

# ФЛАВОНОИДЫ ТРАВЫ ГОРЦА ПОЧЕЧУЙНОГО

**И.Б. Перова**<sup>1</sup>, кандидат фармацевтических наук, **К.И. Эллер**<sup>1</sup>, доктор химических наук, профессор, **А.А. Мальцева**<sup>2\*</sup>, кандидат фармацевтических наук, **А.С. Чистякова**<sup>2</sup>, **А.И. Сливкин**<sup>2</sup>, доктор фармацевтических наук, профессор, **А.А. Сорокина**<sup>3</sup>, доктор фармацевтических наук, профессор

<sup>1</sup>Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи; Российская Федерация, 109240, Москва, проезд Устьинский, д. 2/14;

<sup>2</sup>Воронежский государственный университет;

Российская Федерация, 394006, Воронеж, Университетская пл., д. 1;

<sup>3</sup>Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова; Российская Федерация, 119991, Москва, Трубецкая ул., д. 8, стр. 2

**Введение.** Горец почечуйный широко распространен по территории средней полосы России. Растение имеет богатый состав биологически активных веществ и издавна применяется в медицинской практике. Литературные сведения о составе флавоноидов травы горца почечуйного часто противоречивы.

**Цель исследования** – изучение профиля флавоноидов травы горца почечуйного, заготовленной в Воронежской области.

**Материал и методы.** Объект исследования – трава горца почечуйного, произрастающего в Воронежской области. Предварительные исследования проводили методом тонкослойной хроматографии (ТСХ). Состав и содержание флавоноидов устанавливали методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с диодно-матричным и времяпролетным масс-спектрометрическим детектором (ВЭЖХ-УФ/МС) с использованием системы Agilent 1100.

**Результаты.** Зоны веществ флавоноидной природы наблюдались в основном в водно-спиртовых извлечениях. В гептановых извлечениях, характерных для флавоноидов, зон не наблюдалось. В траве горца почечуйного установлено присутствие 27 производных флавонолов и флавонов. Идентифицировано 16 соединений. Общее содержание флавоноидов в траве горца почечуйного составило 12,05 мг/г.

**Заключение.** Установлен профиль флавоноидов травы горца почечуйного, представленный О- и С-гликозидами кемпферола, кверцетина, апигенина и лютеолина.

**Ключевые слова:** горец почечуйный, *Polygonum persicaria* L., трава, флавоноиды, ТСХ, ВЭЖХ-масс-спектрометрия.

\*E-mail: alinevoroneg@mail.ru

## ВВЕДЕНИЕ

Горец почечуйный (*Polygonum persicaria* L.) относится к однолетним травянистым растениям, широко распространенным по территории средней полосы России. Растение неприхотливо, растет как сорняк в садах и огородах, по обочинам дорог, близ жилья, на сырых местах по берегам рек, на влажных разнотравных лугах [1]. Трава горца почечуйного издавна применяется в медицинской практике и включена в Государственный реестр Российской Федерации как противогеморроидальное средство [2].

Согласно данным литературы [3], в растении содержатся фенольные соединения – флавоноиды, кумарины и дубильные вещества, а также тритерпеновые сапонины, полисахариды, смолы, аминокислоты.

Среди многообразия различных групп биологически активных веществ (БАВ), присутствующих в траве горца почечуйного, относительно высокой концентрацией выделяется группа флавоноидов. Однако сведения о составе флавоноидов в растении часто противоречивы [4 – 8]

Цель исследования – изучение профиля флавоноидов травы горца почечуйного, заготовленной в Воронежской области.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Объектом исследования служила высушенная трава горца почечуйного, заготовленная во время цветения в Воронежской области в 2014 г. Для исследования флавоноидного состава травы горца почечуйного использовали методы ТСХ (для предварительного изучения) и ВЭЖХ-УФ/МС.

ТСХ-анализ включал следующую пробоподготовку: траву горца почечуйного измельчали до размера частиц, проходящих сквозь сито с диаметром отверстий 1 мм. Флавоноиды экстрагировали из навески сырья 1,0 г (точная навеска) разнополярными растворителями (вода, спирт этиловый в концентрациях 30, 50, 70, 90%, этилацетат, хлороформ, гептан) в соотношении сырье:экстрагент 1:50. Экстракцию выполняли на водяной бане с обратным холодильником в течение 2 ч. Полученное извлечение отфильтровывали, 5 мкл фильтрата наносили на хроматографические пластины Sorbfil ПТСХ-АФ-УФ. Стандартными образцами служили спиртовые растворы стандарт-

ных образцов рутина и кверцетина в концентрации 0,1%. В качестве элюирующей системы была выбра-

на система этилацетат – муравьиная кислота – вода (10:2:3) [9]. Проявляющим реагентом являлся 5% раствор хлорида алюминия с последующим детектированием в УФ-свете (365 нм).

Профиль флавоноидов в траве горца почечуйного исследовали с помощью модифицированной оригинальной ВЭЖХ-УФ/МС-методики, разработанной ранее для анализа биологически активных веществ в траве пустырника пятилопастного [10]. 2,0 г измельченного сырья (точная навеска) перенесли в круглодонную колбу вместимостью 100 мл, добавляли 50 мл 60% метилового спирта. Экстракцию проводили на водяной бане с обратным холодильником при температуре 95°C в течение 1 ч. Далее колбу с извлечением охлаждали до комнатной температуры и помещали на УЗ-ванну на 5 мин. Содержимое колбы фильтровали через бумажный фильтр «Красная лента» в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводили до метки 60% метиловым спиртом и тщательно перемешивали. 1,5 мл перенесли в центрифужную пробирку и центрифугировали при 15000 об/мин в течение 5 мин. Супернатант помещали в виалу для авто-

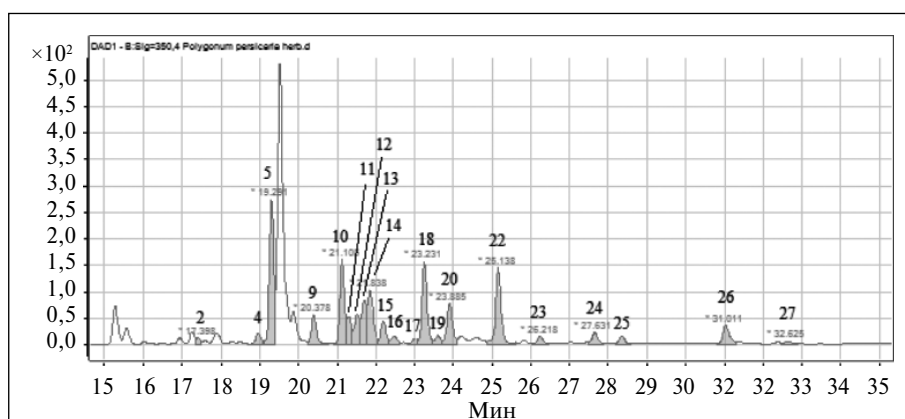
сеплера.

Исследования осуществлялись с помощью системы ВЭЖХ Agilent 1100, оснащенной бинарным насосом, дегазатором, термостатируемым автосемплером, термостатом колонок, диодно-матричным спектрофотометрическим (Agilent 1100 Series Diode Array) и времяпролетным масс-спектрометрическим детектором (Agilent 6200 TOFLC/MS). В качестве стандартных образцов использовались коммерчески доступные индивидуальные вещества: рутин (≥94%, Sigma), гиперозид (≥95%, HWI ANALYTIK GMBH), изокверцитрин (≥94%, HWI ANALYTIK GMBH), авикулярин (ChromaDex), кемпферол-3-глюкозид (≥95%, PhytoLab), витексин (≥96%, Fluka), изовитексин (≥99%, Extrasynthese), лютеолин-7-глюкозид (≥98%, Extrasynthese), мирицетин (appr. 85%, Sigma), кверцетин (≥98%, Sigma), кемпферол (≥99%, Extrasynthese), изорамнетин (≥99%, Fluka), лютеолин (≥99%, Extrasynthese), апигенин (≥95%, Sigma).

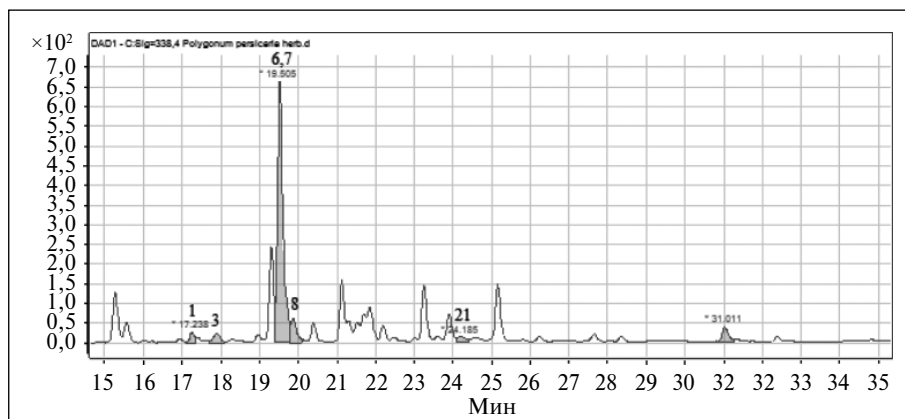
Таблица 1

**ЗОНЫ ФЛАВОНОИДОВ ТРАВЫ ГОРЦА ПОЧЕЧУЙНОГО В ИЗВЛЕЧЕНИЯХ, ПОЛУЧЕННЫХ РАЗЛИЧНЫМИ ЭКСТРАГЕНТАМИ**

Экстракт	Rf ± 0,02
Спирт этиловый 30%	0,11
Спирт этиловый 50, 70%	0,25; 0,27
Спирт этиловый 30, 50, 70% (рутин)	0,53; 0,55
Хлороформ	0,60
Спирт этиловый 90, 50, 70% (авикулярин)	0,68; 0,70; 0,72
Вода, этилацетат	0,77
Спирт этиловый 50, 70% (гиперозид)	0,84
Вода (гиперозид)	0,87
Спирт этиловый 70% (кверцетин)	0,90
Этилацетат	0,99



**Рис. 1.** Хроматограмма извлечения из травы горца почечуйного при λ=350 нм (здесь и на рис. 2 номера пиков флавоноидов на хроматограмме соответствуют номерам в табл. 2)



**Рис. 2.** Хроматограмма извлечения из травы горца почечуйного при λ=338 нм

Условия ВЭЖХ: неподвижная фаза – колонка ProteColC18 НРН 125 250×4,6 мм с размером частиц 5μм. Подвижная фаза: А – 0,1% раствор муравьиной кислоты, В – ацетонитрил. Градиентное элюирование 0–40 мин, 10–60% В, затем регенерация колонки 41–50 мин, 10% В. Температура колонки – 30°C, скорость подачи элюента – 0,5 мл/мин, объем вводимой пробы – 10 μл. Спектрофотометрическое детектирование выполнялось при 5 аналитических длинах волн: 370, 350, 338, 330 и 290 нм.

Условия масс-детектирования. Ионизация электроспреем, сканирование масс – в режиме регистрации положительных ионов (ESI-MS<sup>+</sup>) в диапазоне m/z 100-1000 Да. Рабочие параметры источника ионизации: напряжение на капилляре – 3500 В, поток газа-осушителя (азот) – 9 л/мин, температура – 325°C, давление на распылителе – 0,27 Мпа. Напряжение на фрагменторе – 175 В, на конусе – 65 В, на октополе OCT 1RF Vpp – 250 В. Полученные данные обрабатывали с помощью программного обеспечения Agilent Mass Hunter Workstation Software. Ме-

трологические характеристики методики оценивали согласно ОФС.1.1.0013.15 «Статистическая обработка результатов химического эксперимента» ГФ РФ XIII издания.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Как показал предварительный ТСХ-анализ извлечений из травы горца почечуйного, вещества флавоноидной природы присутствовали во всех извлечениях, полученных различными экстрагентами (табл. 1.). Идентифицированы зоны, соответствующие рутину, авикулярину, гиперозиду и кверцетину. Наибольший выход флавоноидов наблюдался при использовании в качестве экстрагента 70% этилового спирта.

Методом ВЭЖХ-ДМД-МС в траве горца почечуйного обнаружено более 25 производных флавонолов и флавонов (рис. 1, 2). Коэффициенты емкости, результаты масс-спектрометрического анализа, максимумы поглощения и содержание флавоноидов в траве горца почечуйного представлены в табл. 2.

Таблица 2

#### ХАРАКТЕРИСТИКИ ФЛАВОНОИДНЫХ СОЕДИНЕНИЙ ТРАВЫ ГОРЦА ПОЧЕЧУЙНОГО, ПОЛУЧЕННЫЕ МЕТОДОМ ВЭЖХ-ДМД-МС

№ пика	Флавоноид	K*	ESI-MS <sup>+</sup> , m/z	Детектируемый ион	λ <sub>max</sub> , нм	Содержание, мг/г
1	Флавоновый С-гликозид	3,66	641,20	[M+H] <sup>+</sup>	194, 216, 230 плечо, 284, 338	0,11
2	Мирицетин-3-вицианозид	3,70	613,20 481,14 319,09	[M+H] <sup>+</sup> [M – арабиноза + H] <sup>+</sup> [M – вицианоза + H] <sup>+</sup>	254, 266, 352	0,07
3	Апигенин + пентоза + гексоза (С-гликозид)	3,83	565,21	[M+H] <sup>+</sup>	202, 274, 340	0,13
4	Лютеолин + глюкоза + глюкуроновая кислота (С-гликозид)	4,12	625,20	[M+H] <sup>+</sup>	204, 256, 266, 350	0,16
5	Кверцетин-3-вицианозид	4,21	597,20 465,15 435,14 303,09	[M+H] <sup>+</sup> [M – арабиноза + H] <sup>+</sup> [M – глюкоза + H] <sup>+</sup> [M – вицианоза + H] <sup>+</sup>	256, 266, 355	1,54
6	Флавоновый гликозид	4,27	625,20	[M+H] <sup>+</sup>	194, 216, 230 плечо, 282, 332	2,71
7	Флавоновый гликозид	4,27	611,21 287,09	[M+H] <sup>+</sup> [M – 2 глюкозы + H] <sup>+</sup>	194, 214, 230 плечо, 284, 338	2,71
8	Флавоновый гликозид	4,37	655,20	[M+H] <sup>+</sup>	196, 210sh, 256, 268, 344	0,27
9	Рутин	4,50	611,21 465,15 303,09	[M+H] <sup>+</sup> [M – рамноза + H] <sup>+</sup> [M – рутиноза + H] <sup>+</sup>	256, 266, 356	0,40
10	Кемпферол-3-вицианозид	4,70	581,20 287,09	[M+H] <sup>+</sup> [M – самбубиоза + H] <sup>+</sup>	196, 207 плечо, 266, 346	0,97
11	Кемпферол-3-рамнозид-7-глюкозид	4,76	595,22 287,09	[M+H] <sup>+</sup> [M – глюкоза – рамноза + H] <sup>+</sup>	266, 346	0,30
12	Гиперозид	4,81	465,15 303,09	[M+H] <sup>+</sup> [M – галактоза + H] <sup>+</sup>	254, 266, 356	0,35
13	Изокверцитрин	4,86	465,15 303,09	[M+H] <sup>+</sup> [M – глюкоза + H] <sup>+</sup>	256, 266, 356	0,36

№ пика	Флавоноид	K*	ESI-MS <sup>+</sup> , m/z	Детектируемый ион	λ <sub>max</sub> , нм	Содержание, мг/г
14	Флавонолгликозид	4,90	617,18 463,14 315,11 303,09	[M+H] <sup>+</sup>	208, 220 плечо, 258, 264, 354	0,71
15	Кемпферол-3-рутинозид	4,99	595,22 449,15 287,09	[M+H] <sup>+</sup> [M – рамноза + H] <sup>+</sup> [M – рутиноза + H] <sup>+</sup>	266, 346	0,31
16	Гликозид кверцетина	5,07	609,20 303,09	[M+H] <sup>+</sup> [M – гликозид + H] <sup>+</sup>	206, 210, 258, 266, 356	0,12
17	Кемпферол-3-галактозид	5,21	449,15 287,09	[M+H] <sup>+</sup> [M – галактоза + H] <sup>+</sup>	266, 350	0,09
18	Кверцетин + пентоза + рамноза	5,28	581,20 449,15 303,09	[M+H] <sup>+</sup> [M – пентоза + H] <sup>+</sup> [M – пентоза – рамноза + H] <sup>+</sup>	204, 256, 266, 348	0,98
19	Кемпферол-3-гликозид	5,37	449,15 287,09	[M+H] <sup>+</sup> [M – глюкоза + H] <sup>+</sup>	266, 348	0,13
20	Кверцитрин	5,46	449,15 303,09	[M+H] <sup>+</sup> [M – рамноза + H] <sup>+</sup>	200, 256, 266, 350	0,50
21	Апигенин-7-гликозид	5,54	433,16 271,10	[M+H] <sup>+</sup> [M – глюкоза + H] <sup>+</sup>	268, 336	0,10
22	Гликозид кемпферола	5,79	507,36 287,09	[M+H] <sup>+</sup> [M – гликозид + H] <sup>+</sup>	196, 208 плечо, 264, 344	1,06
23	Кемпферол-3-рамнозид	6,09	433,15 287,09	[M+H] <sup>+</sup> [M – рамноза + H] <sup>+</sup>	266, 348	0,15
24	Флавоновый гликозид	6,47	601,17 299,11	[M+H] <sup>+</sup> [M – гликозид + H] <sup>+</sup>	208, 255, 266, 290 плечо, 352	0,20
25	Флавоновый гликозид	6,66	601,17 299,11	[M+H] <sup>+</sup> [M – гликозид + H] <sup>+</sup>	208, 255, 266, 290 плечо, 352	0,14
26	Лютеолин	7,38	287,09	[M+H] <sup>+</sup>	208, 254, 266, 348	0,17
27	Флаван	7,82	317,10	[M+H] <sup>+</sup>	204, 248, 268 плечо, 358	0,03
Сумма флавоноидов						12,05

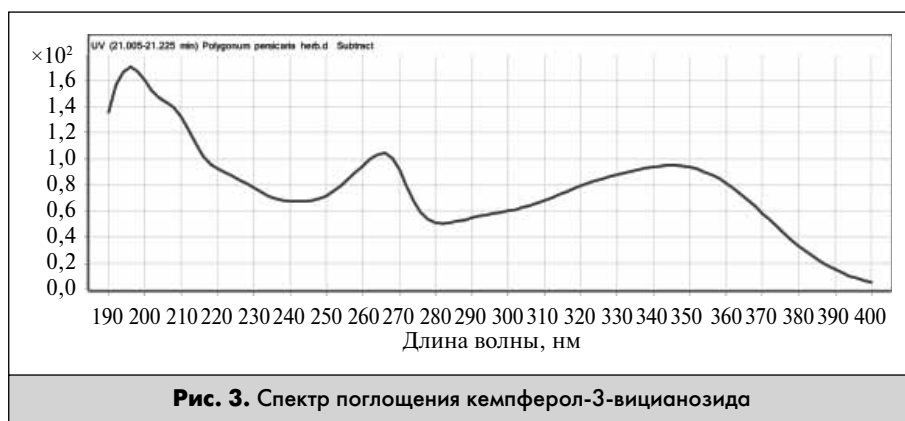
Спектры поглощения отдельных флавоноидов изображены на рис. 3.

Производные флавонолов представлены, в основном, гликозидами кверцетина и кемпферола. Среди идентифицированных флавонол-гликозидов преобладали 3-вицианозиды кемпферола (см. рис. 3) и кверцетина (8,0 и 12,8% от суммы флавоноидов со-

ответственно). В меньших количествах в траве горца почечуйного содержались 3-рутинозиды, 3-галактозиды, 3-гликозиды, 3-рамнозиды кверцетина и кемпферола, а также 3-вицианозид мирицетина. Производные кверцетина и кемпферола с m/z 617, 609 и 507, по-видимому, являются гликозидами, этерифицированными нетипичными алифатическими или гидроксибензойными кислотами.

Флавоны горца почечуйного включают как С-, так и О-гликозиды апигенина, лютеолина, преобладают производные, полигидроксилированные по кольцу В, – 2,71 мг/г. В качестве минорных соединений идентифицированы апигенин-7-гликозид и лютеолин.

Общее содержание флавоноидов в траве горца почечуйного было относительно высоким – 12,05 мг/г.



## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Согласно ТСХ-анализу, в основном зоны веществ флавоноидной природы выявлены в водно-спиртовых извлечениях. При использовании в качестве экстрагента гептана характерных для флавоноидов зон не наблюдалось. С помощью метода ВЭЖХ-УФ/МС изучен профиль флавоноидов травы горца почечуйного, состоящий из 27 соединений. Идентифицированы 16 веществ: мирицетин-3-вицианозид, апигенин (С-гликозид), лютеолин (С-гликозид), кверцетин-3-вицианозид, рутин, кемпферол-3-вицианозид, гиперозид, кемпферол-3-рамнозид-7-глюкозид, изокверцитрин, кемпферол-3-рутинозид, кемпферол-3-галактозид, кемпферол-3-глюкозид, лютеолин, кверцитрин, апигенин-7-глюкозид, кемпферол-3-рамнозид. Общее содержание флавоноидов в траве горца почечуйного составило 12,05 мг/г.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Дикорастущие лекарственные растения России: сбор, сушка, подготовка сырья (сборник инструкций). М.: ВИЛАР, 2015; 344.
2. Киселева Т.А., Смирнова Ю.А. Лекарственные растения в мировой медицинской практике: государственное регулирование

номенклатуры и качества М.: Изд. проф. ассоциации натуротерапевтов, 2009; 295.

3. Растительные ресурсы СССР. Цветковые растения и их химический состав, использование. Семейства *Magnoliaceae* – *Limoniaceae*. Под ред. А.А. Федорова. Л.: Наука, 1985; 460.
4. Высочина Г.Н. Фенольные соединения в систематике и филогении семейства гречишные. Дисс. докт. биол. наук. Новосибирск, 2002; 410.
5. Абдыкаликова К.А., Исламбекова А.Т. Фитохимическая оценка различных видов *Polygonum*. Биологическое разнообразие азиатских степей. Материалы II Международной конференции, 5–6 июня 2012 г. Костанай, 2012; 174–7.
6. Куркина А.В. Стандартизация сырья горца почечуйного (*Polygonum persicaria* L.). Фундаментальные исследования, 2013; 10: 1485–9.
7. Чистякова А.С., Сорокина А.А., Мальцева А.А. и др. Фитохимический анализ травы горца почечуйного. Сеченовский вестник, 2014; 1(15): 113–4.
8. Chomenka J. Flavonoidų ir fenolinių junginių kiekio bei antioksidantinio aktyvumo įvairavimo *Polygonum persicaria* L. žolėje tyrimas: Magistro baigiamasis darbas. Kaunas, 2015; 46.
9. Мальцева А.А., Тринеева О.В., Чистякова А.С. и др. Тонкослойная хроматография в анализе флавоноидов растительных объектов. Фармация, 2013; 1: 13–6.
10. Жогова А.А., Перова И.Б., Самылина И.А. и др. Идентификация и количественное определение основных биологически активных веществ травы пустырника с помощью ВЭЖХ-масс-спектрометрии. Химико-фармацевтический журнал, 2014; 48 (7): 54–9.

Поступила 6 октября 2016 г.

FLAVONOIDS OF LADY'S THUMB (*POLYGONUM PERSICARIA*) HERB

I.B. Perova<sup>1</sup>, PhD; Professor K.I. Eller<sup>1</sup>, PhD; A.A. Maltseva<sup>2</sup>, PhD; A.S. Chistyakova<sup>2</sup>; Professor A.I. Slivkin<sup>2</sup>, PhD; Professor A.A. Sorokina<sup>3</sup>, PhD

<sup>1</sup>Federal Research Institute of Nutrition, Biotechnology, and Food Safety; 2/14, Ustyinsky Proezd, Moscow 109240, Russian Federation;

<sup>2</sup>Voronezh State University; 1, Universitetskaya Sq. Voronezh 394006, Russian Federation;

<sup>3</sup>I.M. Sechenov First Moscow State Medical University; 8, Trubetskaya St., Build. 2, Moscow 119991, Russian Federation

## SUMMARY

**Introduction.** Lady's thumb (*Polygonum persicaria*) is widely distributed in Central Russia. The plant is rich in biologically active substances and has long been used in medical practice. The data available in the literary on the composition of flavonoids in the lady's thumb herb are often contradictory.

**Objective:** to investigate the profile of flavonoids in the lady's thumb herb harvested in the Voronezh Region.

**Material and methods.** The investigation object was lady's thumb herb grown in the Voronezh Region. Preliminary studies were performed by thin-layer chromatography (TLC). The composition and content of flavonoids were determined by high performance liquid chromatography (HPLC) with UV diode array and time-of-flight mass spectrometric detection (HPLC-UV/MS) using an Agilent 1100 system.

**Results.** The areas of flavonoid substances were observed mainly in the aqueous-alcohol extracts. These were not seen in the heptanoic extracts characteristic of flavonoids. The lady's thumb was ascertained to contain 27 derivatives of flavonols and flavones. Sixteen compounds were identified. The total content of flavonoids in the lady's thumb herb amounted to 12.05 mg/g.

**Conclusion.** A profile of lady's thumb flavonoids was established, which included O- and C-glycosides of kaempferol, quercetin, apigenin, and luteolin.

**Key words:** lady's thumb, *Polygonum persicaria* L., herb, flavonoids, thin-layer chromatography, high-performance liquid chromatography - mass spectrometry.

## REFERENCES

1. Wild medicinal plants: collection, drying, preparation of raw materials (collection of instructions). Moscow: VILAR, 2015; 344 (in Russian).
2. Kiseleva T.A., Smirnova Yu.A. Medicinal plants in world medicine practice: national regulation of nomenclature and quality. Moscow: Publishing house Professional Association of Naturotherapists, 2009; 295 (in Russian).
3. Plant resources of the USSR. Flowering plants and their chemical composition and use. Family *Magnoliaceae* – *Limoniaceae*. (ed. By A. A. Fedorova). Leningrad: Nauka, 1985; 460 (in Russian).
4. Vysochina G.N. Phenolic compounds in the taxonomy and phylogeny of the family Polygonaceae. Dis. ... d-ra Biol. Sciences. Novosibirsk, 2002; 410 (in Russian).
5. Abdylalikova K.A., Islambekova A.T. Phytochemical evaluation of various species of *Polygonum*. The biological diversity of Asian steppes. Proceedings of the II international conference, June 5-6, 2012 Kostanay, 2012; 174–7 (in Russian).
6. Kurkina A.V. Standardization of raw materials *Polygonum persicaria* L. Fundamental' nye issledovaniya, 2013; 10: 1485–9 (in Russian).
7. Chistyakova A.S., Sorokina A.A., Maltseva A.A. et al. Fitohimicheskij analysis of *Polygonum persicaria*. Sechenovskiy vestnik, 2014; 1(15): 113–4 (in Russian).
8. Chomenka J. Flavonoidų ir fenolinių junginių kiekio bei antioksidantinio aktyvumo įvairavimo *Polygonum persicaria* L. žolėje tyrimas: Magistro baigiamasis darbas. Kaunas, 2015; 46.
9. Maltseva A.A., Trineeva O.V., Chistyakova A.S. et al. Thin-layer chromatography in the analysis of plant flavonoid objects. Farmatsiya, 2013; 1: 13–6 (in Russian).
10. Zhogova A.A., Perova I.B., Samylyna I.A. и др. Identification and quantitative determination of the main biologically active substances of motherwort herb with HPLC-mass spectrometry. Himiko-farmaceuticheskiy zhurnal, 2014; 48 (7): 54–59 (in Russian).