

УДК 581.1

## ИЗУЧЕНИЕ СПЕКТРА БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ФЛАВОНОИДОВ ТРАВЫ *HYPERICUM PERFORATUM* L. ФЛОРЫ РЕСПУБЛИКИ ТАТАРСТАН МЕТОДОМ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

© Л.З. Хуснетдинова\*, А.Н. Акулов, С.А. Дубровная

Казанский федеральный университет, ул. Кремлевская, 18, Казань, 420008  
(Россия), e-mail: Husnetdinova.l@mail.ru

В статье представлены результаты исследования зависимости содержания флавоноидов в надземных побегах особой зверобоя продырявленного *Hypericum perforatum* L. от произрастания в различных эколого-ценотических условиях Республики Татарстан. В качестве растительных сообществ рассматривались луга, опушки широколиственного и соснового леса или искусственные посадки сосны обыкновенной. Методом высокоэффективной жидкостной хроматографии проведен качественный и количественный анализ флавоноидов в надземных побегах *Hypericum perforatum*. При изучении водно-спиртовых экстрактов методом ВЭЖХ-анализа идентифицированы флавоноиды – рутин, кверцетин, бисапигенин. Показано, что эколого-ценотические условия произрастания зверобоя продырявленного влияют на количественное содержание фенольных соединений. Установлено, что в исследуемых ценопопуляциях вида на территории Республики Татарстан доминирующим флавоноидом в лекарственном растительном сырье является рутин. Максимальное количество этого соединения обнаружено в образцах *Hypericum perforatum*, приуроченного к сосновым сообществам Тукаевского и Дрожжановского районов при значимом количестве кверцетина. Во всех вариантах опыта в небольших количествах был обнаружен бисапигенин. Растения зверобоя продырявленного, произрастающие в разных растительных сообществах, отличались различным содержанием соединений фенольного комплекса, что, вероятно, обусловлено эколого-ценотическими и климатическими условиями произрастания.

*Ключевые слова:* зверобой продырявленный, *Hypericum perforatum* L., биологически активные вещества, ВЭЖХ, рутин, кверцетин, бисапигенин.

### Введение

В последние годы большое внимание уделяется природным источникам биологически активных веществ (БАВ). Повышенный интерес к лекарственным средствам растительного происхождения объясняется тем, что природные БАВ обладают низкой токсичностью и широким спектром биологической активности [1], способствует более легкому и эффективному воздействию на организм [2]. Разнообразие географических зон, экологических условий произрастания сказываются на обменных процессах, биосинтезе и накоплении БАВ, что, в конечном счете, определяет лекарственные свойства растений. Важным аспектом исследования является выявление местобитаний, где совокупность факторов способствует формированию ценопопуляций с высоким содержанием БАВ [3].

Одним из перспективных растительных источников фенольных соединений являются лекарственные растения, широко применяемые в народной и научной медицине и имеющие промышленные запасы.

В связи с этим представляет большой интерес изучение накопления соединений фенольной природы в траве многолетних травянистых растений зверобоя продырявленного *Hypericum perforatum* L. (сем. Зверобойные – *Hypericaceae*) в естественных сообществах в зависимости от эколого-ценотических условий произрастания с целью выявления оптимальных районов для заготовки качественного сырья.

---

Хуснетдинова Ландыш Завдетовна – кандидат биологических наук, доцент,  
e-mail: Husnetdinova.l@mail.ru

Акулов Антон Николаевич – кандидат биологических наук, ассистент, e-mail: akulov\_anton@mail.ru

Дубровная Светлана Алексеевна – кандидат биологических наук, доцент,  
e-mail: sdubrovnaaya@inbox.ru

---

\* Автор, с которым следует вести переписку.

### Экспериментальная часть

Объектом исследований служила трава *H. perforatum*, средневозрастного генеративного онтогенетического состояния, собранная на территории Республики Татарстан (РТ) в 2014 г. Сбор сырья проводился в луговых и лесных фитоценозах лесостепной зоны Дрожжановского, Тукаевского районов республики в фазу цветения растений, с соблюдением общих правил сбора [4].

В пределах каждого административного района исследовались ценопопуляции (табл. 1) на лугах, опушках широколиственного леса, опушке соснового леса или искусственных посадок сосны.

Сырье сушили методом воздушно-теневого сушки в хорошо проветриваемых помещениях при температуре 22–24 °С.

Для проведения испытаний аналитическую пробу сырья измельчали до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 1 мм и готовили извлечения с использованием 70% этилового спирта [5, 6].

Около 1 г сырья (точная навеска) измельченного сырья помещали в колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляли 50 мл 70% этилового спирта. Колбу присоединяли к обратному холодильнику и нагревали на кипящей водяной бане (умеренное кипение) в течение 90 мин. Затем восполняли недостающий экстрагент до первоначального объема 70% спиртом. Извлечение профильтровывали через рыхлый комочек ваты и остужали до комнатной температуры [5].

Суммарное содержание флавоноидов определяли спектрофотометрическим методом [5].

Идентификацию флавоноидов осуществляли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ), отличающийся высокой чувствительностью и точностью, позволяющий идентифицировать состав изучаемой группы БАВ. Разделение флавоноидов проводили методом ВЭЖХ на хроматографической системе высокого давления Breeze («Waters», США). Использовали оригинальную колонку Symmetry® C18, 100Å, 5 мкм, 3,9 мм × 150 мм («Waters», США). Детекцию пиков осуществляли посредством двухволнового УФ ВЭЖХ детектора Waters 2489 («Waters», США) при длине волны 260 и 360 нм. Разделение проводили в изократическом режиме, используя в качестве подвижной фазы смесь ацетонитрила и воды с добавлением 1% ледяной уксусной кислоты в соотношении 25 : 75 [5]. Скорость потока элюента – 0,4 мл/мин. На колонку вносили по 20 мкл образца. Хроматографирование проводили при комнатной температуре (25±2 °С).

Идентификацию пиков выявляемых на хроматограмме соединений проводили, используя рабочие стандартные образцы (РСО) рутина, кверцетина, бисапигенина.

Таблица 1. Растительные сообщества лесостепной зоны РТ

Административные районы	Местообитания
Дрожжановский	Пойменный злаково-разнотравный луг Молодые посадки сосны на участке вырубленного соснового леса. Возраст сосне не превышал 14 лет. Почвы супесчаные Дубрава вязово-липовая в пойме
Тукаевский	Суходольный, узколистно-мятликовый разнотравный луг Сосновые посадки вдоль дороги на серых лесных почвах Липово-дубняк снытевый

### Обсуждение результатов

В водно-спиртовых извлечениях сырья *H. perforatum* методом ВЭЖХ были обнаружены природные фенольные соединения. Данные соединения идентифицированы как рутин, кверцетин и бисапигенин (рис. 1–6).

Показано, что в исследуемых растительных сообществах лесостепной зоны РТ доминирующим флавоноидом извлечений из надземных побегов зверобоя является рутин (пик №2). Однако в сырье, собранном в Дрожжановском районе, данное соединение преобладает только в растениях, произрастающих в сосновых посадках. Максимальное количество рутина и кверцетина обнаружено в растительном сырье, произрастающем в Тукаевском районе, а минимальное – в *H. perforatum* Дрожжановского района, что, вероятно, обусловлено эколого-ценотическими и климатическими условиями произрастания в естественно-исторических районах РТ.

Невысокие значения имеет бисапигенин (пик №3) во всех вариантах опыта, на фоне достаточно высокого содержания рутина и кверцетина (пик №1).

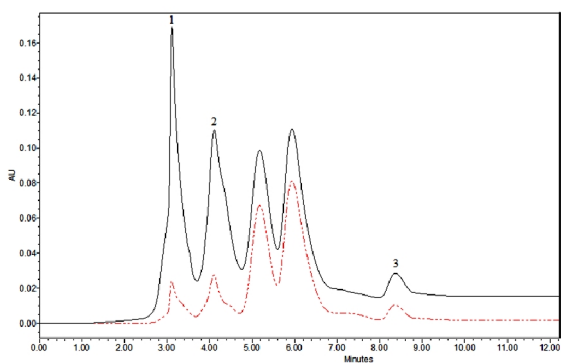


Рис. 1. ВЭЖХ-хроматограмма водно-спиртового экстракта *H. perforatum* L., собранного в пойменном злаково-разнотравном лугу Дрожжановского района: 1 – кверцетин, 2 – рутин, 3 – бисапигенин

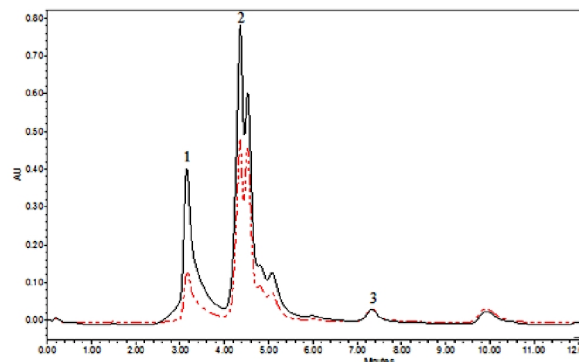


Рис. 2. ВЭЖХ-хроматограмма водно-спиртового экстракта *H. perforatum* L., собранного в сосновых посадках Дрожжановского района: 1 – кверцетин, 2 – рутин, 3 – бисапигенин

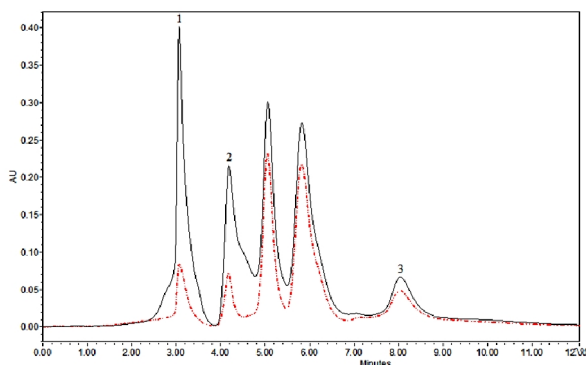


Рис. 3. ВЭЖХ-хроматограмма водно-спиртового экстракта *H. perforatum* L., собранного в дубраве вязово-липовой Дрожжановского района: 1 – кверцетин, 2 – рутин, 3 – бисапигенин

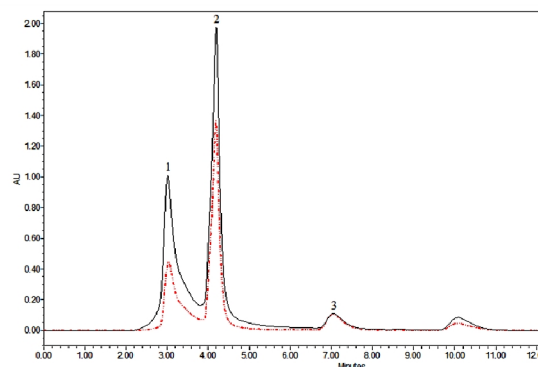


Рис. 4. ВЭЖХ-хроматограмма водно-спиртового экстракта *H. perforatum* L., собранного в суходольном, узколистно-мятликовом разнотравном лугу Тукаевского района: 1 – кверцетин, 2 – рутин, 3 – бисапигенин

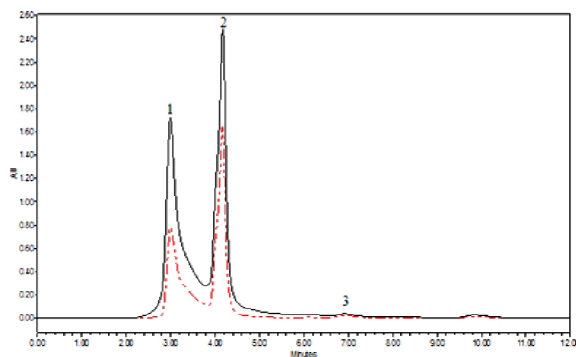


Рис. 5. ВЭЖХ-хроматограмма водно-спиртового экстракта *H. perforatum* L., собранного в сосновых посадках Тукаевского района: 1 – кверцетин, 2 – рутин, 3 – бисапигенин

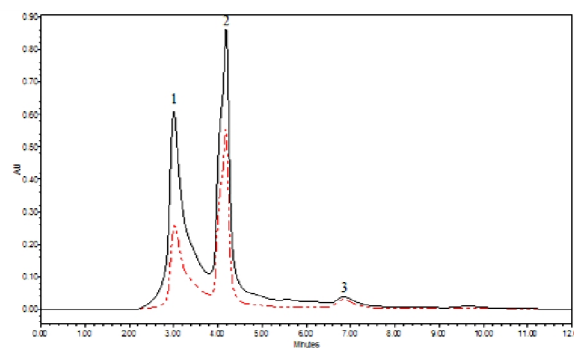


Рис. 6. ВЭЖХ-хроматограмма водно-спиртового экстракта *H. perforatum* L., собранного в липово-дубняке сныгевом Тукаевского района: 1 – кверцетин, 2 – рутин, 3 – бисапигенин

Из литературных данных известно [5, 6], что для лекарственного растительного сырья *Hypericum perforatum* L. характерно наличие флавоноида гиперозида. Вероятно, один из пиков флавоноидов, выделенных из экстракта растений, собранных в Дрожжановском районе, на наших рисунках представляет собой гиперозид.

Установлено, что содержание БАВ в надземных побегах зверобоя продырявленного различно как для луговых ценопопуляций, так и для растений, произрастающих в лесных фитоценозах.

### **Выводы**

Методом ВЭЖХ-анализа в лекарственном растительном сырье *H. perforatum*, идентифицированы флавоноиды – рутин, кверцетин и бисапигенин.

Максимальное количество флавоноидов отмечено для растений, произрастающих в Тукаевском районе Республики Татарстан.

Таким образом, район западной Предволжской лесостепи Республики Татарстан можно рассматривать в качестве перспективной территории для создания высокопродуктивных посадок лекарственных растений, для получения сырья с высоким содержанием биологически активных веществ.

### **Список литературы**

1. Байдуллаулы А., Шевченко А.С., Музычкина Р.А. Получение флавоноидсодержащих фитопрепаратов из горца живородящего (*Polygonum viviparum* L.) // Лекарственные растения: фундаментальные и прикладные проблемы: материалы I Междунар. науч. конф. Новосибирск, 2013. С. 127–130.
2. Савченко Л.Н., Маринина Т.Ф., Карпенко В.А. Фармакотехнологическое исследование стоматологической лекарственной формы с метилурацилом и настойкой эхинацеи // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. 2015. Т. 17. №5. С. 197–202.
3. Дубровная С.А., Хуснетдинова Л.З. Морфологическая и физиологическая изменчивость природных популяций (*Hypericum perforatum* L.) в условиях лесостепной зоны Республики Татарстан // Известия Самарского научного центра РАН. 2016. Т. 18. №2(2). С. 355–359.
4. Самылина И.А. Фармакогнозия. Учебная практика / под ред. И.А. Самылиной, А.А. Сорокиной. М., 2011. 432 с.
5. Правдивцева О.Е., Куркин В.А. Исследования по обоснованию новых подходов к стандартизации сырья и препаратов зверобоя продырявленного // Химия растительного сырья. 2008. №1. С. 81–86.
6. Зимина Л.Н., Куркин В.А., Рыжов В.М. Сравнительное исследование компонентного состава травы фармакопейных видов зверобоя методом высокоэффективной жидкостной хроматографии // Химия растительного сырья. 2013. №1. С. 205–208.

Поступило в редакцию 22 февраля 2017 г.

После переработки 29 марта 2017 г.

*Khusnetdinova L.Z.\**, *Akulov A.N.*, *Dubrovnaia S.A.* THE RESEARCH OF THE SPECTRUM OF BIOLOGICALLY ACTIVE FLAVONOIDS GRASS *HYPERICUM PERFORATUM* L. FLORA OF THE REPUBLIC OF TATARSTAN BY HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY

*Kazan Federal University, ul. Kremlevskaya, 18, Kazan, 420008 (Russia), e-mail: Husnetdinova.l@mail.ru*

The article presents the results of the study of the dependence of the flavonoid content of the herb *Hypericum perforatum* L., from growth conditions of cenopopulations in various ecological, cenotic conditions of the Republic of Tatarstan. Plant biocenosis were considered – meadows, Border of broadleaf and pine forest or artificial planting of pine. A qualitative and quantitative analysis of flavonoids in the herb of *Hypericum perforatum* was carried out by high-performance liquid chromatography. In studying water-alcohol extracts of *H. perforatum* L. flavonoids – rutin, quercetin, bisapigenin were identified by HPLC analysis. It is shown that the ecological, cenotic conditions of growth of *Hypericum perforatum* affect the quantitative content of phenolic compounds. It has been established that in investigated cenopopulations in the territory of the Republic of Tatarstan, rutin is the dominant flavonoid in medicinal plant raw materials. Maximum amount of this compound detected in the samples of *Hypericum perforatum* confined to the pine biocenosis of Tukaevsky and Drozhzhanovsky districts under significant quantity level of quercetin. In all variants of the experiment, bisapigenin was detected in small amounts. Plants of *Hypericum perforatum*, grow in different plant biocenosis differed in the various contents of the compounds of the phenolic complex, which is probably due to the ecological, cenotic and climatic conditions of growth.

*Keywords:* *Hypericum perforatum* L., biologically active compounds, HPLC, rutin, quercetin, bisapigenin.

### References

1. Baidullauly A., Shevchenko A.S., Muzychkina R.A. *Lekarstvennye rasteniia: fundamental'nye i prikladnye problemy. Materialy I Mezhdunarodnoi nauchnoi konferentsii*. [Medicinal plants: fundamental and applied problems. Materials of the I International Scientific Conference]. Novosibirsk, 2013, pp. 127–130. (in Russ.).
2. Savchenko L.N., Marinina T.F., Karpenko V.A. *Izvestiia Samarskogo nauchnogo tsentra RAN*, 2015, vol. 17, no. 5, pp. 197–202. (in Russ.).
3. Dubrovnaia S.A., Khusnetdinova L.Z. *Izvestiia Samarskogo nauchnogo tsentra RAN*, 2016, vol. 18, no. 2(2), pp. 355–359. (in Russ.).
4. Samylina I.A. *Farmakognoziia. Uchebnaia praktika* [Pharmacognosy. Training Practice], ed. I.A. Samylina, A.A. Sorokina, Moscow, 2011, 432 p. (in Russ.).
5. Pravdivtseva O.E., Kurkin V.A. *Khimii rastitel'nogo syr'ia*, 2008, no. 1, pp. 81–86. (in Russ.).
6. Zimina L.N., Kurkin V.A., Ryzhov V.M. *Khimii rastitel'nogo syr'ia*, 2013, no. 1, pp. 205–208. (in Russ.).

*Received February 22, 2017*

*Revised March 29, 2017*

---

\* Corresponding author.

