

<https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-1-83-89>
УДК 54.061:54.062:615.322



Оригинальная статья/Research article

Выделение индивидуальных соединений из надземной части стальника полевого (*Ononis arvensis* L.) и золотарника канадского (*Solidago canadensis* L.)

В. Г. Лужанин¹, А. К. Уэйли¹, А. О. Понкратова^{1*}, Е. А. Гришукова¹, И. С. Сулоев¹,
С. Н. Смирнов², Е. Б. Серебряков²

1 – ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО СПбХФУ Минздрава России), 197376, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 14
2 – ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет» (СПбГУ), 199034, Россия, Санкт-Петербург, Университетская набережная, д. 7–9

*Контактное лицо: Понкратова Анастасия Олеговна. E-mail: anastasiya.ponkratova@yandex.ru

ORCID: В. Г. Лужанин – <https://orcid.org/0000-0002-6312-2027>; А. К. Уэйли – <https://orcid.org/0000-0002-4847-5924>; А. О. Понкратова – <https://orcid.org/0000-0003-4879-9336>;
Е. А. Гришукова – <https://orcid.org/0000-0002-6615-6855>; И. С. Сулоев – <https://orcid.org/0000-0002-2758-9869>; С. Н. Смирнов – <https://orcid.org/0000-0003-2042-337X>;
Е. Б. Серебряков – <https://orcid.org/0000-0002-1021-6871>.

Статья поступила: 25.12.2020. Статья принята в печать: 27.01.2021. Статья опубликована: 25.02.2021

Резюме

Введение. Среди разнообразных групп лекарственных препаратов диуретики остаются одним из наиболее популярных классов, применяемых для лечения заболеваний сердечно-сосудистой системы и почек. В то же время широко используемые синтетические диуретические средства способны вызывать большое количество побочных эффектов, таких как нарушение электролитного, кислотно-щелочного и водного балансов, углеводного и липидного обменов. В связи с этим выделение индивидуальных веществ растительного происхождения – новых потенциальных фармацевтических субстанций для лечения заболеваний мочевыделительной системы – является актуальным. В настоящем исследовании проводилось выделение индивидуальных соединений из надземных частей стальника полевого (*Ononis arvensis* L.) и золотарника канадского (*Solidago canadensis* L.). Для суммарных извлечений, полученных из исследуемого сырья, ранее описана диуретическая активность.

Цель. Разработать методики выделения индивидуальных соединений с использованием современных физико-химических методов анализа из надземных частей *Ononis arvensis* и *Solidago canadensis*, установить химическую структуру выделенных индивидуальных веществ.

Материалы и методы. Надземные части *Ononis arvensis* и *Solidago canadensis* были собраны в питомнике лекарственных растений Санкт-Петербургского государственного химико-фармацевтического университета (далее – СПбХФУ) (Ленинградская область, Всеволожский район, Приозерское шоссе, 38 км) в августе 2019 года. Анализ фракций осуществляли методом аналитической высокоэффективной жидкостной хроматографии на приборе LC-20 Prominence (Shimadzu, Япония), оснащенном диодно-матричным детектором. Выделение индивидуальных соединений осуществляли методом препаративной высокоэффективной жидкостной хроматографии (Smartline, Knauer, Германия). Установление структуры соединений осуществляли с помощью масс-спектрометрии высокого разрешения (HR-ESI-MS) (Bruker Micromass Q-TOF, Германия), а также 1D и 2D ЯМР-спектроскопии (Bruker Avance III 400 MHz, Германия).

Результаты и обсуждение. С помощью разработанных методик выделено три индивидуальных соединения (1–3) из надземной части *Ononis arvensis*. Соединения 1 и 2 являются изофлавоноидами – псевдобаптигенин-7-O-β-D-глюкопиранозид и формонетин-7-O-β-D-глюкопиранозид соответственно. Соединение 3 является флавоноидом – кемпферол-3-O-β-D-глюкопиранозид (астрагаллин). Также было выделено четыре индивидуальных соединения (4–7) из надземной части *Solidago canadensis* – кверцетин-3-O-β-D-6"-ацетилглюкопиранозид, изорамнетин-3-O-β-D-рутинозид (нарциссин), кверцетин-3-O-рутинозид (рутин) и кверцетин соответственно. Все индивидуальные соединения выделены с помощью метода препаративной высокоэффективной жидкостной хроматографии из указанного сырья впервые.

Заключение. В результате исследования надземной части *Ononis arvensis* и *Solidago canadensis* впервые разработаны методики выделения 7 (семи) индивидуальных соединений с использованием современных физико-химических методов анализа, была определена химическая структура всех выделенных соединений. Предполагается последующее исследование биологической активности выделенных индивидуальных веществ.

Ключевые слова: стальник полевой, золотарник канадский, полифенолы, флавоноиды, изофлавоноиды, вторичные метаболиты, индивидуальные вещества.

Конфликт интересов: конфликта интересов нет.

Вклад авторов. А. О. Понкратова, Е. А. Гришукова и И. С. Сулоев выполнили экспериментальную часть по выделению индивидуальных соединений. С. Н. Смирнов выполнил исследования методом ЯМР-спектроскопии. Е. Б. Серебряков выполнил исследование методом масс-спектрометрии. А. К. Уэйли интерпретировал результаты ЯМР-спектроскопии и масс-спектрометрии. В. Г. Лужанин руководил научным исследованием. Все авторы участвовали в обсуждении результатов.

Благодарность. Наименование НИОКТР: Разработка технологий культивирования лекарственных растений и технологий получения индивидуальных веществ из растительного сырья. Регистрационный номер НИОКТР: АААА-А18-118122790031-7. Дата регистрации: 27.12.2018.

Для цитирования: Лужанин В. Г., Уэйли А. К., Понкратова А. О., Гришукова Е. А., Сулоев И. С., Смирнов С. Н., Серебряков Е. Б. Выделение индивидуальных соединений из надземной части стальника полевого (*Ononis arvensis* L.) и золотарника канадского (*Solidago canadensis* L.). Разработка и регистрация лекарственных средств. 2021;10(1):83–89. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-1-83-89>

© Лужанин В. Г., Уэйли А. К., Понкратова А. О., Гришукова Е. А., Сулоев И. С., Смирнов С. Н., Серебряков Е. Б., 2021

© Luzhanin V. G., Whaley A. K., Ponkratova A. O., Grishukova E. A., Suloev I. S., Smirnov S. N., Serebryakov E. B., 2021

Isolation of Individual Compounds from the Terrestrial Parts of *Ononis Arvensis* L. and *Solidago Canadensis* L.

Vladimir G. Luzhanin¹, Andrei K. Whaley¹, Anastasiia O. Ponkratova^{1*}, Ekaterina A. Grishukova¹, Ivan S. Suloev¹, Sergey N. Smirnov², Evgeny B. Serebryakov²

1 – Saint-Petersburg State Chemical-Pharmaceutical University, 14A, Prof. Popov str., Saint-Petersburg, 197376, Russia

2 – St Petersburg University, Saint Petersburg State University, 7–9, Universitetskaya naberezhnaya, Saint-Petersburg, 199034, Russia

*Corresponding author: Anastasiia O. Ponkratova. E-mail: anastasiya.ponkratova@yandex.ru

ORCID: Vladimir G. Luzhanin – <https://orcid.org/0000-0002-6312-2027>; Andrei K. Whaley – <https://orcid.org/0000-0002-4847-5924>;

Anastasiia O. Ponkratova – <https://orcid.org/0000-0003-4879-9336>; Ekaterina A. Grishukova – <https://orcid.org/0000-0002-6615-6855>;

Ivan S. Suloev – <https://orcid.org/0000-0002-2758-9869>; Sergey N. Smirnov – <https://orcid.org/0000-0003-2042-337X>; Evgeny B. Serebryakov – <https://orcid.org/0000-0002-1021-6871>.

Received: 25.12.2020. Revised: 27.01.2021. Published: 25.02.2021

Abstract

Introduction. Among the different groups of drugs, diuretics are one the most popular classes that have been used for treatment of cardiovascular system and kidney diseases. At the same time, synthetic diuretics which are widely used, cause large amounts of side effects, such as violation of electrolyte, acid-base and water balances, carbohydrate and lipid metabolism. Therefore, it is important to search for individual compounds of plant origin – potential pharmaceutical substances for the treatment of urinary tract diseases. In this study individual compounds were isolated from the terrestrial parts of *Ononis arvensis* L. and *Solidago canadensis* L. The diuretic activity of the summary extracts of *Ononis arvensis* and *Solidago canadensis* has previously been proven.

Aim. Method development for the isolation of individual compounds, using modern physicochemical methods of analysis, from the terrestrial parts of *Ononis arvensis* and *Solidago canadensis* and the elucidation of their structure.

Materials and methods. Aerial parts of *Ononis arvensis* and *Solidago canadensis* were collected in the Saint Petersburg State Chemical-Pharmaceutical University (SPCPU) Nursery Garden of Medicinal Plants (Leningrad region, Vsevolozhsky district, Priozersk highway, 38 km) in August 2019 and identified by Dr. Goncharov Mikhail of the Saint-Petersburg chemical-pharmaceutical university, Saint-Petersburg, Russia. Fraction analysis were performed with analytical high-performance liquid chromatography using a LC-20 Prominence (Shimadzu corp., Japan) with a SPD-M20A diode-array detector. Isolation of individual compounds was carried out by preparative high-performance liquid chromatography using a Smartline (Knauer, Germany). The structures of the isolated compounds were elucidated using 1D and 2D NMR experiments (Bruker Avance III 400 MHz) along with HR-ESI-MS (Bruker Micromass Q-TOF).

Results and discussion. Using the developed methods, from the aerial part of the field restharrow (*O. arvensis*) we managed to isolate and characterised three individual compounds (**1-3**). Compounds **1** and **2** are isoflavonoids – pseudobaptigenin-7-O-β-D-glucopyranoside and formononetin-7-O-β-D-glucopyranoside, respectively. Compound **3** is a flavonoid – kaempferol-3-O-β-D-glucopyranoside (astragalin). All compounds were isolated for *O. arvensis* for the first time. Along with this, four individual compounds (**4-7**) were isolated from the aerial part of the canadian goldenrod (*S. canadensis*), namely, quercetin-3-O-β-D-6"-acetylglucopyranoside, isoramnetin-3-O-β-D-rutinoside (narcissin), quercetin-3-O-rutinoside (rutin) and quercetin, respectively.

Conclusion. As a result of the research, methods have been developed for the isolation of 7 individual compounds, using modern physicochemical methods of analysis, from the aerial parts of *Ononis arvensis* and *Solidago canadensis*, the structures of all the isolated compounds were elucidated. Future assessment of the isolated compounds biological activity is presumed.

Keywords: *Solidago canadensis*, *Ononis arvensis*, polyphenols, flavonoids, isoflavonoids, secondary metabolites, individual compounds.

Conflict of interest: no conflict of interest.

Contribution of the authors. Authors Anastasiia O. Ponkratova, Ekaterina A. Grishukova and Ivan S. Suloev – experimental part. Sergey N. Smirnov – performed the NMR experiments. Evgeny B. Serebryakov – performed the HR-ESI-MS experiments. Andrei K. Whaley – processing of the NMR experiments and HR-ESI-MS results. Vladimir G. Luzhanin – curation of the research. All authors took part in the discussion of the results.

Acknowledgment. NIOKTR name: Development of technologies for the cultivation of medicinal plants and technologies for obtaining individual substances from plant materials. NIOKTR registration number: AAAA-A18-118122790031-7. Date of registration: 27.12.2018.

For citation: Luzhanin V. G., Whaley A. K., Ponkratova A. O., Grishukova E. A., Suloev I. S., Smirnov S. N., Serebryakov E. B. Isolation of individual compounds from the terrestrial parts of *Ononis arvensis* L. and *Solidago canadensis* L. *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv = Drug development & registration*. 2021;10(1):83–89. (In Russ.). <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-1-83-89>

ВВЕДЕНИЕ

Ononis arvensis (стальник полевой) – многолетнее травянистое растение (семейства *Fabaceae*). Ареал произрастания охватывает практически всю территорию Кавказа и Закавказья, большую часть Европейской территории России, Украины, Белоруссии, Молдавии, часть Прибалтики, достигая берегов Финского залива [1]. Растение светолюбивое, произрастает на слабокислых или нейтральных почвах, богатых гумусом, азотом и с достаточным увлажнением,

по берегам водоемов, на лесных опушках и полянах, иногда на окраинах болот [1]. В качестве основных вторичных метаболитов стальника полевого можно выделить полифенольные соединения, среди которых представительными группами являются изофлавоноиды и дигидроизофлавоноиды [2, 3], птерокарпаны [2], флавоноиды [4], фенолкарбоновые кислоты [2, 5], также встречаются гидролизуемые танины и стильбеноиды [4]. Экстракты, полученные из стальника полевого, обладают диуретической, желчегонной, анальгезирующей, антигипоксической и противомикробной

активностью [3]. В народной медицине данное растение применяется для лечения заболевания мочевого пузыря и почек, геморроя, заболеваний печени и кожных заболеваний [4].

Solidago canadensis (золотарник канадский) представляет собой многолетнее травянистое растение (сем. *Asteraceae*), родиной которого является Северная Америка (Канада, США, север Мексики) [6]. *Solidago canadensis* широко распространен в таких странах, как Китай, Россия и страны СНГ, Япония, Тайвань, Европейские страны, Австралия и Новая Зеландия [7]. Типичными местами обитания данного растения являются луга, пастбища, саванны, известняковые поляны, участки вдоль дорог и канав [7]. Основной группой вторичных метаболитов, ранее обнаруженных в *Solidago canadensis*, являются соединения полифенольной природы, а именно флавоноиды и их агликоны [8–11], фенолкарбоновые кислоты [8, 10–12], сапонины [13], ди- и тритерпеноиды [14, 15], также встречаются дубильные вещества [16]. Помимо выраженной диуретической активности [10, 11, 17], экстракты золотарника канадского обладают противомикробной, антиоксидантной [16], противовоспалительной, противоопухолевой [15], нефролитической и спазмолитической [11] активностью.

Фитофармацевтические препараты успешно применяются в лечении заболеваний мочевыделительной системы, особенно с параллельным введением синтетических препаратов, используемых в качестве диуретиков [11]. Широко используемые синтетические диуретические средства способны вызывать большое количество побочных эффектов, таких как нарушение электролитного, кислотно-щелочного и водно-балансов, углеводного и липидного обменов [18]. В связи с этим выделение индивидуальных веществ растительного происхождения – новых потенциальных фармацевтических субстанций для лечения заболеваний мочевыделительной системы – является актуальным. Диуретическую активность суммарных извлечений из *Ononis arvensis* и *Solidago canadensis* исследователи связывают с наличием фенольных соединений, флавоноидов и сапонинов [11, 19].

Таким образом, целью настоящего исследования является разработка методик выделения индивидуальных соединений с использованием современных физико-химических методов анализа из надземных частей *Ononis arvensis* и *Solidago canadensis*, установление химической структуры выделенных индивидуальных веществ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Надземные части *Ononis arvensis* и *Solidago canadensis* были собраны в питомнике лекарственных растений СПХФУ (Ленинградская область, Всеволожский район, Приозерское шоссе, 38 км) в августе 2019 года.

Анализ фракций проводили методом аналитической высокоэффективной жидкостной хроматографии на приборе LC-20 Prominence (Shimadzu, Япония), оснащенном диодно-матричным детектором, при 254 и 280 нм. Применялась хроматографическая колонка SUPELCOSIL LC-18, 25 см × 4.6 мм, 5 мкм. Скорость потока элюента – 1 мл/мин. Температура анализа – 40 °C. Элюент: вода (компонент А), ацетонитрил (компонент В) с содержанием ТФУ 0,1 % (с H₂O : CH₃CN 5:95 до H₂O : CH₃CN 0:100, v/v).

Выделение индивидуальных соединений осуществляли методом препаративной высокоэффективной жидкостной хроматографии на приборе Smartline (Knauer, Германия), оснащенном спектрофотометрическим детектором, при длине волны 254 нм. Применялась хроматографическая колонка Kromasil 100-5C18, 250 × 30 мм. Скорость потока элюента – 40 мл/мин. Элюент: вода (компонент А), ацетонитрил (компонент В) с содержанием ТФУ 0,1 % (с H₂O : CH₃CN 5:95 до H₂O : CH₃CN 50:50, по объему).

Структура выделенных индивидуальных соединений устанавливалась методами одномерной и двумерной ЯМР-спектроскопии (Bruker Avance III, 400 MHz, Германия), а также масс-спектрометрией высокого разрешения (HR-ESI-MS) (Bruker Micromass Q-TOF, Германия).

Масс-спектры высокого разрешения и спектры ЯМР были сняты в ресурсном образовательном центре СПбГУ.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В настоящем исследовании из надземной части *O. arvensis* авторам удалось выделить и охарактеризовать структуру изофлавоноидов (**1** и **2**) и флавоноида (**3**). Из надземной части золотарника канадского авторами выделены и идентифицированы четыре индивидуальных соединения – производные кверцетина и изорамнетины [8, 11] (**4–7**) (рисунок 1).

Перед экстракцией сырье подвергалось воздушно-теневого сушке, измельчалось и просеивалось через сито с диаметром отверстий 1,0 мм. Проводилась многократная экстракция 500 г сырья стальника полевого 3000 миллилитрами 96%-го этилового спирта. Полученное извлечение выпаривалось на вакуумно-ротационном испарителе (Heidolph, Германия) при 60 °C до приблизительного объема 200 мл, после чего проводилась многократная жидкость-жидкостная экстракция (ЖЖ-экстракция). На первом этапе ЖЖ-экстракция проводилась с равными объемами гексана до того момента, как вновь добавляемые порции гексана переставали приобретать видимую окраску. Затем к спиртовому извлечению добавляли 50 мл воды очищенной и по аналогии проводили ЖЖ-экстракцию с равными объемами дихлорметана. Остаточную водно-спиртовую подфракцию выпаривали до приблизительного объема 100 мл и загружали на откры-

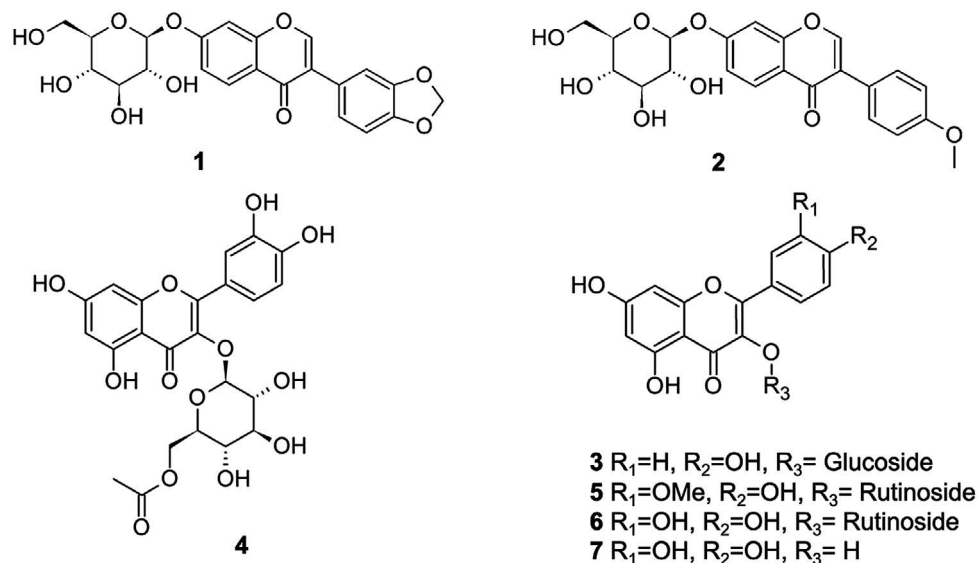


Рисунок 1. Структуры выделенных соединений 1-7

Figure 1. Structures of the isolated compounds 1-7

тую колонку с обращенно-фазовым сорбентом Dianion HP 20, марки SUPELCO. Проводили градиентное элюирование с постепенным понижением полярности из начального элюента с шагом 10 % (с H₂O : 96 % EtOH 100:0 до H₂O : 96 % EtOH 0:100, по объему). Сбор элюата осуществлялся в колбы по 100 мл. Параллельно проводился скрининг собираемого из колонки элюата методом ТСХ в системе БУВ 4:1:2 для дальнейшего его объединения.

Элюат, собранный из колонки при концентрации спирта 70 %, объединялся в 4 фракции согласно ТСХ, которые затем сгущались на вакуумно-ротационном испарителе (Heidolph, Германия) при 60 °C до объема 10–15 мл. Фракции № 1 и 4 загружались на препаративный высокоэффективный жидкостный хроматограф, в результате чего из фракции № 4 были выделены соединения: **1** (5,11 мг, t_R = 22,274 мин); соединение **2** (6,92 мг, t_R = 22,701 мин), а из фракции № 1 – соединение **3** (2,96 мг, t_R = 20,435 мин).

Для выделения индивидуальных соединений из сырья *S. canadensis* проводилась многократная экстракция 484 г сырья золотарника 4760 миллилитрами 80%-го этилового спирта [20]. Полученное извлечение выпаривалось на вакуумно-ротационном испарителе (Heidolph, Германия) при 60 °C, до приблизительно объема 200 мл, после чего проводилась многократная ЖЖ-экстракция. На первом этапе ЖЖ-экстракция проводилась с равными объемами гексана до того момента, как вновь добавляемые порции гексана переставали приобретать видимую окраску. Затем к спиртовому извлечению добавляли 100 мл воды очищенной и по аналогии проводили ЖЖ-экстракцию с равными объемами бутанола. Объединенную бута-

нольную подфракцию выпаривали до приблизительно объема 100 мл, загружали на открытую колонку с сорбентом Sephadex LH 20, марки GE Healthcare и проводили изократическое элюирование этиловым спиртом 96 %. Сбор элюата осуществлялся в пробирки. Параллельно проводился скрининг полученных из колонки порций элюата методом ТСХ в системе БУВ 4:1:2 для дальнейшего их объединения. Порции элюата, содержащие соединения **4-7**, объединялись и упаривались на вакуумно-ротационном испарителе (Heidolph, Германия) при 60 °C до объема 10–15 мл. Полученная фракция подвергалась очистке на препаративном высокоэффективном жидкостном хроматографе, в результате чего были выделены: соединение **4** (8,2 мг, t_R = 20,905 мин); соединение **5** (3,02 мг, t_R = 20,672 мин); соединение **6** (6,93 мг, t_R = 19,236 мин) и соединение **7** (3,34 мг, t_R = 23,687 мин).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Соединение 1 представляет собой белое кристаллическое вещество. УФ-спектр соединения имеет максимумы поглощения при λ_{max} = 248, 262, 292 нм. HR-ESI-MS отображает пик молекулярного иона $[M + H]^+$ m/z 445,1134 (расч. 445,1135), что соответствует молекулярной формуле C₂₂H₂₀O₁₀. ¹H-ЯМР (DMCO-d₆, δ , м.д., J/Гц): 8.45 (1H, с, H-2), 7.99 (1H, д, J = 8.9, H-5), 7.13 (1H, дд, J = 8.9, 2.0, H-6), 7.19 (1H, д, J = 2.0, H-8), 7.12 (1H, д, J = 1.5, H-2'), 6.94 (1H, д, J = 8.1, H-5'), 7.04 (1H, дд, J = 8.1, 1.5, H-6'), 6.03 (2H, с, O-CH₂-O-3',4'), 5.08 (1H, д, J = 7.6, H-1''), 3.25 (1H, м, H-2''), 3.35 (1H, м, H-3''), 3.17 (1H, м, H-4''), 3.40 (1H, м, H-5''), 3.61 (1H, м, H-6a''), 3.45 (1H, м, H-6b''), 5.51 (1H, д, J = 5.0, OH-2''), 5.34 (1H, д, J = 3.8, OH-3''), 5.31 (1H, д, J = 4.6, OH-4''), 4.78 (1H, т, J = 7.0, 5.4, OH-6'').

Данные УФ- и ЯМР-спектроскопии свидетельствуют о принадлежности соединения **1** к группе изофлавоноидов и наличии в его составе остатка глюкозы в 7 положении, что было установлено по ^1H и NOESY ЯМР-спектрам. В результате анализа ЯМР- и масс-спектров и сравнения их с литературными данными соединение **1** было идентифицировано как псевдобаптигенин-7-О- β -D-глюкопиранозид [2].

Соединение 2 – белое кристаллическое вещество. УФ-спектр соединения имеет максимумы поглощения при $\lambda_{\text{max}} = 231, 248, 265, 310$ нм. HR-ESI-MS дает молекулярный ион $[\text{M} + \text{H}]^+ m/z 431,1341$ (расч. 431,1342), что соответствует молекулярной формуле $\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{O}_9$. ^1H -ЯМР (DMCO-d_6 , δ , м.д., $J/\text{Гц}$): 8.44 (1H, с, H-2), 8.00 (1H, д, $J = 8.9$, H-5), 7.13 (1H, дд, $J = 8.9, 2.0$, H-6), 7.19 (1H, д, $J = 2.0$, H-8), 7.49 (2H, д, $J = 8.6$, H-2',6'), 6.96 (2H, д, $J = 8.6$, H-3',5'), 5.08 (1H, д, $J = 7.8$, H-1''), 3.25 (1H, м, H-2''), 3.35 (1H, м, H-3''), 3.18 (1H, м, H-4''), 3.41 (1H, м, H-5''), 3.62 (1H, м, H-6a''), 3.35 (1H, м, H-6b''), 5.51 (1H, д, $J = 4.9$, OH-2''), 5.34 (1H, д, $J = 4.0$, OH-3''), 5.31 (1H, д, $J = 4.6$, OH-4''), 4.78 (1H, т, $J = 6.5, 6.0$, OH-6''), 3.75 (3H, с, OMe-4'). Присутствие метоксигруппы в 4'-положении подтверждено наличием корреляции протонов метоксигруппы с протонами в 3' и 5' положениях в спектрах NOESY. Наличие остатка глюкозы в 7 положении установлено по наличию корреляции между аномерным протоном и протонами в 6 и 8 положениях кольца А в спектрах NOESY. На основании анализа ^1H , COSY и NOESY ЯМР-спектров, а также масс-спектра высокого разрешения соединение **2** было идентифицировано как формонетин-7-О- β -D-глюкопиранозид.

Соединение 3 – желтое кристаллическое вещество, имеющее максимумы поглощения в УФ-спектре при $\lambda_{\text{max}} = 213, 249, 266, 346$ нм. HR-ESI-MS дает молекулярный ион $[\text{M} + \text{H}]^+ m/z 449,1083$ (расч. 449,1084), что соответствует молекулярной формуле $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{11}$. ^1H -ЯМР (DMCO-d_6 , δ , м.д., $J/\text{Гц}$): 6.31 (1H, д, $J = 1.7$, H-6), 6.56 (1H, д, $J = 1.7$, H-8), 7.98 (2H, д, $J = 8.9$, H-2',6'), 6.92 (2H, д, $J = 8.9$, H-3',5'), 5.33 (1H, д, $J = 7.5$, H-1''), 3.15–3.69 (H-2''–H-6''), 5.15 (1H, д, $J = 4.4$, OH-2''), 4.92 (1H, д, $J = 6.0$, OH-3''), 4.69 (1H, д, $J = 4.1$, OH-4''), 4.73 (1H, дд, $J = 6.5, 6.0$, H-6''), 12.53 (1H, с, H-5), 11.48 (1H, уш. с, OH-7), 10.66 (1H, с, OH-4'). На основании анализа ^1H ЯМР-спектров и в сравнения с литературными данными установлено, что остаток глюкозы находится в положении 3 [21]. Изложенные данные позволяют предполагать, что соединение **3** является флавоноидом – кемпферол-3-О- β -D-глюкопиранозидом (астрагалином).

Соединение 4 получено как желтое кристаллическое вещество. УФ-спектр соединения имеет максимумы поглощения при $\lambda_{\text{max}} = 215, 249, (270), 349$ нм. HR-ESI-MS дает пик молекулярного иона $[\text{M} + \text{H}]^+ m/z 507,1138$ (расч. 507,1139), что соответствует молекулярной формуле $\text{C}_{23}\text{H}_{22}\text{O}_{13}$. ^1H -ЯМР (DMCO-d_6 , δ , м.д., $J/\text{Гц}$):

6.29 (1H, д, $J = 1.9$, H-6), 6.54 (1H, д, $J = 1.9$, H-8), 7.60 (1H, д, $J = 2.1$, H-2'), 6.90 (1H, д, $J = 8.5$, H-5'), 7.50 (1H, дд, $J = 8.5, 2.1$, H-6'), 5.38 (1H, д, $J = 7.4$, H-1''), 4.11 (1H, дд, $J = 12.0, 1.7$, H-6a''), 3.92 (1H, дд, $J = 12.0, 6.2$, H-6b''), 3.0–3.35 (H-2''–5''), 1.69 (3H, с, OAc-6''), 12.58 (1H, с, OH-5), 11.36 (1H, с, OH-7), 9.40 (1H, с, OH-3'), 9.90 (1H, с, OH-4'). Наличие и расположение ацетильной группы в 6'' положении подтверждается ^1H и NOESY ЯМР-спектрами. Путем анализа ЯМР- и масс-спектральных данных, а также сравнения их с литературными данными вещество **4** идентифицировано как кверцетин-3-О- β -D-6''-ацетилглюкопиранозид [11].

Соединение 5 – желтое кристаллическое вещество, имеющее два максимума поглощения в УФ-спектрах – 253 и 352 нм. HR-ESI-MS отображает пик молекулярного иона $[\text{M} + \text{H}]^+ m/z 626,1846$ (расч. 626,1847), что соответствует молекулярной формуле $\text{C}_{28}\text{H}_{33}\text{O}_{16}$. ^1H -ЯМР (DMCO-d_6 , δ , м.д., $J/\text{Гц}$): 6.31 (1H, д, $J = 2.0$, H-6), 6.54 (1H, д, $J = 2.0$, H-8), 7.81 (1H, д, $J = 2.0$, H-2'), 7.01 (1H, д, $J = 8.5$, H-5'), 7.48 (1H, дд, $J = 8.5, 2.0$, H-6'), 5.42 (1H, д, $J = 7.5$, H-1''), 4.41 (1H, уш. с, H-1'''), 0.95 (3H, д, $J = 6.1$, H-6'''), 3.05–3.69 (H-2''–6'', H-2'''–5'''), 12.53 (1H, с, OH-5), 11.34 (1H, с, OH-7), 10.02 (1H, с, OH-3'), 3.80 (3H, с, OMe-4'). В результате анализа спектральных данных и сравнения их с литературными данными соединение **5** было идентифицировано как изорамнетин-3-О- β -D-рутинозид (нарциссин) [11].

Соединение 6 выделено как желтое кристаллическое вещество. УФ-спектр имеет два максимума поглощения при 255 и 354 нм. HR-ESI-MS дает пик молекулярного иона при $[\text{M} + \text{H}]^+ m/z 611,1611$ (расч. 611,1612), что соответствует молекулярной формуле $\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{16}$. ^1H -ЯМР (DMCO-d_6 , δ , м.д., $J/\text{Гц}$): 6.27 (1H, д, $J = 1.8$, H-6), 6.50 (1H, д, $J = 1.8$, H-8), 7.56 (1H, д, $J = 2.2$, H-2'), 6.91 (1H, д, $J = 8.4$, H-5'), 7.53 (1H, дд, $J = 8.4, 2.2$, H-6'), 5.34 (1H, д, $J = 7.4$, H-1''), 4.37 (1H, д, $J = 0.8$, H-1'''), 0.97 (3H, д, $J = 6.1$, CH₃-6'''), 3.06–3.68 (CH-2''–6'', CH-2'''–5'''), 12.56 (1H, с, OH-5), 11.29 (1H, с, OH-7), 9.32 (1H, уш. с, OH-3'), 9.83 (1H, уш. с, OH-4'). Путем анализа спектральных данных и сравнения их с литературными данными полученное соединение было идентифицировано как кверцетин-3-О-рутинозид (рутин) [11].

Соединение 7 получено как желтое кристаллическое вещество, имеющее максимумы поглощения в УФ-спектре при 254 и 370 нм. HR-ESI-MS дает пик молекулярного иона при $[\text{M} + \text{H}]^+ m/z 303,0504$ (расч. 303,0505), что соответствует молекулярной формуле $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_7$. ^1H -ЯМР (DMCO-d_6 , δ , м.д., $J/\text{Гц}$): 6.27 (1H, д, $J = 1.9$, H-6), 6.54 (1H, д, $J = 1.9$, H-8), 7.65 (1H, д, $J = 2.1$, H-2'), 6.94 (1H, д, $J = 8.5$, H-5'), 7.52 (1H, дд, $J = 8.5, 2.1$, H-6'), 9.26 (1H, с, OH-3), 12.43 (1H, с, OH-5), 11.29 (1H, с, OH-7), 9.31 (1H, с, OH-3'), 9.81 (1H, с, OH-4'). Изучение спектральных данных позволило идентифицировать данное соединение как кверцетин [4].

Соединения **1-3** ранее были обнаружены в стальнике полевым методом HPLC-MS [2]. В настоящей ра-

боте впервые удалось выделить данные соединения из надземной части стальника полевого в индивидуальном виде.

Соединения **4-7** ранее были описаны для надземной части золотарника канадского, а также выделялись методом открытой колоночной хроматографии [11], однако авторами впервые была разработана методика выделения индивидуальных соединений с использованием препаративного ВЭЖХ. Разработанная авторами методика позволяет существенно упростить выделение индивидуальных соединений из указанного сырья, сократив количество стадий очистки на открытых колонках с семи до одной, что обеспечивает увеличение выхода индивидуальных соединений наряду с меньшими трудозатратами.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате исследования были разработаны методики выделения индивидуальных соединений с использованием современных физико-химических методов анализа из растений, обладающих диуретической активностью (*Ononis arvensis* и *Solidago canadensis*). С использованием данных методик из надземной части *Ononis arvensis* выделены и охарактеризованы два изофлавоноида (**1** и **2**) и один флавоноид (**3**). Согласно данным 1D и 2D ЯМР-спектроскопии, а также масс-спектрометрии высокого разрешения, данные соединения представляют собой псевдобаптигенин-7-О-β-D-глюкопиранозид, формонетин-7-О-β-D-глюкопиранозид и кемпферол-3-О-β-D-глюкопиранозид соответственно. Также выделены и подтверждены структуры четырех индивидуальных соединений (**4-7**) из надземной части *Solidago canadensis* – кверцетин-3-О-(6-О-ацетил)-β-D-глюкозид, изорамнетин-3-О-β-D-рутинозид, кверцетин-3-О-рутинозид (рутин) и кверцетин. Предполагается последующее исследование биологической активности выделенных индивидуальных веществ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Чиков П. С. Атлас ареалов и ресурсов лекарственных растений СССР. Москва: Картография; 1983. 340 с.
2. Gampe N., Darcsi A., Nedves A. N., Boldizsar I. et al. Phytochemical analysis of *Ononis arvensis* L. by liquid chromatography coupled with mass spectrometry. *Journal of Mass Spectrometry*. 2018;54(2):1–30. DOI: 10.1002/jms.4308.
3. Тулайкин А. И., Бахтина С. М. Диуретическая и анальгезирующая активность извлечений из надземной части *Ononis arvensis* (Fabaceae). *Растительные ресурсы*. 2006;42(1):120–126.
4. Denes T., Papp N., Marton K., Kaszas A. et al. Polyphenol content of *Ononis arvensis* L. and *Rhinanthus serotinus* oborny used in the Transylvanian ethnomedicine. *International journal of pharmacognosy and phytochemistry*. 2015;30(1):1301–1307.
5. Тулайкин А. И., Яковлев Г. П. Изучение химического состава травы стальника полевого. *Фармация*. 2007;2:10–11.
6. Сулов И. С., Дудецкая Н. А., Теслов Л. С., Лужанин В. Г., Яковлев Г. П. О некоторых видах рода золотарник. *Журнал научных статей «Здоровье и образование в XXI веке»*. 2019;21(6):68–76. DOI: 10.26787/nydha-2226-7425-2019-21-6-68-76.

7. Šutovska M., Capek P., Kocmálová M., Franová S., Pawlaczyk I., Gancarz R. Characterization and biological activity of *Solidago canadensis* complex. *International journal of biological macromolecules*. 2013;52:192–197. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2012.09.021.
8. Apáti P., Houghton P. J., Kite G., Steventon G. B., Kery A. HPLC Analysis of the Flavonoids in Pharmaceutical Preparations from Canadian Goldenrod (*Solidago canadensis*). *Chromatographia Supplement*. 2002;56:65–68. DOI: 10.1007/BF02494115.
9. Apáti P., Kéry Á., Houghton P. J., Steventon G. B., Kite G. In-vitro effect of flavonoids from *Solidago canadensis* extract on glutathione S-transferase. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2006;58:251–256. DOI: 10.1211/jpp.58.2.0013.
10. Kelly A. M., Oliveira T. B., Valverde S. S. Determination of the metabolic profile of *Solidago canadensis* using UFLC-PDA-ESI-TOF. *Rodriguesia*. 2020;71:1–6. DOI: 0000-0002-4006-811X.
11. Baki P. M. A., El-Sherei M. M., Khaleel A. E., Motaal A. A. A., Abdallah H. M. I. Aquaretic activity of *Solidago canadensis* L. cultivated in Egypt and determination of the most bioactive fraction. *Iranian Journal of Pharmaceutical research*. 2019;18(2):922–937. DOI: 10.22037/ijpr.2019.2390.
12. Zekić J., Vovk I., Glavnik V. Extraction and Analyses of flavonoids and phenolic acids from Canadian goldenrod and Giant goldenrod. *Forest*. 2020;12(1):40. DOI: 10.3390/f12010040.
13. Reznicek G., Jurenitsch J., Plasun M., Karhammer S., Haslinger E. et al. Four major saponins from *Solidago canadensis*. *Phytochemistry*. 1991;30(5):1629–1633. DOI: 10.1016/0031-9422(91)84222-E.
14. Anthonsen T., McCabe P. H., McCrindle R., Murray R. D. H. Constituents of *Solidago* species – I: The constitution and stereochemistry of diterpenoids from *Solidago canadensis* L. *Tetrahedron*. 1969;25(10):2233–2239. DOI: 10.1016/S0040-4020(01)82771-X.
15. Chaturvedula P. V. S., Zhou B.-N., Gao Z., Thomas S. J., Hecht S. M., Kingston D. G. I. New lupane triterpenoids from *Solidago canadensis* that inhibit the lyase activity of DNA polymerase β. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 2004;12(23):6271–6275. DOI: 10.1016/j.bmc.2004.08.048.
16. Deng Y., Zhao Y., Padilla-Zakour O., Yang G. Polyphenols, antioxidant and antimicrobial activities of leaf and bark extracts of *Solidago canadensis* L. *Industrial crops and products*. 2015;74:803–809. DOI: 10.1016/j.indcrop.2015.06.014.
17. Савустьяненко А. В. Применение экстрактов золотарника обыкновенного (*Solidago virgaurea* L.) для лечения заболеваний мочевыводящих путей. *На помощь практикующему врачу*. 2014;3(9):29–37.
18. Losse H., Zunkley H., Quante T. Side effects of diuretics. *Clinical and experimental hypertension*. 1983;5:309–320.
19. Сампиев А. М., Давитаян Н. А. Сравнительное изучение фармакологической активности экстрактов из травы и настойки из корней стальника полевого. *Кубанский научный медицинский вестник*. 2006;12:102–105.
20. Сулов И. С., Понкратова А. О., Дудецкая Н. А., Теслов Л. С., Лужанин В. Г. Стандартизация травы золотарника канадского. *Фармация*. 2020;69(8):13–20. DOI: 10.29296/25419218-2020-08-02.
21. Bylka W., Matlawska I. Flavonoids and free phenolic acids from *Phytolacca americana* L. leaves. *Acta Poloniae Pharmaceutica – Drug research*. 2001;58(1):69–72.

REFERENCES

1. Chikov P. S. *Atlas arealov i resursov lekarstvennykh rasteniy SSSR* [Atlas of areas and resources of medicinal plants in the USSR]. Moscow: Kartografiya; 1983. 340 p. (In Russ.).
2. Gampe N., Darcsi A., Nedves A. N., Boldizsar I. et al. Phytochemical analysis of *Ononis arvensis* L. by liquid chromatography coupled with mass spectrometry. *Journal of Mass Spectrometry*. 2018;54(2):1–30. DOI: 10.1002/jms.4308.
3. Tulaiyin A. I., Bakhtina S. M. Diuretic and analgesic activity of extracts from *ononis arvensis* (fabaceae) above-ground part. *Rastitelnye Resursy*. 2006;42(1):120–126. (In Russ.).
4. Denes T., Papp N., Marton K., Kaszas A. et al. Polyphenol content of *Ononis arvensis* L. and *Rhinanthus serotinus* oborny used in the Transylvanian ethnomedicine. *International journal of pharmacognosy and phytochemistry*. 2015;30(1):1301–1307.

5. Tulaikin A. I., Yakovlev G. P. Investigation of the chemical composition of rest-harrow (*Ononis arvensis* L.). *Farmatsiya = Pharmacy*. 2007;2:10–11 (In Russ.).
6. Suloev I. S., Dudetskaya N. A., Teslov L. S., Luzhanin V. G., Yakovlev G. P. About some species of genus goldenrod. *Zhurnal nauchnykh statey «Zdorov'e i obrazovanie v XXI veke»*. 2019;21(6):68–76. (In Russ.). DOI: 10.26787/nydha-2226-7425-2019-21-6-68-76.
7. Šutovska M., Capek P., Kocmálová M., Franová S., Pawlaczyk I., Gancarz R. Characterization and biological activity of *Solidago canadensis* complex. *International journal of biological macromolecules*. 2013;52:192–197. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2012.09.021.
8. Apáti P., Houghton P. J., Kite G., Steventon G. B., Kery A. HPLC Analysis of the Flavonoids in Pharmaceutical Preparations from Canadian Goldenrod (*Solidago canadensis*). *Chromatographia Supplement*. 2002;56:65–68. DOI: 10.1007/BF02494115.
9. Apáti P., Kéry Á., Houghton P. J., Steventon G. B., Kite G. In-vitro effect of flavonoids from *Solidago canadensis* extract on glutathione S-transferase. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2006;58:251–256. DOI: 10.1211/jpp.58.2.0013.
10. Kelly A. M., Oliveira T. B., Valverde S. S. Determination of the metabolic profile of *Solidago canadensis* using UFLC-PDA-ESI-TOF. *Rodriguesia*. 2020;71:1–6. DOI: 0000-0002-4006-811X.
11. Baki P. M. A., El-Sherei M. M., Khaleel A. E., Motaal A. A. A., Abdallah H. M. I. Aquaretic activity of *Solidago canadensis* L. cultivated in Egypt and determination of the most bioactive fraction. *Iranian Journal of Pharmaceutical research*. 2019;18(2):922–937. DOI: 10.22037/ijpr.2019.2390.
12. Zekič J., Vovk I., Glavnik V. Extraction and analyses of flavonoids and phenolic acids from Canadian goldenrod and Giant goldenrod. *Forest*. 2020;12(1):40. DOI: 10.3390/f12010040.
13. Reznicek G., Jurenitsch J., Plasun M., Karhammer S., Haslinger E. et al. Four major saponins from *Solidago canadensis*. *Phytochemistry*. 1991;30(5):1629–1633. DOI: 10.1016/0031-9422(91)84222-E.
14. Anthonsen T., McCabe P. H., McCrindle R., Murray R. D. H. Constituents of *Solidago* species – I: The constitution and stereochemistry of diterpenoids from *Solidago canadensis* L. *Tetrahedron*. 1969;25(10):2233–2239. DOI: 10.1016/S0040-4020(01)82771-X.
15. Chaturvedula P. V. S., Zhou B.-N., Gao Z., Thomas S. J., Hecht S. M., Kingston D. G. I. New lupane triterpenoids from *Solidago canadensis* that inhibit the lyase activity of DNA polymerase β . *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 2004;12(23):6271–6275. DOI: 10.1016/j.bmc.2004.08.048.
16. Deng Y., Zhao Y., Padilla-Zakour O., Yang G. Polyphenols, antioxidant and antimicrobial activities of leaf and bark extracts of *Solidago canadensis* L. *Industrial crops and products*. 2015;74:803–809. DOI: 10.1016/j.indcrop.2015.06.014.
17. Savust'yanenko A. V. *Primenenie ekstraktov zolotarnika obyknovennogo (Solidago virgaurea L.) dlya lecheniya zabolevaniy mochevy vodyashchikh putey* [The use of goldenrod extracts (*Solidago virgaurea* L.) for the treatment of diseases of the urinary tract]. *Na dopomogu praktikuyuchomu likaryu*. 2014;3(9):29–37. (In Ukraine).
18. Losse H., Zumkley H., Quante T. Side effects of diuretics. *Clinical and experimental hypertension*. 1983;5:309–320.
19. Sampiev A. M., Davitavjan N. A. Comparative studying of pharmacological activity of extracts from the herb and tinctures from the root *Ononis arvensis* L. *Kubanskiy nauchnyy meditsinskiy vestnik = Kuban Scientific Medical Bulletin*. 2006;12:102–105. (In Russ.).
20. Suloev I. S., Ponkratova A. O., Dudetskaya N. A., Teslov L. S., Luzhanin V. G. Standardization of Canadian goldenrod (*Solidago canadensis*) herb. *Farmatsiya = Pharmacy*. 2020;69(8):13–20. (In Russ.). DOI: 10.29296/25419218-2020-08-02.
21. Bylka W., Matlawska I. Flavonoids and free phenolic acids from *Phytolacca americana* L. leaves. *Acta Poloniae Pharmaceutica – Drug research*. 2001;58(1):69–72.