

А.И. Попов, Е.А. Черкасова, В.В. Баранова, Д.Н. Шпанько, Т.Б. Шайдулина

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ НЕКОТОРЫХ ВИДОВ КЛЕВЕРА, ПРОИЗРОСТАЮЩИХ В УГЛЕДОБЫВАЮЩИХ РЕГИОНАХ ЗАПАДНОЙ СИБИРИ

Крайне недостаточные сведения о химическом составе широко распространенных видов клеверов являются актуальными вопросами научных исследований, среди направлений которых особо интересными считаются аспекты установления экологических, диагностико-морфолого-анатомических и фитохимических признаков, изучаемых параллельно в сравнительном аспекте, и позволяющих создать базовые характеристики для определения критериев подлинности и качества растительного сырья при условии перспективного введения клеверов в научную практическую медицину.

Клевер люпиновый, клевер посевной, клевер луговой, клевер земляничный, клевер горный, клевер гибридный, клевер ползучий, растительное сырье, фитохимия, элементный состав, диагностические признаки.

В последнее время, основываясь на опыте народной медицины, проводятся многочисленные исследования различных лекарственных растений, обладающих гормоноподобной активностью и применяемых для коррекции сопутствующих атеросклерозу болезненных, негативных, патологических состояний, таких как головокружение и шум в ушах, внутричерепное и артериальное давление, снижение слуха и некоторые другие наследственные сосудистые патологии.

Наиболее интересными в этом плане являются представители семейства бобовых, в частности рода *Trifolium* – клевер. Это крупный растительный род, виды которого распространены, главным образом, в умеренной и субтропической зонах северного полушария.

Представители этого рода – многолетние и однолетние травянистые растения с тройчато-сложными (редко пальчатосложными из 5-9 листочков) листьями. Цветки белые, розовые или желтые, мелкие, в головчатых соцветиях. Боб кожистый, обратнойцевидный или линейный.

В пределах рода *Trifolium* L. известно свыше 300 видов. На территории России произрастает 65. Наибольшее распространение имеет клевер луговой, который, как и клевер ползучий (белый), клевер гибридный (шведский), возделывается с кормовой целью. В нашей стране клеверосеянием начали заниматься более 200 лет назад. Первые попытки введения клевера в культуру проведены известным русским ботаником А.Т. Болотовым в начале второй половины XVIII века, и сейчас в культуру введено около 20 видов. Кроме клевера лугового, клевера ползучего (белого), клевера гибридного (шведского) имеется еще много ценных видов, представляющих практический интерес [1-3].

На территории Кемеровской области произрастают клевер люпиновый (*Trifolium lupinaster* L.), к. полевой (*T. arvense* L.), к. луговой (*T. pratense* L.), к. земляничный (*T. fragiferum* L.), к. горный (*T. montanum* L.), к. гибридный (*T. hybridum* L.), к. ползучий (*T. repens* L.), к. золотистый (*T. aureum* L.), к. темно-каштановый (*T. spadicum* L.). Эти растения широко распространены не только в Кузбассе, но и по всей Западной Сибири, где используются местным населением с медицинскими целями [3].

Клевер гибридный, или шведский (*Trifolium hybridum* L.) произрастает на влажных, реже сухих лугах, среди кустарников, иногда распространен как сорное растение. Содержит цианогенные соединения, куместролы, флавоноиды, эфирное масло, азотсодержащие соединения. Используется как бактерицидное и противовоспалительное средство при простудных заболеваниях, ларингитах, лихорадке. Медонос, перганос, кормовое и декоративное растение. Заготавливают как пищевое сырье в сушеном, квашеном и маринованном виде. Из свежих молодых листьев и стеблей готовят салат, из вареных – шпинат.

Клевер люпиновый (*Trifolium lupinaster* L.) растет в светлых хвойных, мелколиственных лесах, луговых степях, на суходольных лугах, в зарослях кустарников, на опушках, лужайках смешанных лесов, речных лугах. Содержит витамины, флавоноиды. Оказывает желчегонное действие, используется при скрофулезе, желтухе, болезнях печени и желчевыводящих путей. Медонос, перганос, кормовой вид.

Клевер горный (*Trifolium montanum* L.) – растение суходольных лугов, каменистых склонов, речных опушек, горных лугов, луговых степей. Накапливает углеводы, фенолкарбоновые кислоты, кумарины, флавоноиды, жирное масло. Применяется как желудочное средство, помогает при кашле, грыже. В гомеопатии – при инфекционном паротите и других болезнях желез. Медонос, перганос, кормовое растение.

Клевер луговой (*Trifolium pratense* L.) можно встретить на умеренно влажных и суходольных лугах, по берегам, долинам рек, ручьев, арыков, в светлых лесах, по лесным опушкам, на горных луговых склонах, по окраинам полей, полевым дорогам до среднегорного пояса, иногда встречается как сорное. Химический состав и полезные свойства изучены достаточно хорошо. Содержит эфирные масла, азотсодержащие и ароматические соединения, стероиды, высшие жирные кислоты, кумарины, флавоноиды и другие полифенольные соединения. Применяется в виде сока и настоев, в составе сборов как диуретическое, противосклеротическое, антиканцерогенное средство, при головной боли и головокружении, астении, анемии, бронхиальной

астме и одышке, атеросклерозе с нормальным давлением. Медонос, перганос, кормовое растение, но при неумеренном потреблении возможны отравления скота, особенно свиней.

Клевер ползучий, или белый, (*Trifolium repens* L.) произрастает на суходольных, пойменных лугах, в светлых лесах, по берегам рек, ручьев, в степях, полупустынях, по обочинам дорог, у жилья, на пустырях, редко доходит до верхнегорного пояса, встречается как сорное. Химический состав и полезные свойства также хорошо изучены. Содержит сапонины, углеводы, азотсодержащие соединения, стероиды, липиды, кислоты, цианогенные гликозиды, витамины, флавоноиды и другие полифенольные соединения. Обладает значительной Р-витаминной активностью, оказывает сосудосуживающее, гемостатическое, антиканцерогенное, диуретическое, общеукрепляющее, тонизирующее, обезболивающее и антитоксическое действие. Эффективен при головных болях и головокружении. Медонос, перганос, кормовое и декоративное растение.

Клевер земляничный (*Trifolium fragiferum* L.) предпочитает влажные солонцеватые луга, болота, долины рек, берега ручьев, галечники, окраины оросительных каналов, арыков. Ареал распространения – Европа, Кавказ, Средняя Азия, Западная Сибирь. Культивируется в Австралии, США. Содержит тритерпеновые сапонины, углеводы, куместролы, флавоноиды. Применяется как диуретическое средство и при болезнях селезенки. Медонос. Фитомелиоративное растение. Является кормовым для всех видов сельскохозяйственных животных и домашней птицы.

Учитывая широкое применение клеверов в народной медицине и недостаток знаний о содержании биологически активных веществ в них, актуальным и интересным является проведение элементного анализа растительного сырья клеверов и определение суммы флавоноидов в сравнительном аспекте, тем более что изучение дикорастущих клеверов в фармакогностическом плане на территории Кемеровской области ранее не проводилось.

Объекты изучения – образцы травы растений, заготовленные в период цветения от дикорастущих видов, произрастающих в Кемеровской области. Наиболее детально исследовали траву клевера земляничного, являющуюся перспективным источником получения субстанций с повышенным содержанием сапонинов, куместролов, флавоноидов и других полифенолов антисклеротического действия, влияющих на обмен веществ организма человека.

Морфолого-анатомический анализ посвящен выяснению диагностических признаков сырья [4].

Изучение распределения специфических флавоноидов в растениях имеет важное значение для решения ряда задач хемотаксономического направления и поиска новых физиологически активных соединений. Степень изученности семейств дудковых растений в этой области различна. Довольно подробно исследовалось семейство бобовых, среди представителей которого растения, спо-

собные синтезировать и накапливать изофлавоны, флавонолы и флавоны. Сочетания именно этих групп флавоноидов являются важным хемотаксономическим признаком данного растительного семейства [5].

Пристального внимания и интереса исследователей заслуживают и биологические свойства вышеуказанных групп флавоноидов, которые накапливаются в растениях рода *Trifolium*. Наиболее важное значение из них имеют:

изофлавоны – 5,7-диокси-4'-метокси-7-о-β-D-глюкопиранозилизофлавоны (биоханин-А-7-глюкозид),

5-окси-7-метокси-4'-о-β-D-глюкопиранозилизофлавоны (принетин), 7-окси-4'-метоксиизофлавоны (формонетин, пратол), 4'-метокси-7-о-β-D-глюкопиранозилизофлавоны (ононин), 4'-окси-7-глюкозид изофлавоны (даидзеин);

флавонолы – 5,7,3',4'-тетраокси-3-о-β-D-глюкопиранозилфлавонолы (изокверцитрин), 3-рамноглюкозил-3,5,7,3',4'-пентаоксифлавонолы (рутин), 3,5,7,3',4'-пентаоксифлавонолы (кверцетин), 3,5,7,4'-тетраокси-3-метоксифлавонолы (изорамнетин), 3,5,7,4'-тетраоксифлавонолы (кемпферол), 3,5,4'-триокси-7-о-β-D-глюкопиранозилфлавонолы (популнин), 5,7,4'-триокси-3-о-β-D-глюкопиранозилфлавонолы (трифоллин);

флавоны – 6,7,4'-триоксифлавоны (апигенин), 5-β-D-глюкопиранозид апигенина и 7-о-β-D-апиозилглюкозид апигенина, 7,3,4'-триоксифлавоны (байкалеин) и его гликозид, 5,7,3',4',5'-пентаоксифлавоны (трицетин) и его гликозид, 5,7,3',4'-тетраоксифлавоны (лютеолин), 7-β-D-глюкозид лютеолина и 7-β-D-глюкуронид лютеолина, 7,4'-диоксифлавоны (хризин), 7-β-D-глюкопиранозид хризина и 7-генциобиозид хризина [3, 5].

Оценку качества исходного сырья производили по содержанию суммы флавоноидов, как основной группы действующих веществ. Для количественного определения суммы флавоноидов использовали фотометрический метод и рутин в качестве стандартного образца [5-7].

Полученные результаты представлены в таблице 1. Низкое, следовое содержание флавоноидов, которое количественно не определялось, обозначено знаком «+».

Как следует из таблицы 1, изученные виды клевера близки по содержанию суммы флавоноидов. Данные, полученные относительно клевера земляничного, свидетельствуют об актуальности и перспективе дальнейших исследований данного вида.

Отдельные оригинальные работы, опубликованные в последние годы, а также полученный нами материал, подтверждают существование специфической для семейств и родов корреляции между накоплением в растениях определенной основной группы биологически активных веществ органической природы и химическими элементами, попадающими в организм растения из окружающей среды и накапливающимися в нем [8].

Таблица 1

Результаты количественного содержания суммы флавоноидов в некоторых видах клевера, в % от массы воздушно-сухого сырья

Вид клевера	Группа флавоноидов			
	изофлавоны	флавонолы	флавоны	сумма флавоноидов
Клевер луговой	2,04	2,72	+	4,76
Клевер гибридный	2,42	2,86	+	5,28
Клевер ползучий	0,31	1,02	3,22	4,55
Клевер люпиновый	0,29	0,23	3,74	4,29
Клевер горный	2,17	2,80	+	4,79
Клевер посевной	2,06	2,79	+	4,85
Клевер земляничный	0,43	1,42	2,92	4,77

Проведение сравнительного элементного анализа указанных видов клевера с целью выявления упомянутой специфической корреляции между накоплением флавоноидов и содержанием химических элементов, является последующим этапом наших исследований. Полученные результаты представлены в таблице 2.

Как видно из результатов, представленных в таблице 2, в составе наиболее распространенных растений рода *Trifolium* выявлен 61 макро-, микро- и ультрамикроэлемент, а также определено их количественное содержание.

Среди химических элементов следует отметить наличие лития, магния, кремния, кальция, хрома, марганца, железа, кобальта, никеля, меди, стронция, бария, селена и других, способных стимулировать функции кроветворных органов и активизировать факторы естественного иммунитета, выводить холестерин и снижать артериальное давление, поддерживать функциональную деятельность сердечно-сосудистой системы в целом. Такие направления физиологического воздействия на организм, безусловно, благотворно воздействуют на лиц, предрасположенных к атеросклерозу, и часто находящихся в различных стрессовых ситуациях. Кроме того, уникален и тот факт, что каждый из перечисленных элементов, сам по себе и находясь в составе комплексов, способен усиливать действие основных биологических веществ органического характера и, таким образом, повышать их фармакологическую ценность.

Таблица 2

Элементный состав различных видов клевера, мкг/г

Химический элемент	Клевер луговой	Клевер гибридный	Клевер ползучий	Клевер люпиновый	Клевер горный	Клевер посевной	Клевер земляничный
1	2	3	4	5	6	7	8
Li	0,089	0,15	0,14	0,050	0,13	0,033	0,047
Be	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	0,027	0,014	<0,00
B	28	37	28	60	67	32	61
Na	31	64	94	74	151	21	69
Mg	3347	2651	3070	2012	3071	3004	2113
Si	170	464	625	861	352	425	786
P	3555	4726	4071	3445	4828	3116	3544
K	14618	19349	19108	19500	21534	19264	19524
Ca	12940	8006	16613	9790	11644	7912	9975
Ti	4,8	12	10	8,0	20	5,1	7,9
V	2,3	1,0	2,9	3,1	2,7	2,7	3,0
Cr	2,8	1,7	2,3	2,5	2,7	2,0	2,4
Mn	28	72	84	60	64	27	62
Fe	154	218	170	122	252	105	126
Co	0,68	0,79	0,81	0,33	0,61	0,43	0,31
Ni	3,7	6,9	7,9	4,3	15	2,7	4,1
Cu	8,7	10	5,3	3,7	19	9,7	3,5
Zn	27	40	23	40	69	24	41
Ga	0,040	0,087	0,058	0,037	0,093	0,048	0,041
Ge	0,006	0,001	0,002	0,015	0,023	0,007	0,013
As	5,6	<0,0005	4,0	2,9	5,4	3,7	2,1
Se	0,41	1,2	1,4	0,44	1,7	1,5	0,41
Br	46	208	308	44	33	320	0,48
Pb	42	22	18	25	24	27	21
Sr	46	13	26	42	30	13	41
Y	0,032	0,094	0,054	0,031	0,12	0,020	0,029
Zr	0,11	0,48	0,27	0,24	0,55	0,18	0,23
Nb	0,015	0,040	0,022	0,018	0,073	0,010	0,016
Mo	0,53	2,5	1,2	0,67	0,61	0,59	0,65
Ag	0,008	0,010	0,007	0,004	0,005	0,010	0,003
Cd	0,019	0,013	0,012	0,008	0,007	0,004	0,006
Sn	0,38	0,65	1,0	1,4	0,83	0,53	1,2
Sb	0,008	0,027	0,027	0,026	0,031	0,014	0,028
I	<0,08	0,45	0,33	0,14	0,19	<0,08	0,16
Cs	0,065	0,050	0,033	0,022	0,076	0,027	0,024
Ba	18	7,7	7,8	37	18	3,1	38
La	0,072	0,099	0,073	0,046	0,18	0,033	0,047
Ce	0,12	0,21	0,15	0,098	0,37	0,065	0,11
Pr	0,014	0,025	0,017	0,009	0,043	0,007	0,009
Nb	0,040	0,083	0,068	0,039	0,16	0,020	0,038
Sm	<0,01	0,013	0,013	<0,01	0,026	<0,01	<0,01
Eu	<0,007	0,05	<0,007	<0,007	0,011	<0,007	<0,00
Gd	<0,02	0,025	<0,02	<0,02	0,036	<0,02	<0,02
Tb	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	<0,00
Dy	<0,01	0,017	0,011	<0,01	0,024	0,04	<0,01
Ho	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
Er	<0,008	0,009	<0,008	<0,008	0,014	<0,008	<0,00
Tm	<0,003	<0,003	<0,003	<0,003	<0,003	<0,003	<0,00
Yb	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	0,022	<0,01	<0,01
Lu	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	<0,00
Hf	<0,006	0,010	0,006	0,007	0,016	<0,006	0,006
Ta	<0,006	<0,006	<0,006	<0,006	0,007	<0,006	<0,00
W	0,018	0,039	0,043	0,019	0,034	0,032	0,021
Pt	0,001	0,002	0,001	0,001	<0,000	0,001	0,001

Продолжение таблицы

1	2	3	4	5	6	7	8
Au	0,002	0,007	0,005	0,003	<0,0001	0,001	0,004
Hg	0,004	0,002	0,004	0,002	0,001	0,002	0,002
Tl	0,004	0,004	0,004	0,003	0,006	0,003	0,005
Pb	0,17	0,38	0,33	0,24	0,42	0,13	0,21
Bi	0,004	0,008	0,005	0,004	0,008	0,002	0,003
Th	0,008	0,040	0,013	0,009	0,037	0,006	0,007
U	0,004	0,015	0,005	0,004	0,010	0,003	0,002

Все без исключения вышеперечисленные элементы, находясь в растительном организме, способствуют активному и усиленному накоплению фенольных соединений в нем. К классу фенольных соединений растительного происхождения относятся и флавоноиды, обладающие сосудокрепляющим действием, повышая эластичность стенок крупных кровеносных сосудов и капилляров, снижая их проницаемость. Флавоноиды защищают клетки организма от разрушающего воздействия свободных радикалов. Препараты, содержащие флавоноиды, рекомендуют принимать при гиподинамии.

Исследованные виды клевера обогащены бором, молибденом, никелем, медью, стронцием, что согласуется с литературными сведениями, представленными рядом авторов относительно других представителей семейства бобовых (астргалы, донники и люцерна), и подтверждает ранее высказанную концепцию о связи элементного состава растения с содержанием в нем органических соединений, его систематическим положением и экологическими условиями места его произрастания [8].

Анализируя полученные данные настоящего фитохимического исследования клеверов, следует отметить, что клевер земляничный является источником целого комплекса разноплановых, фармакологически активных соединений, что создает предпосылки для более детального, глубокого, развернутого его изучения как полноценного объекта фитотерапевтических методов и направлений лечения, поскольку данный вид относится к растительным источникам получения натуральных препаратов, обладающих направленным антисклеротическим действием.

При уточнении морфолого-анатомических и экологических особенностей, а также с целью установления диагностических признаков клевера земляничного, было проведено описание растения. Клевер земляничный имеет восходящие голые, мало ветвистые стебли от 10 до 40 см длиной. Прилистники пленчатые, белесые. Листья тройчатые, на длинных черешках, длиной 5-10 см, опушенные. Листочки голые, на коротких опушенных черешках, яйцевидные или эллиптические, длиной 1-2 см и шириной 0,5-1,5 см, с многочисленными жилками

и мелкозубчатыми краями. Соцветия – головки диаметром около 1 см, на длинных прямых или восходящих цветоносах, в начале цветения почти шаровидные, при плодоношении – шаровидные. Обертка головки состоит из крупных, ланцетных прицветников. Чашечка трубчатая, длиной 4-5,5 см, надрезана на зубцы, превышающие по длине трубочку, которая сверху густоопушенная. Венчик от розового до красного цвета. При плодоношении чашечка в верхней части пузыревидно вздувается и разрастается так, что включает и весь цветок.

Подготовку материала для микроскопического исследования и анализ микропрепаратов проводили, используя общепринятые методики [4, 9].

При рассмотрении листа с поверхности можно увидеть, что верхний эпидермис состоит из многогранных клеток с прямыми стенками. Устьица аномоцитного типа.

Клетки нижнего эпидермиса по форме мало отличаются от клеток верхнего, устьица также аномоцитные, многочисленные. Здесь встречаются волоски двух типов – головчатые на короткой одно-двуклеточной ножке с одноклеточной головкой и простые одноклеточные, на месте прикрепления которых клетки эпидермиса располагаются радиально, образуя розетку.

Мезофилл листа состоит из округлых тонкостенных клеток с хорошо заметными межклетниками, центральная и крупные боковые жилки листа окружены кристаллоносной обкладкой. Черешок обильно опушен простыми длинными одноклеточными тонкостенными волосками.

Стебель на поперечном срезе округлый. Проводящая система пучкового типа, пучки открытые, коллатеральные, с хорошо развитыми многорядными слоями флоэмы и ксилемы, расположенными по окружности. Число заметных сосудов в пучке – 9-15. Механическая ткань побегов представлена колленхимой и склеренхимой.

При рассмотрении венчика цветка с поверхности видны удлиненные клетки эпидермиса с тонкими прямыми стенками. По краю «паруса» длина клеток уменьшается, и они приобретают квадратную форму.

Чашелистики покрыты волосками того же типа, что и черешок. Клетки эпидермиса многогранные, стенки слабоизвилистые.

Выявленные микродиагностические признаки травы клевера земляничного могут быть использованы при определении подлинности этого растительного сырья и при составлении проекта статьи нормативно-технического документа.

Список литературы

1. Флора СССР: в 30 т./ Под ред. В.Л. Комарова. – М.-Л.: Изд-во АН СССР, 1937-1960. – Т. 18. – С. 147-148.
2. Флора Сибири. Fabaceae (Leguminosae): в 14 т./ Сост. А.В. Положий [и др.]. – Новосибирск: Наука, 1994. – Т.9. – 280 с.

3. Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование: Семейства Hydrangeaceae – Haloragaceae. – Л.: Наука, 1987. – С. 181.
4. Государственная фармакопея СССР: Общие методы анализа/ МЗ СССР. – 11-е изд. доп. – М.: Медицина, 1987. – Вып. 1. – 336 с.
5. Клышев Л.К. Флавоноиды растений (распространение, физико-химические свойства, методы исследования)/ Л.К. Клышев, В.А. Бандюкова, Л.С. Алюкина. – Алма-Ата: Наука КазССР, 1978. – 220 с.
6. Ермакова А.И. Методы биохимического исследования растений/ А.И. Ермакова. – Л., 1972. – 364 с.
7. Кочетков Н.К. Химия биологически активных природных соединений/ Н.К. Кочетков. – М., 1970. – 486 с.
8. Попов А.И. Элементный состав лекарственного сбора для лечения гипертонической болезни/ А.И. Попов// Раст. ресурсы. – 1995. – Т. 31, вып. 3. – С. 67-71.
9. Фурс Г.Г. Методы анатомо-гистологического исследования растительных тканей/ Г.Г. Фурс. – М.: Наука, 1979. – 160 с.

ФГОУ ВПО Кемеровский государственный сельскохозяйственный институт
650056, Россия, г. Кемерово, ул. Марковцева, 5

Кемеровская медицинская академия,
650056, Россия, г. Кемерово, ул. Ворошилова, 22а

ГОУ ВПО «Кемеровский технологический институт
пищевой промышленности»,
650056, г. Кемерово, б-р Строителей, 47

SUMMARY

A.I. Popov, E.A.Tcherkasova, V.V. Baranova, D.N.Shpanko, T.B.Shajdulina

Comparative studying of some kinds of the clover growing in coal-mining regions of Western Siberia

The extremely insufficient data on a chemical compound of widespread kinds of clovers are pressing questions of research activities among which directions especially interesting aspects of an establishment of the ecological, diagnostic-morphological-anatomic and phytochemical signs studied in parallel in comparative aspect are considered, and allowing to create base characteristics for definition of criteria of authenticity and quality of vegetative raw materials under condition of perspective introduction of clovers in scientific applied medicine.

Trifolium lupinaster L., *T. arvense* L., *T. pratense* L., *T. fragiferum* L., *T. montanum* L., *T. hybridum* L., *T. repens* L., vegetative raw materials, phytochemistry, element structure, diagnostic signs.