

*На правах рукописи*



КАЩЕНКО НИНА ИГОРЕВНА

**ФЕНОЛЬНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ РАСТЕНИЙ БАЙКАЛЬСКОГО  
РЕГИОНА: СОСТАВ, СТРУКТУРА, БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА**

3.4.2 – фармацевтическая химия, фармакогнозия

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
доктора фармацевтических наук

Улан-Удэ – 2023

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки «Институт общей и экспериментальной биологии» Сибирского отделения Российской академии наук

**Научный консультант:**

**Оленников Даниил Николаевич** – доктор фармацевтических наук

**Официальные оппоненты:**

**Куркин Владимир Александрович** – доктор фармацевтических наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ / кафедра фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии, заведующий

**Дайронас Жанна Владимировна** – доктор фармацевтических наук, Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ / кафедра фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов, профессор

**Анцупова Татьяна Петровна** – доктор биологических наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Восточно-Сибирский государственный университет технологий и управления» Министерства науки и высшего образования РФ / кафедра неорганической и аналитической химии, профессор

**Ведущая организация:** Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»

Защита состоится «05» апреля 2024 г. в 14.00 часов на заседании диссертационного совета 99.0.045.03 при ФГБУН «Институт общей и экспериментальной биологии» СО РАН по адресу: 670047, г. Улан-Удэ, ул. Сахьяновой, 6.

С диссертацией можно ознакомиться в Центральной научной библиотеке Бурятского научного центра СО РАН и на сайте ИОЭБ СО РАН: <http://igeb.ru>

Автореферат разослан «21» декабря 2023 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета  
доктор биологических наук, доцент



В.Б. Хобракова

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы исследования.** Стратегия развития фармацевтической промышленности Российской Федерации определяет основные направления государственной политики в сфере развития фармацевтической промышленности РФ на период до 2030 года (Стратегия..., 2023). Ее целью является обеспечение на территории РФ производства качественных, эффективных и безопасных лекарственных средств, обладающих конкурентоспособностью на внутреннем и внешнем рынках, для удовлетворения потребности системы здравоохранения РФ и реализации экспортного потенциала фармацевтической промышленности. Биологически активные вещества растений являются важным источником лекарственных средств. Выявление растительных объектов для создания новых лекарственных средств является одним из направлений развития фармацевтической отрасли. В нашей стране потребность в лекарственном растительном сырье удовлетворяется за счет сбора дикорастущих и выращивания в культуре интродуцированных видов (Куркин и др., 2012; Чирикова, 2018).

Для решения проблемы поиска новых растительных объектов часто используется несколько принципов, в частности, принцип филогенетического родства (Полуденный и др., 1979). Известно, что растения, относящиеся к одному семейству, часто обладают однородным химическим составом и проявляют схожую биологическую активность. В связи с этим изучение растений, близких по свойствам к уже используемым в медицине, может выявить новые источники растительного сырья. Следующим принципом является поиск биологически активных веществ путем скрининга, в частности, при применении фитохимических и биологических методов. Данный способ позволяет выявить перспективные виды растений при их соответствии заданным параметрам. Кроме того, использование данных народной медицины может являться одним из основных методов изыскания новых лекарственных средств. Эмпирические сведения, накопленные многовековым народным опытом, являются надежной основой для поиска новых растительных препаратов. Этноботанические исследования находят применение во многих областях, позволяют сохранять биоразнообразие, а также учитывают информацию о местных видах, которые являются потенциальными источниками новых лекарственных средств для лечения заболеваний.

В последние годы наблюдается неуклонный рост социально-значимых заболеваний, таких как сахарный диабет (СД) и болезнь Альцгеймера (БА) (Пузин и др., 2013; Moheet et al., 2015; Caberlotto et al., 2019). Для осуществления поиска потенциальных препаратов для лечения указанных заболеваний Всемирная организация здравоохранения предложила создание лекарственных средств на растительной основе, поскольку они часто считаются менее токсичными и имеют минимальное число побочных эффектов (WHO, 2013). Лекарственные средства растительного

происхождения, применяемые в различных медицинских системах, могут корректировать метаболические показатели и отодвигать развитие диабетических и когнитивных нарушений. Анализируя сведения последних научных работ по данному направлению, можно отметить, что особый интерес у исследователей вызывают соединения фенольной природы. В настоящее время фенольные соединения считаются важным источником препаратов для лечения СД и БА (McDougall et al., 2005; Hamaguchi et al., 2009; Khan et al., 2018) из-за их хорошо известной антиоксидантной активности и низкой токсичности (Uriarte-Pueyo et al., 2011; Khaled-Khodja, 2014; Oszmiański et al., 2015; Huang et al., 2022). Известными концентраторами фенольных соединений являются растения семейств *Rosaceae*, *Asteraceae* и *Lamiaceae*, широко распространенные в Байкальском регионе (Малышев, 1997).

Байкальский регион занимает около 320000 кв. км и в последние десятилетия привлекает к себе внимание фитохимиков, биологов, экологов и других специалистов. Уникальное флористическое разнообразие Байкальского региона, наличие на его территории зарослей лекарственных растений и их широкие адаптационные возможности определяют тенденцию к использованию растительных ресурсов в качестве потенциального источника растительного сырья. Таким образом, существует необходимость осуществления фитохимического исследования растительных объектов Байкальского региона для поиска перспективного лекарственного растительного сырья.

**Степень разработанности проблемы.** Анализ данных литературы показал, что существует множество исследований, доказывающих эффективность растительных объектов семейства *Rosaceae* при лечении СД (Weli et al., 2020; Bahrami et al., 2021). В частности, известно о противодиабетической активности видов *Agrimonia pilosa* Ledeb. (Jang et al., 2017), *Comarum palustre* L. (Макаров, 1974), *Geum urbanum* L. (Günther et al., 2021), *Sibbaldianthe bifurca* (L.) Kurtto & T.Erikss. (Wang et al., 2022). Во многих случаях научные исследования подтвердили антидиабетическую природу лекарственных средств на растительной основе, а биоактивные компоненты были выделены и охарактеризованы (Ruggerio-Escalona et al., 2018; Radwan et al., 2020; Moreno et al., 2022). Среди множества растительных средств для лечения когнитивных нарушений эффективны лекарственные препараты из растений семейств *Asteraceae* и *Lamiaceae*, которые длительное время использовались из-за их благотворного воздействия на расстройства памяти (Mekinić et al., 2013; Torcu et al., 2014; Татарина, 2017; Разуваева и др., 2018), а также положительного терапевтического эффекта при церебральной гипоксии и аноксии (Amirzargar et al., 2020; Pineda-Ramírez et al., 2020). Так, при анализе данных литературы по биологической активности *Calendula officinalis* L. и *Leuzea uniflora* (L.) Holub был отмечен большой массив работ, посвященный лечению когнитивных нарушений (Zou et al., 2003; Ercetin et al., 2012; Shivasharan et al., 2013). Кроме того, имеются сведения об использовании *Matricaria chamomilla* L. для лечения

нейродегенеративных заболеваний, включая БА (Asgharzade et al, 2015). Существующие данные по фенольным соединениям указанных объектов требуют дополнительных исследований. Таким образом, проблема поиска эффективных и безопасных лекарственных растительных средств для лечения СД и БА является одной из наиболее изучаемых в областях биоорганической и биомедицинской химии. Неугасающий интерес к средствам для лечения и профилактики метаболических и когнитивных нарушений инициировал развернутые экспериментальные исследования фенольных метаболитов растений Байкальского региона, как потенциальных источников лекарственного растительного сырья.

**Цель и задачи.** Целью работы является химико-аналитическое исследование фенольных соединений растений Байкальского региона, а также некоторых видов, выращенных в условиях культуры.

**Для решения поставленной цели были обозначены следующие задачи:**

- осуществить скрининговые исследования на предмет антиацетилхолинэстеразной и анти- $\alpha$ -глюкозидазной активности экстрактов растений семейств *Rosaceae*, *Asteraceae*, *Lamiaceae*, произрастающих в Байкальском регионе;

- определить состав фенольных соединений некоторых видов растений, встречающихся в Байкальском регионе, а также осуществить фитохимическое исследование отдельных растительных объектов, выращенных в условиях культуры в Байкальском регионе;

- установить строение новых природных фенольных соединений в растениях, произрастающих в Байкальском регионе, и определить их активность в отношении ингибирования активности ферментов  $\alpha$ -глюкозидазы и ацетилхолинэстеразы;

- разработать методики анализа фенольных соединений в некоторых растениях Байкальского региона с использованием методов ВЭЖХ-УФ и ВЭЖХ-МС;

- изучить микробную трансформацию эллаготаннинов и разработать способ получения уролитина D, обладающего гипогликемическим действием;

- разработать проекты ФСП на “Календулы лекарственной цветки” и “Календулы лекарственной трава”.

**Научная новизна.** Проведены скрининговые исследования на предмет антиацетилхолинэстеразной и анти- $\alpha$ -глюкозидазной активности экстрактов лекарственных растений семейств *Rosaceae* (85 видов), *Asteraceae* (96 видов) и *Lamiaceae* (33 вида), произрастающих и выращенных в условиях культуры в Байкальском регионе. Определены перспективные виды растений для дальнейшего химического изучения, в результате чего было осуществлено исследование состава фенольных соединений растений из семейств *Rosaceae* (6 видов), *Asteraceae* (3 вида), и *Lamiaceae* (4 вида). С использованием комплекса хроматографических методов было выделено более 400 компонентов, в том числе 19 новых природных соединений, строение

которых установлено с помощью УФ-, ИК-, ЯМР-спектроскопии и МС-спектрометрии. К новым соединениям были отнесены 19 фенольных соединений, в том числе кверцетин 3-*O*-(4"- $\alpha$ -L-рамнопиранозил)- $\beta$ -D-глюкопиранозид (календозид I), кверцетин 3-*O*-(3"- $\alpha$ -L-рамнопиранозил)- $\beta$ -D-глюкопиранозид (календозид II), изорамнетин 3-*O*-(4"- $\alpha$ -L-рамнопиранозил)- $\beta$ -D-глюкопиранозид (календозид III), изорамнетин 3-*O*-(3"- $\alpha$ -L-рамнопиранозил)- $\beta$ -D-глюкопиранозид (календозид IV), 1,5-ди-*O*-изоферулоилхинная кислота, эскулетин-7-*O*-неогесперидозид (неоизобайссезид) из *Calendula officinalis* (*Asteraceae*), апигенин-7-*O*-(4"-малонил)- $\beta$ -D-глюкопиранозид, апигенин-7-*O*-(4"-малонил-6"-ацетил)- $\beta$ -D-глюкопиранозид из *Matricaria chamomilla* (*Asteraceae*), 6-гидроксилютеолин-7-*O*-(2'-*O*-кофеил)- $\beta$ -D-глюкопиранозид (раунозид А), 6-гидроксилютеолин-7-*O*-(6"-*O*-цинамоил)- $\beta$ -D-глюкопиранозид (раунозид В), 6-гидроксилютеолин-4'-*O*- $\beta$ -D-глюкопиранозид (раунозид С), непетин-7-*O*-(6"-*O*-кофеил)- $\beta$ -D-глюкопиранозид (раунозид D), непетин-7-*O*-(6"-*O*-цинамоил)- $\beta$ -D-глюкопиранозид (раунозид E), непетин-3'-*O*- $\beta$ -D-глюкопиранозид (раунозид F), лютеолин-7-*O*-(2"-*O*-кофеил)- $\beta$ -D-глюкопиранозид (раунозид G) из *Leuzea uniflora* (*Asteraceae*), кверцетин-3-*O*-[6"-(4"-гидрокси-2"-метиленбутироил)]- $\beta$ -D-глюкопиранозид (спиреасалицин) из *Spiraea salicifolia* (*Rosaceae*), лютеолин-7-*O*-(3",6"-ди-*O*-ацетил)- $\beta$ -D-глюкопиранозид, розмариновой кислоты 3'-*O*-метиловый эфир 4'-*O*- $\beta$ -D-глюкопиранозид (непетамултин D), 3,3'-ди-*O*-метиловый эфир 4'-*O*- $\beta$ -D-глюкопиранозид (непетамултин С) из *Nepeta multifida* (*Lamiaceae*). В результате изучения микробной трансформации хебулаговой и хебулиновой кислот было доказано образование уролитинов – производных дибензо[b,d]пиран-6-она. Разработаны и валидированы новые методики анализа фенольных соединений с применением высокоэффективных методов, изучено орган-специфическое распределение исследуемых соединений в растительных объектах.

**Теоретическая и практическая значимость работы.** Результаты проведенных скрининговых, фитохимических и биологических исследований растительных объектов Байкальского региона, а также видов, выращенных в условиях культуры, дают перспективу внедрения в официальную медицину изученных видов растений, что значительно расширит список фармакопейного ЛРС. Показана перспективность разработки потенциальных растительных средств для борьбы с СД и БА. В результате выполненных исследований разработаны новые методики качественного и количественного анализа 13 видов растений с применением методов высокоэффективной жидкостной хроматографии с ультрафиолетовым и масс-спектрометрическим детектированием, которые используются в учебном процессе биологического отделения Института естественных наук ФГАОУ ВО «Северо-Восточный федеральный университет имени М.К. Аммосова». Разработаны проекты ФСП на «Календулы лекарственной цветки», «Календулы лекарственной трава», «Малины Мацумуры листья», «Котовника многонадрезанного трава». Полученные результаты используются в качестве информационных ресурсов

в работе лаборатории трансмиссивных инфекций ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» и ООО МИП «Арура». Материалы диссертации и проекты Фармакопейных статей предприятия на «Календулы лекарственной цветки» и «Календулы лекарственной трава» используются в работе ГАУЗ «Республиканский клинический лечебно-реабилитационный центр «Центр восточной медицины» в качестве информационных материалов (справка Министерства здравоохранения Республики Бурятия). По результатам проведенных исследований разработан и предложен способ получения гипогликемического средства, на которое получен патент РФ (патент № 2712023 от 24.01.2020 г.).

**Методология и методы исследования.** Методология исследования заключалась в разработке универсальных физико-химических методик анализа природных биологически активных соединений, которые могут быть применены в сквозной стандартизации ЛРС и препаратов с учетом метаболома лекарственных растений, их обобщении в алгоритм выбора методики анализа и параметра стандартизации. При выполнении работы были использованы методы сравнительного анализа, комплекс физико-химических методов, методов препаративного и аналитического выделения соединений, математические методы анализа и обработки результатов.

**На защиту выносятся:**

- теоретическое обоснование и результаты скрининговых исследований в отношении ингибирования активности ферментов ацетилхолинэстеразы и  $\alpha$ -глюкозидазы экстрактами растений семейств *Rosaceae*, *Asteraceae*, *Lamiaceae*, произрастающих в Байкальском регионе, для поиска перспективного ЛРС;

- исследование химического состава различных видов растений семейств *Rosaceae*, *Asteraceae*, *Lamiaceae* Байкальского региона и некоторых видов, выращенных в условиях культуры;

- изучение строения новых фенольных соединений, методы их выделения, идентификации и определение их антиглюкозидазной и антиацетилхолинэстеразной активности;

- разработка методов хроматографического анализа фенольных соединений в некоторых растениях;

- изучение микробной трансформации эллаготаннинов и разработка способа получения уrolитина D, обладающего гипогликемическим действием;

- разработка ФСП «Календулы лекарственной цветки» и «Календулы лекарственной трава».

**Степень достоверности результатов.** Научные положения, выводы диссертационной работы основываются на большом объеме экспериментального материала, полученного с использованием современных химических, физико-химических методов анализа. При выполнении экспериментальной части работы использовано современное сертифицированное оборудование, прошедшее поверку. Все результаты работы обработаны статистически в соответствии с требованиями ГФ СССР

XI издания (эксперименты, выполненные до 2015 года), Государственной фармакопеи РФ XIII издания (эксперименты 2015-2018 гг.), Государственной фармакопеи РФ XIV издания (эксперименты после 2018 г.), а также с помощью программы «Microsoft Excel». Различия между группами считались статистически значимыми при  $p < 0.05$ . Достоверность подтверждена многократным повторением экспериментов, валидационной оценкой разработанных методик, статистической обработкой полученных данных.

**Апробация результатов исследования. Основные положения диссертационной работы представлены на:** V Всероссийской конференции с международным участием «Новые достижения в химии и химической технологии растительного сырья» (Барнаул, 2012), VI Международной научной конференции «Traditional Medicine: Ways of Integration with Modern Health Care» (Улан-Удэ, 2013), VIII Всероссийской научной конференции «Химия и технология растительных веществ» (Калининград, 2013), X Международном симпозиуме «Chemistry of Natural Compounds» (Бухара, 2013), II Байкальском международном симпозиуме «Традиционная медицина и реабилитация» (Улан-Удэ, 2016), III научно-практической международной конференции «Перспективы фитобиотехнологии для улучшения жизни на севере» (Якутск, 2018), Международной научной конференции «Перспективы лекарственного растениеводства» (Москва, 2018), VII Международной научно-практической конференции «Биотехнология: Наука и практика» (Севастополь, 2019), IX Международной научно-практической конференции «Традиционная медицина: Пути консолидации с современным здравоохранением» (Улан-Удэ, 2019), XIV Международном симпозиуме «Chemistry of Natural Compounds» (Ташкент, 2021), II Региональной научной конференции «Трансляционные исследования биомедицинских технологий» (Иркутск, 2022).

**Публикации.** По результатам диссертационной работы опубликовано 45 научных работ, в том числе 35 статей в журналах перечня ВАК Министерства науки и высшего образования РФ и 1 патент РФ на изобретение.

**Личный вклад автора.** Автор лично осуществлял выбор объектов исследования, научного направления, им поставлены цели и задачи работы. Автором проведен анализ научной литературы, выполнена экспериментальная часть исследования. В анализе и обобщении полученных результатов доля автора является определяющей.

**Связь темы исследований с планом научных работ.** Диссертационная работа выполнена в соответствии с программой и планом научно-исследовательских работ Института общей и экспериментальной биологии СО РАН (Проекты РФФИ № 18-33-00414 на тему: «Гипогликемические свойства уролитинов, кишечных метаболитов эллаготаннинов, и их синтетических производных: Влияние на активность пищеварительных ферментов и продукцию конечных продуктов гликирования», № 16-43-030857 на тему: «Фенольные ингибиторы реакции Майларда и некоторых пищеварительных ферментов (амилаза, альфа-глюкозидаза) природного



происхождения как модельные соединения для создания антидиабетических лекарственных средств», № 12-03-31547 «Структурно-функциональное исследование низкомолекулярных фенольных соединений растительного происхождения как перспективных ацетилхолинэстеразных агентов», Проект ЦНМТ СО РАН № 25.10. на тему: «Структурно-функциональное исследование низкомолекулярных фенольных соединений как антитирозиновых агентов», Проект СО РАН № VI.62.1.8 на тему: «Создание лекарственных средств системного действия на основе Тибетской медицины», Проект СО РАН № VI.52.1.3. на тему: «Молекулярно клеточные механизмы стресс-индуцированных патологических состояний и коррекция их средствами природного происхождения»).

**Соответствие диссертации паспорту научной специальности.** Диссертационная работа соответствует паспорту специальности «3.4.2-фармацевтическая химия, фармакогнозия». Результаты проведенных экспериментов соответствуют области исследований специальности, конкретно пунктам 3, 5, 6, 7 паспорта специальности «3.4.2 - фармацевтическая химия, фармакогнозия».

**Объем и структура диссертации.** Диссертационная работа изложена на 346 страницах (с приложениями) печатного текста и состоит из введения, 6 глав экспериментальных исследований, описания объектов и методов исследования, заключения, списка сокращений, списков рисунков и таблиц, списка литературы, включающего 378 источников, из которых 353 – на иностранном языке. Работа иллюстрирована 41 рисунком, 45 таблицами и содержит 11 приложений.

## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

### 1. Объекты исследований

Объектами исследования являлись растения из семейств: *Rosaceae* (85 видов), *Asteraceae* (96 видов), *Lamiaceae* (33 вида), произрастающие и выращенные в условиях культуры в Байкальском регионе. Образцы заготовлены в фазу цветения, в период с 2013 по 2022 гг. на территории Республики Бурятия, Иркутской области и Забайкальского края.

### 2. Скрининговые исследования в отношении ингибирования ферментов ацетилхолинэстеразы и $\alpha$ -глюкозидазы растений Байкальского региона

В результате скрининговых исследований в отношении ингибирования ферментов экстрактами растений семейства *Rosaceae*, произрастающих в Байкальском регионе, были выявлены виды с максимальной ингибирующей активностью в отношении  $\alpha$ -глюкозидазы ( $IC_{50}^1$ ): *Agrimonia eupatoria* subsp. *asiatica* (Juz.) Skalický ( $IC_{50}^1$  20.29 мкг/мл), *Geum aleppicum* Jacq. ( $IC_{50}^1$  29.31 мкг/мл), *Sibbaldianthe bifurca* ( $IC_{50}^1$  31.16 мкг/мл), *Rubus matsumuranus* H.Lév. & Vaniot ( $IC_{50}^1$  32.01 мкг/мл), *Comarum palustre* ( $IC_{50}^1$  32.29 мкг/мл) и *Spiraea salicifolia* L. ( $IC_{50}^1$  33.41 мкг/мл). На основании полученных данных нами

было принято решение о дальнейшем углубленном изучении фенолома указанных объектов.

Для выявления растительных объектов с потенциальной антиацетилхолинэстеразной и антигликозидазной активностями нами был произведен скрининг растительных объектов семейства *Asteraceae*, произрастающих в Байкальском регионе. Также были проанализированы виды растений, относящиеся к числу многотоннажного культивируемого сырья семейства *Asteraceae* – *Calendula officinalis* и *Matricaria chamomilla*, выращенных в условиях культуры в Байкальском регионе. Согласно полученным результатам, наиболее выраженными свойствами в отношении ингибирования ферментов  $\alpha$ -гликозидазы ( $IC_{50}^1$ ) и ацетилхолинэстеразы ( $IC_{50}^2$ ) обладали экстракты *Calendula officinalis* ( $IC_{50}^1$  65.40 мкг/мл,  $IC_{50}^2$  74.20 мкг/мл), *Leuzea uniflora* ( $IC_{50}^1$  78.12 мкг/мл,  $IC_{50}^2$  80.13 мкг/мл) и *Matricaria chamomilla* ( $IC_{50}^1$  80.27 мкг/мл,  $IC_{50}^2$  91.67 мкг/мл), фенольные соединения которых и были подвергнуты дальнейшему исследованию.

Согласно результатам скрининга дикорастущих и культивируемых видов семейства *Lamiaceae*, наиболее выраженными свойствами в отношении ингибирования ферментов  $\alpha$ -гликозидазы и ацетилхолинэстеразы обладали экстракты *Nepeta multifida* L. ( $IC_{50}^1$  69.33 мкг/мл,  $IC_{50}^2$  74.37 мкг/мл), *Dracocephalum austriacum* L. ( $IC_{50}^1$  72.16 мкг/мл,  $IC_{50}^2$  85.19 мкг/мл), *D. botryoides* Steven ( $IC_{50}^1$  78.61 мкг/мл,  $IC_{50}^2$  89.33 мкг/мл) и *Nepeta cataria* L. ( $IC_{50}^1$  83.26 мкг/мл,  $IC_{50}^2$  90.26 мкг/мл). На основании данных скрининга нами было принято решение о дальнейшем углубленном изучении фенолома следующих растительных объектов: *N. multifida*, *N. cataria*, *D. austriacum* и *D. botryoides*.

### 3. Фенольные соединения видов семейства *Rosaceae*

Использование метода обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии с фотодиодной матрицей и тройной квадрупольной масс-спектрометрической детекцией с ионизацией электрораспылением позволило впервые осуществить хроматографическое профилирование *Agrimonia eupatoria* subsp. *asiatica*, *Geum aleppicum*, *Sibbaldianthe bifurca*, *Rubus matsumuranus*, *Comarum palustre*, в результате чего было идентифицировано более 200 соединений, в том числе катехины, флавоноиды, эллаготаннины, галлотанины, процианидины, гидроксициннаматы (табл. 1).

Таблица 1 – Идентифицированные соединения в исследуемых видах семейства *Rosaceae*

Вид	Обнаружено соединений: группы соединений (количество)	Описание
<i>Agrimonia eupatoria</i> subsp. <i>asiatica</i>	60: катехины (4), эллаготаннины (18), флавоноиды (20), галлотанины (4), гидроксициннаматы (4), процианидины (5), углеводы (1), разные группы (4)	10.3390/foods9101348
<i>Geum aleppicum</i>	29: эллаготаннины (3), производные эллаговой кислоты (4), флавоноиды (6), тритерпены (6), углеводы (2), разные группы (8)	10.3390/metabo13060689
<i>Sibbaldianthe bifurca</i>	41: гексозиды галловой кислоты (13), эллаготаннины (13), производные эллаговой кислоты (1), флавоноиды (6), углеводы (2), разные группы (6)	10.3390/metabo13060689
<i>Rubus matsumuranus</i>	63: гликозиды галловой кислоты (6), гидроксициннаматы (6), флавоноиды (21), эллаготаннины (12), гликозиды эллаговой кислоты (9), процианидины (2), катехины (4), разные группы (3)	10.3390/plants10112317
<i>Comarum palustre</i>	15: процианидин (1), катехин (1), эллаготаннины (4), флавоноиды (6), разные группы (3)	10.3390/molecules22010073

Для исследованных объектов были разработаны методики количественного анализа фенольных соединений. В результате хроматографического разделения этилацетатной фракции экстракта листьев *Spiraea salicifolia* было выделено 18 соединений, в том числе 15 впервые для вида (рис. 1). Из цветущих побегов *S. salicifolia* было выделено 37 соединений, в том числе новый флавоноид **1**.

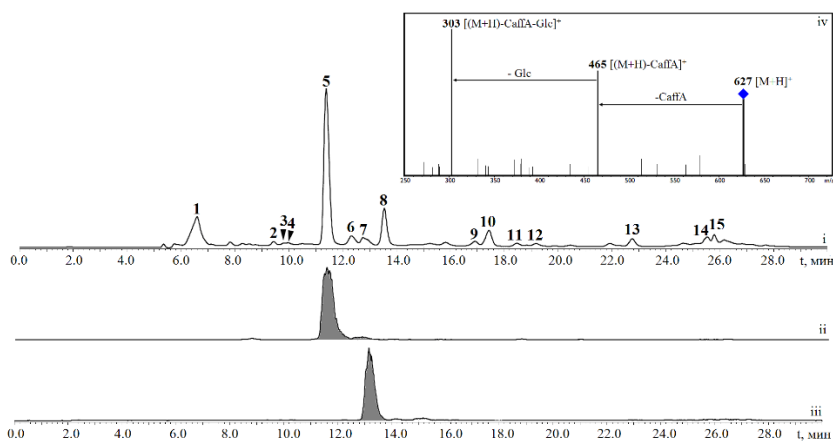


Рисунок 1 – Хроматограмма (ВЭЖХ-ДМД-ИЭР-МС) фракции S-3 из листьев *S. salicifolia* (i) при длине волны 360 нм и в режиме SIM для положительных ионов с  $m/z$  627 (ii) и 611 (iii). На iv – масс-спектр (ESI, положительный режим) 6''-О-кофеил-гиперозида (5). Сокращения: CaffA – кофейная кислота, Glc – глюкоза. Числами обозначено положение соединений: **1** – 3-О-кофеилхинная кислота, **2** – гиперозид, **3** – трифоллин, **4** –

изокверцитрин, **5** – 6''-О-кофеил-гиперозид, **6** – 6''-О-кофеил-изокверцитрин, **7** – 6''-О-кофеил-астрагалин, **8** – 1-О-*n*-гидроксibenзоил-6-*O*-*n*-кумароил-Glc, **9** – 3,4,5-три-*O*-кофеилхинная кислота, **10** – изорамнетин-3-*O*-Glc, **11** – тилирозид, **12** – изорамнетин-3-*O*-Rha, **13** – 1-*O*-*цис*-циннамоил-6-*O*-(2'-метилен-4'-гидрокси-бутироил)-Glc, **14** – 1-*O*-(4''-гидрокси-3''-метилфуран-2''-он)-6-*O*-*транс*-циннамоил-Glc, **15** – 1-*O*-(4''-гидрокси-3''-метилфуран-2''-он)-6-*O*-*цис*-циннамоил-Glc.

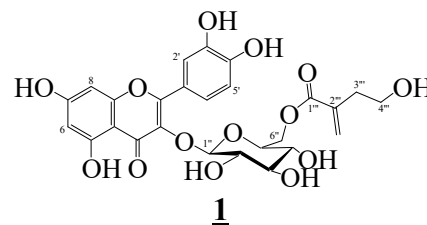
Соединению **1** согласно данным HR-ESI-МС соответствовала формула  $C_{26}H_{26}O_{14}$  {561.318 [M-H]<sup>-</sup>; расч. 561.480}. Основными продуктами кислотного гидролиза **1** были кверцетин и D-глюкоза. Характер УФ-спектра был типичен для гликозидов кверцетина, а в ИК-спектре соединения **1** присутствовали полосы этерифицированной ( $\nu_{\max}$  1710  $\text{cm}^{-1}$ ) и конъюгированной ( $\nu_{\max}$  1652  $\text{cm}^{-1}$ ) карбонильных групп. В спектре ESI-МС наблюдался квази-молекулярный ион с  $m/z$  561, соответствовавший депротонированной частице [M-H]<sup>-</sup>, а также ионы с  $m/z$  463 и 301, указывавшие на последовательное отщепление фрагмента A с  $m/z$  98 и глюкозы {[M-H-98-162]<sup>-</sup>}, соответственно. Согласно данным УФ с диагностическими добавками для **1** характерно наличие незамещенных гидроксильных групп при C-5, C-7, C-3' и C-4', таким образом фрагмент A являлся ацильным остатком, присутствующим в составе углеводного заместителя. Для определения природы ацильного остатка был осуществлен анализ продуктов щелочного гидролиза **1**, который показал присутствие соединения с молекулярной массой 116, идентифицированного на основании сведений ЯМР и МС как 4-гидрокси-2-метилен-масляная кислота.

Данные спектроскопии ЯМР <sup>1</sup>H и <sup>13</sup>C соединения **1** были близки к таковым для кверцетин-3-*O*-β-D-глюкопиранозида (изокверцитрина), за исключением присутствия дополнительных сигналов в спектре <sup>13</sup>C ЯМР от углерода этерифицированного карбоксила ( $\delta_c$  169.2), алкеновой пары углеродов -CH=CH- ( $\delta_c$  139.4, 129.5), углерода насыщенной связи -CH<sub>2</sub>- ( $\delta_c$  35.1) и углерода терминальной группы -CH<sub>2</sub>OH ( $\delta_c$  60.4) (табл. 2). Для спектра <sup>1</sup>H ЯМР также было характерно наличие двух дополнительных

сильнопольных сигналов, обусловленных протонами насыщенной группы – CH<sub>2</sub>–CH<sub>2</sub>– (δ<sub>H</sub> 2.43, 3.65), а также сигналов протонов винильной группы CH<sub>2</sub>= в слабом поле (δ<sub>H</sub> 5.68, 6.15).

Таблица 2 – Спектры ЯМР <sup>1</sup>H (500 МГц, MeOH-d<sub>4</sub>, δ<sub>H</sub>, м.д., J/Гц) и <sup>13</sup>C (125 Гц, MeOH-d<sub>4</sub>, δ<sub>C</sub>, м.д.) соединения **1**.

Атом С	δ <sub>H</sub>	δ <sub>C</sub>	Атом С	δ <sub>H</sub>	δ <sub>C</sub>
2		158.4	5'	6.91 (1H, д, J = 8.1)	116.0
3		135.4	6'	7.53 (1H, дд, J = 8.1, 2.0)	123.3
4		179.5	1''	5.10 (1H, д, J = 8.0)	101.6
5		161.3	2''	3.57 (1H, м)	76.1
6	6.19 (1H, д, J = 2.0)	100.2	3''	3.50 (1H, м)	78.7
7		165.4	4''	3.43 (1H, м)	71.8
8	6.30 (1H, д, J = 2.0)	95.0	5''	3.87 (1H, м)	75.2
9		157.8	6''	4.18 (1H, дд, J = 12.0, 6.1) 4.45 (1H, дд, J = 12.0, 2.1)	64.5
10		106.3	1'''		169.2
1'		122.0	2'''		139.4
2'	7.92 (1H, д, J = 2.0)	112.7	3'''	2.43 (2H, т, J = 7.1)	35.1
3'		145.3	4'''	3.65 (2H, т, J = 7.1)	60.4
4'		146.2	5'''	5.68 (1H, с), 6.15 (1H, с)	129.5



Наличие взаимных корреляций в спектре НМВС между сигналами неэквивалентных протонов Н-6'' глюкопиранозы (δ<sub>H</sub> 4.18, 4.45) с углеродом карбоксильной группы 4-гидрокси-2-метилена-масляной кислоты (δ<sub>C</sub> 169.2), а также слабопольный сдвиг сигнала С-6'' глюкопиранозы (δ<sub>C</sub> 64.5), свидетельствовали о присутствии замещения по положению С-6'' углеводного остатка. Таким образом, на основании проведенных исследований структура соединения **1** была определена как *кверцетин-3-О-[6''-(4'''-гидрокси-2'''-метилена-бутироил)]-β-D-глюкопиранозид*, которому дано название **спиреасалицин**.

**Спиреасалицин (1)**. C<sub>26</sub>H<sub>26</sub>O<sub>14</sub>. ESI-МС (*m/z*): 561.318 ([M–H]<sup>–</sup>; расч. 561.480). (–)ESI-МС (*m/z*): 561 [M–H]<sup>–</sup>, 463 [(M–H)–98]<sup>–</sup>, 302 [(M–H)–98–162]<sup>–</sup>. УФ-спектр (MeOH, λ<sub>max</sub>, нм): 256, 267 пл., 356; +AlCl<sub>3</sub> 276, 412; +AlCl<sub>3</sub>/HCl 270, 298, 401; +NaOAc 270, 323, 395; +NaOAc/H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> 261, 300, 391; +NaOMe 271, 331, 411. ИК-спектр (ν<sub>max</sub>, см<sup>–1</sup>): 3425, 1710, 1652, 1602.

#### 4. Эллаготаннины, их биодоступность и трансформация в уролитины

В результате изучения микробной трансформации двух представителей хебулоильных эллаготаннинов, хебулаговой и хебулиновой кислот, было доказано образование уролитинов – производных дибензо[b,d]пиран-6-она, причем наибольшим гипогликемическим действием обладал уролитин D (рис. 2).

Разработан способ получения уролитина D, обладающего гипогликемическим действием, путем смешивания 2-бром-4,5-диметоксибензойной кислоты с пирогаллолом в мольном соотношении 1: (3–4) и раствором гидроксида калия в воде в мольном соотношении 2-бром-4,5-диметоксибензойная кислота : гидроксид калия 1:2, нагревания, добавления 7% раствора сульфата меди, нагревания, фильтрования выпавшего осадка, его промывания и высушивания, добавления ледяной уксусной кислоты и

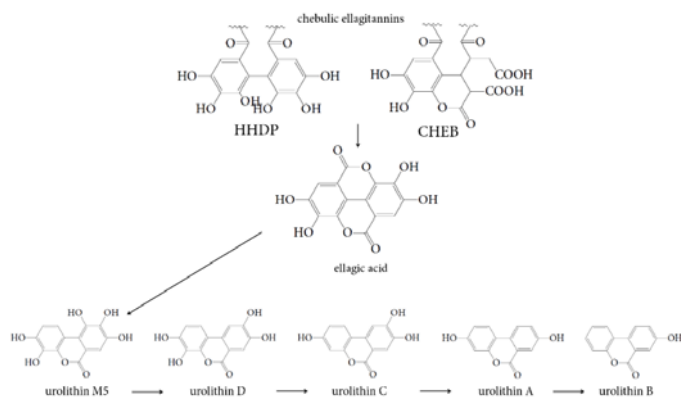


Рисунок 2 – Предполагаемый путь трансформации хебулоильных эллаготаннинов кишечной микробиотой. HHDP – гексагидродифеноильный фрагмент, CHEB – хебулоильный фрагмент.

бромоводородной кислоты, нагревания, фильтрования выпавшего осадка, его промывания и высушивания, растворения в этаноле в соотношении 1:2, фильтрования, охлаждения, смешивания с силикагелем в соотношении 1:2, нанесения на колонку с силикагелем в соотношении 1:40, элюирования смесями гексан : этилацетат 8:2, гексан : этилацетат 2:8, концентрирования в вакууме, растворения в этилацетате в соотношении 1:2, фильтрования, промывания этанолом и высушивания. Выход готового продукта 7.17-7.96 г, что составляет 78-82% от теоретического выхода. Предложенный метод имеет ряд преимуществ: повышенный выход целевого продукта, модификация условий синтеза, удешевление процесса очистки целевого продукта (рис.3).

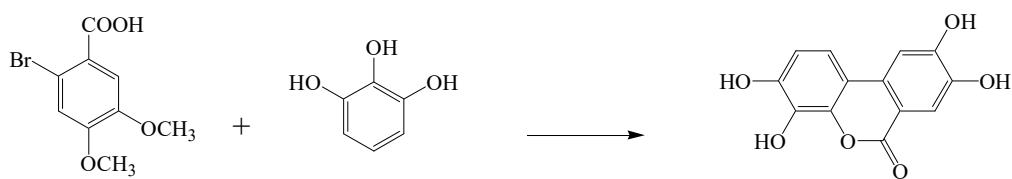


Рисунок 3 – Схема синтеза уролитина D.

## 5. Фенольные соединения видов семейства *Asteraceae*

Хроматографический анализ бутанольной фракции цветков *Calendula officinalis* с использованием метода ВЭЖХ-ДМД-ИЭР-МС показал присутствие соединений, дающих в (+)ESI-МС спектре квази-молекулярные ионы ( $[M+H]^+$ ) 611 и 625 а.е.м. Четыре соединения были идентифицированы по данным хроматографической подвижности, УФ и МС как известные кверцетин-3-*O*-неогесперидозид (календофлавобиозид), кверцетин-3-*O*-рутинозид (рутин), изорамнетин-3-*O*-неогесперидозид (календофлавозид) и изорамнетин-3-*O*-рутинозид (нарциссин). Присутствие данных компонентов было установлено ранее в *C. officinalis*. Характер фрагментации новых соединений **2–5** свидетельствовал о том, что **2** и **3** являлись гликозидами кверцетина (присутствие иона  $[Y_0]^+$  303 а.е.м. –  $[агликон+H-биоза]^+$ ), **4** и **5** – гликозидами изорамнетина ( $[Y_0]^+$  317 а.е.м.). Для проведения детальной идентификации соединений было проведено их выделение с применением колоночной хроматографии на полиамиде, Сефадексе LH-20 и преп. ВЭЖХ.

Соединению **2** согласно данным HR-ESI-MS соответствовала формула  $C_{27}H_{30}O_{16}$   $\{m/z$  633.418 ( $[M+Na]^+$ ; расч. 633.520) $\}$ . В продуктах полного кислотного гидролиза были обнаружены кверцетин, глюкоза и рамноза. Принадлежность моносахаридов к *D*- и *L*-ряду определяли после дериватизации гидролизата с 1-(триметилсилил)-имидазолом с последующей ГХ-МС, что показало на наличие в **2** остатков *D*-глюкозы и *L*-рамнозы. После метилирования соединения с последующим гидролизом перметилата и анализом продуктов распада в гидролизате были обнаружены 2,3,6-три-*O*-Me-Glcp и 2,3,4-три-*O*-Me-Rhap в соотношении 1:1. Полученные результаты свидетельствовали о терминальном положении рамнозы в биоиде и позволили охарактеризовать углеводную часть гликозида, как 4-*O*-рамнозил-глюкозу. Конфигурация аномерных центров глюкозы и рамнозы устанавливалась по данным  $^1H$ - и  $^{13}C$ -ЯМР (табл. 3, 4).

Таблица 3 – Спектры ЯМР  $^1H$  (500 МГц) соединений **2–5** (DMCO- $d_6$ ,  $\delta_H$ , м.д.,  $J/Гц$ ).

Атом H	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>
Агликон				
6	6.18 (1H, д, $J = 2.1$ )	6.14 (1H, д, $J = 2.1$ )	6.12 (1H, д, $J = 2.1$ )	6.09 (1H, д, $J = 2.1$ )
8	6.33 (1H, д, $J = 2.1$ )	6.31 (1H, д, $J = 2.1$ )	6.28 (1H, д, $J = 2.1$ )	6.25 (1H, д, $J = 2.1$ )
2'	7.90 (1H, д, $J = 2.1$ )	7.93 (1H, д, $J = 2.1$ )	7.85 (1H, д, $J = 2.1$ )	7.80 (1H, д, $J = 2.1$ )
5'	6.89 (1H, д, $J = 8.1$ )	6.91 (1H, д, $J = 8.1$ )	6.88 (1H, д, $J = 8.0$ )	6.83 (1H, д, $J = 8.0$ )
6'	7.54 (1H, дд, $J = 8.1, 2.1$ )	7.50 (1H, дд, $J = 8.1, 2.1$ )	7.49 (1H, дд, $J = 8.0, 2.1$ )	6.47 (1H, дд, $J = 8.0, 2.1$ )
3'-OCH <sub>3</sub>	-	-	3.85 (3H, с)	3.80 (3H, с)
$\beta$ -D-Глюкопираноза				
1''	4.63 (1H, д, $J = 8.1$ )	4.42 (1H, д, $J = 8.0$ )	4.57 (1H, д, $J = 8.0$ )	4.46 (1H, д, $J = 8.0$ )
2''	3.31 (1H, дд, $J = 4.3, 9.1$ )	3.07 (1H, дд, $J = 4.3, 9.1$ )	3.25 (1H, дд, $J = 4.3, 9.1$ )	3.14 (1H, дд, $J = 4.3, 9.0$ )
3''	3.90 (1H, дд, $J = 9.2, 8.0$ )	4.29 (1H, дд, $J = 9.1, 8.0$ )	3.92 (1H, дд, $J = 9.2, 8.0$ )	4.25 (1H, уш.д)
4''	5.04 (1H, м)	3.74 (1H, м)	4.99 (1H, уш.д)	3.82 (1H, м)
5''	3.17 (1H, уш.д)	3.02 (1H, уш.д)	3.18 (1H, уш.д)	3.08 (1H, уш.д)
6''-H <sub>B</sub>	3.87 (1H, м)	3.63 (1H, уш.д)	3.80 (1H, м)	3.70 (1H, уш.д)
6''-H <sub>A</sub>	3.65 (1H, уш.д)	3.41 (1H, дд, $J = 12.2, 4.6$ )	3.60 (1H, уш.д)	3.52 (1H, дд, $J = 12.1, 4.8$ )
$\alpha$ -L-Рамнопираноза				
1''	5.16 (1H, д, $J = 1.5$ )	5.05 (1H, д, $J = 1.5$ )	5.08 (1H, д, $J = 1.5$ )	5.10 (1H, д, $J = 1.5$ )
2''	4.11 (1H, дд, $J = 3.6, 1.5$ )	3.98 (1H, дд, $J = 3.5, 1.5$ )	4.02 (1H, дд, $J = 3.6, 1.5$ )	4.14 (1H, м)
3''	3.79 (1H, м)	3.54 (1H, м)	3.72 (1H, м)	3.75 (1H, м)
4''	3.23 (1H, м)	3.11 (1H, м)	3.20 (1H, м)	3.11 (1H, м)
5''	4.02 (1H, м)	3.82 (1H, м)	3.96 (1H, м)	4.01 (1H, м)
6''	1.16 (3H, д, $J = 6.0$ )	1.20 (3H, д, $J = 6.0$ )	1.21 (3H, д, $J = 6.0$ )	1.14 (3H, д, $J = 6.0$ )

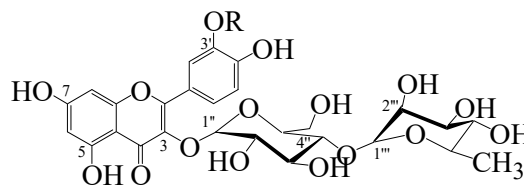
Таблица 4 – Спектры ЯМР  $^{13}C$  (125 Гц) соединений **2–5** (DMCO- $d_6$ ,  $\delta_C$ , м.д.).

Атом C	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	Атом C	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>
2	156.8	157.0	157.2	157.3	6'	123.0	122.9	122.7	122.5
3	134.2	134.2	134.0	134.2	3'-OCH <sub>3</sub>	-	-	55.0	55.2
4	178.3	178.5	178.4	178.0	1''	101.8	101.6	102.0	101.9
5	162.0	162.2	162.3	162.0	2''	75.6	76.1	75.7	76.2
6	99.7	99.9	99.9	100.0	3''	78.9	84.6	78.8	84.5
7	164.1	164.1	164.3	164.2	4''	71.4	70.8	71.5	70.6
8	93.7	93.8	93.8	93.5	5''	77.8	77.2	77.9	77.3
9	157.3	157.0	157.3	157.2	6''	62.4	62.2	62.6	62.3
10	104.5	104.1	104.6	104.5	1''	102.8	102.8	102.7	102.9
1'	121.9	121.8	122.0	122.3	2''	71.8	72.0	72.0	71.9
2'	112.8	112.9	113.4	113.0	3''	72.4	72.5	72.6	72.4
3'	145.8	145.7	149.5	149.7	4''	74.1	74.3	74.0	73.9
4'	146.1	146.0	146.5	146.6	5''	70.1	70.2	69.7	70.0
5'	116.3	116.3	116.0	116.2	6''	17.6	17.5	17.8	17.9

В спектре  $^1H$ -ЯМР присутствовали сигналы, отнесенные к протонам  $\beta$ -глюкозы при 4.63 м.д. (1H, д,  $J = 8.1$  Гц) и  $\alpha$ -рамнозы при 5.16 м.д. (1H, д,  $J = 1.5$  Гц), а в  $^{13}C$ -ЯМР спектре – при 101.8 и 102.8 м.д., соответственно. Следует отметить близость спектров ЯМР для **2** с таковыми рутина и календофлавобиозида за исключением некоторых особенностей. Сигнал протона H-4'' глюкозы претерпевал слабополюный сдвиг на 1.56 м.д. относительно такового кверцетин-3-*O*- $\beta$ -D-глюкопираноза (3.48 м.д.  $\rightarrow$

5.04 м.д.), что также было отмечено для сигнала углерода С-4'' глюкозы (70.9 м.д. → 71.4 м.д.). В спектре НМВС сигнал С-4'' глюкозы (71.4 м.д.) коррелировал с протоном Н-1''' рамнозы (5.16 м.д.), а сигнал С-1''' рамнозы (102.8) коррелировал с протоном Н-4'' глюкозы (5.04 м.д.). Таким образом, на основании проведенных исследований для соединения **2** была установлена структура *кверцетин-3-О-(4''-α-L-рамнопиранозил)-β-D-глюкопиранозида* (**календозид I**).

**Календозид I (2)**. C<sub>27</sub>H<sub>30</sub>O<sub>16</sub>. HR-ESI-MS, *m/z*: 633.418 [M+Na]<sup>+</sup>; расч. 633.520. +ESI-МС, *m/z*: 611 [M+H]<sup>+</sup>, 465 [M+H-Rha]<sup>+</sup>, 309 [(Rha-Glc)+H-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>, 303 [агликон+H-(Rha-Glc)]<sup>+</sup>, 147 [Rha+H-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>. УФ-спектр (EtOH, λ<sub>max</sub>, нм): 259, 359; +AlCl<sub>3</sub> 270, 357, 410; +AlCl<sub>3</sub>/HCl 267, 360, 396; +NaOAc 267, 376; +NaOAc/H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> 263, 323, 389; +NaOMe 280, 327, 415.



**2**: R = OH; **4**: R = CH<sub>3</sub>

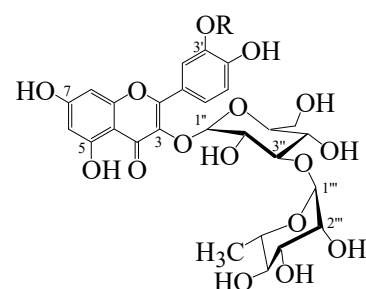
Для соединения **3** на основании данных HR-ESI-MS определена формула C<sub>27</sub>H<sub>30</sub>O<sub>16</sub> {*m/z* 633.443 ([M+Na]<sup>+</sup>; расч. 633.520)}. На основании результатов полного гидролиза, ГХ-МС 1-(триметилсилил)-имидазольных производных и УФ было установлено, что в состав **3** входили кверцетин, D-глюкоза и L-рамноза, причем положение С-3 агликона замещено.

Анализ продуктов гидролиза перметилата **3** выявил присутствие 2,4,6-три-О-Ме-Glcp и 2,3,4-три-О-Ме-Rhap в соотношении 1:1, что указывало на вероятное строение углеводной части в виде 3-О-рамнозил-глюкозы (рунгиоза). <sup>1</sup>H- и <sup>13</sup>C-ЯМР спектры **3** близки к таковым календозид I (**2**), однако обладали некоторыми отличиями (табл. 3, 4). Для сигналов Н-3'' и С-3'' глюкозы наблюдались сдвиги в слабое поле относительно кверцетин-3-О-β-D-глюкопиранозида (3.45 м.д. → 4.29 м.д. и 77.3 м.д. → 84.6 м.д., соответственно), что указывало на наличие замещения по положениям С-3'' глюкозы. Данный факт подтверждался результатами анализа спектра НМВС, в котором отмечались корреляции между С-3'' глюкозы (84.6 м.д.) с Н-1''' рамнозы (5.05 м.д.) и С-1''' рамнозы (102.8) с Н-3'' глюкозы (4.29 м.д.). Представленные сведения указывали на строение **3** в виде *кверцетин-3-О-(3''-α-L-рамнопиранозил)-β-D-глюкопиранозида* (*кверцетин-3-О-рунгиозид*, **календозид II**).

**Календозид II (3)**. C<sub>27</sub>H<sub>30</sub>O<sub>16</sub>. HR-ESI-MS, *m/z*: 633.443 [M+Na]<sup>+</sup>; расч. 633.520. +ESI-МС, *m/z*: 611 [M+H]<sup>+</sup>, 465 [M+H-Rha]<sup>+</sup>, 309 [(Rha-Glc)+H-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>, 303 [агликон+H-(Rha-Glc)]<sup>+</sup>, 147 [Rha+H-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>. УФ-спектр (EtOH, λ<sub>max</sub>, нм): 260, 359; +AlCl<sub>3</sub> 270, 356, 408; +AlCl<sub>3</sub>/HCl 267, 360, 395; +NaOAc 266, 376; +NaOAc/H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> 263, 323, 390; +NaOMe 278, 327, 414.

Соединению **4** определена формула C<sub>28</sub>H<sub>32</sub>O<sub>16</sub> {*m/z* 647.610 ([M+Na]<sup>+</sup>; расч. 647.755)} согласно данным HR-ESI-MS. После полного гидролиза и ГХ-МС 1-(триметилсилил)-имидазольных производных выявлено, что **4** состояло из изорамнетина, D-глюкозы и L-рамнозы. Результаты УФ с ионизирующими

добавками указывали на наличие замещения по положению С-3 агликона. В составе продуктов гидролиза перметилата **4** были идентифицированы 2,3,6-три-*O*-Me-Glcp и 2,3,4-три-*O*-Me-Rhap (1:1), указывающие на присутствие 4-*O*-рамнозил-глюкозы в углеводной части гликозида. Данные ЯМР соединения **4** были похожи на таковые календозида I (**2**) за исключением присутствия сигналов, обусловленных влиянием метоксильной группы по положению С-3' изорамнетина, в <sup>1</sup>H-ЯМР спектре при 3.85 м.д. (3H, с) и в <sup>13</sup>C-ЯМР спектре при 55.0 м.д. (табл. 3, 4). Указанные особенности позволили установить структуру **4** как *изорамнетин-3-О-(4''-α-L-рамнопиранозил)-β-D-глюкопиранозид* (календозид III).



**3**: R = OH; **5**: R = CH<sub>3</sub>

**Календозид III (4)**. C<sub>28</sub>H<sub>32</sub>O<sub>16</sub>. HR-ESI-MS, *m/z*: 647.610 [M+Na]<sup>+</sup>; расч. 647.755. +ESI-МС, *m/z*: 625 [M+H]<sup>+</sup>, 479 [M+H-Rha]<sup>+</sup>, 309 [(Rha-Glc)+H-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>, 317 [агликон+H-(Rha-Glc)]<sup>+</sup>, 147 [Rha+H-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>. УФ-спектр (EtOH, λ<sub>max</sub>, нм): 256, 358; +AlCl<sub>3</sub> 263, 360, 399; +AlCl<sub>3</sub>/HCl 264, 360, 399; +NaOAc 272, 396; +NaOAc/H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> 259, 364; +NaOMe 282, 328, 405.

На основании данных HR-ESI-MS для соединения **5** была определена формула – C<sub>28</sub>H<sub>32</sub>O<sub>16</sub> {*m/z* 647.636 ([M+Na]<sup>+</sup>; расч. 647.755)}. В составе **5** обнаружены изорамнетин, *D*-глюкоза и *L*-рамноза (гидролиз), а также выявлено наличие замещения у С-3 изорамнетина (УФ). После хроматографического анализа гидролизата метилированного производного **5** установлено наличие 2,4,6-три-*O*-Me-Glcp и 2,3,4-три-*O*-Me-Rhap (1:1), что свидетельствовало о присутствии рунгиозы (3-*O*-рамнозил-глюкозы) в углеводной части. Спектры <sup>1</sup>H- и <sup>13</sup>C-ЯМР для **5** были близки к таковым календозида II (**3**), за исключением дополнительных сигналов в <sup>1</sup>H-ЯМР спектре – 3.80 (3H, с), и в <sup>13</sup>C-ЯМР спектре – 55.2 м.д., обусловленных влиянием метоксила при С-3' агликона (табл. 3, 4). Полученные данные подтвердили строение **5** как *изорамнетин-3-О-(3''-α-L-рамнопиранозил)-β-D-глюкопиранозид* (календозид IV).

**Календозид IV (5)**. C<sub>28</sub>H<sub>32</sub>O<sub>16</sub>. HR-ESI-MS, *m/z*: 647.636 [M+Na]<sup>+</sup>; расч. 647.755. +ESI-МС, *m/z*: 625 [M+H]<sup>+</sup>, 479 [M+H-Rha]<sup>+</sup>, 309 [(Rha-Glc)+H-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>, 317 [агликон+H-(Rha-Glc)]<sup>+</sup>, 147 [Rha+H-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>. УФ-спектр (EtOH, λ<sub>max</sub>, нм): 256, 359; +AlCl<sub>3</sub> 263, 359, 400; +AlCl<sub>3</sub>/HCl 264, 358, 400; +NaOAc 272, 397; +NaOAc/H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> 259, 362; +NaOMe 281, 328, 403.

Из пыльцы *C. officinalis* был выделен новый фенилпропаноид **6** и 17 известных соединений. Соединению **6** согласно данным HR-MS-TOF соответствовала формула C<sub>27</sub>H<sub>28</sub>O<sub>12</sub> {*m/z* 567.411 ([M+Na]<sup>+</sup>; расч. 567.442)}. Характер УФ-спектра соединения указывал на его принадлежность к группе фенилпропаноидов, образованных феруловой/изоферуловой кислотой. В спектрах ESI-MS/MS, снятых в негативном режиме, присутствовали пики молекулярного иона с *m/z* 543 [M-H]<sup>-</sup>, а также характеристический фрагмент остатка феруловой/изоферуловой кислоты с *m/z* 193. Окончательная



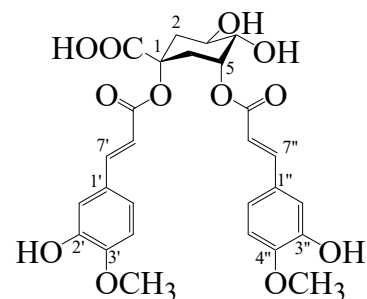
идентификация ацильного остатка была проведена после анализа продуктов щелочного гидролиза, в составе которых были обнаружены изоферуловая и хинная кислоты. Полученные сведения позволили установить, что соединение **6** представляло собой ди-*O*-изоферулоилхинную кислоту.

В  $^1\text{H}$ -ЯМР спектре **6** присутствовали 4 дуплета с величинами константы взаимодействия  $J = 16.1$  Гц, обусловленные влиянием *транс*-олефиновых протонов Н-7'/Н-8' и Н-7''/Н-8'' (табл. 5). В области ароматических протонов наблюдались сигналы от двух ароматических систем с 1,3,4-типом замещения (АВХ-тип): 7.10 (1Н, д,  $J = 1.9$ ), 6.82 (1Н, д,  $J = 8.0$ ), 7.05 м.д. (1Н, дд,  $J = 8.0, 1.9$ ) и 7.14 (1Н, д,  $J = 1.9$ ), 6.78 (1Н, д,  $J = 8.0$ ), 7.00 м.д. (1Н, дд,  $J = 8.0, 1.9$ ). Слабопольные сдвиги сигналов С-4' и С-4'' (149.4 и 149.1 м.д.) в  $^{13}\text{C}$ -ЯМР спектре в сравнении с таковым 1,5-ди-*O*-кофеилхинной кислоты (147.0 и 146.6 м.д.) были обусловлены влиянием метоксильной группы. Наличие корреляций в спектре НМВС между протонами метоксильных групп (3.90 и 3.87 м.д.) и атомами С-4' и С-4'' (149.4 и 149.1 м.д., соответственно), подтверждало строение ацильных заместителей в виде остатков изоферуловой кислоты.

Таблица 5 – Спектры ЯМР  $^1\text{H}$  (500 МГц, MeOH-d<sub>4</sub>, δ<sub>H</sub>, м.д., J/Гц и  $^{13}\text{C}$  (125 Гц, MeOH-d<sub>4</sub>, δ<sub>C</sub>, м.д.) соединения **6**.

С-атом	δ <sub>H</sub>	δ <sub>C</sub>	С-атом	δ <sub>H</sub>	δ <sub>C</sub>
1	<i>Хинил</i>	80.9	8'	6.24 (1Н, д, $J = 16.1$ )	115.9
2	2.38-2.42 (2Н, м)	34.5	9'		168.4
3	4.27 (1Н, ддд, $J = 4.5, 4.0, 3.2$ )	69.7	OCH <sub>3</sub>	3.90 (3Н, с)	56.1
4	3.75 (1Н, д, $J = 8.0, 3.2$ )	72.8	1''	<i>5-O-Изоферулоил</i>	128.0
5	5.35 (1Н, ддд, $J = 9.1, 8.0, 3.9$ )	70.6	2''	7.14 (1Н, д, $J = 1.9$ )	111.7
6	2.51 (1Н, м, Н <sub>A</sub> ), 2.07 (1Н, д, $J = 13.9, 9.0, Н_B$ )	35.4	3''		144.2
COOH		174.7	4''		149.1
1'	<i>1-O-Изоферулоил</i>	128.3	5''	6.78 (1Н, д, $J = 8.0$ )	109.4
2'	7.10 (1Н, д, $J = 1.9$ )	112.7	6''	7.00 (1Н, дд, $J = 8.0, 1.9$ )	121.5
3'		144.9	7''	7.58 (1Н, д, $J = 16.1$ )	139.7
4'		149.4	8''	6.20 (1Н, д, $J = 16.1$ )	115.6
5'	6.82 (1Н, д, $J = 8.0$ )	110.2	9''		167.9
6'	7.05 (1Н, дд, $J = 8.0, 1.9$ )	121.7	OCH <sub>3</sub>	3.87 (3Н, с)	55.8
7'	7.60 (1Н, д, $J = 16.1$ )	140.1			

На присутствие хинной кислоты в **6** указывали характеристические сигналы в  $^{13}\text{C}$ -ЯМР спектре от трех оксиметиновых (69.7, 70.6, 72.8 м.д.) и двух метиленовых группировок (34.5, 35.4 м.д.), одного окисленного четвертичного углерода (80.9 м.д.) и одной карбоксильной группы (174.7 м.д.), а также сигналы в  $^1\text{H}$ -ЯМР спектре от трех оксиметиновых протонов (3.75, 4.27, 5.35 м.д.) и двух пар метиленовых протонов (H<sub>2</sub>-2 и H<sub>2</sub>-6). Сравнительный анализ  $^{13}\text{C}$ -ЯМР спектров незамещенной хинной кислоты и **6** выявил наличие смещения сигналов С-1 и С-5 в слабое поле (75.4→80.9 м.д. и 67.4→70.6 м.д.), что характерно для 1,5-ацилхинных кислот и указывало на наличие замещения по данным положениям. Следует отметить, что, несмотря на близкие значения химических сдвигов сигналов протонов Н-3 и Н-5 хинной кислоты, положение второго изоферулоильного остатка у С-5 доказывалось сильным



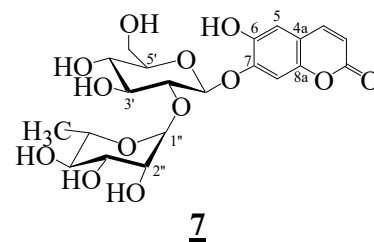
**6**

смещением сигнала Н-5 в слабое поле (4.10→5.35 м.д.), а также существованием корреляций в спектре НМВС между сигналом протона Н-5 (5.35 м.д.) и сигналом углерода С-9" (167.9 м.д.).

Таким образом, проведенные исследования показали, что соединение **6** представляло собой *1,5-ди-О-изоферулоилхинную кислоту*, которая являлась новым природным соединением. К настоящему времени известно о существовании четырех конъюгатов изоферуловой и хинной кислот по положениям 1, 3, 4 и 5. Соединение **6** являлось первой ди-О-изоферулоилхинной кислотой, выделенной из природного объекта.

**1,5-Ди-О-изоферулоилхинная кислота (6).** C<sub>27</sub>H<sub>28</sub>O<sub>12</sub>. HR-MS-TOF, *m/z*: 567.411 ([M+Na]<sup>+</sup>; расч. 567.442). -ESI-MS, *m/z*: 543 [M-H]<sup>-</sup>, 193 [изоферулоил-H]<sup>-</sup>. +ESI-MS, *m/z*: 567 [M+Na]<sup>+</sup>, 545 [M+H]<sup>+</sup>. УФ-спектр (MeOH, λ<sub>max</sub>, нм): 212 пл., 225, 297, 310.

Из бутанольной фракции цветков *C. officinalis* были выделены четыре кумариновых гликозида, которые были идентифицированы путем сравнения их УФ, ЯМР и МС с данными литературы известных кумариновых гликозидов изобайссеозида (скополетин-7-О-рутинозид), гаплоперозида А (эскулетин-7-О-рутинозид) и гаплоперозида D (скополетин-7-О-неогесперидозид). Новому соединению **7** соответствовала формула C<sub>21</sub>H<sub>26</sub>O<sub>13</sub>. В УФ-спектре обнаружены максимумы поглощения при 231, 290 и 347 нм, характерные для кумаринов. Эскулетин, D-глюкоза и рамноза были идентифицированы после кислотного гидролиза **7**, что указывало на то, что соединение представляло собой гликозид эскулетина. В ESI-МС **7** наблюдались протонированный молекулярный ион с *m/z* 487 ([M+H]<sup>+</sup>), дерамнозилированный фрагмент с *m/z* 341 ([M+H-Rha]<sup>+</sup>), протонированный ион эскулетина с *m/z* 179, а также ион рамнозы с *m/z* 147 и ион рамнозилглюкозы с *m/z* 308, что предполагало структуру рамнозилглюкозы для углеводной части гликозида **7**. При метилировании **7** с последующим гидролизом и ГХ-МС-анализом метилированных продуктов наблюдалось образование 3,4,6-три-О-метил-глюкопиранозы и 2,3,4-три-О-метил-рамнопиранозы в соотношении 1:1, подтверждающих природу углеводного фрагмента в виде 2-О-рамнопиранозилглюкопиранозы или неогесперидозы. Анализ данных ЯМР показал, что соединение являлось эскулетином, замещенным по положению С-7, после сравнения с известными данными эскулетин-7-О-β-D-глюкопиранозида (цихориина) и эскулетин-7-О-рутинозида (гаплоперозид А). Присутствие фрагмента неогесперидозы в молекуле **7** определялось по двум аномерным дуплетам протонов при δ<sub>H</sub> 5.57 и 4.52 со значениями КССВ 8.0 и 2.0 Гц, которые характерны для β-глюкопиранозы и α-рамнопиранозы. Слабополюное расположение сигнала Н-1" рамнозы указывало на межгликозидную связь 1"→2'. Спектр ЯМР <sup>13</sup>С характеризовался наличием 21 углеродного резонанса, девять из которых были характерны



для фрагмента эскулетина, а 12 углеродных резонансов отнесены к рамноглюкозильному фрагменту. На расположение концевого рамнозильного фрагмента у С-2' свидетельствовал сдвиг его резонанса в слабое поле до  $\delta_c$  77.5 и сдвиг в сильное поле С-1' и С-3' до  $\delta_c$  97.5 и 75.2. Таким образом, соединение **7** было идентифицировано как новый 6,7-дигидрокумарин-7-О-(2'-О- $\alpha$ -L-рамнопиранозил)- $\beta$ -D-глюкопиранозид или эскулетин-7-О-неогесперидозид, которому было дано название **неоизобайссеозид**. Это первый случай обнаружения биозида кумарина в *C. officinalis*.

**Неоизобайссеозид (7).** C<sub>21</sub>H<sub>26</sub>O<sub>13</sub> {*m/z* 487.312 ([M+H]<sup>+</sup>; расч. 487.442)}. УФ (MeOH,  $\lambda_{max}$ , нм): 231, 290, 347. ESI-МС, *m/z*: 487 [M+H]<sup>+</sup>, 341 [(M+H)–Rha]<sup>+</sup>, 309 [(Rha-Glc+H)–H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>, 179 [эскулетин+H]<sup>+</sup>, 147 [(Rha+H)–H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>. ЯМР <sup>1</sup>H (500 МГц, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta_H$ , м.д., J/Гц): 1.21 (3H, д, 6.0, H-6''), 3.61–4.40 (10H, м, H-2'–H-6', H-2''–H-5''), 4.52 (1H, д, 2.0, H-1''), 5.57 (1H, д, 8.0, H-1'), 6.10 (1H, д, 9.5, H-3), 6.75 (1H, с, H-8), 7.05 (1H, с, H-5), 7.83 (1H, д, 9.5, H-4). ЯМР <sup>13</sup>C (125 Гц, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta_c$ , м.д., DEPT): 17.5 (CH<sub>3</sub>, C-6''), 60.2 (CH<sub>2</sub>, C-6'), 68.1 (CH, C-5''), 69.5 (CH, C-4'), 70.0 (CH, C-2''), 70.3 (CH, C-3''), 71.6 (CH, C-4''), 75.2 (CH, C-3'), 76.8 (CH, C-5'), 77.5 (CH, C-2'), 97.5 (CH, C-1'), 99.7 (CH, C-1''), 102.3 (CH, C-8), 111.0 (C, C-8a), 112.2 (CH, C-3), 112.6 (CH, C-5), 143.2 (C, C-6), 144.2 (CH, C-4), 148.4 (C, C-4a), 150.7 (C, C-7), 161.2 (C, C-2).

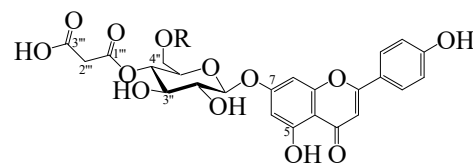
В результате исследования краевых цветков *Matricaria chamomilla* сорта «Подмосковная» было выделено 2 новых гликозида апигенина (**8**, **9**) и 18 известных соединений, включая терпены, кумарины, флавоноиды и фенилпропаноиды. Соединению **8** согласно данным HR-ESI-MS (*m/z*: 519.421 [M + H]<sup>+</sup>; расч. 519.443) и ЯМР соответствовала формула C<sub>24</sub>H<sub>22</sub>O<sub>13</sub>. В спектрах ESI-МС присутствовал протонированный молекулярный ион с *m/z* 519 [M + H]<sup>+</sup> и ион апигенина (*m/z* 271), а также ион с *m/z* 433, обусловленный удалением малонильного фрагмента (C<sub>3</sub>H<sub>2</sub>O<sub>3</sub>). Спектральные свойства **8** были близки к таковым апигенин-7-О-(6''-малонил)- $\beta$ -D-глюкопиранозида, выделенного ранее из *M. chamomilla*, однако **8** характеризовался меньшим временем удерживания в условиях ВЭЖХ (*t* 11.10 мин) в сравнении с апигенин-7-О-(6''-малонил)- $\beta$ -D-глюкопиранозидом (*t* 11.48 мин). В спектрах ЯМР было отмечено слабopольное смещение сигналов глюкопиранозы Н-4'' ( $\delta_H$  4.57) и С-4'' ( $\delta_c$  71.4) относительно положения сигналов апигенин-7-О- $\beta$ -D-глюкопиранозида ( $\delta_H$  3.25 и  $\delta_c$  69.5, соответственно), что указывало на наличие замещения по положению С-4'' (табл. 6). Наличие корреляций между сигналами протона Н-4'' ( $\delta_H$  4.57) и углерода С-1''' малонильного остатка ( $\delta_c$  167.0) в спектре НМВС подтверждало данный факт. Таким образом, соединение **8** представляло собой апигенин-7-О-(4''-малонил)- $\beta$ -D-глюкопиранозид.

Таблица 6 – Спектры ЯМР  $^1\text{H}$  (500 МГц, MeOH-d<sub>4</sub>,  $\delta_{\text{H}}$ , м.д., J/Гц) и  $^{13}\text{C}$  (125 Гц, MeOH-d<sub>4</sub>,  $\delta_{\text{C}}$ , м.д.) соединений **8** и **9**

C-атом	<b>8</b>		<b>9</b>		C-атом	<b>8</b>		<b>9</b>	
	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$		$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$
2		164.9		166.4	6'	7.99 (1H, д, J = 9.0)	128.7	7.97 (1H, д, J = 9.0)	128.5
3	6.84 (1H, с)	103.0	6.83 (1H, с)	103.2	1''	5.07 (1H, д, J = 7.2)	99.7	5.10 (1H, д, J = 7.3)	99.7
4		181.9		182.0	2''	3.36–3.44 (2H, м)	72.9	3.40–3.61 (2H, м)	72.8
5		161.8		162.9	3''		75.6		75.3
6	6.44 (1H, д, J = 2.1)	100.0	6.44 (1H, д, J = 2.1)	99.4	4''	4.57 (1H, дд, J = 9.0, 9.1)	71.4	4.63 (1H, дд, J = 9.2, 9.1)	71.2
7		162.5		164.7	5''	3.79 (1H, м)	73.7	3.89 (1H, м)	71.0
8	6.79 (1H, д, J = 2.1)	95.2	6.77 (1H, д, J = 2.1)	95.5	6 <sub>A</sub> ''	3.82 (1H, д, J = 12.0)	60.1	4.46 (1H, дд, J = 11.9, 1.8)	64.2
9		157.0		156.9	6 <sub>B</sub> ''	3.60 (1H, дд, J = 12.0, 5.3)		4.29 (1H, дд, J = 11.9, 7.0)	
10		105.4		105.5	1'''		167.0		167.2
1'		121.5		121.6	2'''	3.34 (2H, с)	41.6	3.33 (2H, с)	41.5
2'	7.99 (1H, д, J = 9.0)	128.7	7.97 (1H, д, J = 9.0)	128.5	3'''		168.0		168.2
3'	6.96 (1H, д, J = 9.0)	115.8	6.95 (1H, д, J = 9.0)	115.9		COCH <sub>3</sub>			172.6
4'		161.0		161.0		COCH <sub>3</sub>		2.04 (3H, с)	21.6
5'	6.96 (1H, д, J = 9.0)	115.8	6.95 (1H, д, J = 9.0)	115.9					

**Апигенин-7-O-(4''-малонил)- $\beta$ -D-глюкопиранозид (8).** C<sub>24</sub>H<sub>22</sub>O<sub>13</sub>. HR-ESI-MS,  $m/z$ : 519.421 ([M + H]<sup>+</sup>; расч. 519.443). +ESI-МС,  $m/z$ : 519 [M+H]<sup>+</sup>, 433 [(M – C<sub>3</sub>H<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) + H]<sup>+</sup>, 271 [(M – C<sub>3</sub>H<sub>2</sub>O<sub>3</sub> – C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>O<sub>5</sub>) + H]<sup>+</sup>. УФ-спектр (MeOH,  $\lambda_{\text{max}}$ , нм): 256, 335.

На основании HR-ESI-MS и ЯМР для соединения **9** определена формула C<sub>26</sub>H<sub>24</sub>O<sub>14</sub>. Данные УФ и МС соединения **9** сходны с таковыми известного флавоноида – апигенин-7-O-(4''-ацетил-6''-малонил)- $\beta$ -D-глюкопиранозида (**а**), но время удерживания **9** в условиях ВЭЖХ было больше ( $t$  14.78 мин), чем у **а** ( $t$  14.51 мин). Спектры ЯМР близки к таковым **8** за исключением присутствия дополнительных сигналов ацетильной группы ( $\delta_{\text{H}}$  2.04;  $\delta_{\text{C}}$  21.6, 172.6). Сдвиги в слабое поле сигналов глюкопиранозы Н-6'' ( $\delta_{\text{H}}$  4.29, 4.46) и С-6'' ( $\delta_{\text{C}}$  64.2), а также корреляции в спектре НМВС между сигналами протонов Н-6'' и углерода карбонильной группы ацетильного остатка ( $\delta_{\text{C}}$  172.6) указывали на то, что последний находился у атома С-6'' глюкопиранозы. На основании вышесказанного, соединение **9** являлось *апигенин-7-O-(4''-малонил-6''-ацетил)- $\beta$ -D-глюкопиранозидом*.



**8:** R = H; **9:** R = COCH<sub>3</sub>

**Апигенин-7-O-(4''-малонил-6''-ацетил)- $\beta$ -D-глюкопиранозид (9).** C<sub>26</sub>H<sub>24</sub>O<sub>14</sub>. HR-ESI-MS,  $m/z$ : 561.312 ([M + H]<sup>+</sup>; расч. 561.481). +ESI-МС,  $m/z$ : 561 [M+H]<sup>+</sup>, 475 [(M – C<sub>3</sub>H<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) + H]<sup>+</sup>, 271 [(M – C<sub>3</sub>H<sub>2</sub>O<sub>3</sub> – C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>O – C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>O<sub>5</sub>) + H]<sup>+</sup>. УФ-спектр (MeOH,  $\lambda_{\text{max}}$ , нм): 256, 335.

Была разработана методика количественного анализа космосиина в цветках *M. chamomilla* методом микроколоночной ВЭЖХ-УФ (рис. 4).

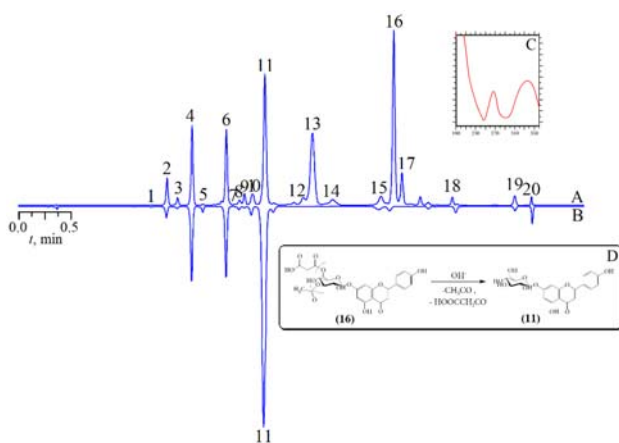


Рисунок 4 – Хроматограммы (МК-ВЭЖХ-УФ) спиртового извлечения из цветков *M. chamomilla* до (А) и после щелочного гидролиза (В). 1 – скиммин, 2 – дафнин, 3 – 3-*O*-кофейлхинная кислота, 4 – *цис*-2-гидрокси-4-метоксикумаровой кислоты 2-*O*-Glc, 5 – дафнетин, 6 – *транс*-2-гидрокси-4-метоксикумаровой кислоты 2-*O*-Glc, 7 – умбеллиферон, 8 – цинарозид, 9 – 3,5-ди-*O*-кофейлхинная кислота, 10 – кумарин, 11 – космосин, 12 – апигенин-7-*O*-(4''-малонил)-Glc, 13 – апигенин-7-*O*-(6''-малонил)-Glc, 14 – апигенин-7-*O*-(4''-ацетил)-Glc, 15 – герниарин, 16 – апигенин-7-*O*-(4''-ацетил-6''-малонил)-Glc, 17 – апигенин-7-*O*-(4''-малонил-6''-ацетил)-Glc, 18 – апигенин, 19 – *цис*-спирозфир (*Z*-ен-ин-бициклоэфир), 20 – *транс*-спирозфир (*E*-ен-ин-бициклоэфир). На врезках: С – спектр поглощения соединений 11–17; D – схема распада соединения 16.

Из ацетоновой фракции листьев *Leuzea uniflora* было выделено 46 соединений. Согласно данным УФ, ИК, ЯМР (табл. 7, 8) и МС семь соединений (**10–16**) оказались новыми и представляли собой флавоно-*O*-гликозиды. После кислотного гидролиза было установлено, что соединения **10–12** являются гликозидами 6-гидроксилитеолина, **13–15** – гликозидами непетина (6-метоксилитеолина), **16** – гликозидом литеолина.

Согласно данным МС и ЯМР соединению **10** соответствовала формула  $C_{30}H_{26}O_{15}$ . В ароматической области спектра ЯМР  $^1H$  присутствовали сигналы, характерные для 6-гидроксилитеолина:  $\delta_H$  6.28 (1H, с, H-3), 6.91 (1H, s, H-8), 7.39 (1H, д,  $J = 2.0$  Гц, H-2'), 6.79 (1H, д,  $J = 8.0$  Гц, H-5') и 7.42 (1H, дд,  $J = 8.0, 2.0$  Гц, H-6'). Положение сигнала C-6 ( $\delta_C$  130.1) в спектре ЯМР  $^{13}C$  указывало на наличие гидроксильной группы. Оставшиеся сигналы в ароматической области спектра ЯМР  $^1H$  принадлежали *транс*-кофейльному заместителю и его 1,3,4-тризамещенному бензольному кольцу [ $\delta_H$  6.85 (1H, д,  $J = 1.8$  Гц, H-2'''), 6.58 (1H, д,  $J = 8.1$  Гц, H-5'''), 6.69 (1H, дд,  $J = 8.1, 2.0$  Гц, H-6''')] и *транс*-группировке  $-CH=CH-$  [ $\delta_H$  7.56 (1H, д,  $J = 15.9$  Гц, H-5'''), 6.20 (1H, д,  $J = 15.9$  Гц, H-5''')]. Сигнал при 4.85 (1H, д,  $J = 8.1$  Гц) соответствовал аномерному протону H-1''  $\beta$ -глюкопиранозы, причем существование кросс-пиков в спектре НМВС между сигналами H-1'' и C-7 ( $\delta_C$  151.4) указывало на то, что углеводный фрагмент присоединен к агликону по положению C-7. Слабопольные сдвиги сигналов H-2'' ( $\delta_H$  4.80) и C-2'' ( $\delta_C$  76.4) относительно таковых 6-гидроксилитеолин-7-*O*-глюкопиранозиды свидетельствовали о наличии замещения по данному положению. В спектре НМВС наблюдались корреляции между сигналами протона H-2'' глюкопиранозы ( $\delta_H$  4.80) и углеродом карбонила кофейльного фрагмента ( $\delta_C$  168.5), доказывая расположение ацильного остатка у C-2''. Таким образом, строение соединения **10** было определено нами как 6-гидроксилитеолин-7-*O*-(2''-*O*-кофейл)- $\beta$ -D-глюкопиранозид (раунозид А).

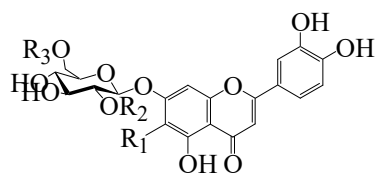
**Раунозид А (10)**.  $C_{30}H_{26}O_{15}$ . УФ-спектр (MeOH,  $\lambda_{max}$ , нм): 254, 288, 335. ИК-спектр ( $\nu$ ,  $cm^{-1}$ ): 3375, 1687, 1648, 1622, 1563. ESI-MS,  $m/z$ : 625 [M-H]<sup>-</sup>; [MS<sup>2</sup>] 625→463, 301; [MS<sup>3</sup>] 463→301.

Таблица 7 – Спектры ЯМР  $^1\text{H}$  (500 МГц, MeOH- $d_4$ ,  $\delta_{\text{H}}$ , м.д., J/Гц) соединений **10–16**.

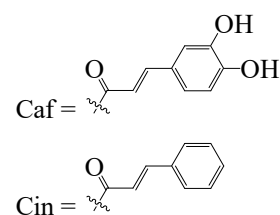
С-атом	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>	<b>13</b>	<b>14</b>	<b>15</b>	<b>16</b>
	6-гидроксилитеолин	6-гидроксилитеолин	6-гидроксилитеолин	непетин	непетин	непетин	литеолин
3	6.28 (1H, c)	6.31 (1H, c)	6.30 (1H, c)	6.42 (1H, c)	6.40 (1H, c)	6.41 (1H, c)	6.48 (1H, c)
6							6.32 (1H, д, $J = 2.0$ )
8	6.91 (1H, c)	6.90 (1H, c)	6.86 (1H, c)	6.90 (1H, c)	6.92 (1H, c)	6.85 (1H, c)	6.92 (1H, д, $J = 2.0$ )
2'	7.39 (1H, д, $J = 2.0$ )	7.35 (1H, д, $J = 2.1$ )	7.41 (1H, д, $J = 2.2$ )	7.40 (1H, д, $J = 2.0$ )	7.36 (1H, д, $J = 2.2$ )	7.38 (1H, д, $J = 2.1$ )	7.42 (1H, д, $J = 2.0$ )
5'	6.79 (1H, д, $J = 8.0$ )	6.80 (1H, д, $J = 7.8$ )	6.98 (1H, д, $J = 8.2$ )	6.87 (1H, д, $J = 8.0$ )	6.89 (1H, д, $J = 8.1$ )	6.82 (1H, д, $J = 8.1$ )	6.89 (1H, д, $J = 8.0$ )
6'	7.42 (1H, дд, $J = 8.0, 2.0$ )	7.45 (1H, дд, $J = 7.8, 2.0$ )	7.49 (1H, дд, $J = 8.2, 2.2$ )	7.43 (1H, дд, $J = 8.0, 2.2$ )	7.37 (1H, дд, $J = 8.1, 2.2$ )	7.40 (1H, дд, $J = 8.1, 2.1$ )	7.44 (1H, д, $J = 8.0, 2.0$ )
1''	7- <i>O</i> -глюкопираноза 4.85 (1H, д, $J = 8.1$ )	7- <i>O</i> -глюкопираноза 4.83 (1H, д, $J = 8.3$ )	4'- <i>O</i> -глюкопираноза 4.90 (1H, д, $J = 7.8$ )	7- <i>O</i> -глюкопираноза 4.92 (1H, д, $J = 8.1$ )	7- <i>O</i> -глюкопираноза 4.85 (1H, д, $J = 8.2$ )	3'- <i>O</i> -глюкопираноза 4.93 (1H, д, $J = 8.0$ )	7- <i>O</i> -глюкопираноза 4.81 (1H, д, $J = 8.0$ )
2''	4.80 (1H, дд, $J = 8.1, 9.0$ )	3.56 (1H, дд, $J = 8.3, 9.0$ )	3.56 (1H, м)	3.59 (1H, дд, $J = 8.1, 8.8$ )	3.54 (1H, дд, $J = 8.2, 9.0$ )	3.51 (1H, м)	4.78 (1H, дд, $J = 8.0, 9.2$ )
3''							
4''	3.27–3.31 (3H, м)	3.33–3.51 (3H, м)	3.30–3.52 (3H, м)	3.32–3.57 (3H, м)	3.36–3.51 (3H, м)	3.18–3.48 (3H, м)	3.19–3.26 (3H, м)
5''							
6''	4.02 (1H, дд, $J = 12.0, 2.0$ )	4.47 (1H, дд, $J = 11.6, 1.8$ )	3.98 (1H, дд, $J = 11.8, 2.1$ )	4.42 (1H, дд, $J = 11.9, 1.6$ )	4.38 (1H, дд, $J = 11.7, 1.8$ )	4.01 (1H, дд, $J = 12.0, 2.0$ )	4.00 (1H, дд, $J = 12.1, 1.8$ )
	3.75 (1H, дд, $J = 12.0, 5.7$ )	4.11 (1H, дд, $J = 11.6, 5.6$ )	3.71 (1H, дд, $J = 11.8, 5.9$ )	4.08 (1H, дд, $J = 11.9, 5.8$ )	4.04 (1H, дд, $J = 11.7, 6.0$ )	3.68 (1H, дд, $J = 12.0, 5.7$ )	3.71 (1H, дд, $J = 12.1, 5.8$ )
	2''- <i>O</i> -кофеил	6''- <i>O</i> -циннамоил		6''- <i>O</i> -кофеил	6''- <i>O</i> -циннамоил		2''- <i>O</i> -кофеил
2'''	6.85 (1H, д, $J = 1.8$ )	7.57 (2H, д, $J = 8.1$ )		6.84 (1H, д, $J = 2.0$ )	7.55 (2H, д, $J = 8.0$ )		6.87 (1H, д, $J = 2.0$ )
3'''		6.71 (2H, д, $J = 8.1$ )			6.70 (2H, д, $J = 8.0$ )		
4'''		7.30 (1H, м)			7.28 (1H, м)		
5'''	6.58 (1H, д, $J = 8.1$ )	6.71 (2H, д, $J = 8.1$ )		6.51 (1H, д, $J = 8.1$ )	6.70 (2H, д, $J = 8.0$ )		6.53 (1H, д, $J = 8.2$ )
6'''	6.69 (1H, дд, $J = 8.1, 2.0$ )	7.57 (2H, д, $J = 8.1$ )		6.66 (1H, дд, $J = 8.1, 2.0$ )	7.55 (2H, д, $J = 8.0$ )		6.67 (1H, дд, $J = 8.2, 2.0$ )
7'''	7.56 (1H, д, $J = 15.9$ )	7.61 (1H, д, $J = 16.0$ )		7.54 (1H, д, $J = 16.0$ )	7.59 (1H, д, $J = 16.0$ )		7.51 (1H, д, $J = 16.0$ )
8'''	6.20 (1H, д, $J = 15.9$ )	6.35 (1H, д, $J = 16.0$ )		6.22 (1H, д, $J = 16.0$ )	6.34 (1H, д, $J = 16.0$ )		6.19 (1H, д, $J = 16.0$ )
6-OCH <sub>3</sub>				3.91 (3H, c)	3.97 (3H, c)	3.95 (3H, c)	

Таблица 8 – Спектры ЯМР  $^{13}\text{C}$  (125 Гц, MeOH- $d_4$ ,  $\delta_{\text{C}}$ , м.д.) соединений **10–16**.

C-атом	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>	<b>13</b>	<b>14</b>	<b>15</b>	<b>16</b>
2	164.9	164.8	164.7	164.7	164.8	164.5	164.5
3	103.3	103.1	102.9	103.2	103.0	103.2	103.4
4	182.5	182.4	182.1	182.0	181.9	182.2	181.7
5	146.0	146.3	146.8	152.8	152.7	152.3	160.2
6	130.1	130.0	130.2	132.7	132.8	131.4	99.5
7	151.4	151.3	153.6	156.3	156.1	157.2	162.1
8	94.3	94.7	94.5	94.3	94.2	94.5	95.0
9	148.6	148.9	149.0	152.1	152.4	152.0	156.5
10	106.3	106.2	106.2	105.5	105.8	105.9	105.7
1'	122.3	122.0	123.9	121.6	121.9	121.1	121.9
2'	112.7	112.5	112.9	112.4	112.7	113.4	112.8
3'	145.6	145.7	146.0	145.6	145.5	145.0	145.5
4'	150.0	150.1	148.7	150.2	150.0	151.1	149.9
5'	116.1	116.2	118.1	116.2	116.2	115.8	116.0
6'	118.8	118.8	118.9	118.3	118.7	119.2	118.7
1''	100.7	100.9	102.1	100.9	100.5	102.3	100.5
2''	76.4	74.2	74.2	74.0	74.1	74.3	76.2
3''	75.9	76.5	76.3	76.9	76.6	76.7	75.8
4''	71.6	71.2	71.2	71.2	71.1	71.5	71.5
5''	76.9	76.0	77.0	75.5	75.8	77.1	77.2
6''	61.8	64.6	61.2	64.8	64.9	61.0	61.9
1'''	128.3	133.6		128.3	133.2		128.0
2'''	115.3	128.9		115.4	128.5		115.2
3'''	146.3	129.4		146.1	129.7		146.3
4'''	149.3	131.4		149.5	131.3		149.5
5'''	116.7	129.4		116.9	129.7		116.8
6'''	123.3	128.9		123.2	128.5		123.0
7'''	147.4	147.2		147.5	147.0		147.3
8'''	114.7	117.3		114.7	117.4		114.5
9'''	168.5	168.2		168.7	168.5		168.9
6-OCH <sub>3</sub>				60.6	60.3	60.4	



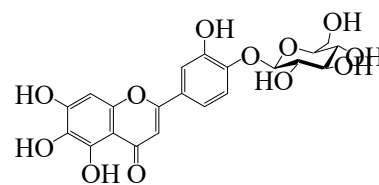
- 10:** R<sub>1</sub> = OH; R<sub>2</sub> = Caf; R<sub>3</sub> = H  
**11:** R<sub>1</sub> = OH; R<sub>2</sub> = H; R<sub>3</sub> = Cin  
**13:** R<sub>1</sub> = OCH<sub>3</sub>; R<sub>2</sub> = H; R<sub>3</sub> = Caf  
**14:** R<sub>1</sub> = OCH<sub>3</sub>; R<sub>2</sub> = H; R<sub>3</sub> = Cin  
**16:** R<sub>1</sub> = R<sub>3</sub> = H; R<sub>2</sub> = Caf



Спектры ЯМР **10** и **11** были близки, однако в ароматической области спектра ЯМР  $^1\text{H}$  присутствовали сигналы циннамоильного фрагмента, содержащего незамещенное бензольное кольцо [ $\delta_{\text{H}}$  7.57 (2H, д,  $J = 8.1$  Гц, H-2''', H-6'''), 6.71 (2H, д,  $J = 8.1$  Гц, H-3''', H-5'''), 7.30 (1H, м, H-4''')], и *транс*-олефиновой группы [ $\delta_{\text{H}}$  7.61 (1H, д,  $J = 16.0$  Гц, H-7'''), 6.35 (1H, д,  $J = 16.0$  Гц, H-8''')]. Сдвиг в слабое поле сигналов глюкопиранозы H-6'' ( $\delta_{\text{H}}$  4.47, 4.11) и C-6'' ( $\delta_{\text{C}}$  64.6), а также корреляции в спектре НМВС между сигналами водорода H-6'' глюкопиранозы и углерода карбонильной группы циннамоильного фрагмента ( $\delta_{\text{H}}$  168.2) позволили определить место присоединения ацильной группы у C-6'' углеводного остатка. На основании имеющихся данных соединение **11** представляло собой *6-гидроксилитеолин-7-O-(6''-O-циннамоил)- $\beta$ -D-глюкопиранозид (раунозид В)*. Ацилированные гликозиды 6-гидроксилитеолина с фрагментом коричной кислоты ранее описаны не были.

**Раунозид В (11).** C<sub>30</sub>H<sub>26</sub>O<sub>13</sub>. УФ-спектр (MeOH, λ<sub>max</sub>, нм): 253, 283, 347. ИК-спектр (ν, см<sup>-1</sup>): 3381, 1680, 1645, 1620, 1561. ESI-MS, m/z: 593 [M-H]<sup>-</sup>; [MS<sup>2</sup>] 593→463, 301; [MS<sup>3</sup>] 463→301.

Соединение **12** согласно данным гидролиза и МС представляло собой неацелированный глюкозид 6-гидроксилитеолина. В спектре ЯМР <sup>13</sup>С сигнал С-7 находился в более слабом поле (δ<sub>с</sub> 153.6), что указывало на отсутствие заместителей у гидроксила по данному положению. Напротив, сигнал С-4' был смещен в сильное поле (δ<sub>с</sub> 148.7), что характерно для 4'-О-гликозидов. Существование корреляций в спектре НМВС между сигналами Н-1'' глюкопиранозы (δ<sub>н</sub> 4.90) и С-4' агликона (δ<sub>с</sub> 148.7) указывало на то, что углеводный заместитель был присоединен в положение С-4', т.е. соединение **12** представляло собой *6-гидроксилитеолин-4'-О-β-D-глюкопиранозид (раунозид С)*.



**12**

**Раунозид С (12).** C<sub>21</sub>H<sub>20</sub>O<sub>12</sub>. УФ-спектр (MeOH, λ<sub>max</sub>, нм): 287, 335. ИК-спектр (ν, см<sup>-1</sup>): 3381, 1679, 1615. ESI-MS, m/z: 463 [M-H]<sup>-</sup>; [MS<sup>2</sup>] 463→301.

В спектре ЯМР <sup>13</sup>С соединения **13** наблюдался слабополюный сдвиг сигнала С-6 (δ<sub>с</sub> 132.7), а также дополнительные сигналы в сильном поле при 60.6 м.д. и в спектре ЯМР <sup>1</sup>Н при 3.91 м.д. (3Н, с), что указывало на метоксилирование гидроксильной группы у С-6, характерное для непетина (6-метоксилитеолина). Сдвиг сигнала С-7 агликона в сильное поле (δ<sub>с</sub> 156.3) в сравнении с незамещенным непетином свидетельствовал о гликозилировании по данному положению. Сигналы в ароматической области спектра ЯМР <sup>1</sup>Н [δ<sub>н</sub> 6.84 (1Н, д, J = 2.0 Гц, Н-2'''), 6.51 (1Н, д, J = 8.1 Гц, Н-5'''), 6.66 (1Н, дд, J = 8.1, 2.0 Гц, Н-6'''), 7.54 (1Н, д, J = 16.0 Гц, Н-7'''), 6.22 (1Н, д, J = 16.0 Гц, Н-8''')], данные гидролиза и МС указывали на присутствие остатка *транс*-кофейной кислоты. Место присоединения последнего у С-6'' было установлено по слабополюному сдвигу сигналов глюкопиранозы Н-6'' (δ<sub>н</sub> 4.42, 4.08) и С-6'' (δ<sub>с</sub> 64.8), а также обнаружению кросс-пиков в спектре НМВС между сигналами Н-6'' и С-9''' (δ<sub>н</sub>/δ<sub>с</sub> 4.42, 4.08/168.7). Полученные сведения позволили охарактеризовать **13**, как *непетин-7-О-(6''-О-кофеил)-β-D-глюкопиранозид (раунозид D)*.

**Раунозид D (13).** C<sub>31</sub>H<sub>28</sub>O<sub>15</sub>. УФ-спектр (MeOH, λ<sub>max</sub>, нм): 273, 336. ИК-спектр (ν, см<sup>-1</sup>): 3382, 1689, 1645, 1624, 1560. ESI-MS, m/z: 639 [M-H]<sup>-</sup>; [MS<sup>2</sup>] 639→477, 315; [MS<sup>3</sup>] 477→315; 315→301.

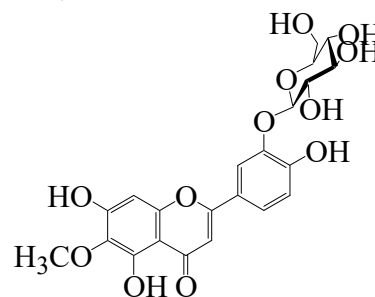
Соединение **14** отличалось от **13** набором сигналов в спектрах ЯМР <sup>1</sup>Н и <sup>13</sup>С, обусловленных присутствием фрагмента коричной кислоты. Присутствие последней также подтверждалось данными гидролиза, УФ и МС (m/z 607, 477, 315). Учитывая сдвиги в слабое поле сигналов Н-6'' (δ<sub>н</sub> 4.38, 4.08) и С-6'' глюкопиранозы (δ<sub>с</sub> 64.9), а также наличие корреляций в спектре НМВС между сигналами Н-6'' и С-9''' (δ<sub>н</sub>/δ<sub>с</sub> 4.38, 4.08/168.5), фрагмент



коричной кислоты был присоединен к атому С-6'' глюкозы, что указывало на строение **14** как *непетин-7-О-(6''-О-циннамоил)-β-D-глюкопиранозид (раунозид Е)*. Ранее ацил-гликозиды непетина с фрагментами коричной и кофейной кислот описаны не были.

**Раунозид Е (14)**. C<sub>31</sub>H<sub>28</sub>O<sub>13</sub>. УФ-спектр (MeOH, λ<sub>max</sub>, нм): 274, 345. ИК-спектр (ν, см<sup>-1</sup>): 3375, 1673, 1641, 1622, 1552. ESI-MS, m/z: 607 [M-H]<sup>-</sup>; [MS<sup>2</sup>] 607→477, 315; [MS<sup>3</sup>] 477→315; 315→301.

Результаты УФ, МС и гидролиза для соединения **15** указывали на то, что оно являлось моноглюкозидом непетина. Слабополюный сдвиг сигнала С-3' (δ<sub>с</sub> 145.0) и кросс-пики в спектре НМВС между сигналами Н-1'' глюкопиранозы [δ<sub>н</sub> 4.93 (1H, д, J = 8.0 Гц)] и С-3' агликона указывали на расположение углеводного заместителя при атоме С-3'. Таким образом, соединение **15** представляло собой *непетин-3'-О-β-D-глюкопиранозид (раунозид F)*.



**15**

**Раунозид F (15)**. C<sub>22</sub>H<sub>22</sub>O<sub>12</sub>. УФ-спектр (MeOH, λ<sub>max</sub>, нм): 279, 341. ИК-спектр (ν, см<sup>-1</sup>): 3385, 1671, 1610. ESI-MS, m/z: 477 [M-H]<sup>-</sup>; [MS<sup>2</sup>] 477→315; [MS<sup>3</sup>] 315→301.

С использованием данных МС и ЯМР для **16** была определена формула C<sub>30</sub>H<sub>26</sub>O<sub>14</sub>. Результаты гидролиза свидетельствовали о том, что соединение являлось глюкозидом лютеолина, содержащим фрагмент кофейной кислоты. Сильнополюный сдвиг сигнала С-7 в спектре ЯМР <sup>13</sup>С (δ<sub>с</sub> 162.1) относительно незамещенного лютеолина и кросс-пики в спектре НМВС между сигналами Н-1'' глюкопиранозы [δ<sub>н</sub> 4.81 (1H, д, J = 8.0 Гц)] и С-7 указывали на то, что **16** является производным лютеолин-7-О-глюкозида. В ароматической области спектра ЯМР <sup>1</sup>Н присутствовали сигналы, отнесенные к фрагменту кофейной кислоты. Расположение сигналов глюкопиранозы Н-2'' (δ<sub>н</sub> 4.78) и С-2'' (δ<sub>с</sub> 76.2) в более слабом поле свидетельствовало о наличии замещения, которое было обусловлено присутствием остатка кофейной кислоты, на что указывали корреляции в спектре НМВС (Н-2''/С-9''' 4.78/168.9). Полученные сведения позволили определить строение **16**, как *лютеолин-7-О-(2''-О-кофеил)-β-D-глюкопиранозид (раунозид G)*.

**Раунозид G (16)**. C<sub>30</sub>H<sub>26</sub>O<sub>14</sub>. УФ-спектр (MeOH, λ<sub>max</sub>, нм): 255, 269, 335. ИК-спектр (ν, см<sup>-1</sup>): 3372, 1674, 1643, 1622, 1558. ESI-MS, m/z: 609 [M-H]<sup>-</sup>; [MS<sup>2</sup>] 609→447, 285; [MS<sup>3</sup>] 447→285.

## 6. Фенольные соединения видов семейства *Lamiaceae*

В результате хроматографического разделения экстракта из листьев *Nepeta cataria*, выращенного в культуре, было выделено 31 соединение, в т.ч. 24 флавоноида (апигенин, генкванин, акацетин, лютеолин, хризозеиол, ладанеин, цирсимаритин, сальвингенин, цирсилинеол, тимусин,

ксантомикрол, гарденин В, 8-гидроксицирсилол, тимонин, космосин, апигенин-7-*O*-глюкуронид, изороифолин, тилианин, акацетин-7-*O*-глюкуронид, линарин, цинарозид, лютеолин-7-*O*-глюкуронид, сколимосид, лютеолин-7-*O*-(6''-глюкуроно)-глюкозид)) и 7 фенилпропаноидов (кофейная кислота, кофеилтартроновая кислота, кафтаровая кислота, цикориевая кислота, фазеловая кислота, розмариновая кислота, 3-*O*-кофеилхинная кислота), строение которых было установлено на основании данных УФ, ИК, МС, ЯМР. Согласно данным ВЭЖХ, детектируемые уровни содержания отмечены для 12 соединений, количественное содержание которых было определено в листьях четырех образцов сырья (рис. 5).

Доминирующей группой соединений листьев *N. cataria* были фенилпропаноиды – 16.60–27.47 мг/г. Основным компонентом являлась кофеилтартроновая кислота, концентрация которой достигала 12.38–21.59 мг/г (75–81% от общего содержания фенилпропаноидов). Лютеолин-7-*O*-(6''-глюкуроно)-глюкозид являлся доминирующим флавоно-гликозидом листьев *N. cataria*, доля которого составляла 67–100% от общего содержания флавоноидов (0.38–8.88 мг/г).

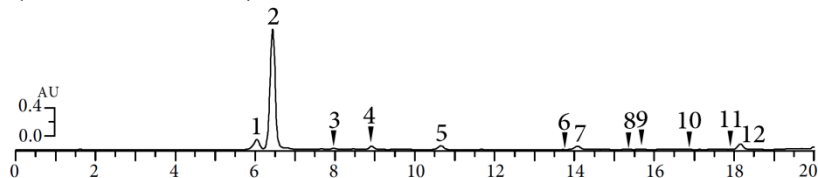


Рисунок 5 – Хроматограмма (МК-ВЭЖХ-УФ) спиртового экстракта из листьев *N. cataria* при 324 нм. 1 – кафтаровая кислота, 2 – кофеилтартроновая кислота, 3 – 3-*O*-кофеилхинная кислота, 4 – кофейная кислота, 5 – фазеловая кислота, 6 – цикориевая кислота, 7 – лютеолин-7-*O*-(6''-глюкуроно)-глюкозид, 8 – сколимосид, 9 – лютеолин-7-*O*-глюкуронид, 10 – изороифолин, 11 – апигенин-7-*O*-глюкуронид, 12 – розмариновая кислота.

Суммарное содержание идентифицированных фенольных соединений в изученных партиях растительного сырья было 25.48–29.20 мг/г. В результате изучения распределения фенольных соединений по органам *N. cataria* было впервые показано, что накопление соединений характеризовалось орган-специфичностью. Кофеилтартроновая кислота являлась доминирующим компонентом для листьев (21.59 мг/г) и стеблей (16.70 мг/г), розмариновая кислота – для корней (36.93 мг/г) и цветков (7.67 мг/г).

В результате хроматографического разделения экстракта из листьев *Nepeta multifida* был выделен новый флавоноид **17**. Среди известных соединений в листьях *N. multifida* были идентифицированы гликозиды апигенина и лютеолина, розмариновая кислота, сальвианоловые кислоты А и В, схизотенуин А и непетамултин А (рис. 6).

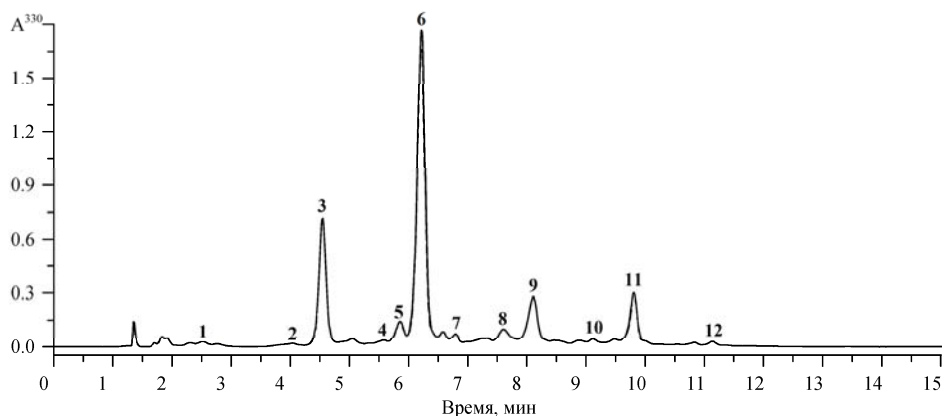


Рисунок 6 – Хроматограмма (ВЭЖХ-УФ) экстракта листьев *Nepeta multifida*. **1** – лютеолин-7-*O*-рутинозид, **2** – лютеолин-7-*O*-глюкозид, **3** – лютеолин-7-*O*-глюкуронид, **4** – апигенин-7-*O*-глюкозид, **5** – апигенин-7-*O*-глюкуронид, **6** – розмариновая кислота, **7** – сальвианоловая кислота В, **8** – сальвианоловая кислота А, **9** – лютеолин-7-*O*-(6''-*O*-ацетил)-глюкозид, **10** – апигенин-7-*O*-(6''-*O*-ацетил)-глюкозид, **11** – схизотенуин А, **12** – лютеолин-7-*O*-(3'',6''-ди-*O*-ацетил)-β-*D*-глюкопиранозид

Соединению **17** была определена формула  $C_{25}H_{24}O_{13}$  по данным МС (HR-ESI-MS,  $m/z$ : 531.4273; расч. 531.4064 для иона  $C_{25}H_{23}O_{13} [M-H]^-$ ) и ЯМР  $^{13}C$ . Данные УФ указывали на то, что **17** являлось флавоноидом группы лютеолина, а в масс-спектре  $MS^2$  были выявлены ионы, обусловленные удалением двух ацетильных групп ( $m/z$  531→489. 447) и фрагмента гексозы ( $m/z$  447→285).

В продуктах кислотного гидролиза соединения **17** были обнаружены лютеолин и *D*-глюкоза. Сигнал аномерного протона углеводного фрагмента находился в области 5.10 м.д. ( $\delta_H$ , д,  $J = 8.1$  Гц), что характерно для β-аномера глюкозы. Спектры ЯМР были близки к таковым лютеолин-7-*O*-β-*D*-глюкопиранозида за исключением дополнительных сигналов ацетильных групп в спектрах  $^1H$  ( $\delta_H$  1.95/2.07) и  $^{13}C$  ( $\delta_C$  20.5/21.4 м.д., 170.0/172.5 м.д.) (табл. 9). Сигналы протонов Н-3'' и Н-6'' глюкопиранозы у **17** были сдвинуты в слабое поле в сравнении с таковыми лютеолин-7-*O*-β-*D*-глюкопиранозида ( $\delta_H$  3.40→4.98 для Н-3''; 3.57/3.79→4.22/4.59 для Н-6''), что также наблюдалось для сигналов углерода С-3'' ( $\delta_C$  77.0→78.2) и С-6'' ( $\delta_C$  60.8→63.9) при одновременном сильнопольном сдвиге сигналов соседних атомов углерода ( $\delta_C$  С-2'' 74.5→72.8; С-4'' 70.9→69.5; С-5'' 78.0→75.6). Указанные особенности спектров ЯМР свидетельствовали о наличии замещения у С-3'' и С-6'' глюкопиранозы, что подтвердили существующие корреляции в спектре НМВС между сигналами протона Н-3'' с  $\delta_H$  4.98 м.д. и Н-6'' с  $\delta_H$  4.22/4.59 м.д. и углеродов ацетильных карбонил с  $\delta_C$  172.5 и 170.0 м.д., соответственно. Таким образом, соединение **17** представляло собой лютеолин-7-*O*-(3'',6''-ди-*O*-ацетил)-β-*D*-глюкопиранозид.

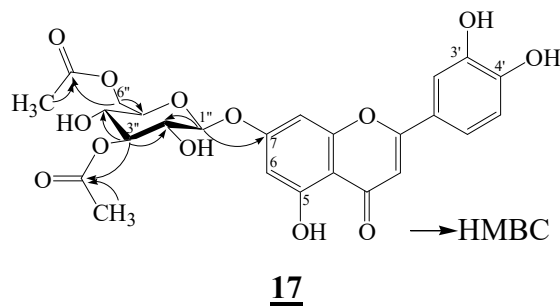


Таблица 9 – Спектры ЯМР  $^1\text{H}$  (500 МГц, DMSO- $d_6$ , 298 К,  $\delta_{\text{H}}$ , м.д., J/Гц) и  $^{13}\text{C}$  (125 МГц, DMSO- $d_6$ , 298 К,  $\delta_{\text{C}}$ , м.д.) соединения **17**.

C-атом	$\delta_{\text{H}}^*$	$\delta_{\text{C}}^*$	C-атом	$\delta_{\text{H}}^*$	$\delta_{\text{C}}^*$
2		165.5	4'		146.9
3	6.75 (1H, c)	103.5	5'	6.92 (1H, д, J = 8.1 Гц)	116.2
4		181.9	6'	7.51 (1H, дд, J = 8.1/2.1 Гц)	119.5
5		161.3	1''	5.10 (1H, д, J = 8.1 Гц)	102.3
6	6.44 (1H, д, J = 2.0 Гц)	99.5	2''	3.69 (1H, дд, J = 9.0/8.1 Гц)	72.8
7		162.9	3''	4.98 (1H, дд, J = 9.5/9.0 Гц)	78.2
8	6.79 (1H, д, J = 2.0 Гц)	94.9	4''	3.40 (1H, дд, J = 9.5/9.6 Гц)	69.5
9		157.3	5''	3.72–3.73 (1H, м)	75.6
10		105.8	6''	4.22 (1H, дд, J = 12.0/5.1 Гц)	63.9
				4.59 (1H, д, J = 12.0 Гц)	
1'		121.5	3''-CH <sub>3</sub> CO	2.07 (3H, c)	172.5; 20.5
2'	7.46 (1H, д, J = 2.1 Гц)	114.0	6''-CH <sub>3</sub> CO	1.95 (3H, c)	170.0; 21.4
3'		146.2			

\*Лютеолин-7-*O*- $\beta$ -D-глюкопиранозид: сигналы 7-*O*- $\beta$ -D-глюкопиранозы –  $\delta_{\text{H}}$  5.12 (1H, д, J = 8.1 Гц; H-1''), 3.35–3.36 (1H, м; H-2''), 3.40–3.42 (1H, м; H-3''), 3.20–3.21 (1H, м; H-4''), 3.48–3.52 (1H, м; H-5''), 3.57 (1H, дд, J = 12.0/5.1 Гц; H-6В''), 3.79 (1H, д, J = 12.0 Гц; H-6А''); 102.8 (C-1''), 74.5 (C-2''), 77.0 (C-3''), 70.9 (C-4''), 78.0 (C-5''), 60.8 (C-6'').

### Лютеолин-7-*O*-(3'',6''-ди-*O*-ацетил)- $\beta$ -D-глюкопиранозид (17).

$\text{C}_{25}\text{H}_{24}\text{O}_{13}$ . УФ-спектр (MeOH,  $\lambda_{\text{max}}$ , нм): 254, 269, 347. HR-ESI-MS,  $m/z$ : 531.4273 (расч. 531.4064 для  $\text{C}_{25}\text{H}_{23}\text{O}_{13}$  [M-H]<sup>-</sup>). ESI-MS,  $m/z$  (%): 531 [M-H]<sup>-</sup>. ESI-MS<sup>2</sup> [531]: 489 [(M-H)-42]<sup>-</sup> (9), 447 [(M-H)-42×2]<sup>-</sup> (12), 285 [(M-H)-42×2-162]<sup>-</sup> (100).

Доминирующим соединением листьев *N. multifida* была розмариновая кислота, содержание которой варьировало от 8.36 мг/г в начале вегетации до наибольшего показателя в фазы цветения и плодоношения (32.68–35.71 мг/г), снижаясь к концу вегетации до 14.01 мг/г. Содержание других гидроксикиннамов, включая схизотенуин А, сальвианоловые кислоты А и В составило 5.29–9.56, 0.59–2.35 и 0.53–1.40 мг/г, соответственно, а наибольшая концентрация данной группы фенолов была выявлена в фазу цветения (46.38 мг/г). Основной группой флавоноидных соединений были глюкозиды лютеолина, причем лютеолин-7-*O*-глюкуронид и его 6''-*O*-ацетильное производное были основными флавонами листьев *N. multifida*.

В результате хроматографического разделения этилацетатой фракции из корней *N. multifida* были выделены 15 соединений, в том числе **18** и **19**, оказавшиеся новыми гликозидами розмариновой кислоты. Соединение **18** с молекулярной формулой  $\text{C}_{26}\text{H}_{30}\text{O}_{13}$  (HR-ESI-MS,  $m/z$ : эксп. 551.3731, расч. 551.4784 для  $\text{C}_{26}\text{H}_{31}\text{O}_{13}$  [M+H]<sup>+</sup>) содержало в масс-спектре сигналы протонированного иона ( $m/z$  551) и его дегексозилированного фрагмента ( $m/z$  389), который в свою очередь давал две деметилированные частицы ( $m/z$  375, 361) и каскад дочерних ионов, характерных для розмариновой кислоты (**RA**;  $m/z$  199, 195, 181, 163, 134, 123).

Таблица 10 – Спектры ЯМР  $^1\text{H}$  (500 МГц, MeOH- $d_4$ , 298 К,  $\delta_{\text{H}}$ , м.д., J/Гц) и  $^{13}\text{C}$  (125 Гц, MeOH- $d_4$ , 298 К,  $\delta_{\text{C}}$ , м.д.) соединений **18**, **18a** и **19**.

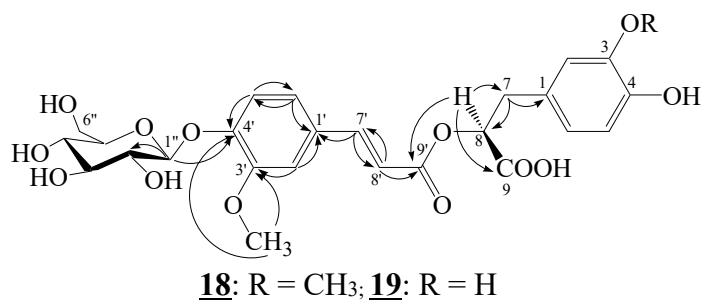
С-атом	18			18a		19		
	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	HMBC	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	HMBC
1		130.5			130.6		129.3	
2	6.63 (1H, д, J = 2.1)	115.2	C-1, C-3	6.60 (1H, д, J = 2.0)	115.5	6.71 (1H, д, J = 2.0)	117.6	C-1, C-3
3		151.5			151.8		146.7	
4		143.0			143.2		145.2	
5	6.45 (1H, д, J = 8.0)	116.7	C-4, C-6	6.48 (1H, д, J = 8.0)	116.9	6.51 (1H, д, J = 8.1)	116.9	C-4, C-6
6	6.40 (1H, дд, J = 2.1, 8.0)	121.3	C-1, C-5	6.42 (1H, дд, J = 2.0, 8.0)	121.6	6.47 (1H, дд, J = 2.0, 8.1)	121.4	C-1, C-5
7	2.85 (1H, дд, J = 9.4, 14.0) 2.99 (1H, дд, J = 3.1, 14.0)	37.6	C-1, C-8	2.82 (1H, дд, J = 9.5, 14.1) 2.96 (1H, дд, J = 3.2, 14.1)	37.8	2.81 (1H, дд, J = 9.3, 14.0) 3.01 (1H, дд, J = 3.0, 14.0)	37.4	C-1, C-8
8	5.09 (1H, дд, J = 3.1, 9.4)	73.3	C-7, C-9, C-9'	5.02 (1H, дд, J = 3.2, 9.5)	73.5	5.05 (1H, дд, J = 3.0, 9.3)	73.5	C-7, C-9, C-9'
9		169.7			169.4		169.8	
3-OCH <sub>3</sub>	3.98 (3H, с)	56.9	C-2, C-3, C-4	3.95 (3H, с)	56.6			
1'		128.4			128.6		128.3	
2'	6.93 (1H, д, J = 2.0)	112.5	C-1', C-3'	6.92 (1H, д, J = 2.1)	112.6	6.90 (1H, д, J = 2.1)	112.7	C-1', C-3'
3'		153.0			151.3		153.3	
4'		148.7			149.5		148.5	
5'	6.50 (1H, д, J = 8.2)	115.2	C-4', C-6'	6.53 (1H, д, J = 8.0)	116.6	6.53 (1H, д, J = 8.2)	115.0	C-4', C-6'
6'	6.79 (1H, дд, J = 2.0, 8.2)	123.9	C-1', C-5'	6.75 (1H, дд, J = 2.1, 8.0)	123.7	6.81 (1H, дд, J = 2.1, 8.2)	123.7	C-1', C-5'
7'	7.38 (1H, д, J = 16.0)	147.5	C-1', C-8'	7.40 (1H, д, J = 16.0)	147.0	7.42 (1H, д, J = 15.9)	147.9	C-1', C-8'
8'	6.12 (1H, д, J = 16.0)	115.7	C-7', C-9'	6.10 (1H, д, J = 16.0)	115.6	6.08 (1H, д, J = 15.9)	115.3	C-7', C-9'
9'		168.3			168.7		168.4	
3'-OCH <sub>3</sub>	3.85 (3H, с)	56.4	C-3', C-4'	3.87 (3H, с)	56.3	3.84 (3H, с)	56.6	C-3', C-4'
1''	4.85 (1H, д, J = 7.4)	101.7	C-4', C-2''			4.80 (1H, д, J = 7.4)	101.5	C-4', C-2''
2''	3.28 (1H, м)	73.6	C-1'', C-3''			3.25 (1H, м)	73.4	C-1'', C-3''
3''	3.54 (1H, м)	75.5	C-2'', C-4''			3.50 (1H, м)	75.2	C-2'', C-4''
4''	3.45 (1H, м)	69.5	C-3'', C-5'', C-6''			3.37 (1H, м)	69.9	C-3'', C-5''
5''	3.31 (1H, м)	77.0	C-4'', C-6''			3.29 (1H, м)	77.1	C-4'', C-6''
6''	3.91 (1H, дд, J = 2.0, 12.1) 3.70 (1H, дд, J = 6.1, 12.1)	60.9	C-4'', C-5''			3.87 (1H, дд, J = 2.0, 12.0) 3.67 (1H, дд, J = 6.1, 12.0)	60.7	C-4'', C-5''

После гидролиза с 2 М ТФУ были обнаружены D-глюкоза и агликон **18a** (C<sub>20</sub>H<sub>20</sub>O<sub>8</sub>), дававший при деметилировании в безводной ТФУ **РА**. Абсолютная конфигурация **РА** у С-8 определена как *R* по данным оптического вращения ( $[\alpha]_D +73.5^\circ$ ). Спектры ЯМР <sup>1</sup>H и <sup>13</sup>C **18a** были сходны с таковыми **РА** кроме дополнительных сигналов двух метильных групп { $\delta_H$  3.87, 3.95 (3H, с);  $\delta_C$  56.3, 56.6}, расположенных у С-3 и С-3', на что указывали сдвиги в слабое поле сигналов углерода ( $\delta_C$  146.5→151.8, 146.9→151.3, соответственно) в сравнении с таковыми **РА** (табл. 10), а также корреляции в спектре НМВС между протонами метильных групп и углеродами 3 и 3'. Полученные сведения указывали на то, что **18a** представляло собой 3,3'-ди-*O*-метильный эфир розмариновой кислоты, а **18** – его *O*-глюкозид. Расположение глюкозного фрагмента было определено по данным спектра ЯМР <sup>13</sup>C, в котором наблюдалось смещение в сильное поле сигнала С-4' ( $\delta_C$  149.5→148.7) при одновременном слабopольном сдвиге сигнала соседнего атома С-3' ( $\delta_C$  151.3→153.0), что типично при гликозилировании гидроксигруппы в *пара*-положении в 3,4-диокси-замещенном бензольном ядре. Наличие корреляций в спектре НМВС между Н-1'' и С-4' ( $\delta_H/\delta_C$  4.85/148.7) также указывало на присутствие углеводного фрагмента у С-4'. Таким образом, строение **18** было определено как 3,3'-ди-*O*-метилового эфира розмариновой кислоты 4'-*O*- $\beta$ -D-глюкопиранозид (непетамултин С).

**Розмариновой кислоты 3,3'-ди-*O*-метильный эфир (**18a**).** C<sub>20</sub>H<sub>20</sub>O<sub>8</sub>.  $[\alpha]_D +57.4^\circ$  (с = 1.0, MeOH). УФ-спектр (MeOH,  $\lambda_{max}$ , нм): 322. HR-ESI-MS, *m/z*: 389.3012 (расч. 389.3478 для C<sub>20</sub>H<sub>21</sub>O<sub>8</sub> [M+H]<sup>+</sup>). ESI-MS, *m/z* (%): 389 [M+H]<sup>+</sup> (100), 375 [(M+H)-C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>O<sub>5</sub>-CH<sub>2</sub>]<sup>+</sup> (25), 361 [(M+H)-C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>O<sub>5</sub>-2×CH<sub>2</sub>]<sup>+</sup> (33), 213 [C<sub>10</sub>H<sub>12</sub>O<sub>5</sub>+H]<sup>+</sup> (9), 177 [C<sub>10</sub>H<sub>8</sub>O<sub>3</sub>+H]<sup>+</sup> (11). ESI-MS<sup>2</sup> [361]: 199 (100), 195 (27), 181 (40), 163 (56), 134 (10), 123 (9).

**Непетамултин С (**18**).**

C<sub>26</sub>H<sub>30</sub>O<sub>13</sub>.  $[\alpha]_D +11.1^\circ$  (с = 1.0, MeOH). УФ-спектр (MeOH,  $\lambda_{max}$ , нм): 323. HR-ESI-MS, *m/z*: 551.3731 (расч. 551.4784 для C<sub>26</sub>H<sub>31</sub>O<sub>13</sub> [M+H]<sup>+</sup>). ESI-MS, *m/z* (%): 551 [M+H]<sup>+</sup> (100), 389 [(M+H)-C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>O<sub>5</sub>]<sup>+</sup> (25). ESI-MS<sup>2</sup> [389]: 375 [(M+H)-C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>O<sub>5</sub>-CH<sub>2</sub>]<sup>+</sup> (73), 361 [(M+H)-C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>O<sub>5</sub>-2×CH<sub>2</sub>]<sup>+</sup> (100), 213 [C<sub>10</sub>H<sub>12</sub>O<sub>5</sub>+H]<sup>+</sup> (14), 177 [C<sub>10</sub>H<sub>8</sub>O<sub>3</sub>+H]<sup>+</sup> (18). ESI-MS<sup>3</sup> [361]: 199 (100), 195 (28), 181 (44), 163 (58), 134 (15), 123 (8).



Молекулярная масса соединения **19** была на 14 а.е.м. меньше, чем у **18** (молекулярная формула C<sub>25</sub>H<sub>28</sub>O<sub>13</sub>; HR-ESI-MS, *m/z*: эксп. 537.4723, расч. 537.4532 для C<sub>25</sub>H<sub>29</sub>O<sub>13</sub> [M+H]<sup>+</sup>), а данные спектров ЯМР <sup>1</sup>H и <sup>13</sup>C отличались от таковых **18** присутствием сигналов одной метильной группы ( $\delta_H$  3.84;  $\delta_C$  56.6) (табл. 10). Расположение последней было определено у С-3' по данным

спектра НМВС (корреляции между Н-1'' и С-4' ( $\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$  4.80/148.5) и тем фактом, что сигнал С-3 находился в более сильном поле (146.7 м.д.) в сравнении с таковым **18**, что указывало на наличие незамещенной гидроксильной группы у атома С-3. В результате гидролиза с 2 М ТФУ был выделен агликон **19**, охарактеризованный как известный 3'-О-метиловый эфир розмариновой кислоты. В результате было установлено, что **19** представляло собой 3'-О-метилового эфира розмариновой кислоты 4'-О- $\beta$ -D-глюкопиранозид (непетамултин D).

**Непетамултин D (19)**.  $\text{C}_{25}\text{H}_{28}\text{O}_{13}$ .  $[\alpha]_{\text{D}} +15.4^{\circ}$  ( $c = 1.0$ , MeOH). УФ-спектр (MeOH,  $\lambda_{\text{max}}$ , нм): 325. HR-ESI-MS,  $m/z$ : 537.4723 (расч. 537.4532 для  $\text{C}_{25}\text{H}_{29}\text{O}_{13}$   $[\text{M}+\text{H}]^{+}$ ). ESI-MS,  $m/z$  (%): 537  $[\text{M}+\text{H}]^{+}$  (100), 375  $[(\text{M}+\text{H})-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5]^{+}$  (33), 361  $[(\text{M}+\text{H})-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5-\text{CH}_2]^{+}$  (54). ESI-MS<sup>2</sup> [361]: 199 (100), 195 (27), 181 (46), 163 (52), 134 (14), 123 (5).

При анализе экстрактов травы и корней *Dracoscephalum austriacum* и *D. botryoides*, выращенных в условиях культуры, было впервые идентифицировано 50 соединений, в том числе 2 производных бензойной кислоты, 17 фенилпропаноидов, 4 лигнана и 27 флавоноидов, производных лютеолина, апигенина, акацетина, эриодиктиола и нарингенина (рис. 7).

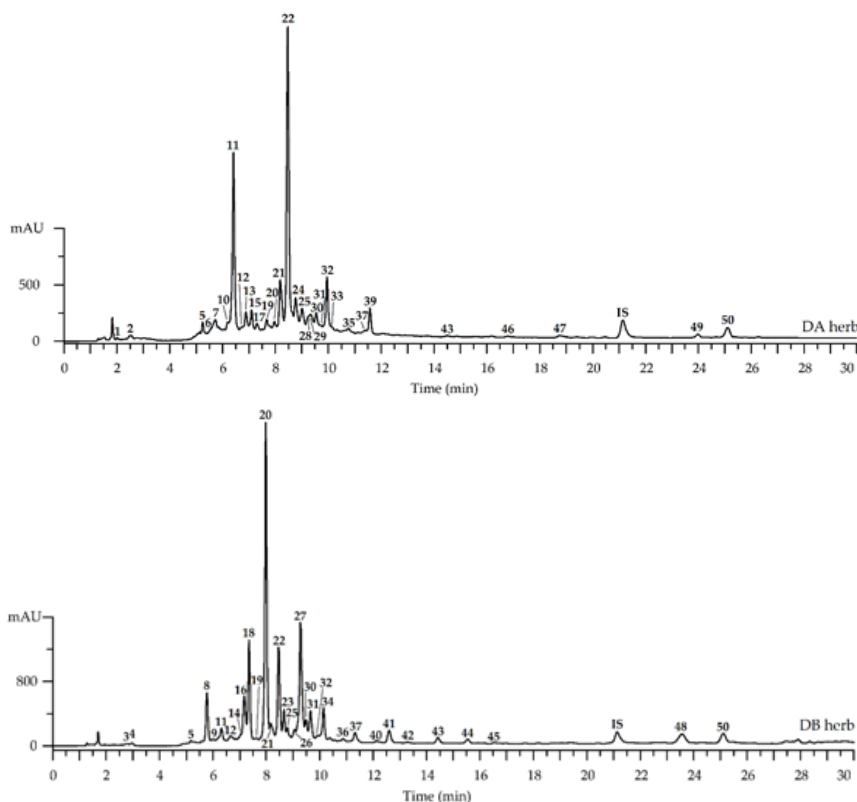


Рисунок 7 – Хроматограммы (ВЭЖХ-ДМД-ИЭР-МС) экстрактов травы *D. botryoides* и *D. austriacum*. Соединения пронумерованы согласно 10.3390/plants11162126.

Наибольшее содержание фенольных соединений характерно для травы обоих видов *Dracoscephalum*, тогда как наименьшее фенольное разнообразие отмечено для корней. Доминирующими соединениями травы *D. botryoides* являлись лютеолин 7-О-глюкозид, лютеолин 7-О-(6''-О-ацетил)-глюкозид, лютеолин 4'-О-глюкозид и эриодиктиол 7-О-глюкозид, тогда как лютеолин

4'-*O*-глюкозид и 5-*O*-кофеилхинная кислота преобладали в траве *D. austriacum*. Корни обоих видов имели схожий химический профиль с доминированием розмариновой кислоты и литоспермовой кислоты В.

Исследование биологической активности новых выделенных соединений показало, что максимальное ингибирование  $\alpha$ -глюкозидазы характерно для флавоноидов раунозида А (**10**) и спиреасалицина (**1**) (табл. 11).

Таблица 11 – Антиглюкозидазная и антиацетилхолинэстеразная активность соединений **1**–**19**.

Соединение	Антиглюкозидазная активность, IC <sub>50</sub> , $\mu\text{M} \pm \text{S.D.}$	Антиацетилхолинэстеразная активность, IC <sub>50</sub> , $\mu\text{M} \pm \text{S.D.}$
Гидроксициннаматы		
1,5-Ди- <i>O</i> -изоферулоилхинная кислота ( <b>6</b> )	> 200	78.13 $\pm$ 1.64
3,3'-Ди- <i>O</i> -метилового эфира розмариновой кислоты 4'- <i>O</i> -глюкозид (непетамултин С, <b>18</b> )	39.22 $\pm$ 0.98	33.19 $\pm$ 0.66
3'- <i>O</i> -Метилового эфира розмариновой кислоты 4'- <i>O</i> -глюкозид (непетамултин D, <b>19</b> )	58.16 $\pm$ 1.74	42.26 $\pm$ 1.27
Кумарины		
Эскулетин-7- <i>O</i> -неогесперидозид (неоизобайссеозид, <b>7</b> )	60.11 $\pm$ 1.80	50.31 $\pm$ 1.26
Флавоноиды		
Апигенин-7- <i>O</i> -(4''-малонил)-глюкозид ( <b>8</b> )	> 200	> 200
Апигенин-7- <i>O</i> -(4''-малонил-6''-ацетил)-глюкозид ( <b>9</b> )	> 200	136.28 $\pm$ 3.82
Лютеолин-7- <i>O</i> -(2''- <i>O</i> -кофеил)-глюкозид (раунозид G, <b>16</b> )	24.06 $\pm$ 0.72	93.70 $\pm$ 2.72
Лютеолин-7- <i>O</i> -(3'',6''-ди- <i>O</i> -ацетил)-глюкозид ( <b>17</b> )	25.69 $\pm$	108.37 $\pm$ 2.71
6-Гидроксилютеолин-7- <i>O</i> -(2''- <i>O</i> -кофеил)-глюкозид (раунозид А, <b>10</b> )	15.83 $\pm$ 0.44	49.24 $\pm$ 1.48
6-Гидроксилютеолин-7- <i>O</i> -(6''- <i>O</i> -циннамоил)-глюкозид (раунозид В, <b>11</b> )	27.35 $\pm$ 0.79	63.11 $\pm$ 1.89
6-Гидроксилютеолин-4'- <i>O</i> -глюкозид (раунозид С, <b>12</b> )	30.19 $\pm$ 0.91	51.99 $\pm$ 1.25
Непетин-7- <i>O</i> -(6''- <i>O</i> -кофеил)-глюкозид (раунозид D, <b>13</b> )	32.12 $\pm$ 0.87	56.16 $\pm$ 1.46
Непетин-7- <i>O</i> -(6''- <i>O</i> -циннамоил)-глюкозид (раунозид E, <b>14</b> )	25.97 $\pm$ 0.73	46.14 $\pm$ 1.29
Непетин-3'- <i>O</i> -глюкозид (раунозид F, <b>15</b> )	23.08 $\pm$ 0.56	76.22 $\pm$ 2.13
Кверцетин-3- <i>O</i> -[6''-(4'''-гидрокси-2'''-метиленбутироил)]-глюкозид (спиреасалицин, <b>1</b> )	20.32 $\pm$ 0.51	40.07 $\pm$ 1.12
Кверцетин-3- <i>O</i> -(3'''- <i>O</i> -рамнозил)-глюкозид (календозид II, <b>3</b> )	26.11 $\pm$ 0.78	49.98 $\pm$ 1.40
Кверцетин-3- <i>O</i> -(4'''- <i>O</i> -рамнозил)-глюкозид (календозид I, <b>2</b> )	31.17 $\pm$ 0.90	37.12 $\pm$ 0.93
Изорамнетин-3- <i>O</i> -(3'''- <i>O</i> -рамнозил)-глюкозид (календозид IV, <b>5</b> )	47.12 $\pm$ 1.37	74.32 $\pm$ 2.23
Изорамнетин-3- <i>O</i> -(4'''- <i>O</i> -рамнозил)-глюкозид (календозид III, <b>4</b> )	54.22 $\pm$ 1.46	69.21 $\pm$ 1.87
Вещества сравнения		
Акарбоза	431.17 $\pm$	-
Ривастигмин	-	58.32 $\pm$ 1.46

В свою очередь, наиболее выраженной антиацетилхолинэстеразной активностью обладали гидроксициннамат непетамултин С (**18**) и флавоноид календозид I (**2**). Проведенные исследования показали, что растения, произрастающие и выращенные в условиях культуры в Байкальском регионе, являются уникальным источником биологически активных фенольных соединений, обладающих антиацетилхолинэстеразной и анти- $\alpha$ -глюкозидазной активностью, что свидетельствует об их перспективности для профилактики и лечения социально значимых заболеваний.

## 7. Разработка ФСП «Календулы лекарственной цветки» и «Календулы лекарственной трава»

Была осуществлена разработка ФСП «Календулы лекарственной цветки» на основании действующей ФС «Календулы лекарственной цветки» (ГФ XIV изд., ФС.2.5.0030.15). В раздел «Подлинность» предложено включение метода высокоэффективной тонкослойной хроматографии и метода микроколоночной высокоэффективной жидкостной хроматографии для определения гликозидов изорамнетина. Рекомендовано включение методики



определения суммарного содержания флавоноидов и фенилпропаноидов методом твердофазной экстракции / спектрофотометрии в раздел “Количественное определение”. Установлены рекомендуемые показатели содержания действующих групп соединений: флавоноиды – не менее 1.2%, фенилпропаноиды – не менее 0.2%. Осуществлена разработка ФСП “Календулы лекарственной трава” на основе существующего ТУ “Календулы трава” (ТУ 9375-090-04868244-98). Предложено включение раздела “Подлинность”, в т.ч. метода высокоэффективной тонкослойной хроматографии для определения тритерпеновых гликозидов и метода микроколоночной высокоэффективной жидкостной хроматографии для определения гликозидов кверцетина и фенилпропаноидов. Рекомендовано включение методики определения суммарного содержания флавоноидов и фенилпропаноидов методом твердофазной экстракции / спектрофотометрии в раздел “Количественное определение”. Установлены рекомендуемые показатели содержания действующих групп соединений: флавоноиды – не менее 0.5%, фенилпропаноиды – не менее 0.5%.

## ВЫВОДЫ

1. Впервые осуществлено скрининговое исследование в отношении ингибирования активности ферментов ацетилхолинэстеразы и  $\alpha$ -глюкозидазы экстрактами растений семейств *Rosaceae*, *Asteraceae*, *Lamiaceae*, произрастающих в Байкальском регионе, а также некоторых видов, выращенных в условиях культуры. Определены перспективные виды растений для дальнейшего химического исследования, в результате чего было выявлено более 400 компонентов, в том числе 19 новых природных соединений.
2. Было проведено углубленное изучение фенолома растений семейства *Rosaceae*, произрастающих в Байкальском регионе. В результате хромато-масс-спектрометрического исследования установлено наличие 60 соединений в *Agrimonia eupatoria* subsp. *asiatica*, 27 соединений в *Geum aleppicum*, 41 соединения в *Sibbaldianthe bifurca*, 63 соединений в *Rubus matsumuranus*. Из цветущих побегов *Spiraea salicifolia* был выделен новый ацилированный гликозид кверцетина, **спиреасалицин**. Разработаны методики разделения фенольных соединений в видах *Agrimonia eupatoria* subsp. *asiatica*, *Geum aleppicum*, *Sibbaldianthe bifurca*, *Rubus matsumuranus*, *Spiraea salicifolia*.
3. В результате изучения микробной трансформации хебулаговой и хебулиновой кислот было доказано образование уролитинов. Разработан способ получения уролитина D, обладающего гипогликемическим действием.
4. Изучение фенолома растений семейства *Asteraceae* привело к выделению 5 новых соединений из цветков *Calendula officinalis* (**календозиды I-IV**,

неоизобайссеозид). Из 18 фенольных соединений пыльцы *C. officinalis* одно оказалось новым природным соединением (**1,5-ди-О-изоферулоилхинная кислота**). В результате исследования краевых цветков *Matricaria chamomilla* было выделено 18 известных соединений и 2 новых гликозида апигенина. Из листьев *Leuzea uniflora* было выделено 46 соединений, из них 7 новых (**раунозиды А-Г**). Были разработаны методики количественного анализа некоторых фенольных соединений в видах *C. officinalis*, *M. chamomilla*, *L. uniflora* методом микроколоночной ВЭЖХ-УФ.

5. Из четырех видов семейства *Lamiaceae* было выделено 111 соединений, включая флавоноиды, фенилпропаноиды, лигнаны. В результате хроматографического разделения экстракта из листьев *Nepeta multifida* было выделено 15 известных соединений и новый флавоноид (**лютеолин-7-О-(3'',6''-ди-О-ацетил)-β-D-глюкопиранозид**). Из 15 соединений этилацетатой фракции корней *Nepeta multifida* два оказались новыми природными соединениями, идентифицированными как **непетамултин С и D**. При анализе экстрактов травы и корней *Dracosephalum austriacum* и *D. botryooides*, выращенных в условиях культуры, было впервые идентифицировано 50 соединений. Предложены методики количественного анализа некоторых фенольных соединений в видах *Nepeta* и *Dracosephalum*.
6. Определена активность новых природных соединений в отношении ингибирования ферментов α-глюкозидазы и ацетилхолинэстеразы. Максимальное ингибирование α-глюкозидазы было отмечено для раунозида А и спиреасалицина; наибольшим ингибированием ацетилхолинэстеразы обладали непетамултин С и календозид I.
7. Оформлены проекты фармакопейных статей предприятия на “Календулы лекарственной цветки” и “Календулы лекарственной трава”.

## СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Кащенко, Н.И. Фенольные соединения и полисахариды соцветий *Calendula officinalis* / Н.И. Кащенко, Л.М. Танхаева, Д.Н. Оленников // “Новые достижения в химии и химической технологии растительного сырья”: V Всеросс. конф. с международн. участ. – Барнаул, 2012. – С. 262–263.
2. Кащенко, Н.И. Количественный анализ фенольных соединений в цветках календулы лекарственной (*Calendula officinalis* L.) методом микроколоночной ВЭЖХ / Н.И. Кащенко, Д.Н. Оленников // Бутлеровские сообщения. – 2013. – Т.36. – №12. – С. 66–74.
3. Kashchenko, N.I. Phenolic compounds of *Calendula officinalis* flowers cultivated in Buryatia / N.I. Kashchenko, D.N. Olennikov // “Traditional

- Medicine: Ways of Integration with Modern Health Care”: VI<sup>th</sup> Int. Sci. Conf. – Ulan-Ude, 2013. – P. 33–34.
4. Кащенко, Н.И. Антихолинэстеразная активность фенольных соединений *Calendula officinalis*, *Tagetes erecta* и *T. patula* / Н.И. Кащенко, Д.Н. Оленников // “Химия и технология растительных веществ”: VIII Всеросс. научн. конф. – Калининград, 2013. – С. 105.
  5. Kashchenko, N.I. New rhamnoglucosides of quercetin and isorhamnetin from *Calendula officinalis* flowers / N.I. Kashchenko, D.N. Olennikov // “Chemistry of Natural Compounds”: X<sup>th</sup> Int. Symp. – Bukhara, 2013. – P. 366.
  6. Olennikov, D.N. New isorhamnetin glucosides and other phenolic compounds from *Calendula officinalis* / D.N. Olennikov, N.I. Kashchenko // **Chemistry of Natural Compounds**. – 2013. – Vol. 49. – No. 5. – P. 717–729 (WOS; Q4).
  7. Кащенко, Н.И. Спектрофотометрический анализ фенольных соединений календулы лекарственной (*Calendula officinalis* L.). Ревизионное исследование существующих методов / Н.И. Кащенко, Д.Н. Оленников // Бутлеровские сообщения. – 2014. – Т.37. – №1. – С. 146–155.
  8. Olennikov, D.N. Componential profile and amylase inhibiting activity of phenolic compounds from *Calendula officinalis* L. leaves / D.N. Olennikov, N.I. Kashchenko // **The Scientific World Journal**. – 2014. – Vol. 2014. – No. 654193 (WOS; Q2).
  9. Olennikov, D.N. A novel HPLC-assisted method for investigation of the Fe<sup>2+</sup>-chelating activity of flavonoids and plant extracts / D.N. Olennikov, N.K. Chirikova, N.I. Kashchenko // **Molecules**. – 2014. – Vol.19. – № 11. – P. 18296–18316 (WOS; Q2).
  10. Olennikov, D.N. 1,5-Di-*O*-isoferuloylquinic acid and other phenolic compounds from pollen of *Calendula officinalis* / D.N. Olennikov, N.I. Kashchenko // **Chemistry of Natural Compounds**. – 2014. – Vol. 50. – P. 589–593 (WOS; Q4).
  11. Кащенко, Н.И. Эллаготаннины в растениях семейства *Rosaceae* из флоры Республики Саха (Якутия) / Н.И. Кащенко, Д.Н. Оленников, Н.К. Чирикова // Бутлеровские сообщения. – 2014. – Т. 39. – № 8. – С. 127–138.
  12. Olennikov, D.N. Calendosides I-IV, new quercetin and isorhamnetin rhamnoglucosides from *Calendula officinalis* / D.N. Olennikov, N.I. Kashchenko // **Chemistry of Natural Compounds**. – 2014. – Vol. 50. – P. 633–637 (WOS; Q4).
  13. Olennikov, D.N. Phenolic profile of *Potentilla anserina* L. (*Rosaceae*) herb of Siberian origin and development of a rapid method for simultaneous determination of major phenolics in *P. anserina* pharmaceutical products by microcolumn RP-HPLC-UV / D.N. Olennikov, N.I. Kashchenko, N.K. Chirikova, S.S. Kuz'mina // **Molecules**. – 2015. – Vol. 20. – № 1. – P. 224–248 (WOS; Q2).
  14. Olennikov, D.N. *In vitro* bioaccessibility, human gut microbiota metabolites and hepatoprotective potential of chebulic ellagitannins / D.N. Olennikov, N.I. Kashchenko, N.K. Chirikova // **Nutrients**. – 2015. – Vol.7. – № 10. – P. 8456-8477 (WOS; Q1).

15. Olennikov, D.N. Bitter gentian teas: Nutritional and phytochemical profiles, polysaccharide characterisation and bioactivity / D.N. Olennikov, N.I. Kashchenko, N.K. Chirikova // **Molecules**. – 2015. – Vol. 20. – N 11. – P. 20014–20030 (WOS; Q2).
16. Кащенко, Н.И. Химический профиль и биологическая активность флавоноидов и фенилпропаноидов *Nepeta cataria* L. (*Lamiaceae*), интродуцированного в Восточной Сибири / Н.И. Кащенко, Д.Н. Оленников // **Химия растительного сырья**. – 2016. – №2. – С. 25–32 (Scopus).
17. Olennikov, D.N. New acylated apigenin glycosides from edge flowers of *Matricaria chamomilla* / D.N. Olennikov, N.I. Kashchenko // **Chemistry of Natural Compounds**. – 2016. – Vol. 52. – No 6. – P. 996–999 (WOS; Q4).
18. Olennikov, D.N. Meadowsweet teas as new functional beverages: comparative analysis of nutrients, phytochemicals and biological effects of four *Filipendula* species / D.N. Olennikov, N.I. Kashchenko, N.K. Chirikova // **Molecules**. – 2017. – Vol.22. – № 1. – No. 16 (WOS; Q2).
19. Kashchenko, N.I. Agrimoniin, an active ellagitannin from *Comarum palustre* herb with anti- $\alpha$ -glucosidase and antidiabetic potential in streptozotocin-induced diabetic rats / N.I. Kashchenko, D.N. Olennikov, N.K. Chirikova // **Molecules**. – 2017. – Vol.22. – № 1. – P. 73 (WOS; Q2).
20. Olennikov, D.N. Effect of low temperature cultivation on the phytochemical profile and bioactivity of arctic plants: A case of *Dracocephalum palmatum* / D.N. Olennikov, N.K. Chirikova, N.I. Kashchenko, T.G. Gornostai, I. Yu. Selyutina, I.N. Zilfikarov // **International Journal of Molecular Sciences**. – 2017. – Vol. 18. – No. 2579 (WOS; Q1).
21. Olennikov, D.N. A new esculetin glycoside from *Calendula officinalis* (*Asteraceae*) and its bioactivity / D.N. Olennikov, N.I. Kashchenko, C. Vennos // **Farmacina**. – 2017. – Vol. 65. – P. 698–702 (WOS; Q4).
22. Kashchenko, N.I. Quantitative analysis of flavonoids in chamomile flowers (*Matricaria chamomilla* L.) by microcolumn HPLC-UV / N.I. Kashchenko, D.N. Olennikov // **Russian Journal of Bioorganic Chemistry**. – 2017. – Vol. 43. – P. 783–789 (WOS; Q4).
23. Olennikov, D.N. Isorhamnetin and quercetin derivatives as anti-acetylcholinesterase principles of marigold (*Calendula officinalis*) flowers and preparations // D.N. Olennikov, N.I. Kashchenko, N.K. Chirikova, A. Akobirshoeva, I.N. Zilfikarov, C. Vennos // **International Journal of Molecular Sciences**. – 2017. – Vol. 18. – No. 1685 (WOS; Q1).
24. Kashchenko, N.I. Acylated flavonoids from *Spiraea* genus as inhibitors of  $\alpha$ -amylase / Kashchenko N.I., Chirikova N.K., Olennikov D.N. // **Russian Journal of Bioorganic Chemistry**. – 2018. – Vol. 44. – No. 7. – P. 768–778 (WOS; Q4).
25. Кащенко, Н.И. Эллаготаннины северных видов *Potentilla*: Хеморазнообразие и продукция уролитинов / Н.И. Кащенко, Т.Г. Горностаи, И.В. Свиридов, М.Ю. Круглова // “Перспективы

- фитобиотехнологии для улучшения качества жизни на Севере”: III Научн. практич. конф. с междунардн. участ. – Якутск, 2018. – С. 42.
26. Olennikov, D.N. Bioactive phenolics of the genus *Artemisia* (Asteraceae): HPLC-DAD-ESI-TQ-MS/MS profile of the Siberian species and their inhibitory potential against  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase / D.N. Olennikov, N.K. Chirikova, N.I. Kashchenko, V.M. Nikolaev, S.-W. Kim, C. Vennos. // **Frontiers in Pharmacology**. – 2018. – Vol. 9. – P. 1–27 (WOS; Q1).
27. Кащенко, Н.И. Эллаготаннины *Rubus matsumuranus*: Компонентный состав и продукция уролитинов / Н.И. Кащенко, М.Ю. Круглова, Т.Г. Горноста́й, И.В. Свиридов // **Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии**. – 2018. – №. 10. – С. 72–76 (БАК).
28. Olennikov, D.N. Caffeoylquinic acids and flavonoids of fringed sagewort (*Artemisia frigida* Willd.): HPLC-DAD-ESI-QQQ-MS profile, HPLC-DAD quantification, *in vitro* digestion stability, and antioxidant capacity / D.N. Olennikov, N.I. Kashchenko, N.K. Chirikova, A.G. Vasil’eva, A.I. Gadimli, J.I. Isaev, C. Vennos // **Antioxidants**. – 2019. – Vol. 8. – No 307 (WOS; Q1).
29. Кащенко, Н.И. Гипогликемическое действие производных дибензо[b,d]пиран-6-она на модели стрептозотоцин-индуцированного диабета у крыс / Н.И. Кащенко, И.В. Свиридов, Т.Г. Горноста́й // “Биотехнология: Наука и практика”: Междунардн. научн.-практич. конф. – Севастополь, 2019. – С. 392–394.
30. Olennikov, D.N. Khellactone derivatives and other phenolics of *Phlojodicarpus sibiricus* (Apiaceae): HPLC-DAD-ESI-QQQ-MS/MS and HPLC-UV profile, and antiobesity potential of dihydrosamidin / D.N. Olennikov, I.A. Fedorov, N.I. Kashchenko, N.K. Chirikova, C. Vennos // **Molecules**. – 2019. – Vol. 24. – No 2286 (WOS; Q2).
31. Olennikov, D.N. New flavonoids and turkesterone-2-*O*-cinnamate from leaves of *Rhaponticum uniflorum* / D.N. Olennikov, N.I. Kashchenko // **Chemistry of Natural Compounds**. – 2019. – Vol. 55. – No 2. – P. 256–264 (WOS; Q4).
32. Kashchenko, N.I. Phenolome of Asian agrimony tea (*Agrimonia asiatica* Juz., *Rosaceae*): LC-MS profile,  $\alpha$ -glucosidase inhibitory potential and stability / N.I. Kashchenko, D.N. Olennikov // **Foods**. – 2020. – Vol. 9. – No 1348 (WOS; Q1).
33. Патент 2712023 Российской Федерации МПК C07D 311/80 (2006.01) Способ получения уролитина D, обладающего гипогликемическим действием / Кащенко Н.И., Оленников Д.Н.; патентообладатель ФГБУН Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН. – № 2019126231; заявл. 19.08.2019; опубл. 24.01.2020. – Бюл. № 3.
34. Olennikov, D.N. New *C,O*-glycosylflavones from the genus *Silene* / D.N. Olennikov, N.I. Kashchenko // **Chemistry of Natural Compounds**. – 2020. – Vol. 56. – No 6. – P. 1026–1034 (WOS; Q4).
35. Kashchenko, N.I. Metabolites of Siberian raspberries: LC-MS profile, seasonal variation, antioxidant activity, and thermal stability of *Rubus matsumuranus* phenolome / N.I. Kashchenko, D.N. Olennikov, N.K. Chirikova // **Plants**. – 2021. – Vol. 10. – No. 2317 (WOS; Q1).

36. Kashchenko, N.I. Phytohormones and elicitors enhanced the ecdysteroid and glycosylflavone content and antioxidant activity of *Silene repens* / N.I. Kashchenko, D.N. Olennikov, N.K. Chirikova // **Applied Sciences**. – 2021. – Vol. 11. – No. 11099 (WOS; Q2).
37. Kashchenko, N.I., Caucasian dragonheads: Phenolic compounds, polysaccharides, and bioactivity of *Dracocephalum austriacum* and *Dracocephalum botryoides* / N.I. Kashchenko, G.S. Jafarova, J.I. Isaev, D.N. Olennikov, N.K. Chirikova // **Plants**. – 2022. – Vol. 11. – No. 2126 (WOS; Q1).
38. Olennikov, D.N. *Gentianopsis* metabolites and bioactivity: HPLC-PDA-ESI-tQ-MS/MS profiles, HPLC-UV quantification of *Gentianopsis komarovii* and *Gentianopsis stricta*, and choleric potential / D.N. Olennikov, N. I. Kashchenko // **Natural Product Research**. – 2024 – Vol. 38. – No. 1 – P. 158–163. (WOS; Q2).
39. Olennikov D.N. Marigold metabolites: Diversity and separation methods of *Calendula* genus phytochemicals from 1891 to 2022 / D.N. Olennikov, N.I. Kashchenko // **Molecules**. – 2022. – Vol. 27. – No. 8626 (WOS; Q2).
40. Kashchenko, N.I. Glycosides of rosmarinic acid from *Nepeta multifida* / N.I. Kashchenko, D.N. Olennikov // **Chemistry of Natural Compounds**. – 2022. – Vol. 58. – P. 274–278 (WOS; Q4).
41. Кащенко Н.И., Оленников Д.Н. Флавоноиды и лигнаны листьев *Nepeta multifida* (*Lamiaceae*) и их биологическая активность // **Химия растительного сырья**. – 2022. – №2. – С. 85–94 (Scopus).
42. Olennikov, D.N. New inhibitors of pancreatic  $\alpha$ -amylase from *Rhaponticum uniflorum* / D.N. Olennikov, N.I. Kashchenko // **Applied Biochemistry and Microbiology**. – 2023. – Vol. 59. – P. 48–56 (WOS; Q4).
43. Kashchenko N.I., Olennikov D.N., Chirikova N.K. Phenolic compounds and pyrrolizidine alkaloids of two north bluebells: *Mertensia stylosa* and *Mertensia serrulata* // **Applied Sciences**. – 2023. – Vol. 13. – No. 3266 (WOS; Q2).
44. Kashchenko, N.I. Metabolites of *Geum aleppicum* and *Sibbaldianthe bifurca*: Diversity and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory potential / N.I. Kashchenko, D.N. Olennikov, D.N., N.K. Chirikova // **Metabolites**. – 2023. – Vol. 13. – No. 689 (WOS; Q2).
45. Kashchenko, N.I. Characterization of bioactive compounds and antioxidant activity of plants – Editorial comments and summary / N.I. Kashchenko // **Applied Sciences**. – 2023. – Vol. 13. – No. 10969 (WOS; Q2).

Автор выражает глубокую признательность за помощь, поддержку, ценные советы при выполнении работы д.фарм.н. *Н.К. Чириковой* (ФГАОУ ВО СВФУ), д.фарм.н., проф. *Т.А. Асеевой*, к.б.н. *В.М. Шишмареву*, к.фарм.н. *Т.М. Шишмаревой*, к.фарм.н. *Т.В. Корнопольцевой*, д.б.н., доценту *В.Б. Хобраковой*, д.б.н. *Я.Г. Разуваевой*, к.б.н. *А.А. Тороповой* (ФГБУН ИОЭБ СО РАН).

### Список сокращений

**БА** – болезнь Альцгеймера, **ВЭЖХ** – высокоэффективная жидкостная хроматография, **ВЭЖХ-ДМД-ИЭР-МС** – высокоэффективная жидкостная хроматография с фотодиодной матрицей и тройной квадрупольной масс-спектрометрической детекцией с ионизацией электрораспылением, **ДМСО** – диметилсульфоксид, **ИК** – инфракрасная спектроскопия, **КССВ** – константа спин-спинового взаимодействия, **МС** – масс-спектрометрия, **СД** – сахарный диабет, **ТФУ** – трифторуксусная кислота, **УФ** – ультрафиолетовая спектроскопия, **ЯМР** – спектроскопия ядерно-магнитного резонанса, **ESI-МС** – ионизация электрораспылением – масс-спектрометрия, **Glc** – глюкоза, **HMBC** – гетероядерная многосвязная корреляционная спектроскопия, **HR-ESI-MS** – ионизация электрораспылением – масс-спектрометрия высокого разрешения, **HR-MS-TOF** – времяпролетная масс-спектрометрия высокого разрешения, **IC<sub>50</sub>** – 50% ингибирование, **Rha** – рамноза.