

УДК 615.322

## СОСТАВ И СОДЕРЖАНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В РАЗЛИЧНЫХ ФРАКЦИЯХ ЭКСТРАКТА НАДЗЕМНОЙ ЧАСТИ *ARNICA FOLIOSA* NUTT.

© Т.А. Кроть, Л.В. Зиннатшина, Е.Р. Гатиатулина, А.И. Радимич, О.Л. Сайбель, Д.Н. Балеев, В.И. Осипов\*

Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений, ул. Грина, 7, Москва, 117216 (Россия),  
e-mail: ossipov@utu.fi

Из представителей рода *Arnica* L. наиболее изучен и широко используется в медицинских целях вид *Arnica montana* L. Однако в связи с тем, что в большинстве европейских стран вид *A. montana* находится под угрозой исчезновения, в качестве альтернативного источника сырья исследуется возможность использования *Arnica foliosa* Nutt. Более глубокое изучение химического состава экстракта *A. foliosa* может дать возможность расширения спектра его возможного применения. Целью данного исследования было получение эфирной, хлороформной, этилацетатной и бутанольной фракций экстракта надземной части растений *A. foliosa* и детальное изучение в них состава и содержания фенольных соединений методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с диодно-матричным детектированием в сочетании с масс-спектрометрией высокого разрешения. Установлено, что фенольные соединения присутствуют только в этилацетатной и бутанольной фракциях; в хлороформной и эфирной фракциях они не обнаружены. В бутанольной фракции экстракта *A. foliosa* обнаружено шестнадцать фенольных соединений, среди которых идентифицировано тринадцать производных кофеилхинной кислоты и три флавоноида. Этилацетатная фракция содержит два основных фенольных соединения – 3,4-дикофеилхинную и 4,5-дикофеилхинную кислоты, и восемь соединений в следовых количествах. При этом общее содержание фенольных соединений в этилацетатной фракции было более чем в 2 раза больше, чем в бутанольной фракции.

**Ключевые слова:** *Arnica foliosa* Nutt., жидкостная хроматография, масс-спектрометрия высокого разрешения, фракционирование экстракта, фенольные соединения.

### Введение

Интерес к препаратам из растительного сырья обусловлен широким спектром их фармакологической активности на фоне относительно низкой токсичности [1]. Разнообразные биологически активные вещества (БАВ), такие как фенольные соединения и терпеноиды, широко представлены в различных видах *Asteraceae*

[2]. Научный интерес представляет род *Arnica* L., включающий около 30 видов [3], большинство из которых произрастают в Северной Америке [4].

Наиболее широко в медицинских целях используется *Arnica montana* L. [5, 6]. Например, настойка цветков на 70% этаноле применяется в качестве кровоостанавливающего средства, для снижения артериального давления, при бессоннице, а наружные лекарственные формы – при травмах и ревматических заболеваниях мышц и суставов [7, 8].

Химический состав БАВ *A. montana* достаточно хорошо изучен [9–13]. Известно, что фармакологическая активность препаратов из этого вида

---

Кроть Татьяна Анатольевна – кандидат сельскохозяйственных наук, ведущий научный сотрудник, e-mail: tatiakroll1@gmail.com

Зиннатшина Лидия Викторовна – кандидат биологических наук, научный сотрудник, e-mail: l.zinnatshina@mail.ru

Гатиатулина Евгения Рамильевна – кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник, e-mail: gatiatulina@hotmail.com

Радимич Андрей Иванович – старший научный сотрудник, e-mail vilarnii.radimich@mail.ru

Сайбель Ольга Леонидовна – кандидат фармацевтических наук, руководитель Центра химии и фармацевтической технологии, e-mail: olster@mail.ru

Балеев Дмитрий Николаевич – кандидат сельскохозяйственных наук, ведущий научный сотрудник, e-mail: dbaleev@gmail.com

Осипов Владимир Ионович – доктор биологических наук, главный научный сотрудник, e-mail: ossipov@utu.fi

---

\* Автор, с которым следует вести переписку.

определяется присутствием фенольных соединений, в основном производными кофейной кислоты, и сесквитерпеновых лактонов [14–16].

Однако в связи с тем, что в большинстве европейских стран вид *A. montana* находится под угрозой исчезновения [17], в качестве альтернативного источника сырья исследуется возможность использования *Arnica foliosa* Nutt. [16]. Проводимые во многих странах, в том числе и России, исследования показали успешное возделывание этого вида в культуре и получение стабильных урожаев [18, 19].

Разработан метод получения сухого экстракта надземной части *A. foliosa* и на его основе различных лекарственных форм (суппозитории ректальные 0.05 г, крем 1.5% и гель 1% для наружного применения) [20, 21]. Проведены доклинические исследования их активности и безопасности [22].

В связи с этим целью нашего исследования было фракционирование экстракта надземной части растений *A. foliosa* и детальное изучение состава и содержания фенольных соединений в полученных фракциях методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с диодно-матричным детектированием в УФ-области и в сочетании с масс-спектрометрией высокого разрешения (ВЭЖХ-УФ-МС). В работе приводятся данные только для этилацетатной и бутанольной фракций, в которых были обнаружены фенольные соединения. Получение очищенных фракций фенольных соединений и исследование их состава является важным условием для дальнейшего изучения их биологической активности.

### Экспериментальная часть

Объектом исследований являлась воздушно-сухая надземная часть культивируемого растения *Arnica foliosa* Nutt., собранного в период цветения на опытном участке Ботанического сада ФГБНУ ВИЛАР (Москва, 55°33'N 37°35'E). Длина побегов исходных растений составляла 35–55 см. Сушку проводили в естественных условиях при температуре 28–35 °С и относительной влажности 50–62% в течение девяти дней. Высушенное сырье измельчали до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 2 мм.

Для исследования использовали извлечение, полученное путем трехкратной экстракции 40% этанолом, в соотношении сырье – экстрагент 1 : 10, при температуре 50±2 °С и постоянном перемешивании. Водно-спиртовые извлечения фильтровали, объединяли и концентрировали в вакуум-ротаторном испарителе Hei-VAP Value (Heidolph, Германия) при температуре 50 °С до водной фазы.

Далее концентрированный экстракт переносили в делительную воронку и последовательно экстрагировали хлороформом (ХЛ), диэтиловым эфиром (ЭФ), этилацетатом (ЭА) и *n*-бутанолом (БУ). Экстракцию каждым органическим растворителем повторяли три раза, используя объемы, равные объемам водной фазы. Объединенные ХЛ, ЭФ, ЭА и БУ фракции концентрировали в вакуум-ротаторном испарителе досуха при температуре 50 °С.

Сухие образцы полученных фракций массой 30 мг (ХЛ и ЭФ), 3 мг (ЭА) и 13 мг (БУ) растворяли в 1 мл 40% (ЭА и БУ фракции) или 70% (ХЛ и ЭФ фракции) этанола в течение 60 мин при постоянном перемешивании (VORTEX Genie 2 (Scientific Industries, США)) при комнатной температуре, фильтровали (PTFE filter Clean 2, 0.45 мкм (Thermo Fisher Scientific, США)) и использовали для ВЭЖХ-УФ-МС анализа фенольных соединений.

ВЭЖХ система Agilent 1200 (Agilent Technologies, США) включала micrOTOF-Q-MS (Bruker, США) детектор высокого разрешения и диодно-матричный детектор (ДМД). Фенольные соединения разделяли на колонке XBridge C18 (100×2.1 mm i.d., 3.5 μm (Waters, Ирландия)) в градиенте двух систем: (А) 0.2%-ный водный раствор муравьиной кислоты; (Б) 0.2%-ный раствор муравьиной кислоты в ацетонитриле. Условия ВЭЖХ: 0–5 мин, 2% Б в А; 5–50 мин, 2–30% Б в А (линейный градиент); 50–70 мин, 30–70% Б в А (линейный градиент); 70–80 мин, 70% Б. Скорость потока – 0.3 мл/мин; детектирование при 280, 315 и 345 нм. УФ-спектры (200–400 нм) регистрировались автоматически на вершине каждого пика. Объем хроматографируемого образца – 5 мкл. Масс-спектрометрические условия: электроионизация в распыленном состоянии (ESI), регистрация отрицательных ионов в области 50–2000 *m/z*, напряжение на игле 4000 V, температура азота – 200 °С, скорость потока газа – 8.0 л/мин. Регистрацию масс-спектрометрических данных и их последующую обработку проводили с использованием программы DataAnalysis 4.0 (Bruker, США).

На основе точного измерения *m/z* значений иона [M-H]<sup>-</sup> рассчитывали моноизотопную массу и химическую формулу обнаруженных фенольных соединений. Анализировали также продукты распада иона [M-H]<sup>-</sup>, которые определяли, сравнивая профили всех *m/z* фрагментов масс-спектра. Ошибка сравнения экспериментальной и теоретической моноизотопных масс для всех соединений была в пределах ±5 ppm. Масс-

спектрометрические параметры, а также УФ-спектры и время удерживания, были использованы для идентификации фенольных соединений путем сравнения с характеристиками известных соединений из существующих баз данных: METLIN [23], Human metabolome database (HMD) [24], а также с данными, опубликованными в литературе.

Для количественного определения фенольных соединений использовали ВЭЖХ систему LaChrom (Merck-Hitachi, Япония) с диодно-матричным детектором. Разделение метаболитов проводили при вышеописанных условиях. Спектры фенольных соединений регистрировали в области 190–750 нм. Скорость потока – 0.3 мл/мин. УФ-спектры регистрировались автоматически на вершине каждого пика. Площадь пиков фенольных соединений определяли при различных длинах волн в зависимости от максимума поглощения соединения. Производные кофейной кислоты регистрировали при 315 нм, а флавоноиды – при 345 нм. Для получения калибровочных графиков использовали стандарты хлорогеновой кислоты, кверцетина и кемпферола (Sigma-Aldrich, США).

### Обсуждение результатов

ВЭЖХ-УФ анализ полученных фракций экстракта *A. foliosa* показал присутствие шестнадцати фенольных соединений (рис. 1, табл. 1). При этом фракции значительно отличались по их составу. Все фенольные соединения были обнаружены только в БУ фракции (рис. 1Б). Этилацетатная фракция содержала два основных соединения **9** и **12**, но их количество было значительно выше, чем в БУ фракции (рис. 1А). В хлороформной и эфирной фракциях фенольных соединений не обнаружено.

При изучении УФ-спектров установлено, что тринадцать (**1**, **2**, **3**, **4**, **7**, **9**, **10**, **11**, **12**, **13**, **14**, **15** и **16**) из шестнадцати обнаруженных фенольных соединений имели спектр, характерный для производных кофейной кислоты с максимумом в области 320–327 нм и плечом при 290–300 нм. Три соединения (**5**, **6** и **8**) имели УФ-спектры с максимумом поглощения при 260–270 и 344–348 нм, что характерно для флавоноидов. Масс-спектры фенольных соединений содержали значения  $m/z$  ионов  $[M-H]^-$ ,  $[2M-H]^-$ , а также некоторые  $m/z$  продукты фрагментации иона  $[M-H]^-$  (табл. 1).

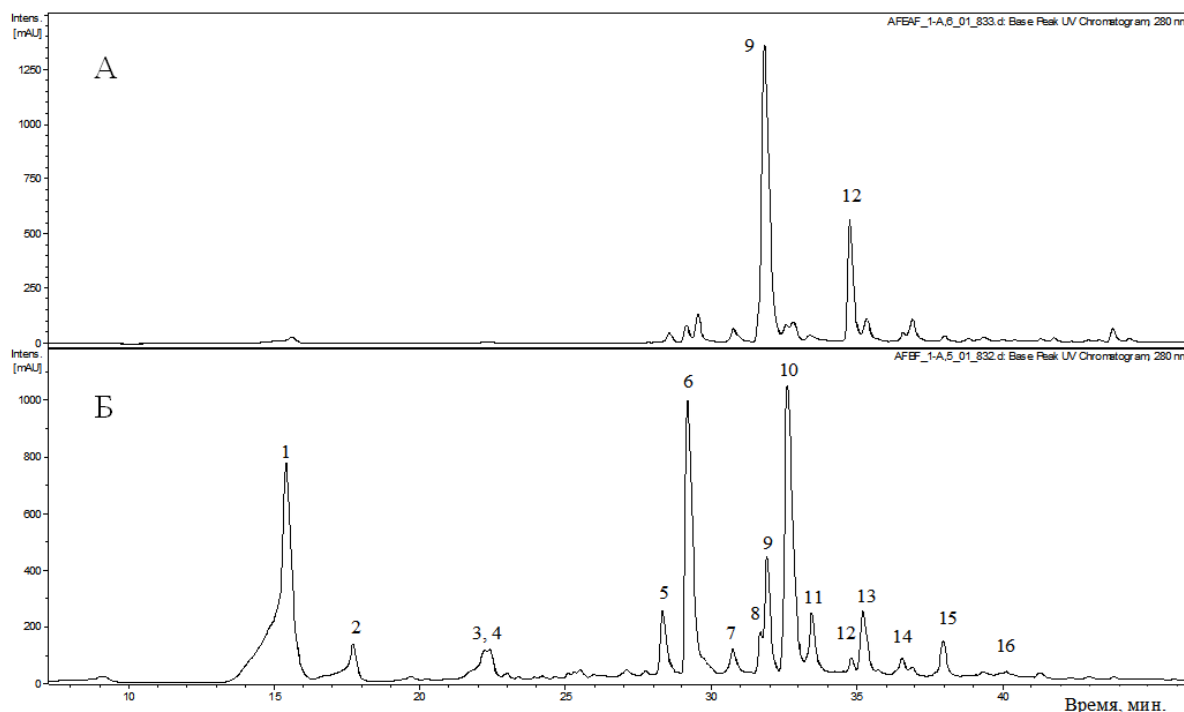


Рис. 1. ВЭЖХ-УФ (Base Peak Chromatogram (BPC), 280 нм) профиль фенольных соединений *Arnica foliosa* Nutt. в этилацетатной (А) и бутанольной (Б) фракциях

Таблица 1. Результаты ВЭЖХ-УФ-МС идентификации фенольных соединений в бутанольной (БУ) и этилацетатной (ЭА) фракциях экстракта *Arnica foliosa* Nutt.

№	Фракция	Время (t <sub>р</sub> ), мин	λ <sub>max</sub> , нм	m/z фрагменты (отрицательный заряд)			Моноизотопная масса определенная, Да	Формула соединения	Моноизотопная масса рассчитанная, Да	Ошибка, ppm	Фенольное соединение
				[M-H] <sup>-</sup>	[2M-H] <sup>-</sup>	другие фрагменты					
1	БУ	15.6	300 пл*, 323	353.0868	707.1835	191.0558	354.0947	C <sub>16</sub> H <sub>18</sub> O <sub>9</sub>	354.0951	-1.1	Хлорогеновая кислота
2	БУ	17.7	300 пл, 323	353.0867	707.1790	191.0545	354.0946	C <sub>16</sub> H <sub>18</sub> O <sub>9</sub>	354.0951	-1.4	4-Кофеоилхинная кислота
3	БУ	22.3	300 пл, 323	367.1027	735.2125	191.0546	368.1106	C <sub>17</sub> H <sub>20</sub> O <sub>9</sub>	368.1107	-0.3	5-Ферулоилхинная кислота
4	БУ	22.5	300 пл, 319	515.1177	1031.2441	353.0870	516.1256	C <sub>25</sub> H <sub>24</sub> O <sub>12</sub>	516.1268	-2.3	1,5-Дикофеоилхинная кислота
5	БУ	28.8	253, 346	477.0660	955.1375	301.0340	478.0739	C <sub>21</sub> H <sub>18</sub> O <sub>13</sub>	478.0747	-1.8	Кверцетин-3-О-β-глюкуронид
6	БУ	29.2	255, 344	507.0779	1015.1590	331.0443	508.0858	C <sub>22</sub> H <sub>20</sub> O <sub>14</sub>	508.0853	1.0	Патулетин-3-О-β-глюкуронид
7	БУ	30.7	300 пл, 325	515.1182	1031.2386	353.0854	516.1261	C <sub>25</sub> H <sub>24</sub> O <sub>12</sub>	516.1268	-1.3	3,5-Дикофеоилхинная кислота
8	БУ	31.7	266, 348	461.0696	923.1456	285.0386	462.0776	C <sub>21</sub> H <sub>18</sub> O <sub>12</sub>	462.0798	-4.8	Кемпферол-3-β-Д-глюкуронид
9	БУ, ЭА	31.8	300 пл, 325	515.1169	1031.2931	353.0859	516.1248	C <sub>25</sub> H <sub>24</sub> O <sub>12</sub>	516.1268	-3.8	3,4-Дикофеоилхинная кислота
10	БУ	32.9	300 пл, 325	601.1183	1203.2373	557.1270; 439.0846; 395.0974	602.1262	C <sub>28</sub> H <sub>26</sub> O <sub>15</sub>	602.1272	-1.7	1,5-Дикофеоил-3-метоксиоксалоилхинная кислота
11	БУ	33.6	300 пл, 325	601.1172	1203.2374	557.1261; 439.0977; 395.0976	602.1251	C <sub>28</sub> H <sub>26</sub> O <sub>15</sub>	602.1272	-3.5	3,5-Дикофеоил-1-метоксиоксалоилхинная кислота
12	БУ, ЭА	34.9	300 пл, 325	515.1201	1031.2433	352.0846	516.1280	C <sub>25</sub> H <sub>24</sub> O <sub>12</sub>	516.1268	2.4	4,5-Дикофеоилхинная кислота
13	БУ	35.3	300 пл, 327	601.1175	1203.2375	557.1257; 439.0841; 395.0971	602.1254	C <sub>28</sub> H <sub>26</sub> O <sub>15</sub>	602.1272	-3.0	4,5-Дикофеоил-1-метоксиоксалоилхинная кислота
14	БУ	36.6	300 пл, 325	601.1164	1203.2399	557.1265; 439.0856; 395.0977	602.1243	C <sub>28</sub> H <sub>26</sub> O <sub>15</sub>	602.1272	-4.8	3,4-Дикофеоил-3-метоксиоксалоилхинная кислота
15	БУ	37.9	300 пл, 325	615.1326	1231.2675	571.1417; 409.1120	616.1405	C <sub>29</sub> H <sub>28</sub> O <sub>15</sub>	616.1428	-3.7	3-Кофеоил-4-ферулоил-5-метоксиоксалоилхинная кислота
16	БУ	40.2	300 пл, 325	615.1330	1231.2653	571.1428; 409.1118	616.1409	C <sub>29</sub> H <sub>28</sub> O <sub>15</sub>	616.1428	-3.1	3-Ферулоил-4-метоксиоксалоил-5-кофеоилхинная кислота

Примечание: пл – плечо.

В таблице 1 представлены результаты идентификации фенольных соединений в бутанольной и этилацетатной фракциях экстракта *A. foliosa*. На основании этих данных, соединения **1** и **2** были идентифицированы как производные кофейной кислоты. Сравнивая время удерживания стандарта хлорогеновой кислоты, соединение **1** было идентифицировано как хлорогеновая кислота (3-кофеоилхинная кислота), а соединение **2** – как 4-кофеоилхинная кислота (криптохлорогеновая кислота). Хлорогеновая кислота и ее изомеры обнаружены у многих видов растений, в том числе и у *A. montana* [13, 25]. Наряду с кофеоилхинными кислотами обнаружена 5-ферулоилхинная кислота (**3**), которая ранее была идентифицирована в цветках *A. montana* [11, 13, 25, 26]. Соединения **4**, **7**, **9** и **12** (рис. 2) были идентифицированы как 1,5-, 3,5-, 3,4- и 4,5-дикофеоилхинные кислоты, что подтверждается присутствием в масс-спектрах *m/z* фрагмента 353.0856, который соответствует [M-H]<sup>-</sup> иону кофеоилхинной кислоты и данными, опубликованными в литературе [13, 25, 27]. Еще четыре производных кофейной кислоты (**10**, **11**, **13** и **14**) ранее были обнаружены в цветках *A. montana* и идентифицированы как изомеры дикофеоил-метоксиоксалоилхинной кислоты [11, 13, 25] и обнаружены нами в экстракте *A. foliosa*. Соединение **15** имело УФ-спектр, характерный для кофеоилхинных кислот, моноизотопную массу 616.1428 Да и *m/z* фрагменты 571.1417 [M-HCOO]<sup>-</sup> и 409.1120 [M-кофеоил-HCOO]<sup>-</sup>, что указывает на 3-кофеоил-4-ферулоил-5-метоксиоксалоилхинную кислоту [13]. Было обнаружено соединение

**16** с аналогичной моноизотопной массой 616.1428 Да. Масс-спектр данного соединения также содержал основные  $m/z$  фрагменты 571.1417 [М-НСОО]<sup>-</sup> и 409.1120 [М-кофеоил-НСОО]<sup>-</sup>. Однако изучение  $m/z$  фрагментов иона [М-Н]<sup>-</sup> соединения **16** в цветках *A. montana* показало, что это 3-ферулоил-4-метоксиоксалоил-5-кофеоилхинная кислота [13].

Соединение **5** было идентифицировано как кверцетин-3-О-глюкуронид, которое ранее было обнаружено в цветках *A. montana* [25] и в цветках *Heterotheca inuloides* Cass. [11]. Флавоноид **6** идентифицирован как патулетин-3-О-глюкуронид [28]. Флавоноид **8** плохо отделялся на хроматограмме от дикофеоил-хинной кислоты (**9**), поэтому его УФ-спектр был менее выражен, чем у других флавоноидов. Моноизотопная масса 462.0798 Да и формула C<sub>21</sub>H<sub>18</sub>O<sub>12</sub> соединения **8** соответствовали значениям кемпферол-3-глюкуронида. Правильность идентификации подтверждается присутствием в масс-спектре  $m/z$  фрагмента 285.0386 [Кемпферол-Н]<sup>-</sup>, а также обнаружением этого флавоноида в цветках *A. montana* [25].

В результате исследования установлено, что основными соединениями ЭА фракции *A. foliosa* являются 3,4-дикофеоилхинная (53.80 мг/100 мг) и 4,5-дикофеоилхинная (15.87 мг/10 мг) кислоты, содержание которых составляет около 70% массы фракции. Еще три соединения (**7**, **13** и **14**) присутствуют в минимальных количествах, а остальные десять, в том числе флавоноиды, не обнаружены. В БУ фракции общее содержание фенольных соединений было почти в два раза меньше, чем в ЭА фракции. Кроме того, основными соединениями БУ фракции были хлорогеновая кислота (11.93 мг/100 мг), патулетин-3-О-глюкуронид (7.09 мг/100 мг) и 1,5-дикофеоил-3-метоксиоксалоилхинная кислота (7.87 мг/100 мг) (табл. 2).

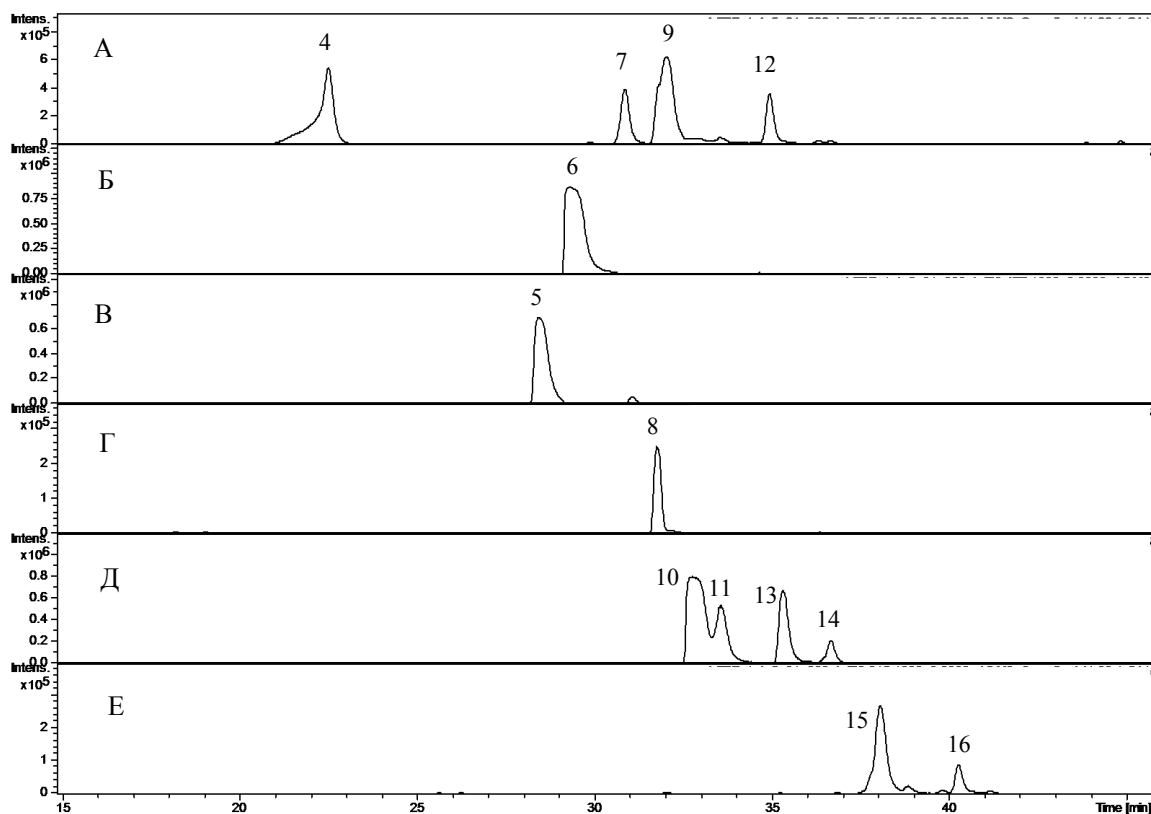


Рис. 2. Экстрагированные ионные хроматограммы  $m/z$  продуктов фрагментации иона [М-Н]<sup>-</sup>, характерных для различных фенольных соединений бутанольной фракции экстракта *Arnica foliosa* Nutt.: А, ион  $m/z$  515.11: 1,5-дикофеоилхинная кислота (**4**), 3,5-дикофеоилхинная кислота (**7**), 3,4-дикофеоилхинная кислота (**9**), 4,5-дикофеоилхинная кислота (**12**); Б, ион  $m/z$  507.08: патулетин-3-О-глюкуронид (**6**); В, ион  $m/z$  477.07: кверцетин-3-О-глюкуронид (**5**); Г, ион  $m/z$  461.07: кемпферол-3-β-D-глюкуронид (**8**); Д, ион  $m/z$  601.12: 1,5-дикофеоил-3-метоксиоксалоилхинная кислота (**10**), 3,5-дикофеоил-1-метоксиоксалоилхинная кислота (**11**), 4,5-дикофеоил-1-метоксиоксалоилхинная кислота (**13**), 3,4-дикофеоил-3-метоксиоксалоилхинная кислота (**14**); Е, ион  $m/z$  615.13: 3-кофеоил-4-ферулоил-5-метоксиоксалоилхинная кислота (**15**), 3-ферулоил-4-метоксиоксалоил-5-кофеоилхиновая кислота (**16**)

Таблица 2. Содержание фенольных соединений в различных фракциях экстракта *Arnica foliosa* Nutt., мг на 100 мг фракции

№	Время (t <sub>R</sub> ), мин	Фенольное соединение	Фракция	
			этилацетатная	бутанольная
1	15.6	Хлорогеновая кислота	следы	11.93
2	17.7	4-Кофеилхинная кислота	0	1.66
3	22.3	5-Ферулоилхинная кислота	0	0.68
4	22.5	1,5-Дикофеилхинная кислота	0	1.10
5	28.8	Кверцетин-3-О-глюкуронид	0	1.62
6	29.2	Патuletин-3-О-глюкуронид	следы	7.09
7	30.7	3,5-Дикофеилхинная кислота	0.17	0.66
8	31.7	Кемпферол-3-β-Д-глюкуронид	0	0.27
9	31.8	3,4-Дикофеилхинная кислота	53.80	2.29
10	32.9	1,5-Дикофеил-3-метоксиоксалоилхинная кислота	следы	7.87
11	33.6	3,5-Дикофеил-1-метоксиоксалоилхинная кислота	следы	1.15
12	34.9	4,5-Дикофеилхинная кислота	15.87	0.24
13	35.3	4,5-Дикофеил-1-метоксиоксалоилхинная кислота	0.28	1.52
14	36.6	3,4-Дикофеил-3-метоксиоксалоилхинная кислота	0.17	0.50
15	37.9	3-Кофеил-4-ферулоил-5-метоксиоксалоилхинная кислота	следы	0.97
16	40.2	3-Ферулоил-4-метоксиоксалоил-5-кофеилхинная кислота	0	0.22
Содержание производных кофейной кислоты			70.29	30.80
Содержание флавоноидов			0	8.98
Общее содержание фенольных соединений			70.29	39.78

### Выводы

1. Методом ВЭЖХ-УФ-МС в ЭА и БУ фракциях экстракта *Arnica foliosa* Nutt. обнаружено шестнадцать фенольных соединений, среди которых идентифицировано тринадцать производных кофеилхинной кислоты и три флавоноида. В ХЛ и ЭФ фракциях фенольные соединения отсутствуют.

2. Установлено, что ЭА фракция содержит два основных фенольных соединения – 3,4-дикофеилхинную и 4,5-дикофеилхинную кислоты, и восемь соединений в следовых количествах.

3. В БУ фракции обнаружены все шестнадцать фенольных соединений, но их общее содержание было почти в 2 раза меньше, чем в ЭА фракции.

### Список литературы

1. Chakraborty R. Folk medicine of North East India and drug discovery: way to look forward // In: Sen S., Chakraborty R. (eds.). Herbal Medicine in India. Springer, 2020. Pp. 427–433.
2. Heinrich M., Robles M., West J.E., Ortiz de Montellano B.R., Rodriguez E. Ethnopharmacology of Mexican *Asteraceae* (Compositae) // Annual Review of Pharmacology and Toxicology. 1998. Vol. 38. Pp. 539–565. DOI: 10.1146/annurev.pharmtox.38.1.539.
3. da Silva A.G., de Sousa C.P., Koehler J., Fontana J., Christo A.G., Guedes-Bruni R.R. Evaluation of an extract of Brazilian arnica (*Solidago chilensis* Meyen, asteraceae) in treating lumbago // Phytotherapy Research. 2010. Vol. 24(2). Pp. 283–287. DOI: 10.1002/ptr.2934.
4. Nichterlein K. *Arnica montana* (Mountain Arnica): *in vitro* culture and the production of sesquiterpene lactones and other secondary metabolites // In: Bajaj Y.P.S. (eds). Medicinal and Aromatic Plants VIII. Biotechnology in Agriculture and Forestry, Vol. 33. Springer, Berlin, Heidelberg, 1995. Pp. 47–61. DOI: 10.1007/978-3-662-08612-4\_4.
5. Kriplani P., Guarve K., Baghael U.S. *Arnica montana* L. - a plant of healing: review // Journal of Pharmacy and Pharmacology. 2017. Vol. 69. Pp. 925–945. DOI: 10.1111/jphp.12724.
6. Lass C., Vocanson M., Wagner S., Schempp C.M., Nicolas J.F., Merfort I., Martin S.F. Anti-inflammatory and immune-regulatory mechanisms prevent contact hypersensitivity to *Arnica montana* L. // Experimental Dermatology. 2008. Vol. 17(10). Pp. 849–857. DOI: 10.1111/j.1600-0625.2008.00717.x.
7. Perry N.B., Burgess E.J., Rodríguez Guitián M.A., Romero Franco R., López Mosquera E., Smallfield B.M., Joyce N.I., Littlejohn R.P. Sesquiterpene lactones in *Arnica montana*: helenalin and dihydrohelenalin chemotypes in Spain // Planta medica. 2009. Vol. 75(6). Pp. 660–666. DOI: 10.1055/s-0029-1185362.
8. Merfort I. Arnika – aktueller stand hinsichtlich wirksamkeit, pharmakokinetik und nebenwirkungen // Zeitschrift für Phytotherapie. 2010. Vol. 31(4). Pp. 188–192. DOI: 10.1055/s-0030-1262391.
9. Leven W., Willuhn G. Sesquiterpene lactones from *Arnica chamissonis* Less. VI. Identification and quantitative determination by high-performance liquid and gas chromatography // Journal of Chromatography A. 1987. Vol. 410. Pp. 329–342. DOI: 10.1016/S0021-9673(00)90063-3.

10. Schmidt T., Stausberg S., Von Raison J., Berner M., Willuhn G. Lignans from *Arnica* species // *Natural Products Research*. 2006. Vol. 20. Pp. 443–453. DOI: 10.1080/14786410500218591.
11. Lin L., Harnly J. Identification of hydroxycinnamoylquinic acids of arnica flowers and burdock roots using a standardized LC-DAD-ESI/MS profiling method // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2008. Vol. 56. Pp. 10105–10114. DOI: 10.1021/jf802412m.
12. Staneva J., Denkova P., Todorova M., Evstatieva L. Quantitative analysis of sesquiterpene lactones in extract of *Arnica montana* L. by <sup>1</sup>H NMR spectroscopy // *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2011. Vol. 54. Pp. 94–99. DOI: 10.1016/j.jpba.2010.08.018.
13. Jaiswal R., Kuhnert N. Identification and characterization of two new derivatives of chlorogenic acids in *Arnica* (*Arnica montana* L.) flowers by high-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2011. Vol. 59(8). Pp. 4033–4039. DOI: 10.1021/jf103545k.
14. Todorova M., Trendafilova A., Vitkova A., Petrova M., Zayova E., Antonova D. Developmental and environmental effects on sesquiterpene lactones in cultivated *Arnica montana* L. // *Chemistry & Biodiversity*. 2016. Vol. 13. Pp. 1–6. DOI: 10.1002/cbdv.201500307.
15. Ganzera M., Egger C., Zidorn C., Stuppner H. Quantitative analysis of flavonoids and phenolic acids in *Arnica montana* L. by micellar electrokinetic capillary chromatography // *Analytica Chimica Acta*. 2008. Vol. 614. Pp. 196–200. DOI: 10.1016/j.aca.2008.03.023.
16. Zheleva-Dimitrova D.Z., Balabanova V., Gevrenova R., Doichinova I., Vitkova A. Chemometrics-based approach in analysis of *Arnicae* flos // *Pharmacognosy magazine*. 2015. Vol. 11(44). Pp. 538–544. DOI: 10.4103/0973-1296.172958.
17. Falniowski A., Bazos I., Hodálová I., Lansdown R., Petrova A. *Arnica Montana*. The IUCN Red List of Threatened Species. 2011. e.T162327A5574104. DOI: 10.2305/IUCN.UK.2011-1.RLTS.T162327A5574104.en.
18. Алентьева О.Г., Коняева Е.А., Богачева Н.Г. Трава арники облиственной – новое сырье для получения препаратов // *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии*. 2015. №10. С. 17–21.
19. Бабаева Е.Ю., Бондаренко О.В., Ворошилов А.И., Семкина О.А. Фармакогностическое изучение и морфометрические показатели травы арники облиственной и арники Шамиссо // *Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина*. 2013. №3. С. 78–83.
20. Охотникова В.Ф., Семкина О.А., Джавахян М.А., Азаркова А.Ф., Качалина Т.Ф., Сокольская Т.А. Разработка суппозиторий на основе арники облиственной экстракта сухого // *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии*. 2013. Т. 11. №5. С. 11–15.
21. Бортникова В.В., Крепкова Л.В., Михеева Н.С., Охотникова В.Ф., Сокольская Т.А. Экспериментальное изучение лекарственных форм, созданных на основе арники облиственной экстракта сухого // *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии*. 2014. №3. С. 3–9.
22. Бортникова В.В., Крепкова Л.В., Михеева Н.С., Боровкова М.В. Доклиническое изучение безопасности арники облиственной (*Arnica foliosa* Nutt.) экстракта сухого // *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2019. Т. 82. №5. С. 28–37. DOI: 10.30906/0869-2092-2019-82-5-28-35.
23. Guijas C., Montenegro-Burke J.R., Domingo-Almenara X., Palermo A., Warth B. METLIN: A technology platform for identifying knowns and unknowns // *Analytical Chemistry*. 2018. Vol. 90. Pp. 3156–3164. DOI: 10.1021/acs.analchem.7b04424.
24. Wishart D.S., Feunang Y.D., Marcu A. HMDB 4.0: the human metabolome database for 2018 // *Nucleic Acids Research*. 2018. Vol. 46(D1). Pp. 608–617. DOI: 10.1093/nar/gkx1089.
25. Clauser M., Aiello N., Scartezzini F., Innocenti G., Dall'Acqua S. Differences in the chemical composition of *Arnica montana* flowers from wild populations of north Italy // *Natural Product Communications*. 2014. Vol. 9 (1). Pp. 3–6. DOI: 10.1177/1934578X1400900102.
26. Jaiswal R., Sovdat T., Vivan F., Kuhnert N. Profiling and characterization by LC-MSn of the chlorogenic acids and hydroxycinnamoyl shikimate esters in mate (*Ilex paraquariensis*) // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2010. Vol. 58. Pp. 5471–5484. DOI: 10.1021/jf904537z.
27. Gobbo-Neto L., Lopes N.P. Online identification of chlorogenic acids, sesquiterpene lactones, and flavonoids in the Brazilian arnica *Lychnophora ericoides* Mart. (Asteraceae) leaves by HPLC-DAD-MS and HPLC-DAD-MS/MS and a validated HPLC-DAD method for their simultaneous analysis // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2008. Vol. 56(4). Pp. 1193–1204. DOI: 10.1021/jf072812l.
28. Schröder E., Merfort I. Thermospray liquid chromatographic/mass spectrometric studies of flavonoid glycosides from *Arnica montana* and *Arnica chamissonis* extracts // *Biological Mass Spectrometry*. 1991. Vol. 20. Pp. 11–20. DOI: 10.1002/bms.1200200105.

Поступила в редакцию 6 марта 2020 г.

После переработки 1 апреля 2020 г.

Принята к публикации 30 апреля 2020 г.

**Для цитирования:** Кроль Т.А., Зиннатшина Л.В., Гагиатулина Е.Р., Радимич А.И., Сайбель О.Л., Балеев Д.Н., Осипов В.И. Состав и содержание фенольных соединений в различных фракциях экстракта надземной части *Arnica foliosa* Nutt. // *Химия растительного сырья*. 2020. №4. С. 139–147. DOI: 10.14258/jcprgm.2020047448.

Krol' T.A., Zinnatshina L.V., Gatiatulina E.R., Radimich A.I., Saybel O.L., Baleev D.N., Ossipov V.I.\* COMPOSITION AND CONTENT OF PHENOLIC COMPOUNDS IN DIFFERENT FRACTIONS OF EXTRACT FROM PLANTS OF *ARNICA FOLIOSA* NUTT.

All-Russian Scientific Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants, Grina, 7, Moscow, 117216 (Russia),  
e-mail: ossipov@utu.fi

Among representatives of the genus *Arnica* L., the *Arnica montana* L. species is the most studied and widely used for medical purposes. However, due to the fact that the *A. montana* species is endangered in most European countries, the possibility to use *Arnica foliosa* Nutt. as an alternative source of phytochemicals is being investigated. A deeper study of the chemical composition of *A. foliosa* extract may give the opportunity to expand the spectrum of its possible application. The purpose of the research was to perform a detailed study of the composition and content of biologically active compounds the aerial part of *A. foliosa* by high performance liquid chromatography with diode array detection in combination with high-resolution mass spectrometry. Sixteen phenolic compounds were detected in ethylacetate and butanol fractions of *A. foliosa*. There were identified thirteen derivatives of caffeoylquinic acid and three flavonoids. In the chloroform and diethyl ester fractions, phenolic compounds were absent. It was established that the ethylacetate fraction contains big amounts of two phenolic compounds – 3,4-dicaffeoylquinic and 4,5-dicaffeoylquinic acids, and eight compounds were presented in trace or very small quantities. All sixteen phenolic compounds were found in the butanol fraction, but their total content was almost 2-fold less than in the ethylacetate fraction.

**Keywords:** *Arnica foliosa* Nutt., Liquid chromatography, high resolution mass-spectrometry, fractionation of the extract, phenolic compounds.

### References

1. Chakraborty R. *Herbal Medicine in India*, Springer, 2020, pp. 427–433.
2. Heinrich M., Robles M., West J.E., Ortiz de Montellano B.R., Rodriguez E. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 1998, vol. 38, pp. 539–565. DOI: 10.1146/annurev.pharmtox.38.1.539.
3. da Silva A.G., de Sousa C.P., Koehler J., Fontana J., Christo A.G., Guedes-Bruni R.R. *Phytotherapy Research*, 2010, vol. 24(2), pp. 283–287. DOI: 10.1002/ptr.2934.
4. Nichterlein K. In: Bajaj Y.P.S. (eds). *Medicinal and Aromatic Plants VIII. Biotechnology in Agriculture and Forestry*, Vol. 33. Springer, Berlin, Heidelberg, 1995, pp. 47–61. DOI: 10.1007/978-3-662-08612-4\_4.
5. Kriplani P., Guarve K., Baghael U.S. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2017, vol. 69, pp. 925–945. DOI: 10.1111/jphp.12724.
6. Lass C., Vocanson M., Wagner S., Schempp C.M., Nicolas J.F., Merfort I., Martin S.F. *Experimental Dermatology*, 2008, vol. 17(10), pp. 849–857. DOI: 10.1111/j.1600-0625.2008.00717.x.
7. Perry N.B., Burgess E.J., Rodríguez Guitián M.A., Romero Franco R., López Mosquera E., Smallfield B.M., Joyce N.I., Littlejohn R.P. *Planta medica*, 2009, vol. 75(6), pp. 660–666. DOI: 10.1055/s-0029-1185362.
8. Merfort I. *Zeitschrift für Phytotherapie*, 2010, vol. 31(4), pp. 188–192. DOI: 10.1055/s-0030-1262391.
9. Leven W., Willuhn G. *J. Chrom.*, 1987, vol. 410, pp. 329–342. DOI: 10.1016/S0021-9673(00)90063-3.
10. Schmidt T., Stausberg S., Van Raison J., Berner M., Willuhn G. *Natural Products Research*, 2006, vol. 20, pp. 443–453. DOI: 10.1080/14786410500218591.
11. Lin L., Harnly J. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2008, vol. 56, pp. 10105–10114.
12. Staneva J., Denkova P., Todorova M., Evstatieva L. *Journal of Chromatography A*, 2011, vol. 54, pp. 94–99. DOI: 10.1016/j.jpba.2010.08.018.
13. Jaiswal R., Kuhnert N. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2011, vol. 59(8), pp. 4033–4039. DOI: 10.1021/jf103545k.
14. Todorova M., Trendafilova A., Vitkova A., Petrova M., Zayova E., Antonova D. *Chemistry & Biodiversity*, 2016, vol. 13, pp. 1–6. DOI: 10.1002/cbdv.201500307.
15. Ganzera M., Egger C., Zidorn C., Stuppner H. *Analytica Chimica Acta*, 2008, vol. 614, pp. 196–200. DOI: 10.1016/j.aca.2008.03.023.
16. Zheleva-Dimitrova D.Z., Balabanova V., Gevrenova R., Doichinova I., Vitkova A. *Pharmacognosy magazine*, 2015, vol. 11(44), pp. 538–544. DOI: 10.4103/0973-1296.172958.
17. Falniowski A., Bazos I., Hodálová I., Lansdown R., Petrova A. *The IUCN Red List of Threatened Species*, 2011, e.T162327A5574104. DOI: 10.2305/IUCN.UK.2011-1.RLTS.T162327A5574104.en
18. Alent'yeva O.G., Konyayeva Ye.A., Bogacheva N.G. *Voprosy biologicheskoy, meditsinskoy i farmatsevticheskoy khimii*, 2015, no. 10, pp. 17–21. (in Russ.).
19. Babayeva Ye.Yu., Bondarenko O.V., Voroshilov A.I., Semkina O.A. *Vestnik Rossiyskogo universiteta družby narodov. Seriya: Meditsina*, 2013, no. 3, pp. 78–83. (in Russ.).
20. Okhotnikova V.F., Semkina O.A., Dzhavakhyan M.A., Azarkova A.F., Kachalina T.F., Sokol'skaya T.A. *Voprosy biologicheskoy, meditsinskoy i farmatsevticheskoy khimii*, 2013, vol. 11, no. 5, pp. 11–15. (in Russ.).
21. Bortnikova V.V., Krepkova L.V., Mikheyeva N.S., Okhotnikova V.F., Sokol'skaya T.A. *Voprosy biologicheskoy, meditsinskoy i farmatsevticheskoy khimii*, 2014, no. 3, pp. 3–9. (in Russ.).
22. Bortnikova V.V., Krepkova L.V., Mikheyeva N.S., Borovkova M.V. *Eksperimental'naya i klinicheskaya farmakologiya*, 2019, vol. 82, no. 5, pp. 28–37. DOI: 10.30906/0869-2092-2019-82-5-28-35. (in Russ.).

\* Corresponding author.



23. Guijas C., Montenegro-Burke J.R., Domingo-Almenara X., Palermo A., Warth B. *Analytical Chemistry*, 2018, vol. 90, pp. 3156–3164. DOI: 10.1021/acs.analchem.7b04424.
24. Wishart D.S., Feunang Y.D., Marcu A. *Nucleic Acids Research*, 2018, vol. 46(D1), pp. 608–617. DOI: 10.1093/nar/gkx1089.
25. Clauser M., Aiello N., Scartezzini F., Innocenti G., Dall'Acqua S. *Natural Product Communications*, 2014, vol. 9 (1), pp. 3–6. DOI: 10.1177/1934578X1400900102.
26. Jaiswal R., Sovdat T., Vivan F., Kunhert N. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2010, vol. 58, pp. 5471–5484. DOI: 10.1021/jf904537z.
27. Gobbo-Neto L., Lopes N.P. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2008, vol. 56(4), pp. 1193–1204. DOI: 10.1021/jf072812l.
28. Schröder E., Merfort I. *Biological Mass Spectrometry*, 1991, vol. 20, pp. 11–20. DOI: 10.1002/bms.1200200105.

*Received March 6, 2020*

*Revised April 1, 2020*

*Accepted April 30, 2020*

**For citing:** Krol' T.A., Zinnatshina L.V., Gatiatulina E.R., Radimich A.I., Saybel O.L., Baleev D.N., Ossipov V.I. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2020, no. 4, pp. 139–147. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.2020047448.

