Сравнительный фитохимический анализ образцов надземной части *Empetrum nigrum* L., собранных в различных регионах РФ, как перспективного источника фармакологически активных вторичных метаболитов

А. О. Понкратова^{1*}, А. К. Уэйли¹, Е. В. Жохова¹, Е. А. Безверхняя^{2,3}, В. Г. Лужанин⁴

¹ 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

² ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, 634050, Россия, г. Томск, Московский тракт, д. 2

³ ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский политехнический университет», 634050, Россия, г. Томск, пр. Ленина, д. 30

⁴ ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 614990, Россия, г. Пермь, ул. Екатерининская, д. 110

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

ORCID: А. О. Понкратова – <https://orcid.org/0000-0003-4879-9336>; А. К. Уэйли – <https://orcid.org/0000-0002-4847-5924>; Е. В. Жохова – <https://orcid.org/0000-0002-9763-096X>; Е. А. Безверхняя – <https://orcid.org/0000-0001-7699-5719>; В. Г. Лужанин – <https://orcid.org/0000-0002-6312-2027>.

Статья поступила: 20.10.2021

Статья принята в печать: 03.12.2021

Статья опубликована: 27.12.2021

Резюме

Введение. В ряде исследований показано, что различные генетические факторы и факторы окружающей среды могут влиять на биосинтез и накопление вторичных метаболитов. В частности, известно, что местный геоклимат и сезонные его изменения, прочие внешние условия, такие как свет, температура, влажность и химический состав почвы оказывают влияние на химический состав и, как следствие, на терапевтические свойства экстрактивных комплексов растений, используемых в медицинской практике. *Empetrum nigrum* L. (водяника чёрная) является источником разнообразных фармакологически активных вторичных метаболитов – халконов, дигидрохалконов, бибензилов, 9,10-дигидрофенантронов, флавоноидов, а также проантоцианидинов. В научной литературе отсутствуют данные о вариации химического состава *E. nigrum* в зависимости от регион произрастания. Полученные данные являются необходимыми для обоснованного выбора места заготовки объекта с целью проведения дальнейших химико-фармакологических исследований для разработки перспективных лекарственных кандидатов.

Цель. Провести сравнительный анализ состава вторичных метаболитов образцов надземной части *E. nigrum*, собранных в различных регионах Российской Федерации.

Материалы и методы. Для изучения состава вторичных метаболитов использовали образцы, собранные в трех различных географических точках: образец 1 собран в окрестностях питомника лекарственных растений СПХФУ (Ленинградская область, Всеволожский район, Приозерское шоссе, 38 км) в июле 2020 года, образец 2 собран на Кольском полуострове, в районе горного массива Хибин в июле 2020 года, образец 3 собран на полуострове Камчатка, в районе Халактырского пляжа (побережье Тихого Океана) в июле 2020 года. Установление состава вторичных метаболитов проводили методом аналитической высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) на приборе Prominence LC-20 (Shimadzu, Япония), оснащённом диодно-матричным детектором.

Результаты и обсуждение. В результате данного исследования впервые были установлены значительные вариации качественного химического состава образцов надземной части *E. nigrum*, произрастающих в различных регионах Российской Федерации. Образец 3, собранный на полуострове Камчатка, по сравнению с прочими образцами содержит наибольшее разнообразие полярных вторичных метаболитов, относящихся к классам флавоноидов, танинов и фенолкарбоновых кислот, в то время как в образце 1, собранном в Ленинградской области, мажорными соединениями являются слабополярные соединения, а в образце 2, собранном в горном массиве Хибин, обнаружено наименьшее качественное содержание вторичных метаболитов. Данная вариативность химического состава могут быть обусловлены различным воздействием факторов окружающей среды (биотическими и абиотическими).

Заключение. Впервые проведено сравнение ВЭЖХ-профилей образцов надземной части *E. nigrum*, собранных в различных регионах РФ. В результате установлена значительная вариация состава вторичных метаболитов в исследуемых образцах в зависимости от места и условий произрастания. Полученные данные могут быть использованы для обоснованного выбора места заготовки объекта с целью проведения дальнейших химико-фармакологических исследований для разработки перспективных лекарственных кандидатов.

Ключевые слова: *Empetrum nigrum*, водяника чёрная, ВЭЖХ-профайлинг, 9,10-дигидрофенантроны, бибензилы, халконы, дигидрохалконы, флавоноиды, вторичные метаболиты

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

Вклад авторов. А. О. Понкратова, А. К. Уэйли и Е. А. Безверхняя выполняли экспериментальную часть и интерпретировали результаты. Е. В. Жохова принимала участие в заготовке исследуемых образцов. 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., Жохова Е. В., Безверхняя Е. А., Лужанин В. Г. Сравнительный фитохимический анализ образцов надземной части *Empetrum nigrum* L., собранных в различных регионах РФ, как перспективного источника фармакологически активных вторичных метаболитов. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2021;10(4–1):138–145. [https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-4\(1\)-138-145](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-4(1)-138-145)

Comparative Phytochemical Analysis of the Aerial Parts of *Empetrum nigrum* L. Samples, Collected in Various Regions of the Russian Federation

Anastasiia O. Ponkratova^{1*}, Andrei K. Whaley¹, Elena V. Zhokhova¹, Ekaterina A. Bezverkhniaia^{2,3}, Vladimir G. Luzhanin⁴

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

² Siberian State Medical University, 2, Moskovsky tract, Tomsk, 634050, Russia

³ National Research Tomsk Polytechnic University, 30, Lenin pr., Tomsk, 634050, Russia

⁴ Perm State Pharmaceutical Academy, 101, Ekaterininskaya str., Perm, 614990, Russia

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

ORCID: Anastasiia O. Ponkratova – <https://orcid.org/0000-0003-4879-9336>; Andrei K. Whaley – <https://orcid.org/0000-0002-4847-5924>;

Elena V. Zhokhova – <https://orcid.org/0000-0002-9763-096X>; Ekaterina A. Bezverkhniaia – <https://orcid.org/0000-0001-7699-5719>;

Vladimir G. Luzhanin – <https://orcid.org/0000-0002-6312-2027>.

Received: 20.10.2021

Revised: 03.12.2021

Published: 27.12.2021

Abstract

Introduction. A number of studies have shown that various genetic and environmental factors can affect the biosynthesis and accumulation of secondary metabolites. In particular, it is known that the local geoclimate, seasonal changes, external conditions such as light, temperature, moisture and soil fertility can affect the chemical composition and, as a result, the therapeutic properties of plants used in the pharmaceutical and food industries. *Empetrum nigrum* L. is a rich source of various pharmacologically active secondary metabolites – chalcones, dihydrochalcones, bibenzyls, 9,10-dihydrophenanthrenes, flavonoids, and proanthocyanidins. In the scientific literature, there is no data on the variation in the chemical composition of *E. nigrum* depending on the growing area. The obtained data are necessary for a reasonable choice of the collecting location for the plant, with the aim of its further chemical and pharmacological research for the development of promising drug candidates.

Aim. To carry out a comparative analysis of secondary metabolites composition in the aerial parts of *Empetrum nigrum* growing in different regions of the Russian Federation.

Materials and methods. Samples collected in three different areas were used to compare HPLC profiles: sample 1 was collected next to SPCPU nursery garden of medicinal plants (Leningrad region, Vsevolozhsky district, Priozerskoe highway, 38 km) in July 2020, sample 2 was collected on the Kola Peninsula, around the Khibiny mountains in July 2020, sample 3 was collected on the Kamchatka Peninsula, next to Khalaktyrsky beach (Pacific Ocean coast) in July 2020. Extracts were analyzed by analytical high performance liquid chromatography (HPLC) using a Prominence LC-20 device (Shimadzu, Japan) equipped with a diode array detector.

Results and discussion. As a result of the research, for the first time, a significant variation in the qualitative chemical composition in the aerial parts of *Empetrum nigrum* growing in different regions of Russian Federation was established. Sample 3, collected on the Kamchatka Peninsula, in comparison with samples 1 and 2, contain the greatest variety of polar secondary metabolites belonging to the classes of flavonoids, tannins, and phenol carboxylic acids, while in the shoots collected in the Leningrad region, the major metabolites were weakly polar compounds belonging to the classes of chalcones, dihydrochalcones, bibenzyls, and 9,10-dihydrophenanthrenes, and in sample 2, collected in the Khibiny mountains, the lowest qualitative content of secondary metabolites was found. This variation may be caused by various environmental factors (biotic and abiotic).

Conclusion. For the first time, the comparison of HPLC profiles of aerial part samples of *E. nigrum*, collected in different regions of the Russia Federation has been carried out. As a result, significant variations in the secondary metabolites composition of the studied samples were established, depending on the regions and growing conditions of the plants. The data obtained can be used for a reasonable choice of the collection location for the plant, with the aim of its further chemical and pharmacological research for the development of promising drug candidates.

Keywords: black crowberry, *Empetrum nigrum*, HPLC-profiling, 9,10-dihydrophenanthrene, bibenzyls, chalcones, dihydrochalcones, flavonoids, 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, Andrei K. Whaley and Ekaterina A. Bezverkhniaia performed the experimental part and processing of the results. Elena V. Zhokhova took part in the collecting of the researched samples. 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., Zhokhova E. V., Bezverkhniaia E. A., Luzhanin V. G. Comparative phytochemical analysis of the aerial parts of *Empetrum nigrum* L. samples, collected in various regions of the Russian Federation. *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv = Drug development & registration*. 2021;10(4–1):138–145. (In Russ.) [https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-4\(1\)-138-145](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-4(1)-138-145)

ВВЕДЕНИЕ

На сегодняшний день наблюдается тенденция широкого применения лекарственных средств растительного происхождения, преимущества которых заключаются в низкой токсичности и лучшей переносимости в широком диапазоне доз [1, 2]. Несомненный интерес представляют растения рода

Empetrum, широко применяемые в традиционной медицине Сибири, Дальнего Востока и Тибета для лечения судорожных состояний и нейродегенеративных заболеваний [3].

Наличие разнообразных классов вторичных метаболитов в составе *E. nigrum* обуславливает уникальность и комплексность фармакологического

воздействия. Так, экспериментально были установлены противосудорожный, церебропротекторный, антиоксидантный и антирадикальный, противогрибковый, противомикробный и противовоспалительный эффекты флаваноидсодержащих и халконсодержащих экстрактивных комплексов из водяники черной [4–8].

Водяника черная (*Empetrum nigrum* L.) представляет собой вечнозеленый кустарничек, относящийся к семейству *Ericaceae*. Ареал произрастания *E. nigrum* охватывает практически всю северную часть России, Японию, Китай, а также северные европейские страны (Скандинавские страны и Великобританию). К типичным местообитаниям данного вида относятся сфагновые болота, мохово-лишайниковые тундры и заболочиваемые хвойные леса [9]. В предыдущих исследованиях сообщалось об обнаружении и выделении из *E. nigrum* разнообразных классов вторичных метаболитов, среди которых наиболее представительными классами являются халконы и дигидрохалконы, бибензилы, 9,10-дигидрофенантроны [10–13], а также проантоцианидины типа А [14, 15] и флавоноиды [16].

Вторичные метаболиты лекарственных растений являются материальной основой их фармакологического воздействия. Однако процессы синтеза и накопления вторичных метаболитов очень сложны и подвержены влиянию многочисленных факторов. В ряде исследований показано, что различные генетические факторы и факторы окружающей среды могут влиять на биосинтез и накопление вторичных метаболитов [17–19]. В частности, известно, что местный геоклимат и сезонные его изменения, прочие внешние условия, такие как свет, температура, влажность и химический состав почвы оказывают влияние на химический состав и, как следствие, на терапевтические свойства растений, используемых в медицине [20]. Например, было показано, что изменение количества и сезонности осадков влияют на концентрацию цианогенных гликозидов [21], а повышение концентрации CO_2 часто приводит к увеличению концентрации конденсированных танинов. В научной литературе отсутствуют данные о вариабельности химического состава *E. nigrum* в зависимости от регион произрастания. Полученные данные являются необходимыми для обоснованного выбора места заготовки объекта с целью проведения дальнейших химико-фармакологических исследований для разработки перспективных лекарственных кандидатов.

Таким образом, **целью настоящего исследования** был сравнительный анализ состава вторичных метаболитов образцов надземной части *E. nigrum*, собранных в различных регионах Российской Федерации.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для изучения состава вторичных метаболитов использовали образцы, собранные в трех различных географических точках: образец 1 собран в окрест-

ностях питомника лекарственных растений СПХФУ (Ленинградская область, Всеволожский район, Приозерское шоссе, 38 км) в июле 2020 года, образец 2 собран на Кольском полуострове, в районе горного массива Хибин в июле 2020 года, образец 3 собран на полуострове Камчатка, в районе Халактырского пляжа (побережье Тихого Океана) в июле 2020 года. Установление состава вторичных метаболитов проводили методом аналитической высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) на приборе Prominence LC-20 (Shimadzu, Япония), оснащенном диодно-матричным детектором, при 235 нм. Применялась хроматографическая колонка SUPELCOSIL LC-18 (25 см × 4,6 мм) с размером частиц 5 мкм. Объем ввода пробы – 10 мкл. Температура анализа – 40 °С. Элюент: вода (компонент А), ацетонитрил (компонент В) с содержанием ТФУ 0,1 %, по объему. Характеристика метода ВЭЖХ-анализа приведена в таблице 1.

Таблица 1. Характеристика метода ВЭЖХ-анализа

Table 1. Method parameters of HPLC analysis

Время (мин) Time (min)	Скорость потока (мл/мин) Flow rate (ml/min)	Концентрация компонента А (%) Concentration of A (%)	Концентрация компонента В (%) Concentration of B (%)
0,01	1,00	95	5
5,00	1,00	95	5
45,75	1,00	0	100
50,00	1,00	0	100
60,00	1,00	95	5
65,00	1,00	95	5

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для получения ВЭЖХ-профилей изучаемых образцов *E. nigrum* были получены их этанольные экстракты. Перед экстракцией сырье подвергалось воздушно-теневого сушке, измельчалось и просеивалось через сито с диаметром отверстий 1 мм. Для получения этанольных экстрактов, отвешивали по 10 г каждого образца и экстрагировали 96 % этиловым спиртом (100 мл). Экстракцию проводили в герметично закрытых стеклянных колбах при комнатной температуре в течение 72 часов. После экстракции экстракты фильтровали через бумажный фильтр, измеряли объем полученных экстрактов, и, при необходимости, доводили объем экстракта до 100 мл соответствующим растворителем. Затем отбирались по 0,5 мл пробы каждого экстракта для проведения ВЭЖХ-анализа. В результате были получены хроматограммы (рисунки 1, 2 и 3).

Рисунок 1. ВЭЖХ-УФ хроматограмма этанольного экстракта, полученного из побегов *Empetrum nigrum*, собранных в Ленинградской области (образец 1)

Figure 1. HPLC-UV data of ethanolic extract obtained from shoots of *Empetrum nigrum* growing in Leningrad region (Sample 1)

Рисунок 2. ВЭЖХ-УФ хроматограмма этанольного экстракта, полученного из побегов *Empetrum nigrum*, собранных на Кольском полуострове (образец 2)

Figure 2. HPLC-UV data of ethanolic extract obtained from shoots of *Empetrum nigrum* growing in Kola Peninsula (Sample 2)

Рисунок 3. ВЭЖХ-УФ хроматограмма этанольного экстракта, полученного из побегов *Empetrum nigrum*, собранных на полуострове Камчатка (образец 3)

Figure 3. HPLC-UV data of ethanolic extract obtained from shoots of *Empetrum nigrum* growing in Kamchatka Peninsula (Sample 3)

Полученные хроматограммы сравнивались с хроматограммами стандартных образцов (СО) рутина, кверцетина, гиперозида, цинарозида, кемпферола, мирицетина, лютеолина, вератровой, синаповой, протокатеховой, хлорогеновой, кофейной, розмариновой и сиреневой кислот, а также с хроматограммами индивидуальных соединений, выделенных из *Empetrum nigrum*, структура которых была установлена в предыдущих исследованиях [10, 11, 14]. Идентификацию пиков проводили путем сравнения хроматографических параметров (время удерживания и максимумы УФ-поглощения) (таблица 2).

Пики мирицетина и лютеолина, а также вератровой, синаповой, протокатеховой и розмариновой кислот в исследуемых образцах обнаружены не были.

Данные, приведенные в таблице 2, показывают значительную вариабельность химического состава образцов, собранных в различных регионах РФ. Наибольшее количество вторичных метаболитов было обнаружено в образце 3, собранном на полуострове Камчатка, однако наибольшая их часть представляет собой полярные соединения (29), относящиеся преимущественно к классам флавоноидов (14), танинов (7) и фенолкарбоновых кислот (5). Также установлено наличие 10 менее полярных соединений с временем удерживания от 23 до 40 минут, из которых идентифицировано 8 соединений, относящихся к классам халконов (1), дигидрохалконов (2), 9,10-дигидрофенантронов (3) и бибензилов (2) (таблица 2, рисунок 3).

В образце 2, собранном на Кольском полуострове, было обнаружено 23 соединения, из которых 5 удалось идентифицировать. Основная часть вторичных метаболитов (13) представляет собой полярные соединения, относящиеся преимущественно к классам флавоноидов (5), танинов (4) и фенолкарбоновых кислот (2). Кроме того, было установлено наличие 5 менее полярных соединений с временем удерживания от 23 до 40 минут, а также наличие 5 неполярных соединений с временем удерживания более 40 минут (таблица 2, рисунок 2).

В образце 1, собранном в Ленинградской области, было установлено наличие 37 соединений, из которых 24 удалось идентифицировать. Преобладающей группой вторичных метаболитов (23) являются слабо полярные соединения с временем удерживания от 23 до 40 минут, относящиеся к классам бибензилов, 9,10-дигидрофенантронов, халконов и дигидрохалконов, в то время как полярные соединения с временем удерживания до 23 минут представлены в меньшей степени (14) и относятся к классам танинов (6), флавоноидов (5) и фенолкарбоновых кислот (3) (таблица 2, рисунок 1).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Впервые проведено сравнение ВЭЖХ-профилей образцов надземной части *E. nigrum*, собранных в различных регионах РФ. В результате установлена значительная вариация состава вторичных метаболитов

в исследуемых образцах в зависимости от региона и условий произрастания.

Данная вариабельность может быть обусловлена различным воздействием факторов окружающей среды (биотическими и абиотическими). Вероятно, данное различие может быть связано преимущественно с температурным фактором. В ряде исследований по изучению влияния температуры на накопление флавоноидов, было показано, что при более высоких температурах (30–35 °С) накопление флавоноидов уменьшается. Также фактором влияющим на накопление флавоноидов в растениях является разница дневной и ночной температур. В исследовании было показано, что при разности дневной/ночной температур более 10 и более градусов, накопление флавоноидов уменьшается [22].

Климат восточной части п-ова Камчатка сочетает в себе черты морского и муссонного, со среднегодовой температурой +2,8 °С, благодаря влиянию Курило-Камчатского течения и Тихого океана температура зимой редко опускается ниже –19 °С, в то же время летом редко поднимается выше +15 °С, а перепад температур день/ночь не достигает 10 °С. Вероятно данные температурные условия обуславливают наибольшее разнообразие полярных вторичных метаболитов в образце 3, относящихся к классам флавоноидов, танинов и фенолкарбоновых кислот, по сравнению с другими образцами.

В тоже время, климат в горном массиве Хибин является суровым субарктическим, средняя годовая температура составляет около –3 °С, где июль – самый жаркий месяц, со средней температурой 13 °С, а перепад температур день/ночь может достигать 15 °С. Вероятно, именно из-за низкой среднегодовой температуры, достаточно короткого холодного лета и большого перепада температуры день/ночь, качественный состав надземной части водяники наиболее беден по сравнению с остальными образцами, но также, как и образец 3 приставлен преимущественно классами флавоноидов, танинов и фенолкарбоновых кислот.

Климат в Ленинградской области умеренный, со средней годовая температурой +5,8 °С, самый жаркий месяц – июль, со средней суточной температурой +19,5 °С, самый холодный февраль со средней температурой –5,8 °С. Перепад температур день/ночь в Ленинградской области может достигать 15 °С в различные месяцы, чем вероятно можно объяснить меньшее качественное содержание флавоноидов, танинов и фенолкарбоновых кислот, по сравнению с образцом 3. Однако, образец 1 богат слабо полярными соединениями, относящиеся к классам халконов, дигидрохалконов, бибензилов и 9,10-дигидрофенантронов, отсутствующими в образцах 2 и 3.

Полученные данные могут быть использованы для обоснованного выбора места заготовки объекта для проведения дальнейших химико-фармакологических исследований для разработки перспективных лекарственных кандидатов.

Таблица 2. Сравнение состава вторичных метаболитов образцов 1, 2 и 3

Table 2. Comparison of secondary metabolites composition of the samples 1, 2 and 3

Номер п/п Number	Название СО / Индивидуального соединения Name of reference compound / Individual compound	Хроматографические параметры (время удерживания, мин; максимумы УФ-поглощения, нм) Chromatographic parameters (retention time, min; UV-absorption maxima, nm)	Образец 1 Sample 1	Образец 2 Sample 2	Образец 3 Sample 3
1	Рутин Rutin	19,1; 254, 351	+	–	+
2	Кверцетин Quercetin	23, 9; 254, 370	+	–	+
3	Кемпферол Kaempferol	20,0; 265, 346	+	–	+
4	Цинарозид Cynaroside	19,6; 253, (266), 347	–	–	+
5	Гиперозид Hyperoside	19,3; 254, 352	+	+	+
6	Сиреневая кислота Syringic acid	16,0; 273	+	–	–
7	Хлорогеновая кислота Chlorogenic acid	15,1; 232, (284) 326	+	+	+
8	Кофейная кислота Caffeic acid	15,4; 233, (290), 232	+	+	+
9	Процианидин А1 Procyanidin A1	18,3; 278	+	–	–
10	Процианидин А2 Procyanidin A2	19,4; 277	+	+	+
11	Эпикатехин-(2β → О → 5, 4β → 6)-катехин Epicatechin-(2β → О → 5, 4β → 6))-catechin	20,2; 278	+	+	–
12	1-(3-гидроксифенил)-2-(3-гидрокси- 4,5-диметоксифенил) этан 1-(3-hydroxyphenyl)-2-(3-hydroxy- 4,5-dimethoxyphenyl) ethane	25,1; 273, 325	+	–	+
13	1-(3,5-дигидрокси-4-метоксифе- нил)-2-фенилэтан 1-(3,5-dihydroxy-4-methoxyphenyl)- 2-phenyl ethane	27,2; 268, (327)	+	–	+
14	1-(3,5-дигидрокси- 4-метоксифенил)-2- (3-гидроксифенил) этан 1-(3,5-dihydroxy-4-methoxyphenyl)- 2-(3-hydroxyphenyl) ethene	23,4; 272, (324)	+	–	–
15	2,3,4,7-тетраметокси- 9,10-дигидрофенантрен 2,3,4,7-tetramethoxy- 9,10-dihydrophenanthrene	34,9; 283, (300)	+	–	–
16	2,3,4-триметокси-5-гидрокси- 9,10-дигидрофенантрен 2,3,4-trimethoxy-5-hydroxy- 9,10-di-hydrophenanthrene	33,0; 275, (296)	+	–	+
17	4,7-дигидрокси-2,3-диметокси- 9,10-дигидрофенантрен 4,7-dihydroxy-2,3-dimethoxy- 9,10-dihydrophenanthrene	26,4; (238), 280	+	–	+
18	6-гидрокси-2,3,4-триметокси- 9,10-дигидрофенантрен 6-hydroxy-2,3,4-trimethoxy- 9,10-dihydrophenanthrene	28,3; 282	+	–	+
19	4'-гидрокси- 2'-метоксидигидрохалкон 4'-hydroxy- 2'-methoxydihydrochalcone	29,4; 268, 303	+	–	+

Номер п/п Number	Название СО / Индивидуального соединения Name of reference compound / Individual compound	Хроматографические параметры (время удерживания, мин; максимумы УФ-поглощения, нм) Chromatographic parameters (retention time, min; UV-absorption maxima, nm)	Образец 1 Sample 1	Образец 2 Sample 2	Образец 3 Sample 3
20	2'-гидрокси- 4'-метоксидигидрохалкон 2'-hydroxy- 4'-methoxydihydrochalcone	35,4; 274, 314	+	–	–
21	2',4'-диметоксидигидрохалкон 2',4'-dimethoxydihydrochalcone	34,2; 267, 302	+	–	–
22	2',4'-дигидроксидигидрохалкон 2',4'-dihydroxydihydrochalcone	31,2; 276, 313	+	–	+
23	2'-гидрокси-4'-метоксичалкон 2'-hydroxy-4'-methoxychalcone	36,0; 341	+	–	–
24	2',4'-дигидроксичалкон 2',4'-dihydroxychalcone	31,2; 339	+	–	+
	Идентифицировано пиков Identified peaks		24	5	16
	Всего пиков Total peaks:		37	23	39

ЛИТЕРАТУРА

- Сокурченко М. С., Соловьева Н. Л. Технологии повышения стабильности полифенольных соединений в лекарственных препаратах. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2016;4:92–91.
- Самбукова Т. В., Овчинников Б. В., Ганапольский В. П., Ятманов А. Н., Шабанов П. Д. Перспективы использования фитопрепаратов в современной фармакологии. *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии*. 2017;15(2):56–63. DOI: 10.17816/RCF15256-63
- Барнаулов О. Д. Сравнительная оценка церебропротективных и других фармакологических свойств растений семейства шикшевые *Empetraceae*. *Традиционная медицина*. 2018;1(52):38–47.
- Huttunen S., Toivanen M., Arko S., Ruponen M., Tikkanen-Kaukanen C. Inhibition activity of wild berry juice fractions against *Streptococcus pneumoniae* binding to human bronchial cells. *Phytotherapy Research*. 2011;25(1):122–127. DOI: 10.1002/ptr.3240.
- Kim K. C., Lee I. K., Kang K. A., Kim B. J., Kim D., Moon J. Y., Yoo B. S., Hyun J. W. *Empetrum nigrum* var. *japonicum* extract suppresses γ -ray radiation-induced cell damage via inhibition of oxidative stress. *The American Journal of Chinese Medicine*. 2011;39(11):161–170. DOI: 10.1142/S0192415X11008725.
- Nohynek L. J., Alakomi H. L., Kähkönen M. P., Heinonen M., Helander I. M., Oksman-Caldentey K. M., Puupponen-Pimiä R. H. Berry phenolics: antimicrobial properties and mechanisms of action against severe human pathogens. *Nutrition and Cancer*. 2006;54(1):18–32. DOI: 10.1207/s15327914nc5401_4.
- Hyun T. K., Kim H. C., Ko Y. J., Kim J. S. Antioxidant, α -glucosidase inhibitory and anti-inflammatory effects of aerial parts extract from Korean crowberry (*Empetrum nigrum* var. *japonicum*). *Saudi Journal of Biological Sciences*. 2016;23(2):181–188. DOI: 10.1016/j.sjbs.2015.02.008.
- Bezverkhniaia E. A., Povet'eva T. N., Kadyrova T. V., Suslov N. I., Nesterova Y. V., Afanas'eva O. G., Kul'pin P. V., Yusova Y. G., Ermilova E. V., Miroshnichenko A. G., Brazovskii K. S., Belousov M. V. Screening Study for Anticonvulsive Activity of Lipophilic Fractions from *Empetrum nigrum* L. *Research Results in Pharmacology*. 2020;6(3):67–73. DOI: 10.3897/rpharmacology.6.55015.
- Kubitzki K. Flowering Plants. Dicotyledons: Celastrales, Oxalidales, Rosales, Cornales, Ericales. V. 6. In: The families and genera of vascular plants. Berlin: Springer. 2004;145–194. DOI: 10.1007/978-3-662-07257-8.
- 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., Serebryakov 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.
- Jarevång T., Nilsson M. Ch., Wallstedt A., Oldham G., Sterner O. A bibenzyl from *Empetrum nigrum*. *Phytochemistry*. 1998;48(5):893–896. DOI: 10.1016/S0031-9422(97)00955-2.
- Wollenweber E., Dörr M., Stelzer R., Arriaga-Giner F. Lipophilic phenolics from the leaves of *Empetrum nigrum* – chemical structures and exudate localization. *Botanica Acta*. 1992;105(4):300–305. DOI: 10.1111/j.1438-8677.1992.tb00302.x.
- 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 надземной части *Empetrum nigrum* L. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2021;10(2):80–86. DOI: 10.33380/2305-2066-2021-10-2-80-86.
- Kellogg J., Wang J., Flint C., Ribnick D., Kuhn P., de Mejia E. G., Rasikin I., Lila M. A. Alaskan wild berry resources and human health under the cloud of climate change. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2010;58(7):3884–3900. DOI: 10.1021/jf902693r.
- Jurikova T., Mlcek J., Skrovankova S., Balla S., Sochor J., Baron M., Sumczynski D. Black crowberry (*Empetrum nigrum* L.) flavonoids and their health promoting activity. *Molecules*. 2016;21(12):1685. DOI: 10.3390/molecules21121685.
- Lindroth R. L. Atmospheric change, plant secondary metabolites and ecological interactions. In: The Ecology of Plant Secondary Metabolites: from Genes to Global Processes. Cambridge: Cambridge University Press. 2012. P. 120–153. DOI: 10.1017/CBO9780511675751.008.
- Li Y., Kong D., Fu Y., Sussman M. R., Wu H. The effect of developmental and environmental factors on secondary metabolites in medicinal plants. *Plant Physiology and Biochemistry*. 2020;148:80–89. DOI: 10.1016/j.plaphy.2020.01.006.
- Li Y., Wen K., Ruan X., Zhao Y., Wei F., Wang Q. Response of plant secondary metabolites to environmental factors. *Molecules*. 2018;23(4):762. DOI: 10.3390/molecules23040762.

20. Szakiel A., Paczkowski C., Henry M. Influence of environmental biotic factors on the content of saponins in plants. *Phytochemistry Reviews*. 2011;10(4):471–491. DOI: 10.1007/s11101-010-9177-x.
21. Gleadow R. M., Woodrow I. E. Defense chemistry of cyanogenic *Eucalyptus cladocalyx* seedlings is affected by water supply. *Tree Physiology*. 2002;22:939–945. DOI: 10.1093/treephys/22.13.939.
22. Yifan Y. Impact of temperature regimes on flavonoid accumulation in Merlot (*Vitis vinifera* L.) grapes. *University of British Columbia*. 2019. DOI: 10.14288/1.0383334.
14. Ponkratova A. O., Whaley A. K., Orlova A. A., Smirnov S. N., Serebryakov 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.
15. Kellogg J., Wang J., Flint C., Ribnicky D., Kuhn P., de Mejia E. G., Raskin I., Lila M. A. Alaskan wild berry resources and human health under the cloud of climate change. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2010;58(7):3884–3900. DOI: 10.1021/jf902693r.
16. Jurikova T., Mlcek J., Skrovankova S., Balla S., Sochor J., Baron M., Sumczynski D. Black crowberry (*Empetrum nigrum* L.) flavonoids and their health promoting activity. *Molecules*. 2016;21(12):1685. DOI: 10.3390/molecules21121685.
17. Lindroth R. L. Atmospheric change, plant secondary metabolites and ecological interactions. In: *The Ecology of Plant Secondary Metabolites: from Genes to Global Processes*. Cambridge: Cambridge University Press. 2012. P. 120–153. DOI: 10.1017/CBO9780511675751.008.
18. Li Y., Kong D., Fu Y., Sussman M. R., Wu H. The effect of developmental and environmental factors on secondary metabolites in medicinal plants. *Plant Physiology and Biochemistry*. 2020;148:80–89. DOI: 10.1016/j.plaphy.2020.01.006.
19. Li Y., Wen K., Ruan X., Zhao Y., Wei F., Wang Q. Response of plant secondary metabolites to environmental factors. *Molecules*. 2018;23(4):762. DOI: 10.3390%2Fmolecules23040762.
20. Szakiel A., Paczkowski C., Henry M. Influence of environmental biotic factors on the content of saponins in plants. *Phytochemistry Reviews*. 2011;10(4):471–491. DOI: 10.1007/s11101-010-9177-x.
21. Gleadow R. M., Woodrow I. E. Defense chemistry of cyanogenic *Eucalyptus cladocalyx* seedlings is affected by water supply. *Tree Physiology*. 2002;22:939–945. DOI: 10.1093/treephys/22.13.939.
22. Yifan Y. Impact of temperature regimes on flavonoid accumulation in Merlot (*Vitis vinifera* L.) grapes. *University of British Columbia*. 2019. DOI: 10.14288/1.0383334.
1. Solovieva N. L., Sokurenko M. S. Technologies to improve the stability of polyphenolic compounds in drug discovery. *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv = Drug development & registration*. 2016;4(4):82–91. (In Russ.)
2. Sambukova T. V., Ovchinnikov B. V., Ganapolskii V. P., Yatmanov A. N., Shabanov P. D. Prospects for phytopreparations (botanicals) use in modern pharmacology. *Obzory po klinicheskoy farmakologii i lekarstvennoy terapii*. 2017;15(2):56–63. (In Russ.) DOI: 10.17816/RCF15256-63.
3. Barnaulov O. D. Comparative estimation of cerebroprotective and other pharmacological properties plants family *Empetraceae*. *Traditsionnaya meditsina*. 2018;1(52):38–47. (In Russ.)
4. Huttunen S., Toivanen M., Arkko S., Raponen M., Tikkanen-Kaukanen C. Inhibition activity of wild berry juice fractions against *Streptococcus pneumoniae* binding to human bronchial cells. *Phytotherapy Research*. 2011;25(1):122–127. DOI: 10.1002/ptr.3240.
5. Kim K. C., Lee I. K., Kang K. A., Kim B. J., Kim D., Moon J. Y., Yoo B. S., Hyun J. W. *Empetrum nigrum* var. *japonicum* extract suppresses γ-ray radiation-induced cell damage via inhibition of oxidative stress. *The American Journal of Chinese Medicine*. 2011;39(11):161–170. DOI: 10.1142/S0192415X11008725.
6. Nohynek L. J., Alakomi H. L., Kähkönen M. P., Heinonen M., Helander I. M., Oksman-Caldentey K. M., Puupponen-Pimiä R. H. Berry phenolics: antimicrobial properties and mechanisms of action against severe human pathogens. *Nutrition and Cancer*. 2006;54(1):18–32. DOI: 10.1207/s15327914nc5401_4.
7. Hyun T. K., Kim H. C., Ko Y. J., Kim J. S. Antioxidant, α-glucosidase inhibitory and anti-inflammatory effects of aerial parts extract from Korean crowberry (*Empetrum nigrum* var. *japonicum*). *Saudi Journal of Biological Sciences*. 2016;23(2):181–188. DOI: 10.1016/j.sjbs.2015.02.008.
8. Bezverkhniaia E. A., Povet'eva T. N., Kadyrova T. V., Suslov N. I., Nesterova Y. V., Afanas'eva O. G., Kul'pin P. V., Yusova Y. G., Ermilova E. V., Miroshnichenko A. G., Brazovskii K. S., Belousov M. V. Screening Study for Anticonvulsive Activity of Lipophilic Fractions from *Empetrum nigrum* L. *Research Results in Pharmacology*. 2020;6(3):67–73. DOI: 10.3897/rrpharmacology.6.55015.
9. Kubitzki K. Flowering Plants. Dicotyledons: Celastrales, Oxalidales, Rosales, Cornales, Ericales. V. 6. In: *The families and genera of vascular plants*. Berlin: Springer. 2004;145–194. DOI: 10.1007/978-3-662-07257-8.
10. 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.
11. Ponkratova A. O., Whaley A. K., Orlova A. A., Smirnov S. N., Serebryakov 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.
12. Jarevång T., Nilsson M. Ch., Wallstedt A., Oldham G., Sterner O. A bibenzyl from *Empetrum nigrum*. *Phytochemistry*. 1998;48(5):893–896. DOI: 10.1016/S0031-9422(97)00955-2.
13. Wollenweber E., Dörr M., Stelzer R., Arriaga-Giner F. Lipophilic phenolics from the leaves of *Empetrum nigrum* – chemical structures and exudate localization. *Botanica Acta*. 1992;105(4):300–305. DOI: 10.1111/j.1438-8677.1992.tb00302.x.