

УДК 582.998+615.322:577.13

ФЕНИЛПРОПАНОИДЫ *PARASENECIO HASTATUS* (COMPOSITAE) И ИХ РАНОЗАЖИВЛЯЮЩАЯ АКТИВНОСТЬ

© Д.Н. Оленников^{1*}, Н.К. Чирикова², А.В. Цыренжапов³

¹ Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН,
ул. Сахьяновой, 6, Улан-Удэ, 670047 (Россия), e-mail: olennikovdn@mail.ru

² Северо-Восточный федеральный университет имени М.К. Аммосова,
ул. Белинского, 58, Якутск, 677000 (Россия)

³ Иркутский государственный медицинский университет, ул. Красного
Восстания, 1, Иркутск, 664003 (Россия)

Paraseneccio hastatus (L.) Н. Кoyama (*Cacalia hastata* L., *Compositae*) – известное лекарственное растение, широко распространенное Сибири и Юго-Восточной Азии и применяющееся в практике традиционной медицины азиатских стран в качестве ранозаживляющего средства. Научными исследованиями была подтверждена эффективность лекарственных средств, содержащих *P. hastatus*, однако действующие вещества выявлены не были. В ходе настоящей работы было выявлено, что бутанольная фракция листьев *P. hastatus* обладала наиболее выраженным ранозаживляющим действием. В результате хроматографического разделения этой фракции было выделено 12 фенилпропаноидов, идентифицированных как 5-*O*-кофеилхинная, кофейная кислоты, и впервые для данного вида – 4-*O*-кофеилхинная, 1,5-ди-*O*-кофеилхинная, 3,4-ди-*O*-кофеилхинная, 3,5-ди-*O*-кофеилхинная, 4,5-ди-*O*-кофеилхинная, 3,4,5-три-*O*-кофеилхинная, цикориевая, 3-*O*-ферулоилхинная, 5-*O*-ферулоилхинная кислоты и эхинакозид. С применением метода микроколоночной ВЭЖХ установлено, что максимальное содержание фенилпропаноидов в листьях *P. hastatus* наблюдается в фазу массового цветения (до 60.83 мг/г). Соединения 5-*O*-кофеилхинная кислота (16.34–39.37 мг/г) и 3,5-ди-*O*-кофеилхинная кислота (10.77–22.87 мг/г) были доминирующими компонентами комплекса фенольных соединений, а также основными действующими веществами, определяющими наличие у *P. hastatus* ранозаживляющего эффекта. Установлено, что активность 3,5-ди-*O*-кофеилхинной кислоты выше, чем у 5-*O*-кофеилхинной кислоты. Таким образом, было показано, что кофеилхинные кислоты и содержащие их лекарственные средства являются перспективными ранозаживляющими агентами.

Ключевые слова: *Paraseneccio hastatus*, *Cacalia hastata*, фенилпропаноиды, 5-*O*-кофеилхинная кислота, 3,5-ди-*O*-кофеилхинная кислота, ранозаживляющее действие, ВЭЖХ.

Исследование выполнено при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках научного проекта № АААА-А17-117011810037-0.

Введение

Поиск эффективных и безопасных ранозаживляющих средств в настоящее время является актуальной задачей медицинской науки. Анализ имеющегося ассортимента лекарств, применяющихся для лечения ран различной этиологии, свидетельствует о преобладании синтетических, а также неорганических препаратов; на долю растительных средств приходится не более 10% от общего числа [1]. В практике тибетской меди-

Оленников Даниил Николаевич – доктор фармацевтических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории медико-биологических исследований, e-mail: olennikovdn@mail.ru

Чирикова Надежда Константиновна – доктор фармацевтических наук, доцент кафедры биохимии и биотехнологии, e-mail: hofnung@mail.ru

Цыренжапов Арсен Владимирович – кандидат фармацевтических наук, ассистент кафедры фармакологии, e-mail: a.tsyrenzhapov@ismu.baikal.ru

цины при гнойных ранах и язвах различной этиологии в качестве ранозаживляющего и гемостатического средства применялся лжекрестовник копейный {*Paraseneccio hastatus* (L.) Н. Кoyama, *Cacalia hastata* L., *Koyamacalia hastata* (L.) Н. Robinson et R. D. Brettell; семейство *Compositae*} в виде местных аппликаций мази на козьем жире, содержащей сгущенный отвар из листьев [2, 3]. Химиче-

* Автор, с которым следует вести переписку.

ское изучение данного растительного вида показало присутствие в нем сесквитерпенов [4], полисахаридов [5], каротиноидов [6], органических кислот [7, 8], фенольных кислот [9], тритерпенов, кумаринов [10], алкалоидов [11], витаминов [12], флавоноидов [13] и эфирного масла [14]. Экспериментальные исследования подтвердили правомерность применения аппликационных средств, содержащих экстракт из листьев *P. hastatus*, при повреждениях тканей, вследствие наличия выраженного регенераторного, противовоспалительного, антиэкссудативного и антимикробного действия [15, 16], однако определение компонентов, обуславливающих наличие данной биологической активности, не проводилось. Цель настоящей работы – выделение и количественный анализ соединений, оказывающих ранозаживляющее действие лекарственных средств из листьев *P. hastatus*.

Экспериментальная часть

Растительное сырье. Листья *P. hastatus* были собраны в различных районах республики Бурятия в 2009–2012 гг.: Закаменский район, с. Бортой, смешанный лес, 20.08.2009 г. (С-1), Заиграевский район, пос. Тальцы, лиственный лес, 25.08.2010 г. (С-2), Мухоршибирский район, с. Мухоршибирь, смешанный лес, 15.08.2011 г. (С-3), Кабанский район, с. Боярск, берег оз. Байкал, 24.07.2011 г. (С-4), Мухоршибирский район, с. Харашибирь, лиственный лес, 27.07.2012 г. (С-5), Прибайкальский район, пос. Горячинск, смешанный лес, 31.07.2011 г. (С-6). Видовая принадлежность определена д.фарм.н. Т.А. Асеевой (ИОЭБ СО РАН). Сырье высушивали в конвекционной печи (40 °С) до значений влажности $\leq 5\%$.

Общие экспериментальные условия. Для колоночной хроматографии (КХ) применяли силикагель и Сефадекс LH-20 (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA). В работе использованы коммерческие образцы веществ сравнения: кофейная кислота ($\geq 98\%$), цикориевая кислота ($\geq 95\%$), эхинакозид ($\geq 98\%$), 5-*O*-кофеилхинная кислота ($\geq 98\%$), 4-*O*-кофеилхинная кислота ($\geq 98\%$), 1,5-ди-*O*-кофеилхинная кислота ($\geq 98\%$), 3,4-ди-*O*-кофеилхинная кислота ($\geq 90\%$), 4,5-ди-*O*-кофеилхинная кислота ($\geq 85\%$; Sigma-Aldrich); 3,5-ди-*O*-кофеилхинная кислота ($\geq 98\%$), 3-*O*-ферулоилхинная кислота ($\geq 98\%$), 5-*O*-ферулоилхинная кислота ($\geq 98\%$; ChemFaces, Wuhan, Hubei, P.R. China). Спектрофотометрические исследования проводили на спектрофотометре СФ-2000 (ОКБ Спектр, Санкт-Петербург, Россия). Масс-спектрометрические исследования осуществляли на ТQ-масс-спектрометре LCMS-8050 (Shimadzu, Columbia, MD, USA). Условия: режим ионизации – электрораспыление (ESI, отрицательные ионы); температура интерфейса ESI – 300 °С; температура линии десольватации – 250 °С; температура нагревательного блока – 400 °С; скорость газа-распылителя (N₂) – 3 л/мин; скорость газа-нагревателя (воздух) – 10 л/мин; давление газа, используемого для диссоциации, индуцируемой соударением (CID gas, Ar) – 270 кПа; скорость Ar – 0.3 мл/мин; напряжение на капилляре – 15–30 кВ; напряжение поля 4 кВ; диапазон сканирования масс (*m/z*) 100–1000.

Экстракция и фракционирование *P. hastatus*. Измельченные листья *P. hastatus* (1.5 кг; сырье С-2) экстрагировали 70% этанолом (1 : 40) при 80 °С трехкратно по 1.5 ч. Спиртовое извлечение фильтровали, фильтрат концентрировали в вакууме и высушивали. Получено 572 г сухого экстракта. Далее 500 г сухого экстракта суспендировали в 2 л дистиллированной воды и полученную суспензию обрабатывали последовательно гексаном, хлороформом, этилацетатом и бутанолом. Органические извлечения концентрировали в вакууме до полного удаления растворителей и высушивали в вакуум-сушильном шкафу до значений влажности 4–6%. В результате получены гексановая (3.75% от массы воздушно-сухого сырья), хлороформная (5.66%), этилацетатная (0.77%), бутанольная фракции (18.03%) и водная фракции (26.92%). Для выделения фракции водорастворимых полисахаридов растительное сырье после спиртовой экстракции высушивали, после чего экстрагировали водой на кипящей водяной бане (1 : 30; 3-кратная экстракция по 60 мин). Водные извлечения объединяли, концентрировали до 1000 мл и диализовали против дистиллированной воды в диализных трубах с пределом диализа 2 кДа (Sigma-Aldrich Inc., Германия) в течение 48 ч. Диализат осаждали ацетоном (1 : 10), выпавший осадок центрифугировали, промывали ацетоном и высушивали [17, 18]. Выход фракции водорастворимых полисахаридов 4.25% от массы воздушно-сухого сырья.

Выделение соединений 1–12 из бутанольной фракции *P. hastatus*. Фракцию (100 г) разделяли с применением колоночной хроматографии на силикагеле (5×100 см) с использованием в качестве элюента градиентной системы СНCl₃-MeOH (100 : 0→70 : 30). Полученные фракции рехроматографировали на Сефадексе LH-20 (3×100 см) с использованием градиентной системы MeOH-H₂O (100 : 0→0 : 100). Подфракции дополнительно очищали с применением препаративной ТСХ на силикагеле в системе растворителей EtOAc-CH₂Cl₂-AcOH-HCOOH-H₂O (10 : 2.5 : 1 : 1 : 1). В результате хроматографического разделения из бутанольной фракции выделено 12 соединений: 1 (115 мг), 2 (6.61 г), 3 (89 мг), 4 (97 мг), 5 (42 мг), 6 (98 мг), 7 (114

мг), **8** (109 мг), **9** (51 мг), **10** (4.27 г), **11** (37 мг), **12** (124 мг). Идентификацию соединений осуществляли по данным хроматографической подвижности, УФ-спектроскопии, масс-спектрометрии в сравнении с известными соединениями и данными литературы (табл. 1).

Микроколоночная ВЭЖХ-УФ. Для аналитической ВЭЖХ использовали микроколоночный жидкостный хроматограф Милихром А-02 (Эконова, Новосибирск, Россия), снабженный колонкой ProntoSIL-120-5-C18 AQ (75×2 мм, Ø 5 мкм; Metrohm AG, Herisau, Switzerland). Условия анализа: элюент А – (4.1 М LiClO₄ в 0.1 М HClO₄):H₂O 5:95, элюент В – MeCN; программа градиента – 0.0–3.5 мин 5–20% В, 3.5–8.0 мин 20–25% В, 8.0–12.0 мин 25–30% В; инжестируемый объем – 1 мкл; скорость потока – 150 мкл/мин, температура колонки – 35 °С; УФ-детектор – λ 325 нм. Расчет количественного проводили по градуировочным графикам, построенным с использованием коммерческих образцов веществ сравнения. Для анализа растений 40 мг сырья экстрагировали 1 мл 70% этанолом в УЗ-ванне (50 кГц, 40 мин, 35 °С), после чего центрифугировали (6000 g, 20 мин), фильтровали извлечение через мембранный фильтр (0.45 мкм) и далее использовали для анализа. Результаты представлены в виде среднего значения из трех параллельных определений.

Приготовление линиментов. Навеску фракции или соединения растворяли в ДМСО (10 : 1), полученный раствор разбавляли глицерином (1 : 1) после чего доводили до необходимого объема растопленным ланолином (40 °С). Смесь перемешивали в гомогенизаторе HG 15A (Daihan Scientific, Корея) при 27000 об./мин в течение 20 мин до образования стойкой эмульсии. Для животных контрольной группы готовили линимент, состоящий из глицерина, ДМСО и ланолина состава, аналогичного описанному.

Ранозаживляющая активность. Эксперименты выполнены на белых крысах линии Wistar обоего пола массой 180–200 г. Линейные кожные раны выполняли по методике [19]. Животным опытной группы сразу после операции на рану наносили линименты. В дальнейшем перевязки проводились ежедневно 1 раз в день на протяжении всего эксперимента. К концу эксперимента, на 8-е сутки наблюдения, определяли прочность раневого рубца тензиометрическим методом с использованием прибора для оценки модуля эластичности ВН-5307 [20]. В качестве препарата сравнения использовали один из коммерческих лидеров в группе регенерантов и репаратантов – гель Солкосерил (Legacy Pharmaceuticals, Швейцария; концентрация действующего вещества – 0.415%) [21] по аналогичной схеме. Статистическая обработка полученных данных проведена с использованием критерия Уилкоксона-Манна [22].

Таблица 1. Хроматографическая подвижность, данные УФ- и масс-спектрометрии соединений **1–12** из листьев *P. hastatus*

№	Соединение	t _R , мин ^а	λ _{max} , нм	Формула	ESI-MS, m/z
1	4- <i>O</i> -Кофеилхинная кислота ^б	4.71	326	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	353 ^г , 191, 135
2	5- <i>O</i> -Кофеилхинная кислота ^б	5.25	326	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	353 ^г , 191, 135
3	Кофейная кислота ^б	5.81	322	C ₉ H ₈ O ₄	179 ^г
4	Эхинакозид ^б	5.97	320	C ₃₅ H ₄₆ O ₂₀	785 ^г , 623, 477, 461, 315
5	3- <i>O</i> -Ферулоилхинная кислота ^б	6.57	320	C ₁₇ H ₂₀ O ₉	367 ^г , 193, 149
6	Цикориевая кислота ^б	6.75	322	C ₂₂ H ₁₈ O ₁₂	473 ^г , 311, 191, 135
7	5- <i>O</i> -Ферулоилхинная кислота ^б	6.93	320	C ₁₇ H ₂₀ O ₉	367 ^г , 193, 149
8	1,5-Ди- <i>O</i> -кофеилхинная кислота ^б	7.32	325	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	515 ^г , 353, 191, 135
9	3,4-Ди- <i>O</i> -кофеилхинная кислота ^б	7.62	325	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	515 ^г , 353, 191, 135
10	3,5-Ди- <i>O</i> -кофеилхинная кислота ^б	8.04	325	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	515 ^г , 353, 191, 135
11	4,5-Ди- <i>O</i> -кофеилхинная кислота ^б	8.35	325	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	515 ^г , 353, 191, 135
12	3,4,5-Три- <i>O</i> -кофеилхинная кислота ^в	8.73	325	C ₃₄ H ₃₀ O ₁₅	677 ^г , 515, 353, 191, 135

^а Микроколоночная ВЭЖХ-УФ. ^{б, в} Идентификация осуществлена с использованием веществ сравнения (^б) или данных литературы (^в). ^г Отмечен ион [M–H][–].

Обсуждение результатов

Экспериментальные исследования ранозаживляющей активности линиментов, содержащих фракции экстрактивных веществ из листьев *P. Hastatus*, показали, что наиболее выраженное действие оказывала бутанольная фракция, для которой показатель прочности рубца составлял 32.4% от такового в контроле (табл. 2).

С целью выявления компонентов, отвечающих за проявление данного вида активности, бутанольную фракцию подвергали хроматографическому разделению, в результате чего было выделено 12 индивидуальных соединений, относящихся к классу фенилпропаноидов и идентифицированных по данным физико-химического анализа как 4-*O*-кофеилхинная кислота (**1**), 5-*O*-кофеилхинная кислота (**2**) [23], кофейная кислота

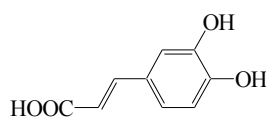
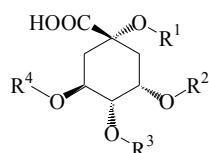
(3) [24], эхинакозид (4) [25], 3-*O*-ферулоилхинная кислота (5) [26], 2,3-ди-*O*-кофеилвинная кислота (цикориевая кислота, 6) [27], 5-*O*-ферулоилхинная кислота (7) [26], 1,5-ди-*O*-кофеилхинная кислота (8), 3,4-ди-*O*-кофеилхинная кислота (9) [28], 3,5-ди-*O*-кофеилхинная кислота (10) [29], 4,5-ди-*O*-кофеилхинная кислота (11), 3,4,5-три-*O*-кофеилхинная кислота (12) [28] (рис. 1). Ранее соединения 2 и 3 были обнаружены в листьях *P. hastatus* [9, 13]; присутствие 1, 4–12 установлено в данном виде впервые. Следует отметить, что наличие 2, 9, 10 и 11 было выявлено также в листьях *Parasenecio firmus* (Ком.) Y.L.Chen (*Cacalia firma* Ком.) [30], а 1, 4–8 и 12 показаны впервые для рода *Parasenecio* в целом.

С применением метода микроколоночной ВЭЖХ-УФ были установлены оптимальные условия анализа соединений 1–12, позволяющие добиться удовлетворительного разделения компонентов (рис. 2а). Хроматографический профиль бутанольной фракции был близок к таковому спиртового извлечения из листьев *P. hastatus* (рис. 2б).

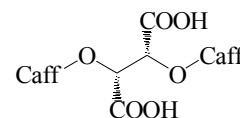
Таблица 2. Ранозаживляющая активность фракций и индивидуальных соединений листьев *P. hastatus*^a

Исследуемое средство	Концентрация, %	Прочность рубца, г	Ранозаживляющий эффект, %
Контроль	–	210±10	–
Спиртовой экстракт	1.00	264±15	+25.7
Гексановая фракция	1.00	244±14	+16.2
Хлороформная фракция	1.00	232±11	+10.5
Этилацетатная фракция	1.00	249±15	+18.6
Бутанольная фракция	1.00	278±16	+32.4
Водная фракция	1.00	212±10	+1.0
Полисахариды	1.00	230±11	+9.5
5- <i>O</i> -Кофеилхинная кислота	0.10	264±18	+25.7
	0.25	292±22	+39.1
	0.50	327±26	+55.7
3,5-Ди- <i>O</i> -кофеилхинная кислота	0.10	267±17	+27.1
	0.25	304±24	+44.8
	0.50	349±28	+66.2
Солкосерил ^б	0.42	282±24	+34.3

^a $n = 10$, $p < 0.05$. ^б Препарат сравнения.

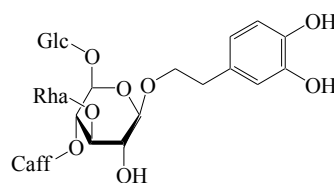


3



6

- 1: $R^1=R^2=R^4=H$, $R^3=Caff$
 2: $R^1=R^3=R^4=H$, $R^2=Caff$
 5: $R^1=R^3=R^4=H$, $R^2=Fer$
 7: $R^1=R^2=R^3=H$, $R^4=Fer$
 8: $R^2=R^3=H$, $R^1=R^4=Caff$
 9: $R^1=R^4=H$, $R^2=R^3=Caff$
 10: $R^1=R^3=H$, $R^2=R^4=Caff$
 11: $R^1=R^2=H$, $R^3=R^4=Caff$
 12: $R^1=H$, $R^2=R^3=R^4=Caff$



4

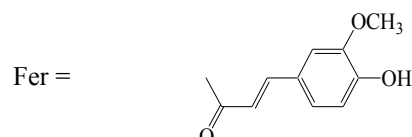
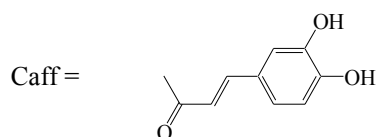


Рис. 1. Соединения, выделенные из *P. hastatus*

Исследование сезонной динамики накопления фенольных соединений в листьях *P. hastatus* показало, что суммарное содержание фенилпропаноидов возрастало от начала вегетации (5.70 мг/г) до фазы массового цветения (60.83 мг/г), после чего резко снижалось (25.80 мг/г) (табл. 2). К числу основных компонентов относились 5-*O*-кофеилхинная кислота (2) и 3,5-ди-*O*-кофеилхинная кислота (10), доминирующие во все фазы вегетации за исключением фазы плодоношения, во время которой содержание производных кофейной кислоты уменьшалось. Причиной данного явления может являться сезонная активность эстераз, разрушающих эфиры до кофейной кислоты (3), концентрация которой значительно увеличивается в данный период (11.27 мг/г).

Сравнительный анализ сырья, собранного в Республике Бурятия, показал, что кофеилхинные кислоты были доминантными компонентами, а концентрация 5-*O*-кофеилхинной (2) и 3,5-ди-*O*-кофеилхинной кислот (10) достигала 16.34–39.37 и 10.77–22.87 мг/г соответственно, что составило 70.1–77.3% от содержания идентифицированных соединений (табл. 3). На долю минорных кофеилхинных, ферулоилхинных и кофеилвинных кислот приходилось 7.5–14.3, 2.3–4.4 и 1.6–3.9% соответственно. Суммарное содержание фенилпропаноидов в исследованных образцах сырья варьировало в пределах 47.56–74.25 мг/г.

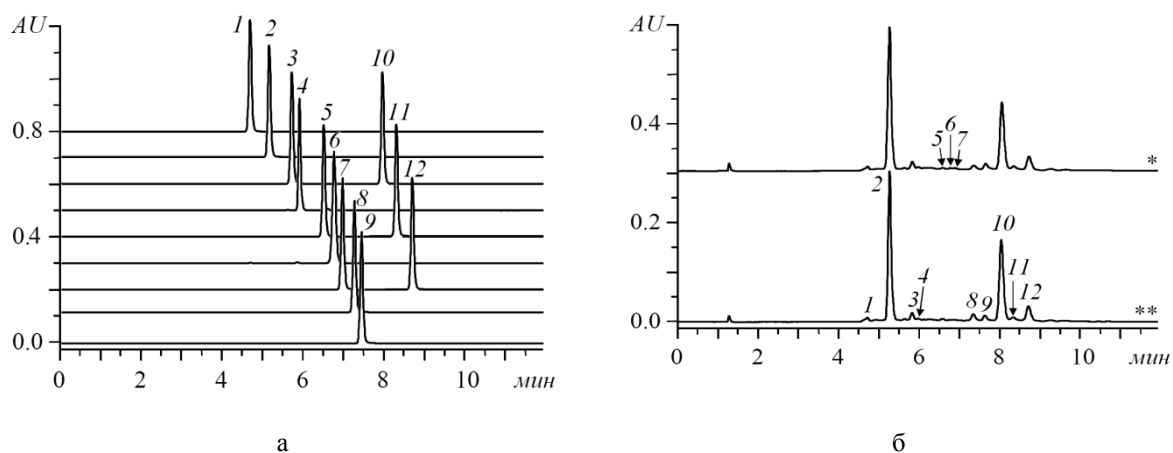


Рис. 2. Хроматограммы (ВЭЖХ) выделенных образцов фенилпропаноидов (а), бутанольной фракции (б*) и спиртового экстракта листьев *P. hastatus* (б**). Цифрами указано положение соединений: 4-*O*-кофеилхинная кислота (1), 5-*O*-кофеилхинная кислота (2), кофейная кислота (3), эхинакозид (4), 3-*O*-ферулоилхинная кислота (5), цикориевая кислота (6), 5-*O*-ферулоилхинная кислота (7), 1,5-ди-*O*-кофеилхинная кислота (8), 3,4-ди-*O*-кофеилхинная кислота (9), 3,5-ди-*O*-кофеилхинная кислота (10), 4,5-ди-*O*-кофеилхинная кислота (11), 3,4,5-три-*O*-кофеилхинная кислота (12)

Таблица 3. Содержание фенилпропаноидов в листьях *P. hastatus*, мг/г

Соединение	Фаза вегетации (1-6) ^а						Сырье (С-1 – С-6) ^б					
	1	2	3	4	5	6	С-1	С-2	С-3	С-4	С-5	С-6
1	0.16	0.18	0.46	1.01	1.27	0.52	0.98	1.46	1.68	0.86	1.50	1.26
2	1.71	2.13	7.60	14.86	25.82	8.29	16.34	28.64	39.37	24.84	33.01	25.29
3	0.15	0.16	0.77	1.53	1.66	11.27	1.42	1.03	1.19	1.48	0.80	1.30
4	1.12	1.22	1.24	2.78	2.88	0.63	3.08	4.58	2.26	4.57	3.29	1.37
5	0.12	0.13	0.27	0.55	0.61	сл.	0.68	0.50	0.54	0.62	1.86	0.52
6	0.12	0.18	0.28	0.72	1.00	0.34	0.90	2.58	1.36	1.06	2.03	0.96
7	0.08	0.10	0.26	0.61	0.70	сл.	1.42	1.63	2.06	0.92	0.80	0.89
8	сл.	0.15	0.84	1.33	1.37	0.23	0.46	1.02	1.14	0.54	1.55	0.43
9	сл.	0.14	0.79	1.82	2.01	0.18	0.34	1.33	0.80	1.55	1.69	1.38
10	1.81	2.63	8.21	12.90	17.06	3.37	20.14	17.26	10.77	21.84	22.87	21.12
11	0.14	0.19	0.66	1.26	1.43	сл.	0.34	0.87	0.68	0.99	1.11	0.97
12	0.29	0.64	1.91	3.12	5.02	0.97	1.46	4.59	4.09	4.15	3.74	4.53
Σ	5.70	7.85	23.29	43.75	60.83	25.80	47.56	65.49	65.94	63.42	74.25	60.02

^а 1 – начало вегетации, 2 – вегетация, 3 – начало бутонизации-бутонизация, 4 – начало цветения, 5 – массовое цветение, 6 – плодоношение. ^б Фаза массового цветения; характеристика сырья приведена в Экспериментальной части.

Фармакологические исследования 5-*O*-кофеилхинной (**2**) и 3,5-ди-*O*-кофеилхинной кислот (**10**) показали, что оба соединения оказывали дозозависимый эффект, и наибольшая выраженность действия наблюдалась для линиментов с концентрацией действующих веществ 0.5%, причем активность **10** (+66.2% от контроля) была выше, чем у **2** (+55.7%), и превышала активность препарата сравнения на 21.4–31.9% (табл. 2). Полученные данные позволяют охарактеризовать изученные соединения как основные действующие вещества, обуславливающие наличие у препаратов из листьев *P. hastatus* ранозаживляющего действия.

Ранозаживляющее действие фенилпропаноидов было выявлено ранее при изучении механизма действия препаратов прополиса, характеризующихся высоким содержанием фенилпропаноидов различного строения и, в частности, производных кофеилхинных кислот [31]. Для кофеил-гликозида вербаскозида показано наличие мембраностабилизирующей активности, обусловленной способностью к образованию стабильных комплексов с фосфатидилхолиновыми и фосфатидилглицериновыми структурами клеточных мембран [32]. Действие теуполиозида, фенилпропаноида из *Ajuga reptans* L. (*Lamiaceae*), является следствием активации кожных ферментов (миелопероксидаза, глутатион пероксидаза, глутатион-*S*-трансфераза), а также ингибирования воспалительных хемокинов в кератиноцитах человека в условиях воздействия провоспалительными медиаторами [33]. Следует отметить, что фенилпропаноиды групп кофеил-хинных кислот и кофеил-гликозидов обладают низкой токсичностью ($LD_{50} > 1000\text{--}5000$ мг/г) [34–36], в связи с чем данный класс соединений можно охарактеризовать, перспективным для создания высокоэффективных и безопасных ранозаживляющих средств. Таким образом, проведенные исследования показали, что для листьев *P. hastatus* характерна способность к накоплению фенилпропаноидов (кофеил-, ферулоилхинные, кофеилвинные кислоты, кофеил-гликозиды), присутствие которых обуславливает наличие выраженного ранозаживляющего действия.

Выводы

1. Из листьев *Parasenecio hastatus* выделено 12 фенилпропаноидов (кофеилхинные кислоты, ферулоилхинные кислоты, кофеил-гликозиды, кофеил-винные кислоты), в том числе десять из них впервые для вида.
2. Ранозаживляющее действие средств с *P. hastatus* обусловлено присутствием фенилпропаноидов, причем наиболее эффективными являются 5-*O*-кофеилхинная кислота и 3,5-ди-*O*-кофеилхинная кислота, ранозаживляющее действие которых установлено впервые.

Список литературы

1. Машковский М.Д. Лекарственные средства. М., 2000. С. 373–403.
2. Праджня С. Кунпан-Дудзи (Полезный для всех экстракт амриты): Большой рецептурный справочник Агинского дацана. М., 2008. С. 128–144.
3. Оленников Д.Н., Потанина О.Г., Танхаева Л.М., Николаева Г.Г. Фармакогностическая характеристика листьев какалии копьевидной (*Cacalia hastata* L.) // Химия растительного сырья. 2004. №3. С. 43–52.
4. Hayashi K., Nakamura H., Mitsuhashi H. Sesquiterpenes from *Cacalia hastata* // Phytochemistry. 1973. Vol. 12. Pp. 2931–2933. DOI: 10.1016/0031-9422(73)80509-6.
5. Olennikov D.N., Tankhaeva L.M., Nikolaeva G.G., Tsyrenzhapov A.V., Nikolaev S.M., Chekhirova G.V. Biologically active substances from *Cacalia hastata* L. 1. Carbohydrates and their hypoglycemic activity // Chem. Nat. Comp. 2004. Vol. 40. Pp. 1–5. DOI: 10.1023/B:CONC.0000025454.35355.db.
6. Olennikov D.N., Tankhaeva L.M., Nikolaeva G.G., Nikolaev S.M. Biologically active substances from *Cacalia hastata* L. 2. Carotenoids and chlorophylls // Chem. Nat. Comp. 2004. Vol. 40. Pp. 96–97. DOI: 10.1023/B:CONC.0000025481.49542.8d.
7. Olennikov D.N., Tankhaeva L.M., Nikolaeva G.G., Tsyrenzhapov A.V., Nikolaev S.M. Biologically active substances from *Cacalia hastata* L. 3. Organic acids // Chem. Nat. Comp. 2004. Vol. 40. Pp. 289–290. DOI: 10.1023/B:CONC.0000039145.63701.2f.
8. Оленников Д.Н., Танхаева Л.М., Николаева Г.Г., Маркарян А.А. Методика количественного определения суммарного содержания органических кислот в растительном сырье // Растительные ресурсы. 2004. Вып. 3. С. 112–117.
9. Olennikov D.N., Tankhaeva L.M., Nikolaeva G.G., Nikolaev S.M. Biologically active substances from *Cacalia hastata* L. 4. Phenolic acids // Chem. Nat. Comp. 2005. Vol. 41. Pp. 222–223. DOI: 10.1007/s10600-005-0115-x.
10. Olennikov D.N., Tankhaeva L.M. Biologically active substances from *Cacalia hastata* L. 5. Triperpenes and coumarins // Chem. Nat. Comp. 2005. Vol. 41. Pp. 600–601. DOI: 10.1007/s10600-005-0219-3.
11. Оленников Д.Н., Танхаева Л.М., Николаева Г.Г., Рохин А.В., Кушнарев Д.Ф. Биологически активные вещества сухого экстракта какалии копьевидной // Химия растительного сырья. 2004. №3. С. 59–62.
12. Оленников Д.Н., Танхаева Л.М. Биологически активные вещества листьев *Cacalia hastata* L. 6. Динамика накопления фотосинтетических пигментов и форм аскорбиновой кислоты // Сиб. мед. журнал. 2006. №6. С. 82–84.
13. Оленников Д.Н., Танхаева Л.М. Фенольные соединения листьев *Cacalia hastata* и их количественный анализ // Химия растительного сырья. 2011. №3. С. 143–148.

14. Miyazawa M., Kawauchi Y., Utsumi Y., Takahashi T. Character impact odorants of wild edible plant – *Cacalia hastata* L. used in Japanese traditional food // J. Oleo Sci. 2010. Vol. 59. Pp. 527–533. DOI: 10.5650/jos.59.527.
15. Аюшиева С.Р., Разуваева Я.Г., Лоншакова К.С., Оленников Д.Н. Морфофункциональная оценка фармакотерапевтической эффективности фитопленки «Хастаплен» при повреждении тканей пародонта // Морфология. 2007. Т. 131. С. 55–55.
16. Aiushieva S.R., Razuvaeva I.G., Olennikov D.N., Lonshakova K.S. Phytofilm Khastaplen use in case of experimental parodontitis modelling // Stomatologija. 2009. Vol. 88. Pp. 14–16.
17. Olennikov D.N., Kashchenko N.I., Chirikova N.K. Meadowsweet teas as new functional beverages: Comparative analysis of nutrients, phytochemicals and biological effects of four *Filipendula* species // Molecules. 2017. Vol. 22. Article 64. DOI: 10.3390/molecules22010016.
18. Olennikov D.N., Kashchenko N.I., Chirikova N.K. Bitter gentian teas: Nutritional and phytochemical profiles, polysaccharide characterisation and bioactivity // Molecules. 2015. Vol. 20. Pp. 20014–20030. DOI: 10.3390/molecules201119674.
19. Фенчин К.М. Заживление ран. Киев, 1979. С. 53–62.
20. Кованов В.В., Сыченников И.А. Коллагенопластика в медицине. М., 1978. С. 37–45.
21. Солкосерил [Электронный ресурс]. URL: http://www.rlsnet.ru/tn_index_id_2943.htm.
22. Сергиенко В.И., Бондарева И.Б. Математическая статистика в клинических исследованиях. М., 2006. С. 125–137.
23. Olennikov D.N., Stolbikova A.V., Tankhaeva L.M., Petrov E.V. Phenylpropanoids and polysaccharides of *Plantago depressa* and *P. media* // Chem. Nat. Comp. 2011. Vol. 47. Pp. 165–169. DOI: 10.1007/s10600-011-9872-x.
24. Olennikov D.N., Tankhaeva L.M., Agafonova S.V. Antioxidant components of *Laetiporus sulphureus* (Bull.: Fr.) Murr. fruit bodies // Appl. Biochem. Microbiol. 2011. Vol. 47. Pp. 419–425. DOI: 10.1134/S0003683811040107.
25. Olennikov D.N., Tankhaeva L.M. Phenylpropanoids from subterranean organs of *Inula helenium* // Chem. Nat. Comp. 2012. Vol. 48. Pp. 317–319. DOI: 10.1007/s10600-012-0235-z.
26. Olennikov D.N., Kashchenko N.I. 1,5-Di-*O*-isoferuloylquinic acid and other phenolic compounds from *Calendula officinalis* L. pollen // Chem. Nat. Comp. 2014. Vol. 50. Pp. 589–593. DOI: 10.1007/s10600-014-1030-9.
27. Lee J., Scagel C.F. Chicoric acid: chemistry, distribution, and production // Front Chem. 2013. Vol. 1. N40. DOI: 10.3389/fchem.2013.00040.
28. Olennikov D.N., Chirikova N.K., Kashchenko N.I., Nikolaev V.M., Kim S.-W., Vennos C. Bioactive phenolics of the genus *Artemisia* (Asteraceae): HPLC-DAD-ESI-TQ-MS/MS profile of the Siberian species and their inhibitory potential against α -amylase and α -glucosidase // Front. Pharmacol. 2018. Vol. 9. N756. DOI: 10.3389/fphar.2018.00756.
29. Olennikov D.N., Tankhaeva L.M., Partilkaev V.V., Rokhin A.V. Chemical constituents of *Caragana bungei* shoots // Braz. J. Pharmacogn. 2012. Vol. 22. Pp. 490–496. DOI: 10.1590/S0102-695X2012005000010.
30. Park H., Nugroho A., Lee J., Kim J., Kim W., Lee K.R., Choi J.S. HPLC analysis of caffeoylquinic acids in the extract of *Cacalia firma* and peroxynitrite scavenging effect // Korean J. Pharmacogn. 2009. Vol. 40. Pp. 365–369.
31. de Moura S.A.L., Negri G., Salatino A., Lima L.D.C., Dourado L.P.A., Mendes J.B., Andrade S.P., Ferreira M.A.N.D., Cara D.C. Aqueous extract of Brazilian green propolis: Primary components, evaluation of inflammation and wound healing by using subcutaneous implanted sponges // Evid. Based Compl. Altern. Med. 2011. Vol. 2011. Article 748283. DOI: 10.1093/ecam/nep112.
32. Funes L., Laporta O., Cerdán-Calero M., Micol V. Effects of verbascoside, a phenylpropanoid glycoside from lemon verbena, on phospholipid model membranes // Chem. Phys. Lipids. 2010. Vol. 163. Pp. 190–199. DOI: 10.1016/j.chemphyslip.2009.11.004.
33. Korkina L.G., Mikhal'chik E., Suprun M.V., Pastore S., Dal Toso R. Molecular mechanisms underlying wound healing and anti-inflammatory properties of naturally occurring biotechnologically produced phenylpropanoid glycosides // Cell. Mol. Biol. 2007. Vol. 53. Pp. 84–91. DOI: 10.1170/T822.
34. Hirose M., Masuda A., Imaida K., Kagawa M., Tsuda H., Ito N. Induction of forestomach lesions in rats by oral administrations of naturally occurring antioxidants for 4 weeks // Jap. J. Cancer. Res. 1987. Vol. 78. Pp. 317–321. DOI: 10.20772/cancersci1985.78.4_317.
35. El-Shabrawy O.A., Melek F.R., Ibrahim M., Radwan A.S. Pharmacological evaluation of the glycosidated phenylpropanoids containing fraction from *Orobancha crenata* // Arch. Pharm. Res. 1989. Vol. 12. Pp. 22–25. DOI: 10.1007/BF02855741.
36. Romert L., Jansson T., Curvall M., Jenssen D. Screening for agents inhibiting the mutagenicity of extracts and constituents of tobacco products // Mutat. Res. 1994. Vol. 322. Pp. 97–110. DOI: 10.1016/0165-1218(94)00015-8.

Поступила в редакцию 3 марта 2019 г.

После переработки 28 июня 2019 г.

Принята к публикации 25 августа 2019 г.

Для цитирования: Оленников Д.Н., Чирикова Н.К., Цыренжапов А.В. Фенилпропаноиды *Parasencio hastatus* (Compositae) и их ранозаживляющая активность // Химия растительного сырья. 2020. №1. С. 97–105. DOI: 10.14258/jcrpm.2020015223.

Olennikov D.N.^{1*}, Chirikova N.K.², Tsyrenzhapov A.V.³ PHENYLPROPANOIDS OF PARASENECIO HASTATUS (COMPOSITAE) AND THEIR WOUND-HEALING ACTIVITY

¹ Institute of General and Experimental Biology SB RAS, Sakh'yanovoy st., 6, Ulan-Ude, 670047 (Russia), e-mail: olennikovdn@mail.ru

² North-Eastern Federal University, Belinskogo st., 58, Yakutsk, 677027 (Russia)

³ Irkutsk State Medical University, Krasnogo Vosstaniya st., 1, Irkutsk, 664003 (Russia)

Parasenecio hastatus (L.) H. Koyama (*Cacalia hastata* L., *Compositae*) is a well-known medicinal plant widespread in Siberia and Southeast Asia and used in the practice of traditional medicine in Asian countries as a wound-healing remedy. Scientific research confirmed the effectiveness of drugs containing *P. hastatus*, however, there is no any information about active substances identified (Ayushieva et al., 2007, 2009). In this work, it was revealed that the butanol fraction of *P. hastatus* leaves showed the most pronounced wound-healing effect. As a result of chromatographic separation of this fraction, 12 phenylpropanoids were identified as 5-*O*-caffeoylquinic acid, caffeic acid, and for the first time 4-*O*-caffeoylquinic, 1,5-di-*O*-caffeoylquinic, 3,4-di-*O*-caffeoylquinic, 3,5-di-*O*-caffeoylquinic, 4,5-di-*O*-caffeoylquinic, 3,4,5-tri-*O*-caffeoylquinic, chichoric, 3-*O*-feruloylquinic, 5-*O*-feruloylquinic acids and echinacoside. Using the microcolumn HPLC, it was established that the maximum content of phenylpropanoids in *P. hastatus* leaves is observed in the mass flowering period (60.83 mg/g). Compounds 5-*O*-caffeoylquinic acid (16.34–39.37 mg/g) and 3,5-di-*O*-caffeoylquinic acid (10.77–22.87 mg/g) were the dominant components of the phenolic complex as well as the main active substances with wound-healing effect. It was shown that the activity of 3,5-di-*O*-caffeoylquinic acid was higher than the activity of 5-*O*-caffeoylquinic acid. Thus, it was demonstrated that caffeoylquinic acids and the drugs containing them are promising wound-healing agents.

Keywords: *Parasenecio hastatus*; *Cacalia hastata*; phenylpropanoids; 5-*O*-caffeoylquinic acid, 3,5-di-*O*-caffeoylquinic acid, wound-healing activity; HPLC.

References

1. Mashkovskiy M.D. *Lekarstvennyye sredstva*. [Medicines]. Moscow, 2000, pp. 373–403. (in Russ.).
2. Pradzhnya S. *Kunpan-Dudzi (Poleznyy dlya vsekh ekstrakt amrity): Bol'shoy retsepturnyy spravochnik Aginskogo datsana*. [Kunpan-Duji (Useful for all amrita extract): A great recipe guide for the Agin Datsan]. Moscow, 2008, pp. 128–144. (in Russ.).
3. Olennikov D.N., Potanina O.G., Tankhayeva L.M., Nikolayeva G.G. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2004, no. 3, pp. 43–52. (in Russ.).
4. Hayashi K., Nakamura H., Mitsuhashi H. *Phytochemistry*, 1973, vol. 12, pp. 2931–2933, DOI: 10.1016/0031-9422(73)80509-6.
5. Olennikov D.N., Tankhaeva L.M., Nikolaeva G.G., Tsyrenzhapov A.V., Nikolaev S.M., Chekhirova G.V. *Chem. Nat. Comp.*, 2004, vol. 40, pp. 1–5. DOI: 10.1023/B:CONC.0000025454.35355.db.
6. Olennikov D.N., Tankhaeva L.M., Nikolaeva G.G., Nikolaev S.M. *Chem. Nat. Comp.*, 2004, vol. 40, pp. 96–97. DOI: 10.1023/B:CONC.0000025481.49542.8d.
7. Olennikov D.N., Tankhaeva L.M., Nikolaeva G.G., Tsyrenzhapov A.V., Nikolaev S.M. *Chem. Nat. Comp.*, 2004, vol. 40, pp. 289–290. DOI: 10.1023/B:CONC.0000039145.63701.2f.
8. Olennikov D.N., Tankhayeva L.M., Nikolayeva G.G., Markaryan A.A. *Rastitel'nyye resursy*, 2004, no. 3, pp. 112–117. (in Russ.).
9. Olennikov D.N., Tankhaeva L.M., Nikolaeva G.G., Nikolaev S.M. *Chem. Nat. Comp.*, 2005, vol. 41, pp. 222–223. DOI: 10.1007/s10600-005-0115-x.
10. Olennikov D.N., Tankhaeva L.M. *Chem. Nat. Comp.*, 2005, vol. 41, pp. 600–601. DOI: 10.1007/s10600-005-0219-3.
11. Olenikov D.N., Tankhayeva L.M., Nikolayeva G.G., Rokhin A.V., Kushnarev D.F. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2004, no. 3, pp. 59–62. (in Russ.).
12. Olennikov D.N., Tankhaeva L.M. *Sib. med. zhurnal*, 2006, no. 6, pp. 82–84. (in Russ.).
13. Olennikov D.N., Tankhaeva L.M. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2011, no. 3, pp. 143–148. (in Russ.).
14. Miyazawa M., Kawachi Y., Utsumi Y., Takahashi T. *J. Oleo Sci.*, 2010, vol. 59, pp. 527–533. DOI: 10.5650/jos.59.527.
15. Ayushiyeva S.R., Razuvayeva YA.G., Lonshakova K.S., Olennikov D.N. *Morfologiya*, 2007, vol. 131, pp. 55–55. (in Russ.).
16. Aiushieva S.R., Razuvaeva I.G., Olennikov D.N., Lonshakova K.S. *Stomatologiya*, 2009, vol. 88, pp. 14–16.
17. Olennikov D.N., Kashchenko N.I., Chirikova N.K. *Molecules*, 2017, vol. 22, article 64. DOI: 10.3390/molecules22010016.
18. Olennikov D.N., Kashchenko N.I., Chirikova N.K. *Molecules*, 2015, vol. 20, pp. 20014–20030. DOI: 10.3390/molecules201119674.
19. Fenchin K.M. *Zazhivleniye ran*. [Wound healing]. Kiev, 1979, pp. 53–62. (in Russ.).
20. Kovanov V.V., Sychennikov I.A. *Kollagenoplastika v meditsine*. [Collagenoplasty in medicine]. Moscow, 1978, pp. 37–45. (in Russ.).
21. *Solkoseril* [Solcoseryl] [Electronic resource]. URL: http://www.rlsnet.ru/tn_index_id_2943.htm. (in Russ.).
22. Sergiyenko V.I., Bondareva I.B. *Matematicheskaya statistika v klinicheskikh issledovaniyakh*. [Mathematical statistics in clinical studies]. Moscow, 2006, pp. 125–137. (in Russ.).

* Corresponding author.

23. Olennikov D.N., Stolbikova A.V., Tankhaeva L.M., Petrov E.V. *Chem. Nat. Comp.*, 2011, vol. 47, pp. 165–169. DOI: 10.1007/s10600-011-9872-x.
24. Olennikov D.N., Tankhaeva L.M., Agafonova S.V. *Appl. Biochem. Microbiol.*, 2011, vol. 47, pp. 419–425. DOI: 10.1134/S0003683811040107.
25. Olennikov D.N., Tankhaeva L.M. *Chem. Nat. Comp.*, 2012, vol. 48, pp. 317–319. DOI: 10.1007/s10600-012-0235-z.
26. Olennikov D.N., Kashchenko N.I. *Chem. Nat. Comp.*, 2014, vol. 50, pp. 589–593. DOI: 10.1007/s10600-014-1030-9.
27. Lee J., Scagel C.F. *Front Chem.*, 2013, vol. 1, N40, DOI: 10.3389/fchem.2013.00040.
28. Olennikov D.N., Chirikova N.K., Kashchenko N.I., Nikolaev V.M., Kim S.-W., Vennos C. *Front. Pharmacol.*, 2018, vol. 9, N756, DOI: 10.3389/fphar.2018.00756.
29. Olennikov D.N., Tankhaeva L.M., Partilkhaev V.V., Rokhin A.V. *Braz. J. Pharmacogn.*, 2012, vol. 22, pp. 490–496. DOI: 10.1590/S0102-695X2012005000010.
30. Park H., Nugroho A., Lee J., Kim J., Kim W., Lee K.R., Choi J.S. *Korean J. Pharmacogn.*, 2009, vol. 40, pp. 365–369.
31. de Moura S.A.L., Negri G., Salatino A., Lima L.D.C., Dourado L.P.A., Mendes J.B., Andrade S.P., Ferreira M.A.N.D., Cara D.C. *Evid. Based Compl. Altern. Med.*, 2011, vol. 2011, article 748283. DOI: 10.1093/ecam/nep112.
32. Funes L., Laporta O., Cerdán-Calero M., Micol V. *Chem. Phys. Lipids*, 2010, vol. 163, pp. 190–199. DOI: 10.1016/j.chemphyslip.2009.11.004.
33. Korkina L.G., Mikhal'chik E., Suprun M.V., Pastore S., Dal Toso R. *Cell. Mol. Biol.*, 2007, vol. 53, pp. 84–91. DOI: 10.1170/T822.
34. Hirose M., Masuda A., Imaida K., Kagawa M., Tsuda H., Ito N. *Jap. J. Cancer. Res.*, 1987, vol. 78, pp. 317–321. DOI: 10.20772/cancersci1985.78.4_317.
35. El-Shabrawy O.A., Melek F.R., Ibrahim M., Radwan A.S. *Arch. Pharm. Res.*, 1989, vol. 12, pp. 22–25. DOI: 10.1007/BF02855741.
36. Romert L., Jansson T., Curvall M., Jenssen D. *Mutat. Res.*, 1994, vol. 322, pp. 97–110. DOI: 10.1016/0165-1218(94)00015-8.

Received March 3, 2019

Revised June 28, 2019

Accepted August 25, 2019

For citing: Olennikov D.N., Chirikova N.K., Tsyrenzhapov A.V. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2020, no. 1, pp. 97–105. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.2020015223.

