

К ВОПРОСУ О СОСТАВЕ И БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ВТОРИЧНЫХ МЕТАБОЛИТОВ *MELILOTOIDES CRETACEA* (M. BIEB.) SOJAK

А.Е. ПАЛИЙ, кандидат биологических наук;

В.Н. ЕЖОВ, доктор технических наук

Никитский ботанический сад – Национальный научный центр

Одним из важнейших компонентов биологически активных веществ растительного происхождения, в том числе и *Melilotoides cretacea* (M. Bieb.) Sojak, являются вторичные метаболиты – тритерпеновые и фенольные соединения [15, 13]. Терпеновые и фенольные соединения принимают активное участие в регуляции роста и развития растений. В частности фенольные соединения играют важную роль в укреплении клеточных оболочек, а терпеновые как в стабилизации мембран растений [18, 23], так и разрушении мембран фитопатогенов [22].

Растительные соединения тритерпеновой и фенольной природы привлекают внимание исследователей, прежде всего, как основа эффективных фармакологических препаратов [8, 19]. Для тритерпеноидов, в частности, характерно противовоспалительное, аллелопатическое [25], антимикробное [21], инсектицидное [24], успокоительное, иммуностимулирующее, антиоксидантное [3, 7], а также противораковое [17] и гемолитическое [20] действие.

В то же время известен целый спектр биологического действия флавоноидов: Р-витаминное, сосудорасширяющее, спазмолитическое, гипотензивное, антиоксидантное и антимикробное [14]. Установлено отрицательное влияние флавонолов на грампозитивные бактерии, флавонов и халконов – на стафилококк; антимикробная активность отмечалась у антоцианов, изофлавонов и катехинов [1].

Несмотря на большое число фармацевтических препаратов, поиск новых источников биологически активных веществ является актуальной задачей в связи с явлением привыкания. Ранее была показана биологическая активность экстрактов *M. cretacea*. Тем не менее, химическая природа биологически активных веществ этого растения не установлена.

Целью исследований являлось выделение и идентификация биологически активных веществ (тритерпеноидов и флавоноидов) из различных органов растения *Melilotoides cretacea* (M. Bieb.) Sojak.

Материалы и методы

Исследования проводили на листьях, стеблях, корнях и цветках растения *Melilotoides cretacea* (M. Bieb.) Sojak. Растительное сырье отбирали на окраинах с. Малое Садовое Бахчисарайского района и с. Морское Судакского района Крыма. Общая схема исследований приведена на рисунке 1.

Тритерпеновые гликозиды после упаривания спирта из суммарного экстракта обрабатывали бензолом, хлороформом и н-бутанолом. Из н-бутанольной фракции растворитель отгоняли под вакуумом, остаток очищали на колонке с силикагелем [4]. Анализ гликозидов выполняли методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) на пластинках "Silufol". Детектирование агликонов и тритерпеновых гликозидов осуществляли 25%-ным спиртовым раствором фосфорновольфрамовой кислоты. Олеаноловую кислоту идентифицировали хроматографически, путем сравнения с чистыми веществами известной структуры.

Флавоноиды экстрагировали из предварительно обезжиренного петролейным эфиром и хлороформом растительного сырья 70%-ным этанолом. Этанольный экстракт упаривали до водного остатка, из последнего флавоноиды экстрагировали н-бутанолом [2]. Количественное содержание фенольных соединений определяли с помощью реакции Фолина-Чиокальтео [10], идентификацию фенольных соединений проводили методами высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) [11], двумерной бумажной хроматографии [12], дифференциальной УФ-спектроскопии [6] и качественными химическими реакциями.

Рострегулирующее действие суммарной фракции тритерпеноидов, а также водного экстракта корней определяли методом биотестов [16]. Тест-объектами служили редис (*Raphanus sativus* var. *radiculatus* L.) сорт Рубин, кресс-салат (*Lepidium sativum* L.) и салат (*Lactuca sativa* L.) сорт Кучерявец.

Антибактериальную активность водных и этанольных экстрактов, суммарных фракций тритерпеноидов, флавоноидов, а также индивидуальных флавоноидов оценивали по диаметрам зон угнетения роста тест-объектов: *Staphylococcus albus*, *Staphylococcus citreus*, *Streptococcus anhaemoliticus*, *Nisseria meningitides*, *Nisseria flava*, *Salmonella kauffmani*, *Shigella flexneri* [5]. Бактериальные культуры выращивали на агаризованных питательных средах в чашках Петри по общепринятым в микробиологических исследованиях методам.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием критерия Стьюдента, вероятными считали изменения, где $P < 0,05$ [9]. Основные статистические расчеты проводили с использованием программ *Microsoft Excel* и *Statistica*.

Результаты и обсуждение

Динамика количественного и качественного содержания тритерпеноидов в течение вегетации M. cretacea

Анализ содержания веществ в водном и этанольном экстрактах корней, листьев, стеблей и цветков *M. cretacea* показал, что в экстрактах из корней присутствуют вещества тритерпеновой природы, а в этанольном экстракте надземных органов и цветков – тритерпеновые гликозиды, фенольные кислоты, флавоноиды. Суммарное содержание тритерпеновых гликозидов составляло в корнях *M. cretacea* 25 мг/г сухого вещества, в надземных органах – 5 мг/г в фазе цветения.

Исследование содержания тритерпеноидов в этанольных экстрактах из листьев, стеблей и корней *M. cretacea* показало, что в период активного вегетативного роста наблюдалось низкое содержание агликонов и гликозидов; в дальнейшем их концентрация возрастала, достигая максимума во время цветения (июль), и на этапе окончания вегетации снова снижалась.

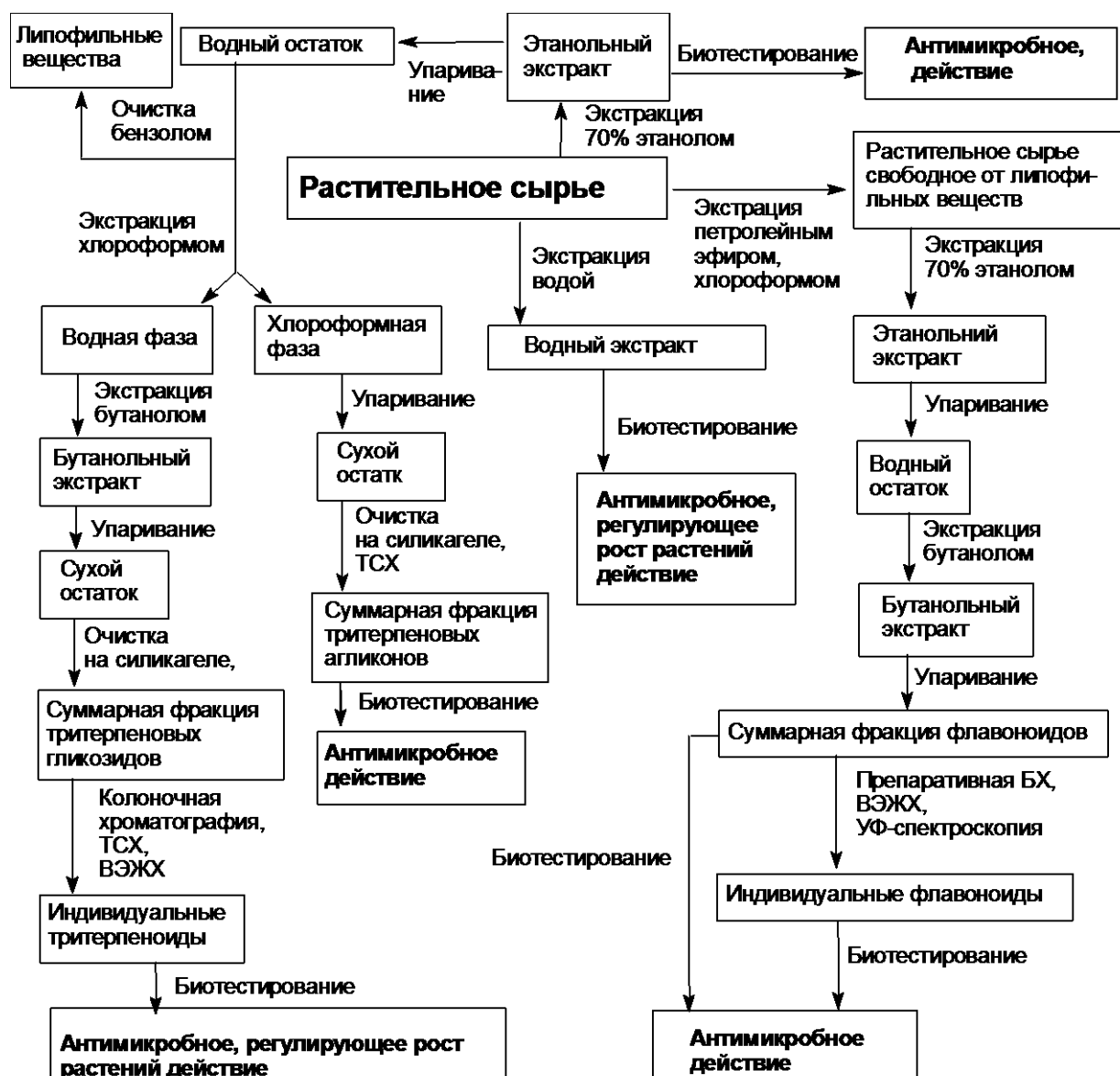


Рис. 1. Общая схема проведения исследований

По содержанию веществ тритерпеновой природы корни и наземная часть растения значительно отличались, при этом в листьях и стеблях преобладали полярные соединения. Тритерпеноиды корней *M. cretacea* представлены 16 соединениями, листки – 10, стебли – 12 и цветки – 7. В целом в течение вегетации в надземной части растения отмечалось высокое содержание тритерпеновых гликозидов (69,76% от суммарного содержания тритерпеноидов), а в корнях – агликонов (36,24%).

Хроматографически выявленные вещества тритерпеновой природы обозначены буквами латинского алфавита по мере увеличения их полярности (рис. 2).

Соединения тритерпеновой природы, которые имеют низкую полярность, были отнесены к группе агликонов (мелилотоидогенины А ... F); те, что имеют большую полярность и характерные реакции, отнесены к группе тритерпеновых гликозидов (мелилотоидозиды G ... S). В течение всей вегетации в корнях и надземной части присутствовали мелилотоидогенины В и D, мелилотоидозиды Н, М, N. Для надземной массы и корней *M. cretacea* характерно максимальное количество мелилотоидогенина D и мелилотоидозиды М (период цветения).

Тритерпеновые гликозиды корней M. cretacea

Методами ТСХ и ВЭЖХ определено шестнадцать веществ тритерпеновой природы в экстрактах корней *M. cretacea*. Суммарную фракцию тритерпеноидов разделили экстракцией растворителями разной полярности и колоночной хроматографией на фракции А ... F, G ... L, М ... Р. По данным ТСХ-анализа, фракция А...F – смесь неполярных агликонов, близких по хроматографической подвижности, фракция G...L содержит монозиды и биозиды, имеющие среднюю полярность; фракция М...Р – более полярные триозиды и тетразиды.

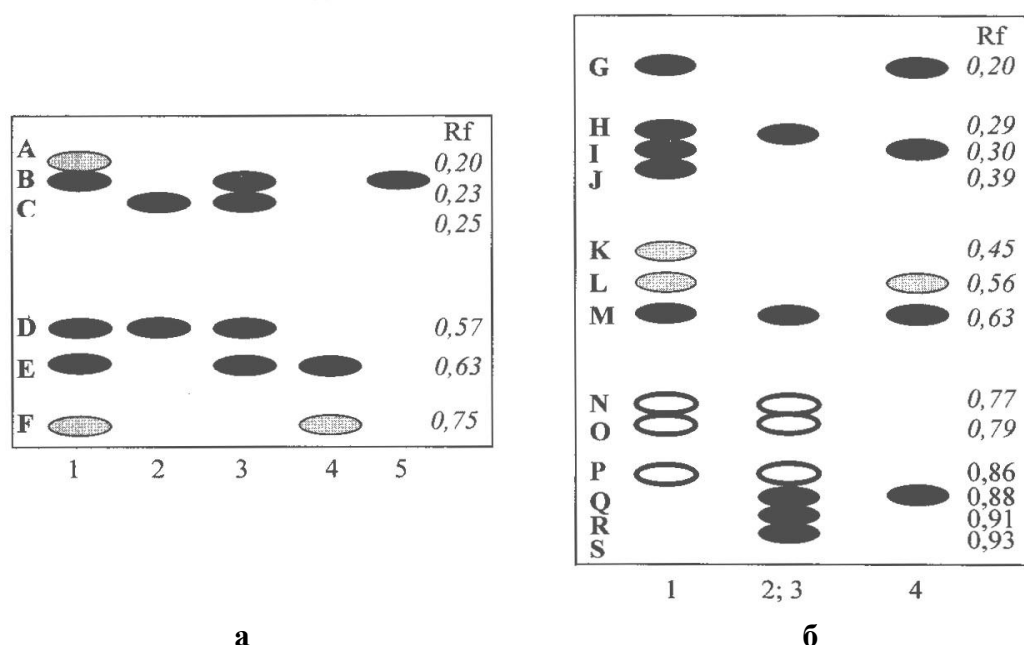


Рис. 2. Хроматографическое распределение тритерпеноидов *M. cretacea* в фазе цветения: 1) корни; 2) листья; 3) стебли; 4) цветки; 5) олеаноловая кислота. Системы растворителей: а – бензол-ацетон (4:1); б – хлороформ-метанол-вода (70:30:6). Условные обозначения цветов пятен:

■ – сине-фиолетовый, □ – синий, ▒ – красно-розовый

В полном кислотном гидролизате суммарной фракции тритерпеноидов присутствовали мелилотоидогенины А ... F и моносахариды – арабиноза, ксилоза, глюкоза, галактоза и рамноза. При хроматографическом сравнении свободных агликонов и агликонов, полученных в результате гидролиза с чистыми веществами известной структуры, установлено, что мелилотоидогенин В является олеаноловой кислотой.

Установлено, что в растениях *M. cretacea*, собранных одновременно в западном и восточном Крыму, качественное и количественное содержание тритерпеноидов совпадает. Поскольку в западном и восточном районах Крыма *M. cretacea* и виды *Melilotus albus* и *Melilotus officinalis* входят в состав одних и тех же растительных сообществ, а состав тритерпеновых гликозидов этих видов известен (Ходаков, Акимов, 1996), с целью уточнения возможных филогенетических отношений между ними на следующем этапе проведена оценка содержания тритерпенов *M. cretacea*, *M. albus* и *M. officinalis*. Выявлено, что корни *M. cretacea* отличаются большим разнообразием веществ тритерпеновой природы и в их состав входят более полярные соединения (мелилотоидозиды N...P). Олеаноловая кислота в *M. albus* и *M. officinalis* отсутствует. Соясапогенол В, присутствующий в корнях представителей рода *Melilotus*, в *M. cretacea* не обнаружен. Таким образом, в составе тритерпеновых гликозидов *M. cretacea* и видов рода *Melilotus* сходства не выявлено, что свидетельствует об отдаленности этих таксонов.

Фенольные соединения M. cretacea

В период вегетативного роста в целом растении содержалось 5 мг/г сухого вещества фенольных соединений, в период цветения – 22 мг/г, в период плодоношения – 3 мг/г. В

корнях выявлены следовые количества фенольных соединений. Максимальное количество этих веществ обнаружено в цветках (84 мг/г). Корни, стебли, листья и цветки *M. cretacea* существенным образом отличаются по количественному и качественному составу фенольных соединений (табл.1). Максимальное содержание этих соединений отмечено в цветках. Фенольные соединения стеблей и листьев в основном представлены фенолокислотами и незначительным количеством флавонолов. Среди фенольных соединений листьев и стеблей *M. cretacea* хроматографическим анализом и цветными реакциями идентифицированы хлорогеновая кислота и флавоноид рутин. В то же время в этанольном экстракте преобладали флавоноиды.

Таблица 1

**Суммарное содержание фенольных соединений в органах
M. cretacea на разных стадиях вегетации**

Фенольные соединения, мг/г сухого вещества							
побегообразование (июнь)		цветение (июль)			созревание семян (август)		
листья и стебли	корни	листья и стебли	корни	цветки	листья и стебли	корни	семена
17,9	следы	26,0	10,6	84,5	10,6	следы	следы

Флавоноиды цветков M. cretacea

Хроматографическим распределением суммарной фракции флавоноидов цветков *M. cretacea* выявлено семь соединений, которые дают положительную цианидиную реакцию. Выявленные вещества обозначены буквами латинского алфавита (по мере увеличения их полярности) как вещества А ... Г (таблица 2). Данные анализа ВЭЖХ показали, что в спиртовом экстракте преобладали С и Е вещества, при этом А-вещество представлено в наименьшей концентрации.

Более детальное распределение суммарной фракции флавоноидов из цветков сделано методом двумерной хроматографии. При этом выявлено семь веществ флавоноидного характера, шесть из них по хроматографическому поведению были отнесены к гликозидам.

В полном кислотном гидролизате суммарной фракции флавоноидов цветков *M. cretacea* идентифицированы один агликон и два углевода – глюкоза и рамноза. Агликон предварительно по хроматографическому поведению и качественным реакциям охарактеризован как кверцетин.

С помощью реакций с диазотированной сульфаниловой кислотой, хлорокисью циркония, а также дифференциальной УФ-спектроскопии определены места присоединения углеводных радикалов и положение фенольных оксигрупп. Путем поэтапного гидролиза выявлена последовательность присоединения моносахаридов.

По изменениям в спектрах гликозидов и агликонов, обусловленным ионизирующими и комплексообразующими реактивами, установлено, что в веществах В, D, Е содержатся оксигруппы в положениях 5, 7, 3', 4', а углеводный компонент находится в С₃-положении; в веществе С содержатся оксигруппы в положениях 5, 3, 3', 4', а углеводный компонент находится у С₇.

Таким образом, в составе флавоноидов цветков *M. cretacea* идентифицировано пять соединений (рис. 3).

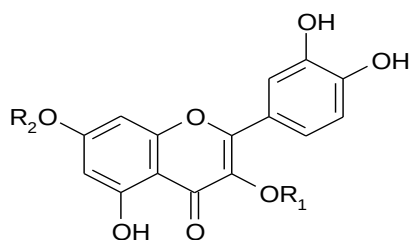
Вещество А: $\lambda_{\max}$ (этанол) 368, 257 нм; время удерживания по данным ВЭЖХ $R_t=109$ мин. По результатам УФ-спектроскопии с комплексообразующими и ионизирующими добавками и сравнением с чистым веществом известной структуры идентифицировано как 3,5,7,3',4'-пентагидроксифлавонол (кверцетин). Данные кислотного гидролиза и УФ-спектроскопии веществ В – Г дали возможность сделать вывод, что все они являются гликозидами – производными кверцетина.

Таблица 2

Некоторые физико-химические свойства флавоноидов цветков *M. cretacea*

Вещество	Значение R _f		УФ-спектр (в 95% этаноле), λ _{max} , нм				Содержание, мг/г сухого вещества
	система I	система II	нейтральный раствор	+ацетат натрия	+хлорид алюминия	+ацетат натрия и борная кислота	
A	0,78	0,03	258, 270 пл, 370	257, 274, 329, 390	272, 304, 333, 458	261, 303, 388	0,73
B	0,71	0,04	256, 268 пл, 360, 300 пл; E _{256/360} = 0,95	272, 322, 372	276, 304, 333, 430	260, 300, 367	1,79
C	0,57	0,04	256, 268пл, 360, 300пл; E _{256/360} =0,95	286, 378, 428	259, 273, 399, 458	261, 289, 386	11,59
D	0,37	0,29	256, 268пл, 360, 300пл; E _{256/360} =1.14	271, 325, 393	275, 303, 433	262, 298, 387	6,30
E	0,34	0,27	256, 268пл, 359, 300пл; E _{256/360} = 1.13	271, 325, 393	275, 303, 433	262, 298, 387	11,69
F	0,12	0,42	256, 268пл, 360, 300пл; E _{256/360} 1.20	263, 297, 370, 422	275, 298, 335, 440	292, 380	2,10
G	0,09	0,56	256, 268пл; 361, 302пл; E _{256/360} 1.20	261, 295, 371, 423	275, 298, 335, 440	291, 380	3,84

I – система растворителей: н-бутанол : уксусная кислота : вода (4:1:5); II- система растворителей: 15% уксусная кислота



1. R₁ = H; R₂ = H
2. R₁ = Glc; R₂ = H
3. R₁ = H; R₂ = Glc
4. R₁ = Glc-Rha; R₂ = H
5. R₁ = Glc-Glc; R₂ = H

Рис. 3. Структуры флавоноидов цветков *M. cretacea*

1) вещество А; 2) вещество В; 3) вещество С; 4) вещество D; 5) вещество Е

Вещество В: λ_{max} (этанол) 360, 256 нм; время удерживания по данным ВЭЖХ R_t = 74 мин, в кислотном гидролизате присутствовали кверцетин и глюкоза. В результате сравнения с чистым веществом известной структуры идентифицировано как кверцетин-3-О-глюкозид (изокверцитрин).

Вещество С: λ_{max} (этанол) 360, 258 нм; время удерживания по данным ВЭЖХ R_t = 81 мин, в кислотном гидролизате присутствовали кверцетин и рамноза. В результате сравнения с чистым веществом известной структуры идентифицировано как кверцетин-7-О-глюкозид (кверцемитрин).

Вещество D: λ_{max} (этанол) 360, 256 нм; время удерживания по данным ВЭЖХ R_t = 58 мин, в кислотном гидролизате присутствовали кверцетин, глюкоза и рамноза. В результате

сравнения с чистым веществом известной структуры идентифицировано как кверцетин-3-О-глюкозил-рамнозид (рутин).

Вещество E: $\lambda_{\max}$ (этанол) 358, 256 нм; время удерживания по данным ВЭЖХ $R_t = 62$ мин, в кислотном гидролизате присутствовали кверцетин и глюкоза. В результате сравнения с чистым веществом известной структуры идентифицировано кверцетин 3-О-глюкозил-глюкозид.

По результатам физико-химических исследований мы предполагаем, что вещества F и G гликозидированы по 3- и 7-атому углерода кверцетину.

Биологическая активность суммарных препаратов тритерпеновых гликозидов и флавоноидов M. cretacea

Следующая часть наших исследований была посвящена изучению потенциальной биологической активности препаратов тритерпеновых гликозидов и флавоноидов из *M. cretacea*. Установлено, что малополярная фракция тритерпеновых агликонов имела невысокую антимикробную активность; в связи с ее слабой растворимостью в воде, исследования проводили с суммарной фракцией гликозидов, имеющих среднюю и высокую полярность.

Исследование рострегулирующей активности суммарной фракции тритерпеноидов и водного экстракта из корней *M. cretacea* показало, что тритерпеновые гликозиды отрицательно влияют на прорастание семян и рост корней проростков редиса, кресс-салата и салата (табл. 3).

Таблица 3

Влияние суммарной фракции тритерпеновых гликозидов и водного экстракта из корней *M. cretacea* на прорастание семени редиса, кресс-салата и салата

Вариант опыта	Проросшие семена, % к контролю (дистиллированная вода)			
	редиса	кресс-салата	салата - 48 ч	салата - 72 ч
суммарная фракция тритерпеноидов 0,5%	65,83	83,04	62,60	75,14
суммарная фракция тритерпеноидов 1,0%	74,48	88,77	67,21	79,93
суммарная фракция тритерпеноидов 2,0%	88,05	62,64	67,47	77,94
водный экстракт корней 0,5 см ³	84,79	83,37	54,61	75,79
водный экстракт корней 1,0 см ³	85,27	81,63	57,78	82,37
водный экстракт корней 2,0 см ³	89,07	92,60	65,50	82,87

Процент проросших семян был неизменным в течение всего эксперимента в опытах с редисом и кресс-салатом. Другая картина наблюдалась при изучении влияния суммарной фракции тритерпеновых гликозидов на прорастание семян салата. Во всех вариантах опыта прорастание семян начиналось через 48 часов. При этом в контроле процент проросших семян превышал 70%, а в вариантах, обработанных веществами из суммарной фракции тритерпеноидов, был почти в два раза меньше. Через 72 часа у обработанных семян количество проросших семян увеличилось.

Процент угнетения роста корней проростков зависит как от концентрации тритерпенов, так и от продолжительности их действия. Например, для кресс-салата ростингибирующий эффект тритерпеноидов к окончанию опыта уменьшался, тогда как для редиса и салата – увеличивался.

При обработке семян тест-объектов водным экстрактом корней *M. cretacea* выявлено его отрицательное влияние на прорастание семени редиса, салата и кресс-салата, но в меньшей мере по сравнению с растворами суммарной фракции тритерпеноидов (табл. 4)

Для редиса и кресс-салата четкой зависимости прорастания семян от концентрации водного экстракта из корней не выявлено, в течение всего периода исследования процент проросших семян не изменялся. В опытах с салатом процент прорастания семян изменялся

на протяжении трех суток. Не выявлено четкой зависимости прорастания семян и роста корней проростков от концентрации препарата.

Таблица 4

Влияние суммарной фракции тритерпеновых гликозидов и водных экстрактов из корней *M. cretacea* на рост корней проростков салата, кресс-салата и редиса

Вариант опыта	Длина корня, мм					
	салата		кресс-салата		редиса	
	48 ч	72 ч	48 ч	72 ч	48 ч	72 ч
контроль (дистиллированная вода)	2,3±0,9	9,7±1,4	8,2±1,0	23,4±3,1	3,9±0,8	21,5±1,7
суммарная фракция тритерпеноидов 0,5%	1,8±0,5	3,5±0,8	3,5±0,9	14,0±2,3	1,7±0,5	8,2±1,3
суммарная фракция тритерпеноидов 1,0%	1,2±0,4	2,3±0,5	2,7±0,3	7,1±0,8	1,7±0,6	5,3±1,3
суммарная фракция тритерпеноидов 2,0%	1,3±0,3	2,1±0,2	1,9±0,4	4,1±1,3	1,4±0,4	3,7±1,6
водный экстракт корней 0,5 см ³	1,3±0,2	2,4±0,4	4,6±1,2	18,2±1,4	2,0±0,4	9,2±1,9
водный экстракт корней 1,0 см ³	1,0±0,3	2,1±0,4	1,9±0,4	8,4±0,9	1,7±0,5	5,8±1,3
водный экстракт корней 2,0 см ³	1,3±0,3	1,8±0,4	2,0±0,3	9,0±0,7	1,3±0,3	4,5±0,8

Таким образом, тритерпеновые гликозиды проявляли значительную рострегулирующую активность на прорастание семени и рост корней проростков исследованных растений.

В широком диапазоне концентраций выявлено отрицательное влияние экстрактов из разных органов *M. cretacea* на культуры бактерий *S. albus*, *S. citreus*, *S. anhaemoliticus*, *N. meningitides*, *N. flava*, *S. kauffmani*, *S. flexneri* (рис. 4).

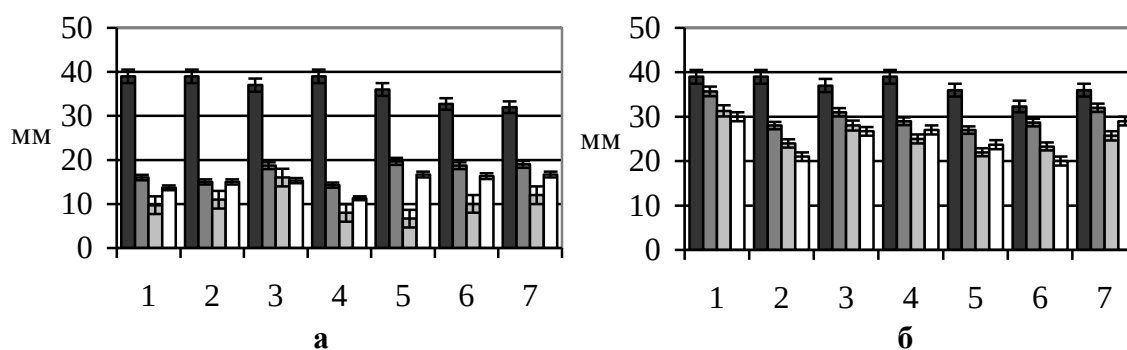


Рис. 4. Диаметр (мм) зон угнетения роста бактериальных культур: а) водными, б) спиртовыми экстрактами разных органов *M. cretacea*

1. *S. albus*, 2. *S. citreus*, 3. *S. anhaemoliticus*, 4. *N. meningitides*, 5. *N. flava*, 6. *S. kauffmani*, 7. *S. flexneri*

■ -ампициллин ■ -корни, ■ -листья и стебли, □ -цветки

Биологическая активность (в эквивалентных концентрациях) спиртовых экстрактов была в два раза выше, чем водных. Наибольшее антимикробное действие на бактериальные культуры выявлено для экстракта из корней растения.

Исследование антимикробного действия суммарной фракции тритерпеновых гликозидов в концентрации 1,0 мг/см³ выявило высокую ингибиторную активность препарата как для грампозитивных, так и для грамотрицательных бактерий (рис. 5).

Наибольшее угнетение роста колоний бактерий экстрактом тритерпеноидов отмечено у *S. albus* и *S. flexneri*. Значительно более слабым было действие в вариантах с *N. flava*. В концентрациях 0,5 мг/см³ бактерицидный эффект был в два раза меньшим. В более низких концентрациях действие препарата оказалось незначительным или отсутствовало.

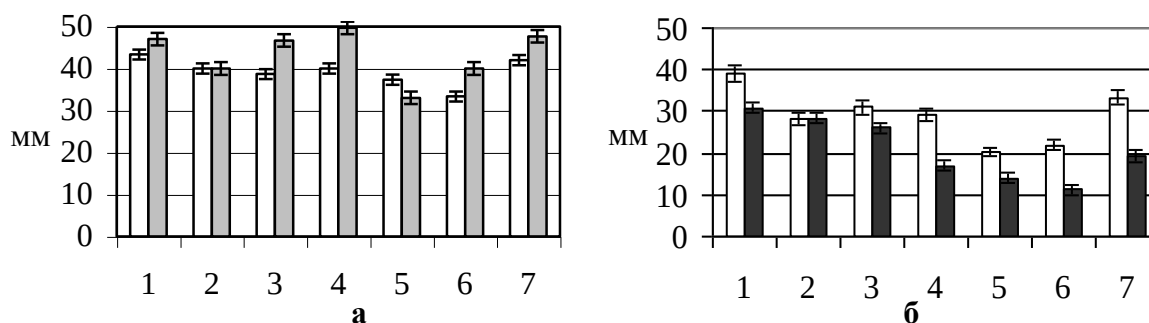


Рис. 5. Диаметр (мм) зон угнетения роста бактериальных культур: а) суммарной фракцией тритерпеноидов корней *M. cretacea* в) суммарной фракцией флавоноидов цветков *M. cretacea* в концентрации 1,0 мг/см³.

1. *S. albus*, 2. *S. citreus*, 3. *S. anhaemoliticus*, 4. *N. meningitides*, 5. *N. flava*, 6. *S. kauffmani*, 7. *S. flexneri*

■ – ампициллин, □ – суммарная фракция тритерпеноидов,
 ■ – суммарная фракция флавоноидов

Суммарная фракция флавоноидов *M. cretacea* в концентрации 1,0 мг/см³ проявила наибольшее угнетающее действие на рост бактериальных культур. Самая высокая эффективность препарата отмечена для культур *S. albus* (78,4% относительно ампициллина), *S. citreus* и *S. anhaemoliticus*. В то же время торможение роста *S. kauffmani* составило 52,3%.

Антибактериальная активность кверцетина и его гликозидов из цветков *M. cretacea* была на 30% ниже по сравнению с суммарной фракцией флавоноидов (в адекватных концентрациях). Наибольшее угнетение роста бактериальных культур обуславливали рутин и кверцетин-3-О-глюкозил-глюкозид. Максимальная антимикробная активность относительно *S. albus* и *S. citreus* (соответственно 69 и 67% относительно ампициллина). Наименее активным был кверцетин (35,1% относительно ампициллина).

Таким образом, для выделенных нами препаратов установлено рострегулирующее действие на прорастание семени и рост корней проростков редиса, кресс-салата и салата. Для этих веществ также установлена антимикробная активность относительно патогенных бактерий *S. albus*, *S. citreus*, *S. anhaemoliticus*, *N. meningitides*, *N. flava*, *S. kauffmani*, *S. flexneri*.

Заключение

Исследовано количественное и качественное содержание тритерпеноидов и флавоноидов разных органов растения *Melilotoides cretacea* на протяжении вегетации. Максимальное накопление тритерпеновых гликозидов выявлено в период цветения в корнях, а флавоноидов в цветках растения. Из семи выделенных из растения флавоноидов идентифицировано пять: кверцетин, кверцетин-3-О-глюкозид, кверцетин-7-О-глюкозид, кверцетин-3-О-глюкозил-рамнозид, кверцетин-3-О-глюкозил-глюкозид. Кверцетин-7-О-глюкозид и кверцетин-3-О-глюкозил-глюкозид присутствуют в растениях в высоких концентрациях. Среди фенольных соединений идентифицированы фенольные кислоты и рутин. Из выявленных 19 соединений тритерпеновой природы идентифицирована олеаноловая кислота.

Показана рострегулирующая активность тритерпеноидов *M. cretacea* на модельных объектах (салат, кресс-салат и редис).

Установлено антибактериальное действие тритерпеновых гликозидов относительно грампозитивных (*Staphylococcus albus*, *S. citreus*, *Streptococcus anhaemoliticus*) и грамотрицательных (*Nesseria meningitides*, *N. flava*, *Salmonella kauffmani*, *Shigella flexneri*)

бактерий. Антимикробное действие спиртовых экстрактов из корней обусловленное наличием тритерпеновых соединений, а для спиртовой вытяжки из цветков как тритерпеноидов, так и флавоноидов. Проведенные исследования позволяют отнести растение *M. cretacea* к перспективным источникам естественных фармакологических препаратов.

Список литературы

1. Бандюкова В.А., Череватый В.С., Озимица И.И. Антибактериальная активность флавоноидов некоторых видов цветковых растений // Растит. ресурсы. – 1987. – Т. 23, Вып. 4. – С.607-612.
2. Гринкевич Н.И., Сафронич Л.Н. Химический анализ лекарственных растений. – М.: Высшая школа, 1983. – 218 с.
3. Деканосидзе Г.Е., Чирва В.Я., Сергиенко Т.В. Биологическая роль, распространение и химическое строение тритерпеновых гликозидов. – Тбилиси: Мецниереба, 1984. – 349 с.
4. Исследование тритерпеновых гликозидов (установление строения и синтез) / Г.Е. Деканосидзе, В.Я. Чирва, Т.В. Сергиенко, Н.И. Уварова. – Тбилиси: Мецниереба, 1982. – 152с.
5. Лабинская А.С. Микробиология с техникой микробиологических исследований. – М.: Медицина, 1977. – 392 с.
6. Литвиненко В.И., Попова Т.П. Аммосов А.С. Новые возможности методов УФ-спектроскопии в исследовании природных флавоноидов // Тез. докл. семинара по физиологии и биохимии фенольных соединений растений. – Тарту, 1972. – С. 5-7.
7. Малыгина В.Ю., Гришконец В.И., Криворутченко Ю.Л. Влияние таурозидов Sx1 на летальную гриппозную инфекцию у мышей // Таврический Медико-Биологический Вестник. – 2003. – Т.6, № 1. – С. 47-50.
8. Машковский М.Д. Основные лекарственные средства: В двух книгах. – Харьков: Фолио, 1999. – Кн.1. – 560 с.
9. Менчер Э.М., Земшман А.Я. Основы планирования эксперимента с элементами математической статистики в исследованиях по виноградарству. – Кишинев: Штиинца, 1986. – 238 с.
10. Методы технохимического контроля в виноделии. / Под ред. Гержиковой В.Г. – Симферополь: Таврида, 2002. – 260 с.
11. Стыскин Е.Л., Ициксон Л.Б., Брауде Е.В. Практическая высокоэффективная жидкостная хроматография. – М.: Химия, 1986. – 288 с.
12. Теслов Л.С. Сравнительное изучение флавоноидного состава видов рода *Campanula* L. ряда *Rapunculoides* Charadze из секции *Campanula* // Растит.ресурсы. – 2000. – Т. 36, Вып. 1. – С. 4-16.
13. Фадеев Ю.М., Голубев В.Н. Распределение тритерпеновых гликозидов в растениях семейства *Fabaceae* флоры Крыма // Биохимия плодовых и декоративных культур. Труды Никит. ботан. сада. – 1985. – Т. 95. – С. 54-61.
14. Хаджай Я.И. Фармакологическое действие и клиническое применение флавоноидов // Тезисы докладов 2-го Всесоюзного симпозиума по фенольным соединениям. – Алма-Ата: Наука, 1970. – С. 137–138.
15. Щербановский Л.Р., Нилов Г.И. О влиянии некоторых сапонинов на спиртовое брожение // Прикладная биохимия и микробиология. – 1967. – Т. 12, № 6. – С. 667-673.
16. Экспериментальная аллелопатия / А.М. Гродзинский, Э.А. Головкин, С.А. Горобец и др. – К.: Наукова думка, 1987. – 236 с.
17. Behboudi S., Morein B., Villacres-Eriksson M. Quillaja saponin formulations that stimulate proinflammatory cytokines elicit a potent acquired cell-mediated immunity. *Scandinavian J. of Immunology*. – 1999. – № 50. – P. 371-377.
18. Goad L. Inhibitor of phytosterol biosynthesis and the consequences for plant growth. / *Ecological chemistry and biochemistry of plant terpenoids*. – Oxford: Clarendon Press, 1991. – P. 209–229.

19. Hostettmann K., Marston A. Saponins. – Cambridge: Cambridge University Press, 1995. – 548 p.
20. Oh S., Kinjo J., Shii Y., Ikeda T., Nohara T., Ahn K., Kim J., Lee H. Effects of triterpenoids from *Pueraria lobata* on immunohemolysis: β -D-glucuronic acid plays an active role in anticomplementary activity *in vitro* // *Planta Medica*. – 2000. – № 66. – P.506-510.
21. Osbourn A. Saponins in cereals // *Phytochemistry*. – 2003. – № 62. – P. 1-4.
22. Osbourne A.E., Wubben P.J., Melton R. E., Carter J.P., Daniels M.J. Saponins and plant defense. / *Phytochemical signals and plant-microbe interactions*. – New York: Plenum Press, 1998. – P. 1–16.
23. Rohmer, M. The hopanoids. / *Surface structures of microorganisms and their interaction with the mammalian*. – Weinheim: Verlag Chemie, 1988. – P. 227-242.
24. Tava A., Odoardi M. Saponins from *Medicago* spp.: chemical characterization and biological activity against insects // *Advances in experimental medicine and biology*. – 1996. – № 405. – P.97-109.
25. Waller G.R., Jurzysta M., Thorne R.L.Z. Allelopathic activity of root saponins from alfalfa (*Medicago sativa* L.) on weeds and wheat // *Botanical Bulletin of Academia Sinica*. – 1993. – 34. – P.1-11.

To the question about composition and biological activity of several secondary metabolites of *Melilotoides cretacea* (M. Bieb.) Sojak.

Paliy A.E., Yezhov B.N.

The biological active substances of *Melilotoides cretacea* (M. Bieb.) Sojak was investigations. It was determined that triterpene glycosides are present in all parts of plant. The most amount of triterpenes in *M. cretacea* is accumulated in the roots of plant during the period of flowering. It was discovered exposed 19 substances of triterpene nature in *M. cretacea*. Among them oleanolic acid was identified. Phenol acids and rutin were found in the stems and leaves, and flavonoids were found in the flowers. Among seven flavonoids which was extracted from the plant. Five of them were identified: quercetin, quercetin-3-O-glucoside, quercetin-7-O-glucoside, quercetin-3-O-glucosyl-rhamnoside (rutin), quercetin-3-O-glucosyl-glucoside.

It was shown that triterpene compounds of *M. cretacea* have different kind of biological activity: antibacterial activity to the Gram-positive and Gram-negative bacteria and growth inhibitory activity (have negative influence on seeds germination and germs roots growth of the test-objects).

We concluded that *M. cretacea* is a perspective source of quercetin and glycosides of quercetin and triterpenes with high biological activity.