

[https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-4\(1\)-129-137](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-4(1)-129-137)  
УДК 54.061:615.322



Оригинальная статья / Research article

## Использование метода высокоэффективной тонкослойной хроматографии для обнаружения фармакологически активных вторичных метаболитов в водянике черной *Empetrum nigrum* L.

А. О. Понкратова<sup>1</sup>, А. К. Уэйли<sup>1</sup>, В. Г. Лужанин<sup>2</sup>, Е. В. Жохова<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 197376, г. Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 14, лит. А

<sup>2</sup> ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 614990, Россия, г. Пермь, ул. Екатерининская, д. 110

\*Контактное лицо: Жохова Елена Владимировна. E-mail: elena.zhohova@pharminnotech.com

ORCID: А. О. Понкратова – <https://orcid.org/0000-0003-4879-9336>; А. К. Уэйли – <https://orcid.org/0000-0002-4847-5924>; В. Г. Лужанин – <https://orcid.org/0000-0002-6312-2027>; Е. В. Жохова – <https://orcid.org/0000-0002-9763-096X>.

Статья поступила: 20.10.2021

Статья принята в печать: 03.12.2021

Статья опубликована: 27.12.2021

### Резюме

**Введение.** В статье представлены результаты обнаружения фармакологически активных вторичных метаболитов в водянике черной *Empetrum nigrum* L. с использованием метода высокоэффективной тонкослойной хроматографии (ВЭТСХ).

**Цель.** Показать эффективность метода ВЭТСХ для проведения предварительного фитохимического исследования и определения основных групп перспективных видов растительного сырья.

**Материалы и методы.** ВЭТСХ анализ выполнялся на приборе CAMAG (Швейцария), с использованием пластин MERCK HPTLC silica gel 60 F154, 20 × 10 см. Для выпаривания образцов использовался вакуумно-ротационный испаритель марки Heidolph (Германия). Надземная часть (побеги) *Empetrum nigrum* были заготовлены в районе питомника лекарственных растений Санкт-Петербургского государственного химико-фармацевтического университета (далее – СПХФУ) (Ленинградская область, Всеволожский район, Приозерское шоссе, 38 км) в августе 2019 года.

**Результаты и обсуждение.** В ходе исследования из надземной части водяники черной получали четыре фракции: гексановую, дихлорметановую, бутанольную и водную. Затем эти фракции исследовались методом ВЭТСХ в двух системах растворителей – *n*-бутанол:кислота уксусная:вода (БУВ) (4:1:2) и гексан:дихлорметан:метанол (ГДМ) (1:2:0,5). После проведения сканирующей денситометрии пластинки элюированной в системе ГДМ было выявлено, что в гексановая и дихлорметановая фракции имеют схожий состав пятен и содержат наибольшее количество соединений, по сравнению с бутанольной и водной фракцией, а в системе БУВ – что бутанольная фракция содержит наибольшее разнообразие метаболитов. После проведения УФ-спектроскопии обнаружено, что основными группами соединений, содержащихся в гексановой и дихлорметановой фракциях являются производные халконов, дигидрохалконов, бибинзилов а также 9,10-дигидрофенантронов. В то время, как в бутанольной фракции основными группами вторичных метаболитов являются производные флавоноидов и танинов.

**Заключение.** Полученные данные позволяют отметить эффективность, экспрессность и наглядность метода ВЭТСХ для проведения предварительного фитохимического исследования и определения основных групп метаболитов перспективных видов ЛРС.

**Ключевые слова:** *Empetrum nigrum*, водяника черная, ВЭТСХ, вторичные метаболиты

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Вклад авторов.** А. О. Понкратова и А. К. Уэйли выполняли экспериментальную часть и интерпретировали результаты. А. О. Понкратова и Е. В. Жохова подготовили текст рукописи. В. Г. Лужанин осуществлял руководство научным исследованием. Все авторы участвовали в обсуждении результатов.

**Финансирование.** Результаты работы получены с использованием оборудования ЦКП «Аналитический центр ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России» в рамках соглашения № 075-15-2021-685 от 26 июля 2021 года при финансовой поддержке Минобрнауки России.

**Для цитирования:** Понкратова А. О., Уэйли А. К., Лужанин В. Г., Жохова Е. В. Использование метода высокоэффективной тонкослойной хроматографии для обнаружения фармакологически активных вторичных метаболитов в водянике черной *Empetrum nigrum* L. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2021;10(4-1):129–137. [https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-4\(1\)-129-137](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-4(1)-129-137)

## Using High Performance Thin Layer Chromatography for the Detection of Pharmacologically Active Secondary Metabolites in *Empetrum nigrum* L.

Anastasiia O. Ponkratova<sup>1</sup>, Andrei K. Whaley<sup>1</sup>, Vladimir G. Luzhanin<sup>2</sup>, Elena V. Zhokhova<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Saint-Petersburg State Chemical-Pharmaceutical University, 14A, Prof. Popov str., Saint-Petersburg, 197376, Russia

<sup>2</sup> Perm State Pharmaceutical Academy, 101, Ekaterininskaya str., Perm, 614990, Russia

\*Corresponding author: Elena V. Zhokhova. E-mail: elena.zhohova@pharminnotech.com

ORCID: Anastasiia O. Ponkratova – <https://orcid.org/0000-0003-4879-9336>; Andrei K. Whaley – <https://orcid.org/0000-0002-4847-5924>; Vladimir G. Luzhanin – <https://orcid.org/0000-0002-6312-2027>; Elena V. Zhokhova – <https://orcid.org/0000-0002-9763-096X>.

Received: 20.10.2021

Revised: 03.12.2021

Published: 27.12.2021

© Понкратова А. О., Уэйли А. К., Лужанин В. Г., Жохова Е. В., 2021

© Ponkratova A. O., Whaley A. K., Luzhanin V. G., Zhokhova E. V., 2021

## Abstract

**Introduction.** The article presents the results of the detection of pharmacologically active secondary metabolites in black crowberry *Empetrum nigrum* L. using the method of high performance thin layer chromatography (HPTLC).

**Aim.** To show the efficiency of HPTLC for conducting preliminary phytochemical analysis to determine the main groups of metabolites in promising medicinal plant species.

**Materials and methods.** HPTLC analysis was carried out on a CAMAG device (Switzerland), using MERCK HPTLC silica gel 60 F154, 20 × 10 cm plates. For the evaporation of the samples, a Heidolph vacuum rotary evaporator (Germany) was used. The aerial parts (shoots) of *Empetrum nigrum* were harvested next to St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University (SPCPU) nursery garden of medicinal plants (Leningrad Region, Vsevolozhsky District, Priozerskoe Highway, 38 km) in August 2019.

**Results and discussion.** In the course of the research, four fractions from the aerial parts of *Empetrum nigrum* were obtained: hexane, dichloromethane, butanol, and water. Then, these fractions were investigated by HPTLC in two solvent systems – *n*-butanol:acetic acid:water (BAW) (4:1:2) and hexane:dichloromethane:methanol (HDM) (1:2:0.5). After scanning densitometric analysis of the plates eluted in the HDM system, it was revealed, that the hexane and dichloromethane fractions have a similar composition and contain the greatest amount of compounds, compared to the butanol and water fractions, and in the BAW system, it was found, that the butanol fraction contains the greatest variety of metabolites. As a result of UV spectroscopy, it was found, that the main groups of compounds contained in the hexane and dichloromethane fractions are derivatives of chalcones, dihydrochalcones, bibenzyls and 9,10-dihydrophenanthrenes. While in the butanol fraction, the main groups of secondary metabolites were derivatives of flavonoids and tannins

**Conclusion.** The data obtained allow us to note the efficiency, speed and simplicity of HPTLC for conducting preliminary phytochemical analysis to determine the main groups of metabolites of promising medicinal plant species.

**Keywords:** *Empetrum nigrum*, black crowberry, HPTLC, secondary metabolites

**Conflict of interest.** The authors declare that they have no obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

**Contribution of the authors.** Anastasiia O. Ponkratova and Andrei K. Whaley performed the experimental part and processing of the results. Anastasiia O. Ponkratova and Elena V. Zhokhova took part in preparing of the article text. Vladimir G. Luzhanin supervised the research. All authors took part in the discussion of the results.

**Funding.** Research results were obtained using the equipment of the Center for Collective Use "Analytical Center of Saint-Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University" within the framework of agreement No. 075-15-2021-685 dated July 26, 2021 with the financial support of the Ministry of Education and Science of Russia.

**For citation:** Ponkratova A. O., Whaley A. K., Luzhanin V. G., Zhokhova E. V. Using high performance thin layer chromatography for the detection of pharmacologically active secondary metabolites in *Empetrum nigrum* L. *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv = Drug development & registration*. 2021;10(4–1):129–137. (In Russ.) [https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-4\(1\)-129-137](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-4(1)-129-137)

## ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время метод высокоэффективной тонкослойной хроматографии (ВЭТСХ) широко используется ведущими лабораториями мира для анализа лекарственного растительного сырья (ЛРС) и лекарственных растительных препаратов (ЛРП), диетических добавок, биологически активных добавок к пище, продуктов питания, косметических средств, сильнодействующих средств и контроля качества производственных процессов. Общие статьи по идентификации ЛРС методом ВЭТСХ и частные монографии на ЛРС, использующие методики ВЭТСХ, включены в фармакопейный анализ США и стран Европы [1, 2–11]. Метод ВЭТСХ является высокотехнологичным. Согласно современным требованиям, процедура ВЭТСХ базируется на использовании специализированного автоматизированного оборудования, работающего в строго заданном диапазоне по стандартному протоколу. Использование современного оборудования представляет возможность сделать метод полуавтоматическим и программируемым. Идентификация с помощью метода ВЭТСХ включает в себя следующие стадии: пробоподготовка (получение извлечения из

лекарственного растительного сырья), нанесение, элюирование, дериватизация (при необходимости), оценка хроматограмм (классическая денситометрия, сканирование), документирование, обработка снимков, архивирование [12]. Основной категорией риска при проведении анализа является ручной перенос пластинки с этапа на этап [1].

Высокоэффективная тонкослойная хроматография (ВЭТСХ) является важным инструментом для анализа однокомпонентных и многокомпонентных образцов, позволяющим работать с широким спектром соединений с высокой точностью и экономической эффективностью. В одном анализе может быть исследовано большое количество образцов за счет уменьшения размеров зон адсорбции первичной хроматограммы (диаметр пятен наносимой пробы 1–2 мм, длина полос – 5–10 мм), что значительно сокращает время проведения анализа. Кроме того, ВЭТСХ – это микрометод, так как объем наносимой пробы от 2 мкл. Использование высокоэффективных пластинок позволяет значительно увеличить разделительную способность системы растворителей и снизить пределы обнаружения и количественного определения анализируемых веществ в 10–100 раз. Детекция прово-

дится с использованием различных длин волн, что обеспечивает получение более полного профиля исследуемого объекта. Постхроматографическая дериватизация может осуществляться разнообразными реагентами и обеспечивает одновременную обработку стандартов и образцов в одинаковых условиях [12].

В частные статьи на ЛРС Государственной фармакопеи Российской Федерации XIV (ГФ) издания как метод определения основных групп биологически активных веществ включена тонкослойная хроматография, метод ВЭТСХ охарактеризован только в общей статье ГФ ОФС.1.2.1.2.0003.15 «Тонкослойная хроматография» [13, 14].

**Цель данного исследования** – показать эффективность метода ВЭТСХ для проведения предварительного фитохимического исследования и определения основных групп метаболитов перспективных видов растительного сырья. В качестве модельного объекта была выбрана надземная часть водяники черной *Empetrum nigrum* L.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

ВЭТСХ анализ выполнялся на приборе CAMAG (Швейцария), с использованием пластин MERCK HPTLC silica gel 60 F154, 20 × 10 см. Нанесение образцов производилось с помощью полуавтоматического аппликатора Linomat 5. Элюирование пластин производилось с помощью автоматической камеры CAMAG Automatic Developing Chamber (ADC2). Изображения получали с помощью CAMAG TLC Visualizer 2. УФ-спектроскопия пятен производили на спектроденситометре CAMAG Scanner 3. Установка параметров и обработка результатов осуществлялась в программе VisionCATS. Для выпаривания образцов использовался вакуумно-ротационный испаритель марки Heidolph (Германия).

Надземная часть (побеги) *Empetrum nigrum* были заготовлены в районе питомника лекарственных растений Санкт-Петербургского государственного химико-фармацевтического университета (далее – СПбХФУ) (Ленинградская область, Всеволожский район, Приозерское шоссе, 38 км) в августе 2019 года.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для проведения предварительного фитохимического анализа и определения основных групп метаболитов в растительном сырье, была проведена высокоэффективная тонкослойная хроматография в комбинации со сканирующей денситометрией и УФ-спектроскопией.

Заготовленные в Ленинградской области побеги водяники черной (*Empetrum nigrum*) высушивались в инфракрасном сушильном шкафу при 40 °С, после чего измельчались и просеивались через сито с размером отверстий 1 мм. Затем проводилась многократная экстракция измельченных побегов водяники черной (744 г) 96 % этиловым спиртом (3150 мл), упа-

ривалась на при 60 °С, до приблизительного объема 200 мл, после чего полученный экстракт подвергался последовательной исчерпывающей жидкость-жидкостной экстракции [5]. На первом этапе экстракция проводилась с равным количеством гексана, до полного обесцвечивания гексана, затем к спиртовому извлечению добавляли 50 мл воды очищенной и продолжали жидкость-жидкостную экстракцию с равным количеством дихлорметана (ДХМ), данную процедуру повторяли также до полного его обесцвечивания. В заключении жидкость-жидкостная экстракция проводилась с равным количеством бутанола. Остаточную водно-спиртовую (фракция 4) и три полученных фракции выпаривали до приблизительного объема 100 мл. Часть гексановой, дихлорметановой и бутанольной фракции, достаточной для анализа (5 мл), выпаривались досуха и перерастворялись в 10 мл 96 % этилового спирта (фракции 1, 2, 3 соответственно) (схема 1).

Фракции 1–4 наносились на пластины по 5 мкл (1–4 треки, соответственно) и 10 мкл (5–8 треки соответственно) (рисунки 1–6). После нанесения образцов пластины помещались в автоматическую камеру. Для того, чтобы охватить максимальный диапазон полярностей соединений, содержащихся в экстракте, хроматографирование проводилось в двух системах растворителей – *n*-бутанол:кислота уксусная: вода (БУВ) (4:1:2) (рисунки 1–3) и гексан:дихлорметан:метанол (ГДМ) (1:2:0,5) (рисунки 4–6). Элюирование автоматически прекращалось, когда фронт растворителя достигал 85 мм от линии старта. Условия проведения высокоэффективной тонкослойной хроматографии приведены в таблице 1.

**Таблица 1. Условия проведения высокоэффективной тонкослойной хроматографии**

**Table 1. Conditions for high performance thin layer chromatography**

Номер п/п Number	Время проведения операции, мин Operation time, min	Название операции Operation name
1	1	Предварительная сушка пластины Pre-drying the plate
2	30	Насыщение камеры Chamber saturation
3	5	Преколондирование пластины Plate preconditioning
4	–	Элюирование пластины Elution of the plate
5	10	Сушка пластины Drying the plate

Изображение пластин получали с помощью системы CAMAG TLC Visualizer 2 в видимом и в УФ-свете при двух длинах волн (254 и 366 нм) (рисунки 1–6).



Схема 1. Схема получения фракций 1–4

Scheme 1. Scheme for obtaining fractions 1–4

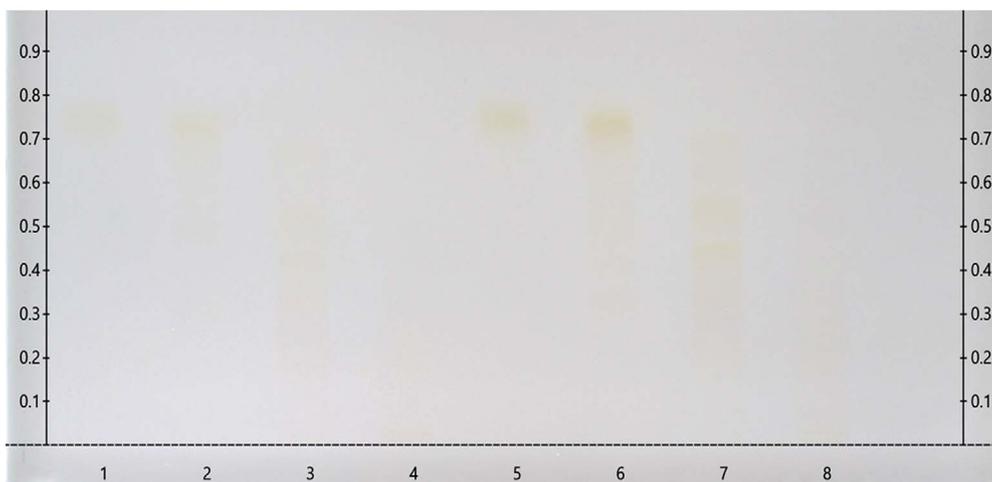


Рисунок 1. Хроматограмма полученная системе БУВ 4:1:2 (фотография в видимом свете)

Figure 1. Chromatogram obtained in the BAW 4:1:2 system (visible light picture)

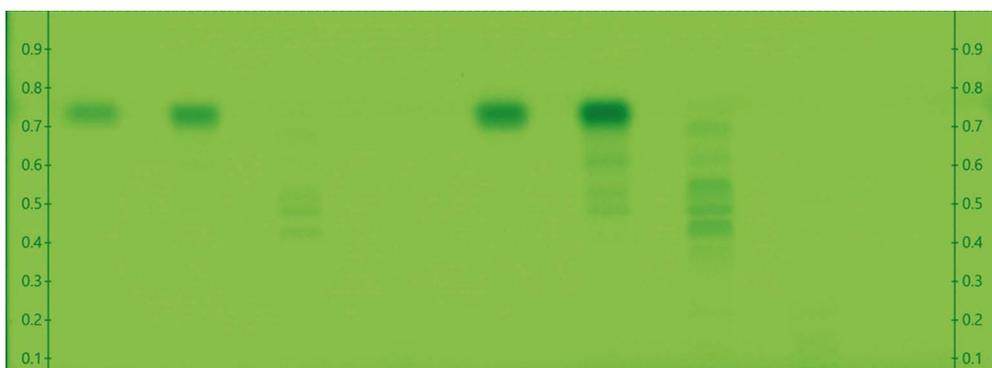
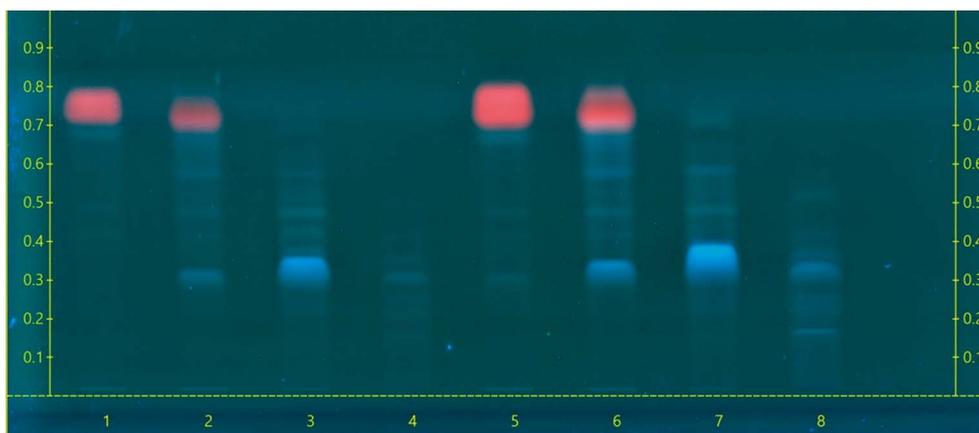


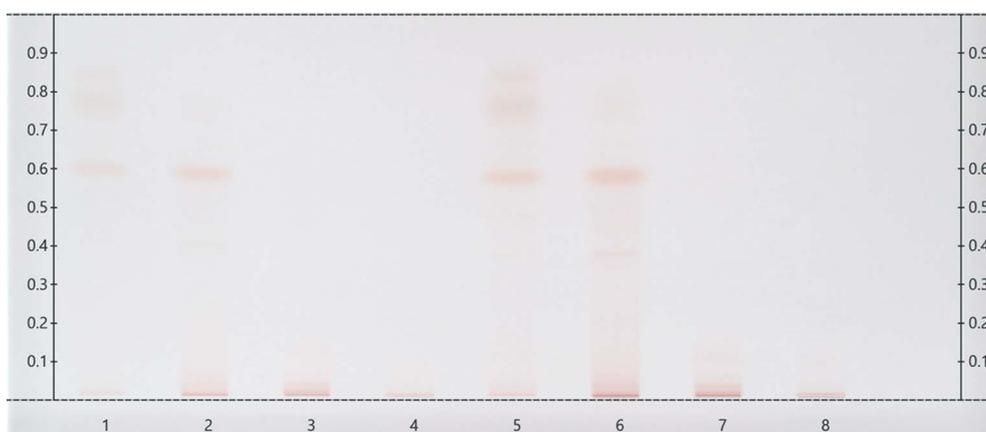
Рисунок 2. Хроматограмма полученная в системе БУВ 4:1:2 (фотография при 254 нм)

Figure 2. Chromatogram obtained in the BAW 4:1:2 system (picture at 254 nm)



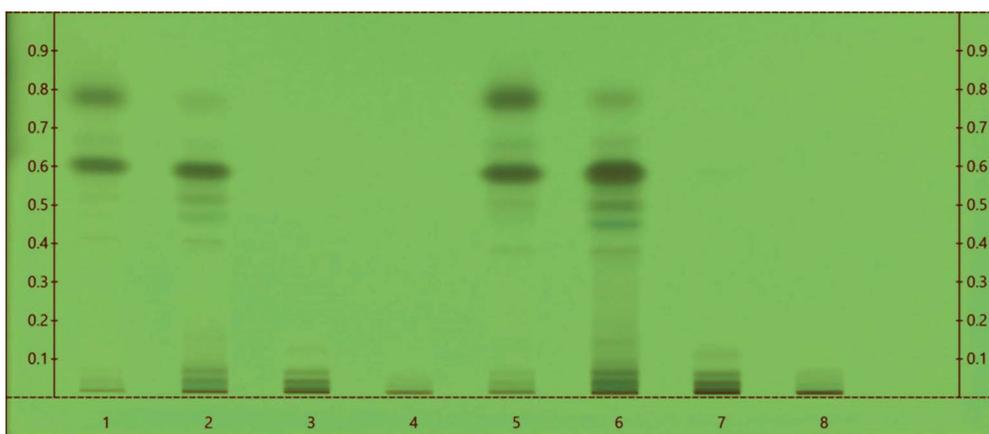
**Рисунок 3.** Хроматограмма полученная в системе БУВ 4:1:2 (фотография при 366 нм)

**Figure 3.** Chromatogram obtained in the BAW 4:1:2 system (picture at 366 nm)



**Рисунок 4.** Хроматограмма полученная в системе ГДМ (1:2:0,5) (фотография в видимом свете)

**Figure 4.** Chromatogram obtained in the HDM system (1:2:0.5) (visible light picture)



**Рисунок 5.** Хроматограмма полученная в системе ГДМ (1:2:0,5) (фотография при 254 нм)

**Figure 5.** Chromatogram obtained in the HDM system (1:2:0.5) (picture at 254 nm)

После фиксации изображений проводили сканирующую денситометрию измерением отраженного света в режиме абсорбции при 254 нм и 366 нм (рисунки 7 и 9). Параметры проведения сканирующей денситометрии приведены в таблице 2.

После проведения сканирующей денситометрии хроматограммы полученной в системе гексан:дихлорметан:метанол (1:2:0,5), проводилось сравнение денситограмм отдельных треков между собой (рисунок 8), с целью выявления фракций с похожим сос-

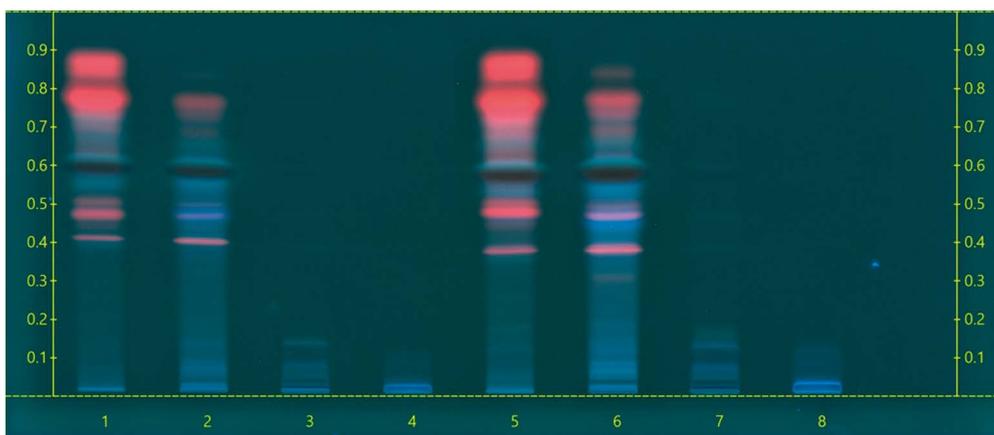


Рисунок 6. Хроматограмма полученная в системе ГДМ (1:2:0,5) (фотография при 366 нм)

Figure 6. Chromatogram obtained in the HDM system (1:2:0.5) (picture at 366 nm)

тавом пятен. В результате обработки полученных изображений, а также денситограмм, было выявлено, что гексановая и дихлорметановая фракции имеют схожий состав пятен и содержат наибольшее количество соединений, по сравнению с бутанольной и водной фракцией. Следуя из вышесказанного, УФ-спектроскопию пятен было решено проводить на треках 1 и 2.

Также аналогичным образом проводилась обработка изображений и денситограмм, снятых с хроматограммы полученной в системе БУВ (4:1:2) (рисунок 9), было выявлено что бутанольная фракция содержит наибольшее разнообразие метаболитов. УФ-спектроскопию пятен было решено проводить на треке 7.

Таблица 2. Параметры проведения сканирующей денситометрии

Table 2. Parameters of scanning densitometry

Номер п/п Number	Параметры Parameters	Показатели параметров Parameter indicators
1	Тип сканирования Scan type	Множественные $\lambda$ Multiple $\lambda$
2	Используемые длины волн Wavelengths	254 нм, 366 нм 254 nm, 366 nm.
3	Режим измерения Measurement mode	Абсорбция Absorbance
4	Скорость сканирования Scanning speed	20 мм/с 20 mm/s
5	Разрешение Resolution	100 мкм 100 microns

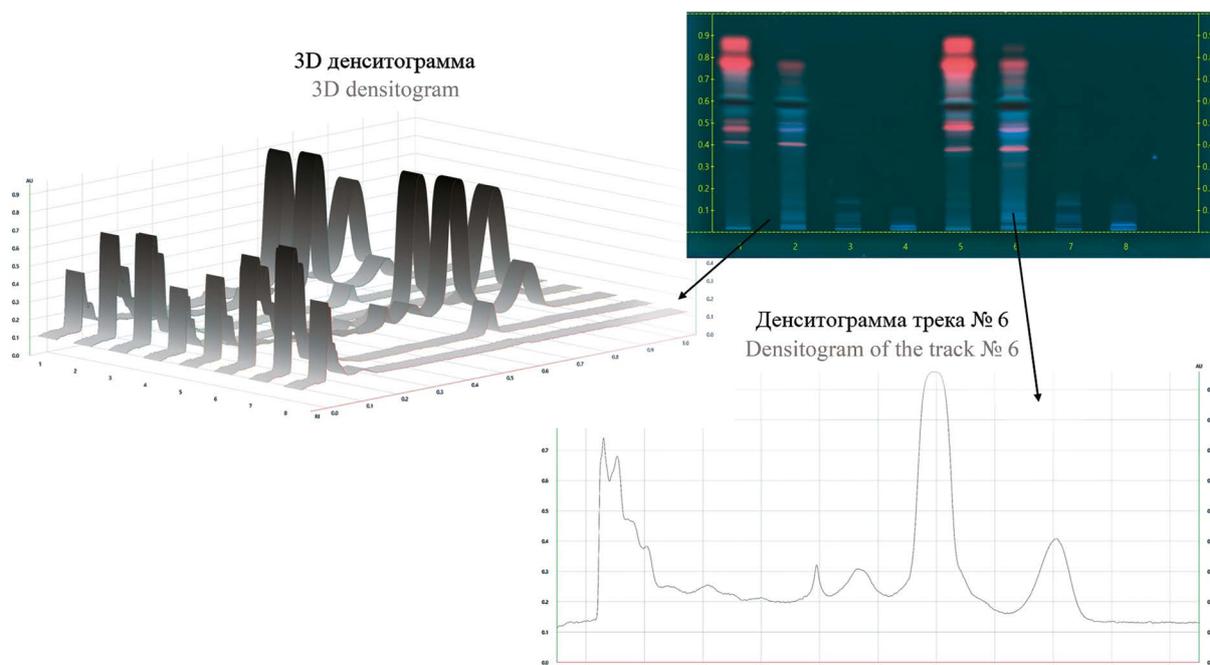
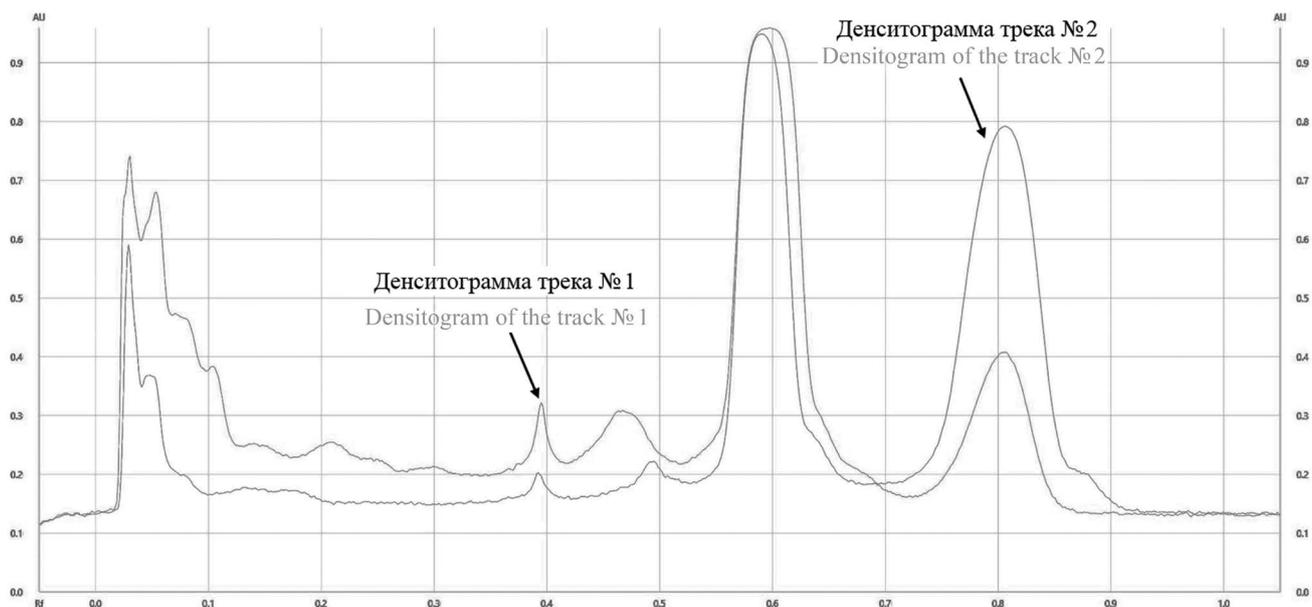


Рисунок 7. Сканирующая денситометрия (366 нм) хроматограммы, полученной в системе гексан:дихлорметан:метанол (1:2:0,5)

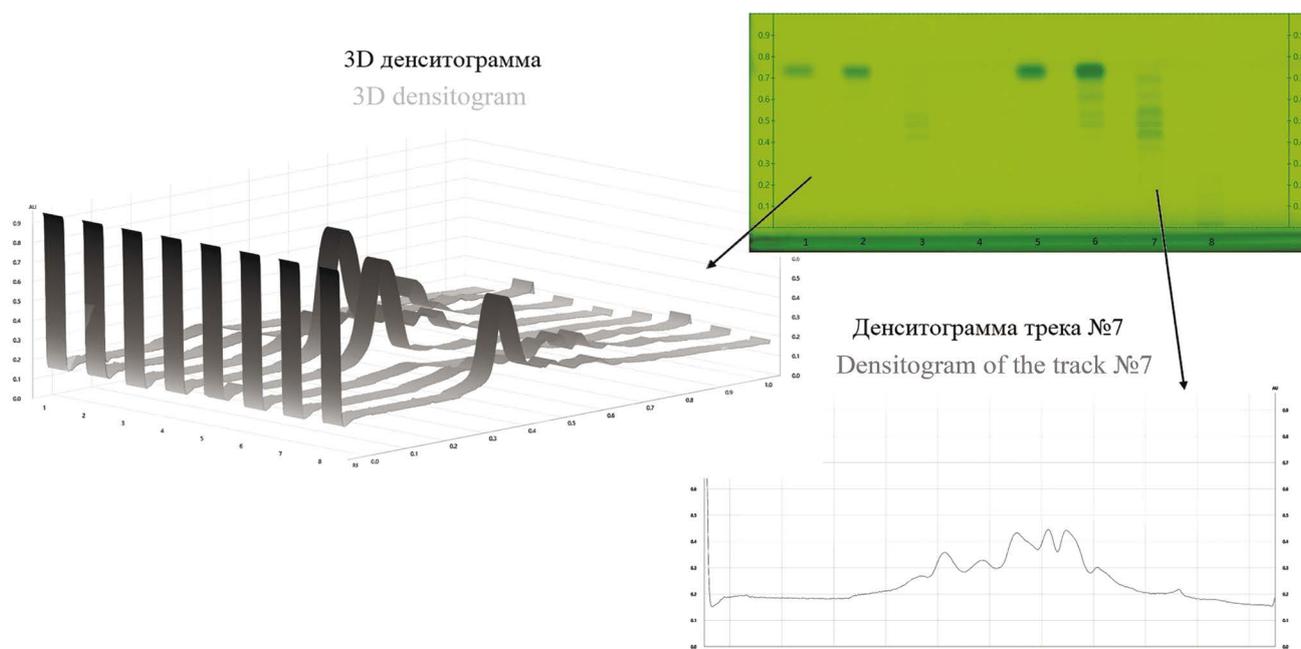
Figure 7. Scanning densitometry (366 nm) of a chromatogram obtained in the system hexane:dichloromethane:methanol (1:2:0.5)



**Рисунок 8.** Сравнение денситограмм полученных с трека 1 и 2.  
**Figure 8.** Comparison of densitograms obtained from tracks 1 and 2

Обработку полученных снимков производили в программном обеспечении VisionCATS. С помощью опции «Data View» определялось  $R_f$  и фиксировались  $R_f$ -метки пятен на снимках. УФ-спектроскопию пятен проводили с помощью спектроденситометра Camag Scanner 3 в режиме отражения, при скорости сканирования 20 нм/с, в диапазоне 190–450 нм (рисунок 10).

Обработка УФ-спектров производилась в базе данных природных соединений – Dictionary of Natural Products, компании Taylor & Francis Group (Великобритания), а также в сравнение с УФ-спектрами индивидуальных соединений, выделенных в предыдущих исследованиях [15–17] и литературными данными. Согласно УФ-спектрам пятен на хроматограмме, полученной в системе ГДМ (1:2:0,5) обнаружено,



**Рисунок 9.** Сканирующая денситометрия (254 нм) хроматограммы, полученной в системе БУВ (4:1:2)  
**Figure 9.** Scanning densitometry (254 nm) of the chromatogram obtained in the BAW system (4:1:2)

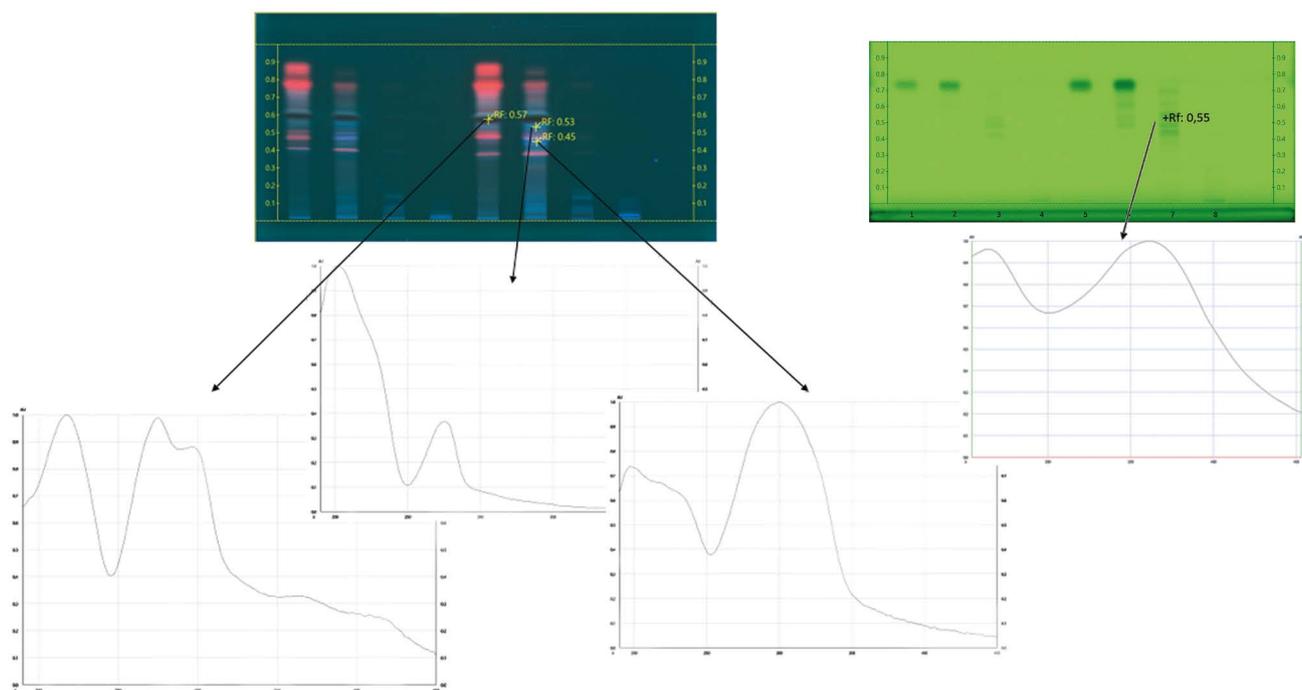


Рисунок 10. УФ-спектроскопия пятен на хроматограмме полученной в системе ГДМ (1) (1 : 2 : 0,5) и БУВ (4 : 1 : 2) (2)

Figure 10. UV spectroscopy of spots on the chromatogram obtained in the HDM system (1) (1 : 2 : 0.5) and BAW (4 : 1 : 2) (2)

что основными группами соединений, содержащихся в гексановой и дихлорметановой фракциях являются производные халконов, дигидрохалконов, бибинзилов а также 9,10-дигидрофенантронов [16–20, 21]. В то время, как в бутанольной фракции основными группами вторичных метаболитов являются производные флавоноидов и танинов [15, 22].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные данные позволяют отметить эффективность, экспрессность и наглядность метода ВЭТСХ для проведения предварительного фитохимического исследования и определения основных групп метаболитов перспективных видов ЛРС.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Хохлова Е. А. Оценка рисков при анализе лекарственного растительного сырья методом высокоэффективной тонкослойной хроматографии. *Вестник фармации*. 2017;76(2):43–49.
2. Agatonovic-Kustrin S., Doyle E., Gegechkori V., Morton D. W. High-performance thin-layer chromatography linked with (bio) assays and FTIR-ATR spectroscopy as a method for discovery and quantification of bioactive components in native Australian plants. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*. 2020;184:113208. DOI: 10.1016/j.jpba.2020.113208.
3. Amirvaresi A., Rashidi M., Kamyar M., Amirahmadi M., Daraei B., Parastar H. Combining multivariate image analysis with high-performance thin-layer chromatography for development of a reliable tool for saffron authentication and adulteration detection. *Journal chromatography A*. 2020;1628:461461. DOI: 10.1016/j.chroma.
4. Bruni R., Brighenti V., Caesar L. K., Bertelli D., Cech N. B., Pellati F. Analytical methods for the study of bioactive compounds from medicinally used Echinacea species. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*. 2018;160:443–477. DOI: 10.1016/j.jpba.2018.07.044.
5. Avula B., Sagi S., Masoodi M. H., Bae J. Y., Wali A. F., Khan I. A. Quantification and characterization of phenolic compounds from Northern Indian propolis extracts and dietary supplements. *Journal of AOAC International*. 2020;103(5):1378–1393. DOI: 10.1093/jaoacint/qsaa032.
6. Ebrahimi-Najafabadi H., Kazemeini S. S., Pasdaran A., Hamedei A. A novel similarity search approach for high-performance thin-layer chromatography (HPTLC) fingerprinting of medicinal plants. *Phytochemical analysis*. 2019;30(4):405–414. DOI: 10.1002/pca.2823.
7. Frommenwiler D. A., Kim J., Yook C. S., Tran T. T. T., Cañigueral S., Reich E. Comprehensive HPTLC fingerprinting for quality control of an herbal drug – the case of angelica gigas root. *Planta medica*. 2018;84(06/07):465–474. DOI: 10.1055/a-0575-4425.
8. Khan M. I., Rahman M. A., Khalid M., Khushtar M., Mujahid M. Quality Control Standardization and evaluation of antimicrobial potential of daruhaldi (*Berberis aristata* DC) stem bark. *Journal of dietary supplements*. 2020;17(1):97–109. DOI: 10.1080/19390211.2018.1484405.
9. Khokhlova K., Zdoryk O. Authentication of *Rhodiola rosea*, *Rhodiola quadrifida* and *Rhodiola rosea* liquid extract from the Ukrainian market using HPTLC chromatographic profiles. *Natural product research*. 2020;34(19):2842–2846. DOI: 10.1080/14786419.2019.1591398.
10. Sethuram V., Janakiraman K., Krishnaswami V., Natesan S., Kandasamy R. Combinatorial analysis of quercetin and resveratrol by HPTLC in *Sesbania grandiflora*/phyto-based nanoformulations. *Natural product research*. 2021;35(13):2243–2248. DOI: 10.1080/14786419.2019.1662012.
11. Sharma A., Katiyar C. K., Banerjee S., Chanda J., Kar A., Biswas S., Mukherjee P. K. RP-HPLC and HPTLC Methods for Analysis of Selected Herbs Used as Complexion Promoters in Ayurveda and Unani Systems of Medicine. *Journal of AOAC International*. 2020;103(3):692–698. DOI: 10.5740/jaoacint.19-0290.
12. Reich E., Schibli A. High-performance thin-layer chromatography for the analysis of medicinal plants. New York, Stuttgart. 2006. 264 p. DOI: 10.1055/B-002-66241.

- Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV издание. Доступно по: <http://femb.ru/femb/pharmacopea.php>. Ссылка активна на 28.10.2021.
- Тринева О. В. Разработка теоретических подходов к определению основных групп биологически активных веществ лекарственного растительного сырья методом ТСХ. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2021;10(2):69–79. DOI: 10.33380/2305-2066-2021-10-2-69-79.
- Понкратова А. О., Уэйли А. К., Орлова А. А., Смирнов С. Н., Серебряков Е. Б., Лужанин В. Г. Выделение и установление структуры трех димерных проантоцианидинов типа А из наземной части *Empetrum nigrum* L. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2021;10(2):80–86. DOI: 10.33380/2305-2066-2021-10-2-80-86.
- Ponkratova A. O., Whaley A. K., Balabas O. A., Smirnov S. N., Proksch P., Luzhanin V. G. A new bibenzyl and 9,10-dihydrophenanthrene derivative from aerial parts of crowberry (*Empetrum nigrum* L.). *Phytochemistry letters*. 2021;42:15–17. DOI: 10.1016/j.phytol.2021.01.001.
- Ponkratova A. O., Whaley A. K., Orlova A. A., Smirnov S. N., Se-rebryakov E. B., Proksch P., Luzhanin V. G. A new dimethoxy dihydrochalcone isolated from the shoots of *Empetrum nigrum* L. *Natural Products Research*. 2021. DOI: 10.1080/14786419.2021.1920584.
- Wollenweber E., Dörr M., Stelzer R., Arriaga-Giner F. J. Lipophilic phenolics from the leaves of *Empetrum nigrum* – chemical structures and exudate localization. *Botanica acta*. 1992;105:300–305. DOI: 10.1111/J.1438-8677.1992.TB00302.X.
- Krasnov E. A., Ermoliva E. V., Kadyrova T. V., Raldugin V. A. Phenolic components of *Empetrum nigrum* extract and the crystal structure of one of them. *Chemistry of natural compounds*. 2000;35(5):493–496. DOI: 10.1023/A:1002887406817.
- Jarevang T., Nilsson M.-C., Wallstedt A., Odham G., Sterner O. A bibenzyl from *Empetrum nigrum*. *Phytochemistry*. 1998;48(5):893–896. DOI: 10.1016/S0031-9422(97)00955-2.
- Kellogg J., Wang J., Flint C., Ribnicky D., Kuhn P., Mejia E. G., Ras-kin I., Lila M. N. Alaskan Wild Berry Resources and human health under the cloud of climate change. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2010;58(7):3884–900. DOI: 10.1021/jf902693r.
- Määttä K. R., Kamal-Eldin A., Mattila P. H., Gonzalez-Paramas A. M., Törrönen R. Distribution and contents of phenolic compounds in eighteen Scandinavian berry species. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2004;52(14):4477–86. DOI: 10.1021/jf049595y.
- Ebrahimi-Najafabadi H., Kazemeini S. S., Pasdaran A., Hamed A. A novel similarity search approach for high-performance thin-layer chromatography (HPTLC) fingerprinting of medicinal plants. *Phytochemical analysis*. 2019;30(4):405–414. DOI: 10.1002/pca.2823.
- Frommenwiler D. A., Kim J., Yook C. S., Tran T. T. T., Cañigueral S., Reich E. Comprehensive HPTLC fingerprinting for quality control of an herbal drug – the case of angelica gigas root. *Planta medica*. 2018;84(06/07):465–474. DOI: 10.1055/a-0575-4425.
- Khan M. I., Rahman M. A., Khalid M., Khushtar M., Mujahid M. Quality Control Standardization and evaluation of antimicrobial potential of daruhaldi (*Berberis aristata* DC) stem bark. *Journal of dietary supplements*. 2020;17(1):97–109. DOI: 10.1080/19390211.2018.1484405.
- Khokhlova K., Zdoryk O. Authentication of *Rhodiola rosea*, *Rhodiola quadrifida* and *Rhodiola rosea* liquid extract from the Ukrainian market using HPTLC chromatographic profiles. *Natural product research*. 2020;34(19):2842–2846. DOI: 10.1080/14786419.2019.1591398.
- Sethuram V., Janakiraman K., Krishnaswami V., Natesan S., Kandasamy R. Combinatorial analysis of quercetin and resveratrol by HPTLC in *Sesbania grandiflora*/phyto-based nanoformulations. *Natural product research*. 2021;35(13):2243–2248. DOI: 10.1080/14786419.2019.1662012.
- Sharma A., Katiyar C. K., Banerjee S., Chanda J., Kar A., Biswas S., Mukherjee P. K. RP-HPLC and HPTLC Methods for Analysis of Selected Herbs Used as Complexion Promoters in Ayurveda and Unani Systems of Medicine. *Journal of AOAC International*. 2020;103(3):692–698. DOI: 10.5740/jaoacint.19-0290.
- Reich E., Schibli A. High-performance thin-layer chromatography for the analysis of medicinal plants. New York, Stuttgart. 2006. 264 p. DOI: 10.1055/B-002-66241.
- Gosudarstvennaya farmakopeya Rossiyskoy Federatsii. XIV izdaniya [State Pharmacopoeia of the Russian Federation. XIV Edition]. Available at: <http://femb.ru/femb/pharmacopea.php>. Accessed: 28.10.2021. (In Russ.)
- Trineeva O. V. Development of theoretical approaches to determination of the main groups of biologically active substances of medicinal plant raw materials by TLC method. *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv = Drug development & registration*. 2021;10(2):69–79. (In Russ.) DOI: 10.33380/2305-2066-2021-10-2-69-79.
- Ponkratova A. O., Whaley A. K., Orlova A. A., Smirnov S. N., Se-rebryakov E. B., Luzhanin V. G. Isolation and structure elucidation of three dimeric A-type proanthocyanidins from *Empetrum nigrum* L. *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv = Drug development & registration*. 2021;10(2):80–86. (In Russ.) DOI: 10.33380/2305-2066-2021-10-1-83-89.
- Ponkratova A. O., Whaley A. K., Balabas O. A., Smirnov S. N., Proksch P., Luzhanin V. G. A new bibenzyl and 9,10-dihydrophenanthrene derivative from aerial parts of crowberry (*Empetrum nigrum* L.). *Phytochemistry letters*. 2021;42:15–17. DOI: 10.1016/j.phytol.2021.01.001.
- Ponkratova A. O., Whaley A. K., Orlova A. A., Smirnov S. N., Se-rebryakov E. B., Proksch P., Luzhanin V. G. A new dimethoxy dihydrochalcone isolated from the shoots of *Empetrum nigrum* L. *Natural Products Research*. 2021. DOI: 10.1080/14786419.2021.1920584.
- Wollenweber E., Dörr M., Stelzer R., Arriaga-Giner F. J. Lipophilic phenolics from the leaves of *Empetrum nigrum* – chemical structures and exudate localization. *Botanica acta*. 1992;105:300–305. DOI: 10.1111/J.1438-8677.1992.TB00302.X.
- Krasnov E. A., Ermoliva E. V., Kadyrova T. V., Raldugin V. A. Phenolic components of *Empetrum nigrum* extract and the crystal structure of one of them. *Chemistry of natural compounds*. 2000;35(5):493–496. DOI: 10.1023/A:1002887406817.
- Jarevang T., Nilsson M.-C., Wallstedt A., Odham G., Sterner O. A bibenzyl from *Empetrum nigrum*. *Phytochemistry*. 1998;48(5):893–896. DOI: 10.1016/S0031-9422(97)00955-2.
- Kellogg J., Wang J., Flint C., Ribnicky D., Kuhn P., Mejia E. G., Ras-kin I., Lila M. N. Alaskan Wild Berry Resources and human health under the cloud of climate change. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2010;58(7):3884–900. DOI: 10.1021/jf902693r.
- Määttä K. R., Kamal-Eldin A., Mattila P. H., Gonzalez-Paramas A. M., Törrönen R. Distribution and contents of phenolic compounds in eighteen Scandinavian berry species. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2004;52(14):4477–86. DOI: 10.1021/jf049595y.

## REFERENCES

- Hohlova E. A. *Ocenka riskov pri analize lekarstvennogo rastitel'nogo syr'ja metodom vysokoeffektivnoj tonkoslojnoj hromatografii* [Risk assessment in the analysis of medicinal plant materials by high-performance thin-layer chromatography]. *Vestnik farmacii*. 2017;76(2):43–49. (In Russ.)
- Agatonovic-Kustrin S., Doyle E., Gegechkori V., Morton D. W. High-performance thin-layer chromatography linked with (bio) assays and FTIR-ATR spectroscopy as a method for discovery and quantification of bioactive components in native Australian plants. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*. 2020;184:113208. DOI: 10.1016/j.jpba.2020.113208.
- Amirvaresi A., Rashidi M., Kamyar M., Amirahmadi M., Daraei B., Parastar H. Combining multivariate image analysis with high-performance thin-layer chromatography for development of a reliable tool for saffron authentication and adulteration detection. *Journal chromatography A*. 2020;1628:461461. DOI: 10.1016/j.chroma.
- Bruni R., Brighenti V., Caesar L. K., Bertelli D., Cech N. B., Pellati F. Analytical methods for the study of bioactive compounds from medicinally used Echinacea species. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*. 2018;160:443–477. DOI: 10.1016/j.jpba.2018.07.044.
- Avula B., Sagi S., Masoodi M. H., Bae J. Y., Wali A. F., Khan I. A. Quantification and characterization of phenolic compounds from Northern Indian propolis extracts and dietary supplements. *Journal of AOAC International*. 2020;103(5):1378–1393. DOI: 10.1093/jaoacint/qsaa032.