

<https://doi.org/10.33380/2305-2066-2024-13-1-1566>  
УДК 54.061:615.038



Оригинальная статья / Research article

## Влияние выделенных из *Rubus chamaemorus* метаболитов на систему гемостаза в условиях *in vitro*

В. Г. Лужанин<sup>1</sup>✉, А. В. Самородов<sup>2</sup>, А. К. Уэйли<sup>3</sup>, А. О. Уэйли<sup>3, 4</sup>,  
Г. П. Яковлев<sup>3</sup>, И. А. Самылина<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России). 614990, Россия, Пермский край, г. Пермь, ул. Полевая, д. 2

<sup>2</sup> Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России). 450008, Россия, Приволжский федеральный округ, Республика Башкортостан, г. Уфа, ул. Ленина, д. 3

<sup>3</sup> Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО СПбХФУ Минздрава России). 197022, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, 14, лит. А

<sup>4</sup> Лаборатория «Клеточные механизмы гомеостаза крови». Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова Российской академии наук (ИЭФБ РАН). 194223, Россия, г. Санкт-Петербург, проспект Тореза, д. 44

<sup>5</sup> Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет). 119435, Россия, г. Москва, ул. Большая Пироговская, д. 2, стр. 4

✉ Контактное лицо: Лужанин Владимир Геннадьевич. E-mail: [vladimir.luzhanin@pharminnotech.com](mailto:vladimir.luzhanin@pharminnotech.com)

ORCID: В. Г. Лужанин – <https://orcid.org/0000-0002-6312-2027>; А. В. Самородов – <https://orcid.org/0000-0001-9302-499X>;

А. К. Уэйли – <https://orcid.org/0000-0002-4847-5924>; А. О. Уэйли – <https://orcid.org/0000-0003-4879-9336>;

Г. П. Яковлев – <https://orcid.org/0009-0009-4570-2739>; И. А. Самылина – <https://orcid.org/0000-0002-4895-0203>.

Статья поступила: 04.09.2023

Статья принята в печать: 05.02.2024

Статья опубликована: 09.02.2024

### Резюме

**Введение.** Одной из ключевых задач современной фармации является поиск новых перспективных соединений – потенциальных лекарственных кандидатов. Природные объекты, в особенности растительные, издавна являются богатыми источниками новых молекул и находят широкое применение в мировой пищевой и фармацевтической промышленности. Морошка обыкновенная (*Rubus chamaemorus* L.) представляет собой многолетнее травянистое растение из семейства розоцветных (*Rosaceae*). В плодах и листьях *R. chamaemorus* содержится большое разнообразие полифенольных вторичных метаболитов: гидролизуемые/конденсированные таннины и флавоноиды. Экстракты, в которых доминируют полифенолы, показывают значительную антипролиферативную активность и ингибирование клеточного роста, а также вызывают апоптоз клеток. Ранее в результате фитохимических исследований листьев *R. chamaemorus* нами были выделены и охарактеризованы пять полифенольных вторичных метаболитов, относящихся к классам таннинов и флавоноидов.

**Цель.** Скрининг ранее выделенных из *R. chamaemorus* индивидуальных компонентов в отношении системы гемостаза *in vitro* и установление наиболее перспективных соединений для последующей фармацевтической разработки.

**Материалы и методы.** Эксперименты в условиях *in vitro* выполнены на крови здоровых доноров-мужчин. Исследование влияния на агрегацию тромбоцитов проводили по методу Born на агрегометре «АТ-02» (ООО «НПФ «Медтех», Россия). Определение антикоагуляционной активности проводили общепризнанными клоттинговыми тестами на турбидиметрическом гемокоагулометре Solar CGL 2110 (ЗАО «СОЛАР», Россия). Цитофлуориметрический анализ проводили на приборе NovoCyte (Agilent Technologies, США).

**Результаты и обсуждение.** Исследовано влияние выделенных соединений 1–5 на показатели активации, агрегации тромбоцитов и коагуляционный компонент гемостаза. В концентрации 1,0 мг/мл соединения 1–5 не влияли на показатель концентрации фибриногена и протромбиновое время. Соединения 1, 3 и 5 полностью подавляли активацию тромбоцитов в изученных концентрациях. Соединения 1 и 3 проявили антиагрегационную активность, не уступающую активности ацетилсалициловой кислоты, они содержатся во всех водных и спиртовых экстрактах листьев *R. chamaemorus*, их количественное содержание варьируется в зависимости от условий экстракции.

**Заключение.** В результате скрининга выделенных из листьев *R. chamaemorus* индивидуальных соединений 1–5 были установлены их антиагрегационные и антикоагуляционные свойства. Соединения 1 (4-*O*- $\alpha$ -L-арабинофуранозилэллаговая кислота) и 3 (кверцетин-3-*O*- $\beta$ -D-глюкуронид) проявили антиагрегационную активность, не уступающую активности ацетилсалициловой кислоты, и являются наиболее перспективными из изученного ряда соединений для последующей фармацевтической разработки новых антиагрегантов.

**Ключевые слова:** *Rubus chamaemorus*, морошка обыкновенная, полифенолы, система гомеостаза

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

**Вклад авторов.** А. К. Уэйли, А. О. Уэйли выполнили экспериментальную часть по выделению индивидуальных соединений. А. В. Самородов выполнял экспериментальную часть по изучению влияния выделенных соединений на систему гомеостаза. В. Г. Лужанин и Г. П. Яковлев – концептуальная проработка и руководство экспериментом. Все авторы участвовали в обсуждении результатов.

**Для цитирования:** Лужанин В. Г., Самородов А. В., Уэйли А. К., Уэйли А. О., Яковлев Г. П., Самылина И. А. Влияние выделенных из *Rubus chamaemorus* метаболитов на систему гемостаза в условиях *in vitro*. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2024;13(1):149–158. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2024-13-1-1566>

© Лужанин В. Г., Самородов А. В., Уэйли А. К., Уэйли А. О., Яковлев Г. П., Самылина И. А., 2024

© Luzhanin V. G., Samorodov A. V., Whaley A. K., Whaley A. O., Yakovlev G. P., Samylyina I. A., 2024

## The Effect of Individual Compounds from *Rubus chamaemorus* on Hemostasis *in vitro*

Vladimir G. Luzhanin<sup>1</sup>✉, Aleksandr V. Samorodov<sup>2</sup>, Andrei K. Whaley<sup>3</sup>, Anastasiia O. Whaley<sup>3,4</sup>, Gennadi P. Yakovlev<sup>3,4</sup>, Irina A. Samylina<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Perm State Pharmaceutical Academy" of the Ministry of Health of the Russian Federation (FSBEI HE PSPA MOH Russia), 2, Polevaya str., Perm, Perm region, 614990, Russia

<sup>2</sup> Bashkir State Medical University (BSMU), 3, Lenina str., Ufa, Republic of Bashkortostan, Volga Federal District, 450008, Russia

<sup>3</sup> Saint-Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University, 14A, Prof. Popova str., Saint-Petersburg, 197022, Russia

<sup>4</sup> Laboratory "Cellular mechanisms of blood homeostasis", Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of the Russian Academy of Sciences (IEPhB RAS), 44, Thorez Avenue, Saint-Petersburg, 194223, Russia

<sup>5</sup> I. M. Sechenov First MSMU of the Ministry of Health of the Russian Federation (Sechenov University), 2/4, Bolshaya Pirogovskaya str., Moscow, 119435, Russia

✉ Corresponding author: Vladimir G. Luzhanin. E-mail: vladimir.luzhanin@pharminnotech.com

ORCID: Vladimir G. Luzhanin – <https://orcid.org/0000-0002-6312-2027>; Aleksandr V. Samorodov – <https://orcid.org/0000-0001-9302-499X>;

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

Gennadi P. Yakovlev – <https://orcid.org/0009-0009-4570-2739>; Irina A. Samylina – <https://orcid.org/0000-0002-4895-0203>.

Received: 04.09.2023

Revised: 05.02.2024

Published: 09.02.2024

### Abstract

**Introduction.** One of the key tasks of the pharmaceutical industry is the search for new promising compounds – potential drug candidates. Natural objects, especially plants, have long been rich sources of new molecules and are widely used in the global food and pharmaceutical industries. Cloudberry (*Rubus chamaemorus* L.) is a perennial herb from the *Rosaceae* family. The fruits and leaves of *R. chamaemorus* contain a wide variety of polyphenolic secondary metabolites – hydrolysable/condensed tannins and flavonoids. Extracts enriched by polyphenols showed significant antiproliferative activity and inhibition of cell growth, and also induce cell apoptosis. As a result of our previous phytochemical research of *R. chamaemorus* leaves, five polyphenolic secondary metabolites belonging to the classes of tannins and flavonoids were isolated and characterized.

**Aim.** Screening of previously isolated from *R. chamaemorus* individual compounds for the hemostasis system *in vitro* and identification of the most promising compounds for subsequent pharmaceutical development.

**Materials and methods.** Experiments under *in vitro* conditions were performed on the blood of healthy male donors. The research of the effect on platelet aggregation was carried out according to the Born method on an AT-02 aggregometer (LLC "SPF "Medtech", Russia). Determination of anticoagulant activity was carried out by conventional clotting tests on a Solar CGL 2110 turbidimetric hemocoagulometer (CJSC "SOLAR", Russia). Cytofluorimetric analysis was performed on a NovoCyte instrument (Agilent Technologies, USA).

**Result and discussion.** The influence of the isolated compounds **1–5** on the parameters of activation, platelet aggregation and the coagulation component of hemostasis was studied. At a concentration of 1.0 mg/ml, compounds **1–5** did not affect the fibrinogen concentration and prothrombin time. Compounds **1, 3** and **5** completely suppressed platelet activation at the studied concentrations. Compounds **1** and **3** showed antiaggregation activity comparable to the values of acetylsalicylic acid and are contained in all aqueous and alcoholic extracts of *R. chamaemorus* leaves; their quantitative content varies depending on the extraction conditions.

**Conclusion.** Thus, as a result of the screening of individual compounds **1–5** isolated from the leaves of *R. chamaemorus* their antiaggregating and anticoagulation properties were established. Compounds **1** (4-O- $\alpha$ -L-arabinofuranosyllellagic acid) and **3** (quercetin-3-O- $\beta$ -D-glucuronide) showed antiaggregation activity comparable to that of acetylsalicylic acid, and are the most promising of the studied series of compounds for the subsequent pharmaceutical development of new antiplatelet agents.

**Keywords:** *Rubus chamaemorus*, cloudberry, polyphenols, homeostasis system

**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.** Andrei K. Whaley, Anastasiia O. Waley, performed the experimental part on the isolation of individual compounds. Aleksandr V. Samorodov studied the effect of isolated compounds on the homeostasis system; Vladimir G. Luzhanin and Genadi P. Yakovlev – concept and supervision of the experiments. All authors participated in the discussion of the results.

**For citation:** Luzhanin V.G., Samorodov A.V., Whaley A.K., Whaley A.O., Yakovlev G.P., Samylina I.A. The effect of individual compounds from *Rubus chamaemorus* on hemostasis *in vitro*. *Drug development & registration*. 2024;13(1):149–158. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2024-13-1-1566>

## ВВЕДЕНИЕ

Одной из ключевых задач современной фарма-  
ции является поиск новых перспективных соедине-  
ний – потенциальных лекарственных кандидатов.  
Природные объекты, в особенности растительные,  
издавна являются богатыми источниками новых  
молекул и находят широкое применение в миро-  
вой пищевой и фармацевтической промышленно-

сти [1]. Химический состав некоторых растений,  
имеющих полезные свойства согласно данным  
этнофармакологии, исследован незначительно или  
вовсе не изучен [2]. Таким образом, выделение,  
установление структуры и исследование природных  
соединений, которые проявляют высокую степень  
структурного разнообразия, является неотъемлемой  
частью современного поиска и разработки новых  
лекарственных препаратов [3].

Морошка обыкновенная (*Rubus chamaemorus* L.) представляет собой многолетнее травянистое растение из семейства розоцветных (*Rosaceae*). *R. chamaemorus* произрастает исключительно в северном полушарии и имеет циркумполярный ареал. Ареал *R. chamaemorus* расположен на двух континентах – в Северной Америке и Евразии. *R. chamaemorus* населяет в основном торфяные и верховые болота. Эти места обитания, как правило, с кислыми почвами, бедными питательными веществами. *R. chamaemorus* также произрастает в тундре, часто обильно растет на участках, покрытых сфагновым мхом. *R. chamaemorus* в первую очередь известна своими съедобными плодами, а также листьями, применяемыми в народной медицине [4].

В плодах и листьях *R. chamaemorus* содержится большое разнообразие полифенольных вторичных метаболитов – гидролизуемых/конденсированных таннинов и флавоноидов. Плоды *R. chamaemorus* содержат эллаготаннины, проантоцианидины, фенолкарбоновые кислоты, флавоноиды и антоцианы [5]. Одной из отличительных особенностей *R. chamaemorus* и ряда других представителей рода *Rubus* является содержание в растении одновременно конденсированных и гидролизуемых таннинов. Причем содержание гидролизуемых таннинов в *R. chamaemorus* на порядок выше, чем конденсированных [6]. В плодах *R. chamaemorus* были обнаружены следующие мономерные единицы конденсированных таннинов: (+)-эпикатехин и (-)-эпикатехин, а также процианидин B2, представляющий собой димер (-)-эпикатехина [7]. Количественное содержание гидролизуемых таннинов в плодах *R. chamaemorus* крайне велико и преимущественно представлено эллаготаннинами. Методом ВЭЖХ-МС в экстракте плодов было обнаружено большое разнообразие гидролизуемых таннинов, к которым относятся мономерные эллаготаннины (филлантузин G, педункулагин/касуариин, касуариктин/потентиллин, сангуйин Н-2), димерные эллаготаннины (сангуйин Н-6, сангуйин Н-10) и тримерные эллаготаннины (ламбертианин С) [8, 9].

В листьях и плодах *R. chamaemorus* преимущественно содержатся две группы флавоноидов – флавонолов и антоцианидинов, а также их гликозидов – флавонол-3-О-гликозидов и антоцианов соответственно [10, 11]. В экстрактах плодов *R. chamaemorus* были обнаружены четыре антоциана, среди которых один монозид (цианидин-3-О-гликозид), два биозида (цианидин-3-О-софорозид, цианидин-3-О-рутинозид) и один триозид (цианидин-3-О-(2''-О-глюкозил)рутинозид). Все обнаруженные в плодах *R. chamaemorus* антоцианы в качестве агликона содержали цианидин [6]. В плодах *R. chamaemorus* также были обнаружены три флавоноловых агликона – кверцетин, кемпферол и мирицетин. Среди гликозидов в данном сырье были обнаружены только про-

изводные кверцетина – кверцетин-3-О-глюкозид и кверцетин-3-О-глюкуронид [10].

В северных странах Европы, Азии и Америки плоды *R. chamaemorus* нашли широкое применение как противоцинготное, мочегонное, потогонное и противовоспалительное средство, листья используются как вяжущее, кровоостанавливающее, мочегонное, противовоспалительное и ранозаживляющее средство [12–14]. Следует также отметить, что в питании человека диеты, богатые ягодами, оказывают противоопухолевую активность в отношении нескольких типов рака, включая рак толстой кишки. Плоды *R. chamaemorus* используют в данных целях как источник эллаготаннинов с высоким уровнем эллаговой кислоты, обладающей сильной антиканцерогенной, антимуtagenной и антиоксидантной активностью [15, 16]. Экстракты, в которых доминируют полифенолы, показали значительную антипролиферативную активность и ингибирование клеточного роста, а также вызывают апоптоз клеток. Введение лиофилизированной *R. chamaemorus* в питание значительно уменьшало количество опухолей и размер кишечных аденом у мышей [15]. Следует отметить, что на сегодняшний день имеются убедительные представления об эпидемиологии, группах риска и основных звеньях патогенеза в реализации онкологической патологии. Принимая во внимание факт, что злокачественные новообразования с разной частотой статистически значимо способствуют развитию тромбоза [17], а обзор данных литературы о влиянии *R. chamaemorus* на систему гемостаза продемонстрировал отсутствие систематизированных исследований, то **целью данного исследования** являлся скрининг ранее выделенных из *R. chamaemorus* индивидуальных компонентов в отношении системы гемостаза *in vitro* и установление наиболее перспективных соединений для последующей фармацевтической разработки.

Ранее в результате фитохимических исследований листьев *R. chamaemorus* нами были выделены и охарактеризованы 5 полифенольных вторичных метаболитов, относящихся к таннинам – 4-О-α-L-арабинофуранозилэллаговая кислота (1), представляющая собой О-гликозид эллаговой кислоты, – и флавоноидам – (-)-эпикатехин (2), кверцетин-3-О-β-D-глюкуронид (3), кверцетин-3-О-β-D-2''-галлоилглюкуронид (4) и кемпферол-3-О-β-D-глюкуронид (5) [18].

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Индивидуальные вещества были выделены на базе кафедры фармакогнозии ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России из листьев *R. chamaemorus*, собранных в питомнике лекарственных растений ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России (поселок Стекланый, Ленинградская область) в июне 2017 года, вся экспериментальная работа по оценке влияния

выделенных индивидуальных соединений на систему гемостаза выполнена на кафедре фармакологии с курсом клинической фармакологии ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России в соответствии с рекомендациями «Руководства по доклиническому изучению новых фармакологических веществ» [19].

Перед экстракцией листья *R. chamaemorus* высушивались при 50 °С в инфракрасной сушилке, затем сырье измельчали на мельнице и просеивали через сито с диаметром отверстий 1 мм. При экстракции методом мацерации в емкость добавлялись измельченное сырье и экстрагент, которые настаивались при комнатной температуре в течение 24 часов с периодическим перемешиванием, после чего полученный экстракт фильтровался (соотношение сырья:экстрагент составляло 1:8). При экстракции с кипячением в круглодонную колбу с обратным холодильником добавлялись измельченное сырье и экстрагент, которые затем нагревались на кипящей водяной бане в течение 1 часа (соотношение сырья:экстрагент составляло 1:8), полученный экстракт после охлаждения фильтровался.

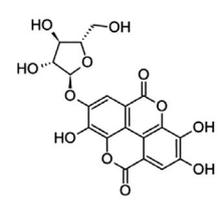
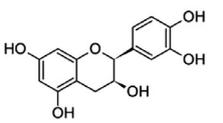
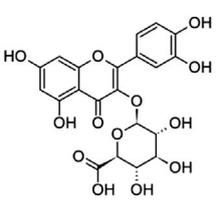
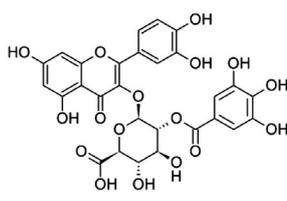
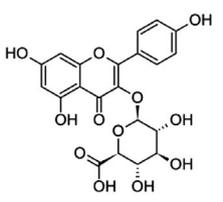
ВЭЖХ-УФ-хроматограммы регистрировали на жидкостном хроматографе Prominence LC-20AD (Shimadzu Corporation, Япония), оснащенном автосамплером Prominence SIL-20A (Shimadzu Corporation, Япония), термостатом колонок CTO-20AC, колонкой Supelcosil LC-18 25 см × 4,6 мм, 5 мкм (США), и диодно-матричным детектором Prominence SPD-M20A (Shimadzu Corporation, Япония). Система подвижной фазы состояла из элюента А – воды ультрачистой с добавлением 0,1%-й трифторуксусной кислоты (ТФУ) (v/v) (PanReas AppliChem, Германия) и элюента Б – ацетонитрила HPLC Far UV/Gradient Grade (J.T. Baker, США) с добавлением 0,1%-й ТФУ.

Профиль элюции: 0,01–5,0 минут 5 % Б (изократический режим), 5,0–45,75 минут 5–100 % Б (линейный градиент), 45,75–50,0 минут 100 % Б (изократический режим), 50,0–60,0 минут 100–5 % Б (линейный градиент), 60,0–65,0 минут 5 % Б (изократический режим, приведение колонки в равновесие). Ввод анализируемого образца осуществляли в объеме 10 мкл, температура колонки во время анализа составляла 40 °С, используемая скорость потока – 1 мл/мин. Запись УФ-спектра осуществляли в диапазоне от 190 нм до 800 нм, при аналитической длине волны 254 нм.

Эксперименты в условиях *in vitro* проводились на крови здоровых доноров-мужчин в возрасте 18–24 лет (34 человека). Исследования проводились в строгом соответствии с решением этического комитета ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России (№ 3 от 18.03.2021 г.). Информация об индивидуальных соединениях, используемых для исследования, приведена в таблице 1. Оценка влияния на систему гемостаза выделенных соединений и препаратов сравнения проводилась в стандартной концентрации 1,0 мг/мл.

Таблица 1. Индивидуальные соединения, выделенные из листьев *R. chamaemorus*

Table 1. Individual compounds isolated from leaves of *R. chamaemorus*

| № | Название соединений<br>Name of the compounds   | Структура<br>Structure  |
|---|--|---|
| 1 | 4-О-α-L-арабинофуранозилэллаговая кислота<br>4-O-α-L-arabinofuranosylellagic acid    |    |
| 2 | (-)-Эпикатехин<br>(-)-Epicatechin  |    |
| 3 | Кверцетин-3-О-β-D-глюкуронид<br>Quercetin-3-O-β-D-glucuronide                        |    |
| 4 | Кверцетин-3-О-β-D-2''-галлоилглюкуронид<br>Quercetin-3-O-β-D-2''-galloyl glucuronide |  |
| 5 | Кемпферол-3-О-β-D-глюкуронид<br>Kaempferol-3-O-β-D-glucuronide                       |  |

Исследования по функциональной активности тромбоцитов в присутствии исследуемых веществ проводились на агрегометре «АТ-02» (ООО «НПФ «Медтех», Россия) [20]. С помощью турбидиметрического гемокоагулометра Solar CGL 2110 (ЗАО «СОЛАР», Россия) проводилось изучение антикоагуляционной активности общепринятыми клоттинговыми тестами. В качестве маркера активации тромбоцитов измеряли экспрессию P-селектина (CD62) на поверхности тромбоцитов на приборе NovoCyte (Agilent Technologies, США), используя оригинальное программное обеспечение. В качестве позитивного контроля применялась ацетилсалициловая кислота (Shandong Xinhua Pharmaceutical Co., Ltd., Китай), пентоксифиллин (ОАО «Дальхимфарм», Россия) в концентрациях 10<sup>-3</sup> М/л и гепарин натрия (ОАО «Синтез», Россия) в концентрации 5 · 10<sup>-4</sup> г/мл.

Данные, полученные в результате исследований, анализировались с помощью программного обеспечения STATISTICA 10,0 (StatSoft Inc., США). Критерий Шапиро – Уилка использовался для оценки статистических данных на предмет нормального распределения. Было установлено, что полученные данные не соответствуют нормальному распределению, из-за чего методы непараметрической природы были применены для дальнейшей работы. Полученные значения представлены в виде срединного значения набора чисел, 25 и 75 перцентилей. Критерий Краскела – Уоллиса применялся для проведения дисперсионного анализа. Для статистических критериев критический уровень значимости  $p$  принимался равным 0,05.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Результаты исследования влияния выделенных соединений **1–5** на показатели активации, агрегации тромбоцитов и коагуляционный компонент гемостаза представлены в таблице 3. Установлено, что изученные вещества показали различной степени выраженности влияние на плазменный компонент системы гемостаза, проявляющееся изменением показателя внутреннего пути свертывания крови – активированного парциального тромбопластинового времени (АПТВ). В указанной концентрации вещества не влияли на показатель концентрации фибриногена и протромбиновое время.

Соединения **1**, **3** и **5** полностью подавляли активацию тромбоцитов и влияли на уровень экспрессии кластера дифференциации 62 (CD62). Следует отметить, что соединения **1** и **3**, в отличие от ацетилсалициловой кислоты, удлиняли значения lag-периода, который характеризует «реакцию высвобождения тромбоцитов», что может свидетельствовать о потенциально широком антиагрегационном эффекте исследуемых веществ (см. таблица 3).

Соединение **3** (кверцетин-3-О-β-D-глюкуронид) (меквилианин) проявило антиагрегационную активность на уровне ацетилсалициловой кислоты в условиях *in vitro*. Кверцетин-3-О-β-D-глюкуронид является преобладающим в сравнении с остальными выделенными нами вторичными метаболитами листьев *R. chamaemorus* и встречается в значительной по сравнению с другими обсуждаемыми компонентами концентрации во всех видах водных и спиртовых вытяжек из листьев *R. chamaemorus*, что подтверждается хроматограммами извлечений, полученных путем экстракции листьев *R. chamaemorus* методом мацерации при комнатной температуре 96%-м этанолом (рисунок 1) и водой (рисунок 2).

Хроматографический анализ экстрактов листьев *R. chamaemorus*, полученных при нагревании на водяной бане с обратным холодильником с 50%-м этанолом (рисунок 3), 96%-м этанолом (рисунок 4) и водой (рисунок 5), также подтвердил, что кверцетин-3-О-β-D-глюкуронид является преобладающим в сравнении с остальными выделенными нами вторичными метаболитами, содержащимися в листьях *R. chamaemorus*, за исключением экстракта, полученного при нагревании с 96%-м этанолом (рисунок 4), где площадь пика кверцетин-3-О-β-D-глюкуронида сопоставима с площадью пика эллаговой кислоты.

В отличие от кверцетина и большинства его гликозидов кверцетин-3-О-β-D-глюкуронид растворим в воде и является одним из основных метаболитов кверцетина в организме человека [21]. Настоящее исследование показало, что кверцетин-3-О-β-D-глюкуронид является одним из основных компонентов водных и спиртовых экстрактов листьев *R. chamaemorus* и, вероятно, вносит значительный вклад в фармакологическую активность суммарных экстрактов *R. chamaemorus*.

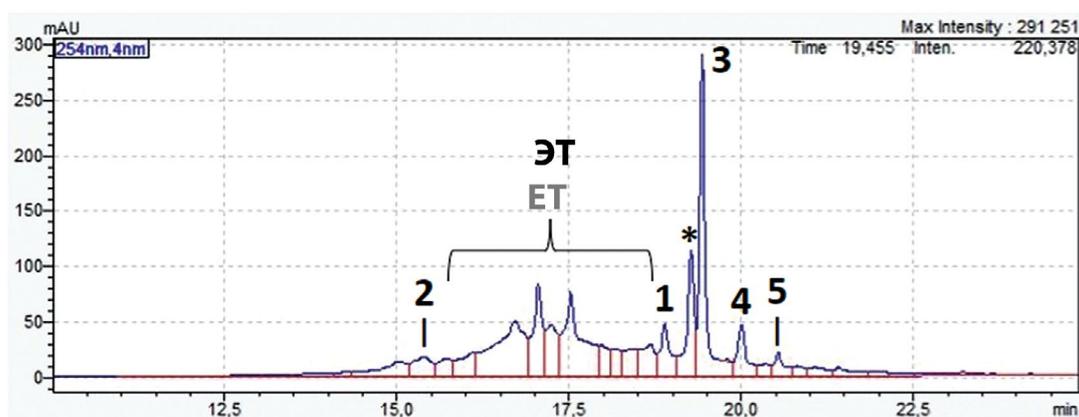
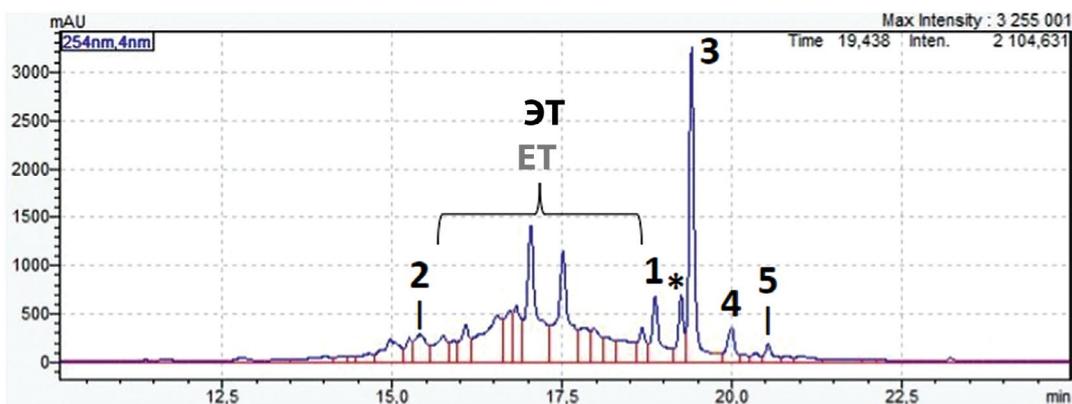


Рисунок 1. Зум ВЭЖХ-хроматограммы 96%-го спиртового экстракта листьев *R. chamaemorus*, полученного путем мацерации.

\* – пик эллаговой кислоты; ЭТ – пики эллаготаннинов

Figure 1. Zoomed HPLC chromatogram of a 96% ethanolic extract of *R. chamaemorus* leaves obtained through maceration.

\* – ellagic acid peak; ET – ellagitannin peaks

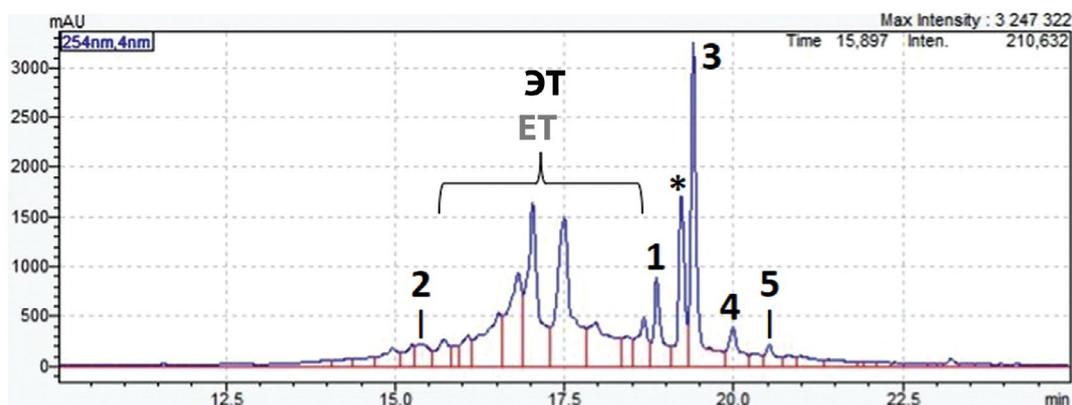


**Рисунок 2.** Зум ВЭЖХ-хроматограммы водного экстракта листьев *R. chamaemorus*, полученного путем мацерации.

\* – пик эллаговой кислоты; ЭТ – пики эллаготаннинов

**Figure 2.** Zoomed HPLC chromatogram of an aqueous extract of *R. chamaemorus* leaves obtained through maceration.

\* – ellagic acid peak; ET – ellagitannin peaks

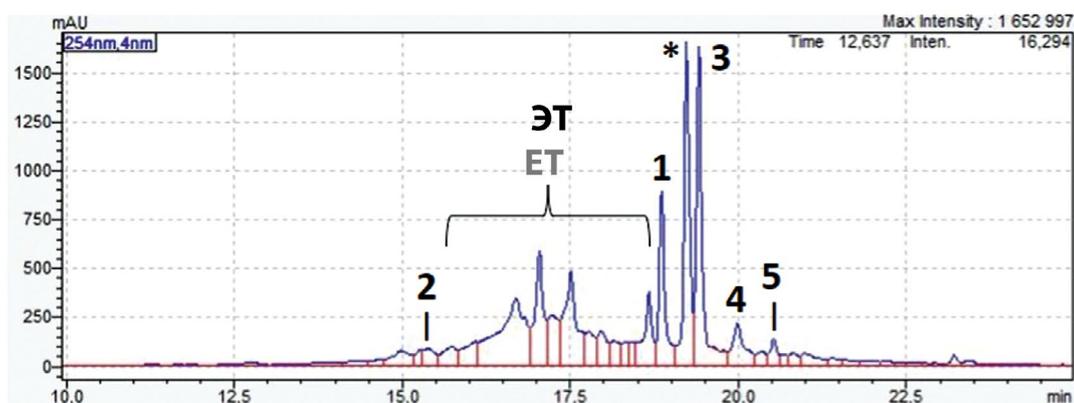


**Рисунок 3.** Зум ВЭЖХ-хроматограммы 50%-го спиртового экстракта листьев *R. chamaemorus*, полученного с помощью нагревания.

\* – пик эллаговой кислоты; ЭТ – пики эллаготаннинов

**Figure 3.** Zoomed HPLC chromatogram of a 50 % ethanolic extract of *R. chamaemorus* leaves obtained with the help of heating.

\* – ellagic acid peak; ET – ellagitannin peaks

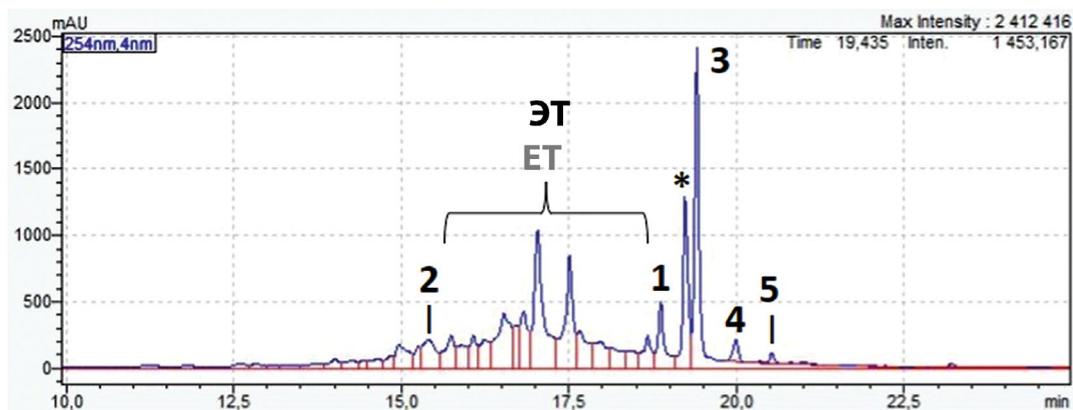


**Рисунок 4.** Зум ВЭЖХ-хроматограммы 96%-го спиртового экстракта листьев *R. chamaemorus*, полученного с помощью нагревания.

\* – пик эллаговой кислоты; ЭТ – пики эллаготаннинов

**Figure 4.** Zoomed HPLC chromatogram of a 96 % ethanolic extract of *R. chamaemorus* leaves obtained with the help of heating.

\* – ellagic acid peak; ET – ellagitannin peaks



**Рисунок 5.** Зум ВЭЖХ-хроматограммы водного экстракта листьев *R. chamaemorus*, полученного с помощью нагревания.

\* – пик эллаговой кислоты; ЭТ – пики эллаготаннинов

**Figure 5.** Zoomed HPLC chromatogram of an aqueous extract of *R. chamaemorus* leaves obtained with the help of heating.

\* – ellagic acid peak; ET – ellagitannin peaks

Соединение **1** (4-О-α-L-арабинофуранозилэллаговая кислота) проявило антиагрегационную активность, превосходящую соответствующие значения для ацетилсалициловой кислоты. Эллаговая кислота, которая содержится в экстрактах *R. chamaemorus* (рисунки 1–5), является одновременно биосинтетическим предшественником и продуктом гидролиза 4-О-α-L-арабинофуранозилэллаговой кислоты, соответственно, оба этих соединения в различных соотношениях присутствуют во всех экстрактах листьев *R. chamaemorus*. Благодаря наличию остатка арабинозы в своей структуре 4-О-α-L-арабинофуранозилэллаговая кислота обладает более полярными свойствами по сравнению с эллаговой кислотой, что свидетельствует о различных потенциальных уровнях биодоступности этих компонентов листьев *R. chamaemorus*. 4-О-α-L-арабинофуранозилэллаговая кислота была обнаружена во всех водных и спиртовых экстрактах листьев *R. chamaemorus* (рисунки 1–5) и по относительной доле содержания в экстракте занимает второе место после кверцетин-3-О-β-D-глюкуронида (таблица 2).

Стоит отметить, что соотношение вещества **1** к веществу **3** в экстрактах листьев *R. chamaemorus* варьирует в зависимости от условий экстракции (таблица 2). При применении воды в качестве экстрагента в условиях мацерации или кипячения относительное содержание кверцетин-3-О-β-D-глюкуронида будет выше, но при экстракции с помощью 95%-го спирта относительное содержание 4-О-α-L-арабинофуранозилэллаговой кислоты будет увеличиваться.

Соединение **5** (кемпферол-3-О-β-D-глюкуронид) является близким структурным аналогом кверцетин-3-О-β-D-глюкуронида и отличается от него отсутствием второго гидроксила в положении 3 кольца В, что во многом объясняет их схожие параметры активности. Из всех анализируемых соединений кемпферол-3-О-β-D-глюкуронид содержится в листьях *R. chamaemorus* в наименьшем количестве и одновременно является самым неполярным соединением из исследуемой группы, что видно из его расположения на хроматограммах.

**Таблица 2.** Относительное содержание соединений **1** и **3** в % по отношению к площади всей ВЭЖХ-хроматограммы

**Table 2.** Relative content in % relative to the area of the entire HPLC chromatogram of compounds **1** and **3**

| Соединение<br>Compound                   | Условия экстракции                   |   |                                  |   |   |
|--|--------------------------------------|---|----------------------------------|---|---|
|  | Вода, мацерация<br>Water, maceration | 96%-й спирт,<br>мацерация<br>96 % ethanol, maceration | Вода, кипячение<br>Water, reflux | 50%-й спирт,<br>кипячение<br>50 % ethanol, reflux | 96%-й спирт,<br>кипячение<br>96 % ethanol, reflux |
| <b>1</b>                                 | 4,0                                  | 3,5   | 3,4                              | 3,9   | 6,3   |
| <b>2</b>                                 | 2,5                                  | 2,5   | 2,9                              | 1,7   | 1,3   |
| <b>3</b>                                 | 13,5                                 | 13,9  | 17,0                             | 12,0  | 11,6  |
| <b>4</b>                                 | 2,0                                  | 3,4   | 0,9                              | 2,5   | 3,1   |
| <b>5</b>                                 | 1,1                                  | 1,6   | 0,4                              | 1,3   | 1,2   |
| *  | 2,8                                  | 6,5   | 7,3                              | 6,3   | 11,6  |
| Отношение 1/3 · 100%<br>Ratio 1/3 · 100% | 29,6                                 | 25,2  | 20,0                             | 32,5  | 54,3  |

Таблица 3. Показатели активации, агрегации тромбоцитов и коагулограммы в присутствии индивидуальных соединений 1–5. Me (0,25–0,75)  
Table 3. Indicators of activation, platelet aggregation and coagulogram in the presence of individuals compounds 1–5. Me (0.25–0.75)

| Соединение<br>Compound                               | Латентный период,<br>% к контролю<br>Latent period, %<br>of control | Максимальная<br>амплитуда (МА), %<br>Maximum amplitude, %<br>to control | Скорость агрегации,<br>% к контролю<br>Aggregation rate, %<br>to control | Время достижения<br>МА, % к контролю<br>Time to reach MA, %<br>of control | Удлинение АПТВ,<br>% к контролю<br>Elongation of АРТТ,<br>% to control | Экспрессия CD62, %<br>Expression of CD62, %                     |   |
|--|---|---|--|---|--|---|---|
|  |   |   |  |   |  | Аденозиндифосфат-<br>(АДФ-)<br>Adenosine<br>diphosphate- (ADP-) | Аденозиндифосфат+<br>(АДФ+)<br>Adenosine<br>diphosphate+ (ADP+) |
| 1  | +14,9 (14,1–17,8)*, ##  | -19,1 (16,8–20,7)**, #  | -13,9 (12,8–17,1)*, #  | -23,0 (21,6–27,9)**, ##   | 7,6 (6,5–9,3)*   | 1,1 (0,8–1,3)*  | 1,1 (0,9–1,2)**, #  |
| 2  | +14,8 (13,2–16,5)*, ##  | -0,5 (0,2–0,9)##  | +17,2 (15,6–19,4)*, ##   | -21,1 (18,7–22,3)**, ##   | 9,4 (7,2–11,7)*  | 1,4 (1,2–1,5)*  | 11,3 (10,7–13,5)*, ##   |
| 3  | +23,1 (22,2–24,5)**, ##   | -12,5 (11,9–14,1)**   | -19,1 (18,3–20,6)*, #  | -20,7 (18,5–21,9)**, ##   | 9,3 (8,2–10,7)*  | 1,3 (1,2–1,4)*  | 1,2 (1,1–1,4)**, #  |
| 4  | -17,9 (14,8–19,4)*, ##  | -9,1 (7,6–10,7)*, #   | +4,4 (3,8–5,0)#  | -10,7 (6,8–13,7)*, ##   | 6,4 (5,5–8,9)*   | 1,4 (1,1–1,5)*  | 15,3 (13,7–17,2)*, ##   |
| 5  | -17,1 (15,6–18,7)*, #   | -6,7 (4,7–9,1)*, #  | -7,9 (6,7–8,5)*  | -9,1 (6,7–11,4)*, ##  | 10,6 (9,2–12,5)*   | 1,1 (1,0–1,3)*  | 1,5 (1,2–1,6)**, #  |
| Ацетилсалициловая<br>кислота<br>Acetylsalicylic acid | -2,1 (1,1–2,6)  | -13,7 (10,8–16,4)*  | -10,5 (7,6–12,3)*  | +10,5 (8,7–13,4)*, ††   | н.д.   | 1,3 (1,1–1,4)*  | 16,4 (14,5–17,3)*, ##   |
| Гепарин натрия<br>Heparin sodium                     | н.д.  | н.д.  | н.д.   | н.д.  | 20,3 (19,7–21,4)*  | н.д.  | н.д.  |
| Пентоксифиллин<br>Pentoxifylline                     | н.д.  | н.д.  | н.д.   | н.д.  | н.д.   | 1,2 (1,1–1,4)*  | 3,5 (2,7–4,1)*, ##  |

Примечание. \*  $p \leq 0,05$ .

\*\*  $p \leq 0,001$  – в сравнении с контролем.

#  $p \leq 0,05$ .

##  $p \leq 0,001$  – в сравнении с ацетилсалициловой кислотой; соединения vs гепарин натрия при  $p \leq 0,05$ .

Уровень статистической значимости различий признаков групп после активации АДФ:

† –  $p > 0,05$ ; †† –  $p \leq 0,05$ ; CD62AДФ– – экспрессия CD62 до воздействия АДФ; CD62AДФ+ – экспрессия CD62 после воздействия АДФ.  $n = 6$ .

Note. \*  $p \leq 0,05$ .

\*\*  $p \leq 0,001$  – compared with control.

#  $p \leq 0,05$ .

##  $p \leq 0,001$  – in comparison with acetylsalicylic acid; compounds vs sodium heparin at  $p \leq 0,05$ .

Level of statistical significance of differences in group characteristics after ADP activation:

† –  $p > 0,05$ ; †† –  $p \leq 0,05$ ; CD62ADP– – expression of CD62 before exposure to ADP; CD62ADP+ – expression of CD62 after exposure to ADP.  $n = 6$ .

Соединение **2** ((-)-эпикатехин) не влияло на уровень экспрессии CD62. (-)-эпикатехин в сравнении с остальными изученными соединениями занимает четвертое место по своему относительному количественному содержанию в экстрактах листьев *R. chamaemorus*. Относительное количество данного вещества увеличивалось, когда в качестве растворителя применялась вода, поскольку (-)-эпикатехин является самым полярным соединением из представленных на ВЭЖХ-хроматограммах (рисунки 1–5).

Соединение **4** (кверцетин-3-О-β-D-2''-галлоилглюкуроид) также не влияло на уровень экспрессии CD62. Кверцетин-3-О-β-D-2''-галлоилглюкуроид занимает третье место по своему относительному количественному содержанию среди изученных соединений в экстрактах листьев *R. chamaemorus*. Кверцетин-3-О-β-D-2''-галлоилглюкуроид является галлоил-производным кверцетин-3-О-β-D-глюкуроида и благодаря наличию остатка галловой кислоты в своей структуре отличается своим влиянием на компоненты системы гемостаза. В процессе метаболизма в организме человека соединение **4** может трансформироваться в соединение **3** в результате гидролиза остатка галловой кислоты.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате скрининга выделенных из листьев *R. chamaemorus* индивидуальных соединений **1–5** были установлены их антиагрегационные и антикоагуляционные свойства. Соединения **1** (4-О-α-L-арабинофуранозилэллаговая кислота) и **3** (кверцетин-3-О-β-D-глюкуроид) проявили антиагрегационную активность, не уступающую активности ацетилсалициловой кислоты, и являются наиболее перспективными из изученного ряда соединений для последующей фармацевтической разработки новых антиагрегантов. Соединения **1, 3 и 5** полностью подавляли активацию тромбоцитов в изученных концентрациях и влияли на уровень экспрессии CD62, в то время как соединения **2** ((-)-эпикатехин) и **4** (кверцетин-3-О-β-D-2''-галлоилглюкуроид), а также ацетилсалициловая кислота не влияли на уровень экспрессии CD62. Соединения **1–5** содержатся во всех водных и спиртовых экстрактах листьев *R. chamaemorus*, их количественное содержание варьируется в зависимости от условий экстракции, но убывает в ряду **3, 1, 4, 2, 5** от большего к меньшему.

## ЛИТЕРАТУРА

- Bernardini S., Tiezzi A., Laghezza Masci V., Ovidi E. Natural products for human health: an historical overview of the drug discovery approaches. *Natural Product Research*. 2018;32(16):1926–1950. DOI: 10.1080/14786419.2017.1356838.
- Balandrin M. F., Klocke J. A., Wurtele E. S., Bollinger W. H. Natural plant chemicals: Sources of industrial and medicinal materials. *Science*. 1985;228(4704):1154–1160. DOI: 10.1126/science.3890182.
- Lahlou M. Screening of natural products for drug discovery. *Expert Opinion on Drug Discovery*. 2007;2(5):697–705. DOI: 10.1517/17460441.2.5.697.
- Уэйли А.К., Понкратова А.О., Теслов Л.С., Лужанин В.Г. Обзор вторичных метаболитов морошки и их биологической активности. *Медико-фармацевтический журнал «Пульс»*. 2020;22(7):50–59.
- Kähkönen M., Kylli P., Ollilainen V., Salminen J.-P., Heinonen M. Antioxidant activity of isolated ellagitannins from red raspberries and cloudberries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2012;60(5):1167–1174. DOI: 10.1021/jf203431g.
- Jaakkola M., Korpelainen V., Hoppula K., Virtanen V. Chemical composition of ripe fruits of *Rubus chamaemorus* L. grown in different habitats. *Journal of the science of food and agriculture*. 2012;92(6):1324–1330. DOI: 10.1002/jsfa.4705.
- Faleva A. V., Ul'yanovskii N. V., Onuchina A. A., Falev D. I., Kosyakov D. S. Comprehensive characterization of secondary metabolites in fruits and leaves of cloudberry (*Rubus chamaemorus* L.). *Metabolites*. 2023;13(5):598. DOI: 10.3390/metabo13050598.
- Puupponen-Pimiä R., Nohynek L., Suvanto J., Salminen J.-P., Seppänen-Laakso T., Tähtiharju J., Honkapää K., Oksman-Caldentey K.-M. Natural antimicrobials from cloudberry (*Rubus chamaemorus*) seeds by sanding and hydrothermal extraction. *ACS Food Science & Technology*. 2021;1(5):917–927. DOI: 10.1021/acfoodscitech.0c00109.
- Määttä-Riihinen K. R., Kamal-Eldin A., Törrönen A. R. Identification and quantification of phenolic compounds in berries of *Fragaria* and *Rubus* species (Family Rosaceae). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2004;52(20):6178–6187. DOI: 10.1021/jf049450r.
- Thiem B. *Rubus chamaemorus* L. – a boreal plant rich in biologically active metabolites: A review. *Biological Letters*. 2003;40(1):3–13.
- Mcdougall G. J., Martinussen I., Junttila O., Verrall S., Stewart D. Assessing the influence of genotype and temperature on polyphenol composition in cloudberry (*Rubus chamaemorus* L.) using a novel mass spectrometric method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2011;59(20):10860–10868. DOI: 10.1021/jf202083b.
- Rocabado G. O., Bedoya L. M., Abad M. J., Bermejo P. *Rubus* – A review of its phytochemical and pharmacological profile. *Natural Product Communications*. 2008;3(3):423–436. DOI: 10.1177/1934578x0800300319.
- Махлаюк В. П. Лекарственные растения в народной медицине. Саратов: Приволжское книжное издательство; 1991. 544 с.
- De Luca Luigi M., Norum Kaare R. Scurvy and Cloudberries: A chapter in the history of nutritional sciences. *The journal of Nutrition*. 2011;141(12):2101–2105.
- Afrin S., Giampieri F., Gasparini M., Forbes-Hernandez T., Varela-Lopez A., Quiles J., Mezzetti B., Battino M. Chemopreventive and therapeutic effects of edible berries: A focus on colon cancer prevention and treatment. *Molecules*. 2016;21(2):169. DOI: 10.3390/molecules21020169.
- McDougall G. J., Ross H. A., Ikeji M., Stewart D. Berry extracts exert different antiproliferative effects against cervical and colon cancer cells grown *in vitro*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2008;56(9):3016–3023. DOI: 10.1021/jf073469n.
- Barbui T., De Stefano V., Falanga A., Finazzi G., Martinelli I., Rodeghiero F., Vannucchi A. M., Barosi G. Addressing and proposing solutions for unmet clinical needs in the management of myeloproliferative neoplasm-associated thrombosis: A consensus-based position paper. *Blood Cancer Journal*. 2019;9(8):61. DOI: 10.1038/s41408-019-0225-5.
- Whaley A. K., Ponkratova A. O., Orlova A. A., Serebryakov E. B., Smirnov S. N., Proksh P., Ionov N. S., Poroikov V. V., Luzhanin V. G. Phytochemical analysis of polyphenol secondary metabolites in cloudberry (*Rubus chamaemorus* L.) Leaves. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2021;55:253–258.

19. Миронов А. Н., Бунатян Н. Д. и др. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть 1. М.: Гриф и К; 2012. 944 с.
20. Born G. G. V. Aggregation of blood platelets by adenosine diphosphate and its reversal. *Nature*. 1962;194:927–929. DOI: 10.1038/194927b0.
21. Hai Y., Zhang Y., Liang Y., Ma X., Qi X., Xiao J., Xue W., Luo Y., Yue T. Advance on the absorption, metabolism, and efficacy exertion of quercetin and its important derivatives. *Food Frontiers*. 2020;1:420–434. DOI: 10.1002/fft2.50.

## REFERENCES

1. Bernardini S., Tiezzi A., Laghezza Masci V., Ovidi E. Natural products for human health: an historical overview of the drug discovery approaches. *Natural Product Research*. 2018;32(16):1926–1950. DOI: 10.1080/14786419.2017.1356838.
2. Balandrin M. F., Klocke J. A., Wurtele E. S., Bollinger W. H. Natural plant chemicals: Sources of industrial and medicinal materials. *Science*. 1985;228(4704):1154–1160. DOI: 10.1126/science.3890182.
3. Lahlou M. Screening of natural products for drug discovery. *Expert Opinion on Drug Discovery*. 2007;2(5):697–705. DOI: 10.1517/17460441.2.5.697.
4. Whaley A. K., Ponkratova A. O., Teslov L. S., Luzhanin V. G. Review of cloudberry secondary metabolites and their biological activity. *Medical & pharmaceutical journal «Pulse»*. 2020;22(7):50–59. (In Russ.)
5. Kähkönen M., Kylli P., Ollilainen V., Salminen J.-P., Heinonen M. Antioxidant activity of isolated ellagitannins from red raspberries and cloudberries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2012;60(5):1167–1174. DOI: 10.1021/jf203431g.
6. Jaakkola M., Korpelainen V., Hoppula K., Virtanen V. Chemical composition of ripe fruits of *Rubus chamaemorus* L. grown in different habitats. *Journal of the science of food and agriculture*. 2012;92(6):1324–1330. DOI: 10.1002/jsfa.4705.
7. Faleva A. V., Ul'yanovskii N. V., Onuchina A. A., Falev D. I., Kosyakov D. S. Comprehensive characterization of secondary metabolites in fruits and leaves of cloudberry (*Rubus chamaemorus* L.). *Metabolites*. 2023;13(5):598. DOI: 10.3390/metabo13050598.
8. Puupponen-Pimiä R., Nohynek L., Suvanto J., Salminen J.-P., Seppänen-Laakso T., Tähtiharju J., Honkapää K., Oksman-Caldentey K.-M. Natural antimicrobials from cloudberry (*Rubus chamaemorus*) seeds by sanding and hydrothermal extraction. *ACS Food Science & Technology*. 2021;1(5):917–927. DOI: 10.1021/acsfoodscitech.0c00109.
9. Määtä-Riihinen K. R., Kamal-Eldin A., Törrönen A. R. Identification and quantification of phenolic compounds in berries of *Fragaria* and *Rubus* species (Family Rosaceae). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2004;52(20):6178–6187. DOI: 10.1021/jf049450r.
10. Thiem B. *Rubus chamaemorus* L. – a boreal plant rich in biologically active metabolites: A review. *Biological Letters*. 2003;40(1):3–13.
11. McDougall G. J., Martinussen I., Junttila O., Verrall S., Stewart D. Assessing the influence of genotype and temperature on polyphenol composition in cloudberry (*Rubus chamaemorus* L.) using a novel mass spectrometric method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2011;59(20):10860–10868. DOI: 10.1021/jf202083b.
12. Rocabado G. O., Bedoya L. M., Abad M. J., Bermejo P. *Rubus* – A review of its phytochemical and pharmacological profile. *Natural Product Communications*. 2008;3(3):423–436. DOI: 10.1177/1934578x0800300319.
13. Mahlayuk V. P. Medicinal plants in folk medicine. Saratov: Privolzhskoe book publishing house; 1991. 544 p. (In Russ.)
14. De Luca Luigi M., Norum Kaare R. Scurvy and Cloudberries: A chapter in the history of nutritional sciences. *The journal of Nutrition*. 2011;141(12):2101–2105.
15. Afrin S., Giampieri F., Gasparrini M., Forbes-Hernandez T., Varela-Lopez A., Quiles J., Mezzetti B., Battino M. Chemopreventive and therapeutic effects of edible berries: A focus on colon cancer prevention and treatment. *Molecules*. 2016;21(2):169. DOI: 10.3390/molecules21020169.
16. McDougall G. J., Ross H. A., Ikeji M., Stewart D. Berry extracts exert different antiproliferative effects against cervical and colon cancer cells grown *in vitro*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2008;56(9):3016–3023. DOI: 10.1021/jf073469n.
17. Barbui T., De Stefano V., Falanga A., Finazzi G., Martinelli I., Rodeghiero F., Vannucchi A. M., Barosi G. Addressing and proposing solutions for unmet clinical needs in the management of myeloproliferative neoplasm-associated thrombosis: A consensus-based position paper. *Blood Cancer Journal*. 2019;9(8):61. DOI: 10.1038/s41408-019-0225-5.
18. Whaley A. K., Ponkratova A. O., Orlova A. A., Serebryakov E. B., Smirnov S. N., Proksh P., Ionov N. S., Poroikov V. V., Luzhanin V. G. Phytochemical analysis of polyphenol secondary metabolites in cloudberry (*Rubus chamaemorus* L.) Leaves. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2021;55:253–258.
19. Миронов А. Н., Бунатян Н. Д. и др. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть 1. М.: Гриф и К; 2012. 944 с.
20. Born G. G. V. Aggregation of blood platelets by adenosine diphosphate and its reversal. *Nature*. 1962;194:927–929. DOI: 10.1038/194927b0.
21. Hai Y., Zhang Y., Liang Y., Ma X., Qi X., Xiao J., Xue W., Luo Y., Yue T. Advance on the absorption, metabolism, and efficacy exertion of quercetin and its important derivatives. *Food Frontiers*. 2020;1:420–434. DOI: 10.1002/fft2.50.