-2000 в очищенном этаноле, ИК-спектры снимали на ИК-Фурье-спектрометре IR Prestige-21. Масс-спектры снимали на хромато-масс-спектрометре Thermo Finnigan MAT 95 XP, энергия ионизации 70 эВ. Спектры ЯМР ¹H и ¹³C регистрировали на спектрометрах «Bruker AM-300», «Bruker AMX III-300» (300,13 МГц (¹H), 75,47 МГц (¹³C)), внутренний стандарт ТМС. Химические сдвиги приведены в миллионных долях (м.д.) в δ-шкале.

Температуры плавления определяли на столике Кофлера.

Для ТСХ использовали пластинки Sorbfil ПТСХ-П-А-УФ. Пятна флавоноидов на пластинках просматривали в ультрафиолете в хроматографическом облучателе УФС-254/365 при 254 и 365 нм, а также обнаруживали проявлением 3%-ным спиртовым раствором ванилина в смеси с концентрированной соляной кислотой в соотношении 4 : 1 и 1%-ным спиртовым раствором AlCl₃. Колоночную хроматографию проводили на силикагеле марки КСК 100/160 мкм.

Результаты и обсуждение

Выделенные индивидуальные соединения относятся к классу флавоноидов. Идентификацию полученных веществ проводили на основании результатов химических превращений и спектральных данных. Полученные результаты сравнивали с литературными данными.

Лютеолин (1) – светло-желтое кристаллическое вещество состава C₁₅H₁₀O₆, T_{пл.} 327–329 °С. По данным УФ-спектроскопии данное вещество относится к производным флавона (максимумы поглощения 250, 270, 356 нм). На основании изучения УФ-спектров, снятых в присутствии диагностических реагентов, установили наличие фенольных гидроксильных групп в положениях 5,7,4' [8].

В ИК-спектре исследуемого соединения наблюдаются полосы колебаний гидроксильных групп (3450–3200 см⁻¹), карбонил γ-пирона (1658 см⁻¹), ароматических ядер (1612 см⁻¹).

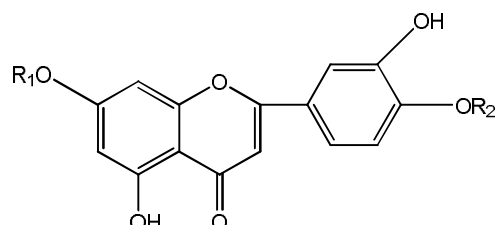
В спектре ПМР соединения, снятого в дейтерированном диметилсульфоксиде, наблюдаются сигналы протонов 5,7,3',4'-тетразамещенного флавона.

¹H-ЯМР (DMSO-d₆, δ_H, м.д.): 13,00 (H, с, 5-OH), 7,38 (H, дд, 2,1 и 8,0 Гц, H-6'), 7,46 (H, д, 2,10, H-2'), 6,82 (H, д, 8,2 Гц, H-5'), 6,35 (1H, д, 1,5 Гц, H-8), 6,09 (1H, д, 1,7 Гц, H-6), 6,57 (1H, с, H-3).

¹³C-ЯМР (DMSO-d₆, δ_C, м.д.): 181,04 (C-4), 166,58 (C-7), 163,59 (C-2), 161,26 (C-9), 157,34 (C-5), 151,40 (C-4'), 146,16 (C-3'), 120,06 (C-1'), 118,86 (C-6'), 115,81 (C-5'), 112,45 (C-2'), 102,53 (C-10), 101,92 (C-3), 99,29 (C-6), 94,10 (C-8).

Исходя из полученных данных, соединение идентифицировано с 5,7,3',4'-тетрагидроксифлавоном (лютеолином). Выводы подтверждаются также непосредственным сравнением флавона с подлинным образцом лютеолина (ТСХ, ИК-спектр).

Лютеолин-7-О-β-D-глюкопиранозид (2) – светло-желтые кристаллы с T_{пл.} 239-241 °С, состава C₂₁H₂₀O₁₀, M⁺ агликона 270. УФ-спектр данного соединения имеет максимумы поглощения при длине волны 271, 340 нм, что характерно для флавонов [8]. При добавлении ацетата натрия к раствору вещества сдвиги не происходят (271, 340 нм), поэтому 7-OH-замещена. С гидроксидом натрия наблюдаем bathochromный сдвиг полосы I на 44 нм, полосы II на 8 нм, следовательно, молекула содержит свободные фенольные гидроксильные группы. С AlCl₃ – 271, 290, 382 нм.



1. R₁=H, R₂=H
2. R₁= β-D-Glcp, R₂=H
3. R₁= H, R₂= β-D-Glcp

В ИК-спектре наблюдаются полосы колебаний гидроксильных групп (3515,52–3068,32 см⁻¹), карбонил γ-пирона (1657,12 см⁻¹), ароматических C=C связей (1502,20 см⁻¹), C–O-гликозидные колебания (1078,77–1031,76 см⁻¹) и др.

Был проведен полный кислотный гидролиз вещества смесью 5 мл 5%-ной HCl и этанол (1 : 1) в течение 2 ч. В результате получили лютеолин и D-глюкозу. Продукты гидролиза идентифицировали, используя метод ТСХ.

В ¹H-ЯМР-спектре (DMSO-d₆): проявляются сигналы 7,5,3',4'-тетразамещенного флавона и углеводной части при 12,90 (1H, уш. с, 5-OH), 10,80 (1H, уш. с., 4'-OH), 9,11 (1H, с, 3'-OH), 7,52 (2H, д, 8,9 Гц, H-2',6'), 7,24 (2H, д, 8,9 Гц, H-5'), 6,83 (1H, с, H-3), 6,50 (1H, д, 2 Гц, H-8), 6,20 (1H, д, 2 Гц, H-6), 4,99 (1H, д, 7,3 Гц, H-1''Glc), 3,17-3,49 м.д. (м, протоны сахарной части).

Сигнал аномерного протона D-глюкозы проявляется в виде дублета при 4,99 м.д. с KCCB 7,3 Гц, что свидетельствует о β-конфигурации гликозидной связи.

¹³C-ЯМР (DMSO-d₆, δ_C, м.д.): 181,81 (C-4), 164,31 (C-7), 163,21 (C-2), 161,47 (C-9), 157,38 (C-5), 148,57 (C-4'), 146,93 (C-3'), 124,71 (C-1'), 118,56 (C-6'), 116,00 (C-5'), 113,61 (C-2'), 104,00 (C-10), 103,82 (C-3), 101,18 (C-1''), 98,95 (C-6), 94,06 (C-8), 77,33 (C-5''), 75,86 (C-3''), 73,26 (C-2''), 69,78 (C-4''), 60,72 (C-6'').

Изучением физико-химических свойств и спектральных данных, а также сравнением с подлинным образцом исследуемое вещество идентифицировали с лютеолин-7-О-β-D-глюкопиранозидом (цинарозидом) [9].

Лютеолин-4'-О-β-D-глюкопиранозид (3) – кристаллы желтого цвета с T_{пл.} 189-191 °С, состава C₂₁H₂₀O₁₀. УФ-спектр с λ_{max}^{этанол}: 271, 290*, 342 нм характерен для флавонов. Смещение максимумов поглощения при добавлении ионизирующих и комплексообразующих добавок свидетельствует о наличии свободных фенольных гидроксильных групп в положениях 5 и 7, а также об отсутствии гидроксила в положении 4' (+NaOH: 270, 395 нм; + AcONa: 271, 370 нм; + AlCl₃: 279, 351, 386* нм) [8].

В ИК-спектре наблюдаются полосы колебаний γ-пирона (1653, 1613, 1591 см⁻¹) и ароматической конденсированной системы (1504, 1442 см⁻¹) [4]. Широкая полоса в области 3400-3200 см⁻¹ (колебания –OH группы), полосы колебаний при 1074, 831, 806, 744 см⁻¹ (пиранозный цикл углевода), а также при 1258 и 1029 см⁻¹ (гликозидные связи) свидетельствуют, что соединение является гликозидом.

При кислотном гидролизе исследуемого вещества был получен лютеолин, и D-глюкоза.

¹H-ЯМР (DMSO-d₆, δ_H): H-3 (6,80 м.д., с), H-6 (6,20 м.д., д, J=2,0 Гц), H-8 (6,50 м.д., д, J=2,0 Гц), H-2' (7,55 м.д., д, J=2,2 Гц), H-5' (7,30 м.д., д, J=8,3 Гц), H-6' (7,50 м.д., дд, J=2,2 и 8,1 Гц), H-1'' (4,90 м.д., д, J=6,9 Гц), H-2''-H-6'' (3,40 – 3,80 м.д., м).

¹³C-ЯМР (DMSO-d₆, δ_C, м.д.): C-2 (163,26), C-3 (104,05), C-4 (181,86), C-5 (157,42), C-6 (99,00), C-7 (164,34), C-8 (94,10), C-9 (161,53), C-10 (103,89), C-1' (124,78), C-2' (113,66), C-3' (146,99), C-4' (148,61), C-5' (116,05), C-6' (118,60), C-1'' (101,25), C-2'' (73,31), C-3'' (75,91), C-4'' (69,83), C-5'' (77,37), C-6'' (60,77).

Из данных спектров ¹H- и ¹³C-ЯМР следует, что вещество является моногликозидом. Положение гликозилирования установили сравнением спектров ЯМР-¹³C гликозида и лютеолина. В спектре гликозида

наблюдается диамагнитный сдвиг сигнала атома С-4' в сравнении с таковым лютеолина на 1,12 м.д., в то время как сигналы атомов С-1', С-3' и С-5' претерпевают парамагнитный сдвиг. Причем сигнал С-3' смещается в слабое поле заметно сильнее, чем С-5', что всегда наблюдается для атома углерода, связанного с гидроксильной группой, находящегося в *орто*-положении относительно места гликозирования [10–12].

Таким образом, гликозид 3 идентифицирован с лютеолин-4'-О-β-D-глюкопиранозидом [7].

Кверцетин-3-О-β-D-глюкопиранозид (4) – C₂₁H₂₀O₁₂, ярко-желтые кристаллы с T_{пл.} 238–239 °С, λ_{макс}^{этанол}: 255, 266, 362 нм; +NaOH: 260, 270, 407 нм; +AcONa: 260, 270, 417 нм; +AlCl₃: 265, 275, 467 нм; +AlCl₃/HCl: 255, 266, 407 нм. ЯМР-1H (DMSO-d₆, δH, м.д.): 6,52 (д, 2,0 Гц, Н-6), 6,58 (д, 2,0 Гц, Н-8), 7,20 (д, 8,5 Гц, Н-5'), 7,85 (дд, 2,0 и 8,0 Гц, Н-6'), 8,14 (уш. с, Н-2'), 13,75 (уш. с, 5-OH), 5,46 (д, 7,0 Гц, Н-1''), 3,65–4,40 (протоны сахарной части). При кислотном гидролизе вещества 3 получены кверцетин и D-глюкоза.

В отличие от травы чины луговой, произрастающей в Узбекистане, в растении Ханты-Мансийского автономного округа лютеолин и рутин не обнаружены [7].

Выводы

Из надземной части хвоща полевого впервые выделены лютеолин-7-О-β-D-глюкопиранозид, лютеолин-4'-О-β-D-глюкопиранозид, а лютеолин обнаружен в хвоще полевого ранее. Известные два гликозида, наряду с кверцетин-3-О-β-D-глюкопиранозидом, выделены также из надземной части чины луговой.

Вышеуказанные соединения идентифицированы на основании результатов химических превращений, данных УФ-, ¹H и ¹³C-ЯМР, ИК-спектров.

Список литературы

1. The Science of Flavonoids. Ed. E. Grotewold. New-York: Springer Science, 2006. 273 p.
2. Flavonoids in Health and Disease. Ed. C. A Rice-Evans, L. Packer, New York, 2003. 458 p.
3. Растительные ресурсы России и сопредельных государств. Ч. 1: Семейства Lycopodiaceae – Ephedraceae. СПб, 1996. С. 12–15.
4. Тиктинский О.Д. Лечебное действие почечного чая и полевого хвоща при мочекишлом диатезе // Урология и нефрология. 1983. №1. С. 47–50.
5. Фигуркин Б.А. Диуретическая активность флавоноидов хвоща полевого // Растительные ресурсы. 1976. Т. 12, вып. 1. С. 93–95.
6. Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование; семейства Hydrangeaceae – Haloragaceae. Л., 1987. 152 с.
7. Икрамов М.Т., Мавашева Ф.А., Батиров Э.Х., Маликов В.М. Флавоноиды *Lathyrus pratensis* // Химия природных соединений. 1990. №2. С. 273–274.
8. Markham K.R. Techniques of Flavonoid Identification. London: Academic Press, 1982. 113 p.
9. Хушбактова З.А., Файзиева С.Х., Сыров В.Н., Юлдашев М.П., Ботиров Э.Х., Маматханов А.У. Выделение, химический состав и гиполипидемическая активность суммы флавоноидов из *Thermopsis alterniflora* // Химико-фармацевтический журнал. 2001. Т. 35. №3. С. 35–38.
10. Agrawal P.K., Rastogi R.P. ¹³C-NMR spectroscopy of flavonoids // Heterocyc. 1981. Vol. 16. №12. Pp. 2181–2236.
11. Корулькин Д.Ю., Абилов Ж.А., Музыкакина Р.А., Толстиков Г.А. Природные флавоноиды. Новосибирск, 2007. 232 с.
12. Flavonoids. Chemistry, Biochemistry and Application. Ed. Q.M. Andersen, K.R. Markham. New-York: Taylor and Francis Group, 2006. Pp. 869–897.

Поступило в редакцию 18 октября 2013 г.

Bonacheva V.M.* , Drenin A.A., Botirov E.Kh. FLAVONOIDS FROM EQUISETUM ARVENSE L. AND LATHYRUS PRATENSIS L.

Surgut State University, ul. Lenina, 1, Surgut, 628412 (Russia), e-mail: bwmbeml@mail.ru

The article is devoted to the phytochemical study of Flavonoids *Equisetum arvense* (L.) Smeets and *Lathyrus pratensis* L. From the overgrown part of *Equisetum arvense* (L.) Smeets of the first flavonoids luteolin-7-O- β -D-glucopyranoside, luteolin-4'-O- β -D-glucopyranoside and already luteolin isolated. From the overgrown part of *Lathyrus pratensis* L. luteolin-7-O- β -D-glucopyranoside, luteolin-4'-O- β -D-glucopyranoside and quercetin-3-O- β -D-glucopyranoside have been isolated. The resulting compounds were identified on the basis of results of chemical transformations and IR, UV, ^1H -, ^{13}C -NMR and mass spectra.

Keywords: *Equisetum arvense* L. Smeets, *Lathyrus pratensis* L. flavonoids, luteolin, luteolin-7-O- β -D-glucopyranoside, luteolin-4'-O- β -D-glucopyranoside, quercetin-3-O- β -D-glucopyranoside.

References

1. *The Science of Flavonoids*. Ed. E. Grotewold. New-York: Springer Science, 2006, 273 p.
2. *Flavonoids in Health and Disease*. Ed. C. A Rice-Evans, L. Packer. New York, 2003, 458 p.
3. *Rastitel'nye resursy Rossii i sopredel'nyh gosudarstv. Ch. 1: Semejstva Lycopodiaceae – Ephedraceae*. [Plant Resources of Russia and Neighboring Countries. Part 1: Family Lycopodiaceae – Ephedraceae]. St. Petersburg, 1996, pp. 12–15. (in Russ.).
4. Tiktinskij O.D. *Urologija i nefrologija*, 1983, no. 1, pp. 47–50. (in Russ.).
5. Figurkin B.A. *Rastitel'nye resursy*, 1976, vol. 12, no. 1, pp. 93–95. (in Russ.).
6. *Rastitel'nye resursy SSSR: Cvetkovye rastenija, ih himicheskij sostav, ispol'zovanie; semejstva Hydrangeaceae – Haloragaceae*. [Plant resources of the USSR: Flowering plants, their chemical composition and utilization; family Hydrangeaceae – Haloragaceae]. Leningrad, 1987, 152 p. (in Russ.).
7. Ikramov M.T., Mavasheva F.A., Batirov Je.H., Malikov V.M. *Himija prirodnyh soedinenij*, 1990, no. 2, pp. 273–274. (in Russ.).
8. Markham K.R. *Techniques of Flavonoid Identification*. London, 1982, 113 p.
9. Hushbaktova Z.A., Fajzieva S.H., Syrov V.N., Juldashev M.P., Botirov Je.H., Mamathanov A.U. *Himiko-farmaceuticheskij zhurnal*, 2001, vol. 35, no. 3, pp. 35–38. (in Russ.).
10. Agrawal P.K., Rastogi R.P. *Heterocyc*, 1981, vol. 16, no. 12, pp. 2181–2236.
11. Korul'kin D.Ju., Abilov Zh.A., Muzychkina R.A., Tolstikov G.A. *Prirodnye flavonoidy*. [Natural flavonoids]. Novosibirsk, 2007, 232 p. (in Russ.).
12. *Flavonoids. Chemistry, Biochemistry and Application*. Ed. Q.M. Andersen, K.R. Markham. New-York, 2006, pp. 869–897.

Received October 18, 2013

* Corresponding author.

