



Компонентный состав суммарных фракций флавоноидов некоторых видов семейства вересковых и их влияние на NO-стимулирующую активность перитонеальных макрофагов

Я. Е. Решетов¹✉, А. А. Лигачева², Е. С. Трофимова^{1,2}, Н. С. Селиванова^{1,2},
С. В. Кривошеков¹, Е. В. Басова¹, Е. Ю. Шерстобоев², Е. Ю. Авдеева¹,
И. П. Каминский, М. Г. Данилец², М. В. Белоусов¹

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России). 634050, Россия, г. Томск, Московский тракт, д. 2

² Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» (Томский НИМЦ). 634009, Россия, г. Томск, пер. Кооперативный, д. 5

✉ Контактное лицо: Решетов Ярослав Евгеньевич. E-mail: ferroplex2013@yandex.ru

ORCID: Я. Е. Решетов – <https://orcid.org/0000-0002-9624-8013>;
А. А. Лигачева – <https://orcid.org/0000-0002-3337-1516>;
Е. С. Трофимова – <https://orcid.org/0000-0002-5367-715X>;
Н. С. Селиванова – <https://orcid.org/0009-0006-6218-3051>;
С. В. Кривошеков – <https://orcid.org/0000-0001-5505-7141>;
Е. В. Басова – <https://orcid.org/0000-0001-7352-0259>;
Е. Ю. Шерстобоев – <https://orcid.org/0000-0002-6178-5329>;
Е. Ю. Авдеева – <https://orcid.org/0000-0001-7061-9843>;
И. П. Каминский – <https://orcid.org/0000-0003-4597-1743>;
М. Г. Данилец – <https://orcid.org/0000-0001-7862-4778>;
М. В. Белоусов – <https://orcid.org/0000-0002-2153-7945>.

Статья поступила: 03.05.2024

Статья принята в печать: 30.07.2024

Статья опубликована: 01.08.2024

Резюме

Введение. Представители семейства вересковых довольно распространены на территории России и перспективны для создания новых лекарственных средств растительного происхождения. В то же время официальными из них являются только 4 вида. Перспективно исследование биологически активных веществ и фармакологической активности *Andromeda polifolia* L., *Chamaedaphne calyculata* (L.) Moench, *Ledum palustre* L., *Empetrum nigrum* L., обладающих богатыми ресурсными запасами.

Цель. Сравнительное исследование компонентного состава суммарных фракций флавоноидов *A. polifolia*, *C. calyculata*, *L. palustre*, *E. nigrum* и изучение их влияния на NO-стимулирующую активность перитонеальных макрофагов.

Материалы и методы. Измельченную надземную часть (облиственные побеги) предварительно депигментировали хлороформом, обрабатывали 70%-м водным ацетоном, ацетон удаляли. Флавоноиды экстрагировали этилацетатом из водной фазы. Идентификацию флавоноидов проводили методом ВЭЖХ (хроматограф UltiMate 3000) по совпадению времен удерживания и спектральных характеристик, расчет содержания – методом простой нормировки. Влияние образцов на продукцию оксида азота изучали на макрофагах мышей линии C57BL/6. Контроль эндотоксина в образцах осуществляли с помощью ЛАЛ-теста и инкубирования клеток в присутствии полимиксина В.

Результаты и обсуждение. Исследован компонентный состав фракций флавоноидов *A. polifolia*, *C. calyculata*, *L. palustre*, *E. nigrum*. В побегах *C. calyculata* обнаружены 8 фенольных соединений, в том числе изокверцитрин, гербацетин, нарингенин и нарингин – впервые для данного вида. В побегах *A. polifolia* выявлено 5 соединений, в том числе изокверцитрин и гербацетин – впервые для данного вида. В побегах *L. palustre* и *E. nigrum* идентифицированы 5 и 4 соединения соответственно, при этом во всех образцах преобладающими являются гликозиды кверцетина: изокверцитрин, гиперозид и рутин. Суммарная фракция флавоноидов *C. calyculata* в дозах 1, 5, 10 мкг/мл ингибирует продукцию оксида азота макрофагами на 30 %, а флавоноиды *E. nigrum* в дозах 100 и 200 мкг/мл, напротив, усиливают продукцию нитритов макрофагами на 33 и 37 % соответственно.

© Решетов Я. Е., Лигачева А. А., Трофимова Е. С., Селиванова Н. С., Кривошеков С. В., Басова Е. В., Шерстобоев Е. Ю., Авдеева Е. Ю., Каминский И. П., Данилец М. Г., Белоусов М. В., 2024

© Reshetov Ya. E., Ligacheva A. A., Trofimova E. S., Selivanova N. S., Krivoshchekov S. V., Basova E. V., Sherstoboev E. Yu., Avdeeva E. Yu., Kaminsky I. P., Danilets M. G., Belousov M. V., 2024

Закключение. Проведено сравнительное исследование компонентного состава суммарных фракций флавоноидов *A. polifolia*, *C. calyculata*, *L. palustre*, *E. nigrum*, которые способны активировать как M1-, так и M2-поляризацию перитонеальных макрофагов мышей, что требует дальнейшего углубленного изучения. Перспективными для дальнейшего изучения являются флавоноиды *C. calyculata* и *E. nigrum*.

Ключевые слова: *Andromeda polifolia* L., *Chamaedaphne calyculata* (L.) Moench, *Ledum palustre* L., *Empetrum nigrum* L., флавоноиды, макрофаги, оксид азота

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

Вклад авторов. Я. Е. Решетов, Е. Ю. Шерстобоев, М. Г. Данилец, М. В. Белоусов планировали и разрабатывали эксперименты. Я. Е. Решетов, Е. Ю. Авдеева, Е. В. Басова выделяли суммарные фракции флавоноидов. С. В. Кривошеков, Я. Е. Решетов, И. П. Каминский проводили исследование методом ВЭЖХ. А. А. Лигачева, Е. С. Трофимова, Н. С. Селиванова осуществляли биологические эксперименты. Все авторы участвовали в написании текста статьи.

Финансирование. Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-75-01035.

Соответствие принципам этики. Эксперименты с использованием лабораторных животных выполнялись с соблюдением принципов гуманности, изложенных в директивах Европейского сообщества (86/609/ЕЕС) и Хельсинкской декларации, и были одобрены биоэтическим комитетом НИИФирМ им. Е. Д. Гольдберга, протокол № 227012024 от 01.02.2024 г.

Для цитирования: Решетов Я. Е., Лигачева А. А., Трофимова Е. С., Селиванова Н. С., Кривошеков С. В., Басова Е. В., Шерстобоев Е. Ю., Авдеева Е. Ю., Каминский И. П., Данилец М. Г., Белоусов М. В. Компонентный состав суммарных фракций флавоноидов некоторых видов семейства вересковых и их влияние на NO-стимулирующую активность перитонеальных макрофагов. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2024;13(3):39–51. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2024-13-3-1813>

The component composition of the total flavonoid fractions from some *Ericaceae* family and their effect on the NO-stimulating activity of peritoneal macrophages

Yaroslav E. Reshetov¹✉, Anastasia A. Ligacheva², Evgenia S. Trofimova^{1,2}, Natalia S. Selivanova^{1,2}, Sergey V. Krivoshchekov¹, Elena V. Basova¹, Evgeniy Yu. Sherstoboev², Elena Yu. Avdeeva¹, Ilya P. Kaminsky, Marina G. Danilets², Mikhail V. Belousov¹

¹ Siberian State Medical University, SSMU. 2, Moskovskij trakt, Tomsk, 634050, Russia

² Federal State Budgetary Scientific Institution "Tomsk National Research Center for Medicine by the Russian Academy of Sciences". 5, Cooperative lane, Tomsk, 634009, Russia

✉ **Corresponding author:** Yaroslav E. Reshetov. **E-mail:** ferroplex2013@yandex.ru

ORCID: Yaroslav E. Reshetov – <https://orcid.org/0000-0002-9624-8013>;
Anastasia A. Ligacheva – <https://orcid.org/0000-0002-3337-1516>;
Evgenia S. Trofimova – <https://orcid.org/0000-0002-5367-715X>;
Natalia S. Selivanova – <https://orcid.org/0009-0006-6218-3051>;
Sergey V. Krivoshchekov – <https://orcid.org/0000-0001-5505-7141>;
Elena V. Basova – <https://orcid.org/0000-0001-7352-0259>;
Evgeniy Yu. Sherstoboev – <https://orcid.org/0000-0002-6178-5329>;
Elena Yu. Avdeeva – <https://orcid.org/0000-0001-7061-9843>;
Ilya P. Kaminsky – <https://orcid.org/0000-0003-4597-1743>;
Marina G. Danilets – <https://orcid.org/0000-0001-7862-4778>;
Mikhail V. Belousov – <https://orcid.org/0000-0002-2153-7945>.

Received: 03.05.2024

Accepted: 30.07.2024

Published: 01.08.2024

Abstract

Introduction. Representatives of the *Ericaceae* family are quite common in Russia and are promising for the creation of new medicines of plant origin. At the same time, only 4 of them are official. The study of biologically active substances and pharmacological activity of *Andromeda polifolia* L., *Chamaedaphne calyculata* (L.) Moench, *Ledum palustre* L., *Empetrum nigrum* L. with rich resource reserves is promising.

Aim. Comparative study of the composition of total flavonoid fractions from *A. polifolia*, *C. calyculata*, *L. palustre*, *E. nigrum* and study of their effect on the NO-stimulating activity of peritoneal macrophages

Materials and methods. The crushed aboveground part (leafy shoots) was previously depigmented with chloroform, treated with 70% aqueous acetone, then acetone was removed. Flavonoids were extracted with ethyl acetate from the aqueous phase. The identification of flavonoids was carried out by HPLC (UltiMate 3000 chromatograph) according to the coincidence

of retention times and spectral characteristics, the calculation of the content was carried out by simple normalization. The effect of the samples on nitric oxide production was studied on macrophages of C57BL/6 mice. Endotoxin control in the samples was carried out using a LAL test and cell incubation in the presence of polymyxin B.

Results and discussion. The composition of flavonoid fractions from *A. polifolia*, *C. calyculata*, *L. palustre* and *E. nigrum* has been studied. 8 phenolic compounds were found in *C. calyculata* shoots, including isoquercitrin, herbacetin, naringenin and naringin – for the first time for this species. 5 compounds were detected in *A. polifolia* shoots, including isoquercitrin and herbacetin, for the first time for this species. 5 and 4 compounds were identified in *L. palustre* and *E. nigrum* shoots, respectively, while quercetin glycosides are predominant in all samples: isoquercitrin, hyperoside and rutin. The fraction of *C. calyculata* flavonoids at doses of 1, 5, 10 mcg/ml inhibits the production of nitric oxide by macrophages by 30 %, and *E. nigrum* flavonoids at doses of 100 and 200 mcg/ml, on the contrary, enhance the production of nitrites by macrophages by 33 and 37 %, respectively.

Conclusion. A comparative study of the composition of total flavonoid fractions from *A. polifolia*, *C. calyculata*, *L. palustre*, and *E. nigrum*, which are capable of activating both M1 and M2 polarization of peritoneal macrophages in mice, has been conducted, which requires further in-depth study. The flavonoids *C. calyculata* and *E. nigrum* are promising for further study.

Keywords: *Andromeda polifolia* L., *Chamaedaphne calyculata* (L.) Moench, *Ledum palustre* L., *Empetrum nigrum* L., flavonoids, macrophages, nitric oxide

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. Yaroslav E. Reshetov, Evgeniy Yu. Sherstoboev, Marina G. Danilets, Mikhail V. Belousov planned and developed experiments. Yaroslav E. Reshetov, Elena Yu. Avdeeva, Elena V. Basova isolated the total fractions of flavonoids. Sergey V. Krivoshchekov, Yaroslav E. Reshetov, Ilya P. Kaminsky conducted a study by HPLC. Anastasia A. Ligacheva, Evgenia S. Trofimova, Natalia S. Selivanova carried out biological experiments. All the authors participated in writing the text of the article.

Funding. The study was supported by the Russian Science Foundation grant No. 23-75-01035.

Compliance with the principles of ethics. Experiments using laboratory animals were carried out in compliance with the principles of humaneness set out in the European Community Directives (86/609/EEC) and the Declaration of Helsinki, and were approved by the bioethical committee of the NII FIRM named after E. D. Goldberg, protocol No. 227012024 dated 01.02.2024.

For citation: Reshetov Ya. E., Ligacheva A. A., Trofimova E. S., Selivanova N. S., Krivoshchekov S. V., Basova E. V., Sherstoboev E. Yu., Avdeeva E. Yu., Kaminsky I. P., Danilets M. G., Belousov M. V. The component composition of the total flavonoid fractions from some *Ericaceae* family and their effect on the NO-stimulating activity of peritoneal macrophages. *Drug development & registration*. 2024;13(3):39–51. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2024-13-3-1813>

ВВЕДЕНИЕ

Растения семейства вересковых (*Ericaceae*) имеют обширный ареал распространения [1], при этом некоторые регионы Сибири могут служить местами массовой заготовки некоторых видов [2]. Несмотря на достаточно хорошую изученность химического состава и широкое применение в народной медицине, многие виды вересковых не относятся к официальным. Так, в Государственную фармакопею РФ XV издания входят лишь 4 вида: *Vaccinium myrtillus* L., *Vaccinium vitis-idaea* L., *Arctostaphylos uva-ursi* L. Spreng. и *Ledum palustre* L. [3]. Известно, что многие неофициальные виды вересковых имеют богатый химический состав, представленный различными классами соединений, в частности терпенами (сескви-, три-,

ди-, монотерпенами), фенольными соединениями (дубильные вещества смешанной группы, фенологликозиды, флавоноиды, кумарины, гидроксикоричные кислоты), полисахаридами, аминокислотами, макро- и микроэлементами, и обладают противовоспалительной, противовирусной, антиоксидантной, акваретической, уроантисептической, антимикробной и противогрибковой активностью [4–6].

Ряд представителей семейства вересковых отличаются разнообразным составом и высоким содержанием флавоноидов, благодаря чему проявляют иммуномодулирующую, антибактериальную, противовирусную, противовоспалительную, противоопухолевую и другие виды активности [4, 7–9]. При этом стоит отметить, что состав флавоноидов *Andromeda polifolia* L., *Chamaedaphne calyculata* (L.) Moench, *Le-*

dum palustre L., *Empetrum nigrum* L. и их биологическая активность мало исследованы или не изучены совсем.

Таким образом, благодаря богатым ресурсным запасам указанные виды являются перспективным источником биологически активных веществ, в том числе и флавоноидов, а исследование их фармакологической активности является актуальным научным направлением.

Цель работы. Сравнительное исследование компонентного состава суммарных фракций флавоноидов *Andromeda polifolia* L., *Chamaedaphne calyculata* (L.) Moench, *Ledum palustre* L., *Empetrum nigrum* L. и изучение их влияния на NO-стимулирующую активность перитонеальных макрофагов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объекты исследования

В качестве объектов исследования были использованы надземные части (облиственные побеги) *Andromeda polifolia* L., *Chamaedaphne calyculata* (L.) Moench, *Ledum palustre* L., *Empetrum nigrum* L., заготовленные в 2023 году в Томской области, Республике Алтай и высушенные воздушно-теневым способом до содержания влаги 5–7%. С учетом литературных сведений о максимальном накоплении биологически активных веществ в растениях семейства вересковых [4, 5, 10, 11] сырье было заготовлено в фазу плодоношения.

Выделение суммарных фракций флавоноидов

Навески воздушно-сухого сырья массой 120,0 г измельчали до размера частиц 1–3 мм и исчерпывающе экстрагировали хлороформом для депигментации сырья. Депигментированное сырье трижды экстрагировали 70%-м водным ацетоном в соотношении 1:8 при температуре 25 °С в течение 1 часа при постоянном перемешивании на магнитной мешалке. Полученные порции экстрактов объединяли, фильтровали через бумажный фильтр на воронке Бюхнера и переносили в делительную воронку. Экстракт насыщали кристаллическим натрием хлоридом (х. ч.), нижнюю (водную) фазу отделяли, верхнюю (ацетоновую) фазу промывали (3 × 100 мл) насыщенным раствором натрия хлорида, промывные воды присоединяли к водному раствору, из которого удаляли остатки ацетона под вакуумом при температуре 25 °С. Водный раствор обрабатывали этилацетатом (4 × 200 мл), полученные порции объединяли и этилацетат удаляли под вакуумом при температуре 25 °С до сухого остатка. Схема выделения представлена на рисунке 1.

Исследование компонентного состава суммарных фракций флавоноидов

Компонентный состав суммарных фракций флавоноидов определяли на жидкостном хроматографе UltiMate 3000 (Thermo Fisher Scientific, США), оснащенном диодно-матричным детектором. Разделение проводили на колонке ZORBAX Eclipse Plus C18, 4,6 × 150 мм, 3,5 мкм, в режиме градиентного элюирования: 0–3 мин – 10% В; 3–20 мин – 10–50% В; 20–25 мин – 50–100% В; 25–30 мин – 100% В; 30–40 мин – 10% В; в качестве подвижной фазы использовали 0,2% раствор муравьиной кислоты в воде Type I (Pharmel diatomic, Россия) – элюент А; ацетонитрил для хроматографии (ООО «НПК Криохром», Россия). Объем вводимой пробы – 5 мкл. Регистрацию хроматограмм проводили в диапазоне 190–300 нм, в качестве аналитической длины волны выбрана величина 260 нм.

Идентификацию веществ проводили по совпадению времен удерживания и спектральных характеристик со стандартными образцами (концентрация 1 мг/мл), расчет содержания – методом простой нормировки. В качестве стандартов использовали следующие образцы: кверцетин (CAS № 117-39-5), кемпферол (CAS № 520-18-3), лютеолин (CAS № 491-70-3), нарингенин (CAS № 480-41-1), мирицетин (CAS № 529-44-2), гербацетин (CAS № 527-95-7), дигидромирицетин (CAS № 215254-15-1), дигидрокемпферол, рутин (CAS № 153-18-4), изокверцитрин (CAS № 21637-25-2), гиперозид (CAS № 482-36-0), авикулярин (CAS № 572-30-5), лютеолин-7-глюкозид (CAS № 5373-11-5), нарингин (CAS N.10236-47-2), хлорогеновая кислота (CAS № 1049703-62-9), галловая кислота (CAS № 149-91-7) (Acros Organics BVBA, Бельгия; Merck KGaA, Германия).

Изучение пролиферации и NO-стимулирующих свойств флавоноидов

Макрофаги (МФ) получали из перитонеальной полости мышей линии C57BL/6 (возраст 8–10 недель), выращенных в отделе экспериментальных биологических моделей НИИФиРМ им. Е. Д. Гольдберга Томского НИМЦ, используя набор для селекции клеток EasySep™ Biotin Positive Selection Kit и антитела специфические к макрофагальным рецепторам Anti-Mouse F4/80 Antibody (Stem Cell, США).

Навеску каждой исследуемой фракции флавоноидов весом не менее 3 мг растворяли непосредственно перед использованием в эксперименте в расчетном количестве культуральной среды RPMI-1640 (Sigma-Aldrich, США) до концентрации 1,5 мг/мл. Далее из этого раствора готовили трехкратный раствор нужной концентрации (1, 5, 10, 20, 50, 100, 200, 500 мкг/мл), 50 мкл которого вносили в лунку, добав-

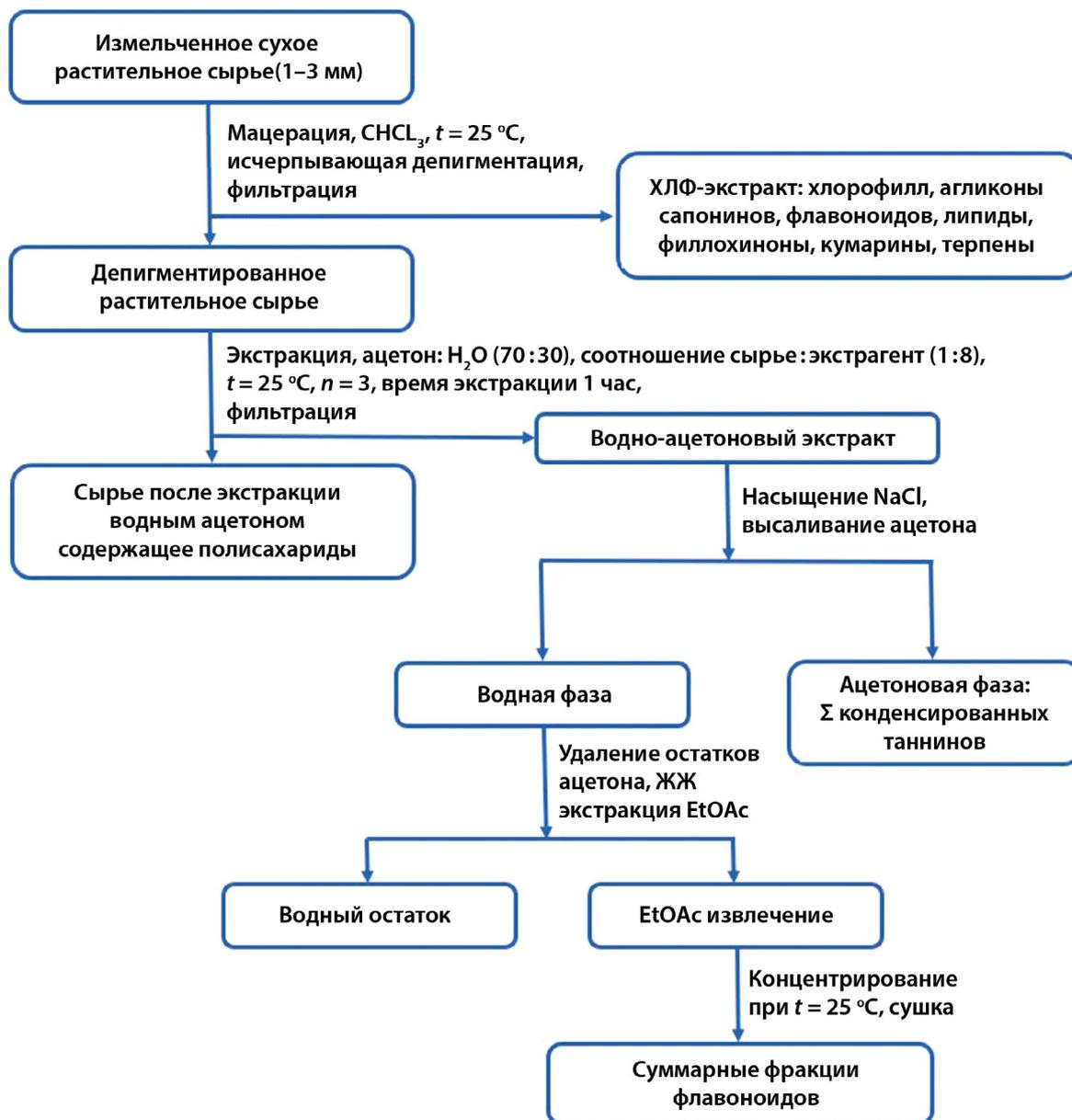


Рисунок 1. Схема выделения суммарных фракций флавоноидов

ляли по 100 мкл макрофагов из расчета 400 тыс/лунка. Каждый образец исследовали в пяти повторностях.

Клетки культивировали при 37 °C в атмосфере с 5%-м CO₂ и абсолютной влажности в среде следующего состава: RPMI-1640 (Sigma-Aldrich, США) с добавлением 10%-й ЭТС (Hyclone Uk Ltd., Великобритания), 20 мМ HEPES (Sigma-Aldrich, США), 0,05 мМ 2-меркаптоэтанола (Sigma-Aldrich, США), 50 мкг/мл гентамицина (Sigma, США) и 2 мМ L-глутамина (Sigma-Aldrich, США).

НО-синтазную активность зрелых перитонеальных МФ оценивали по концентрации нитритов в супернатанте клеток после 48-часового культивирования в присутствии изучаемых образцов или липопо-

лисахарида (ЛПС) (серотип O111:B4, Sigma-Aldrich, США), добавляя к нему реактив Грисса (Sigma-Aldrich, США) в соотношении 1:1. Оптическую плотность растворов измеряли на многоканальном спектрофотометре Titertek Multiskan® MCC (Labsystems, Финляндия), длина волны 540 нм.

Присутствие эндотоксина и его влияние на результаты эксперимента оценивали двумя методами:

- 1) с использованием ЛАЛ-реактива PYROSTAR™ ES-F 0.03 ЕЭ/мл (FUJIFILM Wako Chemicals Europe GmbH, Германия);
- 2) с добавлением антибиотика полимиксина В (50 мкг/мл, InvivoGen, США) к исследуемым веществам, с последующим инкубированием клеток, как описано выше.

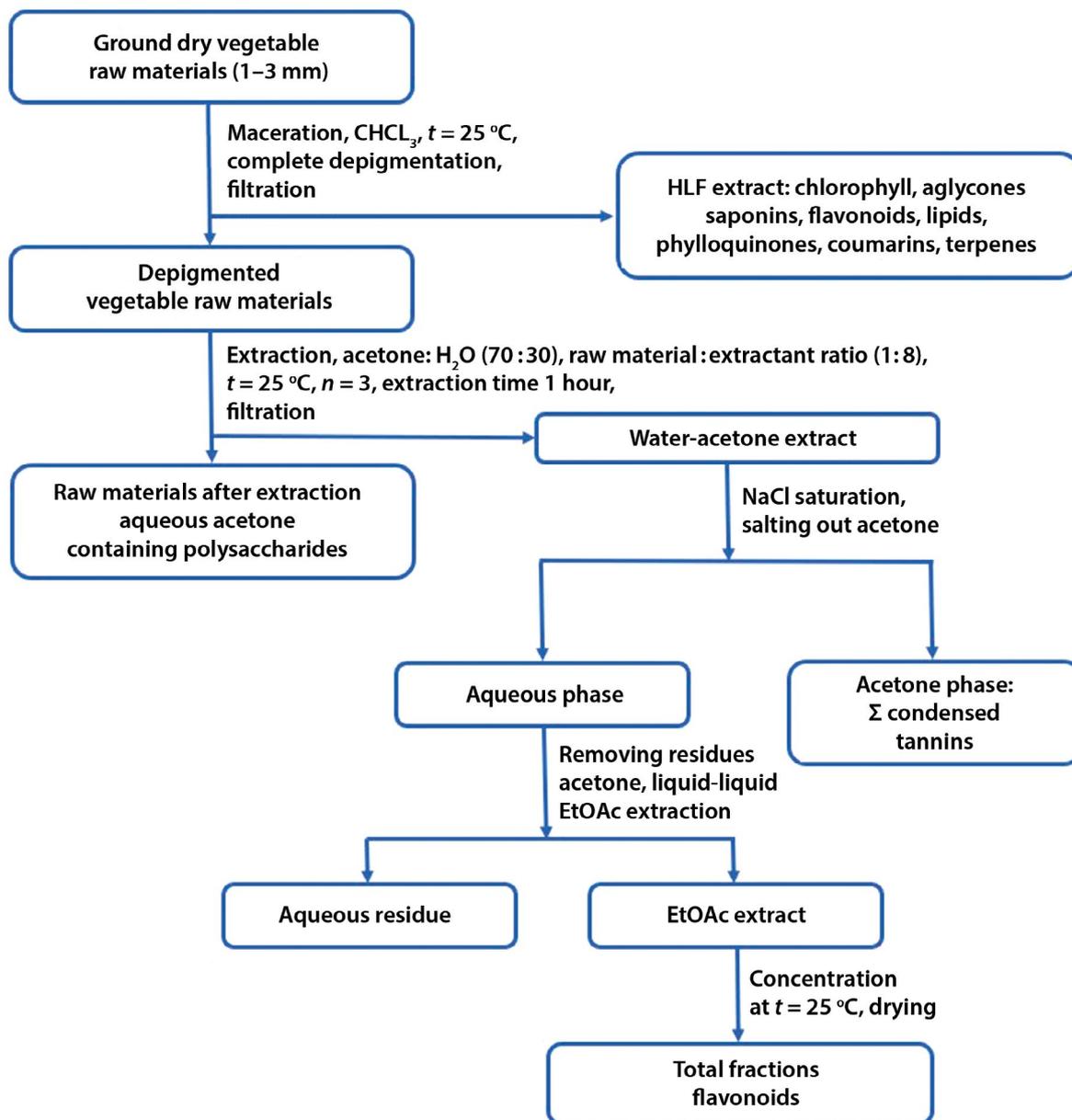


Figure 1. Scheme for obtaining total flavonoid fractions

Цитотоксические свойства изучаемых веществ определяли в классическом тесте МТТ в лизате МФ, добавляя за 4 часа до окончания инкубации бромид 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолия (МТТ, Sigma-Aldrich, США) в конечной концентрации 200 мкг/мл, затем осадок растворяли диметилсульфоксидом (Sigma-Aldrich, США) и измеряли оптическую плотность (ед. опт. плотности), как описано выше.

Статистическая обработка

Полученные в ходе исследования данные обрабатывали с помощью пакета статистических программ STATISTICA 13.3, используя критерий Шапиро – Уилка для проверки нормальности распределе-

ния, однофакторный дисперсионный анализ и критерий Даннета. Результаты представлены в виде

$$X \pm m,$$

где X – среднее значение; m – стандартная ошибка среднего. Уровень значимости $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Из облиственных побегов *A. polifolia*, *C. calyculata*, *L. palustre*, *E. nigrum* получены фракции флавоноидов, выход которых определен гравиметрически и составил 0,83; 1,83; 1,14 и 2,36 % в пересчете на абсолютно сухое исходное сырье соответственно. Анализ фракций показал содержание порядка 5–

8 компонентов флавоноидной природы в исследуемых видах (рисунок 2). При этом в составе фракций обнаружены преимущественно гликозиды кверцетина, что говорит о селективности выбранного метода экстракции.

Исследуемые суммарные фракции флавоноидов отличаются как по качественному составу, так и по количественному содержанию (таблица 1). Так, сумма флавоноидов *C. calyculata* представлена 8 фенольными соединениями: изокверцитрином, гиперозидом, рутином, гербацетином, нарингенином со следовыми количествами фенолкарбоновых кислот: галловой, хлорогеновой – и флавоноидного гликозида – нарингина. Сумма флавоноидов *A. polifolia* со-

держит 5 фенольных соединений: изокверцитрин, гиперозид, рутин, гербацетин и следы хлорогеновой кислоты. В исследуемом образце *L. palustre* обнаружены 5 флавоноидных гликозидов: изокверцитрин, гиперозид, рутин, авикулярин и лютеолин-7-глюкозид (цинарозид), а в *E. nigrum* – изокверцитрин, гиперозид, рутин и кверцетин.

Мажорными компонентами всех фракций являются изокверцитрин, гиперозид и рутин, однако содержание их существенно варьируется. Так, в этилацетатной фракции *C. calyculata* обнаружен изокверцитрин в количестве $30,01 \pm 0,57\%$, гиперозид – $16,02 \pm 0,99\%$, рутин – $1,82 \pm 0,70\%$; во фракции *A. polifolia* определен изокверцитрин – $46,31 \pm$

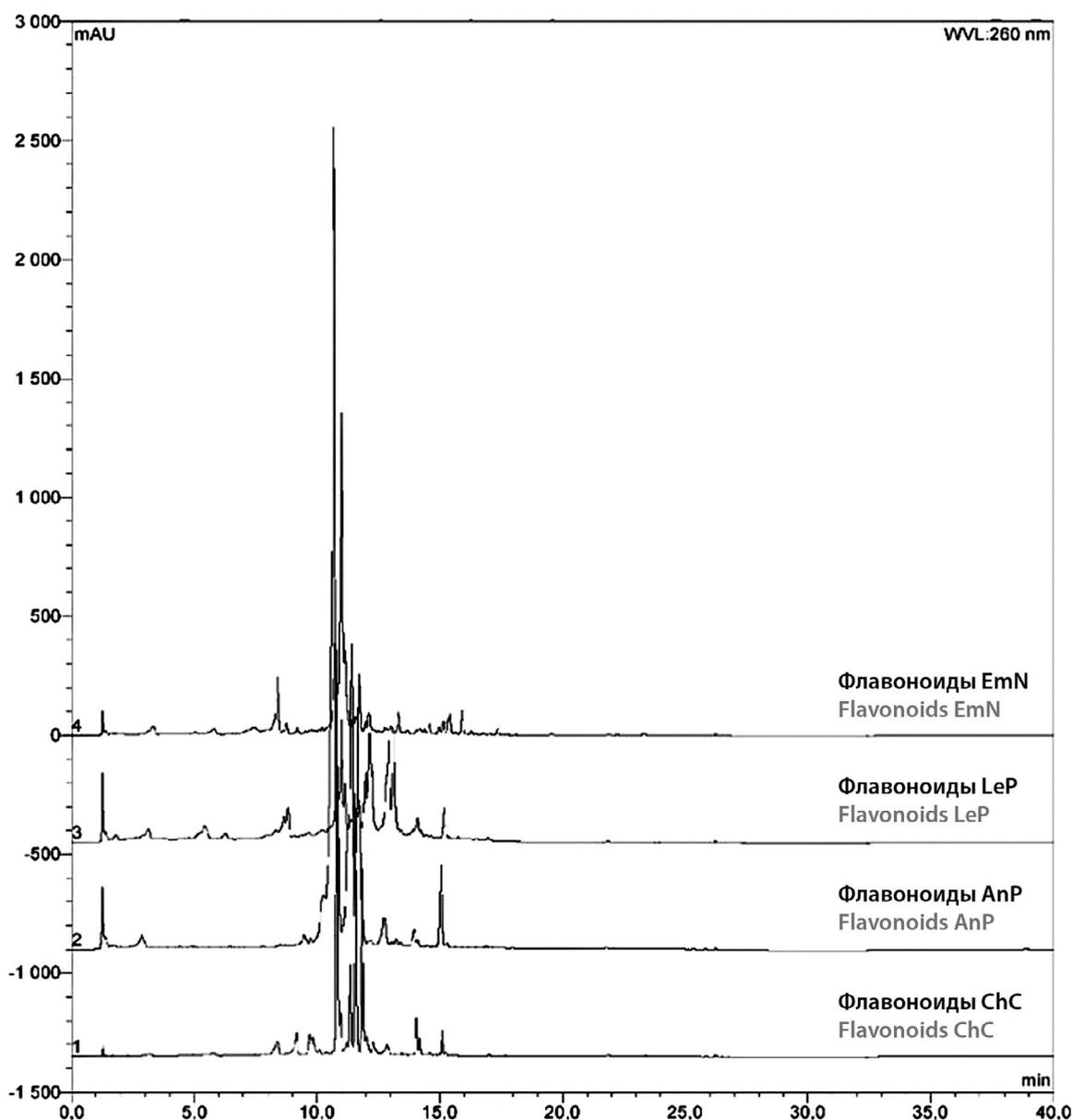


Рисунок 2. Хроматограммы фракций флавоноидов *C. calyculata* (1), *A. polifolia* (2), *L. palustre* (3), *E. nigrum* (4)
Figure 2. Chromatograms of flavonoid fractions from *C. calyculata* (1), *A. polifolia* (2), *L. palustre* (3), *E. nigrum* (4)

Таблица 1. Содержание флавоноидов во фракциях *C. calyculata* (ChC), *A. polifolia* (AnP), *L. palustre* (LeP), *E. nigrum* (EmN)

Table 1. Flavonoid content in fractions of *C. calyculata* (ChC), *A. polifolia* (AnP), *L. palustre* (LeP), *E. nigrum* (EmN)

| № | Стандартное вещество Standard substance | tR стандарта, мин tR of the standard, min | ChC | | AnP | | LeP | | EmN | |
|----|---------------------------------------------|----------------------------------------------|---------|--------------|---------|--------------|---------|--------------|---------|--------------|
| | | | tR, min | W, % |
| 1 | Кверцетин Quercetin | 17,37 | - | | - | | - | | 17,39 | 0,49 ± 0,01 |
| 2 | Кемпферол Kaempferol | 10,53 | - | | - | | - | | - | |
| 3 | Рутин Routine | 10,91 | 10,95 | 1,82 ± 0,70 | 10,85 | 5,76 ± 0,22 | 11,02 | 4,02 ± 0,20 | 11,15 | 8,33 ± 0,99 |
| 4 | Изокверцитрин Isoquercitrin | 10,87 | 10,81 | 30,01 ± 0,57 | 10,69 | 46,31 ± 0,84 | 10,88 | 15,22 ± 0,99 | 11,00 | 39,04 ± 0,86 |
| 5 | Гиперозид Hyperoside | 11,87 | 11,85 | 16,02 ± 0,99 | 11,69 | 13,45 ± 0,99 | 11,84 | 6,17 ± 0,01 | 11,99 | 0,85 ± 0,05 |
| 6 | Авикулярин Avicularin | 8,48 | - | | - | | 8,89 | 6,60 ± 0,29 | - | |
| 7 | Дигидромирицетин Dihydromyricetin | 2,01 | - | | - | | - | | - | |
| 8 | Галловая кислота Gallic acid | 13,19 | 13,46 | 0,10 ± 0,02 | - | | - | | - | |
| 9 | Мирицетин Myricetin | 13,90 | - | | - | | - | | - | |
| 10 | Гербацетин Herbacetin | 11,17 | 11,36 | 6,98 ± 0,39 | 11,42 | 12,75 ± 0,18 | - | | - | |
| 11 | Лютеолин-7-гликозид Luteolin-7-glycoside | 5,95 | - | | - | | 5,62 | 2,63 ± 0,06 | - | |
| 12 | Хлорогеновая кислота Chlorogenic acid | 15,11 | 15,24 | 0,24 ± 0,10 | 15,29 | 0,15 ± 0,06 | - | | - | |
| 13 | Лютеолин Luteolin | 16,81 | - | | - | | - | | - | |
| 14 | Нарингенин Naringenin | 12,20 | 12,29 | 0,91 ± 0,01 | - | | - | | - | |
| 15 | Нарингин Naringin | 13,21 | 13,58 | 0,05 ± 0,01 | - | | - | | - | |
| 16 | Дигидрокемпферол Dihydrocampferol | 13,38 | - | | - | | - | | - | |

Примечание. «-» – не определено.

Note. "-" – not defined.

0,84 %, гиперозид – 13,45 ± 0,99 %, рутин – 5,76 ± 0,22 %. Содержание вышеуказанных флавоноидов во фракции *L. palustre* составило 15,22 ± 0,99 %, 6,17 ± 0,01 % и 4,02 ± 0,20 %, *E. nigrum* – 39,04 ± 0,86 %, 0,85 ± 0,05 % и 8,33 ± 0,99 % соответственно. Следует отметить, что изокверцитрин и гербацетин были обнару-

жены впервые для *C. calyculata* и *A. polifolia*, нарингенин и нарингин – впервые для *C. calyculata*. Эти данные позволяют существенно расширить спектр изучения фармакологических свойств экстрактов данных растений, поскольку гербацетин и нарингенин обладают потенциальным противовирусным

действием в отношении вирусов SARS-CoV и MERS-CoV в сочетании с противовоспалительной и противоопухолевой активностью [12–14].

Ряд компонентов не был идентифицирован в исследуемых растениях, в частности, не обнаружены дигидромирицетин, дигидрокемпферол, мирицетин, лютеолин и кемпферол. Кверцетин, присутствующий, по литературным данным, в некоторых исследуемых видах [15, 16], мог быть удален из сырья при предварительной экстракции хлороформом.

Несмотря на то, что состав фенольных компонентов *C. calyculata*, *A. polifolia*, *L. palustre*, *E. nigrum* малоизучен, надо отметить, что в некоторых видах семейства вересковых также были идентифицированы кверцетин [8, 17], изокверцитрин [8], хлорогеновая кислота [17], галловая кислота [8] и ее производные [18]. Кроме того, в видах *Vaccinium* обнаружены ряд антоцианов, астрагалин, коричная, сирингиновая, феруловая и кофейная кислоты [8]. При этом в листьях черники кофеилхиновые кислоты составили порядка 80 % от общего содержания фенолов [19].

Кроме того, известно о наличии кверцетина, рутина, гиперозида в некоторых видах рододендрона [20–22].

При проведении контроля наличия эндотоксина при помощи ЛАЛ-теста во всех исследуемых образцах фракций флавоноидов величина бактериальных эндотоксинов (БЭ) составила менее 0,96 ЕЭ/мл (менее 0,048 ЕЭ/мкг), что свидетельствует о незначительном количестве эндотоксинов.

В результате изучения пролиферации и NO-стимулирующих свойств флавоноидов, выделенных из изучаемых растений, на модели перитонеальных макрофагов (МФ) мышей выявили, что фракции, выделенные из *A. polifolia* и *L. Palustre*, не влияли на NO-стимулирующие свойства МФ (таблица 2), фракции *C. calyculata* в дозах 1, 5, 10 мкг/мл ингибировали продукцию нитритов на 30 %, а *E. nigrum*, напротив, в дозировке 100 и 200 мкг/мл усиливали продукцию нитритов на 33 и 37 % соответственно. ЛПС усиливал продукцию NO макрофагами в 6,5–16,6 раз в разных сериях экспериментов.

Таблица 2. Влияние фракций флавоноидов *C. calyculata* (ChC), *A. polifolia* (AnP), *L. palustre* (LeP), *E. nigrum* (EmN) на продукцию оксида азота перитонеальными макрофагами интактных мышей линии C57BL/6, $X \pm m$

Table 2. Effect of flavonoid fractions from *C. calyculata* (ChC), *A. polifolia* (AnP), *L. palustre* (LeP), *E. nigrum* (EmN) on nitric oxide production by peritoneal macrophages of intact C57BL/6, $X \pm m$ mice

| Вещество Substance | Концентрация, мкг/мл Concentration, mcg/ml | Концентрация нитритов, мкм The concentration of nitrites, mkmol | Пролиферация, ед. оп. плотности, 10^{-3} Proliferation, units of opt. density, 10^{-3} |
|------------------------------------------|-----------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Среда (контроль 1) Medium (control 1) | – | 5,35 ± 0,14 | 639 ± 7 |
| ЛПС (контроль 2) LPS (control 2) | 0,1 | 23,62 ± 0,93* | 605 ± 11 |
| ChC | 1 | 4,20 ± 0,15** | 600 ± 5 |
| | 5 | 3,99 ± 0,16** | 586 ± 7 |
| | 10 | 4,22 ± 0,17** | 584 ± 8 |
| | 20 | 4,82 ± 0,13* | 604 ± 13 |
| | 50 | 4,61 ± 0,14* | 564 ± 15 |
| | 100 | 4,69 ± 0,13* | 590 ± 9 |
| | 200 | 4,87 ± 0,12* | 336 ± 8** |
| | 500 | н/р n/r | 203 ± 6** |
| Среда (контроль 1) Medium (control 1) | – | 3,14 ± 0,12 | 624 ± 9 |
| ЛПС (контроль 2) LPS (control 2) | 0,1 | 40,14 ± 0,25* | 581 ± 7 |
| AnP | 1 | 3,44 ± 0,08* | 650 ± 8 |
| | 5 | 3,08 ± 0,11* | 680 ± 6* |
| | 10 | 2,88 ± 0,10* | 626 ± 8 |
| | 20 | 3,04 ± 0,10* | 599 ± 12 |
| | 50 | 2,91 ± 0,10* | 324 ± 13** |
| | 100 | 3,13 ± 0,11* | 190 ± 5** |
| | 200 | 3,42 ± 0,11* | 201 ± 6** |
| | 500 | н/р n/r | 161 ± 4** |

| Вещество Substance | Концентрация, мкг/мл Concentration, mcg/ml | Концентрация нитритов, мкМ The concentration of nitrites, mkmol | Пролиферация, ед. опт. плотности, 10 ⁻³ Proliferation, units of opt. density, 10 ⁻³ |
|------------------------------------------|-----------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Среда (контроль 1) Medium (control 1) | – | 3,91 ± 0,12 | 687 ± 8 |
| ЛПС (контроль 2) LPS (control 2) | 0,1 | 62,12 ± 0,60* | 659 ± 9 |
| LeP | 1 | 3,40 ± 0,17 [●] | 613 ± 11 |
| | 5 | 3,49 ± 0,12 [●] | 643 ± 12 |
| | 10 | 3,47 ± 0,13 [●] | 657 ± 9 |
| | 20 | 3,83 ± 0,07 [●] | 666 ± 10 |
| | 50 | 3,56 ± 0,09 [●] | 493 ± 8 [●] |
| | 100 | 3,52 ± 0,16 [●] | 190 ± 4 [●] |
| | 200 | 4,06 ± 0,18 [●] | 183 ± 4 [●] |
| 500 | н/р n/r | 140 ± 3 [●] | |
| Среда (контроль 1) Medium (control 1) | – | 3,55 ± 0,10 | 647 ± 5 |
| ЛПС (контроль 2) LPS (control 2) | 0,1 | 58,83 ± 0,56* | 557 ± 4 |
| EmN | 1 | 3,58 ± 0,13 [●] | 645 ± 8 |
| | 5 | 3,16 ± 0,09 [●] | 568 ± 13 |
| | 10 | 3,67 ± 0,13 [●] | 611 ± 10 |
| | 20 | 3,89 ± 0,15 [●] | 629 ± 8 |
| | 50 | 4,06 ± 0,17 [●] | 644 ± 9 |
| | 100 | 4,73 ± 0,12 ^{●●} | 588 ± 11 |
| | 200 | 4,87 ± 0,22 ^{●●} | 256 ± 9 [●] |
| 500 | н/р n/r | 183 ± 3 [●] | |

Примечание. * – различия показателя с контролем 1 достоверны; ● – различия показателя по сравнению с контролем 2; н/р – нераспознаваемые значения; $p < 0,05$, $n = 5$. ЛПС – липополисахарид.

Note. * – differences in the indicator with control 1 are significant; ● – differences in the indicator compared with control 2; n/r – not recognizable values; $p < 0.05$, $n = 5$. LPS – lipopolysaccharide.

Суммарные фракции флавоноидов, выделенные из *C. calyculata* и *E. nigrum*, в МТТ-тесте в дозах 200 и 500 мкг/мл проявили значительное дозозависимое цитотоксическое действие, снижая оптическую плотность соответственно на 48 и 68 % (*C. calyculata*), 61 и 72 % (*E. nigrum*). Культивирование МФ с фракциями флавоноидов, выделенными из *A. polifolia* и *L. palustre*, выявило снижение пролиферации клеток уже начиная с концентрации образцов 50 мкг/мл (на 49 % *A. polifolia* и 29 % *L. palustre*) и далее в дозах 100 мкг/мл (на 70 % *A. polifolia* и 73 % *L. palustre*), 200 мкг/мл (на 70 % *A. polifolia* и 73 % *L. palustre*) и 500 мкг/мл (на 75 % *A. polifolia* и 80 % *L. palustre*).

С целью оценки влияния эндотоксина на результаты экспериментов МФ культивировали с фракциями флавоноидов изучаемых растений в присутствии полимиксина Б. Пирогенных примесей ни в одном из исследуемых образцов не выявили (таблица 3). Более того, при культивировании клеток в присутст-

вии фракции флавоноидов *C. calyculata* после обработки антибиотиком происходило усиление продукции нитритов в 1,5 раза.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследован компонентный состав суммарных фракций флавоноидов *Andromeda polifolia* L., *Chamaedaphne calyculata* (L.) Moench, *Ledum palustre* L., *Empetrum nigrum* L. Установлено, что доминирующими компонентами во всех исследуемых образцах являются гликозиды кверцетина: изокверцитрин, гиперозид и рутин. Впервые для видов *A. polifolia*, *C. calyculata* обнаружены гербацетин и изокверцитрин, для *C. calyculata* – флаванон нарингенин и его гликозид – нарингин.

Впервые проведено эндотоксиннезависимое исследование влияния суммарных фракций флавоноидов исследуемых видов на NO-стимулирующую ак-

Таблица 3. Влияние фракций флавоноидов *C. calyculata* (ChC), *A. polifolia* (AnP), *L. palustre* (LeP), *E. nigrum* (EmN) на активность NO-синтазы перитонеальных макрофагов интактных мышей линии C57BL/6 в отсутствие и в присутствии полимиксина Б ($X \pm m$)

Table 3. Effect of flavonoid fractions from *C. calyculata* (ChC), *A. polifolia* (AnP), *L. palustre* (LeP), *E. nigrum* (EmN) on the activity of NO synthase of peritoneal macrophages of intact C57BL/6 mice in the absence and presence of polymyxin B ($X \pm m$)

| Вещество Substance | Концентрация, мкг/мл Concentration, mcg/ml | Концентрация нитритов, мкМ The concentration of nitrites, mkmol | |
|-----------------------------------------|-----------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|
| | | инкубация без полимиксина Б incubation without polymyxin B | инкубация с полимиксином Б incubation with polymyxin B |
| Среда (контроль1) Medium (control 1) | – | 2,54 ± 0,07 | 2,35 ± 0,10 |
| ЛПС (контроль 2) LPS (control 2) | 0,1 | 41,78 ± 0,39* | 3,66 ± 0,08▲■ |
| ChC | 50 | 2,29 ± 0,14* | 3,48 ± 0,20▲■ |
| Среда (контроль1) Medium (control 1) | – | 3,16 ± 0,14 | 3,22 ± 0,14 |
| ЛПС (контроль 2) LPS (control 2) | 0,1 | 60,28 ± 0,56* | 4,28 ± 0,13▲■ |
| AnP | 20 | 3,67 ± 0,09* | 3,68 ± 0,19 |
| LeP | 20 | 3,30 ± 0,12* | 3,39 ± 0,09 |
| EmN | 100 | 3,95 ± 0,13*• | 4,84 ± 0,12▲■ |

Примечание. * – различия показателя со средой без полимиксина достоверны; • – различия показателя по сравнению с ЛПС (без полимиксина) достоверны; ▲ – различия показателя с инкубацией каждого вещества без полимиксина; ■ – различия показателя со средой с полимиксином достоверны; $p < 0,05$, $n = 5$. ЛПС – липополисахарид.

Note. * – differences in the indicator with a medium without polymyxin are significant; • – differences in the indicator compared to LPS (without polymyxin) are significant; ▲ – differences in the indicator with incubation of each substance without polymyxin; ■ – differences in the indicator with a medium with polymyxin are significant; $p < 0.05$, $n = 5$. LPS – lipopolysaccharide.

тивность перитонеальных макрофагов. Результаты проведенных исследований показали, что флавоноиды *C. calyculata* и *E. nigrum*, не обладая цитотоксическими свойствами в дозах до 100 мкг/мл включительно, проявляют диаметрально различное влияние на продукцию нитритов макрофагами. Флавоноиды *C. calyculata* ингибируют секреторные свойства клеток, а *E. nigrum*, напротив, стимулируют. Флавоноиды *A. polifolia* и *L. palustre* не влияли на продукцию нитритов, но спектр их нетоксичных концентраций ограничивался 20 мкг/мл. Полученные данные позволяют предположить, что изученные суммы флавоноидов, выделенные из разных растений семейства вересковых, способны активировать как M1-, так и M2-поляризацию перитонеальных макрофагов мышей, что требует дальнейшего углубленного изучения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Тахтаджян А. Л., Федоров А. А., Буданцев Л. Ю. и др., ред. Жизнь растений. Т. 5. Ч. 2. Цветковые растения. М.: Просвещение; 1981. 511 с.
2. Березовская Т. П., ред. Некоторые вопросы фармакогнозии дикорастущих и культивируемых растений Сибири. Томск: Изд-во Томского Университета; 1969. 229 с.
3. Государственная фармакопея Российской Федерации. XV издание. М.: Министра здравоохранения Российской Федерации; 2023.
4. Белоусов М. В. Фармакогностическая характеристика и биологическая активность представителей семейства вересковые (Ericaceae) флоры Сибири и Дальнего Востока. Дис. ... докт. фарм. наук. Томск; 2004. 310 с. Доступно по: <https://www.disscat.com/content/farmakognosticheskaya-kharakteristika-i-biologicheskaya-aktivnost-predstavitelei-semeistva-v>. Ссылка активна на 03.05.2024.
5. Фурса Н. С., Бузук Г. Н., Таланов А. А., Иванов А. П., Кузьмичева Н. А., Горькова А. С. Неофициальные виды семейства вересковых как перспективные аквариетки и урантисептики. *Вестник фармации*. 2016;3(73):59–66.
6. Liu X.-J., Su H.-G., Peng X.-R., Bi H.-C., Qiu M.-H. An updated review of the genus *Rhododendron* since 2010: Traditional uses, phytochemistry, and pharmacology. *Phytochemistry*. 2024;217:113899. DOI: 10.1016/j.phytochem.2023.113899.
7. Shi D., Xu M., Ren M., Pan E., Luo C., Zhang W., Tang Q. Immunomodulatory Effect of Flavonoids of Blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) Leaves via the NF- κ B Signal Pathway in LPS-Stimulated RAW 264.7 Cells. *Journal of Immunology Research*. 2017;2017:5476903. DOI: 10.1155/2017/5476903.
8. Martău G. A., Bernadette-Emőke T., Odocheanu R., Soporan D. A., Bochiș M., Simon E., Vodnar D. C. *Vaccinium* Species (Ericaceae): Phytochemistry and Biological Properties of Medicinal Plants. *Molecules*. 2023;28(4):1533. DOI: 10.3390/molecules28041533.

9. Adhikari B., Marasini B. P., Rayamajhee B., Bhattarai B. R., Lamichhane G., Khadayat K., Adhikari A., Khanal S., Parajuli N. Potential roles of medicinal plants for the treatment of viral diseases focusing on COVID-19: A review. *Phytotherapy Research*. 2021;35(3):1298–1312. DOI: 10.1002/ptr.6893.
10. Минович В.М. Фармакогностическое исследование представителей родов *Origanum L.* и *Rhododendron L.* флоры Восточной Сибири. Дис. ... докт. фарм. наук. Улан-Удэ; 2010. 392 с. Доступно по: <https://medical-diss.com/medicina/farmakognosticheskoe-issledovanie-predstaviteley-rodov-origanum-l-i-rhododendron-l-flory-vostochnoy-sibiri>. Ссылка активна на 03.05.2024.
11. Кардашевская К.С., Чирикова Н.К. Изменение количественного содержания фенольных соединений в листьях *Chamaedaphne calyculata* (L.) Moench в Центральной Якутии. *Вестник Северо-Восточного федерального университета имени М.К. Аммосова*. 2022;(3):5–13. DOI: 10.25587/SVFU.2022.30.98.001.
12. Wei X., Zhao Z., Zhong R., Tan X. A comprehensive review of herbacetin: from chemistry to pharmacological activities. *Journal of Ethnopharmacology*. 2021;279:114356. DOI: 10.1016/j.jep.2021.114356.
13. Tutunchi H., Naeini F., Ostadrahimi A., Hosseinzadeh-Attar M. J. Naringenin, a flavanone with antiviral and anti-inflammatory effects: A promising treatment strategy against COVID-19. *Phytotherapy Research*. 2020;34(12):3137–3147. DOI: 10.1002/ptr.6781.
14. Motallebi M., Bhia M., Rajani H. F., Bhia I., Tabarraei H., Mohammadkhani N., Pereira-Silva M., Kasaii M. S., Nouri-Majd S., Mueller A.-L., Veiga F. J. B., Paiva-Santos A. C., Shakibaei M. Naringenin: A potential flavonoid phytochemical for cancer therapy. *Life Sciences*. 2022;305:120752. DOI: 10.1016/j.lfs.2022.120752.
15. Harborne J. B., Williams C. A. A chemotaxonomic survey of flavonoids and simple phenols in leaves of the Ericaceae. *Botanical Journal of the Linnean Society*. 1973;66(1):37–54.
16. Буданцев А.Л., ред. Растительные ресурсы России: дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность. Т. 2. Семейства Actinidaceae – Malvaceae, Euphorbiaceae – Haloragaceae. СПб., М.: Товарищество научных изданий КМК; 2009. 512 с.
17. Ștefănescu V. E., Szabo K., Mocan A., Crișan G. Phenolic Compounds from Five Ericaceae Species Leaves and Their Related Bioavailability and Health Benefits. *Molecules*. 2019;24(11):2046. DOI: 10.3390/molecules24112046.
18. Shamilov A. A., Olennikov D. N., Pozdnyakov D. I., Bubenchikova V. N., Garsiya E. R. Investigation of phenolic compounds at the leaves and shoots *Arctostaphylos* spp. and their antioxidant and antityrosinase activities. *Natural Product Research*. 2022;36(24):6312–6317. DOI: 10.1080/14786419.2021.2025370.
19. Tian Y., Liimatainen J., Alanne A.-L., Lindstedt A., Liu P., Sinkkonen J., Kallio H., Yang B. Phenolic compounds extracted by acidic aqueous ethanol from berries and leaves of different berry plants. *Food Chemistry*. 2017;220:266–281. DOI: 10.1016/j.foodchem.2016.09.145.
20. Han J., Xu H.-H., Chen X.-L., Hu H.-R., Hu K.-M., Chen Z.-W., He G.-W. Total Flavone of *Rhododendron* Improves Cerebral Ischemia Injury by Activating Vascular TRPV4 to Induce Endothelium-Derived Hyperpolarizing Factor-Mediated Responses. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2018;8919867. DOI: 10.1155/2018/8919867.
21. Shi L., Jiang C., Xu H., Wu J., Lu J., He Y., Yin X., Chen Z., Cao D., Shen X., Hou X., Han J. Hyperoside ameliorates cerebral ischaemic-reperfusion injury by opening the TRPV4 channel *in vivo* through the IP₃-PKC signalling pathway. *Pharmaceutical Biology*. 2023;61(1):1000–1012. DOI: 10.1080/13880209.2023.2228379.
22. Guo X., Dong Z., Li Q., Wan D., Zhong J., Dongzhi D., Huang M. Flavonoids from *Rhododendron nivale* Hook. f delay aging via modulation of gut microbiota and glutathione metabolism. *Phytomedicine*. 2022;104:154270. DOI: 10.1016/j.phymed.2022.154270.

REFERENCES

1. Takhtadzhyan A. L., Fedorov A. A., Budantsev L. Yu. et al., editors. Plant life. Volume 5. Part 2. Flowering plants. Moscow: Prosveshhenie; 1981. 511 p. (In Russ.)
2. Berezovskaya T. P., editor. Some issues of pharmacognosy of wild and cultivated plants of Siberia. Tomsk: Izdatelstvo Tomskogo universiteta; 1969. 229 p. (In Russ.)
3. The State Pharmacopoeia of the Russian Federation. XV edition. Moscow: Minister of Health of the Russian Federation; 2023. (In Russ.)
4. Belousov M. V. Pharmacognostic characteristics and biological activity of representatives of the ericaceae family (Ericaceae) flora of Siberia and the Far East. [Dissertation.] Tomsk; 2004. 310 p. Available at: <https://www.dissertat.com/content/farmakognosticheskaya-kharakteristika-i-biologicheskaya-aktivnost-predstavitelei-semeistva-v>. Accessed: 03.05.2024. (In Russ.)
5. Fursa N. S., Buzuk G. N., Talanov A. A., Ivanov A. P., Kuzmicheva N. A., Gorcova A. S. Non-official species of the ericaceae family as perspective akvaretics and uroantiseptics. *Vestnik Farmacii*. 2016;3(73):59–66. (In Russ.)
6. Liu X.-J., Su H.-G., Peng X.-R., Bi H.-C., Qiu M.-H. An updated review of the genus *Rhododendron* since 2010: Traditional uses, phytochemistry, and pharmacology. *Phytochemistry*. 2024;217:113899. DOI: 10.1016/j.phytochem.2023.113899.
7. Shi D., Xu M., Ren M., Pan E., Luo C., Zhang W., Tang Q. Immunomodulatory Effect of Flavonoids of Blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) Leaves via the NF-κB Signal Pathway in LPS-Stimulated RAW 264.7 Cells. *Journal of Immunology Research*. 2017;2017:5476903. DOI: 10.1155/2017/5476903.
8. Martău G. A., Bernadette-Emöke T., Odocheanu R., Soporan D. A., Bochiș M., Simon E., Vodnar D. C. Vaccinium Species (Ericaceae): Phytochemistry and Biological Properties of Medicinal Plants. *Molecules*. 2023;28(4):1533. DOI: 10.3390/molecules28041533.
9. Adhikari B., Marasini B. P., Rayamajhee B., Bhattarai B. R., Lamichhane G., Khadayat K., Adhikari A., Khanal S., Parajuli N. Potential roles of medicinal plants for the treatment of viral diseases focusing on COVID-19: A review. *Phytotherapy Research*. 2021;35(3):1298–1312. DOI: 10.1002/ptr.6893.
10. Mirovich V. M. Pharmacognostic study of representatives of the genera *Origanum L.* and *Rhododendron L.* flora of Eastern Siberia. [Dissertation.] Ulan-Ude; 2010. 392 p. Available at: <https://medical-diss.com/medicina/farmakognosticheskoe-issledovanie-predstaviteley-rodov-origanum-l-i-rhododendron-l-flory-vostochnoy-sibiri>. Accessed: 03.05.2024. (In Russ.)
11. Kardashevskaya K. S., Chirikova N. K. Quantitative changes in the content of phenolic compounds in leaves of *Chamaedaphne calyculata* (L.) Moench in Central Yakutia.

- Vestnik of the North-Eastern Federal University*. 2022;(3):5–13. (In Russ.). DOI: 10.25587/SVFU.2022.30.98.001.
12. Wei X., Zhao Z., Zhong R., Tan X. A comprehensive review of herbacetin: from chemistry to pharmacological activities. *Journal of Ethnopharmacology*. 2021;279:114356. DOI: 10.1016/j.jep.2021.114356.
 13. Tutunchi H., Naeini F., Ostadrahimi A., Hosseinzadeh-Attar M.J. Naringenin, a flavanone with antiviral and anti-inflammatory effects: A promising treatment strategy against COVID-19. *Phytotherapy Research*. 2020;34(12):3137–3147. DOI: 10.1002/ptr.6781.
 14. Motallebi M., Bhia M., Rajani H.F., Bhia I., Tabarraei H., Mohammadkhani N., Pereira-Silva M., Kasaii M.S., Nouri-Majd S., Mueller A.-L., Veiga F.J.B., Paiva-Santos A.C., Shakibaei M. Naringenin: A potential flavonoid phytochemical for cancer therapy. *Life Sciences*. 2022;305:120752. DOI: 10.1016/j.lfs.2022.120752.
 15. Harborne J.B., Williams C.A. A chemotaxonomic survey of flavonoids and simple phenols in leaves of the Ericaceae. *Botanical Journal of the Linnean Society*. 1973;66(1):37–54.
 16. Budancev A. L., editor. Plant resources of Russia: wild flowering plants, their component composition and biological activity. V. 2. Families Actinidiaceae – Malvaceae, Euforbiaceae – Haloragaceae. St. Petersburg, Moscow: Tovarišhestvo nauchnyh izdaniy KMK; 2009. 513 p. (In Russ.)
 17. Ștefănescu B.E., Szabo K., Mocan A., Crișan G. Phenolic Compounds from Five Ericaceae Species Leaves and Their Related Bioavailability and Health Benefits. *Molecules*. 2019;24(11):2046. DOI: 10.3390/molecules24112046.
 18. Shamilov A.A., Olennikov D.N., Pozdnyakov D.I., Bubenichikova V.N., Garsiya E.R. Investigation of phenolic compounds at the leaves and shoots *Arctostaphylos* spp. and their antioxidant and antityrosinase activities. *Natural Product Research*. 2022;36(24):6312–6317. DOI: 10.1080/14786419.2021.2025370.
 19. Tian Y., Liimatainen J., Alanne A.-L., Lindstedt A., Liu P., Sinkkonen J., Kallio H., Yang B. Phenolic compounds extracted by acidic aqueous ethanol from berries and leaves of different berry plants. *Food Chemistry*. 2017;220:266–281. DOI: 10.1016/j.foodchem.2016.09.145.
 20. Han J., Xu H.-H., Chen X.-L., Hu H.-R., Hu K.-M., Chen Z.-W., He G.-W. Total Flavone of Rhododendron Improves Cerebral Ischemia Injury by Activating Vascular TRPV4 to Induce Endothelium-Derived Hyperpolarizing Factor-Mediated Responses. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2018;8919867. DOI: 10.1155/2018/8919867.
 21. Shi L., Jiang C., Xu H., Wu J., Lu J., He Y., Yin X., Chen Z., Cao D., Shen X., Hou X., Han J. Hyperoside ameliorates cerebral ischaemic-reperfusion injury by opening the TRPV4 channel *in vivo* through the IP₃-PKC signalling pathway. *Pharmaceutical Biology*. 2023;61(1):1000–1012. DOI: 10.1080/13880209.2023.2228379.
 22. Guo X., Dong Z., Li Q., Wan D., Zhong J., Dongzhi D., Huang M. Flavonoids from Rhododendron nivale Hook. f delay aging via modulation of gut microbiota and glutathione metabolism. *Phytomedicine*. 2022;104:154270. DOI: 10.1016/j.phymed.2022.154270.