

УДК 615.322

ИССЛЕДОВАНИЕ СВЕРХКРИТИЧЕСКИХ CO₂-ЭКСТРАКТОВ БАГУЛЬНИКА БОЛОТНОГО *LEDUM PALUSTRE* L. (*RHODODENDRON TOMENTOSUM* НАРМАЈА) И ИДЕНТИФИКАЦИЯ ЕГО МЕТАБОЛИТОВ МЕТОДОМ ТАНДЕМНОЙ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ

© М.П. Разгонова^{1,2*}, А.М. Захаренко^{1,2,3}, К.С. Голохваст^{1,2,3,4}

¹ Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова, ул. Большая Морская, 42, Санкт-Петербург, 190031 (Россия), e-mail: m.razgonova@vir.nw.ru

² Дальневосточный федеральный университет, о. Русский, Аякс, 10, Владивосток, 690922 (Россия)

³ Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий РАН, ул. Центральная, 26, Краснообск, 633501 (Россия)

⁴ Тихоокеанский институт географии ДВО РАН, ул. Радио, 7, Владивосток, 690041 (Россия)

Цель данного исследования – экстрагировать биологически активные соединения методом сверхкритической CO₂ экстракции и идентифицировать полифенольные комплексы и другие целевые аналиты методом тандемной масс-спектрометрии, представленные в листьях и стеблях багульника болотного – была успешно реализована. Для экстракции полифенольных комплексов и других биологически активных соединений багульника болотного *Ledum palustre* L. использован метод сверхкритической CO₂-экстракции. Характеристики сверхкритической CO₂-экстракции *Ledum palustre* L. (давление 350 бар; температура 60 °С; экстракционное время 1 ч, соразворитель MeOH 3.5%), при которых наблюдался наибольший выход биологически активных веществ, получены опытным путем перебора экстракционных условий. Для идентификации целевых аналитов в сверхкритических экстрактах использована тандемная масс-спектрометрия (высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) в комплексе с ионной ловушкой BRUKER DALTONIKS). Результаты исследований выявили присутствие 61 биологически активных соединений, соответствующих виду *Rhododendron*, из них 32 соединения идентифицировано впервые. Это флаванолы дигидрокепферол, арабинозид кверцетина, галактозид мирицетина; флавоны: диосметин, невадензин, цирсимаритин; флаванон нарингенин; антоцианы дельфинидин, петунидин, пентозид цианидина, пентозид дельфинидина, глюкозид пеонидина, малонилглюкозид пеонидина, рутинозид цианидина; эллаговая кислота; лигнан медиоресинол; димер процианидина А-типа; стеролы фукостерол и авенастерол и др.

Ключевые слова: *Ledum palustre*, *Rhododendron tomentosum*, сверхкритическая CO₂-экстракция, тандемная масс-спектрометрия, полифенолы, рододендрон.

Введение

Род *Rhododendron* является самым крупным родом семейства *Ericaceae* (вересковых) и насчитывает около 800 видов [1]. На территории России произрастает 19 видов, основная часть которых (14 видов)

Разгонова Майя Петровна – кандидат технических наук, ВРИО директора Дальневосточной опытной станции, e-mail: m.razgonova@vir.nw.ru

Захаренко Александр Михайлович – кандидат химических наук, ведущий научный сотрудник, заместитель директора по научно-технической работе, e-mail: zacharenko.am@dvfu.ru

Голохваст Кирилл Сергеевич – доктор биологических наук, член-корреспондент РАО, профессор, директор, e-mail: golokhvast@sfscs.ru

встречается только во флоре Сибири и Дальнего Востока. Экспериментальные данные, а также сведения традиционной медицины народов, издавна населяющих территорию российского Дальнего Востока, свидетельствуют о широком использовании рододендронов флоры Сибири и Дальнего Востока в качестве фунгицидных, противовоспалительных, сердечно-сосудистых, тонизирующих,

* Автор, с которым следует вести переписку.

диуретических и антимикробных средств [2, 3]. Обширный ареал обитания данных видов и популярность в народной медицине создают объективные предпосылки для их детального изучения с целью внедрения в медицинскую практику.

Детальное исследование метаболитов растений является исключительно важной задачей, так как позволяет выявить химические вещества (или комплексы веществ), которые обуславливают те или иные полезные свойства растений [4]. Вместе с тем с химической точки зрения многие из этих растений изучены лишь поверхностно, хотя очевидна необходимость получения исчерпывающих сведений о составе вторичных метаболитов, и в особенности это касается тех растений, которые издавна используются в народной медицине [5].

Наиболее широко на территории Сибири и Дальнего Востока распространен *Ledum palustre* L. (*Rhododendron tomentosum*). В официальной медицине данное растение применяют как отхаркивающее средство. Народная медицина использует *L. palustre* для лечения ряда заболеваний органов дыхания, желудочно-кишечного тракта, хронических кожных заболеваний, гипертонии, ревматизма, гельминтозов и др. [6]. Одурманивающий запах, образующийся при сжигании листьев и вызванный резким испарением летучих терпенов, издавна использовался малыми народами Сибири и Дальнего Востока как психоактивное, анальгетическое и наркотизирующее средство [7].

Широкое использование эфирных масел рододендронов в медицине обусловлено наличием в них биологически активных компонентов, которые обладают антимикробными, антифунгицидными, гипотензивными, цитотоксическими и противовоспалительными, рострегулирующими, инсектицидными и другими важными свойствами [8]. Весьма большие возможности применения в медицине имеет и *L. palustre*. В нем обнаружен целый комплекс биологически активных соединений: дубильные вещества, кумарины, флавоноиды, фенолы, фенолоксилоны, катехины, микроэлементы, аскорбиновая кислота, тритерпеноиды и фитостерины [9]. Наибольший интерес, однако, вызывает изучение биологической активности эфирного масла багульника болотного. В первую очередь следует обратить внимание на возбуждение им центральной нервной и сердечно-сосудистой систем и противопаразитарные свойства [10].

Биологически активные соединения багульника болотного *L. palustre* эффективно экстрагируются с помощью органических растворителей, например метанола и этанола. Но экстракционные продукты на завершающей фазе нуждаются в дополнительной очистке от следовых количеств примененных растворителей. Сверхкритическая флюидная CO₂-экстракция может использоваться как альтернатива традиционным методам экстрагирования: мацерации или Сокслет-экстракции. Сверхкритическая флюидная CO₂-экстракция используется с конца 1970-х годов для аналитических процедур в оценке пищевых продуктов, выделения биологически активных веществ и определения уровней липидов в продуктах питания, а также уровней токсичных веществ. При сверхкритической экстракции в продуктах отсутствуют остатки органических растворителей, которые возникают при использовании обычных экстракционных методов, а растворители могут быть токсичными, например, в случае метанола и *n*-гексана. Легкое удаление растворителя из конечного продукта, высокая селективность и умеренные экстракционные температуры являются основными привлекательными факторами сверхкритической технологии, ведущими к значительному увеличению исследований для применения в пищевой и фармацевтической промышленности. При сравнении возможных сверхкритических растворителей диоксид углерода имеет наиболее привлекательные преимущества: нетоксичность, негорючесть, экологичность и возобновляемость ресурса [11].

Попова и др. (2018) исследовали влияние параметров сверхкритической CO₂-экстракции и качества исходного сырья *L. palustre* на выходы хлорофиллов и каротиноидов из *L. palustre*. Полученные данные значимы для фармацевтической, пищевой и парфюмерно-косметической промышленности, где требуются натуральные красители и антиоксиданты [12]. Биологически активные вещества *L. palustre* экстрагировали методом сверхкритической флюидной CO₂-экстракции с использованием этанола в качестве соразтворителя.

Vaananou et al. (2015) сообщали о противовоспалительной активности двух экстрактов из наземных частей *L. palustre* [13]. Эфирные масла багульника болотного получали двумя методами: с помощью сверхкритической CO₂-экстракции и с помощью гидродистилляции. Результаты *in vitro* показывают, что эфирное масло *L. palustre* значительно усиливает подавление отеков (50–73%) для масла, полученного методом гидродистилляции и (52–80%), для масла, полученного методом сверхкритической экстракции.

Цель данного исследования – экстрагировать биологически активные соединения методом сверхкритической CO₂ экстракции в диапазоне давлений 100–400 бар и идентифицировать полифенольные ком-

плексы и другие целевые аналиты методом тандемной масс-спектрометрии, представленные в листьях и стеблях багульника болотного *L. palustre*, собранных в Приморском крае (Лазовский район) на отрогах Сихотэ-Алиня. Ранее авторы данной статьи успешно использовали сверхкритическую CO₂-экстракцию для получения биологически активных веществ из растений дальневосточной тайги *Panax ginseng*, *Rhododendron adamsii*, *Rhododendron sichotense*, *Rhodiola rosea*, чрезвычайно популярных лекарственных растений в традиционной медицине Юго-Восточной Азии [14].

Материалы и методы

В качестве объекта исследования были использованы листья и веточки багульника болотного *L. palustre*, собранные на северных отрогах Сихотэ-Алиня, Лазовский район, Приморский край. Все образцы морфологически соответствовали фармакопейным стандартам Государственной фармакопеи Российской Федерации [15].

Сверхкритическая CO₂-экстракция листьев и веточек *L. palustre* выполнена с помощью сверхкритической системы флюидной экстракции Thar SFE-500F-2-FMC50 (США). В исследовании давление сверхкритического CO₂ варьировалось от 100 бар до 400 бар, время воздействия 1 ч. Температура варьировалась от 35 до 60 °С. В системе флюидной экстракции использовался косольвент MeOH (Sigma-Aldrich, США) в соотношении к основному растворителю 3.5%. Объем экстракционной колбы сверхкритической системы флюидной экстракции составляет 0.5 л. Масса загружаемой для экстракции растительной матрицы составила 60 г отдельно для каждого эксперимента.

Высокоэффективная жидкостная хроматография. Для выполнения разделения многокомпонентных смесей использовался жидкостный хроматограф высокого давления Shimadzu LC-20 Prominence HPLC (Shimadzu, Япония), оборудованный UV-детектором и обратнофазной колонкой C18. Программа элюции градиента следующая: 0.0–4 мин, 100% CH₃CN; 4–60 мин, 100%–25% CH₃CN; 60–75 мин, 25%–0% CH₃CN; контрольная промывка 75–120 мин 0% CH₃CN. Весь ВЭЖХ-анализ сделан с UV-vis детектором SPD-20A (Shimadzu, Япония) при длинах волн 230 нм и 330 нм (данные длины волн соответствуют областям поглощения, характерным для фенольных веществ, в том числе используются при хроматографии танинов, флаваноидов и производных кумаровых кислот). Эффективная рабочая температура 17 °С. Объем впрыска составлял 1 мл.

Тандемная масс-спектрометрия. Масс-спектрометрические данные получены с помощью ионной ловушки amaZon SL (производство фирмы «BRUKER DALTONIKS», Германия), оснащенной источником ионизации электрораспылением ESI в режимах отрицательных и положительных ионов. Оптимизированные параметры получены следующим образом: температура источника ионизации: 70 °С, поток газа: 4 л/мин, газ-небулайзер (распылитель): 7.3 psi, капиллярное напряжение: 4500 V, напряжение на изгибе торцевой пластины: 1500 V, фрагментатор: 280 V, энергия столкновения: 60 eV. Масс-спектрометр использовался в диапазоне сканирования m/z 100–1.700 для MS и MS/MS. Ионная ловушка AmaZon SL оснащена специализированным программным обеспечением по управлению и по сопряжению её с 8 основными производителями систем ВЭЖХ. Для синхронизации с хроматографом Shimadzu использовался софт Compass HyStar (Версия Bruker Compass HyStar 4.1 SR1 (4.1.28.0)).

Результаты исследований

Исследовано несколько экспериментальных экстракционных условий в диапазоне давлений 100–400 бар, с использованным объемом соразтворителя метанола в количестве 3.5% в жидкой фазе при температуре 31–60 °С. Экстрагирование проводили сверхкритическим CO₂, подаваемым при постепенном повышении рабочего давления, которое доводили соответственно до 100–400 бар, в зависимости от порядкового номера эксперимента. Одновременно из емкости с соразтворителем с помощью насоса добавляли в экстракционный сосуд соразтворитель – водный раствор MeOH. После заполнения экстракционного сосуда и достижения рабочего давления проводили экстракцию при рабочем давлении 100–400 бар и температуре 31–60 °С в течение 1 ч. Полученный жидкий экстракт упаривают в роторном пленочном испарителе при температуре 30 °С с предварительным насыщением CO₂ под давлением не менее 0.5 бар для удаления кислорода. Упаривание жидкого экстракта продолжают до получения пастообразной массы, которую затем подают на стадию высушивания. В результате применения широкого диапазона давлений и температур найдены наиболее под-

ходящие условия экстракции для извлечения целевых аналитов из листьев и веточек багульника болотного *L. palustre*. Наиболее эффективные условия экстракции, полученные опытным путем – это экстрактивный выход биологически активных веществ багульника болотного в количестве 8.95 мг/г загружаемой растительной матрицы при давлении 350 бар и температуре 60 °С. 3D-график зависимости совокупного выхода биологически активных веществ *L. palustre* от экстракционных условий представлен на рисунке 1.

Уточнение метаболомного состава – чрезвычайно важный результат в системе биохимического анализа. В данной работе был использован метод ВЭЖХ-МС/МС с дополнительной ионизацией и анализом фрагментированных ионов. Высокоточные масс-спектрометрические данные регистрировались на ионной ловушке AMAZON SL BRUKER DALTONIKS, оснащенной источником ESI в режиме отрицательных/положительных ионов.

Всего на ионной хроматограмме было обнаружено 300 пиков присутствующих соединений в экстракте (рис. 2). Из них 61 пик удалось идентифицировать и детально показать дефрагментацию ионов целевого аналита, примеры на рисунках 3–5.

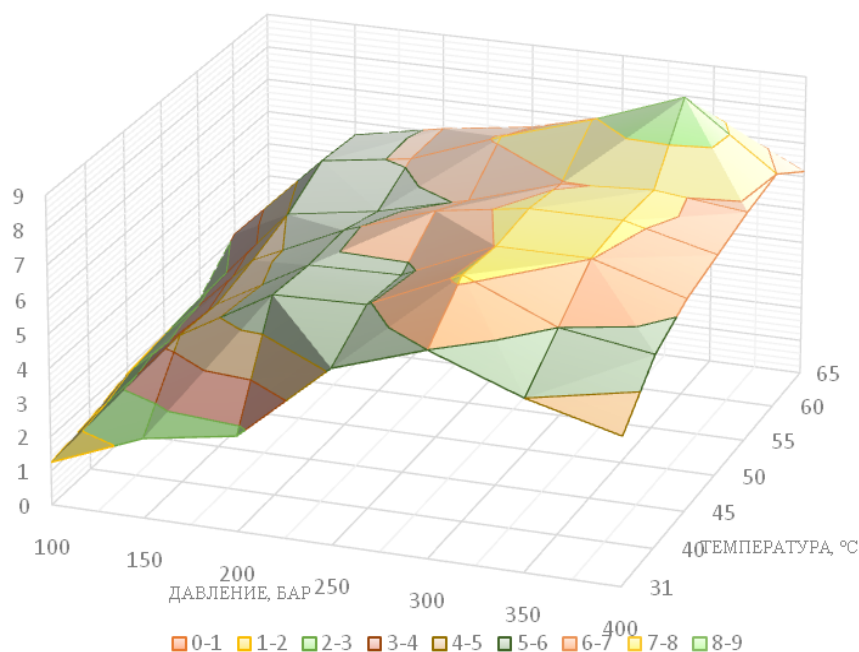


Рис. 1. 3D-график зависимости совокупного выхода биологически активных веществ *L. palustre* от экстракционных условий

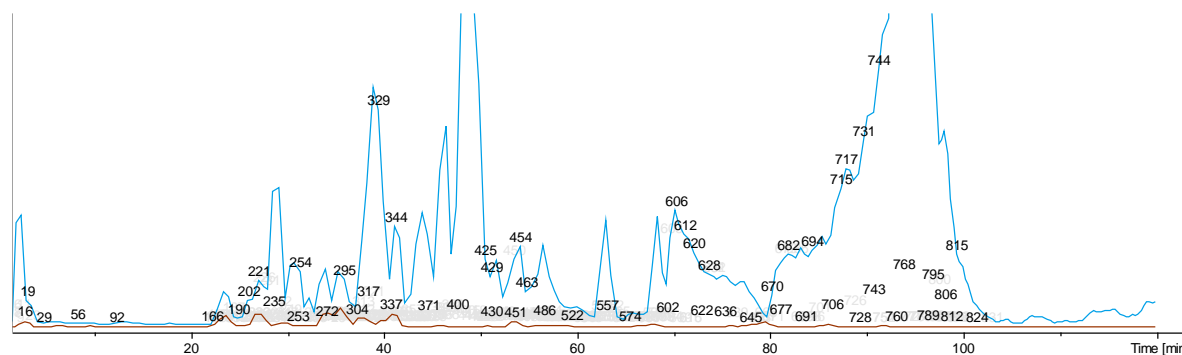


Рис. 2. Распределенный график тандемной масс-спектрометрии анализируемых целевых аналитов сверхкритического экстракта *L. palustre*, представленный ионной хроматограммой (Голубая линия – график интенсивности сигнала положительных ионов; коричневая линия – график интенсивности сигнала отрицательных ионов)

По факту определения целевых аналитов составлена унифицированная системная таблица молекулярных масс соединений, идентифицированных в сверхкритическом CO₂-экстракте *L. palustre* (табл.). В результате масс-спектрометрического исследования идентифицировано 61 соединение, из них 32 соединения обнаружены в *L. palustre* впервые. Идентификация соединений (значения *m/z* и фрагментированные ионы) производилась путем сравнения полученных экспериментальных данных с известными научными результатами (*Rhus coriaria* [16], *Vitis vinifera* [17], *Halophytes* [18], *Rhododendron genus* [19], *L. palustre* [20], *Mentha spicata* [21], *Bituminaria bituminosa* [22] и др.).

Целевые аналиты, идентифицированные в сверхкритическом CO₂-экстракте багульника болотного *L. palustre*

№	Группы соединений	Соединение	Химическая формула	Молярная масса	Ион-аддукт [M-H] ⁻	Ион-аддукт [M+H] ⁺	MS/MS фрагментация 2 порядка	MS/MS фрагментация 3 порядка	MS/MS фрагментация 4 порядка	Использованные источники
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1	Флаванол	Kaempferol [3,5,7-Trihydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)-4H-chromen-4-one]	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	286.24		287	286; 205; 163	181	163	[16; 17]
2	Флаванол	Dihydrokaempferol [Aromadendrin; Katuranin]	C ₁₅ H ₁₂ O ₆	288.25		289	273; 189	229		[18]
3	Флаванол	Quercetin	C ₁₅ H ₁₂ O ₇	302.24	301	303	285; 163	181; 145	163	[17; 29; 30]
4	Флаванол	Dihydroquercetin [Taxifolin; Taxifoliol]	C ₁₅ H ₁₂ O ₇	304.25	303		285	241; 215; 135	171	[6; 17]
5	Флаванол	Rhamnetin I [beta-Rhamnocitrin; Quercetin 7-Methyl ether]	C ₁₆ H ₁₂ O ₇	316.26		317	257; 269; 216	230		[9; 16]
6	Флаванол	Myricetin [3,5,7-Trihydroxy-2-(3,4,5-Trihydroxyphenyl)-4H-Chromen-4-One]	C ₁₅ H ₁₀ O ₈	318.24	317		299; 241	240; 197	239; 197	[17; 18]
7	Флаванол	Ampelopsin [Dihydromyricetin; Ampeloptin]	C ₁₅ H ₁₂ O ₈	320.25	319		317; 275	257; 217		[16; 30]
8	Флаванол	Quercetin-3,7,3',4'-Tetramethyl ether [Retusin; Tetramethoxyquercetin]	C ₁₉ H ₁₈ O ₇	358.34		359	344	329; 301; 283; 252	301; 283; 255	[9; 21]
9	Флаванол	Avicularin (Quercetin 3-Alpha-L-Arabinofuranoside; Avicularoside)	C ₂₀ H ₁₈ O ₁₁	434.35		435	303; 377	257; 153	229; 167	[23]
10	Флаванол	Quercetin-3-O-arabinoside	C ₂₀ H ₁₈ O ₁₁	434.35	433		301	179; 121 271;	151	[17]
11	Флаванол	Quercetin pentoside	C ₂₀ H ₁₈ O ₁₁	434.35	433		301	178; 121	151	[18; 19]
12	Флаванол	Quercitrin [Quercetin 3-L-Rhamnoside; Quercetrin]	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	448.38	447		301	271; 179	151	[17; 19]
13	Флаванол	Hyperoside (Quercetin 3-O-galactoside; Hyperin)	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	464.38		465	303	257; 191	229; 173	[28; 30]
14	Флаванол	Quercetin 3-O-glucoside	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	464.38	463		301; 179	271; 179; 151	151	[17; 23; 28]

Продолжение таблицы

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
15	Флаванол	Myricetin-3- <i>O</i> -galactoside	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₃	480.38		481	317; 291; 215	302; 139	235; 153	[17; 30]
16	Флаванол	Quercetin 3- <i>O</i> -(6''- <i>O</i> -acetyl)-galactoside [Quercetin 3-(6- <i>O</i> -acetylhyperoside)]	C ₂₃ H ₂₂ O ₁₃	506.41	505		300; 463; 145	271; 179		[28]
17	Флаванол	Quercetin 3- β -D (6- <i>p</i> -hydroxybenzoyl) galactoside	C ₂₈ H ₂₄ O ₁₄	584.48	583		463; 343; 301	301; 151	271; 179	[20]
18	Флаванол	Rutin (Quercetin 3- <i>O</i> -rutinoside)	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	610.52	609		463; 343; 301; 255; 179	301	255; 179	[17; 29]
19	Флаван	Apigenin [5,7-Dihydroxy-2-(4 <i>H</i> -hydroxyphenyl)-4 <i>H</i> -chromen-4-one]	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	270.24		271	253; 199	224; 193		[24; 32; 37]
20	Флаван	6,7-Dihydroxy-4'-methoxyisoflavone	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	284.26		285	270; 242; 167	242	197; 124	[34]
21	Флаван	Apigenin-7,4'-dimethyl ether	C ₁₇ H ₁₄ O ₅	298.29		299	284	256; 165	255; 211	[24]
22	Флаван	Diosmetin	C ₁₆ H ₁₂ O ₆	300.26		301	283; 177	264.98	200.98	[34; 37]
23	Флаван	Cirsimaritin	C ₁₇ H ₁₄ O ₆	314.29		315	300	272	243; 167	[24]
24	Флаван	Nevadensin	C ₁₈ H ₁₆ O ₇	344.32		345	330	315; 179	287; 259; 167	[24; 34]
25	Флаванон	Naringenin [Naringetol; Naringenine]	C ₁₅ H ₁₂ O ₅	272.52		273	256; 188	212; 188; 171		[17; 29]
26	Флаван-3-ол	Catechin [D-Catechol]	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	290.27		291	271; 233; 216; 193	255; 245; 215		[9; 19; 28]
27	Флаван-3-ол	Epicatechin	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	290.27		291	273	245; 148		[6; 17; 18; 19]
28	Антоцианин	Delphinidin	C ₁₅ H ₁₁ O ₇	303.24		304	212; 289	212; 111		[18]
29	Антоцианин	Petunidin	C ₁₆ H ₁₃ O ₇₊	317.27		318	256	212; 112	168; 112	[18]
30	Антоцианин	Cyanidin-pentoside	C ₂₀ H ₁₉ O ₁₀	419.36		419	287	241; 165	129	[26]
31	Антоцианин	Delphinidin pentoside	C ₂₀ H ₁₉ O ₁₁	435.36		303	257; 137	229		[26]
32	Антоцианин	Cyanidin-3- <i>O</i> -glucoside	C ₂₁ H ₂₁ O ₁₁₊	449.38		287	287; 213; 137	185; 115		[17; 26]
33	Антоцианин	Peonidin 3-(6- <i>O</i> -acetyl)glucoside	C ₂₄ H ₂₅ O ₁₂	505.45		506	303; 205	257; 187	229	[17]
34	Антоцианин	Peonidin-3- <i>O</i> -malonylglucoside	C ₂₅ H ₂₅ O ₁₄	549.46	547		300; 427; 505; 255; 179	271; 179	271; 242	[27]

Продолжение таблицы

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
35	Антоцианин	Cyanidin-3-rutinoside [Keracyanin; Antirrhinin; Sambucin]	C ₂₇ H ₃₁ O ₁₅	595.53		595	287; 449	287; 213; 137	185; 141	[26]
36	Антоцианин	Peonidin 3-O-rutinoside	C ₂₈ H ₃₃ O ₁₅	609.55	609		463; 343; 301; 179	301	245.98; 178.90	[26]
37	Сложный эфир кофейной кислоты	Chlorogenic acid [3-O-Caffeoylquinic acid]	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	354.31	353		191; 135	173; 127		[6; 17; 19; 28; 29]
38	Сложный эфир кофейной кислоты	Neochlorogenic acid [5-O-Caffeoylquinic acid]	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	354.31	353		191	173		[19; 28; 29]
39	Сложный эфир кофейной кислоты	3-O-Caffeoylquinic acid methyl ether	C ₁₇ H ₂₀ O ₉	368.34		369	207; 271; 339	207	153	[28]
40	Гидроксibenзойная кислота	Ellagic acid [Benzoic acid; Elagostasine; Lagistase; Eleagic acid]	C ₁₄ H ₆ O ₈	302.19		303	284; 181	256	240; 185	[17; 27]
41	Кумарин	Fraxetin	C ₁₀ H ₈ O ₅	208.17		209	148.96	120.96		[9; 31; 36]
42	Кумарин	Esculin [Aesculin; Esculoside; Polichrome]	C ₁₅ H ₁₆ O ₉	340.28		341	281; 217; 151	174.96		[9; 17; 18; 25; 31; 36]
43	Глюкозид кумарина	Fraxin (Fraxetin-8-O-glucoside)	C ₁₆ H ₁₈ O ₁₀	370.31	369		207; 354 209;	192	164; 120	[17; 31; 36]
44	Лигнан	Medioresinol	C ₂₁ H ₂₄ O ₇	388.41		389	245; 271 425;	149		[22]
45	Таннин	Procyanidin A-type dimer	C ₃₀ H ₂₄ O ₁₂	576.5		577	559; 287 135;	287	227; 137	[17; 28]
46	Феноловый амин	N-Caffeoylputrescine	C ₁₃ H ₁₈ N ₂ O ₃	250.29		251	233			[25]
47	Эфир галловой кислоты	Beta-Glucogallin [1-O-Galloyl-Beta-D-Glucose; Galloyl glucose]	C ₁₃ H ₁₆ O ₁₀	332.26	331.03		169;	150		[27]
Другие соединения										
48	Карбоновая кислота	Myristoleic acid [Cis-9-Tetradecanoic acid]	C ₁₄ H ₂₆ O ₂	226.36		227	209; 117	139		[18]
49	Октадекатетраеновая кислота	Stearidonic acid [6,9,12,15-Octadecatetraenoic acid; Moroctic acid]	C ₁₈ H ₂₈ O ₂	276.41		277	275; 207	257	157.11	[35]
50	Одноосновная карбоновая кислота	Stearic acid [Octadecanoic acid; Stearophanic acid]	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	284.48		285	284; 229; 163	181; 135	163.03	[35]
51	Карбоновая кислота	Oxo-nonadecanoic acid	C ₁₉ H ₃₆ O ₃	312.49		313	298	270; 297	181	[18]
52	Оксилипин	Hydroperoxy-octadecadienoic acid isomer	C ₁₈ H ₃₂ O ₄	312.32	311		183			[25]
53	Стерол	Fucosterol [Fucostein; Trans-24-Ethylidenecholesterol]	C ₂₉ H ₄₈ O	412.69		413	395; 357; 203	333.10; 233		[18]
54	Стерол	Avenasterol [Delta7-Avenasterol; 7-Dehydroavenasterol]	C ₂₉ H ₄₈ O	412.69		413	395; 317; 203; 127	353; 203; 127		[18]
55	Терпеновый трилактон	Bilobalide [(-)-Bilobalide]	C ₁₅ H ₁₈ O ₈	326.30	325		183	183; 119	119	[33]

Окончание таблицы

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
56	Пентациклический тритерпен	Alpha-Amyrin [Viminalol]	C ₃₀ H ₅₀ O	426.72		427	408; 309; 203	389; 309	373; 229; 143	[5]
57	Пентациклический тритерпен	Lupeol [Fagarasterol; Clerodol; Monogynol B; Lupenol]	C ₃₀ H ₅₀ O	426.72		427	409; 203	389; 248	371; 265	[5]
58	Тритерпеноид	Uvaol	C ₃₀ H ₅₀ O ₂	442.72		443	425; 233 439; 411; 357;	407; 325 421; 395; 311;	389; 231	[5; 18]
59	Тритерпеновая кислота	Oleanoic acid	C ₃₀ H ₄₈ O ₃	456.70		457	326; 291; 239; 221; 175	286; 250; 228; 201; 175 305;		[5; 24; 28]
60	Фитогормон	GA8-hexose gibberellin	C ₂₅ H ₃₄ O ₁₂	526.53		527	365	275; 203	144	[27]
61	Фторциклин	Eravacycline	C ₂₇ H ₃₁ FN ₄ O ₈	558.56		559	289	271; 217		[21]

На рисунках 3–5 показаны примеры расшифровки масс-спектров ионной хроматограммы, полученной с помощью тандемной масс-спектрометрии. Масс-спектр флаванола гиперозида в режиме положительных ионов, полученный из сверхкритического CO₂-экстракта *L. palustre*, показан на рисунке 3.

[M+H]⁺ ион продуцирует один фрагментированный ион, m/z 302.97 (рис. 3). Фрагментированный ион (m/z 303) формирует шесть характерных дочерних ионов (m/z 285, m/z 257, m/z 229, m/z 201, m/z 165, m/z 137). Фрагментированный ион m/z 257 формирует два дочерних иона: m/z 229 и m/z 201. В нижеприведенных статьях данное соединение идентифицируется как флаванол гиперозид: *Impatiens glandulifera* Royle [30]; *pear* [28].

Масс-спектр тетраметоксикверцетина в режиме положительных ионов, полученный из сверхкритического CO₂-экстракта *L. palustre*, показан на рисунке 4.

[M+H]⁺ ион продуцирует один фрагментированный ион, m/z 343.98 (рис. 4). Фрагментированный ион m/z 343.98 формирует один дочерний ион: m/z 329. Фрагментированный ион m/z 329 формирует два дочерних иона: m/z 300.97 и m/z 166.96. В нижеприведенных научных статьях данное соединение идентифицируется как флаванол тетраметоксикверцетин (ретузин): *Ledum decumbens* [4]; *Mentha spicata* [21].

Масс-спектр фитогормона GA8-гексоза гиббереллина в режиме положительных ионов, полученный из сверхкритического CO₂-экстракта *L. palustre*, показан на рисунке 5. [M+H]⁺ ион продуцирует один фрагментированный ион, m/z 343.98 (рис. 5). Фрагментированный ион m/z 343.98 формирует один дочерний ион: m/z 329.01. Фрагментированный ион m/z 329.01 формирует два дочерних иона: m/z 300.97 и m/z 166.96. Данное соединение идентифицируется, как тетраметоксикверцетин (ретузин): *Ledum decumbens* [6]; *Mentha spicata* [21].

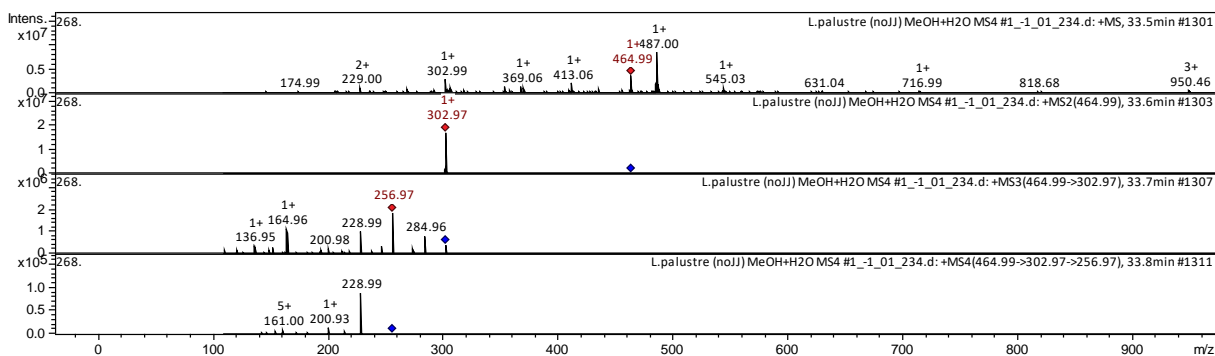


Рис. 3. Масс-спектр гиперозида, полученный из сверхкритического CO₂-экстракта *L. palustre*, m/z 464.99

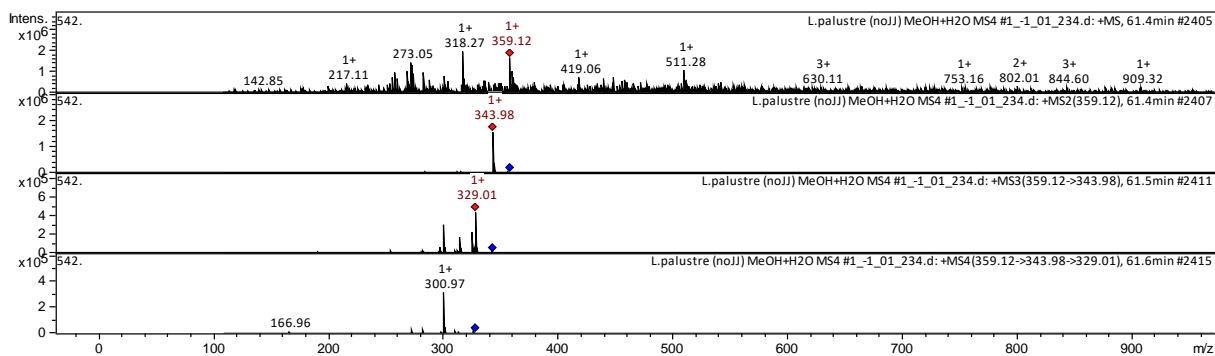


Рис. 4. Масс-спектр соединения тетраметоксикверцетина, полученный из сверхкритического CO₂-экстракта *L. palustre*, m/z 359.12

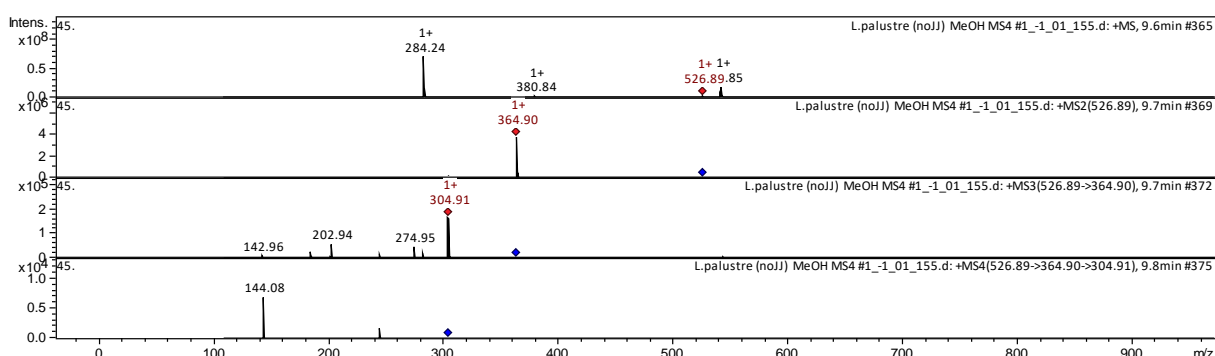


Рис. 5. Масс-спектр фитогормона GA8-гексоза гиббереллина, полученный из сверхкритического CO₂-экстракта *L. palustre*, m/z 526.89

[M+H]⁺ ион продуцирует один фрагментированный ион, m/z 364.90 (рис. 5). Фрагментированный ион m/z 364.90 формирует три дочерних иона: m/z 304.91, m/z 274.95, m/z 202.94. Соответственно, фрагментированный ион m/z 304.91 формирует один дочерний ион: m/z 144.08. В нижеприведенной научной статье данное соединение идентифицируется как фитогормон GA8-гексоза гиббереллин: *Fragaria vesca* [27].

Таким образом, в сверхкритических экстрактах багульника болотного было идентифицировано 61 биологически активное соединение. Из них 32 компонента были идентифицированы впервые в данном виде растения. Это флаванолы дигидрокепферол, арабинозид кверцетина, галактозид мирицетина; флавоны: диосметин, невадензин, цирсимаритин; флаванон нарингенин; антоцианы дельфинидин, петунидин, пентозид цианидина, пентозид дельфинидина, глюкозид пеонидина, малонилглюкозид пеонидина, рутинозид цианидина; эллаговая кислота; лигнан медиоресинол; феноловый амин N-кофеилпутресцин, галлоил глюкоза, миристолеиновая кислота, стеариновая кислота, оксононадекановая кислота, стеролы: фуко-стерол и авенастерол, фитогормон GA8-гексоза гиббереллин и др.

Заключение

Багульник болотный *Ledum palustre* L. (*Rhododendron tomentosum* Норманна) содержит большое количество эфирных масел и полифенольных комплексов, являющихся биологически активными соединениями.

Для экологически чистой экстракции целевых полифенольных комплексов и других биологически активных соединений багульника болотного *Ledum palustre* L. использована сверхкритическая CO₂-экстракция.

Наибольший выход биологически активных веществ (8 мг/г) наблюдался при следующих условиях СКФ CO₂-экстракции: давление 350 бар; температура 60 °С; экстракционное время 1 ч, соразтворитель MeOH 3.5%.

Идентификация целевых анализов в СКФ-экстрактах выполнена с использованием тандемной масс-спектрометрии (высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) в комплексе с ионной ловушкой BRUKER DALTONIKS).

Данные масс-спектрометрии продемонстрировали в СКФ-экстрактах присутствие 61 биологически активного соединения, соответствующих виду *Rhododendron*, из них 32 соединения идентифицировано впервые. Это флаванолы дигидрокепферол, арабинозид кверцетина, галактозид мирицетина; флавоны: диосметин, невадензин, цирсимаритин; флаванон нарингенин; антоцианы дельфинидин, петунидин, пентозид цианидина, пентозид дельфинидина, глюкозид пеонидина, малонилглюкозид пеонидина, рутинозид цианидина; эллаговая кислота; лигнан медиоресинол; димер процианидина А-типа; стеролы фукостерол и авенастерол и др.

Список литературы

1. Пояркова А.И. Род Рододендрон // Флора СССР. М.; Л., 1952. Т. 18. С. 31–60.
2. Арсеньев В.К. По Уссурийскому краю (Дерсу Узала). Путешествие в горную область Сихотэ-Алинь. Владивосток, 1921. 280 с.
3. Белоусова Н.И., Хан В.А., Ткачев А.В. Химический состав эфирного масла багульников // Химия растительного сырья. 1999. №3. С. 5–38.
4. Охлопкова Ж.М., Чирикова Н.К. Исследование компонентного состава эфирного масла багульника болотного, произрастающего в Якутии // Fundamental Research. 2012. №11. С. 1334–1336.
5. Букреева Т.В., Шаварда А.Л., Магусевич О.В., Морозов М.А. Урсановые, олеанановые и лупановые тритерпеноиды листьев *Ledum palustre* (Ericaceae) на Северо-западе России // Растительные ресурсы. 2013. Т. 49. №2. С. 395–403.
6. Ганина М.М., Попова О.И. Содержание фенольных соединений в побегах багульника стелющегося (*Ledum decumbens* Lodd. ex Steud), произрастающего на территории Ямало-Ненецкого автономного округа // Химико-фармацевтический журнал. 2015. Т. 49. №4. С. 33–35.
7. Подмаскин В.В. Народные знания ороков (ульета) // Россия и АТР. 2011. №1(71). С. 107–113.
8. Изотов Д.В. Эфирные масла и водомасляные продукты видов рода *Ledum* L., произрастающих на Дальнем Востоке: дис. ... канд. биол. наук. Владивосток, 2009. 235 с.
9. Коротаева М.С. Фармакогностическое изучение четырех видов рода *Ledum* L.: дис. ... канд. биол. наук. Ярославль, 2006. 240 с.
10. Пляшечник М.А. Химический состав эфирного масла *Ledum palustre* L. (Ericaceae) при увеличении содержания доступного азота в почве криолитозоны (Центральная Эвенкия) // Химия растительного сырья. 2012. №2. С. 139–144.
11. Baldino L., Reverchon E. Challenges in the production of pharmaceutical and food related compounds by SC-CO₂ processing of vegetable matter // J. Supercrit. Fluids. 2018. Vol. 134. Pp. 269–273. DOI: 10.1016/j.supflu.2017.11.034.
12. Попова А.С., Ивахнов А.Д., Скребец Т.Э., Боголицын К.Г. Сверхкритическая флюидная экстракция хлорофиллов и каротиноидов багульника болотного (*Ledum palustre*) // Химия растительного сырья. 2018. №1. С. 61–66. DOI: 10.14258/jcprm.2018012994.
13. Baananou S., Bagdonaite E., Marongiu B., Piras A., Porcedda S., Falconieri D., Boughattas N.A. Supercritical CO₂ extract and essential oil of aerial part of *Ledum palustre* L. – Chemical composition and anti-inflammatory activity // Natural Product Research. 2015. Vol. 29(11). Pp. 999–1005. DOI: 10.1080/14786419.2014.965167.
14. Razgonova M.P., Zakharenko A.M., Grudev V., Ercisli S., Golokhvast K.S. Comparative analysis of the multicomponent composition of Far East Sikhotinsky Rhododendron (*Rh. sichotense*) and East Siberian Rhododendron (*Rh. adamsii*) using supercritical CO₂-extraction and HPLC-MS/MS spectrometry // Molecules. 2020. Vol. 25(17). P. 3774. DOI: 10.3390/molecules25173774.
15. Государственная фармакопея Российской Федерации. М., 2018. Т. 1–3.
16. Abu-Reidah I. M., Ali-Shtayeh M.S., Jamous R.M., Arraes-Roman D., Segura-Carretero A. HPLC-DAD-ESI-MS/MS screening of bioactive components from *Rhus coriaria* L. (Sumac) fruits // Food Chem. 2015. Vol. 166. Pp. 179–191. DOI: 10.1016/j.foodchem.2014.06.011.
17. Goufo P., Singh R.K., Cortez I. A Reference List of Phenolic Compounds (Including Stilbenes) in Grapevine (*Vitis vinifera* L.) Roots, Woods, Canes, Stems, and Leaves // Antioxidants. 2020. Vol. 9. P. 398. DOI: 10.3390/antiox9050398.
18. 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. Pp. 618–626. DOI: 10.1093/chromsci/bmaa112.
19. Jaiswal R., Jayasinghe L., Kuhnert, N. Identification and characterization of proanthocyanidins of 16 members of the Rhododendron genus (*Ericaceae*) by tandem LC-MS // J. Mass Spectrom. 2012. Vol. 47. Pp. 502–515. DOI: 10.1002/jms.2954.
20. Jin C., Strembiski W., Kulchytska Y., Micetich R.G., Daneshtalab M. Flavonoid glycosides from *Ledum palustre* L. subsp. *decumbens* (ait) Hulton // DARU J. Pharm. Sci. 1999. Vol. 7(4). Pp. 5–8.
21. 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. DOI: 10.3389/fphar.2018.01067.

22. Llorent-Martinez E.J., Spinola V., Gouveia S., Castilho P. HPLC-ESI-MSn characterization of phenolic compounds, terpenoid saponins, and other minor compounds in *Bituminaria bituminosa* // *Industrial Crops and Products*. 2015. Vol. 69. Pp. 80–90. DOI: 10.106/j.indcrop.2015.02.014.
23. Lommen A., Godejohann M., Venema D.P., Hollman P.C.H., Spraul M. Application of Directly Coupled HPLC-NMR-MS to the Identification and Confirmation of Quercetin Glycosides and Phloretin Glycosides in Apple Peel // *Anal. Chem.* 2000. Vol. 72(8). Pp. 1793–1797. DOI: 10.1021/ac9912303.
24. Pandey R., Kumar B. HPLC-QTOF-MS/MS-based rapid screening of phenolics and triterpenic acids in leaf extracts of *Ocimum* species and their interspecies variation // *J. Liquid Chromatogr. & Related Technol.* 2016. Vol. 39(4). Pp. 225–238. DOI: 10.1080/10826076.2016.1148048.
25. Rodriguez-Perez C., Gomez-Caravaca A.M., Guerra-Hernandez E., Cerretani L., Garcia-Villanova B., Verardo V. Comprehensive metabolite profiling of *Solanum tuberosum* L. (potato) leaves T by HPLC-ESI-QTOF-MS // *Food Res. Int.* 2018. Vol. 112. Pp. 390–399. DOI: 10.1016/j.foodres.2018.06.060.
26. Ruiz A., Hermosin-Gutierrez 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. DOI: 10.1016/j.foodres.2013.01.043.
27. Sun J., Liu X., Yang T., Slovin J., Chen P. Profiling polyphenols of two diploid strawberry (*Fragaria vesca*) inbred lines using UHPLC-HRMSn // *Food Chem.* 2014. Vol. 146. Pp. 289–298. DOI: 10.1016/j.foodchem.2013.2013.08.089.
28. Sun L., Tao S., Zhang S. Characterization and Quantification of Polyphenols and Triterpenoids in Thinned Young Fruits of Ten Pear Varieties by UPLC-Q TRAP-MS/MS // *Molecules*. 2019. Vol. 24(1). P. 159. DOI: 10.3390/molecules24010159.
29. Vallverdu-Queralt A., Jauregui O., Medina-Rejon A., Lamuela-Raventos R.M. Evaluation of a Method To Characterize the Phenolic Profile of Organic and Conventional Tomatoes // *Agricult. Food Chem.* 2012. Vol. 60(13). Pp. 3373–3380. DOI: 10.1021/jf204702f.
30. Viera M.N., Winterhalter P., Jerz G. Flavonoids from the flowers of *Impatiens glandulifera* Royle isolated by high performance countercurrent chromatography // *Phytochem. Anal.* 2016. Vol. 27. Pp. 116–125. DOI: 10.1002/pca.2606.
31. Wang Z., Zhu W., Liu H., Wu G., Song M., Yang B., Yang D., Wang Q., Kuang H. Simultaneous Determination of Aesculin, Aesculetin, Fraxetin, Fraxin and Polydatin in Beagle Dog Plasma by UPLC-ESI-MS/MS and Its Application in a Pharmacokinetic Study after Oral Administration Extracts of *Ledum palustre* L. // *Molecules*. 2018. Vol. 23(9). P. 2285. DOI: 10.3390/molecules23092285.
32. Wojakowska A., Perkowski J., Goral T., Stobiecki M. Structural characterization of flavonoid glycosides from leaves of wheat (*Triticum aestivum* L.) using LC/MS/MS profiling of the target compounds // *J. Mass. Spectrom.* 2013. Vol. 48. Pp. 329–339. DOI: 10.1002/jms.3160.
33. Xiao J., Wang T., Li P., Liu R., Li Q., Bi K. Development of two step liquid-liquid extraction tandem UHPLC-MS/MS method for the simultaneous determination of Ginkgo flavonoids, terpene lactones and nimodipine in rat plasma: Application to the pharmacokinetic study of the combination of Ginkgo biloba dispersible tablets and Nimodipine tablets // *J. Chromatogr. B.* 2016. Vol. 1028. Pp. 33–41. DOI: 10.1016/j.jchromb.2016.06.005.
34. Xu L.L., Xu J.J., Zhong K.R., Shang Z.P., Wang F., Wang R.F., Liu B. Analysis of non-volatile chemical constituents of *Menthae Haplocalycis* herba by ultra-high performance liquid chromatography – high resolution mass spectrometry // *Molecules*. 2017. Vol. 22(10). P. 1756. DOI: 10.3390/molecules22101756.
35. Yang S.T., Wu X., Rui W., Guo J., Feng Y.E. UPLC/Q-TOF-MS Analysis for Identification of Hydrophilic Phenolics and Lipophilic Diterpenoids from *Radix Salviae Miltiorrhizae* // *Acta Chromatogr.* 2015. Vol. 27(4). Pp. 711–728. DOI: 10.1556/achrom.27.2015.4.9.
36. Zakharenko A.M., Razgonova M.P., Pikula K.S., Golokhvast K.S. Simultaneous Determination of 78 Compounds of *Rhodiola rosea* Extract by Supercritical CO₂-Extraction and HPLC-ESI-MS/MS Spectrometry // *Biochemistry Research International*. 2021. Article 9957490. DOI: 10.1155/2021/9957490.
37. Zhang Z., Jia P., Zhang X., Zhang Q., Yang H., Shi H., Zhang L. LC-MS/MS determination and pharmacokinetic study of seven flavonoids in rat plasma after oral administration of *Cirsium japonicum* DC. extract // *J. Ethnopharmacol.* 2014. Vol. 158. Pp. 66–75. DOI: 10.1016/j.jep.2014.10.022.

Поступила в редакцию 26 апреля 2021 г.

После переработки 30 ноября 2021 г.

Принята к публикации 30 ноября 2021 г.

Для цитирования: Разгонова М.П., Захаренко А.М., Голохваст К.С. Исследование сверхкритических CO₂-экстрактов багульника болотного *Ledum palustre* L. (*Rhododendron tomentosum* Нармажа) и идентификация его метаболитов методом тандемной масс-спектрометрии // *Химия растительного сырья*. 2022. №1. С. 179–191. DOI: 10.14258/jcrpm.2022019506.

Razgonova M.P.^{1,2*}, Zakharenko A.M.^{1,2,3}, Golokhvast K.S.^{1,2,3,4} INVESTIGATION OF SUPERCRITICAL CO₂-EXTRACTS OF WILD *LEDUM PALUSTRE* L. (*RHODODENDRON TOMENTOSUM* HARMAJA) AND IDENTIFICATION OF ITS METABOLITES BY TANDEM MASS SPECTROMETRY

¹ Federal Research Center All-Russian Institute of Plant Genetic Resources named after N.I. Vavilov, ul. Bolshaya Morskaya, 42, St. Petersburg, 190031 (Russia), e-mail: m.razgonova@vir.nw.ru

² Far Eastern Federal University, o. Russky, Ajax, 10, Vladivostok, 690922 (Russia)

³ Siberian Federal Scientific Center for Agrobiotechnologies RAS, ul. Centralnaya, 2b, Krasnoobsk, 633501 (Russia)

⁴ Pacific Institute of Geography FEB RAS, ul. Radio, 7, Vladivostok, 690041 (Russia)

The purpose of this research is to investigate and identify polyphenolic complexes and other biologically active compounds by tandem mass spectrometry, presented in the leaves and stems of *Ledum palustre* L. Carbon dioxide, compressed to a supercritical state, was used for the most environmentally friendly extraction of polyphenolic complexes and other biologically active compounds of *Ledum palustre* L. The most effective extraction characteristics (pressure 350 bar; temperature 60 °C; extraction time 1-hour, co-solvent MeOH 3.5%) supercritical CO₂-extraction of *L. palustre* were obtained empirically. To identify target analytes in supercritical extracts, High Performance Liquid Chromatography (HPLC) was used in combination with a BRUKER DALTONIKS ion trap. The results showed the presence of 61 biologically active compounds corresponding to the rhododendron species, of which 32 were identified for the first time in *L. palustre*. These are flavanols dihydrokaempferol, quercetin arabinoside, myricetin galactoside; flavones: diosmetin, nevadensin, cirsimaritin; flavanone naringenin; anthocyanins delphinidin, petunidin, cyanidin pentoside, delphinidin pentoside, peonidin 3-(6-*O*-acetyl) glucoside, peonidin-3-*O*-malonylglucoside, cyanidin-3-rutinoside, peonidin 3-*O*-glucoside; ellagic acid; lignan medioresinol; a type A procyanidin dimer; sterols fucosterol and avenasterol, etc.

Keywords: *Ledum palustre*, *Rhododendron tomentosum*, tandem mass spectrometry, polyphenols, rhododendron.

References

1. Poyarkova A.I. *Flora SSSR*. [Flora of the USSR]. Moscow; Leningrad, 1952, vol. 18, pp. 31–60. (in Russ.).
2. Arsen'yev V.K. *Po Ussuriyskomu krayu (Dersu Uzala). Puteshestviye v gornuyu oblast' Sikhote-Alin'*. [In the Ussuri region (Dersu Uzala). Journey to the mountainous region of Sikhote-Alin]. Vladivostok, 1921, 280 p. (in Russ.).
3. Belousova N.I., Khan V.A., Tkachev A.V. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 1999, no. 3, pp. 5–38. (in Russ.).
4. Okhlopko Zh.M., Chirikova N.K. *Fundamental Research*, 2012, no. 11, pp. 1334–1336. (in Russ.).
5. Bukreyeva T.V., Shavarda A.L., Matusevich O.V., Morozov M.A. *Rastitel'nyye resursy*, 2013, vol. 49, no. 2, pp. 395–403. (in Russ.).
6. Ganina M.M., Popova O.I. *Khimiko-farmatsevticheskiy zhurnal*, 2015, vol. 49, no. 4, pp. 33–35. (in Russ.).
7. Podmaskin V.V. *Rossiya i ATR*, 2011, no. 1(71), pp. 107–113. (in Russ.).
8. Izotov D.V. *Efirnyye masla i vodomaslyanyye produkty vidov roda Ledum L., proizrastayushchikh na Dal'nem Vostoke: dis. ... kand. biol. nauk*. [Essential oils and water-oil products of species of the genus *Ledum* L. growing in the Far East: Cand. ... cand. biol. Sciences]. Vladivostok, 2009, 235 p. (in Russ.).
9. Korotayeva M.S. *Farmakognosticheskoye izucheniye chetyrekh vidov roda Ledum L.: dis. ... kand. biol. nauk*. [Pharmacognostic study of four species of the genus *Ledum* L.: dis. ... cand. biol. Sciences]. Yaroslavl', 2006, 240 p. (in Russ.).
10. Plyashechnik M.A. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2012, no. 2, pp. 139–144. (in Russ.).
11. Baldino L., Reverchon E. *J. Supercrit. Fluids*, 2018, vol. 134, pp. 269–273. DOI: 10.106/j.supflu.2017.11.034.
12. Popova A.S., Ivakhnov A.D., Skrebets T.E., Bogolitsyn K.G. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2018, no. 1, pp. 61–66. DOI: 10.14258/jcprm.2018012994. (in Russ.).
13. Baananou S., Bagdonaite E., Marongiu B., Piras A., Falconieri D., Boughattas N.A. *Natural Product Research*, 2015, vol. 29(11), pp. 999–1005. DOI: 10.1080/14786419.2014.965167.
14. Razgonova M.P., Zakharenko A.M., Grudev V., Ercisli S., Golokhvast K.S. *Molecules*, 2020, vol. 25(17), p. 3774. DOI: 10.3390/molecules25173774.
15. *Gosudarstvennaya farmakopeya Rossiyskoy Federatsii*. [State Pharmacopoeia of the Russian Federation]. Moscow, 2018, vol. 1–3. (in Russ.).
16. Abu-Reidah I. M., Ali-Shtayeh M.S., Jamous R.M., Arraes-Roman D., Segura-Carretero A. *Food Chem.*, 2015, vol. 166, pp. 179–191. DOI: 10.1016/j.foodchem.2014.06.011.
17. Goufo P., Singh R.K., Cortez I. *Antioxidants*, 2020, vol. 9, p. 398. DOI: 10.3390/antiox9050398.
18. Hamed A.R., El-Hawary S.S., Ibrahim R.M., Abdelmohsen U.R., El-Halawany A.M. *J. Chrom. Sci.*, 2021, vol. 59, pp. 618–626. DOI: 10.1093/chromsci/bmaa112.
19. Jaiswal R., Jayasinghe L., Kuhnert, N. *J. Mass Spectrom.*, 2012, vol. 47, pp. 502–515. DOI: 10.1002/jms.2954.
20. Jin C., Strembiski W., Kulchytska Y., Micetich R.G., Daneshalab M. *DARU J. Pharm. Sci.*, 1999, vol. 7(4), pp. 5–8.
21. Li X., Tian T. *Frontiers in Pharm.*, 2018, vol. 9, article 1067. DOI: 10.3389/fphar.2018.01067.
22. Llorent-Martinez E.J., Spinola V., Gouveia S., Castilho P. *Industrial Crops and Products*, 2015, vol. 69, pp. 80–90. DOI: 10.106/j.indcrop.2015.02.014.
23. Lommen A., Godejohann M., Venema D.P., Hollman P.C.H., Spraul M. *Anal. Chem.*, 2000, vol. 72(8), pp. 1793–1797. DOI: 10.1021/ac9912303.
24. Pandey R., Kumar B. *J. Liquid Chromatogr. & Related Technol.*, 2016, vol. 39(4), pp. 225–238. DOI: 10.1080/10826076.2016.1148048.

* Corresponding author.

25. Rodriguez-Perez C., Gomez-Caravaca A.M., Guerra-Hernandez E., Cerretani L., Garcia-Villanova B., Verardo V. *Food Res. Int.*, 2018, vol. 112, pp. 390–399. DOI: 10.1016/j.foodres.2018.06.060.
26. Ruiz A., Hermosin-Gutierrez I., Vergara C., von Baer D., Zapata M., Hirschfeld A., Obando L., Mardones C. *Food Res. Int.*, 2013, vol. 51(2), pp. 706–713. DOI: 10.1016/j.foodres.2013.01.043.
27. Sun J., Liu X., Yang T., Slovin J., Chen P. *Food Chem.*, 2014, vol. 146, pp. 289–298. DOI: 10.1016/j.foodchem.2013.2013.08.089.
28. Sun L., Tao S., Zhang S. *Molecules*, 2019, vol. 24(1), p. 159. DOI: 10.3390/molecules24010159.
29. Vallverdu-Queralt A., Jauregui O., Medina-Rejon A., Lamuela-Raventos R.M. *Agricult. Food Chem.*, 2012, vol. 60(13), pp. 3373–3380. DOI: 10.1021/jf204702f.
30. Viera M.N., Winterhalter P., Jerz G. *Phytochem. Anal.*, 2016, vol. 27, pp. 116–125. DOI: 10.1002/pca.2606.
31. Wang Z., Zhu W., Liu H., Wu G., Song M., Yang B., Yang D., Wang Q., Kuang H. *Molecules*, 2018, vol. 23(9), p. 2285. DOI: 10.3390/molecules23092285.
32. Wojakowska A., Perkowski J., Goral T., Stobiecki M. *J. Mass. Spectrom.*, 2013, vol. 48, pp. 329–339. DOI: 10.1002/jms.3160.
33. Xiao J., Wang T., Li P., Liu R., Li Q., Bi K. *J. Chromatogr. B*, 2016, vol. 1028, pp. 33–41. DOI: 10.1016/j.jchromb.2016.06.005.
34. Xu L.L., Xu J.J., Zhong K.R., Shang Z.P., Wang F., Wang R.F., Liu B. *Molecules*, 2017, vol. 22(10), p. 1756. DOI: 10.3390/molecules22101756.
35. Yang S.T., Wu X., Rui W., Guo J., Feng Y.E. *Acta Chromatogr.*, 2015, vol. 27(4), pp. 711–728. DOI: 10.1556/achrom.27.2015.4.9.
36. Zakharenko A.M., Razgonova M.P., Pikula K.S., Golokhvast K.S. *Biochemistry Research International*, 2021, article 9957490. DOI: 10.1155/2021/9957490.
37. Zhang Z., Jia P., Zhang X., Zhang Q., Yang H., Shi H., Zhang L. *J. Ethnopharmacol.*, 2014, vol. 158, pp. 66–75. DOI: 10.1016/j.jep.2014.10.022.

Received April 26, 2021

Revised November 30, 2021

Accepted November 30, 2021

For citing: Razgonova M.P., Zakharenko A.M., Golokhvast K.S. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2022, no. 1, pp. 179–191. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.2022019506.

