

УДК 664.022.3:582.628-147(571.6):001.8

СМОРОДИНА ДУШИСТАЯ *RIBES FRAGRANS* PALLAS: СВЕРХКРИТИЧЕСКАЯ CO₂-ЭКСТРАКЦИЯ И ТАНДЕМНАЯ МАСС- СПЕКТРОМЕТРИЯ

© М.П. Разгонова^{1*}, А.Ш. Сабитов¹, Ю.Н. Зинченко¹, Т.А. Сенотрусова¹, Н.Г. Ли¹,
Е.А. Витомскова², К.С. Голохваст³

¹ Дальневосточная опытная станция – филиал Всероссийского
института генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова,
ул. Вавилова, 9, Владивосток, 690024, Россия, m.razgonova@vir.nw.ru

² Магаданский НИИ СХ – филиал Всероссийского института генетических
ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, ул. Пролетарская, 17, Магадан,
685000, Россия

³ Сибирский федеральный научный центр агробιοтехнологий РАН,
ул. Центральная, 26, Краснообск, 630501, Россия

Сверхкритическая флюидная CO₂-экстракция была использована для получения биоактивных веществ из листьев и ветвей смородины душистой *Ribes fragrans* Pallas. Для оценки процесса сверхкритической CO₂-экстракции изучались экстрактивные показатели при различных параметрах давления и температуры: диапазон давления – 100–300 бар, с используемым объемом соразтворителя этанола в количестве 2.5% в жидкой фазе при температуре в диапазоне 31–70 °С. Наиболее эффективные условия экстракции были установлены при параметрах давления 200 бар и температуре 55 °С для листьев *R. fragrans*. Сверхкритический CO₂-экстракт листьев *R. fragrans* содержит различные полифенольные соединения и соединения других химических групп, обладающих ценной биологической активностью.

В данном исследовании впервые изучен компонентный состав сверхкритических экстрактов вегетативных частей растительного вещества *R. fragrans*. Для обнаружения целевых аналитов применяли тандемную масс-спектрометрию (ВЭЖХ-ESI – ионная ловушка). Реализован четырехступенчатый режим ионного разделения. Сверхкритическая флюидная технология показала свою эффективность в отношении извлечения широкого спектра биологически активных веществ листьев *R. fragrans*. В экстрактах *R. fragrans* идентифицировано 79 различных биологически активных соединений. В роду *Ribes* впервые идентифицировано 21 химическое соединение из группы полифенолов и 12 химических соединений из других химических групп, ранее не упоминавшиеся в научной литературе относительно рода *Ribes*.

Ключевые слова: смородина, *Ribes fragrans*, сверхкритическая флюидная CO₂-экстракция, тандемная масс-спектрометрия, полифенолы.

Для цитирования: Разгонова М.П., Сабитов А.Ш., Зинченко Ю.Н., Сенотрусова Т.А., Ли Н.Г., Витомскова Е.А., Голохваст К.С. Смородина душистая *Ribes fragrans* Pallas: сверхкритическая CO₂-экстракция и тандемная масс-спектрометрия // Химия растительного сырья. 2024. №1. С. 260–275. DOI: 10.14258/jcprm.20240113178.

Введение

В данной работе впервые проведено исследование состава вторичных метаболитов экстрактов *Ribes fragrans* Pallas, рода *Ribes*, семейства Grossulariaceae, полученных по технологии сверхкритической жидкости (СКФ). Виды рода *Ribes* сгруппированы по Бергеру в восемь подродов [1], из которых наибольшую практическую и селекционную ценность имеют четыре: *Eucoreosma* Jancz. – черная смородина, *Ribesia* (Berl.) Jancz. – красная смородина, *Symphocalyx* Berl. – смородина золотистая, *Calobotrya* Spach – декоративная смородина.

R. fragrans широко распространена на Дальнем Востоке в зоне Сихотэ-Алинского высокогорного пояса, хребта Джугджур, на Колыме, в Приамурье, на территории Восточной Сибири и Северо-Восточной Монголии (рис. 1). Растет на скалистых участках, обычно населяет субальпийский пояс горных районов,

* Автор, с которым следует вести переписку.

встречается в кедровых и лиственничных лесах. Растение оправдывает свое название: его листья содержат смолы и эфирные масла, а потому гораздо более ароматны, чем листья черной смородины, что и повлияло на выбор названия этого вида (рис. 2). Листья похожи по форме на лист черной смородины, но более округлые и меньшего размера с загнутыми вниз краями. Высота растения – не более 50–70 см [2, 3]. Этот вид считается древним и очень слабоинтродуцирован в среду культурных растений [4].

Стратегии метаболомики растений основаны на двух аналитических технологиях; а именно масс-спектрометрии (МС) и ядерном магнитном резонансе (ЯМР). Однако подходы, основанные на ЯМР, уступают подходам, основанным на МС, из-за меньшего количества соединений, которые можно разделить, учитывая его относительно более низкую чувствительность. Несмотря на непрерывный прогресс в технологии МС, изучение метаболома растений является серьезной проблемой в исследованиях метаболомики растений.

В настоящее время можно измерить только несколько тысяч метаболитов (@4000), в то время как в царстве растений ожидается от 200000 до одного миллиона метаболитов, и анализ зависит от концентрации. Однако трудно предсказать полную степень метаболома растения, потому что в отличие от транскриптома и протеома он не зависит от генома. Кроме того, из-за широкого динамического диапазона концентраций растительных метаболитов и высокого химического разнообразия ни одна аналитическая технология не может охватить весь растительный метаболом, поэтому для анализа часто используются различные методы экстракции и комбинация дополнительных аналитических инструментальных технологий.

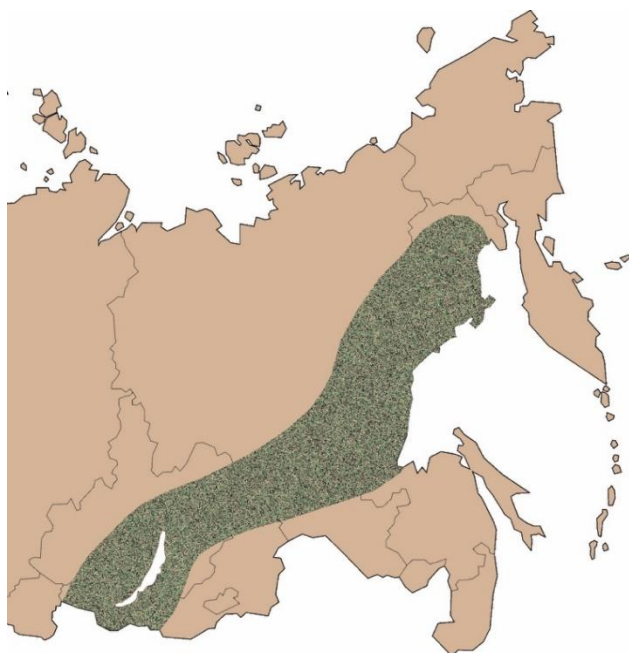


Рис. 1. Географический ареал *Ribes fragrans* (Колымский край, Джугджурский хребет, Восточная Сибирь и Северо-Восточная Монголия)



Рис. 2. А – Соцветия *R. fragrans* Pall.; Б – Ягоды *R. fragrans* Pall. (Фото Е. Витомсковой)

В данном исследовании для получения эффективного извлечения биологически активных веществ использовали сверхкритическую CO₂-экстракцию образцов *R. fragrans*. Традиционно применяемые методы получения биологически активных веществ из растений для дальнейшего приготовления фармацевтических субстанций, такие как распылительная сушка, выпаривание растворителя и струйное измельчение, обычно требуют использования больших количеств растворителя, а часто и технологических стадий, требующих много времени и энергозатрат для удаления остаточного растворителя из продукта [5]. Дополнительными проблемами являются использование высоких температур, сложный контроль размера частиц и распределения частиц по размерам.

Хотя традиционные методы экстракции, такие как метод Сокслета, дистилляция и мацерация, являются достаточно эффективными методами экстракции биологически активных соединений, оборудование, используемое в этих методах, имеет свои особенности. Для экстракции биоактивных соединений из растительных тканей следует использовать соответствующий метод экстракции, который сочетает в себе качество продукта, эффективность процесса, производственные затраты и экологически приемлемые методы. Применение инновационных методов экстракции в пищевой и биотехнологической промышленности широко исследовалось из-за растущих ожиданий потребителей в отношении более экологичных вариантов, не использующих в экстракционном процессе опасные химические вещества, а также из-за интереса промышленности к устойчивым, нетоксичным методам экстракции. Инновационные технологии, такие как высокое гидростатическое давление, ультразвук, импульсное электрическое поле, сверхкритическая жидкостная экстракция и другие, все больше вытесняют традиционные методы экстракции [6]. Используемые в настоящее время современные технологии экстракции могут привести к увеличению производительности экстракции за счет сокращения экстракционного времени, улучшения качества продукции и минимизации негативного влияния на окружающую среду. Все больше исследователей сосредотачиваются на использовании этих методов экстракции в их сочетании. Данные подходы дополняют друг друга, предлагают больше преимуществ и имеют перспективный экстракционный потенциал.

Технология СКФ (сверхкритические флюиды) является новым и перспективным направлением в фармацевтических разработках и относится к окологкритической области, т.е. относительно близкой к критической точке системы, в которой флюиды обладают свойствами подобными жидкости, такими как высокая плотность, и газообразными свойствами, такие как низкая вязкость и высокая диффузионная способность. Эти свойства довольно резко меняются при небольших изменениях давления и/или температуры, что позволяет обеспечить гибкость процесса и производить продукцию с разными характеристиками. Сверхкритический диоксид углерода (scCO₂) выбирается в большинстве применений из-за его относительно низких критических условий (T_c = 31 °C). Он также нетоксичен, негорюч и недорог. Эти свойства делают scCO₂ особенно привлекательным в фармацевтической промышленности, поскольку переработку лабильных соединений можно проводить при низких температурах и в большинстве случаев без помощи органических растворителей, которые при необходимости легко удаляются из состава. В последние годы рассматривается возможность применения СКФ для получения композиций на основе липидов, полимерных композитов, а также для стерилизации биоматериалов [7]. Существуют глобальные тенденции развития экологически чистых и устойчивых технологий в пищевой промышленности из-за растущего осознания важности сохранения окружающей среды и потребительского спроса на натуральные пищевые продукты. Отвечая этим конкретным требованиям, сверхкритическая экстракция диоксидом углерода стала инновационной и многообещающей технологией для обработки пищевых ингредиентов и продуктов. За последние три десятилетия активное применение этой технологии привлекло много внимания и добилось больших успехов как на лабораторном, так и на промышленном уровне.

В данном исследовании коллектив авторов решил использовать технологию СКФ с использованием различных температур и давлений для наиболее эффективного получения комплекса биологически активных веществ. Мы предположили, что полярный органический соразтворитель этанол может быть использован для лучшего разделения биологически активных веществ *R. fragrans*. Как правило, сверхкритическая экстракция наиболее успешна при использовании вместе с основным растворителем CO₂, соразтворителя этанола или метанола. Имеющихся на сегодняшний день данных по составу растительных метаболитов *Ribes fragrans* Pallas в научной литературе не приведено.

В связи с этим цель данного исследования – разработка оптимальной методики сверхкритической CO₂-экстракции и идентификация полученных СКФ CO₂-экстрактов биоактивных веществ *R. fragrans* методом тандемной масс-спектрометрии.

Экспериментальная часть

Объекты. Листья и стебли *R. fragrans* были собраны во время экспедиционных работ в Магаданской области, Россия (N 59°33'49" E 150°48'10"). Все образцы были морфологически идентифицированы в соответствии с действующим стандартом Российской фармакопеи [8].

Химические вещества и реагенты. Ацетонитрил для ВЭЖХ (Fisher Scientific, Саутборо, Великобритания), муравьиная кислота (Sigma-Aldrich, Штайнхайм, Германия). Сверхчистую воду готовили с помощью прибора SIEMENS ULTRA clear (SIEMENS водные технологии, Германия), все остальные реагенты имели аналитическую чистоту.

Экстракция. Экспериментальные работы по сверхкритической экстракции проводились с использованием сверхкритической системы флюидной экстракции диоксидом углерода SFE-500 (Thar SCF Waters, Милфорд, США). Опции системы включают: насос для соразтворителя (насос высокого давления Thar Waters P-50) для извлечения полярных образцов; расходомер CO₂ (Siemens, Германия) для измерения количества CO₂, подаваемого в систему; несколько экстракционных сосудов для увеличения производительности системы. Скорость потока составляла 10–25 мл/мин для жидкого CO₂ и 1.00 мл/мин для соразтворителя (96% EtOH). Листья и стебли *R. fragrans* измельчали до 8–10 мм, были использованы экстрагируемые образцы по 200 г растительного вещества *R. fragrans*. Образцы экстрагировали при температурах от 31 до 70 °C с шагом 5 °C и используемых давлениях от 50 до 300 бар с шагом 50 бар. Время экстракции отсчитывали после достижения рабочего давления и равновесного расхода, оно составило 60 мин для каждого образца.

Жидкостная хроматография. ВЭЖХ проводили с использованием ВЭЖХ Shimadzu LC-20 Prominence (Shimadzu, Киото, Япония), оснащенной УФ-датчиком и обращенно-фазовой колонкой с двуокисью кремния C18 (4.6×150 мм, размер частиц: 2.7 мкм) для разделения многокомпонентных смесей. Программа градиентного элюирования двумя подвижными фазами (А – деионизированная вода; Б – ацетонитрил с муравьиной кислотой 0.1% по объему) была следующей: 0–2 мин, 0% Б; 2–50 мин, 0–100% Б; контрольная промывка 50–60 мин 100% Б. Весь ВЭЖХ-анализ проводили с использованием УФ-видимого детектора SPD-20A (Shimadzu, Киото, Япония) при длине волны 230 нм для идентификации соединений; температура составляла 50 °C, а общая скорость потока составляла 0.25 мл/мин. Объем инъекции – 10 нЛ. Кроме того, жидкостная хроматография была объединена с масс-спектрометрической ионной ловушкой для идентификации соединений.

Масс-спектрометрия. МС-анализ проводили на ионной ловушке amaZon SL (BRUKER DALTONIKS, Германия), оснащенной источником ESI в режиме отрицательных ионов. Оптимизированные параметры были получены следующим образом: температура источника ионизации – 70 °C, расход газа – 4 л/мин, распыляющий газ (распылитель) – 7.3 psi, капиллярное напряжение – 4500 В, напряжение изгиба торцевой пластины – 1500 В, фрагментарное – 280 В, энергия столкновения – 60 эВ. Ионная ловушка использовалась в диапазоне сканирования *m/z* 100–1.700 для МС и МС/МС. Химические компоненты идентифицировали путем сравнения их индекса удерживания, масс-спектров и масс-спектрометрической фрагментации с базой данных домашней библиотеки, созданной Группой биотехнологии, биоинженерии и пищевых систем Дальневосточного федерального университета (Россия) на основе данных других спектроскопических методов, таких как ядерный магнитный резонанс, ультрафиолетовая спектроскопия и МС, а также данные из литературы, которые постоянно обновляются и пересматриваются. Скорость захвата составляла один спектр/с для МС и два спектра/с для МС/МС. Сбор данных контролировался программным обеспечением Windows для BRUKER DALTONIKS. Реализован четырехстадийный режим разделения ионов (режим МС/МС). Все опыты повторялись трижды.

Обсуждение результатов

Образцы *R. fragrans* (листья и стебли) подвергали сверхкритической CO₂-экстракции при различных экстракционных параметрах. Применяемое сверхкритическое давление составляло от 150 до 300 бар, а температура экстракции – от 31 до 70 °C. Образцы экстрагировали при температурах от 31 до 70 °C с шагом 5 °C и используемых давлениях от 50 до 300 бар с шагом 50 бар. Время экстракции отсчитывали после достижения рабочего давления и равновесного расхода, оно составило 60 мин для каждого образца. Соразтворитель EtOH использовали в количестве 2.5% от общего количества растворителя. Ярко выраженный

экстремум извлечения показан на 3D графике (рис. 3). Наилучшие условия извлечения химических компонентов из листьев *R. fragrans*: давление 200 бар и температура 55 °С. Общий выход экстрактивных соединений, полученных в этих условиях экстракции, составил 3.9% (выход приведен в процентах от массы полученного сверхкритического CO₂-экстракта. Структурную идентификацию каждого соединения проводили на основе их точной массы и фрагментации МС/МС с помощью ВЭЖХ-ESI-ионная ловушка-МС/МС.

В сверхкритических CO₂-экстрактах листьев *R. fragrans* предварительно идентифицировано 79 соединений (53 соединения полифенольной группы и 26 соединений других химических групп). Полифенолы представлены следующими химическими группами: флавоны, флавонолы, флаван-3-олы, флаваноны, фенольные кислоты, антоцианидины, лигнаны, кумарины. Впервые в экстрактах растительного вещества *R. fragrans* идентифицировано 21 соединение из группы полифенолов и 12 соединений из других химических групп. Флавоны: формонетин, акацетин, рамноцитрин, 5,7-диметоксилутеолин, эупатолитин-ди-*O*-гексозид, флавонолы: гербацетин, рамнетин I, изорамнетин, падматин, мирицетин-3-*O*-глюкуронид, рамнетин-ди-*O*-гексозид, мирицетин-*O*-галлоил-гексозид; флаван-3-олы (эпи)-галокатехин-3-галлат, производное (эпи)-афзелехина; флаванон гемифлоин, лигнаны: секоизоларицирезинол, диметил-секоизоларицирезинол, кумарин фраксин и др. Компоненты из других химических групп – бензофуран лолиолд; аминокалиндола 5-метоксидиметилтриптамин; сесквитерпеноид оксид кариофиллена; апорфиновый алкалоид аноаин и др. На рисунке 4 представлены некоторые структурные формулы впервые выявленных химических соединений полифенольного класса в экстрактах *R. fragrans*, ранее не упоминавшиеся относительно рода *Ribes*. Все идентифицированные полифенолы и другие соединения, а также молекулярные формулы и данные МС/МС для *R. fragrans* приведены в таблице.

На рисунках 5–7 приведены примеры расшифровки спектров (спектр диссоциации, индуцированной столкновениями (CID)) ионной хроматограммы, полученной с помощью тандемной масс-спектрометрии. Спектр ионной хроматограммы в модах положительных ионов соединения гексозид *n*-гидроксibenзойной кислоты, идентифицированного в экстрактах *R. fragrans*, представлен на рисунке 5.

[M+H]⁺ дал четыре осколочных иона с *m/z* 255.3, *m/z* 283.22, *m/z* 199.29 и *m/z* 167.17 (рис. 5). Ион-фрагмент с *m/z* 255.3 дал три характерных дочерних иона с *m/z* 227.26, *m/z* 199.17 и *m/z* 145.28. Ион-фрагмент с *m/z* 199.17 дал один характеристический ион с *m/z* 157.24. Данное соединение идентифицировано в ссылках на научную литературу в экстракте из *Ribes meyeri* [18], *V. meridionale* [20], *Embelia* [26]. Спектр ионной хроматограммы в модах положительных ионов химического соединения дигидрохверцетина (таксифолина), идентифицированного в экстрактах *R. fragrans*, показан на рисунке 6.

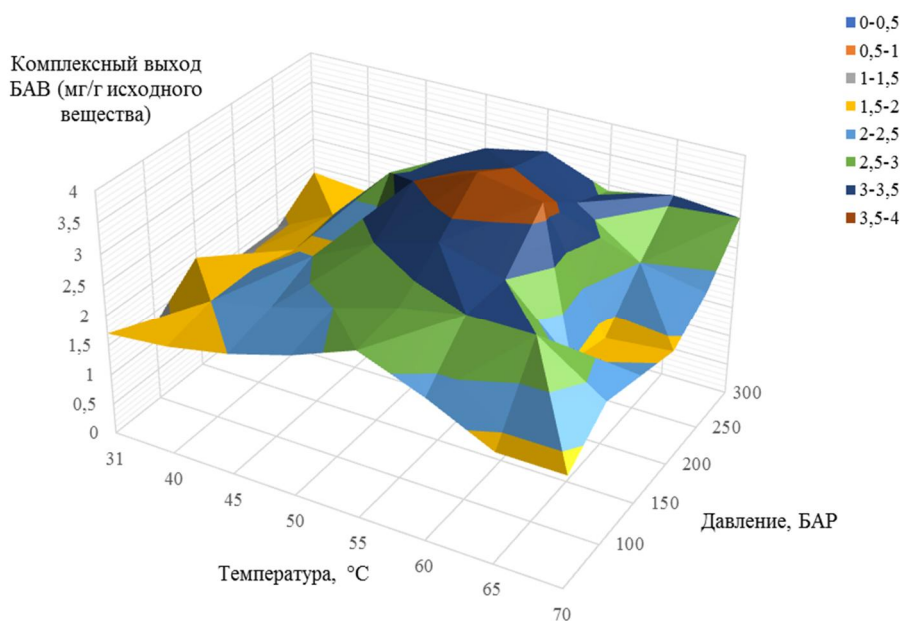


Рис. 3. 3D-график сверхкритической CO₂-экстракции, представляющий комплексный выход биоактивных веществ из CO₂-экстрактов наземной части (листья и стебли) *R. fragrans*. Комплексный выход биоактивных веществ показан соотношением мг/г исходного растительного вещества *R. fragrans*, загружаемого в экстракционный сосуд

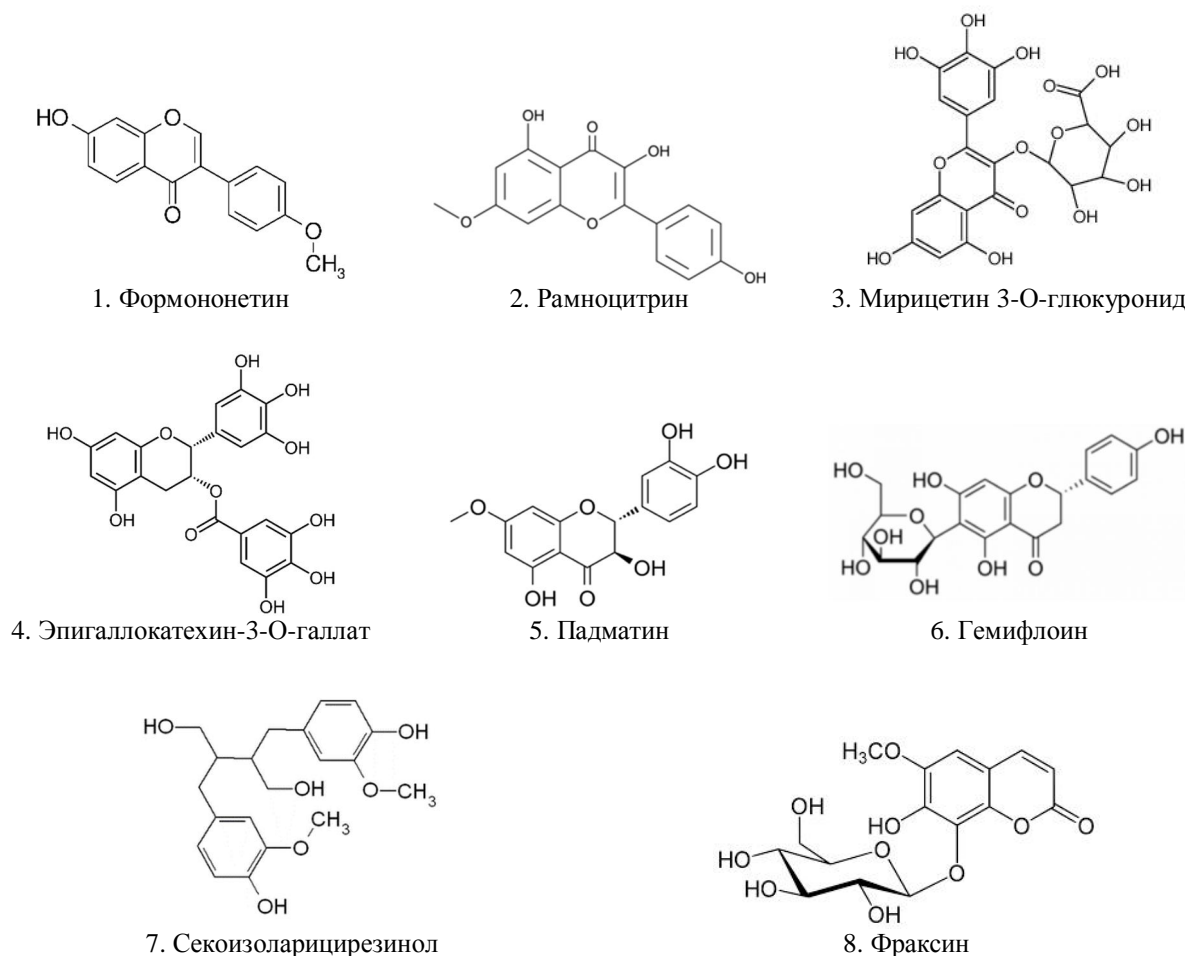


Рис. 4. Структурные формулы впервые выявленных химических соединений полифенольного класса в экстрактах *R. fragrans*

Химические соединения, идентифицированные в сверхкритических CO₂-экстрактах *R. fragrans* в режимах положительной и отрицательной ионизации методом ВЭЖХ с ионной ловушкой-МС/МС

№	Класс соединений	Идентифицированные соединения	Формула	Масса	Ион-аддукт [M-H] ⁻	Ион-аддукт [M+H] ⁺	Фрагментация МС/МС второго порядка	Фрагментация МС/МС третьего порядка	Фрагментация МС/МС четвертого порядка	Источники
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Полифенолы										
1	Флаван	Формонетин [Биоханин В; формонетол]*	C ₁₆ H ₁₂ O ₄	268.2641		269	231; 199	171		<i>Astragali radix</i> ; <i>Maackia amurensis</i> [9]; <i>D. jacutense</i> [10] <i>L. henryi</i> [11]; <i>R. meyeri</i> [12]; <i>L. japonica</i> [13]; <i>V. meridionale</i> [14]; Мексиканские виды люпина [15]
2	Флаван	Апигенин [5,7-дигидрокси-2-(40гидроксифенил)-4Н-хромен-4-он]	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	270.2369		271	253	224		
3	Флаван	Тригидрокси(изо)флаван	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	270.2369		271	215	173		Прополис [16]

Продолжение таблицы

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
4	Флавон	Лютеолин	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	286.2363		287	153; 171			<i>L. henryi</i> ; <i>R. meyeri</i> ; <i>L. japonica</i> ; прополис [16]; <i>Jatropha</i> [17]
5	Флавон	Акацетин [линаригенин]*	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	284.2635		285	239; 203; 149	183; 159	168	Мексиканские виды люпина [15]; прополис [16]
6	Флавон	Дигидрокси-метокси(изо)флавон	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	284.2635		285	267; 159	223	195	Прополис [16]
7	Флавон	2'-гидроксигенистеин*	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	286.2363		287	205	187	159	Мексиканские виды люпина [15]
8	Флавон	Эриодиктиол [3',4',5,7-тетрагидроксифлаванон]	C ₁₅ H ₁₂ O ₆	288.2522		289	271; 163	201		<i>V. meridionale</i> [14]; прополис [16]; <i>Jatropha</i> [17]; <i>A. absinthium</i> [18]; мята [19]; <i>Embelia</i> [20]
9	Флавон	Рамноцитрин*	C ₁₆ H ₁₂ O ₆	300.2629		301	167; 161	133		<i>Astragali radix</i> ; мята [19]
10	Флавон	Диосметин [4'-метилвый эфир лютеолина]	C ₁₆ H ₁₂ O ₆	300.2629		301	255	199	157	<i>L. japonica</i> [13]; <i>V. meridionale</i> [14]; <i>Zostera marina</i> [21]
11	Флавон	5,7-диметоксилу-теолин*	C ₁₇ H ₁₄ O ₆	314.2895		315	269	251	195	<i>S. aromaticum</i> ; <i>Rosa rugosa</i> [22]
12	Флавон	Диосметин-6-С-гексозид	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₁	462.4035	461		298	283	255	Лимон
13	Флавон	Хризэриол С-гексозид-С-пентозид	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	594.5181		595	577; 277	563; 199		<i>T. aestivum</i> L.
14	Флавон	Диосмин [Диосметин-7-О-рутинозид]	C ₂₈ H ₃₂ O ₁₅	608.5447		609	591; 531; 355	531	487	Лимон; <i>F. glaucescens</i> [23]; <i>Grataegi Fructus</i>
15	Флавон	Эупатолитин-ди-О-гексозид*	C ₂₉ H ₃₄ O ₁₈	670.5695	669		347	303	233	<i>Artemisia absinthium</i> [12]
16	Флавонол	Кемпферол [3,5,7-тригидрокси-2-(4-гидроксифенил)-4Н-хромен-4-он]	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	286.2363		287	285; 161	270	242	<i>R. meyeri</i> [12]; <i>Лю japonica</i> [13]; <i>V. meridionale</i> [14]; <i>P. sibirica</i> ; <i>Rhus coriaria</i>
17	Флавонол	Кверцетин	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	302.2357		303	285; 177	267; 185	197; 135	<i>R. meyeri</i> [12]; прополис [16]; бугенвиллия [24]
18	Флавонол	Гербацетин [3,5,7,8-тетрагидрокси-2-(4-гидроксифенил)-4Н-хромен-4-он]*	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	302.2357		303	203; 275	157		<i>Rhodiola rosea</i>
19	Флавонол	Дигидрокверцетин (Таксифолин)	C ₁₅ H ₁₂ O ₇	304.2516		305	287; 163	269	241	<i>V. meridionale</i> [14]; <i>Camellia kucha</i> [25]

Продолжение таблицы

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
20	Флавонол	Рамнетин I [бета-рамноцитрин; Кверцетин 7-метиловый эфир]*	C ₁₆ H ₁₂ O ₇	316.2623		317	270; 177	163	145	<i>P. sibirica</i> ; <i>Rhus coriaria</i> L. (Sumac)
21	Флавонол	Изорамнетин [изорамнетол; кверцетин 3'-метиловый эфир]*	C ₁₆ H ₁₂ O ₇	316.2623		317	271	253	197	<i>Astragali radix</i> ; прополис [16]; <i>Embelia</i> [20]; <i>R. officinalis</i> ; <i>S. aromaticum</i> ; <i>Rapeseed petals</i> [26]
22	Флавонол	Кверцетин 3-О-метиловый эфир	C ₁₆ H ₁₂ O ₇	316.2623		317	271; 299; 215; 177	253; 211; 197; 183; 159	211; 197; 183; 159	Прополис [16]; <i>Jatropha</i> [17]
23	Флавонол	Мирицетин	C ₁₅ H ₁₀ O ₈	318.2351		319	273	255	199	<i>V. meridionale</i> [14]; <i>Taraxacum officinale</i> [27]
24	Дигидрофлавонол	Падматин [7-метокси-3,3',4',5'-тетрагидроксифлаванон]*	C ₁₆ H ₁₄ O ₇	318.2782		319	273	255; 149	199; 159	Прополис [16]
25	Флавонол	Кверцитрин [кверцетин 3-L-рамнозид; кверцетрин]	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	448.3769	447		301; 247; 145	283; 221	221	Прополис [16]; <i>Embelia</i> [20]; <i>Grataegi Fructus</i> ; <i>Rhus coriaria</i> ; <i>Camellia kucha</i> [25] <i>A. cordifolia</i> ; <i>G. linguiforme</i> [33]; <i>Rhus coriaria</i> [36]; <i>Euphorbia hirta</i> [28] <i>L. henryi</i> [11]; <i>R. meyeri</i> [12]; <i>L. japonica</i> [13]; <i>V. meridionale</i> [14]; <i>V. myrtillus</i> <i>Bougainvillea</i> [24]; <i>Euphorbia hirta</i> [28]; <i>V. myrtillus</i> <i>Rhus coriaria</i> ; <i>P. aculeata</i> [29]
26	Флавонол	Кемпферол-3-О-глокуронид	C ₂₁ H ₁₈ O ₁₂	462.3604		463	287	213; 165	183	
27	Флавонол	Кверцетин-3-О-глокозид	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	464.3763		465	303	257; 165	229	
28	Флавонол	Кверцетин-3-О-глокуронид	C ₂₁ H ₁₈ O ₁₃	478.3598		479	303	257; 165	229	
29	Флавонол	Мирицетин-3-О-глокуронид*	C ₂₁ H ₁₈ O ₁₄	494.361		495	319	273; 165	245	
30	Флавонол	Рамнетин-ди-О-гексозид*	C ₂₈ H ₂ O ₁₇	640.5435		641	303	285	197	<i>Artemisia absinthium</i> [18]
31	Флавонол	Мирицетин-О-галлоилгексозид*	C ₂₈ H ₂₄ O ₁₇	632.4800	631		315	221		<i>Rhus coriaria</i> ; рододендрон <i>V. meridionale</i> [14]; <i>V. myrtillus</i>
32	Флаван-3-ол	(эпи) катехин	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	290.2681		291	261; 157	173	191; 143	
33	Флаван-3-ол	Производное эпиафзелехина*	C ₁₈ H ₁₆ O ₁₀	392.3136		393	275	245; 175	157	<i>Zostera marina</i> [21]
34	Флаван-3-ол	Производное (эпи)-катехина	C ₂₂ H ₃₂ O ₈	424.4847		425	291	261; 173	173	Pubchem

Продолжение таблицы

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
35	Флаван-3-ол	Эпигаллокатехин-3-галлат*	C ₂₂ H ₁₈ O ₁₁	458.3717	457		411	305; 261	261	<i>Camellia kucha</i> [25]; <i>F. glaucescens</i> [23]; рододендрон
36	Флаванон	Бутин [7,3',4'-тригидроксифлаванон]	C ₁₅ H ₁₂ O ₅	272.0681		273	255	185; 199	143	<i>Ribes meyeri</i> [12]
37	Флаванон	Нарингенин [Нарингетол; Нарингенин]	C ₁₅ H ₁₂ O ₅	272.5228		273	153; 255	171		<i>V. meridionale</i> [14]; мексиканские виды люпина [15]; <i>Syzygium aromaticum</i> ; <i>G. linguiforme</i> [23]
38	Флаванон	Гесперидин	C ₁₆ H ₁₄ O ₆	302.2788		303	203	157		Andean blueberry [14]; <i>Rosmarinus officinalis</i>
39	Флаванон	Дигидрокемпферол [Аромадендрин]	C ₁₅ H ₁₂ O ₆	288.2522		289	271; 231; 177	215; 145		<i>V. meridionale</i> [14]; <i>F. glaucescens</i> [23]; <i>Camellia kucha</i> [25]; <i>P. dactylifera</i>
40	Флаванон	Гемифлоин [нарингенин 6-С-глюкозид] *	C ₂₁ H ₂₂ O ₁₀	434.3934		435	399; 345; 271; 211	363; 271; 211; 137	331; 303; 173	<i>Jatropha</i> [17]
41	Фенольная кислота	гексозид <i>n</i> -гидроксибензойной кислоты	C ₁₃ H ₁₆ O ₈	300.2613		301	255; 283; 199; 167	199; 145	157	<i>Ribes meyeri</i> [12]; <i>V. meridionale</i> [14]; <i>Embelia</i> [20]; <i>Punica granatum</i>
42	Гидроксибензойная кислота	Эллаговая кислота [Бензоаровая кислота; Элагостазин]	C ₁₄ H ₆ O ₈	302.1926		303	257; 203; 165	185		<i>R. meyeri</i> [18]
43	Фенольная кислота	3-О-кофеилшикимовая кислота [3-CSA]	C ₁₆ H ₁₆ O ₈	336.2934	335		317; 234	299; 234	253	<i>Ribes meyeri</i> [12]; <i>Grataegi Fructus</i> ; <i>P. dactylifera</i>
44	Фенольная кислота	<i>n</i> -Кумароилхиновая кислота	C ₁₆ H ₁₈ O ₈	338.3093		339	147	119		<i>R. meyeri</i> [12]; <i>V. meridionale</i> [14]; <i>V. myrtillus</i> ; <i>Ribes magellanicum</i> [30]
45	Фенольная кислота	Хлорогеновая кислота [3-О-кофеилхинная кислота]	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	354.3087		355	273; 255; 235; 193; 149	255; 215; 161; 143	227; 199; 161; 143	<i>L. henryi</i> [11]; <i>L. japonica</i> [13]; <i>V. meridionale</i> [14]; <i>V. myrtillus</i> ; <i>R. magellanicum</i> [30]
46	Фенольная кислота	Криптохлорогеновая кислота [4-О-кофеилхиновая кислота]	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	354.3087		355	163	145		<i>L. japonica</i> [13]; <i>V. myrtillus</i> ; <i>R. magellanicum</i> [30]
47	Фенольная кислота	Производное кофейной кислоты*	C ₁₆ H ₁₈ O ₉ Na	377.2985	377		341; 215	179	227; 199; 161; 143	Бугенвиллия [24]
48	Фенольная кислота	Производное феруловой кислоты*	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	432.3775		433	386	340	284; 164	<i>Embelia</i> [20]

Продолжение таблицы

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
49	Антоцианидин	Цианидин-3-О-глюкозид [Цианидин-3-О-β-D-глюкозид]	C ₂₁ H ₂₁ O ₁₁ +	449.3848	447		285	255		<i>V. meridionale</i> [14]; <i>R. magellanicum</i> [30]; <i>B. ilicifolia</i> ; <i>B. empetrifolia</i> ; <i>R. magellanicum</i> ; <i>R. cucullatum</i> ; <i>M. nummularia</i> ; <i>G. mucronata</i> ; <i>G. antarctica</i> ; <i>R. geoides</i> ; [31]
50	Антоцианидин	Дельфинидин 3-О-β-D-самбубиозид	C ₂₆ H ₂₉ O ₁₆	597.4989		597	303	257; 165	229	<i>B. microphylla</i>
51	Кумарин	Фраксин (фраксетин-8-О-глюкозид)*	C ₁₆ H ₁₈ O ₁₀	370.3081		371	208; 165	165; 191		<i>Actinidia deliciosa</i> [32]; <i>Rosa rugosa</i> [22]; актинидия [33]
52	Лигнан	Секоизоларицирезинол*	C ₂₀ H ₂₆ O ₆	362.4168	361		329	285; 220	243	<i>F. pottsii</i> [23]; <i>Punica granatum</i> ; лигнаны
53	Лигнан	Диметил-секоизоларицирезинол*	C ₂₂ H ₃₀ O ₆	390.4700		391	372	305	287	Лигнаны

Соединения других химических групп

54	Карбоновая кислота	Глюконовая кислота [мальтоновая кислота]	C ₆ H ₁₂ O ₇	196.1553		197	179; 161	161		<i>Ribes meyeri</i> [12]
55	Бензофуран	ЛолиOLID*	C ₁₁ H ₁₆ O ₃	196.2429		197	179; 135	161	133	<i>Jatropha</i> [17]
56	Аминокислота	L-триптофан [триптофан; (S)-триптофан]	C ₁₁ H ₁₂ N ₂ O ₂	204.2252		205	149	147		<i>Camellia kucha</i> [25]; <i>Rapeseed petals</i> [26]; <i>Euphorbia hirta</i> [28]; <i>Rosa acicularis</i> [22]
57	Аминоалкилиндол	5-Метоксидиметилтриптамин*	C ₁₃ H ₁₈ N ₂ O	218.2948		219	201	159		<i>Camellia kucha</i> [25]
58	Сесквитерпеноид	Оксид кариофиллена [кариофиллен-альфа-оксид]*	C ₁₅ H ₂₄ O	220.3505		221	201; 135	145		<i>Rosa davurica</i> [22]; <i>Ledum palustre</i> [34]
59	Омега-5 жирная кислота	Миристоеиновая кислота [цис-9-тетрадекановая кислота]*	C ₁₄ H ₂₆ O ₂	226.3550		247	209	139; 127	122	<i>Maackia amurensis</i> [9]; <i>F. glaucescens</i> [23]
60	Апорфиновый алкалоид	Анонаин*	C ₁₇ H ₁₅ O ₂	265.3065		266	248	230	182	<i>Rosa rugosa</i> [22]
61	Омега-3 жирная кислота	Стеарионовая кислота [6,9,12,15-октадекатетраеновая кислота]*	C ₁₈ H ₂₈ O ₂	276.4137		277	259; 195; 163; 149	121		<i>Jatropha</i> [17]; <i>G. linguiforme</i> [23]; <i>Rhus coriaria</i>
62	Омега-3 жирная кислота	Линоленовая кислота (α-линоленовая кислота; линоленат)	C ₁₈ H ₃₀ O ₂	278.4296		279	243; 195; 173; 137	131		<i>Maackia amurensis</i> [9]; <i>Jatropha</i> [17]
63	Жирная кислота с длинной цепью	Дигидроксипальмитиновая кислота*	C ₁₆ H ₃₂ O ₄	288.4229		289	147; 121	121		<i>Rhus coriaria</i>

Окончание таблицы

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
64		1-(3,4-Дигидрокси-фенил)-3-(2,4,6-тригидрокси-фенил)-2-пропанол	C ₁₅ H ₁₆ O ₆	292.2839		293	261; 243; 191	243	173	<i>Ribes magellanicum</i> [30]
65	Омега-3 жирная кислота	Гидроксилиноленовая кислота	C ₁₈ H ₃₀ O ₃	294.4290		295	276; 179	179	161	<i>A. cordifolia</i> [33]
66	Омега-3 жирная кислота	Гидроксиоктадекатриеновая кислота	C ₁₈ H ₃₀ O ₃	294.4290	293		275; 195	231		<i>G. linguiforme</i> ; <i>F. glaucescens</i> ; <i>F. pottsii</i> [23] <i>D. jacutense</i> [10]; <i>Taraxacum officinale</i> [27]; <i>Rosa acicularis</i> [22]
67	оксипирины	9,10-дигидрокси-8-оксооктадек-12-еновая кислота [оксо-DHODE]	C ₁₈ H ₃₂ O ₅	328.4437	327		229; 291; 171	211		
68	Дитерпеноид	Гиббереллин А5	C ₁₉ H ₂₂ O ₅	330.3750		331	285	203; 157	157	Гиббереллины
69		Циклогекса-2,4-диен-1-карбоновая кислота*	C ₁₄ H ₂₀ O ₁₀	348.3026	347		303	233	233	Актинидия [33]
70	Дитерпеноид	Гиббереллин А29	C ₁₉ H ₂₄ O ₆	348.3903	347		303	299	257; 227	<i>Euphorbia hirta</i> [28]
71	Ненасыщенная жирная кислота	Пентакозеновая кислота	C ₂₅ H ₄₈ O ₂	380.6474	379		303	233	231	<i>F. glaucescens</i> [23]
72	холестанол	Десмостерол [24-дегидрохолестерин; Збета-холеста-5,24-диен-3-ол]	C ₂₂ H ₂₄ O ₆	384.4224		385	367	349	331; 187	<i>A. cordifolia</i> [23]
73	Глюкоза	Трегалоза (+FA аддукт) CH ₂ O ₂	C ₁₃ H ₂₄ O ₁₃	388.3219	387		341	179		Pubchem
74	Стерол	Бета-ситостенон [стигмаст-4-эн-3-один]*	C ₂₉ H ₄₈ O	412.6908		413	354; 191	298	255; 140	<i>F. herrerae</i> [23]; <i>Terminalia laxiflora</i> [35]
75	Жирная кислота с длинной цепью	нонакозановая кислота	C ₂₉ H ₅₈ O ₂	438.7696		439	393	344		<i>C. edulis</i> [23]
76	Продукт распада хлорофилла	Феофорбид а	C ₃₅ H ₃₆ N ₄ O ₅	592.6841		593	533	461	433	Производные хлорофилла
77	Сапонин	Сибирикасапонин В*	C ₃₅ H ₅₅ O ₁₁ S	683.8698		684	595; 429	341	324	<i>Polygala sibirica</i>
78	Фенилпропаноид	Гломератога D [3-О-[(Е)-3,4,5-триметоксициннамоил]- <i>b</i> -D-фруктофуранозил(2-1)-[3-О-(Е)-3,4,5-триметоксициннамоил]- <i>a</i> -D-глюкопиранозид*]	C ₃₆ H ₄₆ O ₁₉	782.7390		783	723; 599; 428; 301	598		<i>Polygala glomerata</i>
79	Стероидный алкалоид	<i>a</i> -чаконин*	C ₄₅ H ₇₃ O ₁₄	852.0594		852	706; 560; 398	560; 398	398	<i>Solanum tuberosum</i>

* Соединения, впервые идентифицированные в *R. fragrans*

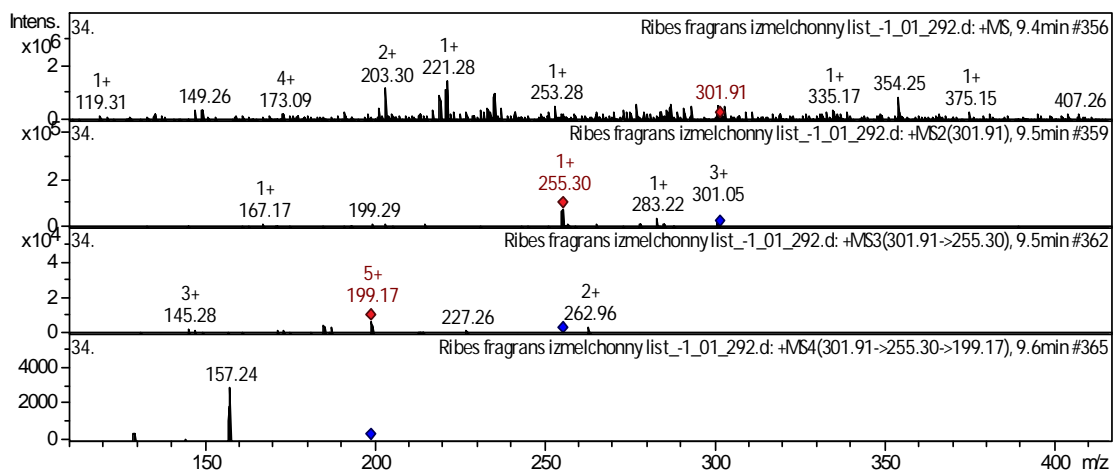


Рис. 5. CID-спектр гексозида *n*-гидроксибензойной кислоты, идентифицированной в экстрактах из *R. fragrans*, m/z 301.91

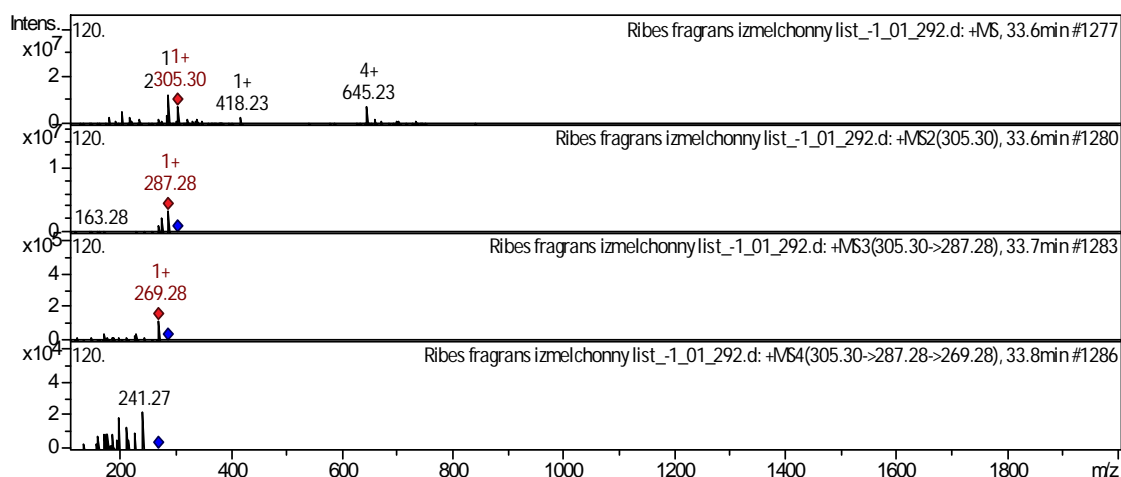


Рис. 6. CID-спектр дигидрокверцетина (таксифолина), идентифицированный в экстрактах *R. fragrans*, m/z 305.3

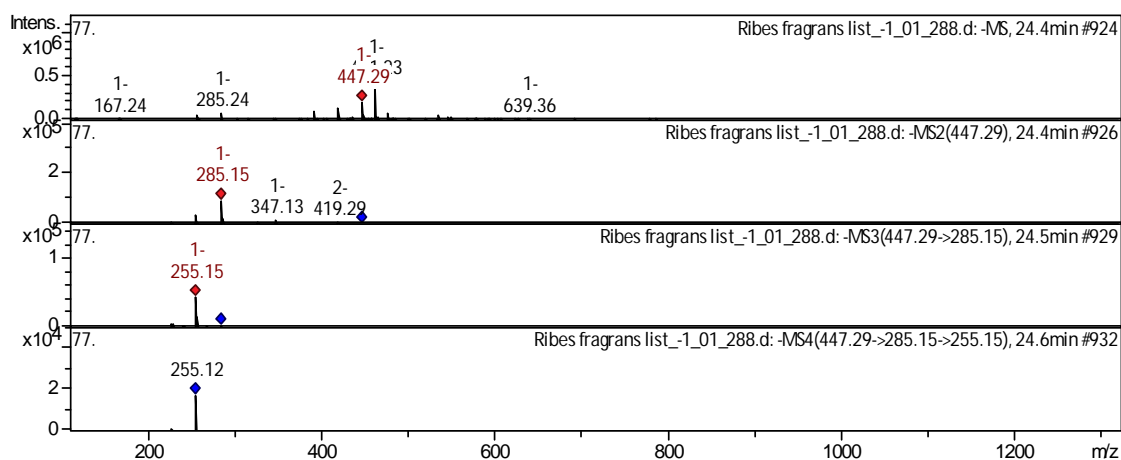


Рис. 7. CID-спектр цианидин-3-*O*-глюкозида [Цианидин-3-*O*-*b*-*D*-глюкозид], идентифицированного в экстрактах *R. fragrans*, m/z 447.29

[M+H]⁺ продуцировал два осколочных иона с m/z 287.28, и m/z 163.28 (рис. 6). Ион-фрагмент с m/z 287.28 дал один характерный дочерний ион с m/z 269.28. Ион-фрагмент с m/z 269.28 дал один характерный дочерний ион с m/z 241.27. Данное соединение идентифицировано в библиографии в экстрактах *V. meridionale* [20]. Спектр ионной хроматограммы в модах отрицательных ионов химического соединения цианидин-3-*O*-глюкозида, идентифицированного в экстрактах *R. fragrans*, показан на рисунке 7.

[M–H][–] образует три осколочных иона с m/z 285.15, m/z 419.29 и m/z 347.13 (рис. 7). Ион-фрагмент с m/z 285.15 дал один характерный дочерний ион с m/z 255.15. Данное соединение идентифицировано в библиографии в экстрактах из *V. meridionale* [20], *B. Ilcifolia*, *B. Empetrifolia*, *R. Magellanicum*, *R. Cucullatum*, *M. Nummalaria*, *G. Mucronata*, *G. Antarctica*. Отдельно следует отметить, что детальный анализ на наличие полифенолов и биологически активных веществ из других химических групп показал наибольшее количество флавоноидов при сверхкритической CO₂-экстракции при давлении 200 бар и температуре экстракции 55 °C – 53 соединения.

Таким образом, можно констатировать, что в результате более подробного изучения методом tandem-масс-спектрометрии получены новые данные о содержании химических компонентов в сверхкритических CO₂-экстрактах *R. fragrans*.

Выводы

Для получения максимального выхода соединений из наземной части *R. fragrans* (листья и стебли) была использована сверхкритическая CO₂-экстракция. Метод сверхкритической экстракции показал свою эффективность для извлечения широкого спектра биологически активных веществ. Были исследованы несколько экспериментальных условий в диапазоне давлений 50–300 бар, с используемым объемом соразвителя этанола в количестве 2.5% в жидкой фазе при температуре в диапазоне 31–70 °C. Наиболее эффективные условия экстракции, установленные опытным путем – это давление 200 бар и температура 55 °C для растительных образцов *R. fragrans*. Наземная часть *R. fragrans* содержит различные полифенольные компоненты и компоненты других химических групп с высокой биологической активностью. Для обнаружения целевых аналитов применяли tandem-масс-спектрометрию (ВЭЖХ-ESI – ионная ловушка). Высокоточные масс-спектрометрические данные регистрировали на ионной ловушке amaZon SL BRUKER DALTONIKS, оснащенной источником ESI в режиме отрицательных и положительных ионов. Реализован четырехступенчатый режим разделения ионов. В экстрактах *R. fragrans* было идентифицировано 79 различных биологически активных компонентов. В роду *Ribes* впервые идентифицировано 21 полифенольное соединение, ранее не заявленное в научных источниках.

Полученные данные могут найти практическое применение при разработке и производстве фармацевтических препаратов, содержащих сверхчистые экстракты *R. fragrans*. Высокое разнообразие биологически активных соединений, в том числе веществ полифенольной группы и других химических групп (оксипирины, омега-жирные кислоты, стеролы, дитерпеноиды и др.), открывает возможности для создания новых пищевых и биологически активных добавок на основе сверхкритических экстрактов *R. fragrans*.

Финансирование

Исследование выполнено во Всероссийском институте генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова за счет средств гранта РНФ № 23-74-00044.

Конфликт интересов

Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Открытый доступ

Эта статья распространяется на условиях международной лицензии Creative Commons Attribution 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), которая разрешает неограниченное использование, распространение и воспроизведение на любом носителе при условии, что вы дадите соответствующие ссылки на автора(ов) и источник и предоставите ссылку на Лицензию Creative Commons и укажете, были ли внесены изменения.

Список литературы

1. Berger A. Taxonomic Review of Currants and Gooseberries. Techn. Bull. New York, 1924. 109 p.
2. Харкевич С.С. Сосудистые растения советского Дальнего Востока. Л., 1988. Т. 3. 419 с.
3. Бочкарникова Н.М. Черная смородина на Дальнем Востоке. Владивосток, 1973. 184 с.
4. Малышев Л.И., Пешкова Г.А. Флора Сибири. Энфилд, Плимут, 2004. Т. 7. 318 с.
5. Matos R.L., Vieira de Melo S.A.B., Cabral Albuquerque E.C.M., Foster N.R. Dense CO₂ technology: Overview of recent applications for drug processing/formulation/delivery // Chemical Engineering and Processing – Process Intensification. 2019. Vol. 140. Pp. 64–77.
6. Jha A.K., Sit N. Extraction of bioactive compounds from plant materials using combination of various novel methods: A review // Trends in Food Science & Technology. 2022. Vol. 119. Pp. 579–591. DOI: 10.1016/j.tifs.2021.11.019.

7. Foster N., Mammucari R., Dehghani F., Barrett A., Bezanehtak K., Coen E., Combes G., Meure L., Ng A., Regtop H.L., Tandy A. Processing Pharmaceutical Compounds Using Dense Gas Technology // *Ind. Eng. Chem. Res.* 2003. Vol. 42. Pp. 6476–6493. DOI: 10.1021/ie030219x.
8. Фармакопея Евразийского экономического союза, утверждена решением Коллегии Евразийской экономической комиссии от 11 августа 2020 г. № 100. URL: <https://eec.eaeunion.org/upload/medialibrary/37c/PHARMACOPOEIA-of-the-Eurasian-Экономическийсоюз.pdf>
9. Razgonova M.P., Cherevach E.I., Tekutyeva L.A., Fedoreev S.A., Mishchenko N.P., Tarbeeva D.V., Demidova E.N., Kirilenko N.S., Golokhvast K.S. Maackia amurensis Rupr. et Maxim.: Supercritical CO₂-extraction and Mass Spectrometric Characterization of Chemical Constituents // *Molecules.* 2023. Vol. 28. Article 2026. DOI: 10.3390/molecules28052026.
10. Razgonova M.P., Okhlopko Zh.M., Rozhina Z.G., Egorova P.S., Sezai E., Golokhvast K.S. Comparison of Wild and Introduced *Dracocephalum jacutense* P.: Significant Differences of Multicomponent Compositions // *Horticulturae.* 2022. Vol. 8. Article 8228.
11. Jaiswal R., Muller H., Muller A., Karar M.G.E., Kuhnert N. Identification and characterization of chlorogenic acids, chlorogenic acid glycosides and flavonoids from *Lonicera henryi* L. (Caprifoliaceae) leaves by LC-MSn // *Phytochem.* 2014. Vol. 108. Pp. 252–263.
12. Zhao Y., Lu H., Wang Q., Liu H., Shen H., Xu W., Ge J., He D. Rapid qualitative profiling and quantitative analysis of phenolics in *Ribes meyeri* leaves and their antioxidant and antidiabetic activities by HPLC-QTOF-MS/MS and UHPLC-MS/MS // *J. Sep. Sci.* 2021. Vol. 44. Pp. 1404–1420.
13. Cai Z., Wang C., Zou L., Liu X., Chen J., Tan M., Mei Y., Wei L. Comparison of Multiple Bioactive Constituents in the Flower and the Caulis of *Lonicera japonica* Based on UFLC-QTRAP-MS/MS Combined with Multivariate Statistical Analysis // *Molecules.* 2019. Vol. 24. Article 1936.
14. Aita S.E., Capriotti A.L., Cavaliere C., Cerrato A., Giannelli Moneta B., Montone C.M., Piovesana S., Lagana A. Andean Blueberry of the Genus *Disterigma*: A High-Resolution Mass Spectrometric Approach for the Comprehensive Characterization of Phenolic Compounds // *Separations.* 2021. Vol. 8. P. 58.
15. Wojakowska A., Piasecka A., Garcia-Lopez P.M., Zamora-Natera F., Krajewski P., Marczak L., Kachlicki P., Stobiecki M. Structural analysis and profiling of phenolic secondary metabolites of Mexican lupine species using LC-MS techniques // *Phytochem.* 2013. Vol. 92. Pp. 71–86.
16. Belmehdi O., Bouyahya A., Jeko J., Cziaky Z., Zengin G. et al. Synergistic interaction between propolis extract, essential oils, and antibiotics against *Staphylococcus epidermidis* and methicillin resistant *Staphylococcus aureus* // *Int. J. Second Metab.* 2021. Vol. 8(3). Pp. 195–213.
17. Zengin G., Mahomoodally M.F., Sinan K.I., Ak G., Etienne O.K. et al. Chemical composition and biological properties of two *Jatropha* species: Different parts and different extraction methods // *Antioxidants.* 2021. Vol. 10. Article 792.
18. Trifan A., Zengin G., Sinan K.I., Sieniawska E., Sawicki R., Maciejewska-Turska M., Skalikca-Wozniak K., Luca S.V. Unveiling the Phytochemical Profile and Biological Potential of Five *Artemisia* Species // *Antioxidants.* 2022. Vol. 11. Article 1017.
19. Li X., Tian T. Phytochemical Characterization of *Mentha spicata* L. Under Differential Dried-Conditions and Associated Nephrotoxicity Screening of Main Compound With Organ-on-a-Chip // *Frontiers in Pharm.* 2018. Vol. 9. Article 1067.
20. Vijayan K.P.R., Raghu A.V. Tentative characterization of phenolic compounds in three species of the genus *Embelia* by liquid chromatography coupled with mass spectrometry analysis // *Spectroscopy Letters.* 2019. Vol. 52(10). Pp. 653–670.
21. Razgonova M.P., Tekutyeva L.A., Podvolotskaya A.B., Steepochkina V.D., Zakharenko A.M., Golokhvast K.S. *Zostera marina* L. Supercritical CO₂-Extraction and Mass Spectrometric Characterization of Chemical Constituents Recovered from Seagrass // *Separations.* 2022. Vol. 9. Article 182.
22. Razgonova M.P., Bazhenova B.B., Zabalueva Y.Y., Burkhanova A.G., Zakharenko A.M. et al. *Rosa davurica* Pall., *Rosa rugosa* Thumb., and *Rosa acicularis* Lindl. originating from Far Eastern Russia: Screening of 146 Chemical Constituents in Tree Species of the Genus *Rosa* // *Applied Sci.* 2022. Vol. 12. Article 9401.
23. Hamed A.R., El-Hawary S.S., Ibrahim R.M., Abdelmohsen U.R., El-Halawany A.M. Identification of Chemopreventive Components from Halophytes Belonging to Aizoaceae and Cactaceae Through LC/MS – Bioassay Guided Approach. // *J. Chrom. Sci.* 2021. Vol. 59(7). Pp. 618–626.
24. El-Sayed M.A., Abbas F.A., Refaat S., El-Shafae A.M., Fikry E. UPLC-ESI-MS/MS Profile of The Ethyl Acetate Fraction of Aerial Parts of *Bougainvillea ‘Scarlett O’Hara’* Cultivated in Egypt // *Egypt J. Chem.* 2021. Vol. 64. Article 22.
25. Qin D., Wang Q., Li H., Jiang X., Fang K., Wang Q., Li B., Pan C., Wu H. Identification of key metabolites based on non-targeted metabolomics and chemometrics analyses provides insights into bitterness in *Kucha [Camellia kucha (Chang et Wang) Chang]* // *Food Res. Int.* 2020. Vol. 138 (B). Article 109789.
26. Yin N.-W., Wang S.-X., Jia L.-D., Zhu M.-C., Yang J., Zhou B.-J., Yin J.-M., Lu K., Wang R., Li J.-N., Qu C.-M. Identification and Characterization of Major Constituents in Different-Colored Rapeseed Petals by UPLC-HESI-MS/MS // *Agricult. Food Chem.* 2019. Vol. 67. Pp. 11053–11065.
27. Aabideen Z.U., Mumtaz M.W., Akhtar M.T., Mukhtar H., Raza S.A., Touqeer T., Saari N. Anti-Obesity Attributes; UHPLC-QTOF-MS/MS-Based Metabolite Profiling and Molecular Docking Insights of *Taraxacum officinale* // *Molecules.* 2020. Vol. 25. Article 4935.
28. Mekam P.N., Martini S., Nguetack J., Tagliacuzzi D., Stefani E. Phenolic compounds profile of water and ethanol extracts of *Euphorbia hirta* L. leaves showing antioxidant and antifungal properties // *South African J. of Botany.* 2019. Vol. 127. Pp. 319–332.
29. Hassan W., Abdelaziz S., Yousef H. Chemical Composition and Biological Activities of the Aqueous Fraction of *Parkinsonia aculeata* L. Growing in Saudi Arabia // *Arabian J. of Chem.* 2019. Vol. 12(3). Pp. 377–387.
30. Burgos-Edwards A., Jimenez-Aspee F., Theoduloz C., Schmeda-Hirschmann G. Colonic fermentation of polyphenols from Chilean currants (*Ribes* spp.) and its effect on antioxidant capacity and metabolic syndrome-associated enzymes // *Food Chem.* 2018. Vol. 30. Pp. 144–155.

31. Ruiz A., Hermosín-Gutiérrez I., Vergara C., von Baer D., Zapata M., Hitschfeld A., Obando L., Mardones C. Anthocyanin profiles in south Patagonian wild berries by HPLC-DAD-ESI-MS/MS // *Food Res. Int.* 2013. Vol. 51 (2). Pp. 706–713.
32. Razgonova M., Boiko A.P., Zinchenko Y., Tikhonova N.G., Sabitov A.Sh., Zakharenko A., Golokhvast K.S. Actinidia deliciosa: a high-resolution mass spectrometric approach for the comprehensive characterization of bioactive compounds // *Turkish Journal of Agriculture and Forestry.* 2023. Vol. 47. Pp. 155–169.
33. Chen Y., Cai X., Li G., He X., Yu X. et al. Chemical constituents of radix Actinidia chinensis planch by UPLC-QTOF-MS // *Biomedical Chromatography.* 2021. Article 5103.
34. Разгонова М.П., Захаренко А.М., Голохваст К.С. Исследование сверхкритических CO₂-экстрактов багульника болотного *Ledum palustre* L. (*Rhododendron tomentosum* Норманна) и идентификация его метаболитов методом тандемной масс-спектрометрии // *Химия растительного сырья.* 2022. №1. С. 179–191. DOI: 10.14258/jcprm.2022019506.
35. Salih E., Julkunen-Tiitto R., Lampi A.-M., Kanninen M., Luukkanen O., Sipi M., Lehtonen M., Vuorela H., Fyhrquist P. Terminalia laxiflora and Terminalia brownii contain a broad spectrum of antimycobacterial compounds including ellagitannins, ellagic acid derivatives, triterpenes, fatty acids and fatty alcohols // *J. of Ethnopharmacol.* 2018. Vol. 227. Pp. 82–96.

Поступила в редакцию 28 июня 2023 г.

После переработки 27 ноября 2023 г.

Принята к публикации 6 декабря 2023 г.

Razgonova M.P.^{1*}, Sabitov A.Sh.¹, Zinchenko Yu.N.¹, Senotrusova T.A.¹, Li N.G.¹, Vitomskova Ye.A.², Golokhvast K.S.³
 RIBES FRAGRANS PALLAS: SUPERCRITICAL CO₂ EXTRACTION AND TANDEM MASS SPECTROMETRY

¹ Far Eastern Experimental Station - branch of the All-Russian Institute of Plant Genetic Resources named after N.I. Vavilova, Vavilova st., 9, Vladivostok, 690024, Russia, e-mail: m.razgonova@vir.nw.ru

² Magadan Research Institute of Agriculture - branch of the All-Russian Institute of Plant Genetic Resources named after N.I. Vavilova, Proletarskaya st., 17, Magadan, 685000, Russia

³ Siberian Federal Scientific Center of Agrobiotechnologies RAS, Tsentralnaya st., 2b, Krasnoobsk, 630501, Russia

Supercritical fluid technology was used to obtain bioactive substances from leaves of *Ribes fragrans* Pallas. The supercritical fluid technology proved to be the most effective type of extraction, giving the highest yield of metabolome composition of *R. fragrans*. Several experimental conditions were investigated in the pressure range 50–300 bar, with the used volume of co-solvent ethanol in the amount of 2.5% in the liquid phase at a temperature in the range of 31–70 °C. The most effective extraction conditions are: pressure 200 Bar and temperature 55 °C for leaves of *R. fragrans*. The CO₂-extract of leaves of *R. fragrans* contain various polyphenolic compounds and compounds of other chemical groups with valuable biological activity. For the first time, the metabolome of supercritical extracts of *R. fragrans* leaves was studied in this research. Tandem mass-spectrometry (HPLC-ESI – ion trap) was applied to detect target analytes. The four-stage ion separation mode was implemented 79 different bioactive components have been identified in *R. fragrans* extracts. Twenty chemical compounds from polyphenol group and twelve chemical compounds from other chemical groups were identified for the first time in genus *Ribes*.

Keywords: *Ribes fragrans*, supercritical fluid technology, tandem mass spectrometry, polyphenols, metabolome.

For citing: Razgonova M.P., Sabitov A.Sh., Zinchenko Yu.N., Senotrusova T.A., Li N.G., Vitomskova Ye.A., Golokhvast K.S. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2024, no. 1, pp. 260–275. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.20240113178.

References

1. Berger A. *Taxonomic Review of Currants and Gooseberries. Techn. Bull.* New York, 1924, 109 p.
2. Kharkevich S.S. *Sosudistyye rasteniya sovetского Dal'nego Vostoka.* [Vascular plants of the Soviet Far East]. Leningrad, 1988, vol. 3, 419 p. (in Russ.).
3. Bochkarnikova N.M. *Chernaya smorodina na Dal'nem Vostoke.* [Blackcurrant in the Far East]. Vladivostok, 1973, 184 p. (in Russ.).
4. Malyshev L.I., Peshkova G.A. *Flora Sibiri.* [Flora of Siberia]. Enfield, Plimut, 2004, vol. 7, 318 p. (in Russ.).
5. Matos R.L., Vieira de Melo S.A.B., Cabral Albuquerque E.C.M., Foster N.R. *Chemical Engineering and Processing – Process Intensification*, 2019, vol. 140, pp. 64–77.
6. Jha A.K., Sit N. *Trends in Food Science & Technology*, 2022, vol. 119, pp. 579–591. DOI: 10.1016/j.tifs.2021.11.019.
7. Foster N., Mammucari R., Deghani F., Barrett A., Bezanehtak K., Coen E., Combes G., Meure L., Ng A., Regtop H.L., Tandy A. *Ind. Eng. Chem. Res.*, 2003, vol. 42, pp. 6476–6493. DOI: 10.1021/ie030219x.
8. *Farmakopeya Yevraziyskogo ekonomicheskogo soyuza, utverzhdena resheniyem Kollegii Yevraziyskoy ekonomicheskoy komissii ot 11 avgusta 2020 g. №100.* [Pharmacopoeia of the Eurasian Economic Union, approved by decision of the Board of the Eurasian Economic Commission dated August 11, 2020 No. 100]. URL: <https://eec.eaeunion.org/upload/medialibrary/37c/PHARMACOPOEIA-of-the-Eurasian-Экономическийсоюз.pdf>. (in Russ.).
9. Razgonova M.P., Cherevach E.I., Tekutyeva L.A., Fedoreev S.A., Mishchenko N.P., Tarbeeva D.V., Demidova E.N., Kirilenko N.S., Golokhvast K.S. *Molecules*, 2023, vol. 28, article 2026. DOI: 10.3390/molecules28052026.

* Corresponding author.

10. Razgonova M.P., Okhlopko Zh.M., Rozhina Z.G., Egorova P.S., Sezai E., Golokhvast K.S. *Horticulturae*, 2022, vol. 8, article 8228.
11. Jaiswal R., Muller H., Muller A., Karar M.G.E., Kuhnert N. *Phytochem.*, 2014, vol. 108, pp. 252–263.
12. Zhao Y., Lu H., Wang Q., Liu H., Shen H., Xu W., Ge J., He D. *J. Sep. Sci.*, 2021, vol. 44, pp. 1404–1420.
13. Cai Z., Wang C., Zou L., Liu X., Chen J., Tan M., Mei Y., Wei L. *Molecules*, 2019, vol. 24, article 1936.
14. Aita S.E., Capriotti A.L., Cavaliere C., Cerrato A., Giannelli Moneta B., Montone C.M., Piovesana S., Lagana A. *Separations*, 2021, vol. 8, p. 58.
15. Wojakowska A., Piasecka A., Garcia-Lopez P.M., Zamora-Natera F., Krajewski P., Marczak L., Kachlicki P., Stobiecki M. *Phytochem.*, 2013, vol. 92, pp. 71–86.
16. Belmehti O., Bouyahya A., Jeko J., Cziaky Z., Zengin G. et al. *Int. J. Second Metab.*, 2021, vol. 8(3), pp. 195–213.
17. Zengin G., Mahomoodally M.F., Sinan K.I., Ak G., Etienne O.K. et al. *Antioxidants*, 2021, vol. 10, article 792.
18. Trifan A., Zengin G., Sinan K.I., Sieniawska E., Sawicki R., Maciejewska-Turska M., Skalikca-Wozniak K., Luca S.V. *Antioxidants*, 2022, vol. 11, article 1017.
19. Li X., Tian T. *Frontiers in Pharm.*, 2018, vol. 9, article 1067.
20. Vijayan K.P.R., Raghu A.V. *Spectroscopy Letters*, 2019, vol. 52(10), pp. 653–670.
21. Razgonova M.P., Tekutyeva L.A., Podvolotskaya A.B., Stepochkina V.D., Zakharenko A.M., Golokhvast K.S. *Separations*, 2022, vol. 9, article 182.
22. Razgonova M.P., Bazhenova B.B., Zabalueva Y.Y., Burkhanova A.G., Zakharenko A.M. et al. *Applied Sci.*, 2022, vol. 12, article 9401.
23. Hamed A.R., El-Hawary S.S., Ibrahim R.M., Abdelmohsen U.R., El-Halawany A.M. *J. Chrom. Sci.*, 2021, vol. 59(7), pp. 618–626.
24. El-Sayed M.A., Abbas F.A., Refaat S., El-Shafae A.M., Fikry E. *Egypt J. Chem.*, 2021, vol. 64, article 22.
25. Qin D., Wang Q., Li H., Jiang X., Fang K., Wang Q., Li B., Pan C., Wu H. *Food Res. Int.*, 2020, vol. 138 (B), article 109789.
26. Yin N.-W., Wang S.-X., Jia L.-D., Zhu M.-C., Yang J., Zhou B.-J., Yin J.-M., Lu K., Wang R., Li J.-N., Qu C.-M. *Agricult. Food Chem.*, 2019, vol. 67, pp. 11053–11065.
27. Aabideen Z.U., Mumtaz M.W., Akhtar M.T., Mukhtar H., Raza S.A., Touqeer T., Saari N. *Molecules*, 2020, vol. 25, article 4935.
28. Mekom P.N., Martini S., Nguetack J., Tagliacuzzi D., Stefani E. *South African J. of Botany*, 2019, vol. 127, pp. 319–332.
29. Hassan W., Abdelaziz S., Yousef H. *Arabian J. of Chem.*, 2019, vol. 12(3), pp. 377–387.
30. Burgos-Edwards A., Jimenez-Aspee F., Theoduloz C., Schmeda-Hirschmann G. *Food Chem.*, 2018, vol. 30, pp. 144–155.
31. Ruiz A., Hermosín-Gutiérrez I., Vergara C., von Baer D., Zapata M., Hirschfeld A., Obando L., Mardones C. *Food Res. Int.*, 2013, vol. 51 (2), pp. 706–713.
32. Razgonova M., Boiko A.P., Zinchenko Y., Tikhonova N.G., Sabitov A.Sh., Zakharenko A., Golokhvast K.S. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 2023, vol. 47, pp. 155–169.
33. Chen Y., Cai X., Li G., He X., Yu X. et al. *Biomedical Chromatography*, 2021, article 5103.
34. Razgonova M.P., Zakharenko A.M., Golokhvast K.S. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2022, no. 1, pp. 179–191. DOI: 10.14258/jcprm.2022019506. (in Russ.).
35. Salih E., Julkunen-Tiitto R., Lampi A.-M., Kanninen M., Luukkanen O., Sipi M., Lehtonen M., Vuorela H., Fyhrquist P. *J. of Ethnopharmacol.*, 2018, vol. 227, pp. 82–96.

Received June 28, 2023

Revised November 27, 2023

Accepted December 6, 2023

Сведения об авторах

Разгонова Майя Петровна – кандидат технических наук, директор, m.razgonova@vir.nw.ru

Сабитов Андрей Шамилевич – кандидат сельскохозяйственных наук, ведущий научный сотрудник, andrsabitov@rambler.ru

Зинченко Юлия Николаевна – младший научный сотрудник, yuzinch@yandex.ru

Сенотрусова Тамара Алексеевна – кандидат технических наук, научный сотрудник, senotrusova.tale@dvfu.ru

Ли Наталья Гаврошевна – кандидат технических наук, научный сотрудник, li.ng@dvfu.ru

Витомскова Екатерина Анатольевна – кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник, agrarian@maglan.ru

Голохваст Кирилл Сергеевич – доктор биологических наук, профессор, директор, droopy@mail.ru

Information about authors

Razgonova Maya Petrovna – Candidate of Technical Sciences, Director, m.razgonova@vir.nw.ru

Sabitov Andrey Shamilevich – Candidate of Agricultural Sciences, leading researcher, andrsabitov@rambler.ru

Zinchenko Yulia Nikolaevna – junior researcher, yuzinch@yandex.ru

Senotrusova Tamara Alekseevna – candidate of technical sciences, researcher, senotrusova.tale@dvfu.ru

Li Natalya Gavroshevna – candidate of technical sciences, research fellow, li.ng@dvfu.ru

Vitomskova Ekaterina Anatolyevna – candidate of veterinary sciences, senior researcher, agrarian@maglan.ru

Golokhvast Kirill Sergeevich – Doctor of Biological Sciences, Professor, Director, droopy@mail.ru