

УДК 547.9:582.284.5

ВЛИЯНИЕ ЭКСТРАГЕНТА НА СОСТАВ ЛИПОФИЛЬНЫХ КОМПОНЕНТОВ ЭКСТРАКТОВ КОРНЕВИЩА *RHODIOLA ROSEA* L. И АКТИВНОСТЬ ЭКСТРАКТОВ

© Т.П. Кукина^{1*}, Д.Н. Щербakov^{2,3}, А.В. Зыбкина³, И.А. Елишин^{1,4}, В.О. Корсаков², О.И. Сальникова¹, П.В. Колосов⁵, Ц. Сандаг⁶, Д.А. Каракай¹, Е.Д. Мордвинова^{1,3}

¹ Новосибирский институт органической химии СО РАН
им. Н.Н. Ворожцова, пр. Акад. Лаврентьева, 9, Новосибирск, 630090
(Россия), e-mail: kukina@nioch.nsc.ru

² Алтайский государственный университет, пр. Ленина, 61, Барнаул,
656049 (Россия)

³ ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, р.п. Кольцово, Новосибирская
область, 630559 (Россия)

⁴ Новосибирский государственный университет, ул. Пирогова, 1,
Новосибирск, 630090 (Россия)

⁵ ООО «ВакБиоЛаб», ул. Энтузиастов, 3, Ульяновск, 432071 (Россия)

⁶ Mongolian National University of Medical Sciences, Zorig street, 3, Ulaanbaatar
14210 (Mongolia)

Изучен состав липофильных компонентов растения *Rhodiola rosea* L. Кислые и нейтральные компоненты идентифицировали при помощи газожидкостной хроматографии с масс-спектрометрической детекцией. В качестве экстрагента сырья использован метил-трет-бутиловый эфир (МТБЭ), обладающий всеми достоинствами диэтилового эфира, но лишенный его недостатков. Он не образует перекисей и не создает повышенной загазованности за счет более высокой температуры кипения. В результате сравнением с базами данных идентифицированы тритерпеновые, фенолкарбоновые и алифатические кислоты с длиной цепи от 8 до 30 атомов углерода, включая насыщенные, ненасыщенные и двухосновные кислоты. В дополнение к компонентам, известным из литературы, впервые идентифицировано более 50 тритерпеновых и алифатических компонентов неомыляемого остатка и кислых фракций. Аналогично исследованы гексановый экстракт и продукт, полученный ступенчатой экстракцией МТБЭ после извлечения малополярных соединений гексаном. В случае экстракта, полученного при помощи МТБЭ после экстракции сырья гексаном, выявлено более эффективное извлечение фенольных кислот бензойного и коричного ряда по сравнению с исчерпывающей экстракцией МТБЭ. В гексановом экстракте эти кислоты отсутствуют. Для проведения тестирования биоактивности проведена экстракция этанолом: исчерпывающая и после экстракции гексаном и МТБЭ. Экстракты *Rhodiola rosea* L., полученные при помощи МТБЭ и этанола, проявили антивирусную активность в отношении псевдовирuсов Эбола.

Ключевые слова: золотой корень, *Rhodiola rosea* L., экстрактивные вещества, метил-трет-бутиловый эфир, фенолкарбоновые кислоты.

Исследование выполнено при поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 19-34-90076 и № 20-54-44016/20.

Введение

Кукина Татьяна Петровна – старший научный сотрудник, доцент, кандидат химических наук, e-mail: kukina@nioch.nsc.ru

Щербakov Дмитрий Николаевич – кандидат биологических наук, заведующий лабораторией, e-mail: scherbakov_dn@vector.nsc.ru

Родиола розовая *Rhodiola rosea* L. семейства толстянковых (золотой корень) входит в народную и официальную медицину благодаря мощному адаптогенному действию [1]. Применяется также как заменитель чая и добавка в тонирующие

Окончание на С. 308.

* Автор, с которым следует вести переписку.

напитки. В качестве лекарственного сырья используются в основном корневища и корни растения. Помимо адаптогенной активности проявляет общеукрепляющее, противовоспалительное, ранозаживляющее, диуретическое, жаропонижающее свойства. Применяется при вегетососудистой дистонии, астении, неврастении, переутомлении, лихорадках различной этиологии, болезнях репродуктивной системы как у мужчин, так и у женщин, диарее, дизентерии, туберкулезе, парадонтозе, респираторных инфекциях, диабете, цинге, анемии [1]. Выявлена также антиоксидантная, противоопухолевая, кардиопротекторная, антивирусная, антидиабетическая активность [2–4]. Для достижения лечебного эффекта применяют в основном водные, водно-спиртовые и спиртовые экстракты [1]. Фармакологические исследования золотого корня, проведенные под руководством профессора Г.В. Крылова, показали ярко выраженные стимулирующее и адаптогенное действия, сравнимые с эффектом препаратов из растений семейства аралиевые. Исследователи из СССР и России внесли существенный вклад в изучение растения и получили международное признание [2, 5–11]. Растение широко изучается и в Монголии, где используется официальной и народной медициной [12]. В официальной медицине золотой корень применяется в виде жидкого экстракта (*Extractum Rhodiolae fluidum*). Это спиртовой экстракт 1 : 1 из корневищ с корнями на 40% этаноле. Экстракт применяют при астенических состояниях, повышенной утомляемости, неврастенических состояниях, вегетососудистой дистонии. Главные действующие вещества корневища – фенольные соединения (фенолоспирты и их гликозиды, коричный спирт и его гликозиды, флавоноиды, дубильные вещества). Фенолоспирт *p*-оксибензилэтанол (*p*-тирозол) и его гликозид (родиолозид, салидрозид) – кристаллические вещества, фармакологическое стимулирующее действие которых совпадает со свойствами суммарных препаратов растения. Из гликозидов коричневого спирта салидрозиду адекватен циннамиларабиногликозид (розавин). Среди флавоноидов обнаружены кверцетин, гиперозид, кемпферол, кверцитрин, а также редкие для других растений производные трицина и гербацетина [6, 7]. Найдены дубильные вещества пирогалловой группы, имеется свободная галловая кислота. Корневища содержат органические кислоты (щавелевая, янтарная, лимонная и яблочная), лактоны, эфирные масла (ЭМ) с выходом до 0.9%, β -ситостерин. Е.А. Краснов осуществил систематическое изучение 21 вида семейства толстянковых флоры СССР [9]. Из спиртовых экстрактов выделено свыше 50 природных соединений, относящихся к группам фенолокислот, гидроксикумаринов, катехинов, флавонолов, простых фенолов и их гликозидов, оснований – производных пиперидина, впервые получено 8 новых веществ – гликозидов гербацетина (3,5,7,8,4'-пентагидроксифлавоноид) и госсипетина (3,5,7,8,3',4'-гексагидроксифлавоноид) и установлено их строение [6]. Впервые доказано, что галлоиларбутин, *p*-тирозол, гликозиды гербацетина обладают капилляроукрепляющей, противовоспалительной, цитостатической активностью и представляют интерес для создания препаратов с широким спектром действия [2, 7–12].

В сырье родиолы розовой найдены производные бензола: бензиловый спирт, бензальдегид, бензилпропанол, бензилбензоат, фенолэтиловый спирт, цитраль, β -фенилэтилацетат, куминилацетат, коричный альдегид, коричный спирт, циннамиллацетат, тимол, карвакрол, эстрагол, ацетованиллон [6, 9, 11, 13–15]. К числу основных БАВ относится розиридин – гликозид ациклического монотерпенового спирта розиридола [6]. Позже обнаружены другие монотерпеновые гликозиды [16]. Изучены фенольные гликозиды: 1,4-метоксициннамил-*O*- β -D-глюкопиранозид, циннамил-(6'-*O*- β -ксилопиранозил)-*O*- β -глюкопиранозид, розин, розарин, розавин, сахализид, 4-метоксициннамил-(6'-*O*- α -арабинопиранозил)-*O*- β -глюкопиранозид, пицеин, бензил-*O*- β -глюкопиранозид, моногрозид, родиооктанозид, салидрозид и его агликон тирозол, впервые обнаруженные в иве трехтычинковой, розавидин, родиолозид F, (-)-розиридол [6, 7, 9, 11, 17, 18].

Зыбкина Анастасия Владимировна – стажер-исследователь, e-mail: anastasiyaz19@mail.ru

Елишин Иван Александрович – аспирант, младший научный сотрудник, e-mail: populusn@yandex.ru

Корсаков Владислав Олегович – аспирант, лаборант, e-mail: korsakovvlad07@gmail.com

Сальникова Ольга Иосифовна – ведущий инженер ГМС ЦСИ, e-mail: olga@nioch.nsc.ru

Колосов Петр Владимирович – кандидат химических наук, научный сотрудник, e-mail: petro.kolosov@gmail.com

Сандаг Цогтсайхан – MD, PhD, Professor, e-mail: tsogtsaikhan.s@mnumns.edu.mn

Каракай Дарья Александровна – младший научный сотрудник, e-mail: karakay@nioch.nsc.ru

Мордвинова Екатерина Денисовна – младший лаборант, аспирант, e-mail: mordvinova97@mail.ru

Найдено цианогенное соединение лотауэстралин [19] и фенилалкалоиды [20].

Идентифицированы фенолкарбонные кислоты: галловая, розмариновая, хлорогеновая, кофейная, транс-*p*-гидроксикоричная, метилгаллат, а также флавоноиды, в том числе и в надземной части растения [6, 7, 9, 11, 21–23].

Среди кислот найдены: щавелевая, яблочная, янтарная, лимонная, гексановая, октановая [10], высшие жирные кислоты декановая, додекановая, тетрадекановая, пентадекановая, гексадекановая [14].

Сведения о нейтральных алифатических соединениях ограничены *n*-пентанолом, *n*-гексанолом, *n*-октанолом, *n*-нонанолом, *n*-деканолом, *n*-додеканолом, *n*-деканалем, *n*-гексаналем, *n*-октаналем, *транс*-2-октеналем, *n*-нонаналем, *транс*-2-ноненалем, *n*-гептаналем, гептан-2-оном, 6-метил-5-гептен-2-оном, то есть компонентами ЭМ [13–15].

Идентификация терпеноидов в основном ограничивается компонентами ЭМ [9, 13–15, 24–26]. Стерины также исследованы недостаточно [6–12]. Даже наиболее полный обзор [6], цитирующий более 140 научных материалов, не отражает в полной мере спектр липофильных метаболитов *Rh. rosea* L. Многие вещества, найденные в растении в прошлом веке, изучены позже с применением современных методов, строение их подтверждено, получены новые данные, в том числе о противовирусной активности [3, 27–30].

Литературные данные показывают, что исследование биоактивных компонентов было сосредоточено в основном на веществах, хорошо растворимых в полярных растворителях. В результате выявлены флавоноиды, алкалоиды, глициты, γ -лактоны, углеводы, цианогенные соединения, антрахиноны, фенолы, фенольные гликозиды, фенольные кислоты. Малополярные соединения ограничены некоторыми стеринами и тритерпенами, а также компонентами ЭМ [6, 7, 9, 13]. Истинное содержание углеводов и спиртов с длиной цепи выше 10, а кислот выше 16 атомов углерода в ЭМ, сильно занижено из-за их низкой летучести [13–15, 25]. Поэтому в нашу задачу входило исследование химического состава липофильных компонентов: стеренов, тритерпеноидов, алифатических метаболитов, а также оценка биологической активности экстрактов с использованием псевдовирусной системы.

Экспериментальная часть

Экстракция и анализ экстрактов. Сырье корневища родиолы розовой (*Rh. rosea* L.) заготовлено в фазу отмирания цветочных побегов в августе 2020 года на территории Алтайского края и высушено при комнатной температуре в помещении без доступа прямых солнечных лучей. Воздушно-сухое сырье размолото на шнековом измельчителе и просеяно через сито с отверстиями размером 2 мм. Экстракты для исследования получали двумя разными путями: исчерпывающая экстракция растворителями разной полярности в насадке Сокслета и ступенчатая с повышением полярности на каждой стадии экстракции. В качестве экстрагентов, достаточно полно извлекающих липофильные соединения, использовали гексан, МТБЭ и этанол. При ступенчатой экстракции применяли те же растворители, не выгружая сырье из насадки при смене растворителя. На первом этапе подробно исследован экстракт, полученный исчерпывающей экстракцией сырья. Навеска сырья загружалась в насадку Сокслета и экстрагировалась МТБЭ в течение 20 ч (3×6–7 ч). Выход экстракта – 1.25% от веса сырья. Обработка экстракта и хроматографическая очистка компонентов неомыляемого остатка (НО) проведена аналогично [31–33]. Пробоподготовка для ГХ-МС-анализа включала выделение свободных кислот щелочным экстрагентом (2% водный раствор едкого натра) и гидролиз экстракта, освобожденного от свободных кислот, 15%-ным водно-спиртовым раствором едкого кали. Получены 3 фракции: свободные кислоты, связанные кислоты и неомыляемый остаток (НО). Кислые компоненты метилировали диазометаном, нейтральные вещества НО подвергли хроматографическому разделению на колонке с силикагелем, используя в качестве элюента гексан с повышающимся от 0 до 50% диэтилового эфира. Фракции отбирали в пенициллиновые флаконы по 7–8 мл. Объединение фракций осуществляли в соответствии с результатами тонкослойной хроматографии на пластинках Sorbfil и Silufol. Для развития хроматограммы использовали смесь гексана с МТБЭ с содержанием последнего от 10 до 50%. В качестве проявляющего реагента применяли смесь ванилина с серной кислотой и этанолом в соотношении 1 : 10 : 90 с последующим нагреванием. При этом получены фракции, анализ которых осуществляли при помощи ГХ-МС в Химическом исследовательском центре коллективного пользования СО РАН. Малополярные соединения (углеводороды, кетоны) анализировали без дериватизации. Для наиболее представительных и обогащенных тритерпеновыми компонентами фракций проведено ацетилирование уксусным ангидридом в пиридине. Хроматомасс-спектры записаны на приборе Hewlett Packard G 1800 А, состоящем из газового хроматографа HP 5890 серии II и масс-селективного детектора HP 5971. Колонка 30 м × 0.25 мм × 0.25 мкм с сорбентом HP-5MS (5% – дифенил, 95% – диметилсилоксан). Газ-носитель – гелий (1 мл/мин). Температура колонки: 2 мин. при 50 °С, далее повышение температуры со скоростью 10 °С в мин. до 300 °С, 30 мин. при 300 °С. Температура испарителя – 280 °С, источника ионов – 170 °С. Идентификацию МЭЖК осуществляли с использованием библиотеки масс-спектров NIST 08 аналогично [31–33]. Аналогично исследовали гексановый экстракт и продукт, полученный ступенчатой экстракцией МТБЭ после извлечения малополярных соединений гексаном.

Определение цитотоксичности экстрактов на клетках линии 293FT. Стоковые растворы экстрактов в ДМСО (в концентрации 500 мкг/мл) добавлялись в ростовую среду к клеткам-мишеням линии 293FT в различных концентрациях – от 500 мкг/мл до 12.5 мкг/мл – на 48 ч. По окончании инкубации клеток с веществами к культурам клеток добавляли тетразолиевый краситель МТТ (3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенил-тетразолиум бромид) до рабочей концентрации 0.5 мг/мл и инкубировали в течение 4 ч. Образующийся осадок формазана растворяли добавлением в ростовую среду 10% раствора додецилсульфата натрия с 0.01М HCl. Количество формазана (пропорциональное количеству жизнеспособных клеток) определяли спектрофотометрически, измеряя абсорбцию при длине волны света 570 нм. Процент жизнеспособных клеток в культурах, содержащих разные концентрации исследуемого экстракта X, определяли по отношению к контролю, который представлял из себя культуру клеток 293FT, инкубируемую в ростовой среде с ДМСО в отсутствие экстракта, пользуясь формулой:

$$\% \text{ жизнеспособных клеток}[X] = \text{ОП}[X]/\text{ОП}[\text{ДМСО}],$$

где ОП – соответствующая оптическая плотность.

За величину CC_{50} (50% цитотоксическая концентрация) принимали концентрацию экстракта, при которой выживало 50% клеток по сравнению с контролем.

Получение псевдовирюсов на основе рекомбинантного вируса везикулярного стоматита (VSV), экспонирующего на поверхности гликопротеин вируса Эбола.

Для получения псевдовирюсного потомства, экспонирующего на своей поверхности гликопротеин вируса Эбола (штамм Маинга), клетки 293FT сначала трансфицировали плазмидой, содержащей последовательность гена этого гликопротеина rh-GPE (в количестве 5 мкг плазмиды на 60 мм культуральную чашку Петри). Через 24 ч после трансфекции клетки-продуценты заражались 5 мкл (~10⁶ трансдуцирующих единиц) rVSV-ΔG-G. Через 4 ч после инфекции инфицирующий псевдовирус отмывался, а среда заменялась на свежую. Препарат псевдовирюса, экспонирующего гликопротеин вируса Эбола – rVSV-ΔG-GPE, собирали через 24 ч после инфекции. Препараты псевдовирюсов хранили при температуре -80 °С.

Определение полунгибирующих концентраций экстрактов в отношении псевдовирюсов rVSV-ΔG-GPE, расчет значений терапевтического индекса (SI). Для определения инфекционной способности псевдовирюсов использовали клетки-мишени линии 293FT, рассаженные в 96-луночный планшет при плотности монослоя 80–90%. Определение инфекционности псевдовирюсов в присутствии ингибиторов и в контрольных (неингибированных) образцах производили по показателю люминисценции через 24 ч после инфекции. Все измерения производили в тройных повторах с определением среднего значения и стандартного отклонения. Для всех исследованных экстрактов определялись концентрации 50% ингибирования (IC50) для псевдовирюсов rVSV-ΔG-GPE. В дальнейшем для каждого соединения рассчитывался терапевтический индекс (SI) – отношение токсичности соединения и ингибирующей активности против вируса (CC_{50}/IC_{50}). В качестве референсного соединения, ингибирующего инфекцию вируса Эбола, выбран сертралин ((1S,4S)-4-(3,4-дихлорфенил)-1,2,3,4-тетрагидро-N-метил-1-нафтиламина).

Обсуждение результатов

При исследовании МТБЭ экстракта получены две фракции кислот: свободные и связанные. Хроматографическое разделение НО привело к получению 6 основных фракций: углеводороды, кетоны, 3 фракции смесей алифатических и тритерпеновых спиртов, стеринны. Аналогично исследовали гексановый экстракт и продукт, полученный ступенчатой экстракцией МТБЭ после извлечения малополярных соединений гексаном. Таблица 1 отражает выходы фракций, полученных в вышеописанных экспериментах.

Кроме того, для проведения тестирования биологической активности получены экстракты сырья этанолом (исчерпывающая экстракция, выход 24.8%) и этанолом после экстракции сырья гексаном и МТБЭ (выход 18.9%). Состав этанольных экстрактов подробно не изучался.

По результатам ГХ-МС-анализа вычислено содержание в анализируемых смесях каждого компонента в мг/100 г сырья (мг/%).

Таблица 1. Выходы экстрактов и фракций, полученных при экстракции корневища *Rh. rosea* L. малополярными растворителями (%)

Экстрагент	Экстракт (% от веса сырья)	Свободные кислоты (% от веса экстракта)	Связанные кислоты (% от веса экстракта)	НО (% от веса экстракта)
Гексан	0.82	22.7	40.0	25.4
МТБЭ/Гексан	0.43	67.6	10.5	10.8
МТБЭ	1.25	21.9	27.8	32.4

Анализ кислых и нейтральных компонентов экстрактивных веществ из сырья корневища *Rh. rosea* L., полученных при омылении щелочной обработке экстрактов, показал следующие результаты. Содержание экстрактивных липофильных веществ наибольшее при исчерпывающей экстракции МТБЭ (1.25%), неомыляемые вещества составляют в этом случае 40% от веса экстракта. При ступенчатой экстракции суммарный выход приблизительно такой же, как при исчерпывающей, но соотношение выделенных фракций отличается. Для НО проведено дополнительное фракционирование и очистка групп соединений. В результате получены концентраты углеводов, кетонов, алифатических и терпеновых спиртов, включая стеринны и диолы. Содержание идентифицированных компонентов сведено в таблицы 2–8.

Из таблицы 2 следует, что во фракции преобладают нечетные алифатические углеводороды, основные из которых – трикозан, пентакозан, гептакозан, нонакозан, и тритриаконтан – составляют 75% общего веса фракции. Тритерпеновые углеводороды немногочисленны и вклад их в состав НО невелик. В гексановом и МТБЭ-экстрактах после экстракции гексаном обнаружен лишь стигмаста-3,5-диен (0.5 мг%).

Сравнение масс-спектров алифатических кетонов с базой данных указывает на преобладание во фракции соединений с кетогруппой во 2-м положении. В гексановом и МТБЭ-экстрактах после экстракции гексаном кетоны оказались за пределами обнаружения. Содержание тритерпеновых кетонов в сумме (21.1 мг%) на порядок выше, чем алифатических (2.4 мг%). В гексановом и МТБЭ-экстрактах после экстракции гексаном обнаружен лишь тритерпеновый кетон стигмаста-3,5-диен-7-он (1.3 и 1.2 мг% соответственно).

Как следует из таблицы 4, среди алифатических компонентов преобладают четные *n*-алканола. Основные из них: докозанол, тетракозанол и гексакозанол составляют до 90% общего веса алканолов. Основной компонент группы стериннов – β -ситостерин был обнаружен ранее [6, 7, 9], известны данные по обнаружению β -амирина [7], остальные компоненты выявлены в сырье впервые. Кроме перечисленных в таблице спиртов, обнаружены небольшие количества гераниола, геранилгераниола, миртенола и коричный спирт, эти соединения выявлены в сырье ранее [7]. Выявлены манол, манолоксид и эпиманоилоксид, также идентифицированные ранее в составе ЭМ [25]. Во фракции стериннов нами идентифицирован также метилурсолат.

Таблица 2. Содержание углеводов в НО экстрактов корневища *Rh. rosea* L. в пересчете на вес сырья (мг%)

Компонент	МТБЭ	Гексан	МТБЭ/Гексан
Октадекан	0.4	0.3	–
Нонадекан	0.3	0.4	0.1
Эйкозан	0.5	0.2	–
Генэйкозан	0.8	1.0	0.2
Докозан	0.9	0.3	–
Трикозан	8.0	6.5	1.4
Тетракозан	1.3	0.6	–
Пентакозан	6.5	5.0	1.7
Гексакозан	0.9	1.0	–
Гептакозан	4.9	4.9	1.5
Октакозан	0.3	0.2	–
Нонакозан	5.3	5.2	1.3
Триаконтан	0.1	0.2	–
Гентриаконтан	2.2	3.8	1.0
Дотриаконтан	0.1	0.1	–
Тритриаконтан	5.4	6.2	1.0
Пентатриаконтан	0.9	1.0	0.2
Сквален	0.6	0.3	0.1
Стигмаста-3,5-диен	2.0	0.5	0.5
28-Нор-17 β -гопан	0.3	–	–
28-Нор-17 α -гопан	0.3	–	–
17 α -21 β -Гопан	0.2	–	–

Таблица 3. Содержание кетонов в НО МТБЭ-экстракта корневища *Rh. rosea* L. в пересчете на вес сырья (мг%)

Компонент	Содержание в сырье	Компонент	Содержание в сырье
2-Трикозанон	0.4	2-Гептакозанон	0.6
2-Тетракозанон	0.3	2-Октакозанон	0.1
2-Пентакозанон	0.3	2-Нонакозанон	0.2
2-Гексакозанон	0.2	10-Нонакозанон	0.3
Таракс-14-ен-3-он	2.9	α -Амиренон	5.1
Изомультифлоренон	7.0	Лупенон	2.5
β -Амиренон	1.1	Стигмаста-3,5-диен-7-он	2.5

Таблица 4. Содержание спиртов и стеринов в НО экстрактов корневища *Rh. rosea* L. в пересчете на вес сырья (мг%)

Компонент	МТБЭ	Гексан	МТБЭ/ Гексан
Гексадеканол	0.8	–	–
Октадеканол	0.9	–	–
Нонадеканол	1.0	–	–
Эйкозанол	1.7	1.3	0.9
Генэйкозанол	1.0	–	–
Докозанол	17.8	19.6	0.6
Трикозанол	0.9	0.9	–
Тетракозанол	42.7	53.9	0.4
Пентакозанол	0.7	1.6	–
Гексакозанол	39.7	56.8	0.4
Гептакозанол	0.3	–	–
Октакозанол	3.3	4.9	0.3
Триаконтанол	0.1	–	–
Фитол	0.1	–	0.3
Холестерин	0.8	0.8	0.2
Кампестерин	23.8	23.9	1.5
β -Ситостерин	168.7	79.6	70.1
β -Стигмастанол	3.1	5.1	1.1
β -Амирин	0.7	1.6	1.2
α -Амирин	1.8	1.8	1.3
Брассикастерин	2.6	–	–
Стигмастерин	1.5	–	4.3
Изомультифлоренол	1.4	–	–
Изосвертенол	1.2	–	0.9
Стигмаст-7-ен-3-ол	2.0	1.7	1.0
Эргостанол	0.9	1.6	–
Эргост-7-ен-3-ол	0.4	–	–
Стигмаст-7,16,25-триен-3-ол	0.6	–	–
24-метилен-циклоартанол	0.1	–	–
Лупеол	0.2	–	0.3

Как следует из таблиц 5–6, основными компонентами являются пальмитиновая, линолевая и лигноцериновая кислоты. Качественный и количественный состав экстрактов отличается из-за разной растворимости компонентов в гексане и МТБЭ.

Анализ экстракта, полученного с помощью МТБЭ после извлечения малополярных компонентов гексаном, выявил более эффективное извлечение кислот бензойного и коричного ряда по сравнению с исчерпывающей экстракцией МТБЭ. В гексановом экстракте эти кислоты отсутствуют. Следует отметить, что они обнаружены исключительно во фракциях свободных кислот.

Кроме того, в этих экстрактах найдена бетулоновая кислота (2.2 и 2.0 мг% соответственно). В экстракте, полученном МТБЭ после извлечения малополярных компонентов гексаном, обнаружен компонент, совпадающий по спектру с нор-5,6-секохолест-2-ен-6-овой-1-оксокислотой. Правильность идентификации может быть подтверждена лишь после наработки достаточного количества этого компонента для применения альтернативных методов анализа.

В литературе фигурируют каприновая, лауриновая, миристиновая, пентадекановая, пальмитиновая кислоты [7, 13–15, 25]. Они найдены в составе ЭМ, поэтому компоненты с длиной цепи более 16 атомов углерода не вошли в состав исследованной фракции из-за низкой летучести. Выявлены ранее также кофейная и галловая кислота [7, 8, 10], остальные кислые компоненты обнаружены в данном сырье впервые.

Таблица 5. Содержание алифатических свободных и связанных кислот в МТБЭ-экстракте корневища *Rh. rosea* L. в пересчете на вес сырья (мг%)

Компонент	Кислоты свободные	Кислоты связанные
Субериновая (октандиовая)	4.2	
Азелаиновая (нонандиовая)	12.1	
Лауриновая	0.6	1.5
Миристиновая	1.0	4.9
Пентадеценовая	0.1	2.3
Пентадекановая	0.1	0.7
Пальмитиновая	52.6	65.0
Пальмитолеиновая	0.6	0.5
Маргариновая	0.6	1.3
Олеиновая	9.9	17.8
Линоленовая	9.4	41.2
Линолевая	38.8	102.0
Стеариновая	6.1	6.7
Конъюгированная линоленовая (9,11,13-октадекатриеновая, 3 изомера)	0.1	3.4
Изолинолевая	0.1	0.3
Нонадекановая		2.8
Эйкоза-11,14-диеновая		1.5
Арахидиновая	4.9	8.6
Генэйкозановая	0.9	1.2
Бегеновая	8.8	12.2
Трикозановая	3.4	5.7
Лигноцериновая	25.4	24.8
Пентакозановая	1.8	1.4
Феллогеновая (докозандиовая)		0.3
Церотиновая	21.4	17.4
Монтановая	2.5	1.7
Мелиссовая	1.0	0.5

Таблица 6. Содержание алифатических свободных и связанных кислот в экстрактах корневища *Rh. rosea* L., полученных при ступенчатой экстракции в пересчете на вес сырья (мг%)

Компонент	Гексан		МТБЭ/гексан	
	Кислоты свободные	Кислоты связанные	Кислоты свободные	Кислоты связанные
Азелаиновая (нонандиовая)			13.2	0.3
Лауриновая	0.7	3.9	0.4	0.4
Миристиновая	1.7	6.9	1.0	0.9
Пентадеценовая		3.6	0.5	
Пентадекановая		1.1	1.3	0.4
Пальмитиновая	71.2	64.8	36.9	11.7
Пальмитолеиновая	2.0	1.9		0.4
Маргариновая	0.6	0.9	1.9	0.8
Олеиновая	15.2	23.6	8.4	2.3
Линоленовая	6.7	27.8	3.6	3.0
Линолевая	34.0	94.0	21.8	8.8
Стеариновая	5.2	7.0	4.5	1.8
Конъюгированная линоленовая (9,11,13-октадекатриеновая, 3 изомера)	6.2	3.1		0.2
Эйкоза-11,14-диеновая	1.3	1.7		
Арахидиновая	4.1	9.5	4.4	0.7
Генэйкозановая	0.7	1.4	1.9	0.3
Бегеновая	4.4	13.1	47.7	6.5
Трикозановая	0.9	2.9	8.0	1.8
Лигноцериновая	7.0	23.9	65.9	2.0
Пентакозановая		1.3	3.2	0.1
Церотиновая	4.2	11.9	3.6	0.2
Гептакозановая	0.3	0.5		
Монтановая	0.4	0.7		
Мелиссовая	0.2	0.5		

Таблица 7. Содержание фенолкарбоновых кислот в экстрактах корневища растения *Rh. rosea* L в пересчете на вес сырья (мг%)

Компонент/экстрагент	МТБЭ	МТБЭ/гексан
Салициловая	3.1	3.0
Анисовая	0.8	0.3
4-Метоксибензилуксусная		11.7
Вератровая	1.0	11.0
2,4-Диметоксибензойная		5.2
Гомовератровая		2.2
Галловая		3.8
Кофейная	2.5 (2 изомера 2 : 3)	2.7 (2 изомера 2 : 3)

Таблица 8. Активность экстрактов *Rh. rosea* L. в отношении псевдовирюсов Эбола

Способ получения экстракта	СС ₅₀ мкг/мл	IC ₅₀ Эбола мкг/мл	SI Эбола
МТБЭ (исчерпывающая экстракция)	≤8	120±17	–
МТБЭ (экстракция после гексана)	202±15	150±15	1.3
Спирт (исчерпывающая экстракция)	217±3	105±10	2.1
Спирт (экстракция после гексана и МТБЭ)	235±4	69±6	3.4
Гексан	207±20	140±20	1.5
Сертралин (контроль)	124±11	0.2±0.02	620

В работе была проведена оценка антивирусной активности полученных экстрактов. Для этого использовали препараты псевдовирюсов Эбола на основе вируса везикулярного стоматита, дефектного по гену поверхностного белка G. Эта модель позволяет выявлять вещества ингибиторы вирусного проникновения в клетки.

Как следует из данных, представленных в таблице 8, наибольшую активность проявили экстракты, полученные при помощи этанола. Для этанольного экстракта, полученного после экстракции гексаном и МТБЭ, наблюдалась самая низкая токсичность 235±4 мкг/мл, при этом IC₅₀ достиг значения 69±6 мкг/мл. Интересно отметить, что активность экстрактов как для спирта, так и для МТБЭ, возростала, если сырье было предварительно проэкстрагировано гексаном. Возможно, обнаруженная активность объясняется фенолкарбоновыми кислотами, чья концентрация в экстракте, как было показано, возрастает после предварительной экстракции гексаном.

Выводы

1. Методом ГХ-МС исследован состав экстрактивных веществ корневища *Rh. rosea* L. Идентифицировано более 100 соединений, большая часть из которых обнаружена в сырье впервые.
2. В составе нейтральных компонентов обнаружены алифатические и терпеновые соединения: углеводороды, кетоны, спирты, включая стеринны, в том числе редко встречающиеся в лекарственных растениях холестерин и стигмаст-7-ен-3-ол.
3. Повышение температуры анализа кислых компонентов позволило выявить алифатические компоненты с длиной цепи более 16 атомов углерода, а также тритерпеновую бетулоновую кислоту. Связанные и свободные компоненты различаются по качественному и по количественному составу.
4. Экстракт, полученный с помощью МТБЭ после извлечения малополярных компонентов гексаном, обнаружил более эффективное извлечение кислот бензойного и коричневого ряда по сравнению с исчерпывающей экстракцией МТБЭ.
5. Экстракты *Rh. rosea* L., полученные при помощи МТБЭ и этанола, проявили антивирусную активность в отношении псевдовирюсов Эбола с IC₅₀ достигшем 69±6 мкг/мл.

Авторы выражают благодарность Химическому исследовательскому центру коллективного пользования СО РАН за проведение ГХ-МС-анализа.

Список литературы

1. Буданцев А.Л., Лесиовская Е.Е. Дикорастущие полезные растения России. СПб., 2001. 663 с.
2. Brown R.P., Gerbarg P.L., Ramazanov Z. *Rhodiola rosea*: A Phytomedicinal Overview // Herbal Gram. 2002. Vol. 56. Pp. 40–52.

3. Wang H., Ding Y., Zhou J., Sun X., Wang S. The in vitro and in vivo antiviral effects of salidroside from *Rhodiola rosea* L. against coxsackievirus B3 // *Phytomedicine*. 2009. Vol. 16. Pp. 146–155. DOI: 10.1016/j.phymed.2008.07.013.
4. Kwon Y.-I., Jang H.-D., Shetty K. Evaluation of *Rhodiola crenulata* and *Rhodiola rosea* for management of type II diabetes and hypertension // *Asia Pac. J. Clin. Nutr.* 2006. Vol. 15. Pp. 425–432.
5. Крылов Г.В. Травы жизни и их искатели. Новосибирск, 1969.
6. Вуков В.А., Запесоchnaya G.G., Куркин В.А. Traditional and biotechnological aspects of obtaining medicinal preparations from *Rhodiola Rosea* L. (A review) // *Pharm. Chem. J.* 1999. Vol. 33. Pp. 29–40. DOI: 10.1007/BF02508414.
7. Растительные ресурсы России: Дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность / отв. ред. А.Л. Буданцев. СПб., М.: Товарищество научных изданий КМК, 2009. Т. 2. 513 с.
8. Саратиков А.С. Золотой корень (Родиола розовая). Томск, 1974. 158 с.
9. Краснов Е.А. Химическое изучение и возможности использования в медицине ряда растений семейства толстянковых флоры СССР: автореф. дисс. ... доктора фармацевтических наук. М., 1990.
10. Краснов Е.А., Саратиков А.С., Суров Ю.П. Растения семейства толстянковых. Томск, 1979. 208 с.
11. Куркин В.А. Химическое изучение родиолы розовой (*Rhodiola rosea* L.): автореф. дисс. ... канд. фарм. наук. М., 1985. 20 с.
12. Дикорастущие полезные растения флоры Монгольской Народной Республики. Л., 1985. 236 с.
13. Rohloff J. Volatiles from rhizomes of *Rhodiola rosea* L. // *Phytochemistry*. 2002. Vol. 59. N6. Pp. 655–661. DOI: 10.1016/S0031-9422(02)00004-3.
14. Todorova T.M., Evstatieva L., Platicanov S., Kuleva L. Chemical composition of essential oil from Bulgarian *Rhodiola rosea* L. rhizomes // *J. Essent. Oil. Bear. Plants*. 2006. Vol. 9. N3. Pp. 267–270. DOI: 10.1080/0972060X.2006.10643502.
15. Evstatieva L., Todorova M., Antonova D., Staneva J. Chemical composition of the essential oils of *Rhodiola rosea* L. of three different origins // *Pharmacogn. Mag.* 2010. Vol. 6. N24. Pp. 256–258. DOI: 10.4103/0973-1296.71782.
16. Ma G., Li W., Dou D., Chang X., Bai H., Satou T., Li J., Sun D., Kang T., Nikaido T., Koike K. Rhodiolosides A-E, monoterpene glycosides from *Rhodiola rosea* // *Chem. Pharm. Bull.* 2006. Vol. 54. N8. Pp. 1229–1233. DOI: 10.1248/cpb.54.1229.
17. Bridel M., Beguin C. Isolation of rutoside, asparagines and a new glycoside, hydrolysable by emulsion, salidroside from *Salix triandra* L. // *Seances Acad. Sci.* 1926. Vol. 183. Pp. 321–323.
18. Tolonen A., Pakonen M., Hohtola A., Jalonen J. Phenylpropanoid glycosides from *Rhodiola rosea* // *Chem. Pharm. Bull.* 2003. Vol. 51. N4. Pp. 467–470. DOI: 10.1248/cpb.51.467.
19. Akgul Y., Ferreira D., Abourashed E.A., Khan I.A. Lotaustralin from *Rhodiola rosea* roots // *Fitoterapia*. 2004. Vol. 75. N6. Pp. 612–614. DOI: 10.1016/j.fitote.2004.06.002.
20. Ali Z., Fronscek F.R., Khan I.A. Phenylalkaloides and monoterpene analogues from the roots of *Rhodiola rosea* // *Planta Med.* 2008. Vol. 74. N2. Pp. 178–181. DOI: 10.1055/s-2008-1034288.
21. Ming D.S., Hillhouse B.J., Guns E.S., Eberding A., Xie S., Vimalanathan S., Towers G.H. Bioactive compounds from *Rhodiola rosea* (Crassulaceae) // *Phytoter. Res.* 2005. Vol. 19. N9. Pp. 740–743. DOI: 10.1002/ptr.1597.
22. Petsalo A., Jalonen J., Tolonen A. Identification of flavonoids of *Rhodiola rosea* by liquid chromatography tandem mass spectrometry // *J. Chromatogr. A*. 2006. Vol. 1112. Pp. 224–231. DOI: 10.1016/j.chroma.2005.11.056.
23. Panossian A., Wikman G., Sarris J. Rosenroot (*Rhodiola rosea*): Traditional use, chemical composition, pharmacology and clinical efficacy // *Phytomedicine*. 2010. Vol. 17. Pp. 481–493. DOI: 10.1016/j.phymed.2010.02.002.
24. Hethelyi E.B., Korany K., Galambesi B., Domokos J., Palinkas J. Chemical composition of essential oil from rhizomes of *Rhodiola rosea* L. grown in Finland // *J. Essent. Oil. Res.* 2005. Vol. 17. N6. Pp. 628–629. DOI: 10.1080/10412905.2005.9699016.
25. Shatar S., Adams R.P., Koenig W. Comparative study of the essential oil of *Rhodiola rosea* L. from Mongolia // *J. Essent. Oil. Res.* 2007. Vol. 19. N3. Pp. 215–217. DOI: 10.1080/10412905.2007.9699264.
26. Marchev A.S., Aneva I.Y., Koycheva I.K., Georgiev M.I. Phytochemical variations of *Rhodiola rosea* L. wild-grown in Bulgaria // *Phytochem. Lett.* 2017. Vol. 20. Pp. 386–390. DOI: 10.1016/j.phytol.2016.12.030.
27. Mirmazloum I., Ladányi M., György Z. Changes in the Content of the Glycosides, Aglycons and their Possible Precursors of *Rhodiola rosea* during the Vegetation Period // *Nat. Prod. Commun.* 2015. Vol. 10. Pp. 1413–1416.
28. Alperth F., Turek I., Weiss S., Vogt D., Bucar F. Qualitative and quantitative LC-MS analysis of different *Rhodiola rosea* rhizome extracts // *Sci. Pharm.* 2019. Vol. 87. N2. P. 8. DOI: 10.3390/scipharm87020008.
29. Ioset K.N., Nyberg N.T., van Diermen D., Malnoe P., Hostettmann K., Shikov A.N., Jaroszewski J.W. Metabolic Profiling of *Rhodiola rosea* Rhizomes by ¹H NMR Spectroscopy // *Phytochem. Anal.* 2011. Vol. 22. Pp. 158–165. DOI: 10.1002/pca.1262.
30. Ganzera M., Yayla Y., Khan I.A. Analysis of the marker compounds of *Rhodiola rosea* L. (golden root) by reversed phase high performance liquid chromatography // *Chem. Pharm. Bull.* 2001. Vol. 49. N4. Pp. 465–467. DOI: 10.1248/cpb.49.465.
31. Kukina T.P., Frolova T.S., Salnikova O.I. Neutral Constituents of *Chamaenerion angustifolium* Leaves // *Chemistry of Natural Compounds*. 2014. Vol. 50. N2. Pp. 233–236. DOI: 10.1007/s10600-014-0920-1.
32. Kukina T.P., Shcherbakov D.N., Gensh K.V., Tulysheva E.A., Salnikova O.I., Grazhdannikov A.E., Kolosova E.A. Bioactive components of sea buckthorn *Hippophae rhamnoides* L. foliage // *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*. 2017. Vol. 43. N7. Pp. 57–61. DOI: 10.1134/S1068162017070093.

33. Kukina T.P., Shcherbakov D.N., Gensh K.V., Panteleeva N.V., Tulysheva E.A., Salnikova O.I., Grazhdannikov A.E., Kolosov P.V., Galitsyn G.Yu. Bioactive Components in Methyl-*tert*-Butyl Ether Extract of Sea Buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) Green Waste // Russian Journal of Bioorganic Chemistry. 2020. Vol. 46. N7. Pp. 1372–1377. DOI: 10.1134/S1068162020070067.

Поступила в редакцию 20 июля 2021 г.

После переработки 15 ноября 2021 г.

Принята к публикации 16 ноября 2021 г.

Для цитирования: Кукина Т.П., Щербаков Д.Н., Зыбкина А.В., Елшин И.А., Корсаков В.О., Сальникова О.И., Колосов П.В., Сандаг Ц., Каракай Д.А., Мордвинова Е.Д. Влияние экстрагента на состав липофильных компонентов экстрактов корневища *Rhodiola rosea* L. и активность экстрактов // Химия растительного сырья. 2021. №4. С. 307–317. DOI: 10.14258/jcprm.2021049872.

Kukina T.P.^{1*}, Shcherbakov D.N.^{2,3}, Zybkin A.V.³, Elshin I.A.^{1,4}, Korsakov V.O.², Salnikova O.I.¹, Kolosov P.V.⁵, Sandag Ts.⁶, Karakai D.A.¹, Mordvinova E.D.^{1,3} EFFECT OF AN EXTRAGENT ON THE COMPOSITION OF THE LIPOPHILIC CONSTITUENTS OF THE EXTRACTS OF *RHODIOLA ROSEA* L. AND ON THE EXTRACTS ACTIVITY

¹ Novosibirsk institute of organic chemistry of the Siberian Branch of the Russian Academy of Science n.a. N.N. Vorozhtsov, pr. Acad. Lavrentyeva, 9, Novosibirsk, 630090 (Russia), e-mail: kukina@nioch.nsc.ru

² Altai State University, pr. Lenina, 61, Barnaul, 656049 (Russia)

³ FBUN SSC VB "Vector", settlement Koltsovo, Novosibirsk region, 630559 (Russia)

⁴ Novosibirsk State University, ul. Pirogova, 1, Novosibirsk, 630090 (Russia)

⁵ LLC "VacBioLab", ul. Entuziastov, 3, Ulyanovsk, 432071 (Russia)

⁶ Mongolian National University of Medical Sciences, Zorig street, 3, Ulaanbaatar 14210 (Mongolia)

The composition of the plant *Rhodiola rosea* L. lipophylic substances was studied. Acidic and neutral components were identified by gas-chromatography-mass-spectrometry. With methyl-*tert*-butyl ether (MTBE) as an extractant instead of the volatile solvent diethyl ether, lipophylic extract was obtained. Methyl-*tert*-butyl ether used as an extraction solvent for raw materials has all the advantages of diethyl ether, being free of its disadvantages. It does not form peroxides or produce elevated partial gas pressure due to its higher boiling point. As a result, comparison with databases identified some triterpene, phenolic and aliphatic acids with chain lengths 12 to 30 carbon atoms, including saturated, unsaturated, and dibasic acids. In addition to the components known from the literature, more than 50 triterpene and aliphatic compounds were detected in the unsaponifiable residue and acidic fractions for the first time. The hexane extract and the product obtained by the stepwise extraction of MTBE after the extraction of low-polarity compounds with hexane were investigated in a similar way. In the case of an extract obtained using MTBE after the extraction of low-polarity components with hexane, there was shown a more efficient extraction of benzoic and cinnamic acids compared to the exhaustive extraction of MTBE. These acids are absent in the hexane extract. Ethanol extraction was also carried out to test bioactivity: exhaustive and after hexane and MTBE extraction. Extracts obtained using MTBE and ethanol showed anti-virus activity against *Ebola pseudovirus*.

Keywords: gold root, *Rhodiola rosea* L., extractive substances, methyl-*tert*-butyl ether, phenolic acids.

Referenses

1. Budantsev A.L., Lesiovskaya Ye.Ye. *Dikorastushchiye poleznyye rasteniya Rossii*. [Wild useful plants of Russia]. St.-Petersburg, 2001, 663 p. (in Russ.).
2. Brown R.P., Gerbarg P.L., Ramazanov Z. *Herbal Gram*, 2002, vol. 56, pp. 40–52.
3. Wang H., Ding Y., Zhou J., Sun X., Wang S. *Phytomedicine*, 2009, vol. 16, pp. 146–155. DOI: 10.1016/j.phymed.2008.07.013.
4. Kwon Y.-I., Jang H.-D., Shetty K. *Asia Pac. J. Clin. Nutr.*, 2006, vol. 15, pp. 425–432.
5. Krylov G.V. *Travy zhizni i ikh iskateli*. [The herbs of life and their seekers. West Siberian Book Publishing House]. Novosibirsk, 1969. (in Russ.).

* Corresponding author.

6. Bykov V.A., Zapesochayna G.G., Kurkin V.A. *Pharm. Chem. J.*, 1999, vol. 33, pp. 29–40. DOI: 10.1007/BF02508414.
7. *Rastitel'nyye resursy Rossii: Dikorastushchiye tsvetkovyye rasteniya, ikh komponentnyy sostav i biologicheskaya aktivnost'* [Plant resources of Russia: Wild flowering plants, their component composition and biological activity], ed. A.L. Budantsev. St.-Petersburg, 2009, vol. 2, 513 p. (in Russ.).
8. Saratikov A.S. *Zolotoy koren' (Rodiola rozovaya)*. [Golden Root (*Rhodiola rosea*)]. Tomsk, 1974, 158 p. (in Russ.).
9. Krasnov Ye.A. *Khimicheskoye izucheniye i vozmozhnosti ispol'zovaniya v meditsine ryada rasteniy semeystva tolstyankovykh flory SSSR: avtoref. diss. ... doktora farmatsevticheskikh nauk*. [Chemical study and the possibility of using in medicine a number of plants of the plant of the flora of the USSR: author. diss. ... Doctors of pharmaceutical sciences]. Moscow, 1990. (in Russ.).
10. Krasnov Ye.A., Saratikov A.S., Surov Yu.P. *Rasteniya semeystva tolstyankovykh*. [Plants of the fatty family]. Tomsk, 1979, 208 p. (in Russ.).
11. Kurkin V.A. *Khimicheskoye izucheniye rodioly rozovoy (Rhodiola rosea L.): avtoref. dis. ... kand. farm. nauk*. [Chemical study of *Rhodiola rosea* L. dis. ... Cand. farm. sciences]. Moscow, 1985, 20 p. (in Russ.).
12. *Dikorastushchiye poleznyye rasteniya flory Mongol'skoy Narodnoy Respubliki*. [Wild useful plants of the flora of the Mongolian People's Republic.]. Leningrad, 1985, 236 p. (in Russ.).
13. Rohloff J. *Phytochemistry*, 2002, vol. 59, no. 6, pp. 655–661. DOI: 10.1016/s0031-9422(02)00004-3.
14. Todorova T.M., Evstatieva L., Platicanov S., Kuleva L. *J. Essent. Oil. Bear. Plants*, 2006, vol. 9, no. 3, pp. 267–270. DOI: 10.1080/0972060X.2006.10643502.
15. Evstatieva L., Todorova M., Antonova D., Staneva J. *Pharmacogn. Mag.*, 2010, vol. 6, no. 24, pp. 256–258. DOI: 10.4103/0973-1296.71782.
16. Ma G., Li W., Dou D., Chang X., Bai H., Satou T., Li J., Sun D., Kang T., Nikaido T., Koike K. *Chem. Pharm. Bull.*, 2006, vol. 54, no. 8, pp. 1229–1233. DOI: 10.1248/cpb.54.1229.
17. Bridel M., Beguin C. *Seances Acad. Sci.*, 1926, vol. 183, pp. 321–323.
18. Tolonen A., Pakonen M., Hohtola A., Jalonen J. *Chem. Pharm. Bull.*, 2003, vol. 51, no. 4, pp. 467–470. DOI: 10.1248/cpb.51.467.
19. Akgul Y., Ferreira D., Abourashed E.A., Khan I.A. *Fitoterapia*, 2004, vol. 75, no. 6, pp. 612–614. DOI: 10.1016/j.fitote.2004.06.002.
20. Ali Z., Fronszek F.R., Khan I.A. *Planta Med.*, 2008, vol. 74, no. 2, pp. 178–181. DOI: 10.1055/s-2008-1034288.
21. Ming D.S., Hillhouse B.J., Guns E.S., Eberding A., Xie S., Vimalanathan S., Towers G.H. *Phytoter. Res.*, 2005, vol. 19, no. 9, pp. 740–743. DOI: 10.1002/ptr.1597.
22. Petsalo A., Jalonen J., Tolonen A. *J. Chromatogr. A*, 2006, vol. 1112, pp. 224–231. DOI: 10.1016/j.chroma.2005.11.056.
23. Panossian A., Wikman G., Sarris J. *Phytomedicine*, 2010, vol. 17, pp. 481–493. DOI: 10.1016/j.phymed.2010.02.002.
24. Hethelyi E.B., Korany K., Galambesi B., Domokos J., Palinkas J. *J. Essent. Oil. Res.*, 2005, vol. 17, no. 6, pp. 628–629. DOI: 10.1080/10412905.2005.9699016.
25. Shatar S., Adams R.P., Koenig W. *J. Essent. Oil. Res.*, 2007, vol. 19, no. 3, pp. 215–217. DOI: 10.1080/10412905.2007.9699264.
26. Marchev A.S., Aneva I.Y., Koycheva I.K., Georgiev M.I. *Phytochem. Lett.*, 2017, vol. 20, pp. 386–390. DOI: 10.1016/j.phytol.2016.12.030.
27. Mirmazloum I., Ladányi M., György Z. *Nat. Prod. Commun.*, 2015, vol. 10, pp. 1413–1416.
28. Alperth F., Turek I., Weiss S., Vogt D., Bucar F. *Sci. Pharm.*, 2019, vol. 87, no. 2, p. 8. DOI: 10.3390/sci-pharm87020008.
29. Ioset K.N., Nyberg N.T., van Diermen D., Malnoe P., Hostettmann K., Shikov A.N., Jaroszewski J.W. *Phytochem. Anal.*, 2011, vol. 22, pp. 158–165. DOI: 10.1002/pca.1262.
30. Ganzera M., Yayla Y., Khan I.A. *Chem. Pharm. Bull.*, 2001, vol. 49, no. 4, pp. 465–467. DOI: 10.1248/cpb.49.465.
31. Kukina T.P., Frolova T.S., Salnikova O.I. *Chemistry of Natural Compounds*, 2014, vol. 50, no. 2, pp. 233–236. DOI: 10.1007/s10600-014-0920-1.
32. Kukina T.P., Shcherbakov D.N., Gensh K.V., Tulysheva E.A., Salnikova O.I., Grazhdannikov A.E., Kolosova E.A. *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, 2017, vol. 43, no. 7, pp. 57–61. DOI: 10.1134/S1068162017070093.
33. Kukina T.P., Shcherbakov D.N., Gensh K.V., Panteleeva N.V., Tulysheva E.A., Salnikova O.I., Grazhdannikov A.E., Kolosov P.V., Galitsyn G.Yu. *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, 2020, vol. 46, no. 7, pp. 1372–1377. DOI: 10.1134/S1068162020070067.

Received July 20, 2021

Revised November 15, 2021

Accepted November 16, 2021

For citing: Kukina T.P., Shcherbakov D.N., Zybikina A.V., Elshin I.A., Korsakov V.O., Salnikova O.I., Kolosov P.V., Sandag Ts., Karakai D.A., Mordvinova E.D. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2021, no. 4, pp. 307–317. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.2021049872.

