

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
ХИМИКО-ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»

На правах рукописи



Лужанин Владимир Геннадьевич

**Методология поиска перспективных лекарственных кандидатов
на основе индивидуальных веществ растительного происхождения**

3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия

Диссертация на соискание учёной степени
доктора фармацевтических наук

Научный консультант:
доктор фармацевтических наук, профессор,
член-корреспондент РАН
Самылина Ирина Александровна

Санкт-Петербург – 2024

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	5
ГЛАВА 1 ПОИСК ПЕРСПЕКТИВНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ КАНДИДАТОВ РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ: СКРИНИНГ, ВЫДЕЛЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ И ИХ ИССЛЕДОВАНИЕ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)	18
1.1 Современные методологии поиска лекарственных кандидатов растительного происхождения: проблемы, подходы, решения	18
1.2 Методы выделения индивидуальных соединений растительного происхождения, их преимущества и недостатки	28
1.3 Современные подходы к фармакологическому скринингу лекарственных кандидатов растительного происхождения: роль методов <i>in silico</i> , <i>in vitro</i> , <i>in vivo</i>	36
1.4 Методы исследования фармакологической эффективности смеси индивидуальных соединений, известные подходы, достоинства, недостатки	48
ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	60
2.1 Объекты исследования.....	60
2.2 Реактивы и растворители	61
2.3 Методы фитохимического исследования.....	61
2.4 Методы биологических исследований	63
2.4.1 Исследование влияния биологически активных соединений на систему гемостаза.....	63
2.4.2 Методы статистической обработки биологических экспериментов	67
ГЛАВА 3 ВЫДЕЛЕНИЕ И ИССЛЕДОВАНИЕ СОСТАВА ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ <i>EMPETRUM NIGRUM</i> L., <i>RUBUS CHAMAEMORUS</i> L., <i>IRIS</i> <i>LACTEA</i> PALL., <i>ONONIS ARVENSIS</i> L., <i>SOLIDAGO CANADENSIS</i> L.	68
3.1 Разработка общих подходов к выделению индивидуальных соединений из растительного сырья	68

3.2	Индивидуальные соединения <i>Empetrum nigrum</i> L.	71
3.2.1	Индивидуальные соединения дихлорметановой фракции	72
3.2.2	Индивидуальные соединения н-гексановой фракции	83
3.2.3	Индивидуальные соединения н-бутанольной фракции.....	96
3.3	Индивидуальные соединения <i>Rubus chamaemorus</i> L.	102
3.4	Индивидуальные соединения <i>Iris lactea</i> Pall.	111
3.5	Индивидуальные соединения <i>Ononis arvensis</i> L.	130
3.6	Индивидуальные соединения <i>Solidago canadensis</i> L.	134
ГЛАВА 4 ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ВОЗМОЖНЫХ МЕХАНИЗМОВ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ВЫДЕЛЕННЫХ <i>IN SILICO</i> СОЕДИНЕНИЙ.....		138
4.1	Прогнозирование фармакологической активности индивидуальных соединений	138
4.2	Отбор перспективных молекул-кандидатов по результатам предварительного прогнозирования.....	147
4.3	Идентификация метаболических путей системы коагуляции крови и агрегации тромбоцитов.....	149
4.3.1	Метаболические пути системы активации тромбоцитов	149
4.3.2	Выбор перспективных соединений на основе анализа данных молекулярного докинга.....	151
4.4	Имитационное моделирование времени образования сгустка в норме и при добавлении химических соединений, обладающих антиагрегантным действием.....	158
ГЛАВА 5 ИССЛЕДОВАНИЕ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ВЫДЕЛЕННЫХ СОЕДИНЕНИЙ.....		164
5.1	Скрининг полученных экстрактов и индивидуальных соединений в отношении системы гемостаза.....	164
5.2	Определение взаимного влияния активных компонентов, выделенных из суммарных экстрактов.....	167

ГЛАВА 6 БАЗОВЫЙ АЛГОРИТМ И ОСНОВНЫЕ ПРИНЦИПЫ МЕТОДОЛОГИИ ПОИСКА ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ КАНДИДАТОВ НА ОСНОВЕ ИНДИВИДУАЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ	177
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	180
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	183
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	184
ПРИЛОЖЕНИЕ 1.....	209
ПРИЛОЖЕНИЕ 2.....	379

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Поиск новых лекарственных средств на основе биологически активных веществ растений традиционно является актуальным направлением фармацевтических исследований и разработок. Фитопрепараты, обладая полимодальной терапевтической активностью, способны воздействовать сразу на несколько различных звеньев патогенеза, а широкий диапазон терапевтических доз в сочетании с относительно низкой токсичностью обуславливает их эффективность и безопасность [27].

Природные источники биологически активных молекул отличаются более высоким химическим разнообразием по сравнению с веществами синтетического и биотехнологического происхождения, что в сочетании с современными методами физико-химического анализа, возможностями осуществления компьютерного прогноза фармакологической активности *in silico* отдельных молекул и развитием методов исследования *in vitro* обеспечивает основу для направленного поиска биологически активных комплексов и индивидуальных соединений растительного происхождения. Кроме того, важными факторами, определяющими приоритет изучения лекарственного растительного сырья, являются доступность, биоразнообразие и возобновляемость природных ресурсов Российской Федерации, а также значительный объем накопленных знаний в области фармакогнозии, фитомедицины и этнофармакологии [18]. Так, за период с 1981 по 2016 г. среди всех зарегистрированных в мире новых лекарственных средств, доля средств растительного происхождения составила около 33 % [152, 153].

Порядка 50 % лекарственных препаратов разработаны на основе соединений, впервые идентифицированных или выделенных из растений [155].

Доля зарегистрированных в Российской Федерации препаратов растительного происхождения составляет порядка 20 % от общего числа зарегистрированных лекарств [1, 34].

Наряду с многокомпонентными экстракционными фитопрепаратами и лекарственным растительным сырьем, на отечественном фармацевтическом рынке также присутствуют высокоочищенные препараты и препараты на основе индивидуальных веществ, однако доля последних двух групп составляет лишь 5 и 1,9 %, соответственно [41], что обусловлено высокой трудоемкостью их препаративного выделения и очистки.

Разработка новых фитопрепаратов сопряжена с целым рядом трудностей и проблем. Так, для суммарных экстракционных препаратов необходимо устанавливать группы биологически активных веществ, проявляющих основное терапевтическое действие, и разрабатывать для них методики стандартизации, а наличие соэкстрактивных веществ в полной мере снижает степень выраженности их фармакологического эффекта. Кроме того, установление фармакологической мишени и механизма действия лекарственного препарата растительного происхождения, представляющего собой сумму действующих веществ, крайне затруднительно и является в настоящее время существенным ограничивающим фактором современной лекарственной разработки.

Выделение индивидуальных соединений из суммарных экстрактов с последующим прогнозированием их активности методом *in silico* и подтверждением в экспериментах *in vitro* позволяет осуществить эффективный скрининг перспективных молекул, сократить время и средства для определения молекулярных мишеней, механизмов действия, достоверно оценить фармакокинетические параметры и их потенциальную токсичность [124].

Таким образом, с учетом требований современных надлежащих фармацевтических практик, актуальной задачей современной фармации является поиск новых лекарственных кандидатов на основе индивидуальных соединений растительного происхождения, что позволяет проводить фармацевтическую разработку лекарственных средств с высокой степенью доказательности.

Степень разработанности темы исследования

Объекты исследования, представленные надземными частями *Empetrum nigrum* L., *Iris lactea* Pall., *Ononis arvensis* L., *Solidago canadensis* L. и листьями *Rubus chamaemorus* L., частично изучены по химическому составу и фармакологической активности.

Ранее были исследованы липофильные компоненты листьев *Empetrum nigrum* – халконы, дигидрохалконы, производные бибензила, тритерпеноидов производных урсоловой и олеаноловой кислот, уваола и эритродиола [51, 135]. Из хлороформной фракции выделены производное флавонона: 6,8-диметилпиноцембрин и 2'-метокси-4'-гидрокси-альфа, бета-дигидрохалкон [162]. В 70 %-м этанольном экстракте выявлены кверцетин, гиперозид, изокверцитрин, авикулярин [15]. Для суммарных экстрактов *Empetrum nigrum* отмечена противосудорожная, противотуберкулезная, антимикробная, антиоксидантная и другие виды активности [31, 96, 168].

В листьях *Rubus chamaemorus* установлено наличие мономеров, димеров, тримеров и тетрамеров эллаготаннинов, выявлено присутствие антоцианов, фенолокислот и флавоноидов [62], описаны противомикробные свойства в отношении, как грамположительных, так и грамотрицательных бактерий [21, 61].

Трава *Iris lactea* содержит фенолкарбоновые кислоты (феруловую, цис-п-кумаровую, транс-п-кумаровую, кофейную, хлорогеновую и др.), флавоноиды (лютеолин, апигенин, гомоориентин, сверцияяпонин, эмбинин и его производные), ксантоны (мангиферин и изомангиферин), производные стильбена, высшие жирные кислоты. Суммарные экстракты травы *Iris lactea* обладают нефропротективной, антигипоксической, антиоксидантной и противовирусной активностью [4, 82].

В надземной части *Ononis arvensis* обнаружены изофлавоноиды (формонетин, дайдзеин), фенолкарбоновые кислоты (вератровая, галловая, гентизиновая, кофейная, п-гидроксибензойная, п-кумаровая, п-кумароилхинная, сиреневая и хлорогеновая), арабиноглюкогалактаны, тритерпеновые соединения, β -ситостерол, аминокислоты, макро- и микроэлементы [10, 39]. Установлена

антибактериальная и противогрибковая активность суммарных экстрактов из наземной части *Ononis arvensis* [119].

Трава *Solidago canadensis* содержит тритерпеновые соединения, дитерпены, сесквитерпены, фенольные гликозиды, лигнаны (8-дегидроксиметилвизанол, 9-альдегидвизанол, визанол), 9-О-[3-О-ацетил-β-D-глюкопиранозил]-4-гидроксикоричную кислоту [122]. Суммарные экстракты из наземной части *Solidago canadensis* обладают противовоспалительной, антибактериальной и антиоксидантной активностью [3].

Таким образом, для всех вышеуказанных объектов ранее были проведены общие фитохимические исследования, преимущественно по основным группам соединений, а также несистемные исследования некоторых видов фармакологической активности их суммарных экстрактов. Методология разработки новых фитопрепаратов предполагает использование алгоритма комплексного последовательного применения различных междисциплинарных методов исследований, позволяющего осуществить обоснованный выбор перспективных лекарственных кандидатов. Целенаправленного выделения индивидуальных соединений и установления их химической структуры, построения теоретически обоснованных прогностических моделей фармакологической активности данных структур *in silico* с последующим фармакологическим скринингом *in vitro* для доказательного выбора наиболее перспективных кандидатов и последующей фармацевтической разработки для данных объектов ранее не проводилось.

Цель исследования: разработать методологию поиска перспективных лекарственных кандидатов путем алгоритмизации процессов выделения и изучения индивидуальных веществ из растительного сырья.

Задачи исследования

1. Предложить критерии и обосновать выбор растительных объектов и методов комплексного экспериментального исследования.

2. Выделить индивидуальные соединения из объектов исследования и определить их химическую структуру современными физико-химическими

методами анализа; сформировать реестр выделенных индивидуальных соединений.

3. Провести оценку потенциала биологической активности выделенных индивидуальных соединений *in silico* (Way2Drug + SwissPredict) и определить наиболее перспективную систему организма человека для изучения действия исследуемых молекул на наибольшее количество вероятных мишеней и последующего фармакологического скрининга.

4. Провести скрининг потенциальной фармакологической активности молекул выделенных индивидуальных веществ *in silico* (SwissPredict), анализируя вероятные сочетанные эффекты на большинство мишеней в исследуемых метаболических путях, для прогностического определения целевой группы перспективных лекарственных кандидатов.

5. Провести скрининг фармакологической активности выделенных индивидуальных веществ и суммарных экстрактов на моделях системы гемостаза организма человека *in vitro* для экспериментального определения целевой группы перспективных лекарственных кандидатов.

6. Изучить взаимное влияние лекарственных кандидатов-лидеров при эквимольном смешении на фармакологическую активность на моделях системы гемостаза организма человека *in vitro*.

7. На основании полученных эмпирических данных сформулировать основные принципы и выработать базовый алгоритм предлагаемой методологии поиска потенциальных лекарственных кандидатов на основе индивидуальных веществ растительного происхождения.

Научная новизна

Впервые предложена методология поиска потенциальных лекарственных кандидатов на основе индивидуальных веществ растительного происхождения. Впервые из травы *Iris lactea* препаративно выделены 8 производных С-гликозидов флавоноидов (из них 4 новых природных соединения), 1 производное ксантона; из травы *Solidago canadensis* выделены 4 производных флавоноидов;

из листьев *Rubus chamaemorus* выделены 3 производных гликозидов глюкуроновых кислот, 2 таннина (из них 1 новое природное соединение); из травы *Ononis arvensis* выделены 1 производное флавоноидов и 2 производных изофлавоноидов; из побегов *Empetrum nigrum* выделены 1 производное флавоноидов, 3 таннина, 3 производных бибензила (из них 1 новое природное соединение), 4 производных 9,10-дигидрофенантрена (из них 1 новое природное соединение), 4 производных дигидрохалконов (из них 1 новое природное соединение), 2 производных халкона. Таким образом, из исследуемых растений впервые выделены и идентифицированы 38 индивидуальных соединений, 8 из которых являются новыми природными.

Впервые проведено сочетанное (Way2Drug + SwissPredict) компьютерное моделирование и осуществлен прогноз фармакологической активности *in silico* 38 выделенных индивидуальных соединений.

Впервые исследовано влияние суммарных экстрактов и растворов индивидуальных соединений, выделенных из надземных частей *Empetrum nigrum*, *Iris lactea*, *Ononis arvensis*, *Solidago canadensis* и листьев *Rubus chamaemorus*, в сравнении с референтными веществами (гепарином натрия, ацетилсалициловой кислотой, пентоксифиллином) на систему гемостаза человека (процессы коагуляции, активации и агрегации тромбоцитов плазмы донорской крови) в условиях *in vitro* и установлены соединения-лидеры для последующей фармацевтической разработки.

Впервые изучено взаимное влияние соединений-лидеров при эквимольном смешении на фармакологическую активность на моделях системы гемостаза организма человека *in vitro*.

Получены 4 патента РФ и 1 свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ:

– Патент RU 2806331 «Применение 1-(3,5-дигидрокси-4-метоксифенил)-2-(3-гидроксифенил)-этана в качестве средства, обладающего антиагрегационной активностью»;

– Патент RU 2808460 «Применение 2,3,4-триметокси-5-гидрокси-9,10-дигидрофенантрена в качестве средства, обладающего антиагрегационной активностью»;

– Патент RU 2812630 «Применение 5,7-дигидрокси-6,8-диметилфлаванона в качестве средства, обладающего антиагрегационной активностью»;

– Патент RU 2811240 «Применение 4-о- α -арабинофуранозилэллаговой кислоты в качестве средства, обладающего антиагрегационной активностью»;

– Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ RU 2023680120 «Численный симулятор активации тромбоцитов».

Теоретическая и практическая значимость

Результаты экспериментальных исследований позволили разработать базовый алгоритм и сформулировать основные принципы поиска потенциальных лекарственных кандидатов на основе индивидуальных веществ растительного происхождения, что обеспечивает переход от традиционного изучения лекарственного растительного сырья как лекарственного средства, к изучению лекарственного растительного сырья как источника биологически активных молекул. Также результаты исследований фармакологической активности *in vitro* на моделях системы гемостаза организма человека показали преимущественную эффективность индивидуальных веществ над их суммой в виде экстракта или эквимольных смесей. В целом результаты изучения индивидуальных веществ позволяют рассматривать их в качестве потенциальных лекарственных кандидатов и формулировать актуальные научно-практические задачи по разработке новых методик стандартизации лекарственного растительного сырья по содержанию индивидуальных веществ, разработке промышленных регламентов по культивированию и заготовке лекарственного растительного сырья для направленного увеличения содержания в нем целевых веществ, разработке промышленных регламентов по выделению индивидуальных соединений из растительного сырья, методик их химического воспроизведения и модификации.

Разработаны 38 паспортов субстанций для выделенных индивидуальных соединений, которые содержат физико-химические характеристики веществ и данные компьютерного прогноза их фармакологической активности, что позволило сформировать реестр индивидуальных веществ фенольной природы. В результате последовательных экспериментов по скринингу фармакологической активности из 38 выделенных индивидуальных соединений определены 4 наиболее перспективных лекарственных кандидата с целью последующей фармацевтической разработки средств для лечения заболеваний сердечно-сосудистой и кровеносной систем: 1-(3,5-дигидрокси-4-метоксифенил)-2-(3-гидроксифенил)-этан; 2,3,4-триметокси-5-гидрокси-9,10-дигидрофенантрен; 5,7-дигидрокси-6,8-диметилфлаванон; 4-о- α -арабинофуранозилэллаговая кислота.

Методика выделения из растительного сырья индивидуальных веществ, обладающих лекарственным потенциалом и относящихся к производным бибензила, 9,10-дигидрофенантрена и дигидрохалконов, внедрена в учебный процесс ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России (г. Пермь) (акт от 30 августа 2023 г.). Разработанная методология поиска перспективных лекарственных кандидатов на основе индивидуальных веществ растительного происхождения внедрена в научный процесс ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России (г. Санкт-Петербург) (акт от 29 января 2024 г.). Алгоритм выбора перспективных для фармацевтической разработки молекул и их сочетаний на основе анализа результатов прогностического моделирования внедрен в производство АО «Фармпроект» (г. Санкт-Петербург) (акт от 14 ноября 2023 г.). Методика выделения индивидуальных производных С-гликозидов флавоноидов и ксантонов из травы *Iris lactea* внедрена в производство ООО «Тенториум» (г. Пермь) (акт от 25 января 2024 г.).

Методология и методы исследования

Исследования проводились в период с 2013 по 2024 г. Выделение индивидуальных соединений осуществляли методами колоночной хроматографии и препаративной высокоэффективной жидкостной

хроматографии (ВЭЖХ), текущий анализ химического состава фракций проводили методами высокоэффективной тонкослойной хроматографии (ВЭТСХ) и ВЭЖХ с ультрафиолетовым детектором. Установление структуры выделенных соединений проводили методами спектроскопии ядерного магнитного резонанса и масс-спектрометрии высокого разрешения. Компьютерный прогноз фармакологической активности исследуемых молекул осуществляли при помощи сервисов Way2Drug и SwissPredict. Изучение влияния выделенных индивидуальных соединений на систему гемостаза человека проводили методами *in vitro*. Теоретическую основу исследования составляли труды зарубежных и отечественных ученых по фитохимическому анализу вторичных метаболитов растений, относящихся к группе фенольных соединений. Методология исследования заключалась в выделении индивидуальных веществ из изучаемого сырья, установлении их химической структуры, фармакологическом скрининге методами *in silico* и *in vitro*, отборе наиболее перспективных для последующей фармацевтической разработки кандидатов-лидеров.

Положения, выносимые на защиту

1. Критерии выбора растительных объектов, дизайн и методы комплексного экспериментального исследования.
2. Результаты выделения, изучения и идентификации индивидуальных фенольных соединений из объектов исследования; реестр выделенных индивидуальных соединений.
3. Результаты оценки потенциала биологической активности выделенных индивидуальных соединений *in silico* (Way2Drug + SwissPredict) и определения наиболее перспективной модели *in vitro* для изучения действия исследуемых молекул на наибольшее количество вероятных мишеней для последующего фармакологического скрининга.
4. Результаты скрининга потенциальной фармакологической активности выделенных индивидуальных веществ *in silico* (SwissPredict), анализа вероятных

сочетанных эффектов на большинство мишеней в исследуемых метаболических путях и прогностического определения целевой группы перспективных лекарственных кандидатов.

5. Результаты скрининга фармакологической активности выделенных индивидуальных веществ и суммарных экстрактов на моделях системы гемостаза организма человека *in vitro*; целевая группа перспективных лекарственных кандидатов-лидеров.

6. Результаты изучения взаимного влияния лекарственных кандидатов-лидеров при эквимольном смешении на фармакологическую активность на моделях системы гемостаза организма человека *in vitro*.

7. Основные принципы и базовый алгоритм предлагаемой методологии поиска потенциальных лекарственных кандидатов на основе индивидуальных веществ растительного происхождения.

Степень достоверности и апробация работы

Достоверность полученных результатов обусловлена соответствием используемых научных методов исследования поставленным задачам, применением современного оборудования и высокотехнологичных методов исследования, воспроизводимостью полученных результатов и применением корректных методов статистической обработки данных.

Основные положения работы были доложены на Международных конгрессах «РНУТОРНАРМ» (Санкт-Петербург, 2016, 2019, 2023; Грац (Австрия), 2017; Хорген (Швейцария), 2018); XXII Санкт-Петербургской Ассамблее молодых ученых и специалистов (Санкт-Петербург, 2017); Международных научно-методических конференциях «Гаммермановские чтения» (Санкт-Петербург, 2017, 2019; Пермь, 2023); Международной научной конференции «Перспективы лекарственного растениеводства» (Москва, 2018); Международных научно-практических конференциях «Актуальные вопросы современной фармакогнозии» (Пятигорск, 2019, 2023); XVII Международной школе-конференции «Magnetic Resonance and its Applications Proceedings –

SPINUS 2020» (Санкт-Петербург, 2020); Научно-практической конференции с международным участием «Создание новых лекарств – от идеи до производства» (Пермь, 2021); Научно-практических конференциях «Международная интеграция в сфере химической и фармацевтической промышленности» (Москва, 2021, 2023); Международных научно-практических конференциях «Разработка лекарственных средств – традиции и перспективы» (Томск, 2021, 2023); Международной научной конференции «От биохимии растений – к биохимии человека» (Москва, 2022); Международной научно-практической конференции «Фармацевтическая наука XXI века: актуальные проблемы и перспективы их решений» (Уфа, 2022); Научно-методических конференциях с международным участием «Сандеровские чтения» (Санкт-Петербург, 2023, 2024); Конгрессе «Химико-фармацевтические и биологические препараты: фармацевтическая и клиническая разработка согласно правилам ЕАЭС» (Москва, 2023); Международной научной конференции «Интеграционные связи фармацевтической экологии в современных реалиях» (Москва, 2023).

Связь задач исследования с проблемным планом фармацевтических наук

Диссертационная работа выполнена в соответствии с планом научно-исследовательских работ ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России, в том числе в рамках тематики государственного задания «Разработка методологической концепции контроля качества лекарственных средств и субстанций природного происхождения с использованием инновационных аналитических методов» (регистрационный номер АААА-А20-120121790032-2 от 17.12.2020).

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения работы соответствуют паспорту специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия, а именно пункту 1 – Исследование и получение биологически активных веществ на основе направленного изменения

структуры синтетического и природного происхождения и выявление связей и закономерностей между строением и свойствами веществ; пункту 6 – Изучение химического состава лекарственного растительного сырья, установление строения, идентификация природных соединений, разработка методов выделения, стандартизации и контроля качества лекарственного растительного сырья и лекарственных форм на его основе.

Публикации

По теме диссертационной работы опубликовано 36 научных работ, в том числе 13 статей в журналах, входящих в Перечень рецензируемых научных журналов и изданий для опубликования основных научных результатов диссертаций, рекомендованный ВАК Минобрнауки России, а также 5 статей, индексируемых в наукометрической базе данных Scopus. Получены 4 патента Российской Федерации на изобретение и свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ.

Личный вклад автора

Работа представляет собой самостоятельный научный труд автора и включает исследования за период с 2013 по 2024 г. Во всех работах, выполненных в соавторстве, вклад автора выражается участием в сборе и определении сырья, выполнении работ по выделению и идентификации индивидуальных соединений, проведении скрининговых исследований фармакологической активности, обобщении и систематизации полученных результатов, формулировке основного алгоритма и принципов предлагаемой методологии, а также руководстве междисциплинарной научной группой исследователей.

Структура и объем диссертации

Диссертационная работа изложена на 388 страницах машинописного текста, состоит из введения, 6 глав (обзор литературы; объекты и методы

исследований; 3 главы, содержащие результаты экспериментальных исследований; базовый алгоритм и принципы разработанной методологии), заключения, 2 приложений, списка сокращений и списка литературы. Работа иллюстрирована 29 рисунками и 45 таблицами. Список литературы включает 216 источник, из них 45 на русском языке и 171 – на иностранных.

ГЛАВА 1 ПОИСК ПЕРСПЕКТИВНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ КАНДИДАТОВ РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ: СКРИНИНГ, ВЫДЕЛЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ И ИХ ИССЛЕДОВАНИЕ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

Начиная с 70-х гг. XX в. и на протяжении последующих 45 лет интерес к разработке лекарств из сырья растительного происхождения был неустойчивым, главным образом из-за их многокомпонентности, невыясненных механизмов действия, а также существующего в те времена тренда на поиск «действующей молекулы». Сегодня технологические достижения, новые знания и подходы в биохимии, молекулярной биологии, химии и фармакологии («сетевая фармакология», «полифармакология») помогли решить многие проблемы в процессах выделения веществ из природного сырья, их очистки, идентификации, прогноза активности, понимании механизмов действия, и привели к возрождению научного и практического интереса к разработке лекарственных препаратов (ЛП) из природных источников. В настоящее время в проекты разработки новых лекарственных средств, прогнозирование совместимости фармацевтических субстанций, вспомогательных веществ, фармакологической активности, создания программных продуктов международными компаниями, связанными с фармацевтикой, биотехнологией, медициной, химией, искусственным интеллектом, информационными технологиями (AstraZeneca, GlaxoSmithKline, Guy's & St.Thomas' NHS Foundation Trust, King's College London, Oxford Nanopore Technologies и др.), инвестируются значительные денежные средства [16].

1.1 Современные методологии поиска лекарственных кандидатов растительного происхождения: проблемы, подходы, решения

В XX в. и начале XXI в. отечественные и зарубежные исследователи вели поиск новых природных источников лекарств исключительно с использованием

классических методов. К ним относятся «метод родства», или «филогенетический метод», когда поиск новых перспективных источников проводится среди систематически близких видов внутри семейств, родов, классов. Использование этого метода позволило открыть для науки и практики много растений, ставших источниками получения ценных лекарственных препаратов. Например, наперстянки, горицветы и др. «Метод сита», или «этномедицинский подход», заключается в проведении массовых фитохимических исследований этнофлоры на присутствие основных биологически активных веществ (БАВ). Этот метод в свое время привел к использованию в лечении дизентерии *Andrographis paniculata* и выделению андрографолида – вещества, ответственного за этот вид активности. Морфин, кодеин, папаверин из *Papaver somniferum*, берберин из *Berberis aristata* и пикрозид из *Picrorrhiza kurroa* также являются примерами успешной реализации этого подхода. Опыт народной / традиционной медицины позволил открыть для современной медицины лекарственные растения с многолетней историей успешного применения, которые уже в XX в. стали источником для получения лекарственных препаратов. Примерами являются артемизинин из *Artemisia alba* (противомалярийное средство), гуггулстероны из *Commiphora mukul* (гиперлипидемическое), босвеллиевые кислоты из *Boswellia serrata* (противовоспалительное), бакозиды из *Vacora monnieri* (ноотропное и улучшающее память), резерпин из *Rauwolfia serpentine* (антигипертензивное средство), препараты традиционной китайской медицины [142]. Некоторые растения, выбранные на основе иных подходов, также имеют успешную историю доведения до медицинской практики, например, «L-Дора» из *Muscuna prurita* и «Паклитаксел» из *Taxus brevifolia* [178, 182].

Как и ранее, в настоящее время применяются и другие методы и подходы – «метод случайного отбора», «метод биоразнообразия и химиоразнообразия», «теория жизненной стратегии», «экологический подход», «метабономика», «метод наблюдения за поведением животных», «метод химической защиты» [55, 71, 110, 118, 161, 168, 184, 185, 212].

Рассмотренные традиционные методы и подходы требуют значительных затрат финансов и времени на этапе скрининга, а также на последующих этапах доклинических и клинических исследований отобранных объектов (*in vitro*, *in vivo*), при этом итог такой работы зачастую далек от ожидаемого результата [142, 189]. Поэтому перед учеными еще в прошлом веке стояла задача по рационализации процесса поиска перспективных лекарственных кандидатов, сокращению затрат времени и финансов на фазы доклинических и клинических исследований, повышению эффективности конечного результата. Общеизвестно, в основу этого была положена гипотеза П. Эрлиха о существовании хеморецепторов, которая в начале XX в. была расширена Дж. Лэнгли, предложившим модель рецептора как генератора внутриклеточных биологических импульсов, активируемых агонистами и блокируемых антагонистами [98, 141].

Таким образом, понятие о рецепторах, определение их структуры, в сочетании с успехами в биохимии, молекулярной биологии, химии, информационных технологиях стали драйверами процесса рационального конструирования лекарств, как природного, так и синтетического происхождения. В XXI в. сроки от поиска перспективных кандидатов до выпуска лекарств на рынок сократились и составили в среднем 5–15 лет, а сам процесс превратился не «в стечение обстоятельств», а в «точный расчет». При этом полученная исследователями с помощью традиционных методов информация является основой современных баз данных, программного обеспечения, программных комплексов, сервисов, готовых платформ по химическим соединениям; моделированию биологической активности и т.д. (например, PubChem, ChemEMBL, Platinum, Токс21, Молекулярная сеть, Kaggle, Pro Tox, Микрокосм, SwissPredict, PASSonline и др.) [9].

Одна из приоритетных целей, стоящая перед российской наукой и практикой на фоне действующих санкций и призывов отказа от поставок лекарственных препаратов в нашу страну, – создание отечественных инновационных продуктов для лечения и профилактики социально значимых

заболеваний. Реализация данной цели возможна через развитие таких современных направлений, как «Молекулярная диагностика», «Молекулярное профилирование и выявление молекулярных и клеточных механизмов патогенеза», «Биомедицинские клеточные технологии», «Геномная паспортизация человека», «Биоэлектродинамика и лучевая медицина», «Биодеградируемые и композиционные материалы медицинского назначения» и «Перспективные лекарственные кандидаты» (Рисунок 1) [29].



Рисунок 1 – Тематические направления приоритетной программы «Медицина и здравоохранение»

Направление «Перспективные лекарственные кандидаты» включает поиск новых кандидатов методами геной инженерии, компьютерного моделирования, биотехнологии, медицинской химии с использованием мишеней (известных и новых); выявление перспективных веществ, обладающих средством к молекулам-мишеням и активирующих или блокирующих определенные мишени путем специфического связывания; создание клеток-продуцентов, биоинженерных конструкций, предназначенных для введения в организм пациента и продуцирующих биоактивные соединения; выявление оптимальных

систем для производства отдельных веществ, в том числе клеток эукариот, прокариот, животных, растений, разработку технологий их культивирования; создание наноструктурированных биоактивных соединений, методов целевой доставки белковых препаратов в органы, ткани, органеллы, в том числе с использованием нанотехнологий; поиск новых биологических объектов – потенциальных продуцентов белковых веществ и моноклональных антител; скрининг биотехнологических производных с целью выявления в одном ряду наиболее эффективных и безопасных веществ фармакотерапевтической направленности [29, 70].

Изучение генов, вовлеченных в биосинтез ряда ценных метаболитов растений, может быть использовано для получения новых природных лекарственных средств. Примером этого является исследование геномов 116 растений, в результате которого был выявлен ген-предшественник биосинтеза лициуминов – класса разветвленных циклических рибосомальных пептидов с гипотензивным действием, производимых *Lycium barbarum* (дерева обыкновенная, известная как годжи), определить разнообразные новые хемотипы лициумина у семи других растений, включая *Glycine max* (соя культурная), *Beta vulgaris* (свекла обыкновенная), *Chenopodium quinoa* (киноа), *Solanum melongena* (баклажан). Возможность использования генома животных для поиска новых лекарственных кандидатов и в дальнейшем для получения лекарственных средств применяли в исследованиях, которые использовали комплексный транскриптомный и протеомный подходы для обнаружения тысяч новых ядовитых пептидов из улиток *Conus marmoreus*. Протеомный анализ показал, что подавляющее большинство разнообразия конопептидов было получено из набора из приблизительно 100 генов путем обработки различных пептидов [142].

Некоторые биологически активные соединения, первоначально выделенные из морских организмов, могут быть продуктами симбионтов, а анализ генома может облегчить их характеристику. Так, например, показано, что биологически активные соединения губки *Theonella swinhoei* вырабатываются бактериальными симбионтами, а описание симбионта *Candidatus Entotheonella*

serta с использованием одноклеточной геномики привело к открытию кластеров генов для биосинтеза препаратов «Мисакинолида» и «Теонелламида» [136, 207]. Другим примером препарата природного происхождения, продуцируемого бактериальным симбионтом, является «Трабектедин», первоначально выделенный из оболочки раковины *Ecteina scidia* и обладающий противоопухолевым действием [205].

Аналогичным образом, микробиомы растений представляют собой большой потенциал для поиска новых биоактивных перспективных природных лекарственных кандидатов, которые могут быть определены с помощью методов геномного анализа (примером являются противоопухолевые препараты «Майтанзин», «Паклитаксел», «Камптотецин», первоначально полученные из растений, а позже было показано, что действующие вещества, лежащие в их основе, могут вырабатываться микробными эндофитами). Другим примером данного подхода является работа Helfrich и соавт., которая позволила идентифицировать сотни новых кластеров биосинтетических генов путем анализа геномов 224 бактериальных штаммов, выделенных из листьев *Arabidopsis thaliana*. Комбинация скрининга биоактивности и масс-спектров применялась для отбора одного вида с целью дальнейшего геномного анализа и привела к выделению природного антибиотика «Макробревина» – PKS-производного транс-ацилтрансферазы [142].

Важным направлением работы исследователей является виртуальный скрининг, который позволяет открывать новые виды биологической активности, как для известных, так и для открытых впервые соединений различной природы. При этом важным в поиске лекарственных кандидатов является знание конкретных мишеней, на которые будет направлено действие молекулы. Известно, что фармацевтическая промышленность в своих исследованиях использует до 500 мишеней [76]. Однако, исходя из того, что в основе многих заболеваний лежит дисфункция до 10 связанных между собой белков и кодирующих их генов, количество исследуемых мишеней должно составлять, как минимум, 2500. На Рисунке 2 представлены исследуемые в настоящее время

фармацевтической промышленностью биологические мишени, классов которых, как следует из представленных данных, не так много [202].



Рисунок 2 – Молекулярные мишени, используемые в фармацевтической промышленности

Большую долю рецепторов составляют рецепторы, связанные с G-белком, на которые и направлено действие большинства препаратов (около 47%), продаваемых на мировом фармацевтическом рынке (суммарный ежегодный объем продаж составляет около 65 млрд долларов) [132].

Известно, что первым лекарственным средством, созданным с учетом структуры и функции конкретной мишени и разрешенным к применению еще в 1995 г., стал препарат, снижающий внутриглазное давление – «Дорзоламид» [102].

Ферменты, транспортные белки (в том числе ионные каналы) являются вторым по популярности классом мишеней (15% и 29% одобренных лекарств в области онкологических и аутоиммунных заболеваний, соответственно) [138]. Самый известный пример ингибитора фермента киназы BCR-ABL – препарат «Гливек», используемый в онкологии [193].

Фармакофорный подход позволяет идеально подбирать новые молекулы и наиболее полно соответствующие им мишени благодаря пониманию структурных, физических и химических нюансов белка-мишени как

молекулярного объекта. Первым препаратом, созданным в 1999 г. с использованием данного подхода, является «Тирофибан» (ингибитор взаимодействий между фибриногеном и интегриновым рецептором GP IIb/IIIa на поверхности тромбоцитов) [111, 181].

Прогресс в биотехнологии позволяет использовать растения с целью получения терапевтических белков и производства лекарств и биотехнологических препаратов для лечения рака, сахарного диабета, вируса иммунодефицита человека, муковисцидоза, болезней сердца, болезни Альцгеймера и др. Они обеспечивают эффективную, безопасную, экономичную и быстро развивающуюся платформу для производства терапевтических белков, основанную на культурах животных клеток и микробной ферментации. Кроме того, существует минимальная вероятность заражения растений патогенами животных или человека. Первый одобренный Европейским медицинским агентством фермент, используемый для лечения болезни Гоше – талиглуцераза-альфа (фермент, полученный из моркови, сконструированный в ее клетках) [52].

Вакцины на основе веществ природного происхождения против вируса гриппа уже проходят клинические испытания, в то время как лектины растительного происхождения находятся только на стадии разработки для производства новых противораковых препаратов. В условиях пандемии COVID-19 возникла необходимость адаптации малобюджетных технологий для производства биотехнологических природных препаратов против COVID-19. В этом контексте ожидается перспективный биофармацевтический кандидат, а также анонсированы вакцины на основе вирусоподобных частиц [141].

В рамках направления «Перспективные лекарственные кандидаты» важное значение имеют растения, которые, кроме роли в фундаментальных исследованиях в биологии, химии, экологии, фармации и медицине, являются зачастую единственным источником создания различных продуктов фармацевтической и другими отраслями промышленности [70].

Количество размещенных в международной базе научного цитирования Scopus публикаций в области поиска лекарственных кандидатов природного, в том

числе растительного происхождения, стабильно увеличивается, как в целом, так и в разрезе по конкретным научным изданиям. Подтверждением значимости растений, как и других источников природного происхождения, является тот факт, что, согласно данным D. Newman и G. Cragg (2012), в период с 1981 по 2010 г. 54 % всех новых одобренных лекарственных средств имели природное происхождение (26 % получены из растительного сырья, 13 % – путем полного синтеза, но активный хромофор был продуктом растительного происхождения, 15 % получены из других биологических источников). Примеры самых продаваемых во всем мире препаратов природного являются антибиотики и противогрибковые средства («Эритромицин», «Кларитромицин», «Амоксициллин», «Амфотерицин В»), противоопухолевые средства («Паклитаксел», «Доцетаксел», «Кампотецин»), препараты, снижающие уровень холестерина («Аторвастатин», «Симвастатин», «Ловастатин»), иммунодепрессанты («Такролимус», «Циклоспорин А»), антигипертензивные средства («Каптоприл», «Эналаприл») [140, 154].

Растительные препараты обладают особыми свойствами по сравнению с синтетическими, которые создают как преимущества, так и проблемы в процессе разработки лекарств. Растения, содержащие сложные смеси веществ, представляют интерес благодаря потенциалу синергетических терапевтических эффектов компонентов таких смесей. Они характеризуются огромным разнообразием каркасов и структурной сложностью, и по сравнению с синтетическими соединениями имеют более высокую молекулярную массу, большее количество sp^3 атомов углерода и кислорода, но меньшее количество атомов азота и галогена, большее количество акцепторов и доноров Н-связей, более низкие расчетные коэффициенты разделения октанол–вода (значения $ClogP$, указывающие на более высокую гидрофильность) и большую молекулярную жесткость. Эти различия могут быть выгодными; например, более высокая молекулярная жесткость может быть ценной при разработке лекарств, решающих проблему межбелковых взаимодействий. Эти уникальные свойства биологически активных соединений природного происхождения ставят перед учеными ряд задач: создание синтетических аналогов, улучшение всасывания,

снижение токсичности, повышение эффективности. Вместе с тем, вариабельность химического состава сырья из-за, например, изменений в окружающей среде может стать проблемой для разработки препаратов и гарантии их стабильного ожидаемого фармакологического эффекта. Определенным выходом может стать культивирование, интродукция в контролируемых условиях, культура клеток и тканей, синтез активных веществ-аналогов [99, 142].

Самым известным и все более популярным современным методом поиска перспективных лекарственных кандидатов в том числе растительного происхождения является компьютерное моделирование (*in silico*). В США, по оценкам Управления по контролю за качеством пищевых продуктов и лекарственных средств, до 90 % лекарств, разрешенных к применению в медицинской практике этой страны, за последние несколько лет были спроектированы на компьютере [16, 189, 208].

Возможности суперкомпьютеров позволяют выполнять исчерпывающую стыковку одного миллиарда соединений менее чем за 24 ч [195].

Несмотря на большие перспективы и несомненные достоинства перед традиционными методами поиска новых лекарственных кандидатов, ранее и до сих пор используемыми в фармацевтической химии, фармакогнозии и смежных науках, методы *in silico* имеют ряд ограничений. Так, несмотря на то, что они предполагают выполнение компьютерного(ых) эксперимента(ов) с получением ценных и достоверных результатов, все-таки требуется обязательная экспериментальная проверка полученных данных *in vivo* и (или) *in vitro*, так как методы *in silico* не совершенны в том смысле, что пока не могут учесть разнообразного влияния лекарственных препаратов на живой организм. Поэтому эти методы в настоящее время не позволяют частично сократить или совсем исключить фазу доклинических и клинических исследований, которые как известно, являются основными по затратам времени в поиске и разработке новых лекарственных кандидатов.

Таким образом, на сегодняшний день можно говорить о необходимости сочетания современных методов *in silico* с традиционными методами поиска,

исследования, установления состава и структуры веществ, определения биологической активности лекарственных кандидатов (Рисунок 3) [99, 105].

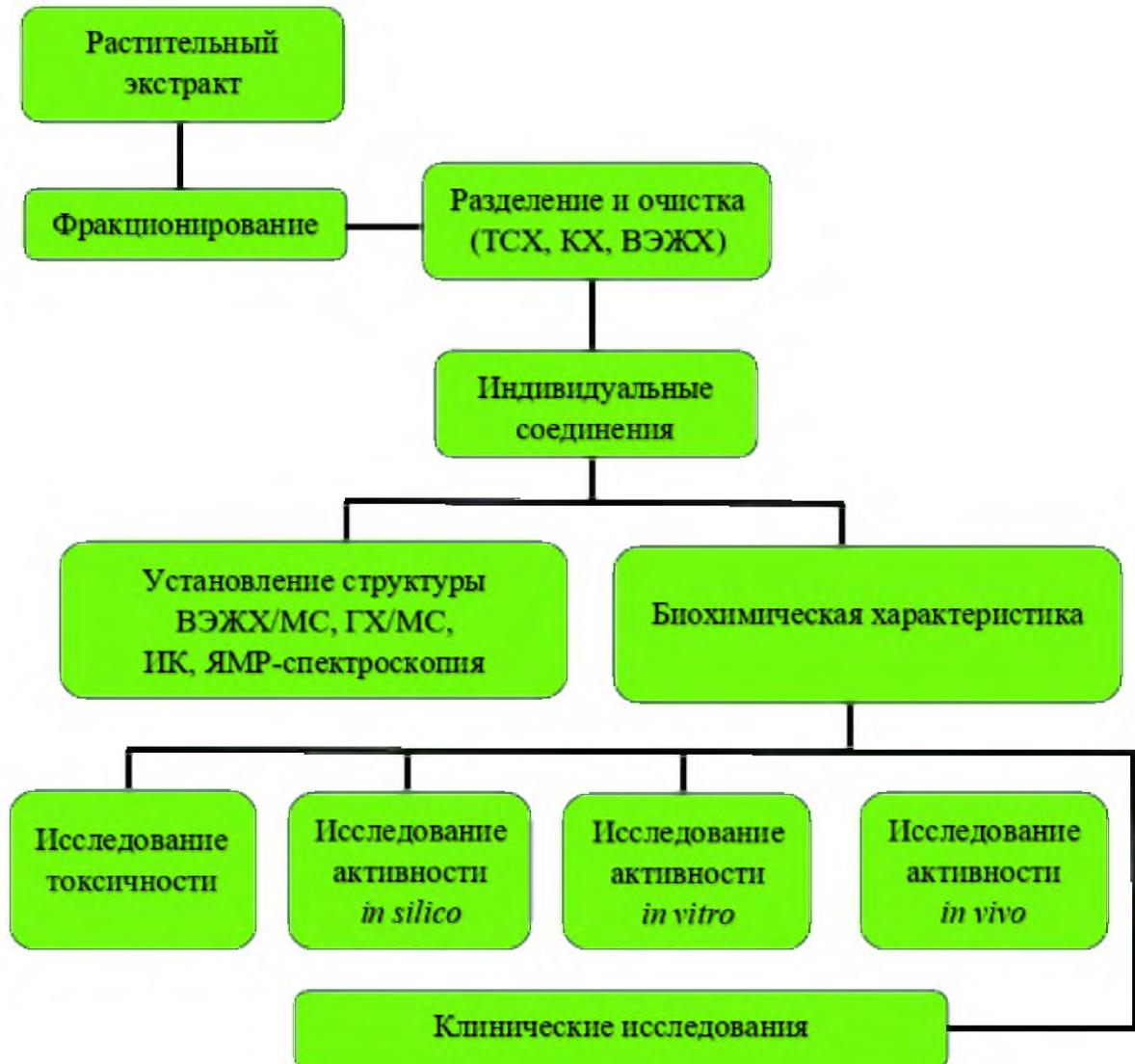


Рисунок 3 – Современные подходы к разработке лекарств растительного происхождения

1.2 Методы выделения индивидуальных соединений растительного происхождения, их преимущества и недостатки

В связи с тем, что растения содержат сложные смеси компонентов различной химической природы и разной полярности, в процессе экстракции, выделения, разделения, очистки и идентификации БАВ возникает ряд

трудностей, для преодоления которых используют моноэкстрагенты, сочетание экстрагентов различной полярности, хроматографические и нехроматографические методы [106, 176, 180]. В последние десятилетия разработаны методы, в которых повышена эффективность, селективность выделения целевых групп / целевых веществ, значительно сокращена продолжительность процессов. Так, для извлечения БАВ предложены экстракция с помощью микроволн, ультразвука, ускоренная экстракция растворителем, использование стационарных фаз с молекулярными отпечатками, хроматография гидрофильного взаимодействия и др. [75].

Общая характеристика методов экстракции, выделения суммарных комплексов и индивидуальных БАВ из растений представлена в Таблице 1.

Экстракция – необходимый для выделения активных веществ процесс, целью которого является максимальное получение целевых химических веществ, предотвращение или уменьшение растворения нежелательных компонентов. Как было указано выше, растительные экстракты представляют собой комбинацию различных типов биологически активных соединений с различной природой и полярностью, в связи с чем их разделение, идентификация и характеристика по-прежнему остаются большой проблемой. Разделение представляет собой процесс последовательного выделения веществ из растительных экстрактов и очистки их до индивидуальных соединений физическими и химическими методами. Классические методы выделения, включая экстракцию растворителем, осаждение, кристаллизацию, фракционную перегонку, высаливание и диализ, до сих пор широко используются в фитохимических исследованиях.

Таблица 1 – Общая характеристика методов экстракции биологически активных веществ						
Метод	Экстрагент	Температура	Давление	Время	Расход экстрагента	Полярность извлекаемых веществ
Мацерация	вода, водные и неводные растворители	комнатная	атмосферное	длительное	большой	зависит от экстрагента
Перколяция	вода, водные и неводные растворители	комнатная, иногда с нагревом	атмосферное	длительно	большой	зависит от экстрагента
Вываривание	вода	при нагревании	атмосферное	умеренно	нет расхода	полярные вещества
Экстракция с обратным холодильником	водные и неводные растворители	при нагревании	атмосферное	умеренно	умеренный	зависит от экстрагента
Экстракция в аппарате Сокслета	органические растворители	при нагревании	атмосферное	длительно	умеренный	зависит от экстрагента
Жидкостная экстракция под давлением	вода, водные и неводные растворители	при нагревании	высокое	быстро	маленький	зависит от экстрагента
Сверхкритическая флюидная экстракция	сверхкритическая флюидная (обычно S-CO ₂), иногда с модификатором	близкая к комнатной	высокое	быстро	нет или маленький	неполярные или умеренно полярные соединения
Экстракция с помощью ультразвука	водные и неводные растворители	комнатная, или при нагревании	атмосферное	быстро	умеренный	зависит от экстрагента
Экстракция с помощью микроволн	водные и неводные растворители	комнатная	атмосферное	быстро	нет или умеренный	зависит от экстрагента
Экстракция с помощью импульсного электрического поля	водные и неводные растворители	комнатная, или при нагревании	атмосферное	быстро	умеренный	зависит от экстрагента
Экстракция с помощью ферментов	водные и неводные растворители	комнатная или нагревание после ферментативной обработки	атмосферное	умеренно	умеренный	зависит от экстрагента
Гидродистилляция и дистилляция с водяным паром	вода	при нагревании	атмосферное	длительно	нет расхода	эфирное масло соэкстрактные неполярные компоненты

При этом современные технологии, такие как колоночная хроматография, высокоэффективная жидкостная хроматография, флэш-хроматография, хроматография на сефадексе, ультрафильтрация, высокоэффективная противоточная жидкостно-капельная хроматография и другие, удачно дополняют и постепенно вытесняют традиционные методы выделения, разделения и идентификации веществ [177]. Для выделения и идентификации БАВ могут применяться современные нехроматографические методы (Рисунок 4), такие как иммуноанализ, в котором используются моноклональные антитела (MAb), инфракрасная спектроскопия с преобразованием Фурье (FTIR) и др. [105].



Рисунок 4 – Современные нехроматографические методы анализа БАВ

Как следует из представленных в Таблице 1 данных, на эффективность процесса экстракции влияют: свойства растворителя, температура и продолжительность экстракции, а также размер частиц сырья, соотношение растворитель/сырье/вещество. В классических методах экстракции, включая мацерацию, перколяцию и экстракцию с обратным холодильником, обычно используется вода, органические растворители, при этом требуются большой объем экстрагента и длительное время экстракции. Некоторые современные методы экстракции – сверхкритическая жидкостная экстракция, жидкостная экстракция под давлением и экстракция микроволнами – обладают некоторыми

преимуществами, такими как экономичный расход органических растворителей, непродолжительное время экстракции и высокая селективность. В целом достоинствами методов экстракции являются простота их выполнения и доступность применяемого оборудования, а к недостаткам относятся: невысокая степень экстракции действующих веществ; как правило, большая продолжительность процесса; повышенное содержание балластных веществ в экстрактах (высокомолекулярные соединения, пектины, слизи, белки и др.); трудоемкость (двойное прессование, промывка шрота и т.д.).

Полученные указанными выше методами экстракты представляют собой смесь различных соединений, которые требуют дальнейшего разделения и очистки для получения активной фракции или чистых индивидуальных веществ. Подходы к разделению, включая выбор сорбентов, зависят от физических/химических различий веществ смеси.

Препаративная хроматография была и остается основным методом выделения, разделения и получения чистых индивидуальных веществ из сложных смесей.

Силикагель – широко используемый адсорбент в фитохимических исследованиях, почти 90 % разделений проводится именно на силикагеле, являющемся полярным адсорбентом, благодаря которому полярные вещества дольше удерживаются в колонках с силикагелем, чем неполярные. Однако следует отметить, что некоторые полярные вещества могут подвергаться необратимой хемосорбции. Для ослабления адсорбции проводят дезактивацию силикагеля путем добавления воды перед использованием или применения водосодержащей подвижной фазы.

Оксид алюминия – еще один сильный полярный адсорбент, используемый при разделении. Сильное положительное поле Al^{3+} и основные центры, влияющие на легкополяризуемые соединения, приводят к адсорбции на оксиде алюминия. Его применение для разделения в последние годы значительно сократилось, поскольку он может катализировать дегидратацию, разложение или изомеризацию веществ во время разделения.

Сефадекс LH-20 – универсальный адсорбент с уникальными физико-химическими свойствами, который можно использовать для широкого спектра веществ в водной или неводной системе растворителей и на любой стадии очистки, доочистки, разделения, а также выделения [38].

Адсорбционная колоночная хроматография широко применяется для разделения веществ различной химической природы [14]. Ее часто используют на начальной стадии разделения смесей веществ благодаря простоте, высокой емкости и низкой стоимости адсорбентов, таких как силикагель и макропористые смолы. Разделение основано на различиях в адсорбционной способности исследуемых веществ к поверхности адсорбентов. Выбор адсорбентов (неподвижной фазы), а также подвижной фазы имеет решающее значение для достижения хорошего разделения, максимального извлечения целевых соединений и предотвращения необратимой адсорбции целевых соединений на адсорбентах.

Колоночная хроматография на полиамиде является традиционным методом разделения природных фенольных соединений, включая лигнаны, фенолокислоты и флавоноиды [57, 199]. Механизм разделения объясняется образованием водородных связей между полиамидными сорбентами, подвижной фазой и целевыми соединениями.

Распределительная хроматография, как и противоточная, в настоящее время используется редко, в том числе из-за плохого стационарного удержания, длительного времени разделения и трудоемкости процесса. Метод был улучшен в 1980-х гг., когда были разработаны гидродинамическая и центробежная распределительная хроматография, однако ограничения сохранились и заключаются в разделении соединений в относительно узком диапазоне полярности.

Газовая хроматография (ГХ) с высокой эффективностью, скоростью разделения и анализа является потенциально востребованным препаративным методом для разделения летучих соединений [112].

Сверхкритическая флюидная хроматография (СФХ) объединяет преимущества как газовой, так и жидкостной хроматографии, поскольку

сверхкритические жидкости обладают свойствами высокой растворяющей и диффузионной способности, низкой вязкости, что обеспечивает быстрое и эффективное разделение. Таким образом, СФХ может использовать более длинную колонку и более мелкие частицы неподвижной фазы, чем ВЭЖХ, что обеспечивает лучшее разделение. Сверхкритическую флюидную хроматографию можно использовать для разделения нелетучих и термолабильных соединений, к которым ГХ неприменима. Полярность широко используемой подвижной фазы S-CO₂ в СФХ близка к полярности гексана, в результате чего СФХ применяется для разделения неполярных веществ, таких как жирные кислоты, терпены и эфирные масла. Метанол и ацетонитрил увеличивают силу элюирования, что повышает интерес к разделению полярных веществ / комплексов природного происхождения с помощью этого метода [142, 172].

Высокоэффективная жидкостная хроматография – универсальный, надежный и широко используемый метод, среди достоинств которого следует указать относительную дешевизну, универсальность при препаративном выделении, разделении и идентификации веществ, а также возможность использования в качестве аналитического метода «отпечатка пальцев» в контроле качества.

Разделение веществ можно осуществить с помощью ВЭЖХ, применяя разные скорости миграции веществ в зависимости от колонки и подвижной фазы. Степень разделения в основном определяется выбором стационарной и подвижной фаз. Как правило, идентификация и разделение веществ могут быть выполнены с использованием изократической системы (системы с одной неизменной подвижной фазой). Градиентное элюирование, при котором пропорция органического растворителя к воде изменяется со временем, может быть желательной, если исследуется более одного компонента образца, и эти компоненты значительно отличаются друг от друга по удерживанию в заданных условиях.

Очистка с помощью ВЭЖХ представляет собой процесс отделения или экстракции целевого соединения от других веществ (возможно, родственных по структуре). Каждое соединение должно иметь характерный пик при определенных хроматографических условиях. В зависимости от того, что

необходимо разделить и насколько тесно связаны вещества, хроматограф может выбрать условия для того, чтобы добиться оптимального разделения (подходящая подвижная фаза, детекторы и колонки, скорость потока).

С помощью препаративной ВЭЖХ можно осуществлять выделение, обогащение, очистку любого количества компонентов/веществ. Используемые аналитические колонки позволяют разделять очень малые количества вещества (не более 1 мг). Для повышения эффективности и увеличения емкости системы возможно последовательное соединение нескольких колонок, использование циркуляции и последовательное разделение веществ сначала на несколько больших фракций, а затем на более мелкие и далее – на индивидуальные.

Хромато-масс-спектрометрию применяют для однозначного определения состава суммарных фракций, структуры индивидуальных веществ, полученных после хроматографического разделения. Использование этого метода существенно дополняет информацию, полученную другими физическими, физико-химическими методами, в частности позволяет установить положение функциональных групп в молекуле и оценить связь между ними [105].

Метод ЯМР-спектроскопии позволяет решать комплекс задач при исследовании как многокомпонентных смесей, так и индивидуальных веществ, в числе которых качественный и количественный анализ, получение «метаболических профилей». Достоинствами метода являются экспрессность, точность, прецизионность, экономичность (нет необходимости пробоподготовке), информативность и возможность одновременного получения информации о строении, содержании мажорных и минорных веществ.

Масс-спектрометрия – еще один метод, используемый в качественном и количественном анализе суммарных комплексов и индивидуальных веществ. Достоинствами этого метода являются: простота в эксплуатации и обслуживании оборудования, очень малое количество образцов, необходимых для исследования, высокая чувствительность, надежность, а также возможность получить максимальное количество структурной информации из одного масс-спектра, что делает этот метод доступным для широкого круга исследователей и практиков.

К числу последних зарубежных тенденций в процессе фракционного выделения БАВ из растений относится фракционирование, сочетанное с параллельным определением биологической активности, в том числе с выявлением смесей веществ-синергистов, потенцирующих действие целевого БАВ. Стоит отметить, что зачастую вещества-синергисты не проявляют биологическую активность, однако присутствуя в смеси с целевым веществом, они способны значительно повысить его фармакологические действия. Такой подход позволяет сочетать хроматографическое разделение с одновременным тестированием смеси синергистов и известного активного соединения в исходном экстракте. Таким образом, экстракты тестируются на синергизм, фракционируются, активные фракции снова подвергаются синергетическому тестированию, и процесс повторяется до выделения чистых биологически активных соединений. Благодаря комбинации фракции, содержащей известные активные соединения, и оценке комбинированных эффектов могут быть идентифицированы соединения-синергисты [140].

Таким образом, комбинацию хроматографических и нехроматографических методов наиболее эффективно использовать для выделения, разделения, значительного ускорения процесса очистки биологически активных комплексов/соединений; идентификации суммарных комплексов и очищенных индивидуальных соединений [56]. Полученная информация о структуре выделенных веществ в дальнейшем может быть использована для скрининга фармакологической активности традиционными (*in vitro*, *in vivo*) и (или) современными (*in silico*) методами.

1.3 Современные подходы к фармакологическому скринингу лекарственных кандидатов растительного происхождения: роль методов *in silico*, *in vitro*, *in vivo*

Фармакологический скрининг заключается в отборе перспективных для применения новых кандидатов природного происхождения, химического или

биологического синтеза различными методами фактической или виртуальной оценки потенциальной фармакологической активности. Большим преимуществом современных методов является то, что исследователю, чаще всего не нужно иметь исследуемое вещество физически, и он методологически не ограничен рамками поиска перспективных видов/кандидатов, например, в пределах одного рода, семейства или одной группы производных.

О необходимости сокращения времени на поиск перспективных кандидатов и уменьшения затрат на доклинический этап исследования ученые задумались впервые еще в 90-х гг. прошлого века. Реализовать эту идею предполагалась путем проведения исследований с помощью компьютерных программ, тогда и появился термин «*in silico*», который стали использовать наряду с терминами «*in vivo*» и «*in vitro*».

Впервые фармакологический скрининг был применен Г. Домагком в 1930-х гг., проводившим поиск противомикробных средств среди синтезированных красителей, у одного из которых – красного стрептоцида было обнаружено противомикробное действие, что положило начало группе сульфаниламидных средств.

В настоящее время скрининг биологической активности включает виртуальный скрининг, синтез веществ с заданной структурой и панельный скрининг.

Виртуальный скрининг основывается на том, что ожидаемая биологическая активность веществ напрямую связана со структурой реального или предполагаемого соединения и заключается в отборе соединений по эффективности, селективности, специфичности, оптимальному всасыванию, распределению, метаболизму, элиминации, фармакокинетическим свойствам и т.д. Например, производные 2-8-бензилпиримидинов используются для создания антигистаминных лекарственных средств; производные хинолина – противотуберкулезных средств; производные 1,5-оксадиазола – антигипертензивных и т.д. Виртуальный скрининг позволяет разрабатывать разные модели: биологические, фармакологические, экономические,

статистические. Прежде всего он включает подготовку модели биомисени (расстановка зарядов на атомах); подготовку баз данных структур органических соединений (расчет физико-химических свойств, моделирование пространственной структуры соединения, расчет зарядов на атомах); препроцессинг баз данных (процесс удаления структур по физико-химическим критериям: липофильности, молекулярной массе, предсказанной токсичности и т.д.); молекулярный докинг – метод молекулярного моделирования, направленный на проверку активности соединений против потенциальных генных мишеней, основанный на предсказании наиболее выгодного положения молекул в пространстве относительно друг друга; постпроцессинг сформированных баз потенциальных лигандов с помощью моделей QSAR, в результате чего получают сфокусированную библиотеку потенциальных лигандов для данной биомисени [173]. Задача QSAR заключается в предсказании активности на основе знания структуры соединения, конструировании химических структур с заданными величинами активностей и в последующем их синтезе. При этом структурная формула представляется в математическом виде, с помощью нее можно описать как биологическую активность, так и любое свойство соединения. Модель QSAR представляет собой линейную зависимость «свойство–структура».

Помимо виртуального скрининга, основанного на поиске лигандов, существует виртуальный скрининг биологической активности с использованием фармакофоров – структурных элементов или фрагментов молекулы, обеспечивающих фармакологическую активность соединения. Фармакофорная модель представляет собой набор точек в пространстве с определенными физико-химическими свойствами, местами связывания и расстояниями между ними. Виртуальный скрининг с использованием фармакофорной модели предполагает отбор молекул, удовлетворяющих требованиям данной модели относительно функциональных групп и расстояний между ними.

После подбора структуры соединения осуществляют синтез вещества, а затем проводят исследование его биологической активности с помощью

панельного скрининга на биочипе – матрице, на которую наносятся биологические макромолекулы, т.е. биомишени (ДНК, белки, в том числе ферменты, клетки), способные избирательно связывать содержащиеся в анализируемом растворе вещества. В качестве биомишеней могут выступать олигонуклеотиды, фрагменты геномной ДНК, РНК, белки, полипептиды, рецепторы антител, лиганды, олигосахариды и т.д. Биочип позволяет определить активность сразу 96 соединений (в отличие от иммуноферментного анализа). Матрицы для биочипа – это стеклянный или гелевый слайд, а биочипы объединены в планшет. Преимуществами применения биочипов в анализе биологической активности являются их более низкая стоимость по сравнению с иммуноферментным анализом, возможность проанализировать одновременно большое количество соединений за короткий период времени.

Еще одним методом проверки прогнозируемых результатов является анализ микрочипов экспрессии генов, который заключается в измерении активности тысяч генов одновременно, для обеспечения глобального представления о клеточных процессах. Эти профили могут быть использованы для дифференциации клеток, которые активно делятся, или для иллюстрации реакции клеток на определенную терапию. Для изучения дифференциальных уровней экспрессии генов предполагаемых мишеней данные об экспрессии генов загружают в Gene Expression Omnibus – общедоступное хранилище Национального центра биотехнологической информации (США), которое включает в себя профили генов, применяемых на различных этапах исследования, помогая идентифицировать новые мишени, прогнозировать активность новых генов и оценить индивидуальную изменчивость ответа на лекарство. После успешного проведения анализа микрочипов переходят к полимеразной цепной реакции в реальном времени для проверки дифференциально экспрессируемых генов-мишеней, идентифицированных после анализа микрочипов. Полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией – хорошо зарекомендовавший себя метод обнаружения и количественной оценки генов-мишеней в клинической диагностике и лечении. Другой метод

заключается в проверке молекулярного взаимодействия, которое существует между сетями и дает новую перспективу в контексте понимания механизмов активности лекарств и валидации лекарственной сети или прогнозируемой модели. В основном он состоит из технологий поверхностного плазмонного резонанса и биослойной интерферометрии, которые могут помочь исследователям в обнаружении взаимодействия между лекарствами и биомолекулами [72, 117].

Для определения фармакокинетических свойств высокоактивного компонента используется профилирование ADMET, для которого доступны различные инструменты *in vitro*. Однако подтверждение фармакокинетических свойств активных соединений требует экспериментальной проверки. Еще одним надежным методом исследования уровней экспрессии генов-мишеней является вестерн-блоттинг [81, 107, 108, 134, 139, 192].

Описанные выше методы дают возможность провести доклинические испытания: выполнить исследования на биологическую активность, изучить модели заболеваний и свойства веществ. Предсказание направления активности соединений имеет особое значение, так как современная фармакология работает более чем с 2 тыс. видов биологической активности. Статистические и экономические модели позволяют проверить эффективность препарата на большом количестве пациентов, просчитать затраты, рентабельность, разработать дизайн клинических исследований на здоровых добровольцах. Все это позволяет существенно сократить затраты времени и ресурсов на создание нового препарата и его вывода на рынок, а использование этих методов является необходимым условием для успешной реализации исследовательских программ по разработке новых лекарственных средств [90, 120, 121, 190].

Большинство исследователей отмечают, что преимуществами исследований *in vitro* скрининга являются: высокий уровень стандартизации, низкая стоимость, минимальные количества исследуемого вещества, возможность выявления корреляции структура / активность; кроме того, как правило, не требуется использование животных. К недостаткам следует отнести

высокую вероятность ошибки, невозможность учета разнообразного влияния веществ на живые системы, возможность проведения тестирования только в 1 дозе [12, 17, 143].

Сегодня в распоряжении исследователей и клиницистов для проведения исследований *in silico* имеется несколько платформ, онлайн-сервисов, программ докинга, характеристика некоторых из них представлена ниже.

HumMod – представляет собой математическую модель на базе Windows, имитирующую физиологические процессы в организме человека, происходящие в электролитах, биологических жидкостях, системе кровообращения. Модель построена на основе эмпирических данных. Переменные, параметры и количественные связи описаны в XML-файлах, что позволяет легко расширить функциональность модели. Модель помогает с высокой точностью прогнозировать как качественные, так и количественные изменения клинических и экспериментальных ответов. Поскольку HumMod является единственной стабильной интегративной моделью физиологии, она позволяет предложить новый метод для проведения обширного анализа физиологических реакций организма человека.

Oncosimulator project – интегрированная программная система, запущенная в 2011 г., которую можно использовать для моделирования, исследования, помощи в подборе схем химиотерапии для отдельно взятых пациентов, имитирующая реакцию опухоли на химиопрепараты.

Virtual Physiological Human (VPH) – проект, который был начат в 1997 г. В настоящее время это платформа, объединяющая несколько баз данных и компьютерные модели исследований лабораторий мира. VPH – это описательная, интегративная и прогностическая структура. Информация, получаемая исследователями на этой платформе, помогает облегчить понимание интегративной функции клеток, органов и организма в целом.

Компания Dassault Systemes запустила два проекта, представляющих собой развивающиеся коммерческие проекты – «Living heart» и «Living brain» на платформе 3DEXperience. В 2015 г. компанией был создан первый 3D-симулятор

сердца, в последующие два года проект дополнился моделью кровотока на работающем сердце. В 2017 г. он стал доступен в Облаке, и на нем испытали действие препаратов, вызывающих аритмию. В дальнейшем создатели проектов планируют тестировать на симуляторе лекарственные препараты, устройства, проводить обучение различным манипуляциям. В проекте «Living brain» у исследователей имеется возможность изучать эпилепсию, выявляя области мозга, отвечающие за ее приступы, разрабатывать и тестировать передовые теории динамики мозга.

Swiss Target Prediction (Swiss Predict) – бесплатный онлайн-инструмент, запущенный в 2014 г., целью которого является прогнозирование наиболее вероятных белковых мишеней малых молекул на принципе подобия, посредством обратного скрининга. В новой версии сервиса содержатся 376 342 молекулы, 3068 макромолекулярных мишеней, что позволяет достигать высокого уровня прогностической эффективности. Эффективная реализация бэкенда позволяет сократить процесс получения результатов для молекулы на белках человека до 15–20 с [92].

Еще один сервис, разрабатываемый более 20 лет, для получения информации о биологической активности соединений – PASS. Прогнозирование PASS во многих случаях позволило отобрать для синтеза перспективные вещества, определив направления тестирования их биологической активности. PASS существует в бесплатной и коммерческой, локальной и онлайн версиях. Проекты, представленные на сервисе Way2Drug, – PASS, GUSAR, ROSC-Pred, SMP, SDF Creator, DIGEP-Pred, SOMP, CLC-Pred, Аюрведа, SPrOS. Прогностическая модель, которая лежит в основе данного сервиса, построена на надежных, многократно верифицированных данных, что позволяет достигать высокого уровня эффективности, достоверности, согласующейся с общепринятыми концепциями в части механизмов действия и возможных биологических эффектов известных и новых соединений [146, 170].

К числу недостатков сервисов HumMod, Oncosimulator project и VPH следует отнести тот факт, что они не предназначены для моделирования

биологической активности соединений, имеют узкую направленность. Недостатками сервисов Swiss Target Prediction и PASS является невозможность применения их для прогнозирования сочетанной биологической активности двух и более химических соединений. В большинстве случаев биологические эффекты группы лекарственных кандидатов рассматриваются как независимые, и прогноз делается в отдельности для каждого соединения. На практике такой подход не дает принципиальных преимуществ перед традиционным экспериментальным подходом, поскольку сочетанные биологические эффекты должны быть изучены экспериментально. Одним из решений указанных проблем может быть интеграция нескольких баз данных/сервисов, позволяющих определить возможные направления поиска сочетанных эффектов при снижении объема экспериментальных исследований [146].

В распоряжении исследователей также находятся несколько программ молекулярного моделирования для жесткого и гибкого докинга: DOCK, AutoDock, e-Hits, FlexX, LigandFit, FRED, Glide, GOLD, QXP, Surflex-Dock и др.; баз данных: String, IntAct, iHOP, BioGRID, MIPS. Молекулярный докинг заключается в точном прогнозировании ориентации и биологически активных конформаций двух взаимодействующих молекул и оценке герметичности их комплекса. Самыми популярными и быстро развивающимися программами являются Dock, AutoDock, FlexX, Glide. Сравнение точности предсказания лиганд-рецепторных взаимодействий между разными программными продуктами по степени убывания: Glide – 82 %, Surflex – 75%, FlexX – 58 %, GOLD – 78 %. Проблемы, которые могут возникнуть при работе с программами докинга, следующие: недостаточная достоверность структуры связывания, оценочная функция, участие молекул воды, подвижность рецептора, конформации лиганда.

Значительных успехов в применении на практике рассмотренных выше методов, подходов и сервисов достигли китайские ученые, которые определили активные соединения известных препаратов традиционной китайской медицины, раскрыли молекулярные мишени, сигнальные пути при различных патологиях.

Например, кверцетина, кемпферола и β -ситостерола из «Huangqi Guizhi Wuwu» при ревматоидном артрите [93]; нарингенина, кемпферола, формононетина, кверцетина, исофавона, 7-метокси-2-метила из «Dayuanyin»; байкалеина, кверцетина из «Huashi Baidu»; лютеолина, урсоловой кислоты, кверцетина и рутина из «Цзиньхуа-Цинган» и «XuanFei-BaiDu», «Сюэбицзин», «Ляньхуа-Цинвэнь», «9* HuaShi-BaiDu», «Qingfei-Paidu» при COVID-19 [137, 144, 147]; активных веществ «Shuxuening», которые подавляют воспаление, регулируют степень окислительного стресса, минимизируют гибель нейронных клеток в ткани мозга, тем самым защищая ее при ишемическом инсульте [46]; кверцетина, лютеолина, нарингенина «Yanghe», обладающих противоопухолевыми свойствами, молекулярной синергией при HER2-положительном раке молочной железы [216]; α -ситостерина, монолеата пропиленгликоля, кампестерина и 25-оксо-27-нохолестерина *Sorghum bicolor*, которые снижают тяжесть течения сахарного диабета 2-го типа за счет активации сигнальных путей рецепторов, активируемых PPAR [157]; ряда активных соединений *Tinospora sinensis*, с помощью регуляторной сети, нескольких мишеней и путей оказывающих значительное влияние на экспрессию белка PI3K и Akt, а следовательно, могут предотвращать и лечить болезнь Альцгеймера [150]; 48 биологически активных соединений «Shaoyao-gancao», 30 мишеней и нескольких путей, связанных с болезнью Паркинсона [48].

Успешное использование современных подходов к прогнозированию фармакологической активности отражено и в других исследованиях [87, 160, 196, 197, 213, 215].

Отдельно следует отметить широкий спектр биологической активности фенольных соединений (Таблица 2). Как следует из представленных данных, в большинстве проведенных *in silico* исследований в качестве активных веществ определены и изучены фенольные соединения, главным образом, флавоноиды, изофлавоноиды, халконы, антоцианы, производные катехинов. В связи с этим целесообразно вести поиск перспективных лекарственных кандидатов среди видов, преимущественно накапливающих фенольные соединения, что и определило направление нашего дальнейшего исследования.

Таблица 2 – Виды биологической активности некоторых представителей фенольных соединений

Класс природных фенольных соединений	Представитель класса	Виды биологической активности <i>in vitro</i>	Виды биологической активности <i>in silico</i>	Авторы, год
Флавоноиды	Кверцетин	Антиоксидантная, флеботоническая, противоопухолевая	Антимикробная, допаминергический модулятор	Jin H., et al. (2012) [131]; Perera N., et al. (2012) [164]; Budama-Kilinc Y., et al. (2023) [126]; Salgueiro W.G., et al. (2023) [97]
Изофлавоноиды	Генистеин	Антиоксидантная, противовоспалительная, гипогликемическая	Ингибитор активации гена киназы фокальной адгезии, антагонист каннабиноидных рецепторов 1 типа (CB ₁)	Wei T.T., et al. (2022) [78]; Chen T., et al. (2023) [114]; Jaiswal K.S., et al. (2023) [113]; Jiang T., et al. (2023) [206]; Liao W., et al. (2023) [200]
Халконы	Бутеин	Ингибитор тирозиназы, противомаларийная активность	Противовирусная активность, детоксицирующее действие	Devi A., et al. (2020) [94]; Okoye I., et al. (2021) [214]; Kapoor N., et al. (2022) [77]; Pan W., et al. (2023) [169]
Антоцианы	Цианидин	Кардиопротекторная, нейропротекторная	Гастропротекторная, антимикробная	Liobikas J., et al. (2016) [60]; Zarricueta M.L., et al. (2022) [183]; Zhu Z., et al. (2022) [91]; Tabassum R., et al. (2023) [123]

Продолжение Таблицы 2

Класс природных фенольных соединений	Представитель класса	Виды биологической активности <i>in vitro</i>	Виды биологической активности <i>in silico</i>	Авторы, год
Катехины	Эпигалло-катехин-3-галлат	Радиопротекторная, противовирусная	Иммуно-модулирующая регуляция остеокластогенеза	Xie L.W., et al. (2020) [116]; Mhatre S., et al. (2021) [64]; Sarkar J., et al. (2022) [103]; Ungarala R., et al. (2022) [67]

Одним из перспективных с точки зрения содержания фенольных соединений является род *Empetrum* L., в котором эти соединения являются преобладающей группой [25, 36, 73, 159, 194].

По данным литературы и результатам наших исследований, экстракты *Empetrum nigrum* L. восстанавливают активность клеточных антиоксидантных ферментативных систем, ингибируют перекисное окисление липидов, уменьшая продукцию малондиальдегида. Следовательно, антиоксидантный потенциал представителей этого рода может быть использован с целью создания лекарственных средств для терапии патологических состояний, в звене патогенеза которых лежит оксидативный стресс (нейродегенеративные заболевания, гипоксические состояния различной этиологии, сосудистые и иммунные нарушения, инфекционные и воспалительные заболевания, дегенеративные изменения гепатобилиарной системы, онкологические заболевания и др.) [63, 89, 96, 127, 168].

Другим перспективным видом с точки зрения содержания полифенольных соединений является *Iris lactea* Pall. Наиболее характерными для этого вида являются флавоноиды (С-гликозиды флавонов – эмбинин и его производные), изофлавоноиды – ирисон Б, текторигенин и др., ксантоны – ирифлофенон и его производные, мангиферин, беллидифолин и др., димерные проантоцианидины [171, 174, 179].

Применение *Iris lactea* в традиционной и в современной медицине в основном обуславливается наличием изофлавоноидов [167]. Установлен широкий спектр действия экстрактов (противовоспалительное, противомикробное, антиоксидантное, антигипоксантное, кардиотоническое, противовирусное, иммуностимулирующее, цитотоксическое), что позволяет считать *Iris lactea* перспективным объектом дальнейшего исследования [11, 13, 30, 45, 129].

Кроме того, ранее нами были проведены исследования по стандартизации надземной части *Iris lactea*, а также настойки, полученной из нее, с использованием метода дифференциальной спектрофотометрии по сумме флавоноидов в пересчете на апигенин [13].

Ononis arvensis L. является еще одним перспективным для дальнейшего изучения видом, химический состав которого представлен флавоноидами, изофлавоноидами, гидроксикоричными кислотами, кумаринами, фитостеролами [165, 175]. Ранее нами были проведены исследования, посвященные систематике и филогении рода *Ononis* L. [20, 32], а также изучению химического состава. Так, из надземной части *Ononis arvensis* нами были выделены и охарактеризованы изофлавоноиды, флавоноиды. Полученные нами результаты, а также данные литературы показывают, что с фенольными соединениями связаны несколько известных видов фармакологического действия – диуретическое, желчегонное, анальгезирующее, антигипоксическое, антибактериальное [7, 37, 119].

При помощи программы PASS (v.2020) был определен вероятный спектр фармакологической активности индивидуальных веществ, в том числе выделенных из *Solidago canadensis* L., *Rubus chamaemorus* L. – видов, имеющих богатый состав фенольных соединений [43, 80, 84, 101, 188, 203]. При этом установлено наличие как известных фармакологических свойств, так и ранее не описанных, определены векторы возможного направления использования, что на наш взгляд могло бы стать основанием для дальнейшего изучения этого вида в качестве источника потенциальных лекарственных кандидатов [22, 23, 85, 166].

Результаты скрининга *in silico* пополняют различные базы данных, облегчая работу исследователей в будущем [47, 95, 148, 149, 163, 198, 201, 204]. Одной из таких недавно созданных баз данных для выявления лекарственных препаратов-кандидатов от COVID-19 является «CoronaDB-AI» [65, 141].

Таким образом, инструменты *in silico* позволяют реализовывать разные задачи от обучения, подбора препаратов конкретному пациенту до отбора исследователями перспективных групп соединений для более детального исследования; формулирования требований к проведению экспериментальных исследований на биологических моделях (*in vivo*, *in vitro*).

1.4 Методы исследования фармакологической эффективности смеси индивидуальных соединений, известные подходы, достоинства, недостатки

После определения *in silico* биологического профиля новых растительных источников проводится идентификация объекта(ов) действия в биологической системе; физиологических путей, с которыми они взаимодействуют. На стадии доклинических испытаний исследование *in vitro* используется для проведения оценки безопасности и токсичности; выявления потенциальных побочных эффектов на ранних этапах процесса разработки лекарственного средства; оценки потенции и эффективности лекарственного средства-кандидата против целевого заболевания или состояния; сбора данных по фармакокинетике и фармакодинамике; детального изучения механизма действия кандидата; оценки активности биоподобных соединений.

Часто активность растительных объектов (экстрактов, фракций, индивидуальных веществ) не воспроизводится при скрининге *in vitro*. Поэтому их биологический скрининг может быть выполнен с помощью ряда методов, которые обеспечивают быстрые и чувствительные результаты, с использованием нескольких клеточных линий животных / человека [83, 109, 156].

Сегодня методы *in vitro* очень популярны, прежде всего, с точки зрения инновационности, надежности, релевантности, с позиции этики обращения с

животными, экономичности, возможности исследовать и выращивать разные клетки, ткани.

Как и у любого метода, у метода *in vitro* есть свои достоинства и недостатки. Их преимуществами является то, что они позволяют проводить видоспецифичный, более простой, удобный и подробный анализ, по сравнению с анализом организма в целом, позволяют упростить исследуемую систему, поэтому исследователь может сосредоточиться на небольшом числе компонентов. Клетки человека могут быть изучены без «экстраполяции» от клеточной реакции экспериментального животного. Методы *in vitro* как правило автоматизированы, что обеспечивает высокую пропускную способность для тестирования молекул в токсикологии или фармакологии. Исследования могут быть использованы для аппроксимации фармакокинетики или фармакодинамики. К недостаткам методов *in vitro* относятся время и интенсивность воздействия на объект исследования; зависимость от времени концентрации потенциального лекарственного средства в участок-мишень; чувствительность тканей и органов в естественных условиях может отличаться от той, что наблюдается на культивируемых клетках *in vitro*. Ограничение исследований эффективности и безопасности фармакологических веществ методами *in vitro* не целесообразно, так как экстраполяция полученных результатов на целый организм характеризуется высоким риском.

В исследованиях *in vitro* используют не отдельные клетки, а их культуры, выделенные из человека, животных, растений, помещенные в искусственную среду с добавлением ферментов (коллагеназы, трипсина, гиалуронидазы, ДНКазы, эластазы). Полученные клеточные линии делятся на редко используемые короткоживущие первичные (непосредственно из живых организмов) и бессмертные (непрерывные) перевиваемые (иммортиализованные).

Достоинствами первичных культур является то, что она лучше моделирует организм, возможность получать более релевантные данные, а недостатками – недолговечность, подверженность контаминации вирусами и дифференцировке, вследствие чего происходит утрата фенотипа, трудоемкость, наличие продвинутых навыков культивирования. Достоинства непрерывных линий –

просты в использовании, гомогенны, хорошо охарактеризованы, недостатки – сильные отличия от клеток в тканях.

С помощью методов *in vitro* можно провести изучение фармакокинетики и фармакодинамики (первичной – при изучении связывания кандидата с мишенью, оценке пролиферации и вторичной – для доказательства отсутствия активности на ненужные мишени). Например, исследование *in vitro* препарата «Edarbi» показало, что он оказывает антигипертензивное действие путем блокирования ангиотензина II, но также в пропорциональных дозах повышает чувствительность тканей к инсулину. Выявленная *in vitro* особенность препарата, предполагает необходимость контроля за уровнем глюкозы пациентами, учета сопутствующей патологии в виде сахарного диабета. Методы и модели *in vitro* также позволяют оценить фармакологическую безопасность (в форме нежелательных эффектов на фоне приема препарата/кандидата на несколько систем органов, прежде всего, сердечно-сосудистую, ЦНС, дыхательную, желудочно-кишечный тракт, выделительную и др.). В рамках изучения фармакокинетики на моделях *in vitro* проводят оценку метаболизма кандидатов несколькими способами: на первичной культуре клеток печени – гепатоцитов, на перевиваемых культурах или на срезах печени.

На моделях *in vitro* можно изучать на клеточном уровне 3 основных механизма токсического действия лекарственных кандидатов (повреждение мембран клеток, нарушение метаболизма, нарушение деления клеток). Для этого используют клеточные линии первичных и перевиваемых культур клеток человека и животных (Таблица 3).

Для исследования методами *in vitro* сегодня используют традиционные 2D (монослойные) и более современные, дорогие, с еще не отлаженной техникой культивирования и обращением 3D-модели культур. Одна из перспективных 3D-моделей – органы на чипе, позволяющая проводить реалистичные испытания лекарственных кандидатов; предсказывать реакцию на всевозможные стимулы, включая воздействие иных лекарственных средств и окружающей среды; использовать в персонализированной медицине для подбора препаратов и их доз для конкретного пациента.

Таблица 3 – Культуры клеток для изучения токсичности

Действие	Культура клеток
Цитотоксичность	Клетки эпителия, фибробласты человека и мыши, HeLa – карциномы матки и др.
Гепатотоксичность	Нер-G2 с гепатомы человека, клетки гепатомы крыс НТС, гепатоциты человека, гепатоциты крыс и мышей
Нейротоксичность	Клетки NB-1 — нейробластомы, нейроны куриного эмбриона клетки астроглии крыс
Гематотоксичность	Клетки крови, HL-60 – лейкозные лейкоциты, эритроциты периферической крови мышей BALB
Кардиотоксичность	Эндотелиоциты, кардиомиоциты
Нарушение функции органов дыхания	Клетки карциномы легких SQ-5
Иммунотоксичность	Клетки крови, тимуса, селезенки
Дерматотоксичность	Эмбриональные фибробласты, кератиноциты человека, кролика, крыс
Нефротоксичность	Эпителиоидные клетки эмбриональной почки, клетки почек быка MDBK

2D монослойные культуры – самый часто используемый тип культур, так как они просты в применении, но их недостатком является то, что они не повторяют трехмерную организацию тканей, в связи с чем снижают достоверность исследований *in vitro*, особенно при разработке противоопухолевых препаратов, приводя к ложно-положительным результатам. Иллюстрацией этого является работа польских ученых, изучавших действие 5-фторурацила на раковые клетки на 2D и 3D моделях. В 2D-моделях выжили только 5 % клеток, в то время как в 3D-моделях – 75 %. Таким образом, эффективность 5-фторурацила в последнем случае оказалась в 15 раз ниже [130].

В ближайшем будущем современные 3D модели *in vitro* продолжают вытеснять методы *in vivo*, занимая более значимое место, в том числе за счет высокой релевантности результатов.

Выбор методик *in vitro* должен формироваться с учетом необходимости изучения возможных механизмов действия, биологических мишеней; чувствительности и селективности методик; возможности использования тестов для стандартизации лекарственного средства. При дальнейших испытаниях *in vivo* должны быть выбраны фармакологические модели, соответствующие изученным биологическим мишеням *in vitro*. Необходимо отметить, что результаты скрининга *in vitro* не всегда переводятся в активность *in vivo* из-за ряда факторов: дозировки, растворимости в биологической среде, проницаемости мембран и биоразложения. Положительная активность испытуемого соединения *in vivo* обычно ожидается, когда оно показало положительные результаты *in vitro*. В конечном итоге биологический профиль кандидата на лекарственное средство должен основываться на результатах нескольких скринингов [115, 125, 145].

Сильные и слабые стороны различных моделей биологического скрининга, используемых для веществ природного происхождения, обобщены в Таблице 4 [140].

Таблица 4 – Достоинства и недостатки моделей биологического скрининга *in vitro* и *in vivo*

Модель	Достоинства	Недостатки
Модели животных <i>in vivo</i>	физиологическое сходство с человеком; может быть сгенерирована активность на уровне всего организма и трансгенных моделей	требуют ухода; необходимо большое количество образцов; соблюдение этических правил обращения; низкая пропускная способность; могут быть видовые различия
Исследование фенотипа <i>in vitro</i> на основе клеток	потенциал для открытия новой молекулярной мишени; средняя и высокая пропускная способность; эффективность попаданий на клеточном уровне	нет уверенности в эффективности <i>in vivo</i> ; необходима установка для культивирования клеток; идентификация молекулярной мишени может потребовать больших усилий

Продолжение Таблицы 4

Модель	Достоинства	Недостатки
Исследование <i>in vitro</i> с изолированными белками	оборудование для культивирования животных или клеток не требуется; высокопроизводительный скрининг	попадания могут быть неспособны достичь цели для взаимодействия с клетками или <i>in vivo</i> (попадания с низкой биодоступностью)
Исследование на основе клеточных мишеней <i>in vitro</i>	известная молекулярная мишень; отсутствие необходимости определять механизм действия отдельно; эффективность попаданий на клеточном уровне, высокая пропускная способность	наблюдаемая эффективность может не быть результатом первоначально ожидаемого механизма, поскольку лекарственное средство обычно связывается с более чем одной мишенью; может не отразить весь механизм попаданий; отсутствие гарантий эффективности <i>in vivo</i> ; требования к установке для культивирования клеток
Изолированные ткани или органы <i>in-situ/ex-vivo</i>	более высокая пропускная способность, чем у животных моделей; хорошая патофизиологическая значимость	более низкая пропускная способность, чем клеточные биопробы; соблюдение этических правил обращения; короткая жизнь изолированных тканей и органов

Еще Аристотель использовал животных для понимания строения тела, органов человека, однако основной прорыв в использовании животных и моделей животных произошел в XVIII–XIX вв., когда Ж. Б. Ван Гельмонт, Ф. Реди, Д. Нидхэм, Л. Спалланцани, Лавуазье и Пастер изучали происхождение жизни [158, 186]. В прошлом веке, благодаря значительным достижениям в разработке лекарств, биомедицине и доклинических испытаниях, важность моделей *in vivo* и *in vitro* многократно возросла, поскольку результат терапии, безопасность лекарств – это важнейшие критерии потенциальных лекарственных кандидатов, новых лекарственных средств, медицинских изделий и устройств [59].

Научное, обязательное применение моделей на животных является, так называемой традиционной практикой из-за сходства в физиологии и анатомии между человеком и животными. Тем не менее, необходимо учитывать, что физиологические процессы человека и животных сложны с точки зрения кровообращения, гормонов, клеточных структур и тканевых систем, также необходимо учитывать молекулярные структуры, функции клеток и органов в норме и в патологических условиях [69].

Модели на животных *in vivo* являются доклиническим инструментом перед применением новых лекарственных кандидатов в клинических условиях на пациентах/добровольцах. Животные модели считаются наиболее важными моделями *in vivo* с точки зрения изучения основных фармакокинетических параметров, таких как эффективность, безопасность, токсичность, поскольку эти данные необходимы для последующего переноса их на людей. Токсикологические тесты проводятся на большом количестве животных, при этом изучается острая токсичность, мутагенность, канцерогенность, тератогенность, репродуктивная токсичность, оценивается раздражающее действие препаратов на глаза и кожу. Модели *in vivo* в основном проводятся на мышах, крысах и кроликах, поскольку их относительно легко содержать и выращивать. Ежегодно в исследованиях *in vivo* используется от 17 до 23 млн животных (крыс, мышей, птиц, кроликов, морских свинок, овец, рыб, лягушек, свиней, птиц, собак, кошек, приматов и др.). Примерно 95 % этих животных составляют специально выведенные крысы и мыши. За рубежом одновременно с грызунами обязательно проводят испытания на негрызунах (кроликах, собаках, кошках, приматах). Приматы из-за филогенетической близости к человеку, очень востребованы в таких областях исследований как: СПИД, болезнь Паркинсона, гепатит, стоматологические заболевания, ортопедия, хирургия, сердечно-сосудистые заболевания, расстройства психики, токсикологические исследования, разработка лекарств, вакцин, сывороток [59, 68, 69]. Если лекарственный кандидат в доклинических испытаниях на животных доказал безопасность, то его вводят небольшим группам добровольцев с одновременным

продолжением испытания на животных для оценки длительного введения [68, 209].

Относительно роли и значения моделей на животных среди исследователей идут споры, поскольку одни эксперименты дают многообещающие результаты, в то время как в других желаемых результатов не получено, и такая модель не может быть трансполирована на организм человека [58].

Наряду с необходимостью и очевидным преимуществом использования моделей на животных, их использование имеет недостатки. К ним относятся необходимость проверки большого количества образцов, длительный и сложный эксперимент, кроме того, из-за незначительного выхода индивидуальных биологически активных соединений, имеются трудности с обеспечением их достаточного количества, необходимого для скрининга на животных, низкая чувствительность и соблюдение этических норм при работе с животными. Современные этические вопросы экспериментов на животных включают принципы 3R (сокращения, усовершенствования, замены использования животных методами *in vitro*, *in silico*) [187]. Кроме того, существует проблема возникновения / отсутствия токсических эффектов в эксперименте на животных, хотя, например, при клеточном скрининге был выявлен хороший профиль безопасности [192].

Другой группой проблем является нерациональный выбор, выбор неподходящей модели животных для научных исследований, который может привести к неправильным результатам, нерациональному использованию ресурсов, к ошибочным, дублирующим и неуместным экспериментам. Чтобы свести к минимуму эти проблемы, исследователи для специфичных исследований создали индивидуальные модели трансгенных животных, включив генетическую информацию непосредственно в эмбрион; путем инъекции чужеродной ДНК либо с помощью ретровирусных векторов [191]. Благодаря интеграции клеток человека в организм животных-реципиентов исследователи могут изучать воздействие патогенов, аналогичное тому, как это происходит в организме человека [104].

Правильный подбор моделей на животных в основном связан с характером исследуемого лекарственного средства или медицинских изделий. Во многих

случаях исследователи должны использовать не одну модель, а изучить действие перспективных кандидатов, новых препаратов на комбинации из нескольких моделей [209].

Как уже упоминалось выше, в основе использования животных в исследовательской практике лежит положение о том, что результаты, полученные на экспериментальных животных моделях, при успешных результатах клинических исследований в дальнейшем могут быть перенесены на клиническую практику. Однако в последние несколько десятилетий накопилось большое количество данных о низкой прогностической ценности в отношении эффективности новых методов в клинических исследованиях. Особенно наглядно о кризисе транслируемости данных в клинику свидетельствует ситуация в области нейропротективной терапии при ишемическом инсульте. Так, согласно многочисленным экспериментальным исследованиям доказана нейропротективная эффективность более 1000 соединений/воздействий, ни одно из которых не подтвердило эффекта во II и III фазах клинических исследований. А в целом по всем исследованиям по оценкам специалистов от 51 до 85 % новых препаратов и перспективных кандидатов с доказанной эффективностью на животных оказываются неэффективными при использовании на пациентах, что приводит к существенным экономическим убыткам. До 30 % новых препаратов и кандидатов, показавших себя безопасными на стадии доклинических исследований, вызывают побочные эффекты у пациентов. Причинами этого могут быть: практика планирования и выполнения экспериментов, что не обеспечивает достаточного уровня доказательности для перехода к клиническим исследованиям; очевидные различия устройства организмов человека и животных.

Существует множество различных объективных и субъективных факторов, которые могут лежать в основе низкой транслируемости результатов экспериментов на животных в клинику. Ключевыми понятиями, позволяющими обеспечить анализ сложившейся ситуации и наметить пути выхода из кризиса, являются понятия внутренней и внешней валидности, а также систематической ошибки. Под валидностью в данном контексте следует понимать обоснованность

и пригодность применения методик и результатов исследования в конкретных условиях.

Одной из ключевых задач трансляционных исследований является снижение риска неудач при тестировании новых препаратов, перспективных кандидатов, показавших высокую эффективность в экспериментах на животных, в клинических исследованиях. Для решения используется «обратная трансляция», когда на этапе выявления отсутствия эффекта в клиническом исследовании проводится детальный анализ всего массива данных с поиском возможных причин неудач. Примером «обратной трансляции» является история исследований клинической эффективности противоопухолевого препарата «Гефитиниб», блокирующего сигнальный путь рецептора эпидермального фактора роста (EGFR). В ходе первичных клинических исследований было установлено, что препарат высокоэффективен только у части пациентов. Позднее было показано, что наличие терапевтического эффекта связано с мутацией гена EGFR, сопряженной с более высокой чувствительностью белка-мишени к препарату, что привело к разработке генетической тест-системы, обеспечивающей персонализацию терапии гефитинибом [44].

Заключение к Главе 1

Лекарственные растения являются уникальными источниками биологически активных соединений, представляют фундаментальный и практический интерес ученых и практиков разных областей. В мировой флоре существует множество недостаточно изученных растений, которые могут быть использованы для получения высокоэффективных и безопасных лекарственных препаратов на основе индивидуальных веществ, составляющих современные базы данных.

Литературные данные об исследованиях *in silico* растительных препаратов на основе индивидуальных веществ показывают, что биологически активными веществами с наиболее широким спектром действия являются фенольные

соединения, главным образом – флавоноиды, изофлавоноиды, халконы, антоцианы.

Таким образом, сформулированы основные критерии выбора наиболее репрезентативных модельных объектов исследования для разработки заявленной методологии: а) преобладающей химической группой веществ в объектах исследования являются фенольные соединения; б) изучаемые растения относятся к различным таксономическим группам (семействам); в) изучаемые растения являются преимущественно дикорастущими, должны иметь обеспеченную сырьевую базу и потенциал к культивированию; г) в качестве материала для исследования рационально использовать надземные части растений как наиболее легко воспроизводимые источники основных вторичных метаболитов. В результате, в качестве объектов исследования выбраны надземные части *Empetrum nigrum*, *Iris lactea*, *Ononis arvensis*, *Solidago canadensis* и листья *Rubus chamaemorus*. Все указанные растения обладают высоким антиоксидантным потенциалом, который может быть использован для создания лекарственных средств, предназначенных для терапии патологических состояний, в звене патогенеза которых лежит оксидативный стресс (нейродегенеративные заболевания, гипоксические состояния различной этиологии, сосудистые и иммунные нарушения, дегенеративные изменения гепатобилиарной системы, онкологические заболевания и др.).

Для экстракции, очистки, фракционирования, выделения индивидуальных соединений и их идентификации используют как традиционные методы, так и современные. При выборе методов исследователям необходимо учитывать природу разделяемых веществ, полноту экстракции, универсальность, простоту метода, возможность работы с малыми количествами сырья/веществ, экспрессность, экономичность, точность, возможность использования в качественном и количественном анализе. В наибольшей степени данным критериям соответствуют колоночная хроматография, ВЭЖХ, ГХ, масс- и ЯМР-спектроскопия, позволяющие при минимальных количествах исходного сырья и получаемых очищенных индивидуальных веществ проводить их

идентификацию, и в дальнейшем подвергать фармакологическому скринингу как современными методами *in silico*, так и традиционными методами *in vitro*, которые в данном случае являются более релевантными и воспроизводимыми по сравнению с методами *in vivo*.

В распоряжении исследователей находятся несколько платформ для проведения *in silico* исследований, каждая из которых в отдельности обладает рядом недостатков, одним из которых является невозможность применения для прогнозирования сочетанной биологической активности нескольких соединений. Решением этой проблемы может быть интеграция нескольких баз наиболее проработанных сервисов, например, Way2Drug и SwissPredict, которые позволят определить возможные направления поиска сочетанных эффектов веществ, снизив при этом объем экспериментальных исследований *in vitro*, *in vivo*.

ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Объекты исследования

Для получения суммарных экстрактов и выделения индивидуальных соединений использовали растительное сырье, указанное в Таблице 5.

Таблица 5 – Виды заготавливаемого сырья, места и сроки его заготовки

№	Объект исследования	Вид сырья	Фаза вегетации	Место сбора	Год сбора	Метод сушки сырья
1	<i>Empetrum nigrum</i> L. (<i>Ericaceae</i>)	Побеги	Цветение	Окрестности питомника лек. растений ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России (Ленинградская область, Всеволожский район, Приозерское шоссе, 38 км)	2019	Воздушно-теневая сушка
2	<i>Rubus chamaemorus</i> L. (<i>Rosaceae</i>)	Листья	Плодоношение	Окрестности питомника лекарственных растений ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России	2019	Инфракрасная сушка
3	<i>Iris lactea</i> Pall. (<i>Iridaceae</i>)	Трава	Цветение	Окрестности озера Гусиное (Республика Бурятия); окрестности питомника лек. растений ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России	2008, 2019	Воздушно-теневая сушка
4	<i>Ononis arvensis</i> L. (<i>Fabaceae</i>)	Трава	Цветение	Берег реки Великая, окрестности г. Остров Псковская область; окрестности питомника лекарственных растений ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России	2012, 2019	Воздушно-теневая сушка
5	<i>Solidago canadensis</i> L. (<i>Asteraceae</i>)	Трава	Цветение	Окрестности питомника лекарственных растений ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России	2016, 2019	Воздушно-теневая сушка

При заготовке сырья *Empetrum nigrum* L., срезали побеги длиной до 20 см; при заготовке *Rubus chamaemorus* L., срезали листья у основания; траву *Iris lactea* Pall., заготавливали путем срезания надземной части длиной до 30 см; траву *Ononis arvensis* L., заготавливали путем срезания надземной части длиной до 100 см; для сбора травы *Solidago canadensis* L. срезали надземную часть длиной до 100 см.

Влажность сырья определяли фармакопейным методом [24].

Для выполнения экстракции растительное сырье: сухие побеги, листья и траву измельчали и просеивали через сито с диаметром отверстий 1 мм.

2.2 Реактивы и растворители

Для выполнения исследования использовали следующие растворители:

- спирт этиловый 96 %-й («Essentica», Болгария);
- *n*-гексан – квалификация химически чистый (АО «ЭКОС 1», Россия);
- дихлорметан – квалификация химически чистый (АО «ЭКОС 1», Россия);
- *n*-бутанол – квалификация химически чистый (АО «ВЕКТОН», Россия);
- метанол – квалификация химически чистый (ООО «ТД «Химмед»);
- уксусная кислота – квалификация химически чистый (АО «Ленреактив»);
- ацетонитрил – квалификация особо чистый (ООО «ТД «Химмед»).

2.3 Методы фитохимического исследования

Экстракты из растительного сырья получали методом исчерпывающей мацерации.

Фракционирование экстрактов осуществляли с помощью жидкость-жидкостной экстракции органическими растворителями.

Контроль за полнотой мацерации и жидкость-жидкостной экстракции осуществляли путем взвешивания сухого остатка, оставшегося после испарения аликвоты экстракта или фракции.

Экстракты и фракции концентрировали на вакуумно-ротационном испарителе Hei-VAP Precision (Heidolph, Германия).

Универсальная схема выделения фенольных соединений из объектов исследования представлена на рисунке 5.

Выделение индивидуальных соединений из фракций осуществляли с использованием методов открытой колоночной хроматографии на сорбентах с различной селективностью – обращенно-фазового сорбента на основе стирол-дивинилбензола – Dianion HP-20 производства компании Sigma-Aldrich (США), сорбента для эксклюзионной хроматографии – Sephadex LH-20 производства компании Cytiva Sweden AB (Швеция) и нормально-фазового сорбента – Silica gel Davisil Grade 635 производства компании Sigma-Aldrich (США).

Контроль за эффективностью разделения веществ на открытых колонках и выбор целевых фракций для последующего препаративного выделения индивидуальных соединений осуществлялся на основании результатов тонкослойной хроматографии и высокоэффективной тонкослойной хроматографии (ВЭТСХ) в системах гексан:дихлорметан:метанол (2 : 2 : 0,5) и н-бутанол : уксусная кислота : вода (4 : 1 : 2), с детектированием веществ в ультрафиолетовом свете при длинах волн 254 и 365 нм, а также аналитической высокоэффективной жидкостной хроматографии в сочетании с ультрафиолетовым детектированием (ВЭЖХ-УФ), которая осуществлялась на приборе Prominence (Shimadzu, Япония) серии LC-20, оснащенный автосамплером SIL-20A, термостатом СТО-20АС и диодно-матричным детектором SPD-M20A. Для анализов использовалась обращено-фазовая колонка SUPELCOSIL LC-18 (250 × 4,6 мм, 5 мкм).

Полученные после колоночной хроматографии целевые фракции подвергались препаративной ВЭЖХ на приборе Smartline (Knauer, Германия), оснащенным препаративным насосом P-1800, программируемым спектрофотометрическим детектором UV Detector 2520 и препаративной колонкой Kromasil (250 × 30,5 мкм). Ввод проб осуществляли вручную с использованием плунжерного шприца вместимостью 2 мл (Hamilton, США). Объем вводимой пробы 0,2–0,5 мл.

Ультрафиолетовые спектры соединений записывали в смеси ацетонитрил-вода в различных соотношениях на приборе СФ-2000, производства ОКБ «Спектр» (Россия).

Структуру выделенных индивидуальных соединений устанавливали с помощью методов: ЯМР-спектроскопии на приборе Bruker Avance III 400 NMR Spectrometer, производства компании Bruker (США). Запись спектров производили при температуре 25° С с использованием дейтерированного диметилсульфоксида в качестве растворителя при частоте 400 МГц, расшифровку полученных спектров проводили с использованием программного обеспечения MestReNova 14.1.2; масс-спектрометрии высокого разрешения на приборе Bruker Micromass Q-TOF spectrometer, производства компании Bruker (США). Для записи спектров – 1 мг выделенного методом препаративной хроматографии и лиофилизированного вещества растворяли в 1 мл метанола и фильтровали через шприцевой фильтр с диаметром пор 0,2 мкм, расшифровку полученных спектров проводили с использованием программного обеспечения mMass.

2.4 Методы биологических исследований

Вся экспериментальная работа по изучению фармакологической активности *in vitro* выполнена в соответствии с рекомендациями «Руководства по доклиническому изучению новых фармакологических веществ» [33].

2.4.1 Исследование влияния биологически активных соединений на систему гемостаза

Исследования по оценке влияния на систему гемостаза индивидуальных веществ и экстрактов проводились в два этапа. На первом этапе исследовали влияние полученных экстрактов в зависимости от растворяющей среды на показатели активации и агрегации тромбоцитов, на показатели коагуляционного

звена гемостаза. Далее (второй этап) исследовали индивидуально выделенные соединения из полученных экстрактов и их смеси для оценки вклада каждого компонента в реализацию фармакологической активности с определением вида взаимодействия компонентов изученных экстрактов.

Эксперименты в условиях *in vitro* выполнены на крови 57 здоровых доноров-мужчин в возрасте 18–24 лет. Забор крови для исследования соединений в отношении системы гемостаза проводился из кубитальной вены с использованием систем вакуумного забора крови BD Vacutainer (Becton Dickinson and Company США). В качестве стабилизатора венозной крови использовался 3,8% раствор цитрата натрия в соотношении 9 : 1. Все тесты проводили на обогащенной и обедненной тромбоцитами плазмах. Образцы богатой тромбоцитами плазмы получали центрифугированием цитратной крови при 1000 об/мин в течение 10 мин, бестромбоцитарной плазмы – при 3000 об/мин в течение 20 мин. В работе использовали центрифугу ОПН-3.02 (ОАО ТНК «ДАСТАН», Кыргызстан).

К исследованию допускались растворы веществ, не образующие осадка в течение минимум 2 ч отстаивания при комнатной температуре после растворения. Хранение разведенных веществ проводилось в условиях холодильника при температуре +2...8 °С не более 24 ч. Помимо контроля проводили регистрацию исследуемых показателей при добавлении изовольюмического объема растворителя (диметилсульфоксида) для оценки его эффекта на систему гемостаза. Оценка влияния на систему гемостаза выделенных соединений, экстрактов и препаратов сравнения проводилось в стандартной концентрации 1,0 мг/мл.

Исследование влияния на агрегацию тромбоцитов

Исследование влияния на агрегацию тромбоцитов проводили по методу Born [74] на агрегометре «АТ-02» (НПФ «Медтех», Россия). В качестве индукторов агрегации использовали аденозиндифосфат (АДФ) в концентрации 20 мкг/мл и коллаген в концентрации 5 мг/мл производства фирмы «Технология-

Стандарт» (г. Барнаул). Оценивали максимальную амплитуду агрегации, скорость агрегации, время достижения максимальной амплитуды и дезагрегацию в присутствии изучаемых соединений при агрегации тромбоцитов, индуцированной АДФ. При коллаген-индуцированной агрегации тромбоцитов оценивали латентный период, во время которого происходит активация фосфолипазы С (что приводит к образованию вторичных посредников, вследствие чего развивается секреция тромбоцитарных гранул и синтез тромбоксана А₂).

Исследование антикоагуляционной активности

Определение антикоагуляционной активности проводили общепризнанными клоттинговыми тестами на турбидиметрическом гемокоагулометре Solar CGL 2110 (ЗАО «СОЛАР», Россия). Определяли показатели активированного парциального тромбопластинового времени (АПТВ), протромбинового времени и концентрации фибриногена по А. Clauss [26]. В работе использовали реактивы производства фирмы «Технология-Стандарт» (г. Барнаул).

Определение показателей активации тромбоцитов

В качестве маркера активации тромбоцитов измеряли экспрессию Р- селектина на поверхности тромбоцитов. Цитофлуориметрический анализ проводили на приборе BD FACSCanto II (США), используя оригинальное программное обеспечение. Измеряли связывание с тромбоцитами крови здоровых доноров флюорисцентно- меченых антител против CD62. Для этого образцы богатой тромбоцитами плазмы разводили 100-кратно 0,15 М фосфатно-солевым буферным раствором (Рн 7,0–7,5), вносили исследуемые препараты и инкубировали в течение 5 мин. Для активации тромбоцитов в пробы вносили АДФ до конечной концентрации 20 мкг/мл и перемешивали. Активацию проводили в течение 15 мин, после чего клетки фиксировали добавлением 1 %-ГО раствора формалина. После инкубации образцы богатой тромбоцитами

плазмы окрашивали 20 мин при комнатной температуре мышиными моноклональными антителами CD62, меченными APC (алофиикоцианином) (Becton Dickinson, США) согласно рекомендациям производителя. Параметры настройки прибора были одинаковы для всех измерений. Для каждой пробы собирали не менее 10 тыс. событий. «Тромбоцитарное окно» выделяли по параметрам прямого (FCS) и малоугольного (SSC) светорассеяний в логарифмической шкале координат. Оценивали количество позитивных клеток (%) по CD62.

В качестве препарата сравнения на этапе скрининга в отношении влияния на агрегацию тромбоцитов, согласно рекомендациям [33], была выбрана ацетилсалициловая кислота (Фармацевтическая фабрика «Шандонг Ксинхуа Фармасьютикал Ко., ЛТД», Китай) в концентрации 10^{-3} М/л. Выбор референтного препарата обусловлен, с одной стороны, возможностью его применять в эксперименте в условиях *in vitro* и *in vivo*, с другой стороны, хорошо изученным механизмом действия и возможностью работы в условиях *in silico*. Клиническая эффективность ацетилсалициловой кислоты, как антитромботического средства, была изучена во многих многоцентровых исследованиях. По данным ряда метаанализов [66], в которых суммированы результаты 65 исследований (более 60 тыс. пациентов), прием ацетилсалициловой кислоты на 23 % снижает вероятность развития эпизодов тромботических событий, развитие инфаркта миокарда, острого нарушения мозгового кровообращения и частоту смертности от данных состояний. Следует отметить, что все анализируемые исследования включали пациентов с острым или ранее перенесенным инфарктом миокарда или инсультом. Метаанализ работ, посвященных первичной профилактике тромбозов у здоровых добровольцев на основании наблюдений в выборке 95000 добровольцев, демонстрирует снижение частоты тромботических событий с 0,57 до 0,51 % в год [54]. Ряд исследователей отмечали способность ацетилсалициловой кислоты успешно протектировать и развитие венозных тромбозов и, как следствие, тромбоэмболических осложнений [79]. Данному вопросу были посвящены два рандомизированных исследования.

И, начиная с марта 2018 г., согласно клиническим рекомендациям Американского общества неврологов и кардиологов, в качестве средства профилактики венозного тромбоза и тромбоэмболии легочной артерии предпочтение должно отдаваться именно монотерапии ацетилсалициловой кислотой как наиболее эффективному средству с уровнем и классом доказательности А1 [211].

В качестве позитивного контроля при оценке экспрессии Р-селектина использовали пентоксифиллин (ОАО «Дальхимфарм», Россия) в концентрации 10^{-3} М/л, в качестве антикоагулянта – гепарин натрия (ОАО «Синтез», Россия) в концентрации $5 \cdot 10^{-4}$ г/мл.

2.4.2 Методы статистической обработки биологических экспериментов

Результаты исследования обработаны с применением статистического пакета Statistica 10.0 (StatSoft Inc, США). Проверку на нормальность распределения фактических данных выполняли с помощью критерия Шапиро–Уилка. Выявлено, что вид распределения полученных данных отличается от нормального, поэтому при дальнейшей работе использовались непараметрические методы. Данные представлены в виде медианы *Me*, 25-го и 75-го перцентилей. Дисперсионный анализ проводили с помощью критерия Краскела–Уоллиса. Критический уровень значимости *p* для статистических критериев принимали равным 0,05.

ГЛАВА 3 ВЫДЕЛЕНИЕ И ИССЛЕДОВАНИЕ СОСТАВА ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ *EMPETRUM NIGRUM L.*, *RUBUS CHAMAEMORUS L.*, *IRIS LACTEA PALL.*, *ONONIS ARVENSIS L.*, *SOLIDAGO CANADENSIS L.*

3.1 Разработка общих подходов к выделению индивидуальных соединений из растительного сырья

Суммарные экстракты растений представляют собой сложные смеси первичных и вторичных метаболитов, принадлежащих к различным химическим классам. Для решения задачи настоящего диссертационного исследования по выделению индивидуальных соединений из растительного сырья экспериментальным путем, была разработана универсальная методика, применимая к любому растительному объекту и позволяющая оптимизировать эффективность и скорость выделения индивидуальных веществ.

Первичным этапом выделения индивидуальных соединений является наработка достаточного количества суммарного растительного экстракта путём использования многократной экстракции 96 %-м или 80 %-м этанолом (мацерация измельчённого растительного сырья). После настаивания и насыщения экстрагента веществами экстракт фильтруется и упаривается до густой консистенции на ротационном испарителе. Получаемый при этом отгон, представляющий собой 96 %-й или 80 %-й этанол, вновь используется для продолжения экстракции сырья. Данный процесс повторяется многократно до истощения сырья. Описанная особенность методики позволяет получить максимально концентрированный суммарный экстракт с исчерпывающим извлечением преимущественно вторичных метаболитов из растительного сырья. Применение 96 %-го этанола в качестве экстрагента позволяет выделять из сырья широкий спектр веществ, обладающих различной полярностью. Применение спирта меньших концентраций является нецелесообразным из-за получения на каждой стадии отгонки азеотропной смеси спирт–вода, имеющей различную концентрацию спирта, при увеличении разницы концентраций от стадии к

стадии, что не позволило бы добиться унификации экстракции от стадии к стадии.

После наработки суммарного экстракта, представляющего смесь различных метаболитов, проводится его последовательное фракционирование с помощью жидкость-жидкостной экстракцией, используя ряд экстрагентов с возрастающей полярностью: н-гексан, дихлорметан и н-бутанол. После первой стадии жидкость-жидкостной экстракции полученный н-гексановый, дихлорметановый или н-бутанольный растворы отделяются и концентрируются для регенерации растворителя, который затем повторно применяется для жидкость-жидкостной экстракции. Данная методика позволяет максимально полно извлечь целевые компоненты в соответствующие растворители и значительно сэкономить расход растворителя-экстрагента. Подробная схема исследования химического состава фенольных соединений представлена на Рисунке 5.

Полученные н-гексановая, дихлорметановая, н-бутанольная фракции и водный остаток далее разделяются методом последовательной препаративной колоночной хроматографии с применением сорбентов с различной селективностью, что позволяет максимально полно разделить соединения друг от друга за счет различных механизмов сорбции веществ.

Полученные после колоночной хроматографии подфракции анализируются методом ВЭЖХ, после чего определяется перечень целевых подфракций, содержащих 2–3 индивидуальных соединения и пригодных для последующей наработки таких индивидуальных веществ методом препаративной ВЭЖХ. Контроль полноты и качества выделения индивидуальных соединений осуществляется также методом аналитической ВЭЖХ. Выделенные индивидуальные соединения лиофильно высушиваются, а затем анализируются методами масс-спектрометрии высокого разрешения для определения брутто-формулы и ЯМР-спектроскопии для установления самой структуры.

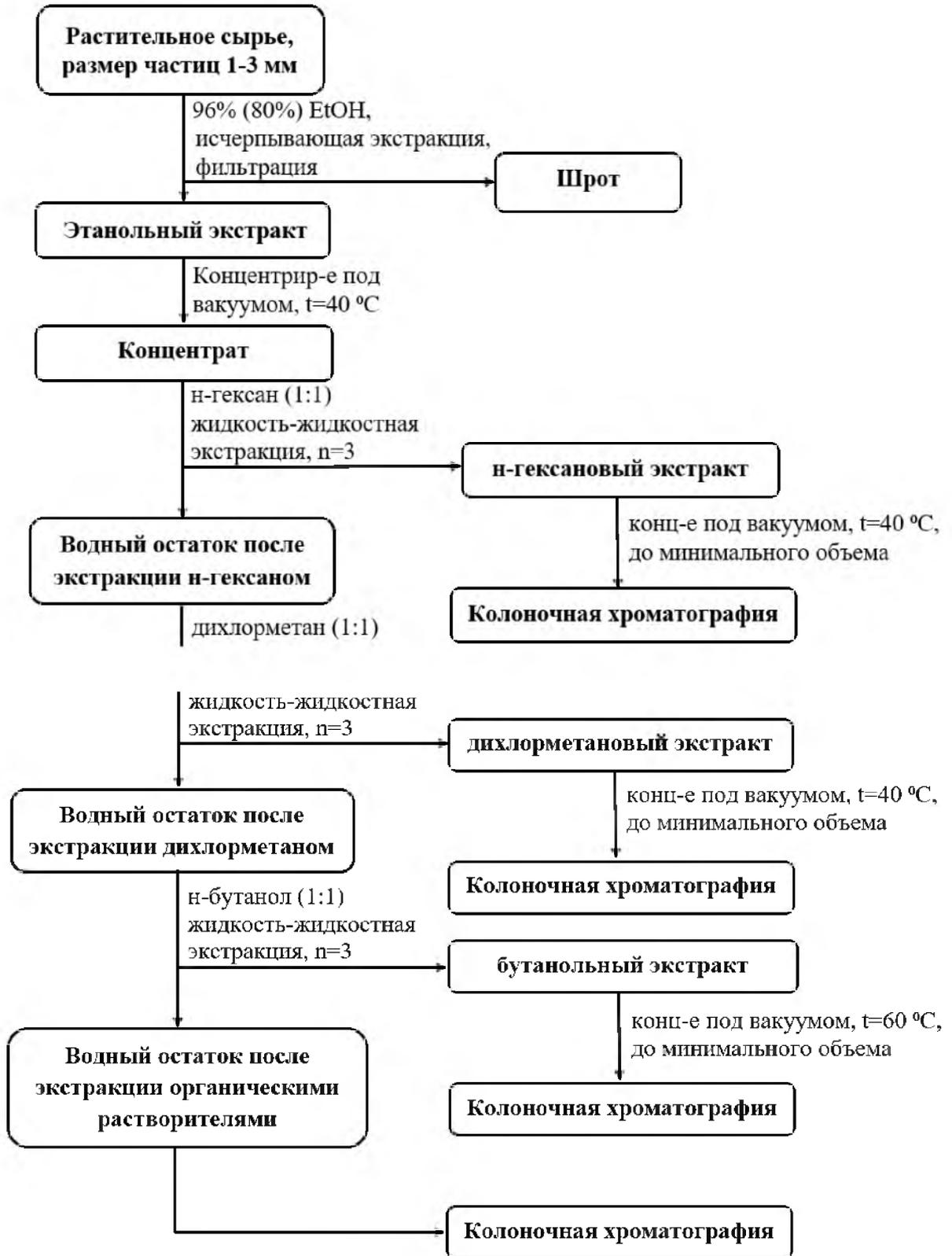


Рисунок 5 – Универсальная схема выделения фенольных соединений

3.2 Индивидуальные соединения *Empetrum nigrum* L.

Проводили многократную экстракцию высушенного сырья – побегов *Empetrum nigrum* (масса – 744 г) 96 %-м этиловым спиртом ($V = 3150$ мл), соотношение сырье–экстрагент – 1 : 4. Экстракция проводилась до полного истощения сырья, контроль полноты экстракции проводили по сухому остатку, оставшемуся после испарения до постоянной массы 5 мл экстракта. Полученное извлечение концентрировали на вакуумно-ротационном испарителе при температуре 40 °С, до полного удаления этанола (приблизительный конечный объем 200 мл). Затем проводили последовательную многократную жидкость-жидкостную экстракцию. На первом этапе экстракция проводилась с равным количеством н-гексана. Затем к спиртовому извлечению добавляли 50 мл воды очищенной и продолжали жидкостно-жидкостную экстракцию с равным количеством дихлорметана. В заключении жидкостная экстракция проводилась с равным количеством н-бутанола. Полноту жидкостно-жидкостной экстракции растворителями осуществляли по сухому остатку, оставшемуся после испарения 3 мл каждого раствора до постоянной массы. Остаточную водную и три полученные фракции упаривали до объема 100 мл. Хроматограмма суммарного экстракта представлена на Рисунке 6.



Рисунок 6 – ВЭЖХ хроматограмма суммарного экстракта *Empetrum nigrum*

3.2.1 Индивидуальные соединения дихлорметановой фракции

Дихлорметановую фракцию загружали на сорбент Sephadex LH-20. Изначальный элюент дихлорметан:метанол (95 : 5). Проводили градиентное элюирование с постепенным увеличением содержания метанола до 50 % с шагом 5 %. Сбор предварительных фракций производили в пробирки. Параллельно проводили скрининг полученных из колонки предварительных фракций методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) в системе гексан–дихлорметан–метанол (2 : 2 : 0,5), для дальнейшего их объединения. Объединенные фракции выпаривали в вакуумно-ротационном испарителе при температуре 40 °С до объема 10 мл. Анализ полученных фракций и индивидуальных соединений проводили на аналитическом высокоэффективном жидкостном хроматографе. Элюент: вода (компонент А), ацетонитрил (компонент В) с содержанием трифторуксусной кислоты 0,1 %. Детектирование проводили при длинах волн 235, 254 и 280 нм. Характеристики метода аналитической ВЭЖХ представлены в Таблице 6.

Таблица 6 – Характеристика метода аналитической ВЭЖХ

Время, мин	Скорость потока, мл/мин	Концентрация компонента А, %	Концентрация компонента В, %
0,01	1,0	95	5
5,00	1,0	95	5
45,75	1,0	0	100
50,00	1,0	0	100
60,00	1,0	95	5
65,00	1,0	95	5

Из перспективных фракций в дальнейшем производилось выделение индивидуальных соединений при помощи метода препаративной ВЭЖХ. В результате анализа перспективных фракций на аналитическом хроматографе

было установлено, что оптимальная длина волны для детектирования соединений составляет 235 нм. В дальнейшем данная длина волны использовалась в методе препаративной ВЭЖХ. Характеристика метода для препаративного выделения представлена в Таблице 7. Элюент: вода (компонент А), ацетонитрил (компонент В) с содержанием трифторуксусной кислоты 0,1 %.

Таблица 7 – Характеристика методов препаративной ВЭЖХ

Время, мин	Скорость потока, мл/мин	Концентрация компонента А, %	Концентрация компонента В, %
0,0	40,0	90	10
5,0	40,0	90	10
35,0	40,0	25	75
42,0	40,0	25	75
46,0	40,0	90	10

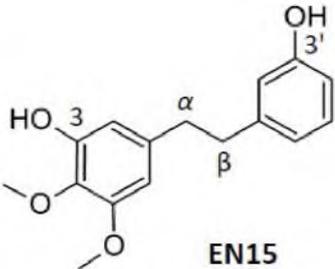
В результате разделения методом препаративной ВЭЖХ из подфракций, полученных из дихлорметановой фракции, было выделено шесть индивидуальных соединений под шифрами **EN15**, **EN17**, **EN19**, **EN20**, **EN23** и **EN58** [49]. Ниже приведены физико-химические параметры выделенных индивидуальных соединений, включая характеристики ЯМР- и масс-спектров [28].

EN15 представляет собой желтое кристаллическое вещество, имеющее один максимум поглощения в УФ-спектре (λ_{\max}) при длине волны 273 нм. Спектр HR-ESIMS имеет пик псевдомолекулярного иона $[M+H]^+$ при m/z 275.1265 (расч. 275.1283), что соответствует молекулярной формуле $C_{16}H_{18}O_4$.

При анализе ЯМР-спектров **EN15** (Таблица 8) были обнаружены сигналы, указывающие на тот факт, что вещество представляет собой производное бибензила. Расположение функциональных групп (-ОН и -ОСН₃) установлено с помощью NOESY и HMBC корреляций.

Таблица 8 – Данные ^1H и ^{13}C ЯМР-спектров соединения EN15

Положение	Соединение EN15	
	δ_{H} , (J в Гц)	δ_{C}
1	-	137.4
2	6.29 (1H, д 1.78)	104.1
3	-	104.1
4	-	153.4
5	-	134.9
6	6.42 (1H, д 1.78)	109.5
1'	-	143.3
2'	6.69 (1H, м)	115.9
3'	-	157.8
4'	6.63 (1H, дд 7.96, 2.3)	113.3
5'	7.01 (1H, дд 7.96, 7.78)	129.5
6'	6.60 (1H, уш. д 7.78)	119.4
α	2.68 (4H, м)	37.6
β		
3-OH	9.15 (1H, уш. с)	-
5-OH	-	-
3'-OH	9.48 (1H, уш. с)	-
4-OMe	3.67 (3H, с)	-
5-OMe	3.60 (3H, с)	-



EN15

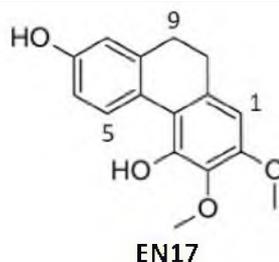
Таким образом, EN15 идентифицировано как (1-(3-гидроксифенил)-2-(3-гидрокси-4,5-диметоксифенил) этан). Масса выделенного вещества составила 30,0 мг.

EN17 представляет собой желтое кристаллическое соединение, имеющее один максимум поглощения в УФ-спектре (λ_{\max}) при длине волны 280 нм. Спектр HR-ESIMS имеет пик псевдомолекулярного иона $[M+H]^+$ при m/z 273.1128 (расч. 273.1127), что соответствует молекулярной формуле $C_{16}H_{16}O_4$.

При анализе ЯМР-спектров EN17 (Таблица 9) обнаружены сигналы двух гидроксильных групп при δ_H 8.82 (1H, с) и 9.67 (1H, с) и двух метокси-групп при δ_H 3.34 (3H, с) и 3.73 (3H, с). Расположение функциональных групп (-ОН и -OCH₃) установлено с помощью NOESY и HMBC корреляций.

Таблица 9 – Данные 1H и ^{13}C ЯМР-спектров соединения EN17

Положение	Соединение EN17	
	δ_H , (J в δ_H)	δ_C
1	6.40 (1H, с)	103.7
2	-	150.6
3	-	135.6
4	-	147.8
4a	-	113.0
4b	-	115.4
5	8.02 (1H, д, 8.5)	124.3
6	6.63 (1H, дд, 8.5, 2.5)	113.3
7	-	156.0
8	6.66 (1H, д, 2.5)	114.9
8a	-	138.6
9	2.53 (2H, м)	31.0
10	2.55 (2H, м)	30.3
10a	-	133.4
2-OMe	3.34 (3H, с)	
3-OMe	3.73 (3H, с)	
4-OMe		
4-OH	8.82 (1H, с)	
7-OH	9.67 (1H, с)	



Таким образом, **EN17** идентифицировано как **4,7-дигидрокси-2,3-диметокси-9,10-дигидрофенантрен**. Масса выделенного вещества составила 20,0 мг.

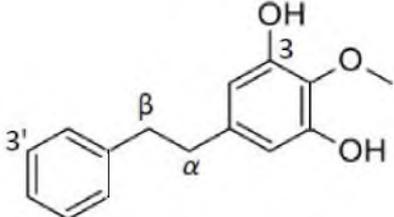
EN19 представляет собой желтое кристаллическое вещество, имеющее один максимум поглощения в УФ-спектре (λ_{max}) при длине волны 268 нм. Спектр HR-ESIMS имеет пик псевдомолекулярного иона $[M+H]^+$ при m/z 245.1177 (расч. 245.1178), что соответствует молекулярной формуле $C_{15}H_{16}O_3$.

При анализе ЯМР-спектров **EN19** (Таблица 10) были обнаружены сигналы, указывающие на то, что вещество представляет собой производное бибензила. В 1H ЯМР-спектре были обнаружены сигналы пяти ароматических протонов при δ_H 7.17 (5H, м), указывающих на отсутствие заместителей в кольце В, синглет двух ароматических протонов при δ_H 6.24 (2H, с), указывающие на то, что кольцо А имеет симметричное расположение заместителей, две фенольные ОН-группы при δ_H 9.12 (2H, с), одна OCH_3 -группа при δ_H 3.56 (3H, с) и сигналы алифатической спиновой системы типа A_2B_2 , состоящей из α - и β - метиленовых групп при δ_H 2.56 (2H, дд, 10.6, 9.1) и 2.72 (2H, дд, 10.6, 9.1), соответственно. COSY корреляции между протонами в положении α - и β , NOESY корреляции между протонами обоих α - и β - метиленовых групп с ароматическими протонами кольца А в положениях 2 и 6 при δ_H 6.24 (2H, с) свидетельствует о том, что ароматические протоны кольца А находятся в орто-положениях к алифатической α - и β - системе. Отсутствие NOESY корреляции между ароматическими протонами кольца А и протонами OCH_3 -группы при δ_H 3.56 (3H, с) указывает на то, что ОН-группы также расположены симметрично в положениях 3 и 5, в то время как OCH_3 -группа находится в положении 4 кольца А. Протоны

незамещенного кольца В в положениях 2' и 6' имели COSY корреляцию с протонами метиленовой группы в β положении и NOESY корреляции с протонами обеих α - и β - метиленовыми группами. Расположение функциональных групп (-ОН и -ОСН₃) были дополнительно установлены с помощью NOESY и HMBC корреляций.

Таблица 10 – Данные ¹H и ¹³C ЯМР-спектров соединения EN 19

Положение	Соединение EN 19	
	δ_{H} , (J в Гц)	δ_{C}
1	-	136.7
2	6.24 (2H, c)	107.7
3	-	151.0
4	-	133.9
5	-	151.0
6	6.24 (2H, c)	107.7
1'	-	137.0
2'	7.17 (5H, м)	128.8
3'		142.1
4'		126.2
5'		142.1
6'		128.8
α		2.72 (2H, дд 9.1, 10.6)
β	2.56 (2H, дд 9.1, 10.6)	37.6
3-OH	9.12 (2H, c)	-
5-OH		-
4-OMe	3.56 (3H, c)	60.1



EN19

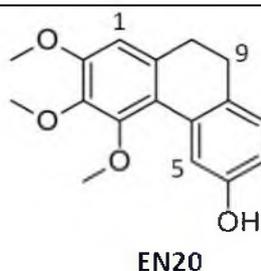
Таким образом, **EN19** идентифицировано как **1-(3,5-дигидрокси-4-метоксифенил)-2-фенилэтан** (новое природное соединение). Масса выделенного вещества составила 20,0 мг.

EN20 представляет собой желтое кристаллическое вещество, имеющее один максимум поглощения в УФ-спектре (λ_{\max}) при длине волны 282 нм. Спектр HR-ESIMS имеет пик псевдомолекулярного иона $[M+H]^+$ при m/z 287.1282 (расч. 287.1283), что соответствует молекулярной формуле $C_{17}H_{18}O_4$.

При анализе ЯМР-спектров **EN20** (Таблица 11) были обнаружены сигналы, указывающие на то, что вещество представляет собой производное 9,10-дигидрофенантрена.

Таблица 11 – Данные 1H и ^{13}C ЯМР-спектров соединения **EN20**

Положение	Соединение EN20	
	δ_H , (J в Гц)	δ_C
1	6.70 (1H, c)	108.4
2	-	141.4
3	-	151.5
4	-	151.0
4a	-	120.8
4b	-	120.6
5	6.68 (1H, д 2.45)	123.4
6	-	156.7
7	6.69 (1H, дд, 9.3, 2.45)	114.5
8	7.86 (1H, д, 9.3)	115.2
8a	-	139.3
9	2.55 (2H, м)	29.8
10	2.57 (2H, м)	30.1
10a	-	133.9
6-OH	9.82 (1H, c)	-
2-OMe	3.75 (3H, c)	56.3
3-OMe	3.69 (3H, c)	60.8
4-OMe	3.59 (3H, c)	60.5



В ^1H -ЯМР спектре **EN20** обнаружены сигналы двух ароматических систем, первая система - кольцо В содержала три протона, образующие спиновую систему типа АВХ при δ_{H} 7.86 (1H, д, 9.3) 8-Н, 6.69 (1H, дд, 9.3, 2.45) 7-Н и 6.68 (1H, д, 2.45) 5-Н; вторая ароматическая система - кольцо А имело только один сигнал в виде синглет при δ_{H} 6.70 (1H, с) 1-Н. Также были обнаружены сигналы протона ОН-группы при δ_{H} 9.82 (1H, с), трех OCH_3 -групп при δ_{H} 3.75 (3H, с), 3.69 (3H, с) и 3.59 [3H, с]), наряду с двумя sp^3 гибридными метиленовыми группами при δ_{H} 2.55 (2H, м) в положении 9 и 2.57 (2H, м) в положении 10.

COSY и NOESY корреляции между протонами в положении 9 с протоном в положении 8 указывают на то, что обе группы протонов находятся в непосредственной близости друг от друга, что предопределяет положение остальных протонов кольца В. Схожим образом COSY и NOESY корреляции позволили установить расположение единственного протона в кольце А в положении 1, благодаря корреляции NOESY с протонами метиленовой группы в положении 10. Положения заместителей были дополнительно подтверждены с помощью корреляций NOESY и HMBC.

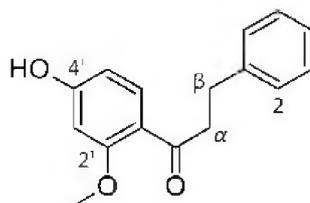
Таким образом, **EN20** идентифицировано как **6-гидрокси-2,3,4-триметокси-9,10-дигидрофенантрен** (новое природное соединение). Масса выделенного вещества составила 15,0 мг.

EN23 представляет собой желтое кристаллическое вещество с двумя максимумами поглощения в УФ-спектре (λ_{max}) при длинах волн 268 и 303 нм. Спектр HR-ESIMS имеет пик псевдомолекулярного иона $[\text{M}+\text{H}]^+$ при m/z 257,1182 (расч. 257,1178), что соответствует молекулярной формуле $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{O}_3$.

При анализе ЯМР-спектров **EN23** (Таблица 12) обнаружены сигналы шестнадцать протонов – восемь представы ароматическими протонами при δ_{H} 6.60, (1H, д, 2.0 Гц) 3'-H, 6.50 (1H, дд, 8.5, 2.0) 5'-H, 7.49, (1H, д, 8.5 Гц) 6'-H, 7.16 (5H, м) 2,3,4,5,6-H, одна фенольная OH-группа при δ_{H} 10.85 (1H, с) 4'-OH, одна OCH₃-группа при δ_{H} 3.75 (3H, с) 2'-Оме и четыре алифатические протоны в α и β положениях при δ_{H} 3.09 [2H, т, 7.78] α -H и 2.80 (2H, т, 7.78) β -H.

Таблица 12 – Данные ¹H и ¹³C ЯМР-спектров соединения **EN23**

Положение	Соединение EN23	
	δ_{H} , (J в Гц)	δ_{C}
1'	-	163.9
2'	-	161.3
3'	6.60 (1H, д, 2.0)	99.7
4'	-	164.2
5'	6.50 (1H, дд, 8.5, 2.0)	108.6
6'	7.49 (1H, д, 8.5)	118.7
1	-	142.1
2	7.16 (5H, м)	128.8
3		126.2
4		126.2
5		126.2
6		128.8
β		2.80 (2H, т, 7.78)
α	3.09 (2H, т, 7.78)	45.1
C=O	-	198.4
2'-OMe	3.75 (3H, с)	56.1
4'-OH	10.85 (1H, с)	-



EN23

Структура вещества была подтверждена наличием NOESY-корреляций между 2'-ОМе протонами и 3'-Н протоном кольца А, а также по наличию HMBC-корреляций между 2'-ОМе протонами и 2'-С (δ_C 161.3) атомом углерода кольца А. Положение гидрокси-группы подтверждено по наличию NOESY-корреляций 4'-ОН протонов с 3'-Н и 5'-Н протонами кольца А, а также по наличию HMBC-корреляций 4'-ОН протонов с 3'-С (δ_C 99.7) и 5'-С (δ_C 108.6) атомами углерода кольца А.

Таким образом, **EN23** идентифицировано как **4'-гидрокси-2'-метоксидигидрохалкон (метилэмпетрон)**. Масса выделенного вещества составила 30,6 мг.

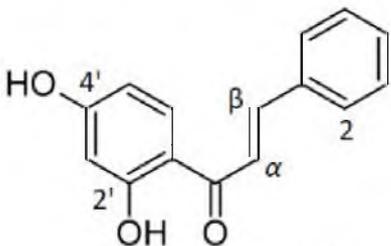
EN58 – желтое кристаллическое вещество, имеющее один максимум УФ-поглощения (λ_{\max}) при длине волны 339 нм. Спектр HR-ESIMS имеет пик псевдомолекулярного иона $[M+H]^+$ при m/z 241.0862 (расч. 241.0865), что соответствует молекулярной формуле $C_{15}H_{12}O_3$.

При анализе ЯМР-спектров **EN58** (Таблица 13) обнаружены сигналы двенадцати протонов – восемь представляют собой ароматические протоны при δ_H 6.45 (1H, д, 2.3 Гц) 3'-Н, 6.51 (1H, дд, 8.8, 2.3) 5'-Н, 8.18 (1H, д, 8.8 Гц) 6'-Н, 7.87 (2H, м) 2,6-Н, 7.41 (3H, м) 3,4,5-Н, два фенольных ОН-группы при δ_H 13.32 [1H, с] 2'-ОН и 11.37 (1H, с) 4'-ОН, сигналы двух последних протонов в α и β положениях были обнаружены при δ_H 7.97 (1H, д, 15.5) 7.72 (1H, д, 15.5), соответственно. Структура **EN58** была подтверждена благодаря наличию NOESY-корреляций между протонами фенольной ОН-группы в 2' положении с ароматическими протонами кольца А в положении 3', наряду с наличием NOESY-корреляций между протонами фенольной ОН-группы в 2' положении с протонами кольца А в положении 3' и 5'.

Таким образом, **EN58** идентифицировано как **2',4'-дигидроксихалкон**. Масса выделенного вещества составила 38,0 мг.

Таблица 13 – Данные ^1H и ^{13}C ЯМР-спектров соединения **EN58**

Положение	δ_{H} , (J в Гц)
1'	-
2'	-
3'	6.45 (1H, д, 2.3)
4'	-
5'	6.51 (1H, дд, 8.8, 2.3)
6'	8.18 (1H, д, 8.8)
1	
2	7.87 (1H, м)
3	
4	
5	
6	7.87 (1H, м)
β	7.72 (2H, д, 15.5)
α	7.97 (2H, д, 15.5)
C=O	-
4'-OH	11.37 (1H, с)
2'-OH	13.32 (1H, с)



EN58

Структурные формулы соединений, выделенных из дихлорметановой фракции этанольного экстракта *Empetrum nigrum*, представлены на Рисунке 7.

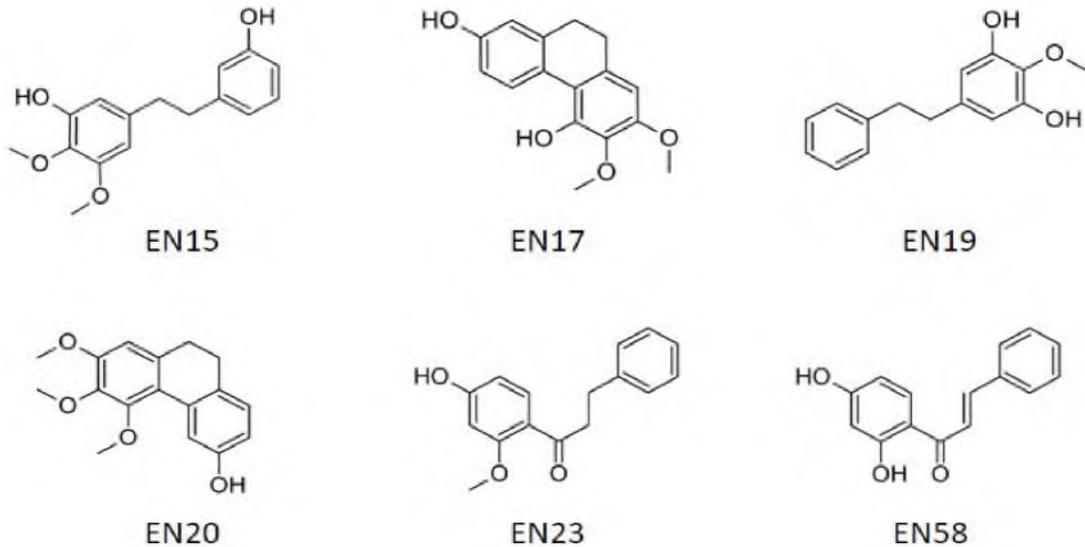


Рисунок 7 – Структурные формулы соединений, выделенных из дихлорметановой фракции *Empetrum nigrum*

3.2.2 Индивидуальные соединения *n*-гексановой фракции

Для избирательной экстракции неполярных соединений 10,0 г. измельченных и просеянных через сито с диаметром отверстий 1 мм побегов *Empetrum nigrum* экстрагировали 300 мл *n*-гексана. Экстракцию проводили при комнатной температуре. По мере экстрагирования сырья и насыщения растворителя экстрагируемыми веществами, экстракт отфильтровывали и сгущали в вакуумно-ротационном испарителе при 45 °С до минимального объема (30 мл). Данный процесс повторяли многократно, до того момента, пока полученное извлечение не становилось слабо окрашенным, по сравнению с первоначальным, а масса сухого остатка аликвоты (3 мл) экстракта составляла не более 1 мг. Все порции *n*-гексанового экстракта объединяли и выпаривали в вакуумно-ротационном испарителе при температуре 45 °С до объема 50 мл. *n*-Гексановый экстракт загружали на сорбент Silica gel и проводили вакуумную хроматографию. Использовали метод градиентного элюирования, в качестве подвижной фазы использовали *n*-гексан-дихлорметан (от 100:0 до 0:100). Повышение полярности градиента проводили с шагом 10 %. Сбор

предварительных фракций производили в пробирки. Параллельно проводился скрининг полученных из колонки предварительных фракций методом ТСХ в системе гексан–дихлорметан–метанол (2 : 2: 0,5), для дальнейшего их объединения. Объединенные фракции выпаривали в вакуумно-ротационном испарителе при 45 °С до объема 10 мл. Анализ полученных фракций и индивидуальных соединений проводили на аналитическом высокоэффективном жидкостном хроматографе. Характеристика метода аналитического ВЭЖХ представлена в Таблице 6. Из перспективных фракций в дальнейшем производилось выделение индивидуальных соединений при помощи метода препаративной ВЭЖХ на препаративном высокоэффективном хроматографе Smartline компании Knauer (Германия). В результате анализа перспективных фракций на аналитическом хроматографе было установлено, что наиболее подходящая длина волны для детектирования составляет 235 нм. В дальнейшем данная длина волны использовалась в методе препаративной ВЭЖХ. Из н-гексанового экстракта были выделены соединения под шифрами **EN52**, **EN48**, **EN51**, **EN53**, **EN54**, **EN55**, **EN56** и **EN59** [50]. Ниже приведены физико-химические параметры выделенных индивидуальных соединений, включая характеристики ЯМР- и масс-спектров [28].

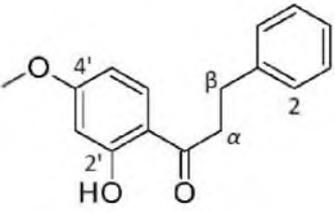
EN52 представляет собой бледно-желтое кристаллическое вещество, имеющее один максимум поглощения в УФ-спектре (λ_{max}) при длине волны 341 нм. Спектр HR-ESIMS имеет пик псевдомолекулярного иона $[M+H]^+$ при m/z 255.1020 (расч. 255.1021), что соответствует молекулярной формуле $C_{16}H_{14}O_3$.

При анализе ЯМР-спектров **EN52** (Таблица 14) обнаружены сигналы 14 протонов – восемь представляли собой ароматические протоны при δ_H 6.36 (1H, д, 2.1 Гц) 3'-H, 6.44 (1H, дд, 9.1, 2.1) 5'-H, 7.91 (1H, д, 9.1 Гц) 6'-H, 7.64 (2H, м) 2,6-H, 7.36 (3H, м) 3,4,5-H, один являлся фенольной ОН-группой при δ_H 13.32 (1H, с) 2'-ОН, три протона принадлежали OCH_3 -группе при δ_H 3.79 (3H,с) 4'-ОМе, последние два сигнала представляли собой адифетические протоны в α и β положениях при δ_H 7.76 (2H, д, 15.5) и 7.64 (2H, м), соответственно.

Структура **EN52** была подтверждена благодаря наличию NOESY-корреляций между протонами ароматической OCH₃-группы в положении 4' с протонами кольца А в положениях 3' и 5'. Положение фенольной OH-группы было установлено благодаря NOESY-корреляций между 2'-протоном фенольной OH-группы в положении 2' с протонами кольца А в положении 3'.

Таблица 14 – Данные ¹H и ¹³C ЯМР-спектров соединения **EN52**

Положение	δ_{H} , (J в Гц)
1'	-
2'	-
3'	6.36 (1H, д 2.1)
4'	
5'	6.44 (1H, дд 9.1, 2.1)
6'	7.91 (1H, д 9.1)
1	-
2	7.64 (2H, м)
3	7.36 (3H, м)
4	7.36 (3H, м)
5	7.36 (3H, м)
6	7.64 (2H, м)
β	7.64 (1H, м)
α	7.76 (1H, д 15.5 Hz)
C=O	-
4'-OH	13.32 (1H, с)
2'-OMe	3.79 (3H, с)



EN52

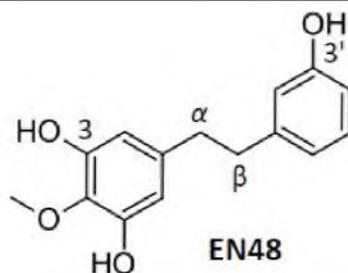
Таким образом, **EN52** идентифицировано как **2'-гидрокси-4'-метоксидигидрохалкон**. Масса выделенного вещества составила 5,0 мг.

EN48 представляет собой желтое кристаллическое вещество, имеющее один максимум поглощения в УФ-спектре (λ_{\max}) при длине волны 272 нм. Спектр HR-ESIMS имеет пик псевдомолекулярного иона $[M+H]^+$ при m/z 261.1126 (расч. 261.1127), что соответствует молекулярной формуле $C_{15}H_{16}O_4$.

При анализе ЯМР-спектров **EN48** (Таблица 15) были обнаружены сигналы, указывающие на то, что вещество представляет собой производное бибензила, схожие с сигналами ЯМР-спектра для соединения **EN19**, единственным отличием между которыми являлось наличие в соединении **EN48** дополнительной фенольной группы в положение 3' кольца В.

Таблица 15 – Данные 1H и ^{13}C ЯМР-спектров соединения **EN48**

Положение	δ_H , (J в Гц)	δ_C
1	-	137.2
2,6	6.21 (1H, c)	107.7
3,5	-	150.8
4	-	133.9
1'	-	143.3
2'	6.64 (1H, м)	115.6
3'	-	157.8
4'	6.60 (1H, м)	119.1
5'	7.02 (1H, т 8.5, 7.7)	129.5
6'	6.60 (1H, м)	119.4
α	2.58 (2H, м)	37.3
β	2.66 (2H, м)	37.6
3,5-OH	8.99 (2H, c)	-
4-OMe	3.62 (3H, c)	-
3' -OH	9.44 (1H, c)	-



Расположение функциональных групп (-ОН и -ОСН₃) установлена с помощью NOESY и HMBC корреляций.

Таким образом, **EN48** идентифицировано как **1-(3,5-дигидрокси-4-метоксифенил)-2-(3-гидроксифенил)этан**. Масса выделенного вещества составила 15,0 мг.

EN51 представляет собой белое кристаллическое вещество, имеющее два максимума поглощения в УФ-спектре (λ_{\max}) при длинах волн 274 и 314 нм. Спектр HR-ESIMS имеет пик псевдомолекулярного иона $[M+H]^+$ при m/z 257. 1177 (расч. 257. 1178), что соответствует молекулярной формуле C₁₆H₁₆O₃.

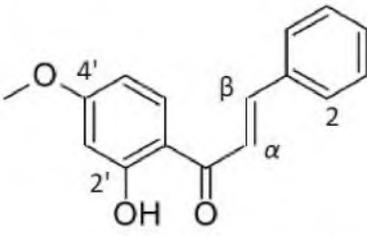
При анализе ЯМР-спектров **EN51** (Таблица 16) обнаружены сигналы шестнадцати протонов – восемь представляли собой ароматические протоны при δ_H 6.49 (1H, д, 2.3 Гц) 3'-H, 6.49 (1H, дд, 9.6, 2.3) 5'-H, 7.87 (1H, д, 9.6 Гц) 6'-H, 7.26 (4H, м) 2,3,5,6-H, 7.17 (1H, м) 4-H, одна фенольная ОН-группа при δ_H 12.52 (1H, с) 2'-ОН, три протона ОСН₃-группы δ_H 3.79 (3H,с) 4'-ОМе, последние четыре сигнала представлены алифатическими протонами в α и β положениях при δ_H 3.32 (2H, т, 7.7) и 2.92 (2H, т, 7.77), соответственно.

Таблица 16 –Данные ¹H и ¹³C ЯМР-спектров соединения **EN51**

Положение	δ_H , (J в Гц)
1'	-
2'	-
3'	6.49 (1H, д 2.3)
4'	-
5'	6.49 (1H, дд 9.6, 2.3)
6'	7.87 (1H, д 9.6)
1	-
2	7.26 (4H, м)
3	
4	7.17 (1H, м)
5	7.26 (4H, м)

Продолжение Таблицы 16

Положение	δ_{H} (J в Гц)
б	
β	2.92 (2H, т 7.7)
α	3.32 (2H, т 7.7)
C=O	-
2'-ОН	12.52 (1H, с)
4'-ОМе	3.79 (3H, с)



EN51

Структура **EN51** была подтверждена благодаря NOESY-корреляций между протонами OCH₃-группы в положении 4' с протоном кольца А в положениях 3' и 5'. 2' положение фенольной OH-группы установлена благодаря NOESY-корреляций его протона с протоном кольца А в положении 3'.

Таким образом, **EN51** идентифицировано как **2'-гидрокси-4'-метоксихалкон**. Масса выделенного вещества составила 10,0 мг.

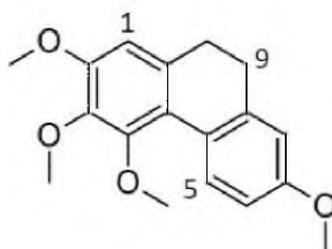
EN53 представляет собой желтое кристаллическое вещество, имеющее один максимум поглощения в УФ-спектре (λ_{max}) при длине волны 283 нм. Спектр HR-ESIMS имеет пик псевдомолекулярного иона [M+H]⁺ при m/z 301.1439 (расч. 301.1440), что соответствует молекулярной формуле C₁₈H₂₀O₄.

При анализе ЯМР-спектров **EN53** (Таблица 17), были обнаружены отличия от ¹H ЯМР-спектра соединения **EN20** за счет наличия дополнительной OCH₃-группы при δ_{H} 3.75 (3H, с). Расположение функциональных групп установлена с помощью NOESY корреляций между ароматическими протонами в положениях 6, 8 и OCH₃-группы в положении 7 при δ_{H} 3.75 (3H, с), между ароматическим протоном в положении 1 и OCH₃-группы в положении 2 при δ_{H} 3.80 (3H, с), между ароматическим протоном в положении 5 и OCH₃-группы в положении 4

при δ_{H} 3.65 (3H, с), а также наличием НМВС корреляций от OCH_3 -группы в положении 2 к атому углероду в положении 2 (δ_{C} 151.7), от OCH_3 -группы в положении 3 к атому углероду в положении 3 (δ_{C} 141.4), от OCH_3 -группы в положении 4 к атому углероду в положении 4 (δ_{C} 151.5) и от OCH_3 -группы в положении 7 к атому углероду в положении 7 (δ_{C} 158.1).

Таблица 17 – Данные ^1H и ^{13}C ЯМР-спектров соединения **EN53**

Положение	Соединение EN53	
	δ_{H} , (J в Гц)	δ_{C}
1	6.76 (1H, с)	108.4
2	-	151.7
3	-	141.4
4	-	151.5
4a	-	120.3
4b	-	125.2
5	8.05 (1H, д 8.4)	112.1
6	6.80 (1H, дд 8.4, 2.7)	113.3
7	-	158.1
8	6.82 (1H, шс)	113.5
8a		139.5
9	2.66 (2H, м)	29.8
10	2.66 (2H, м)	30.1
10a	-	134.2
7-OMe	3.75 (3H, с)	-
2-OMe	3.80 (3H, с)	-
3-OMe	3.74 (3H, с)	-
4-OMe	3.65 (3H, с)	-



EN53

Таким образом, **EN53** идентифицировано как **2,3,4,7-тетраметокси-9,10-дигидрофенантрен**. Масса выделенного вещества составила 8,0 мг.

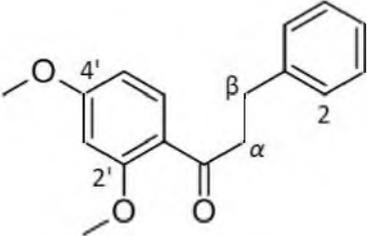
EN54 представляет собой желтое кристаллическое вещество, имеющее максимумы поглощения в УФ-спектре (λ_{\max}) при длинах волн 267 и 302 нм. Спектр HR-ESIMS имеет пик псевдомолекулярного иона $[M+H]^+$ при m/z 271.1332 (расч. 271.1334), что соответствует молекулярной формуле $C_{17}H_{18}O_3$.

При анализе ЯМР-спектров **EN54** (Таблица 18) были обнаружены сигналы, указывающие на то, что вещество представляет собой производное дигидрохалкона. В 1H ЯМР-спектре были обнаружены восемь сигналов ароматических протонов, включая три протона кольца А, образующих спиновую систему типа АВХ при δ_H 7.62 (1H, д, 8.6) 6'-H, δ_H 6.59 (1H, дд, 8.6, 2.1) 5'-H и δ_H 6.64 (1H, д, 2.1) 3'-H и пять протонов кольца В при δ_H 7.20 (5H, м) 2,3,4,5,6-H. Наряду с этим в 1H ЯМР-спектре присутствовали сигналы α и β протонов при δ_H 3.17 (2H, т, 7.6) и 2.85 (2H, т, 7.6, соответственно, образующих спиновую систему типа A_2X_2 . Дополнительно, присутствовали сигналы двух OCH_3 -групп при δ_H 3.86 (3H, s) в положении 2' и 3.82 (3H, s) в положении 4' кольца А.

Расположение функциональных групп (-ОН и $-OCH_3$) установлено с помощью корреляции от протонов в положении α к атому углерода в положении 1, и от протонов в положении β к к атомам углерода в положениях 1, 2 и 6 кольца В. В кольце А НМВС корреляции от ароматического протона в положении 6' к атомам углерода в положениях 5' (δ_H 99.0), C=O (δ_H 198.9), 2' (δ_H 161.2), 4' (δ_H 164.8), от ароматического протона в положении 5' к атомам углерода в положениях 1' (δ_H 120.7), 3' (δ_H 106.5), 4', и от ароматического протона в положении 3' к атомам углерода в положениях 1', 2', 4' и 5' установили структуру соединения как 2',4'-диметоксидигидрохалкон. Наличие NОSY корреляции от ароматических протонов в положениях 2 и 6 монозамещенного кольца В к обоим α и β протонам, а также NОESY корреляции от OCH_3 -группы в положении 2' к ароматическому протону в положении 3' и от OCH_3 -группы в положении 4' к ароматическим протонам в положениях 3' и 5' кольца А, дополнительно подтвердили структуру **EN 54**.

Таблица 18 – Данные ^1H и ^{13}C ЯМР-спектров соединения **EN54**

Положение	Соединение EN54	
	δ_{H} (J в Гц)	δ_{C}
1'	-	120.7
2'	-	161.2
3'	6.64 (1H, д 2.1)	106.5
4'		164.8
5'	6.59 (1H, дд 8.6, 2.1)	99.0
6'	7.62 (1H, д 8.6)	56.6
1	-	142.1
2	7.20 (5H, м)	128.9
3	7.20 (5H, м)	128.9
4	7.20 (5H, м)	126.2
5	7.20 (5H, м)	128.9
6	7.20 (5H, м)	128.9
β	2.85 (2H, т 7.6)	30.5
α	3.17 (2H, т 7.6)	45.2
C=O	-	198.8
2'-OMe	3.86 (3H, с)	56.6
4'-OMe	3.82 (3H, с)	56.2



EN54

Таким образом, **EN54** идентифицировано как **2',4'-диметоксидигидрохалкон** (новое природное соединение). Масса выделенного вещества составила 4,0 мг.

EN55 представляет собой желтое кристаллическое вещество, имеющее два максимума поглощения в УФ-спектре (λ_{\max}) при длинах волн- 275 и 296 нм. Спектр HR-ESIMS имеет пик псевдомолекулярного иона $[M+H]^+$ при m/z 287.1283 (расч. 287.1283), что соответствует молекулярной формуле $C_{17}H_{18}O_4$.

При анализе ЯМР-спектров **EN55** (Таблица 19) было обнаружено сходство между 1H -ЯМР спектрами соединения **EN20**, благодаря наличию в спектре сигналов двух ароматических колец – кольцо В содержит три протона при δ_H 6.79 (1H, уш. д. 7.7) H-8, 7.06 (1H, дд 8.6, 7.7) 7-H и 6.83 (1H, дд 8.6, 0.8) 6-H, в то время как кольцо А содержит только один синглет ароматического протона в положении 1 при δ_H 6.89 (1H, с). Наряду с остальными присутствовали сигналы протонов фенольных OH-групп при δ_H 8.88 (1H, с), трех OCH_3 -групп при δ_H 3.83 (3H, с), 3.67 (3H, с), δ_H 3.76 (3H, с) и двух алифатических метиленовых групп в положениях 9 и 10 при δ_H 2.58 (4H, м).

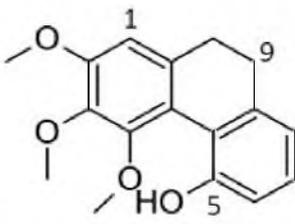
Различия в ЯМР-спектрах **EN55** и **EN20** обеспечено разным расположением гидроксильных групп. NOESY корреляции между ароматическим протоном в положении 6 при δ_H 6.83 (1H, dd 8.6, 0.8) и протоном фенольной OH-группы в положении 5 при δ_H 8.88 (1H, s), наряду с HMBC корреляцией от протона фенольной OH-группы в положении 5 к атомам углерода в положениях 6 (δ_C 117.0) и 5 (δ_C 153.8).

Таблица 19 – Данные 1H и ^{13}C ЯМР-спектров соединения **EN55**.

Положение	Соединение EN55	
	δ_H , (J в Гц)	δ_C
1	6.89 (1H, с)	108.8
2	-	152.4
3	-	149.8
4	-	140.7
4a	-	120.5
4b	-	118.9
5	-	153.8

Продолжение Таблицы 19

Положение	Соединение EN55	
	δ_{H} , (J в Гц)	δ_{C}
6	6.83 (1H, дд 8.6, 0.8)	117.0
7	7.06 (1H, дд 8.6, 7.7)	128.1
8	6.79 (1H, шд 7.7)	120.3
8a		140.9
9	2.58 (4H, м)	30.8
10	2.58 (4H, м)	30.8
10a	-	136.5
2-OMe	3.83 (3H, с)	56.3
3-OMe	3.67 (3H, с)	61.0
4-OMe	3.76 (3H, с)	62.2
5-OH	8.88 (1H, с)	-



EN55

Таким образом, **EN55** идентифицировано как **5-гидрокси-2,3,4-триметокси-9,10-дигидрофенантрен**. Масса выделенного вещества составила 10,0 мг.

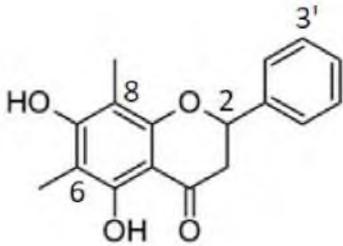
EN56 представляет собой бледно-желтое кристаллическое вещество, имеющее два максимума поглощения в УФ-спектре (λ_{max}) при длинах волн 296 и 347 нм. Спектр HR-ESIMS имеет пик псевдомолекулярного иона $[M+H]^+$ при m/z 285.1124 (расч. 285.1127), что соответствует молекулярной формуле $C_{17}H_{16}O_4$.

При анализе ЯМР-спектров **EN56** (Таблица 20) были обнаружены сигналы, указывающее на то, что вещество представляет собой производное флаванона. В ^1H ЯМР-спектре присутствовали сигналы пяти ароматических протонов при δ_{H} 7.51 (2H, м), 7.42 (2H, м) и 7.36 (1H, м), которые указывали на наличие

незамещенного бензольного кольца В, два фенольных ОН-группы при δ_{H} 12.33 (1H, с) и 9.88 (1H, с), две метильные группы при δ_{H} 1.97 (3H, с) и 1.96 (3H, с). Расположение функциональных групп (-ОН и -ОСН₃) установлено с помощью NOESY и HMBC корреляций.

Таблица 20 – Данные ¹H ЯМР-спектров соединения **EN56**

Положение	Соединение EN56
	δ_{H} , (J в Гц)
2	5.55 (1H, дд, 12.3, 3.2)
3a	3.16 (1H, дд, 17.1, 12.3)
3b	2.83 (1H, дд, 17.1, 3.2)
2',6'	7.51 (2H, м)
3',5'	7.42 (2H, м)
4'	7.42 (1H, м)
6-OMe	1.97 (3H, с)
8-OMe	1.96 (3H, с)
5-OH	12.33 (1H, с)
7-OH	9.88 (1H, с)



EN56

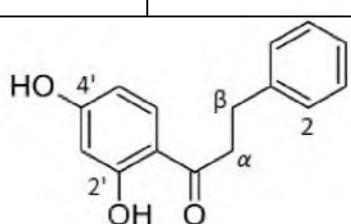
Таким образом, **EN56** идентифицировано как **5,7-дигидрокси-6,8-диметилфлаванон**. Масса выделенного вещества составила 6,0 мг.

EN59 представляет собой белое кристаллическое вещество, имеющее два максимума поглощения в УФ-спектре (λ_{max}) при длинах волн 276 и 313 нм. Спектр HR-ESIMS имеет пик псевдомолекулярного иона $[\text{M}+\text{H}]^+$ при m/z 243. 1021 (расч. 243. 1021), что соответствует молекулярной формуле C₁₅H₁₄O₃.

При анализе ЯМР-спектров **EN59** (Таблица 21) были обнаружены сигналы двенадцати протонов – восемь представляли собой ароматические протоны при δ_{H} 6.37 (1H, д, 2.3 Гц) 3'-H, 6.42 (1H, дд, 7.7, 2.3) 5'-H, 7.77 (1H, д, 7.7 Гц) 6'-H, 7.24 (4H, м) 2,3,5,6-H и 7.16 (1H, м) 4-H. Последние четыре протона представлены алифатическими метиленовыми группами в α и β положениях при δ_{H} 2.91 (2H, т, 7.7) и 3.26 (2H, т, 7.7), соответственно.

Таблица 21 – Данные ^1H и ^{13}C ЯМР-спектров соединений **EN59**

Положение	δ_{H} , (<i>J</i> в Гц)
1'	-
2'	-
3'	6.37 (1H, д 2.3)
4'	
5'	6.42 (1H, дд 7.7, 2.3)
6'	7.77 (1H, д 7.7)
1	-
2	7.24 (4H, м)
3	
4	7.16 (1H, м)
5	7.24 (4H, м)
6	
β	2.91 (2H, т 7.7)
α	3.26 (2H, т 7.7)
C=O	-
4'-OH	-
2'-OH	-



EN59

Таким образом, **EN59** идентифицировано как **2',4'-дигидроксидигидрохалкон (эмпетрон)**. Масса выделенного вещества составила 30,0 мг.

Структурные формулы соединений, выделенных из н-гексановой фракции экстракта *Empetrum nigrum*, представлены на Рисунке 8.

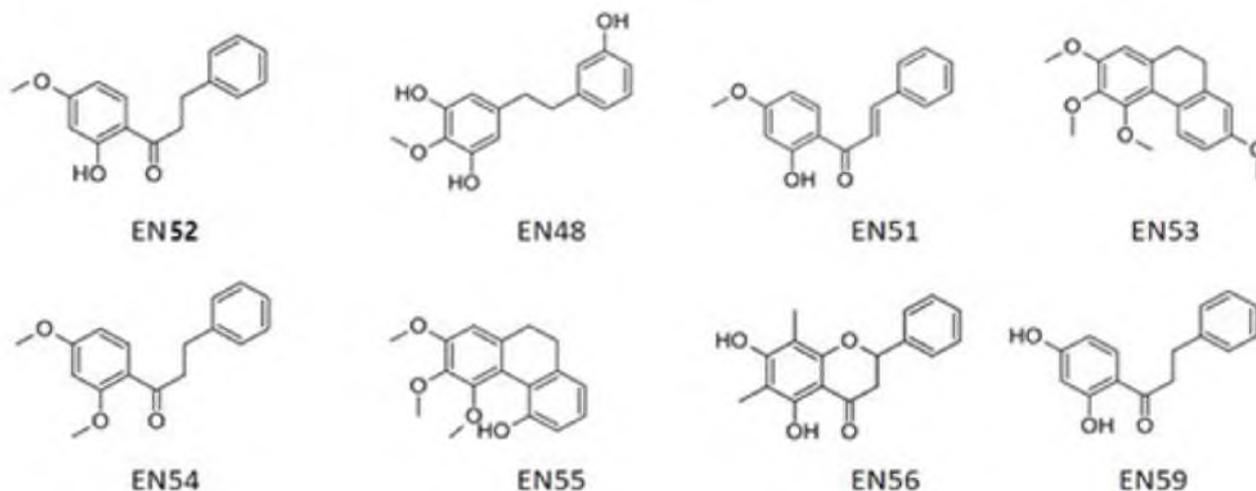


Рисунок 8 – Структурные формулы соединений, выделенных из н-гексановой фракции *Empetrum nigrum*

3.2.3 Индивидуальные соединения н-бутанольной фракции

Бутанольную фракцию, полученную в результате жидкость-жидкостной экстракции этанольного экстракта побегов *Empetrum nigrum*, загружали на обращенно-фазовый сорбент Diaion HP 20, марки «Sigma-Aldrich». Изначальный элюент – вода очищенная. Проводили градиентное элюирование до 96 %-го этилового спирта с постепенным повышением концентрации этилового спирта с шагом 10 %. Собранные фракции анализировались методом ВЭТСХ с целью выявления фракций со схожими компонентами. Фракции с пятнами, имеющими одинаковые факторами удерживания (R_f) и окраску, – объединяли. Объединенные фракции выпаривали на вакуумно-ротационном испарителе при

60 °С до объема 10 мл. Фракции, полученные с колонки с HP-20 при концентрации спирта 70 %, объединяли, упаривали в вакуумно-ротационном испарителе при 60 °С до объема 10 мл и загружали на колонку с сорбентом Sephadex LH-20, марки «Cytiva Sweden AB». Проводилось изократическое элюирование 96 %-м этиловым спиртом. Собранные фракции анализировали методом ВЭТСХ с целью выявления фракций со схожими компонентами. Фракции, в которых обнаруживали пятна с одинаковыми факторами удерживания (R_f) и окраской, объединяли. Объединенные фракции выпаривали на вакуумно-ротационном испарителе при 60 °С до объема 10 мл. Выпавший осадок отделяли центрифугированием.

Водный остаток, оставшийся после экстракции органическими растворителями, подвергали хроматографическому разделению на препаративном высокоэффективном жидкостном хроматографе, в результате чего было выделено три соединения: соединение EN39 ($m = 4,36$ мг, $t R = 21,784$ мин); соединение EN37 ($m = 8,12$ мг, $t R = 18,893$ мин); соединение EN35 ($m = 7,54$ мг, $t R = 20,759$ мин) [6]. Ниже приведены физико-химические параметры выделенных индивидуальных соединений, включая характеристики ЯМР- и масс-спектров [28].

EN35, EN37 и EN39 представляют собой белые кристаллические вещества. УФ-спектр всех соединений имеет один максимум поглощения при длине волны 278 нм. Во всех спектрах HR-ESI-MS отображается пик молекулярных ионов $[M+H]^+$ при m/z 577,1341 (расч. 577,1346), что соответствует молекулярной формуле $C_{30}H_{25}O_{12}$, то есть соединения EN35, EN37 и EN39 являются изомерами.

При анализе ЯМР-спектров EN39 обнаружены три ароматические спиновые системы типа AM (кольцо A), образованная ароматическими протонами при δ_H 6.05 (д, 2.0 Гц) H-6 и 5.97 (д, 2.0 Гц) H-8, типа ABX (кольцо B), образованная ароматическими протонами при δ_H 7.04 (д, 1.9 Гц) 10-H, 6.78 (д, 8.1 Гц) 13-H и 6.84 (дд 8.1, 1.9 Гц) 14-H и типа A'B'X' (кольцо E), образованная ароматическими протонами при δ_H 6.82 (д, 1.7 Гц) 10'-H, 6.69 (д, 8.1 Гц) 13'-H и 6.59 (дд, 8.1, 1.7 Гц) 14'-H. Синглет ароматического протона кольца D в

положении 8' обнаруживался при δ_{H} 6.09. Также присутствуют две алифатические спиновые системы – первая расположена в кольце С, образованная протонами при δ_{H} 3.85 (т, 4.2, 3.1 Гц) Н-3, 4.08 (д, 3.1 Гц) Н-4 и протоном гидроксильной группы при δ_{H} 5.53 (д, 4.2 Гц) 3'-ОН. Вторая алифатическая спиновая система наблюдалась в кольце F и образованна протонами при δ_{H} 4.70 (1H, уш. с.) 2'-H, 3.96 (1H, м) 3'-H, 2.81 (1H, дд, 17.1, 3.2 Гц) 4' α -H, 2.45 (1H, м) 4' β -H и протона фенольной ОН-группы 3'-ОН при δ_{H} 4.70 (д, 5.0 Гц) 3'-ОН. Полученные спектральные данные указывают на то, что **EN39** является димерным соединением, состоящим из двух остатков эпикатехина.

При анализе ^1H ЯМР-спектра **EN39** обнаружены синглеты протонов семи фенольных ОН-групп при δ_{H} 9.39 (1H, с) 5-ОН, 9.51 (1H, с) 7-ОН, 9.08 (1H, с) 11-ОН, 9.21 (1H, с) 12-ОН, 9.77 (1H, с) 7'-ОН, 8.90 (1H, с) 11'-ОН, 8.98 (1H, с) 12'-ОН, которые были соотнесены через соответствующие NOESY-корреляции. Сигналы протонов двух фенольных ОН-групп в положениях 5 и 7' были в одинаковой степени уширены в сравнении с остальными, что указывает на наличие процесса обмена протонами между ними.

NOESY корреляции протонов α и β протонов в положении 4' кольца F с ароматическими протонами в положениях 10 и 14 кольца В наряду с NOESY корреляциями ароматического протона в положении 8' с протонами фенольных ОН-групп в положениях 5, 7' доказывает присутствие системы 2 β →О→5, 4 β →6 связей между остатками эпикатехина (рис. 24). Факт уширения пика протона фенольной ОН-группы в положениях 5 и 7 дополнительно подтверждает предложенную структуру.

Таким образом, **EN39** идентифицировано как димерный процианидин – эпикатехин-(2 β →О→5, 4 β →6)-эпикатехин. Масса выделенного вещества составила 1,6 мг.

При анализе ЯМР-спектров **EN37** обнаружены три ароматические спиновые системы типа АМ (кольцо А), образованная ароматическими протонами при δ_{H} 6.03 (1H, д, 2.0 Гц) 6-Н и 5.92 (1H, д, 2.0 Гц) 8-Н, типа АВХ (кольцо В), образованная ароматическими протонами при δ_{H} 6.96 (1H, уш. с.) 10-

H, 6.78 (1H, м) 13-H и 6.78 (1H, м) 14-H и типа A'B'X' (кольцо E), образованная ароматическими протонами при δ_{H} 7.18 (1H, д, 1.2 Гц) 10'-H, 6.73 (1H, д, 8.5 Гц) 13'-H и 6.81 (1H, дд, 8.5, 1.2 Гц) 14'-H. Синглет ароматического протона кольца D в положении б' обнаруживался при δ_{H} 6.12. Также присутствуют две алифатические спиновые системы – первая расположена в кольце C, образованная протонами при δ_{H} 3.77 (1H, т, 4.0, 2.8 Гц) H-3, 4.26 (1H, д, 2.8 Гц) H-4 и протоном гидроксильной группы при δ_{H} 5.22 (1H, д, 4.0 Гц) 3-OH. Вторая алифатическая спиновая система наблюдалась в кольце F и образованна протонами при δ_{H} 4.74 (1H, уш. с.) 2'-H, 3.78 (1H, дд, 4.1, 4.0) 3'-H, 2.70 (1H, дд, 17.3, 4.0 Гц) 4' α -H, 2.53(1H, м) 4' β -H и протоном OH-группы при δ_{H} 4.65 (1H, д, 4.1 Гц) 3'-OH). Полученные спектральные данные указывают на то, что соединение **EN37** (по аналогии с соединением **EN39**) является димерным соединением, состоящим из двух остатков эпикатехина.

При анализе ^1H ЯМР-спектра **EN37** обнаружены синглеты протонов семи фенольных OH-групп при δ_{H} 8.59 (1H, с) 5-OH, 9.36 (1H, с) 7-OH, 9.04 (1H, с) 11-OH, 9.15 (1H, с) 12-OH, 9.66 (1H, с) 5'-OH, 9.01 (1H, с) 11'-OH, 8.86 (1H, с) 12'-OH, которые были соотнесены через соответствующие NOESY-корреляции.

HMBC корреляции от α протонов в положении 4 к атомам углерода в положениях 7' (δ_{C} 150.6), 8' (δ_{C} 106.0) и 8a' (δ_{C} 151.5) доказывает присутствие системы (2 β →O→7,4 β →8) связей между остатками эпикатехина.

Таким образом, **EN37** идентифицировано как **эпикатехин-(2 β →O→7,4 β →8) -эпикатехин (процианидин A2)**. Масса выделенного вещества составила 24,7 мг.

При анализе ЯМР-спектров **EN35** (таблица 23) обнаружено практически полное совпадение с ЯМР спектрами соединения **EN37**. Основные отличия наблюдались у протонов кольца F при δ_{H} 4.42 (1H, д, 8.3 Гц) 2'-H, 3.67 (1H, м) 3'-H, 2.72 (1H, дд, 16.2, 6,0 Гц) 4' α -H и 2.37 (1H, дд, 16.2, 8.7 Гц) 4' β -H.

Таким образом, **EN35** идентифицировано как **эпикатехин-(2 β →O→7,4 β →8)-катехин (процианидин A1)**. Масса выделенного вещества составила 3,6 мг.

Таблица 23 – Данные ^1H и ^{13}C ЯМР-спектров соединений **EN35**, **EN37** и **EN39**

Положение	Соединение EN39	Соединение EN37		Соединение
	δ_{H} (J в Гц)	δ_{H} (J в Гц)	$\delta_{\text{H C}}$	δ_{H} (J в Гц)
2	-	-	98.7	-
3	3.85 (1H, т, 4.2, 3.1)	3.77 (1H, дд, 2.8, 4.0)	66.6	3.75 (1H, т, 4.1, 3.0)
4	4.08 (1H, д, 3.1)	4.26 (1H, д, 2.8)	27.9	4.17 (1H, д, 3.0)
4a	-	-	102.7	-
5	-	-	156.6	-
6	6.05 (1H, д, 2.0)	6.03 (1H, д, 2.0)	96.9	6.03 (1H, д, 2.1)
7			156.9	
8	5.97 (1H, д, 2.0)	5.92 (1H, д, 2.0)	94.8	5.90 (1H, д, 2.1)
8a	-	-	152.9	-
9	-	-	131.6	-
10	7.04 (1H, д, 1.9)	6.96 (1H, уш. с.)	115.4	7.06 (1H, д, 1.4)
11	-	-	145.5	-
12	-	-	145.6	-
13	6.78 (1H, д, 8.1)	6.78 (1H, м)	115.4	6.71 (1H, д, 8.2)
14	6.84 (1H, дд, 8.1, 1.9)	6.78 (1H, м)	118.2	6.66 (1H, дд, 8.2,
3-OH	5.53 (1H, д, 4.2)	5.22 (1H, д, 4.0)	-	5.21 (1H, д, 4.1)
5-OH	9.39 (1H, с)	8.59 (1H, с)	-	8.72 (1H, с)
7-OH	9.51 (1H, с)	9.36 (1H, с)	-	9.35 (1H, с)
11-OH	9.08 (1H, с)	9.04 (1H, с)	-	9.02 (1H, с)
12-OH	9.21 (1H, с)	9.15 (1H, с)	-	9.17 (1H, с)
2'	4.70 (1H, уш. с.)	4.74 (1H, уш. с.)	79.8	4.43 (1H, д, 8.3)
3'	3.96 (1H, м)	3.78 (1H, дд, 4.0, 4.1)	65.2	3.67 (1H, м)
4' α	2.81 (1H, дд,	2.70 (1H, дд, 17.3,		2.72 (1H, дд,
4' β	2.45 (1H, м)	2.53 (1H, м)		2.37 (1H, дд,
4'a	-	-	101.3	-
5'	-	-	155.5	-
6'	-	6.12 (1H, с)	95.0	6.12 (1H, с)
7'	-	-	150.6	-

Окончание Таблицы 23

Положение	Соединение EN39	Соединение EN37		Соединение
	δ_{H} (J в Гц)	δ_{H} (J в Гц)	δ_{H} C	δ_{H} (J в Гц)
8'	6.09 (1H, s)	-	106.0	-
8'a	-	-	151.5	-
9'	-	-	130.6	-
10'	6.82 (1H, д, 1.7)	7.18 (1H, д, 1.2)	115.9	6.94 (1H, м)
11'	-	-	144.9	-
12'	-	-	144.9	-
13'	6.69 (1H, д, 8.1)	6.73 (1H, д, 8.5)	115.4	6.76 (1H, м)
14'	6.59 (1H, дд, 8.1, 1.7)	6.81 (1H, дд, 8.5, 1.2)	118.7	6.76 (1H, м)
3'-ОН	4.70 (1H, д, 5.0)	4.65 (1H, д, 4.1)	-	5.03 (1H, д, 6.0)
5'-ОН	-	9.66 (1H, с)	-	9.76 (1H, с)
7'-ОН	9.77 (1H, с)	-	-	-
11'-ОН	8.90 (1H, с)	9.01 (1H, с)	-	9.16 (1H, с)
12'-ОН	8.98 (1H, с)	8.86 (1H, с)	-	8.85 (1H, с)

Структурные формулы соединений, выделенных из н-бутанольной фракции, представлены на Рисунке 9.

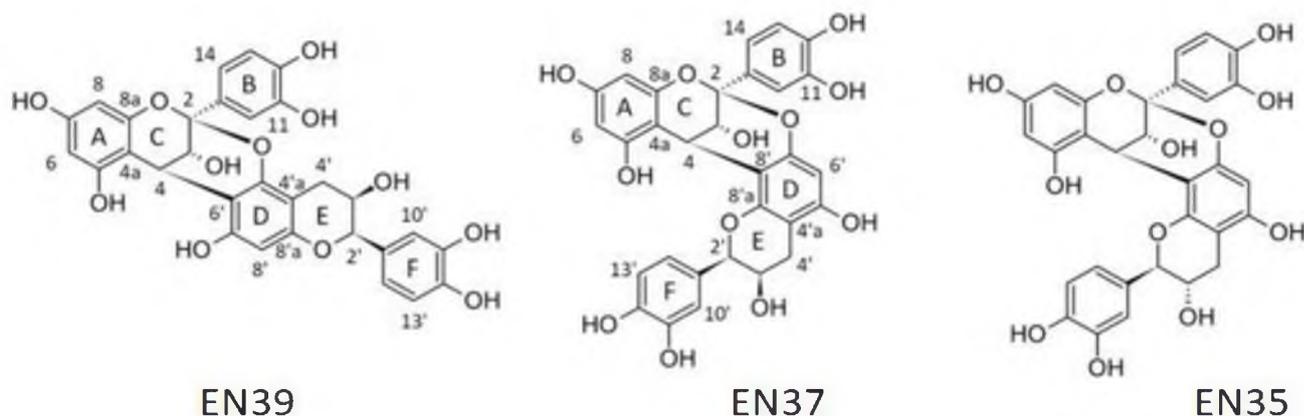


Рисунок 9 – Структурные формулы соединений, выделенных из н-бутанольной фракции *Empetrum nigrum*

3.3 Индивидуальные соединения *Rubus chamaemorus* L.

920 г высушенных измельченных листьев *Rubus chamaemorus* многократно экстрагировали 5 л 96 %-го этанола (соотношение сырье-экстрагент – 1 : 5) при комнатной температуре до тех пор, пока сухой остаток после высушивания аликвоты экстракта (5 мл) составлял не более 1 мг. Хроматограмма суммарного экстракта представлена на Рисунке 10. Полученные этанольные извлечения объединяли и упаривали в вакуумно-ротационном испарителе до минимального объема при температуре 40 °С, после чего к экстракту добавляли 100 мл воды. Далее проводили трехкратную жидкостно-жидкостную экстракцию н-гексаном. После экстракции н-гексаном к спиртово-водному остатку дополнительно прибавляли 500 мл воды и проводили трехкратную жидкостно-жидкостную экстракцию дихлорметаном.

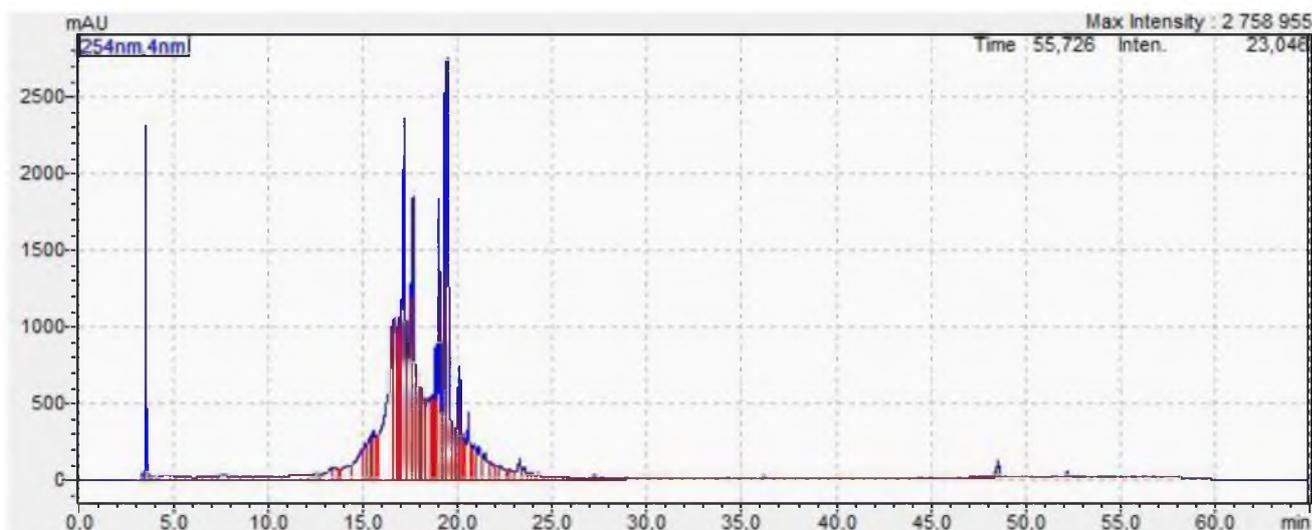


Рисунок 10 – ВЭЖХ хроматограмма суммарного экстракта *Rubus chamaemorus*

После экстракции н-гексаном к спиртово-водному остатку дополнительно прибавляли 500 мл воды и проводили многократную жидкостно-жидкостную экстракцию дихлорметаном. Оставшийся водный остаток после экстракции органическими растворителями упаривали на вакуумно-ротационном испарителе при 45 °С до объема 100 мл и переносили в колонку, заполненную сорбентом Dianion HP-20, а затем элюировали вещества последовательно водой и ацетоном.

Элюаты собирали из колонки в пробирки, которые затем объединяли по результатам их ТСХ-анализа в системе бутанол-уксусная кислота-вода (БУВ) 4 : 1 : 2 и сгущали. Из двух фракций, полученных при элюировании колонки 100 % водой после сгущения до минимального объема, выпали два кристаллических осадка – соединения под шифрами **RC4** и **RC5**. Полученные осадки отфильтровывали, подвергали препаративной ВЭЖХ, перекристаллизовывали из метанола и анализировали с помощью аналитической ВЭЖХ.

При элюировании колонки HP-20 100% ацетоном была получена ацетоновая подфракция, которую сгущали до 100 мл, наносили на колонку с Sephadex LH-20 и элюировали изократически, используя ацетон в качестве подвижной фазы. Полученные подфракции анализировали методом ВЭЖХ и объединяли в результате их ТСХ-анализа в системе БУВ 4:1:2. Очищенные подфракции, содержащие соединения под шифрами **RC7**, **RC6** и **RC14** объединяли, выпаривали и перерастворяли в этаноле для дальнейшего выделения в индивидуальном виде методом препаративной ВЭЖХ.

Структура выделенных соединений была установлена методами УФ-спектроскопии, масс-спектрометрии высокого разрешения с ионизацией распылением в электрическом поле (HRESIMS) наряду с одномерными и двумерными ЯМР-экспериментами [42]. Ниже приведены физико-химические параметры выделенных индивидуальных соединений, включая характеристики ЯМР- и масс-спектров [40].

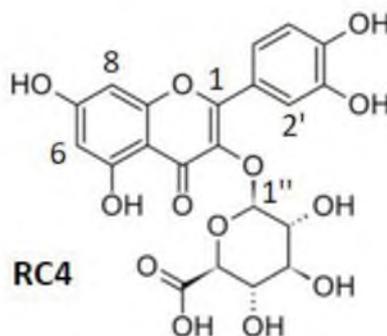
RC4 представляет собой желтое кристаллическое вещество, с двумя максимумами поглощения в УФ-спектре (λ_{\max}) при длинах волн 255 и 352 нм. Спектр HR-ESI-MS имеет пик молекулярного иона $[M+H]^+$ при m/z 479,0826 (расч. 479,0826), что соответствует формуле $C_{21}H_{18}O_{13}$.

При анализе ЯМР-спектров **RC4** (Таблица 24) были обнаружены сигналы протонов, соответствующие остатку кверцетина и уроновой кислоты. В 1H -ЯМР-спектре обнаружены сигналы четырнадцати протонов – пять представлены ароматическими протонами при δ_H 6.21 (1H, д 1.7 Гц) 6-Н, 6.41 (1H, д 1.7 Гц) 8-

H, 7.76 (1H, уш. с) 2'-H, 6.84 (1H, д 8.4 Гц) 5'-H, 7.54 (1H, уш. д 8.4 Гц] 6'-H), четыре соответствовали фенольным ОН-группам при δ_{H} 12.49, (1H, с) 5-ОН, 10.93, (1H, с) 7-ОН, 9.43, (1H, с) 3'-ОН, 9.71, (1H, с) 4'-ОН, остальные пять были представлены алифатическими протонам углеводного остатка при δ_{H} 5.43 (1H, д 7.2 Гц) 1''-H, 3.34 (1H, м) 2''-H, 3.27 (1H, м) 3''-H, 3.31 (1H, м) 4''-H, 3.52, (1H, д 9.7 Гц) 5''-H, образующие единую спиновую систему.

Таблица 24 – Данные ЯМР спектроскопии вещества RC4

Положение	Химический сдвиг, δ_{H}
6	6.21, [1H, д, 1.7 Гц]
8	6.41, [1H, д, 1.7 Гц]
2'	7.76, [1H, уш. с]
5'	6.84, [1H, д, 8.4 Гц]
6'	7.54, [1H, уш. д 8.4 Гц]
1''	5.43, [1H, д, 7.2 Гц]
2''	3.34, [1H, м]
3''	3.27, [1H, м]
4''	3.31, [1H, м]
5''	3.52, [1H, д, 9.7 Гц]
5-ОН	12.49, [1H, с]
7-ОН	10.93, [1H, с]
3'-ОН	9.43, [1H, с]
4'-ОН	9.71, [1H, с]



При анализе ^1H ЯМР-спектров **RC4** обнаружены две характерные для кверцетина спиновые системы – первая типа AX характерный для протонов в положениях 6 и 8 кольца А и вторая типа AMX для протонов в положениях 2', 5' и 6' кольца В. Также отмечены HMBC-корреляции от аномерным протоном в положении 1'' к атому углерода в положении 3 (δC 133.7) кольца С. Стереохимия углеводного остатка была установлена по значениям констант спин-спинового взаимодействия (KCCB) углеводных протонов между собой и в сравнении со спектральными литературными данными.

Таким образом, **RC4** идентифицировано как **кверцетин-3-О- β -D-глюкуронид (миквелианин)**. Масса выделенного вещества составила 2,3 мг.

RC5 представляет собой желтое кристаллическое вещество с двумя максимумами поглощения в УФ-спектре (λ_{max}) при 265 и 344 нм. Спектр HR-ESI-MS показывает пик молекулярного иона $[\text{M}+\text{H}]^+$ при m/z 630,0856 (расч. 630,0857), что соответствует формуле $\text{C}_{28}\text{H}_{22}\text{O}_{17}$.

При анализе ЯМР-спектров **RC5** (Таблица 25) присутствовали сигналы протонов, соответствующие остатку кверцетина, уроновой и галловой кислоты. В ^1H -ЯМР-спектре обнаружены сигналы 19 протонов – семь представлены ароматическими протонами при δ_{H} 6.18 (1H, д 2.0 Гц) 6-Н, 6.37 (1H, д 2.0 Гц) 8-Н, 7.59 (1H, уш. с) 2'-Н, 6.83 (1H, д 8.6 Гц) 5'-Н, 7.58 (1H, уш. д, 8.6 Гц) 6'-Н, 2'',6''-Н (δH 7.05, [2H, с]), семь соответствовали фенольным ОН-группам при δ_{H} 12.52 (1H, с) 5-ОН, 10.88 (1H, с) 7-ОН, 9.29 (1H, с) 3'-ОН, 9.76 (1H, с) 4'-ОН, 9.76 (2H, с) 3''',5''' -ОН, 8.80 (1H, с) 4'''-ОН, остальные пять были представлены алифатическими протонам углеводного остатка при δ_{H} 5.78 (1H, д 8.1 Гц) 1''-Н, 5.01 (1H, дд 9.7, 8.1 Гц) 2''-Н, 3.57 (1H, м) 3''-Н, 3.60 (1H, т 9.6, 9.2 Гц) 4''-Н, 3.70 (1H, д 9.6 Гц) 5''-Н, образующие единую спиновую систему.

При анализе ^1H ЯМР-спектров **RC5** обнаружены две характерные для кверцетина спиновые системы – обнаружены две характерные для кверцетина спиновые системы – первая типа AX характерный для протонов в положениях 6 и 8 кольца А и вторая типа AMX для протонов в положениях 2', 5' и 6' кольца В.

Таблица 25 – Данные ЯМР спектроскопии вещества RC5

Положение	Химический сдвиг, δ Н
6	6.18, [1H, д, 2.0 Гц]
8	6.37, [1H, д, 2.0 Гц]
2'	7.59, [1H, уш. с]
5'	6.83, [1H, д, 8.6 Гц]
6'	7.58, [1H, уш. д, 8.6 Гц]
1''	5.78, [1H, д, 8.1 Гц]
2''	5.01, [1H, дд, 9.7, 8.1 Гц]
3''	3.57, [1H, м]
4''	3.60, [1H, т, 9.6, 9.2 Гц]
5''	3.70, [1H, д, 9.6 Гц]
2''',6'''	7.05, [2H, с]
5-ОН	12.52, [1H, с]
7-ОН	10.88, [1H, с]
3'-ОН	9.29, [1H, с]
4'-ОН	9.76, [1H, с]
3''',5'''-ОН	9.76, [2H, с]
4'''-ОН	8.80, [1H, с]

Также отмечены НМВС-корреляции от аномерного протона в положении 1'' к атому углерода в положении 3 (δ С 133.1) и от протона углеводного кольца в положении 2'' к 7'''-СО атому углерода сложноэфирной группы остатка галловой кислоты. Стереохимия углеводного остатка была установлена по значениям

КССВ углеводных протонов между собой и в сравнении со спектральными литературными данными.

Таким образом, **RC5** идентифицировано как **кверцетин-3-О-β-D-2''-галлоилглюкуронид**. Масса выделенного вещества составила 11,0 мг.

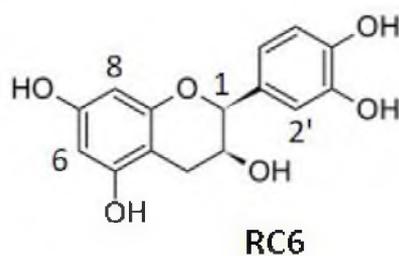
RC6 представляет собой жёлтое кристаллическое вещество, имеющее максимум поглощения в УФ-спектре (λ_{\max}) при 275 нм. Спектр HR-ESI-MS имел пик молекулярного иона $[M+H]^+$ при m/z 291.0868 (расч. 291.0869), что соответствует формуле $C_{15}H_{14}O_6$.

При анализе ЯМР-спектров **RC6** (Таблица 26) присутствовали сигналы тринадцати протонов – пять представлены ароматическими протонами при δ_H 5.75 (1H, д 2.2 Гц) 6-Н, 6.02 (1H, д 2.2 Гц) 8-Н, 6.83 (1H, д 1.8 Гц) 2'-Н, 6.68 (1H, д 8.2 Гц) 5'-Н, 6.60 (1H, дд, 8.2, 1.8 Гц) 6'-Н, четыре соответствовали фенольным ОН-группам при δ_H 9.40 (1H, с) 5-ОН, 9.18 (1H, с) 7-ОН, 8.99 (1H, с) 3'-ОН, 8.11 (1H, с) 4'-ОН, четыре – алифатическим протонам кольца С при δ_H 4.78 (1H, д, 4.5 Гц) 2-Н, 3.96 (1H, м) 3-Н, 2.60 (1H, дд, 16.5, 4.3 Гц) 4a-Н, 2.40 (1H, дд, 16.5, 3.6 Гц) 4b-Н, образующие единую спиновую систему.

Таблица 26 – Данные ЯМР спектроскопии вещества RC6

Положение	Химический сдвиг, δ_H
6	6.27, [1H, д, 1.9 Гц]
8	6.51, [1H, д, 1.9 Гц]
2',6'	8.03, [2H, д, 8.8 Гц]
3',5'	6.91, [2H, д, 8.8 Гц]
1''	5.47, [1H, д, 7.5 Гц]
2''-4''	5.01, [3H, м]
5''	3.56, [1H, д, 9.5 Гц]
5-ОН	12.49, [1H, с]
7-ОН	11.16, [1H, с]
4'-ОН	10.39, [1H, с]

Продолжение Таблицы 26



Таким образом, **RC6** идентифицировано как **(+)-эпикатехин**, что подтвердилось при последующем сравнении с литературными данными известных спектров. Масса выделенного вещества составила 3,6 мг.

RC7 представляет собой жёлтое кристаллическое соединение, имеющее два максимума УФ-поглощения (λ_{\max}) при длинах волн 266 и 346 нм. Спектр HR-ESI-MS имеет пик молекулярного иона $[M+H]^+$ при m/z 463,0876 (расч. 463,0877), что соответствует формуле $C_{21}H_{18}O_{12}$.

При анализе ЯМР-спектров **RC7** (Таблица 27). присутствовали сигналы протонов, соответствующие остатку кемпферола и уроновой кислоты. В 1H -ЯМР-спектре обнаружены сигналы 14 протонов – шесть представлены ароматическими протонами при δ_H 6.27 (1H, д, 1.9 Гц) 6-Н, 6.51 (1H, д, 1.9 Гц) 8-Н, 8.03 (2H, д, 8.8 Гц) 2',6'-Н, 6.91 (2H, д, 8.8 Гц) 3',5'-Н, три соответствовали фенольным ОН-группам при δ_H 12.49 (1H, с) 5-ОН, 11.16 (1H, с) 7-ОН, 10.39 (1H, с) 4'-ОН и еще пять были представлены алифатическими протонам углеводного остатка при δ_H 5.47 (1H, д, 7.5 Гц) 1''-Н, 5.01 (3H, м) 2''-4''-Н, 3.56 (1H, д, 9.5 Гц) 5''-Н, образующие единую спиновую систему.

Таблица 27 – Данные ЯМР спектроскопии вещества RC7

Положение	Химический сдвиг, δ_H
2	4.78 (1H, д, 4.5 Гц)
3	3.96 (1H, м)
4a	2.60 (1H, дд, 16.5, 4.3 Гц)
4b	2.40 (1H, дд, 16.5, 3.6 Гц)

Продолжение Таблицы 27

Положение	Химический сдвиг, δH
6	5.75, [1H, д, 2.2 Гц]
8	6.02, [1H, д, 2.2 Гц]
2'	6.83, [1H, д, 1.8 Гц]
5'	6.68, [1H, д, 8.2 Гц]
6'	6.60, [1H, дд, 8.2, 1.8 Гц]
5-OH	9.40, [1H, с]
7-OH	9.18, [1H, с]
3'-OH	8.99, [1H, с]
4'-OH	8.11, [1H, с]

RC7

Таким образом, **RC7** идентифицировано как **кемпферол-3-O-β-D-глюкуронид**, что также подтвердилось при последующем сравнении с литературными данными известных спектров. Масса выделенного вещества составила 8,0 мг.

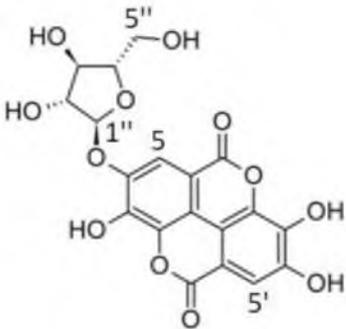
RC14 представляет собой желтое кристаллическое вещество с максимумами поглощения в УФ-спектре (λ_{max}) при длинах волн 252 и 361 нм. Спектр HR-ESI-MS содержал пик молекулярного иона $[\text{M}+\text{H}]^+$ при m/z 435.0563 (расч. 435.0564), что соответствует формуле $\text{C}_{19}\text{H}_{14}\text{O}_{12}$.

При анализе ЯМР-спектров **RC14** (Таблица 28) обнаружены сигналы указывающие на присутствие в структуре остатка эллаговой кислоты и пентозы. В ^1H ЯМР-спектре присутствовали сигналы восьми протонов, два из которых при δ_{H} 7.72 (1H, с) 5-Н и 7.58 (1H, с) 5'-Н представлены ароматическими протонами,

в то время как остальные шесть сигналов были представлены алифатическими протонам углеводного остатка при δ_{H} 5.62, (1H, д 1.0 Гц) 1''-H, 4.35 (1H, дд, 4.1, 1.0 Гц) 2''-H, 3.86 (1H, дд, 6.5, 4.1 Гц) 3''-H, 4.35 (1H, м) 4''-H, 3.60 (1H, дд, 11.7, 2.7 Гц] 5a''-H и 3.48 (1H, дд, 11.7, 5.5 Гц] 5b''-H.

Таблица 28 – Данные ЯМР спектроскопии вещества RC14

Положение	Химический сдвиг, δ_{H}
5	7.72, [1H, с]
5'	7.58, [1H, с]
1''	5.62, [1H, д 1.0 Гц]
2''	4.35, [1H, дд, 4.1, 1.0 Гц]
3''	3.86, [1H, дд, 6.5, 4.1 Гц]
4''	4.35, [1H, м]
5a''	3.60, [1H, дд, 11.7, 2.7 Гц]
5b''	3.48, [1H, дд, 11.7, 5.5 Гц]



RC14

КССВ между протонами углеводного кольца и их химические сдвиги являлись характерными для остатка арабинофуранозы. Для подтверждения этого проводилось сравнение данных ЯМР-спектров с литературными данными. Расположение остатка пентозы в положении 4 эллаговой кислоты установлена с помощью NOESY и HMBC корреляций. NOESY корреляции между аномерным протоном α -L-арабинофуранозы в положении 1'' и 5-H ароматическим протонам эллаговой кислоты в положении 5, наряду с HMBC корреляции между аномерным протоном α -L-арабинофуранозы и атомом углерода в положении 4.

Таким образом, **RC14** идентифицировано как **4-O- α -L-арабинофуранозилэллаговая кислота** (новое природное соединение). Масса выделенного вещества составила 2,0 мг.

Структурные формулы выделенных из *Rubus chamaemorus* соединений представлены на Рисунке 11.

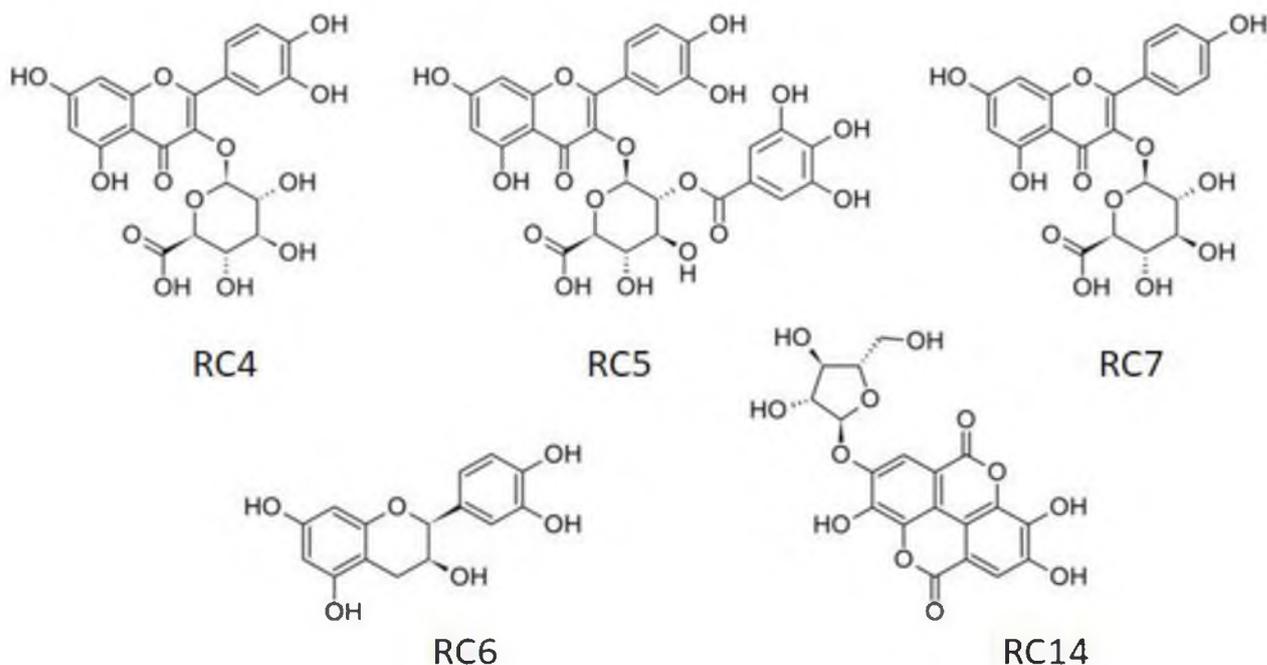


Рисунок 11– Структурные формулы выделенных из *Rubus chamaemorus* соединений

3.4 Индивидуальные соединения *Iris lactea* Pall.

400 г высушенной травы *Iris lactea* многократно экстрагировали 3 л 96 %-го EtOH (соотношение сырье-экстрагент 1 : 7,5) до тех пор, пока сухой остаток после высушивания аликвоты экстракта (3 мл) составлял не более 1 мг. Хроматограмма суммарного экстракта *Iris lactea*, полученная методом ВЭЖХ, представлена Рисунке 12.

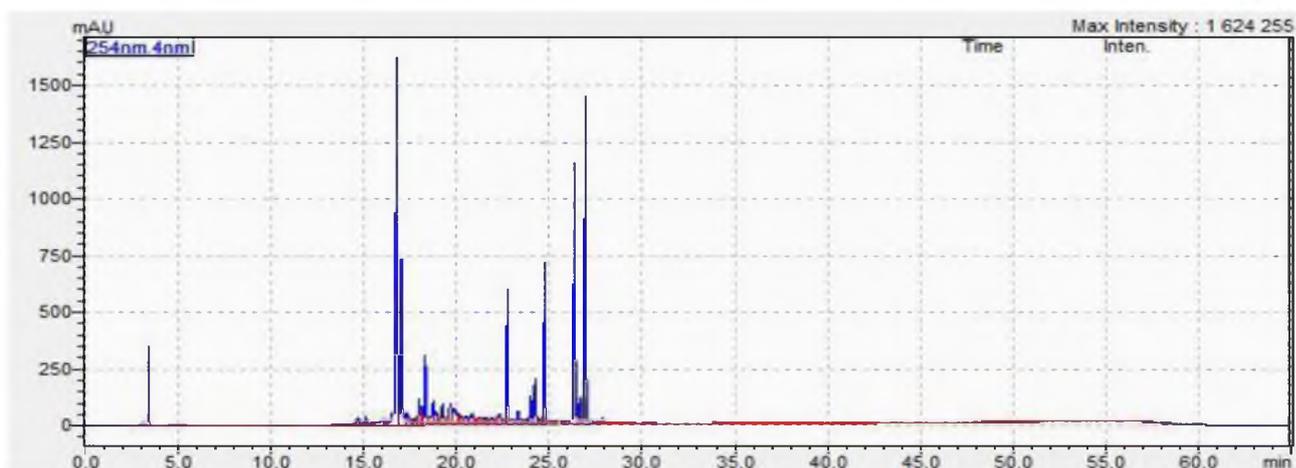


Рисунок 12 – ВЭЖХ хроматограмма суммарного экстракта *Iris lactea*

Все полученные экстракты объединяли и концентрировали на роторном испарителе при температуре 40 °С до объема 750 мл. К концентрированному экстракту добавляли равный объем чистой воды, после чего проводили исчерпывающую жидкостно-жидкостную экстракцию дихлорметаном. Полученную фракцию далее упаривали досуха и перерастворяли в 96 %-м этаноле. Полученный раствор наносили на колонку с полиамидом в качестве стационарной фазы и элюировали ступенчатым градиентом от 100 % воды до 100 % 96 %-го этанола, при этом на каждой ступени концентрация этанола в воде увеличивалась на 10 %, в результате чего были получены 10 фракций. Фракция 4 была собрана, когда концентрация подвижной фазы этанола составляла 40 %, выпарена досуха и по данным аналитической ВЭЖХ (Рисунок 13), предположительно содержала сумму флавоновых С-гликозидов (эмбинин и его производные) под шифрами **IL23**, **IL12**, **IL10**, **IL21**, **IL11** и **IL22**, которую далее разделяли с помощью препаративной ВЭЖХ.

Ступенчатый гидролиз в сочетании с ВЭЖХ анализом и данными ЯМР-спектроскопии позволили подтвердить структуры эмбинина и всех его моно- и диацетатных производных по рамнозному остатку, выделенных в индивидуальном виде методом препаративной ВЭЖХ [151].

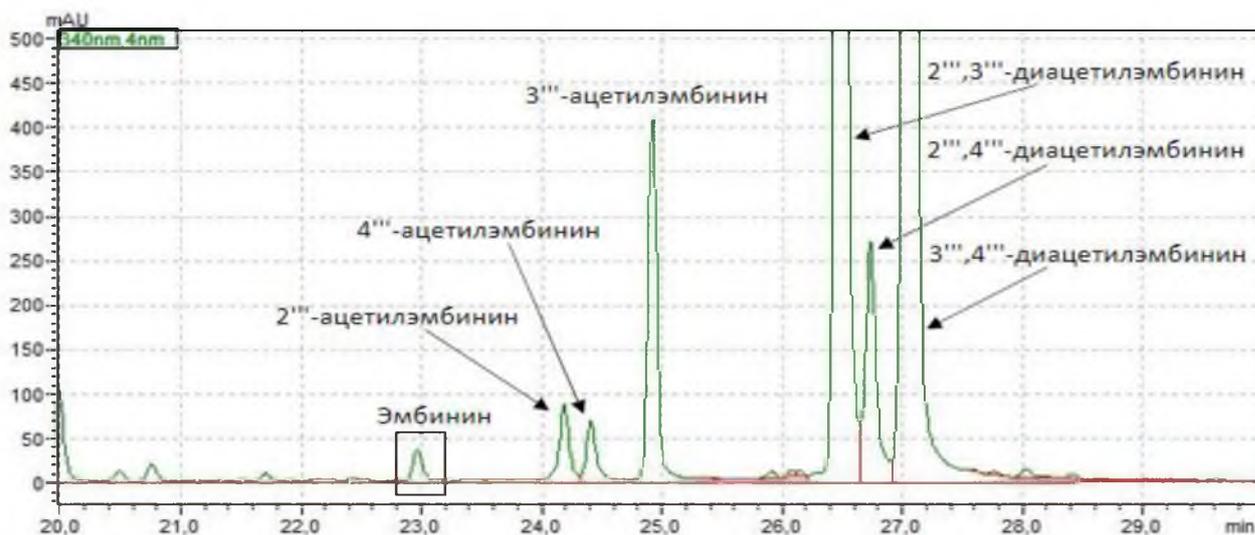


Рисунок 13 – Хроматограмма исходной суммы эмбинина и всех его моно- и диацетатов до препаративного выделения

Из-за заторможенного вращения С-гликозидной связи между аномерного атома углерода остатка β -D-глюкопиранозы и ароматического атома углерода в положении 6 кольца А, в растворе эмбинина и его производных присутствуют две ротимерные формы. В ЯМР спектрах у ряда сигналов наблюдаются два пика вместо одного из-за присутствия двух ротимерных форм. Данные дублированные сигналы при повышении температуры регистрации спектра коалесцируют в один из-за преодоления энергетического барьера перехода между двумя ротимерами. Также, чем ближе атом располагается в структуре к С-гликозидной связи, тем больше разница в химических сдвигах двух его ротимерных сигналов.

В ^1H -ЯМР спектрах эмбинина и его ацетатных производных присутствуют ряд общих сигналов, к которым относятся: ароматические протоны AA'BB' системы 4'-замещенного кольца В флавонового ядра (δH 8.08 (2H, d, $J = 8.8$ Hz, H-2' и H-6') и 7.13 (2H, d, $J = 8.8$ Hz, H-3' и H-5')), два синглета H-3 (δH 6.96 и 6.99), два синглета H-8 (δH 6.95 и 6.90), два синглета 5-OH (13.43 и 13.47), два синглета MeO-7 (δH 3.93 и 3.90) и синглет MeO-4' (δH 3.86). Также к общим сигналам можно отнести аномерные протоны остатков β -D-глюкопиранозы (δH 4.70 (H, d, $J = 9.8$ Hz)) и α -L-рамнопиранозы (δH 5.20 (H, d, $J = 1.2$ Hz)). Основные отличия в спектрах эмбинина и его ацетатных производных

обусловлены количеством и расположением сигналов ацетатных остатков и соответствующих протонов углеводных остатков рамнозы (и в одном случае глюкозы), на гидроксильной группе которых присутствует ацетатная группа.

IL10 представляет собой светло-желтое кристаллическое вещество с максимумом УФ-поглощения при длинах волн 271 и 334 нм, характерным для производного С-гликозида апигенина. HR-ESIMS дал псевдомолекулярный ион $[M+H]^+$ при m/z 649.2127 (расч. 649.2132), что соответствует молекулярной формуле $C_{31}H_{36}O_{15}$. Данные 1H и ^{13}C ЯМР-спектров **IL10** представлены в Таблице 29.

Таблица 29 – Данные ЯМР-спектроскопии соединения **IL10**

Положение	Химический сдвиг	
	Мажорный ротамер	Минорный ротамер
3	6.96, с	6.99, с
8	6.95, с	6.90, с
2',6'	8.08, д (8.8 Hz)	8.08, д (8.8 Hz)
3',5'	7.13, д (8.8 Hz)	7.13, д (8.8 Hz)
1''	4.69, д (9.8 Hz)	4.70, д (9.8 Hz)
2''	4.31, м	4.10, м
3''	3.38, м	3.39, м
4''	3.11, м	3.11, м
5''	3.15, м	3.15, м
6a''	3.73, м	3.73, м
6b''	3.39, м	3.39, м
1'''	5.20, д (1.2 Hz)	5.15, д (1.2 Hz)
2'''	3.60, м	3.63, м
3'''	3.21, м	3.31, м
4'''	4.43, м	4.43, м
5'''	2.17, м	2.17, м
6'''	0.41, д (6.2 Hz)	0.51, д (6.0 Hz)

Продолжение Таблицы 29

Положение	Химический сдвиг	
	Мажорный ротамер	Минорный ротамер
5-ОН	13.43, уш. с	13.47, уш. с
7-ОМе	3.93, с	3.90, с
4'-ОМе	3.86, с	3.86, с
4'''-ОАс	1.78, с	1.65, с

R1 R2 R3 R4
H H Ac H 1L10

Таким образом, **1L10** идентифицировано как **4'''-ацетилэмбинин** (новое природное соединение). Масса выделенного вещества составила 4,0 мг.

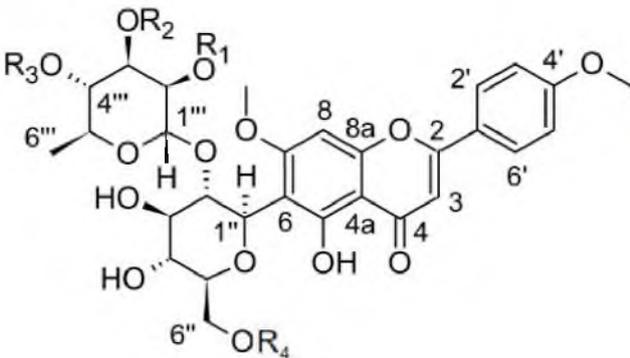
1L11 представляет собой светло-желтое кристаллическое вещество с максимумом УФ-поглощения (λ_{\max}) при длинах волн 271 и 334 нм, характерным для производного С-гликозида апигенина. HR-ESIMS дал псевдомолекулярный ион $[M+H]^+$ при m/z 691.2236 (расч., 691.2238), что соответствует молекулярной формуле $C_{33}H_{38}O_{16}$. Данные 1H и ^{13}C ЯМР-спектров соединения **1L11** представлены в Таблице 30.

Таблица 30 – Данные ЯМР -спектроскопии соединения **1L11**

Положение	Химический сдвиг	
	Мажорный ротамер	Минорный ротамер
3	6.98, с	7.02, с
8	6.99, с	6.93, с
2',6'	8.08, д (8.8 Hz)	8.09, д (8.8 Hz)
3',5'	7.13, д (8.8 Hz)	7.13, д (8.8 Hz)

Продолжение Таблицы 30

Положение	Химический сдвиг	
	Мажорный ротамер	Минорный ротамер
1''	4.72, д (9.8 Hz)	4.74, д (9.8 Hz)
2''	4.32, м	4.11, м
3''	3.43, м	3.43, м
4''	3.09, м	3.09, м
5''	3.17, м	3.17, м
6a''	3.72, м	3.72, м
6b''	3.37, м	3.37, м
1'''	5.25, д (1.4 Hz)	5.18, д (1.4 Hz)
2'''	4.91, м	4.93, м
3'''	3.36, м	3.48, м
4'''	4.36, м	4.37, м
5'''	2.29, м	2.27, м
6'''	0.49, д (6.3 Hz)	0.58, д (6.2 Hz)
5-OH	13.46, с	13.52, с
7-OMe	3.95, с	3.89, с
4'-OMe	3.87, с	3.87, с
2'''-OAc	1.99, с	1.99, с
4'''-OAc	1.76, с	1.66, с



R1 R2 R3 R4
 Ac H Ac H IL11

Таким образом, **IL11** идентифицировано как **2''',4'''-диацетилэмбинин** (новое природное соединение). Масса выделенного вещества составила 6,0 мг.

II12 представляет собой светло-желтое кристаллическое вещество с максимумом УФ-поглощения при длинах волн 271 и 334 нм, характерным для производного С-гликозида апигенина. HR-ESIMS дал псевдомолекулярный ион $[M+H]^+$ при m/z 691.2235 (расч. 691.2238), что соответствует молекулярной формуле $C_{33}H_{38}O_{16}$. Данные 1H и ^{13}C ЯМР-спектров соединения **II12** представлены в Таблице 31.

Таблица 31 – Данные ЯМР-спектроскопии соединения **II12**

Положение	Химический сдвиг	
	Мажорный ротамер	Минорный ротамер
3	6.98, с	7.01, с
8	6.97, с	6.92, с
2',6'	8.09, д (8.8 Hz)	8.09, д (8.8 Hz)
3',5'	7.14, д (8.8 Hz)	7.14, д (8.8 Hz)
1''	4.71, д (9.8 Hz)	4.73, д (9.8 Hz)
2''	4.29, м	4.08, м
3''	3.41, м	3.41, м
4''	3.17, м	3.17, м
5''	3.38, м	3.38, м
6a''	4.40, м	4.40, м
6b''	3.88, м	3.88, м
1'''	5.20, д (1.3 Hz)	5.14, д (1.3 Hz)
2'''	3.61, м	3.61, м
3'''	3.19, м	3.30, м
4'''	4.42, м	4.42, м
5'''	2.15, м	2.11, м
6'''	0.40, д (6.2 Hz)	0.50, д (6.2 Hz)
5-OH	13.43, с	13.50, с
7-OMe	3.94, с	3.90, с
4'-OMe	3.87, с	3.87, с
6'''-OAc	1.99, с	2.0, с

Продолжение Таблицы 30

4'''-OAc	1.78, с	1.65, с

Таким образом, **IL12** идентифицировано как **6'',4'''-диацетилэмбинин** (новое природное соединение). Масса выделенного вещества составила 3,0 мг.

IL21 представляет собой светло-желтое кристаллическое вещество с максимумом УФ-поглощения (λ_{\max}) при длинах волн 271 и 334 нм, характерным для производного С-гликозида апигенина. HR-ESIMS дал псевдомолекулярный ион $[M+H]^+$ при m/z 691.2239 (расч., 691.2238), что соответствует молекулярной формуле $C_{33}H_{38}O_{16}$.

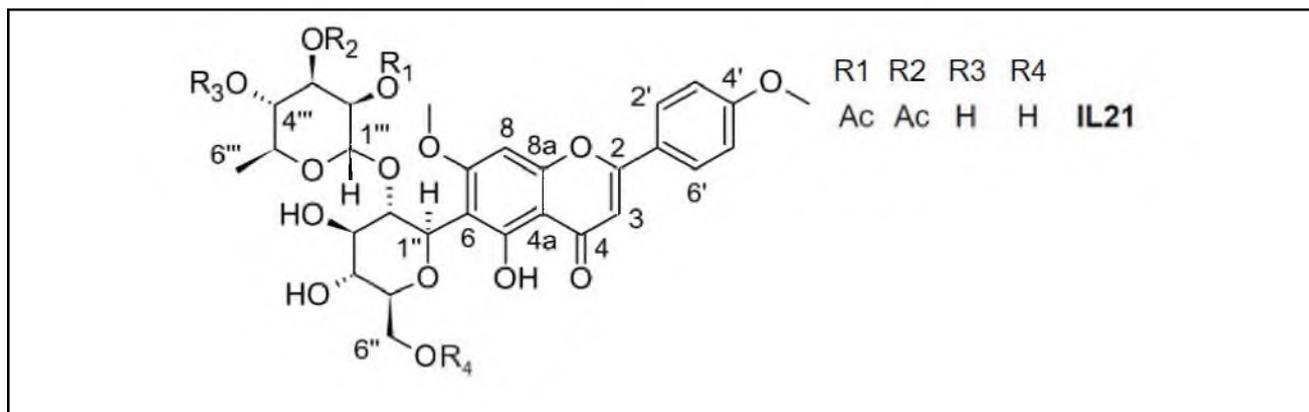
Данные 1H и ^{13}C ЯМР-спектров соединения **IL21** представлены в Таблице 33.

Таблица 33 – Данные ЯМР-спектроскопии соединения **IL21**

Положение	Химический сдвиг			
	Мажорный ротамер		Минорный ротамер	
	δ_H (J in Hz)	δ_C	δ_H (J in Hz)	δ_C
2	-	164.1	-	164.2
3	6.93, с	110.8	6.89, с	110.6
4	-	183.1	-	182.6
4a	-	104.4	-	104.6
5	-	160.9	-	160.0
6	-	110.7	-	110.6

Продолжение Таблицы 33

Положение	Химический сдвиг			
	Мажорный ротамер		Минорный ротамер	
	δ_H (<i>J</i> in Hz)	δ_C	δ_H (<i>J</i> in Hz)	δ_C
7	-	165.5	-	164.3
8	6.92, с	105.5	6.88, с	105.2
8a	-	157.8	-	157.9
1'	-	123.2	-	123.3
2',6'	8.06, д (8.7)	129.2	8.03, д (8.7)	129.2
3',5'	7.08, д (8.7)	115.6	7.08, д (8.7)	115.6
4'	-	163.3	-	163.3
1''	4.67, д (9.7)	72.0	4.67, д (9.7)	72.0
2''	4.23, дд (9.7, 9.3)	73.4	4.06, дд (9.7, 9.3)	75.7
3''	3.42, м	82.3	3.38, м	80.6
4''	3.10, м	71.8	3.10, м	71.8
5''	3.12, м	80.7	3.12, м	80.7
6''	3.67, м	61.6	3.23, м	61.6
1'''	5.23, д (1.0)	99.6	5.10, д (1.0)	100.3
2'''	3.67, м	71.3	3.78, м	71.3
3'''	4.43, дд (9.9, 3.0)	70.9	4.39 дд (9.9, 3.0)	70.9
4'''	4.52, дд (9.9, 9.5)	71.4	4.52, дд (9.9, 9.5)	71.4
5'''	2.19, м	66.1	2.19, м	65.9
6'''	0.43, д (6.3)	17.7	0.47, д (6.3)	18.4
5-OH	13.37, с	-	13.41, с	-
7-OMe	3.89, с	57.5	3.85, с	57.3
4'-OMe	3.82, с	56.6	3.82, с	56.6
3'''-OAc	1.88, с	170.6	1.86, с	170.4
		21.2		21.2
2'''-OAc	1.65, с	170.1	1.60, с	170.1
		20.4		20.3



Таким образом, **IL21** было идентифицировано как **2^{'''},3^{'''}-диацетилэмбинин**. Масса выделенного вещества составила 5,0 мг.

IL22 представляет собой светло-желтое кристаллическое вещество с максимумом УФ-поглощения (λ_{\max}) при длинах волн 271 и 334 нм, характерным для производного С-гликозида апигенина. HR-ESIMS дал псевдомолекулярный ион $[M+H]^+$ при m/z 691.2234 (расч., 691.2238), что соответствует молекулярной формуле $C_{33}H_{38}O_{16}$.

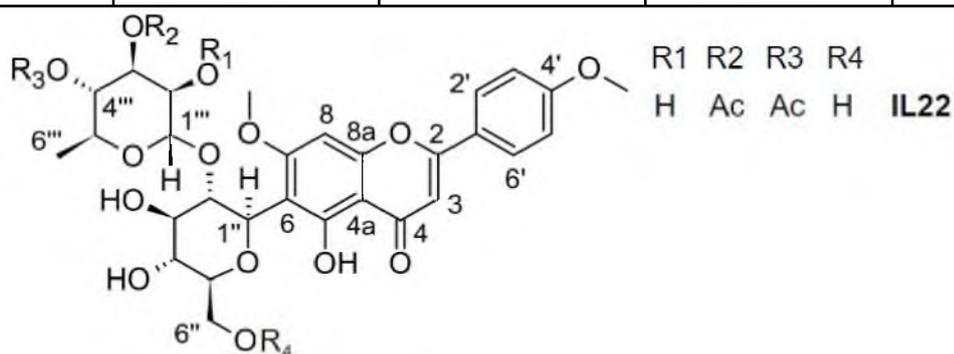
Данные 1H и ^{13}C ЯМР-спектров соединения **IL22** представлены в Таблице 34.

Таблица 34 – Данные ЯМР-спектроскопии соединения **IL22**

Положение	Химический сдвиг			
	Мажорный ротамер		Мажорный ротамер	
	δ_H (J in Hz)	δ_C	δ_H (J in Hz)	δ_C
2	-	164.1	-	164.1
3	6.89, c	110.4	6.84, c	110.6
4	-	182.8	-	182.6
4a	-	104.6	-	104.2
5	-	159.6	-	160.5
6	-	110.4	-	110.2
7	-	165.2	-	164.8
8	6.92, c	-	6.85, c	-

Продолжение Таблицы 34

Положение	Химический сдвиг			
	Мажорный ротамер		Мажорный ротамер	
	δ_H (J in Hz)	δ_C	δ_H (J in Hz)	δ_C
8a	-	157.5	-	157.5
1'	-	123.0	-	123.0
2',6'	8.04, д (9.0)	129.0	8.04, д (9.0)	129.0
3',5'	7.09, д (9.0)	115.3	7.09, д (9.0)	115.3
4'	-	163.2	-	163.2
1''	4.63, д (9.4)	71.4	4.63, д (9.4)	71.1
2''	4.23, дд	74.1	4.03, дд	75.1
3''	3.37, м	77.7	3.37, м	77.7
4''	3.10, м	71.4	3.10, м	71.4
5''	3.09, м	81.8	3.09, м	81.8
6''	3.57, м	61.2	3.39, м	61.2
1'''	5.14, д (1.0)	99.5	5.08, д (1.4)	100.0
2'''	4.84, дд,	70.9	4.83, дд,	70.9
3'''	3.42, м	68.4	3.42, м	68.4
4'''	4.35, м	74.6	4.38, м	74.4
5'''	2.12, м	65.8	2,12 м	65.7
6'''	0.35, д (6.3)	18.4	0.43, д (6.3)	23.5
5-OH	13.40, с	-	13.38, с	-
7-OMe	3.90, с	-	3.85, с	-
4'-OMe	3.81, с	-	3.81, с	-
3'''-OAc	1.90, с	170.2	1.93, с	170.0
4'''-OAc	1.59, с	170.3	1.60, с	170.2



Таким образом, **II22** идентифицировано как **3^{'''},4^{'''}-диацетилэмбинин**. Масса выделенного вещества составила 5,0 мг.

II23 представляет собой светло-жёлтое кристаллическое вещество с максимумом УФ-поглощения (λ_{\max}) при длинах волн 271 и 334 нм, характерным для производного С-гликозида апигенина. HR-ESIMS дал псевдомолекулярный ион $[M+H]^+$ при m/z 607.2023 (расч., 607.2026), что соответствует молекулярной формуле $C_{29}H_{34}O_{14}$.

Данные 1H и ^{13}C ЯМР-спектров соединения **II23** представлены в Таблице 35.

Таблица 35 – Данные ЯМР-спектроскопии соединения **II23**

Положение	Химический сдвиг	
	Мажорный ротамер	Минорный ротамер
	δ_H (J in Hz)	δ_H (J in Hz)
2	-	-
3	6.87, c	6.88, c
4	-	-
4a	-	-
5	-	-
6	-	-
7	-	-
8	6.94, c	6.92, c
8a	-	-
1'	-	-
2',6'	8.08, д (8.4)	8.07, д (8.4)
3',5'	7. 11, д (8.7)	7.11, д (8.7)
4'	-	-
1''	4.63, м	4.63, м
2''	4.31, м	4.14, м
3''	3.35, м	3.33, м

Продолжение Таблицы 35

Положение	Химический сдвиг	
	Мажорный ротамер	Минорный ротамер
	δ_H (J in Hz)	δ_H (J in Hz)
4''	3.10, м	3.10, м
5''	3.09, м	3.09, м
6''	3.60, м	3.38, м
1'''	5.03, уш. с	4.93, уш. с
2'''	3.58, м	3.58, м
3'''	3.07, м	3.07, м
4'''	2.90, м	2.85, м
5'''	2.11, м	2.25, м
6'''	0.44, м	0.56, м
5-OH	13.39, с	13.39, с
7-OMe	3.89, с	3.87, с
4'-OMe	3.85, с	3.85, с

Таким образом, **IL23** идентифицировано как **эмбинин**. Масса выделенного вещества составила 3,0 мг.

Водный остаток, оставшийся после жидкостно-жидкостной экстракции дихлорметаном, концентрировали при пониженном давлении до объема 100 мл и подвергали колоночной хроматографии на сефадексе LH-20 с использованием изократического элюирования 96% этанолом. Полученные субфракции контролировали с помощью ТСХ и объединяли по сходству с фракциями 11-15.

Фракции 14-15 объединяли после ВЭЖХ-анализа и далее упаривали при пониженном давлении до объема 10 мл. Полученный раствор подвергали препаративной ВЭЖХ, в результате которой были выделены в индивидуальном виде соединения под шифрами: **II2**, **II3**, **II9** [128].

II2 представляет собой светло-оранжевое кристаллическое вещество с максимумом УФ-поглощения (λ_{\max}) при длинах волн 241, 318 и 356 нм, характерным для производного С-гликозида мангиферина. HR-ESIMS дал псевдомолекулярный ион $[M+H]^+$ при m/z 423.0926 (расч. 423.0922), что соответствует молекулярной формуле $C_{19}H_{18}O_{11}$.

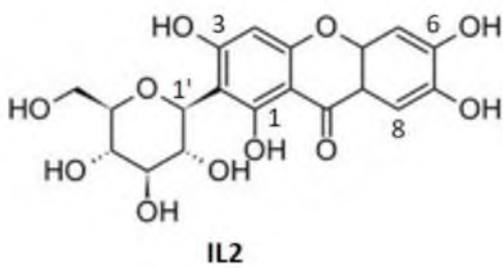
Спектр 1H -ЯМР вещества включал синглеты ароматических протонов Н-4 при δH 6.55, Н-5 при δH 7.02 и Н-8 при δH 7.69, а также синглеты ароматических гидроксиллов 1-ОН при δH 13.63, 3-ОН при δH 10.96 и 6,7-ОН при δH 10.58 (таблица 15). Также присутствовали сигналы, принадлежащие С-гликозид образующему β -D-глюкопиранозидному остатку - Н-1' при δH 4.58, d (9.8 Hz), Н-2' при δH 4.07, t (10.5, 9.8 Hz), Н-3'-5' при δH 3.10-3.45, Н-6a' при δH 3.68, dd (11.5, 4.7 Hz) и Н-6b' при δH 3.55, dd (11.5, 4.9 Hz). Данные 1H и ^{13}C ЯМР-спектров соединения **II2** представлены в Таблице 36.

Таблица 36 – Данные ЯМР-спектроскопии соединения **II2**

Положение	Соединение II2
	Химический сдвиг
4	6.55, c
5	7.02, c
8	7.69, c
1'	4.58, д (9.8 Hz)
2'	4.07, дд (10.5, 9.8 Hz)
3'	3.10-3.45
4'	
5'	
6a'	3.68, дд (11.5, 4.7 Hz)

Продолжение Таблицы 36

Положение	Соединение IL2
	Химический сдвиг
6b'	3.55, дд (11.5, 4.9 Hz)
1-ОН	13.63, с
3-ОН	10.96
6,7-ОН	10.58



IL2

Таким образом, **IL2** идентифицировано как **мангиферин**. Масса выделенного вещества составила 3,0 мг.

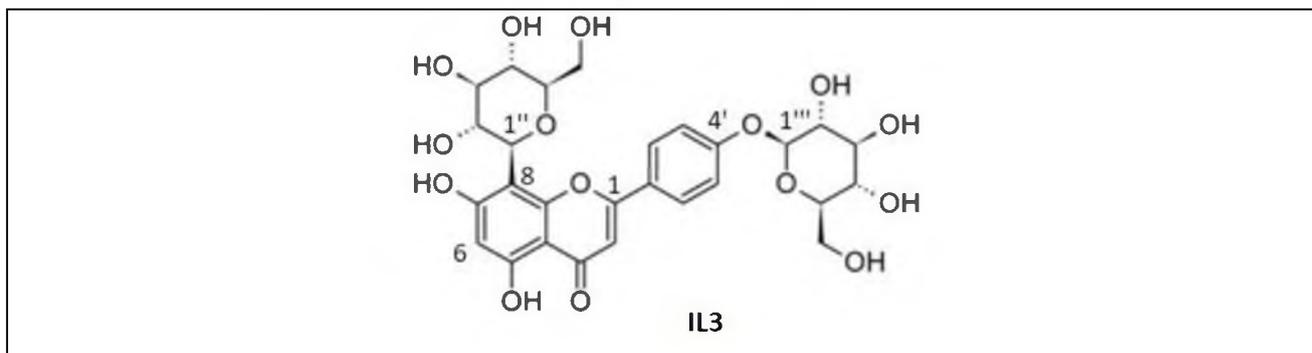
IL3 представляет собой светло-жёлтое кристаллическое вещество с максимумом УФ-поглощения λ_{\max} при длинах волн 254, 271 и 328 нм, характерным для производного С-гликозида апигенина. HR-ESIMS дал псевдомолекулярный ион $[M+H]^+$ при m/z 595.1661 (расч., 595.1658), что соответствует молекулярной формуле $C_{27}H_{30}O_{15}$.

Спектр 1H -ЯМР соединения включал синглеты ароматических протонов Н-3 при δH 6.88 и Н-6 при δH 6.67 кольца А, а также сигналы протонов кольца В – Н-2',6' при δH 8.03, d (8.8 Hz) и Н-3',5' при δH 7.19, d (8.8 Hz). В спектре присутствовали синглеты ароматических гидроксильных протонов 5-ОН при δH 13.48 и 7-ОН при δH 10.90 (Таблица 37). Также присутствовали сигналы двух аномерных протонов – 1''-Н при δH 4.58, d (9.7 Hz) и 1'''-Н при δH 5.02, d (7.4 Hz), принадлежащие С-гликозид образующему β -D-глюкопиранозидному остатку и О-гликозид образующему β -D-глюкопиранозидному остатку, соответственно. Сигналы протонов углеводных остатков наблюдались при δH 3.10-3.70. Данные 1H и ^{13}C ЯМР-спектров соединения **IL3** представлены в таблице 37.

Таким образом, **II3** идентифицировано как **апигенин-8-С-β-D-глюкопиранозил-4'-О-β-D-глюкопиранозид**. Масса выделенного вещества составила 3,0 мг.

Таблица 37 – Данные ЯМР-спектроскопии соединения **II3**

Положение	Соединение II2
	Химический сдвиг
3	6.88, с
6	6.67, с
2',6'	8.03, д (8.8 Hz)
3',5'	7.19, д (8.8 Hz)
1"	4.58, д (9.7 Hz)
2"	4.05, дд (10.5, 9.5 Hz)
3"	3.10-3.70
4"	
5"	
6a"	
6b"	
1'''	
2'''	3.10-3.70
3'''	
4'''	
5'''	
6a'''	
6b'''	
5-OH	
7-OH	10.90, с
4'-OH	-



1L3 представляет собой светло-жёлтое кристаллическое вещество с максимумом УФ-поглощения при длинах волн 270 и 332 нм, характерным для производного С-гликозида апигенина. HR-ESIMS дал псевдомолекулярный ион $[M+H]^+$ при m/z 607.2026 (расч., 607.2027), что соответствует молекулярной формуле $C_{29}H_{34}O_{14}$.

Спектры ЯМР вещества показали дублирование сигналов большинства пиков, характерных для мажорных и минорных ротамеров. Спектр 1H -ЯМР включал синглеты для 3-Н при δH 6.93 и 6.92, пара синглетных сигналов для 6-Н при δH 6.87 и 6.86, синглет для 5-ОН при 13.43, пара синглетов для 7-ОМе при δH 3.91 и 3.89 а также синглет для 4'-ОМе при δH 3.86. Аналогично, сигналы AA'XX' спиновой системы, принадлежащей 4'-замещенному кольцу В при δH 8.08 и 8.06 (2H, d, $J = 8.8$ Hz, 2',6'-H) и 7.12 (2H, d, $J = 8.8$ Hz, 3',5'-H) были обнаружены. Также присутствовали сигналы двух аномерных протонов - 1''-Н при δH 4.69 и 4.67 (1H, d, $J = 9.7$ Hz, 1''-H) и 1'''-H при δH 5.08 и 4.99 (1H, brs, 1'''-H), принадлежащие С-гликозид образующему β -D-глюкопиранозидному остатку и α -L-рамнозному остатку, соответственно, вместе с дублированными сигналами α -L-рамнозной метильной группы при δH 0.60 и 0.49 (3H, d, $J = 6.0$ Hz). Относительная стереохимия обоих углеводных остатков и химические сдвиги всех их протонов были установлены на основе анализа корреляций NOESY и COSY. Положение С-гликозидной связи установлено на основании корреляций HMBC от 1''-H к 8-C (δC 110.5), 7-C (δC 163.9 и 165.3) и 8a-C (δC 160.8 и 160.4) наряду с корреляцией от 2''-H (δH 4.36 and 4.18) к 8-C. Расположение α -L-рамнозного остатка был установлен на основе корреляций HMBC от 1'''-H к 2''-C (δC 75.1 и 76.7) и от 2''-H к 1'''-C (δC 100.9 и 101.3).

Таким образом, **II9** идентифицировано как **5-гидрокси-7,4'-диметоксифлавои-8-С-(2''-О-а-L-рамнопиранозил)-b-D-глюкопиранозид (изоэмбинин)** – новое природное соединение. Масса выделенного вещества составила 3,0 мг.

Спектры ЯМР изоэмбинина очень напоминали спектр ЯМР эмбинина и его ацетатных производных, все из которых показали дублирование сигнала из-за присутствия двух ротамеров, возникающих из-за затрудненного вращения вокруг С-гликозидной связи, характерного для многих флавоновых С-гликозидов (Таблица 38).

Таблица 38 – Данные ЯМР-спектроскопии соединения **II9**

Положение	Химический сдвиг			
	δH (J в Гц)		δC	
	Мажорный ротамер	Минорный ротамер	Мажорный ротамер	Минорный ротамер
2			163.7	163.8
3	6.93 (с)	6.92 (с)	104.2	104.0
4			182.8	182.4
4a			105.6	104.6
5			157.3	157.5
6	6.86 (с)	6.87 (с)	90.9	91.8
7			163.9	165.3
8			110.4	110.2
8a			160.7	159.7
1'			122.9	123.0
2',6'	8.08 (д, 8.8)	8.06 (д, 8.8)	128.8	128.8
3',5'	7.12 (д, 8.8)	7.12, (д, 8.8)	115.1	115.1
4'			162.9	162.9
1''	4.67 (д, 9.7)	4.69 (д, 9.7)	71.3	71.3
2''	4.36 (дд, 11.1, 9.5)	4.18 (дд, 11.1, 9.5)	75.0	76.6

Продолжение Таблицы 38

Положение	Химический сдвиг			
	δH (J в Гц)		δC	
	Мажорный ротамер	Минорный ротамер	Мажорный ротамер	Минорный ротамер
3"	3.37 (м)	3.36 (м)	80.4	80.2
4"	3.15 (м)	3.15 (м)	71.6	71.3
5"	3.16 (м)	3.16 (м)	81.9	82.0
6a"	3.73 (д, 11.2)	3.73 (д, 11.2)	62.1	62.1
6b"	3.39 (м)	3.39 (м)		
2'''	3.61 (м)	3.63 (м)	70.8	70.6
3'''	3.09 (м)	3.15 (м)	71.5	71.5
4'''	2.92 (дд, 9.5, 9.3)	2.92(дд, 9.5, 9.3)	72.0	72.0
5'''	2.17 (м)	2.29 (м)	68.7	68.7
6'''	0.49 (д, 6.0)	0.60 (д, 6.0)	18.0	18.4
5-OH	13.42 (уш. с)	13.42 (уш. с)	-	-
7-OMe	3.91 (с)	3.89 (с)	57.1	56.8
4'-OMe	3.86 (с)	3.86 (с)	56.1	56.1

1L9

Одним из основных различий в спектрах 1H -ЯМР между изоэмбинином и эмбинином были сигналы протонов, для которых наблюдалось появление мажорных и минорных ротамеров. В спектре 1H -ЯМР эмбинина ароматические протоны в положениях – 8-Н, 3-Н и протон 5-OH фенольной гидроксильной группы показали два пика, обусловленные ротамерным равновесием. Протоны H-2',6' в эмбинине не удвоились из-за ротамерной инверсии, поскольку они не

находятся в непосредственной близости от 6-С-гликозидной связи. С другой стороны, в спектре 1Н-ЯМР изоэмбинина удвоение сигналов ароматических протонов наблюдалось для Н-2',6', в то время как сигнал 5-ОН группы не дублировался. Это наблюдение наряду с ожидаемым дублированием сигналов ароматических протонов в положениях 3-Н и 6-Н обеспечивает дополнительное доказательство того, что остаток С-гликозида расположен в положении 8-С кольца А.

Структурные формулы выделенных из травы *Iris lactea* индивидуальных веществ представлены на Рисунке 14.

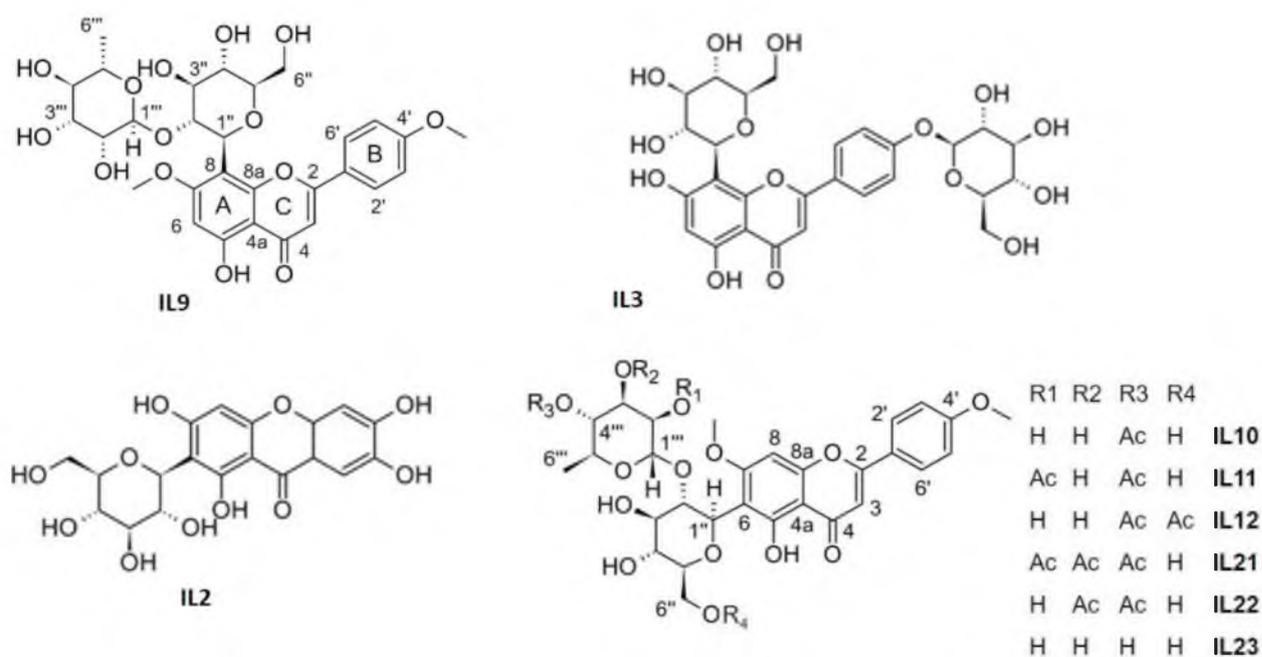


Рисунок 14 – Структура соединений, выделенных из травы *Iris lactea*

3.5 Индивидуальные соединения *Ononis arvensis* L.

500 г высушенной травы *Ononis arvensis* многократно экстрагировали 3000 миллилитрами 96%-го этилового спирта (соотношение сырье-экстрагент – 1:6). Контроль эффективности экстракции вели по сухому остатку. Хроматограмма суммарного экстракта стальника полевого представлена на Рисунке 15.

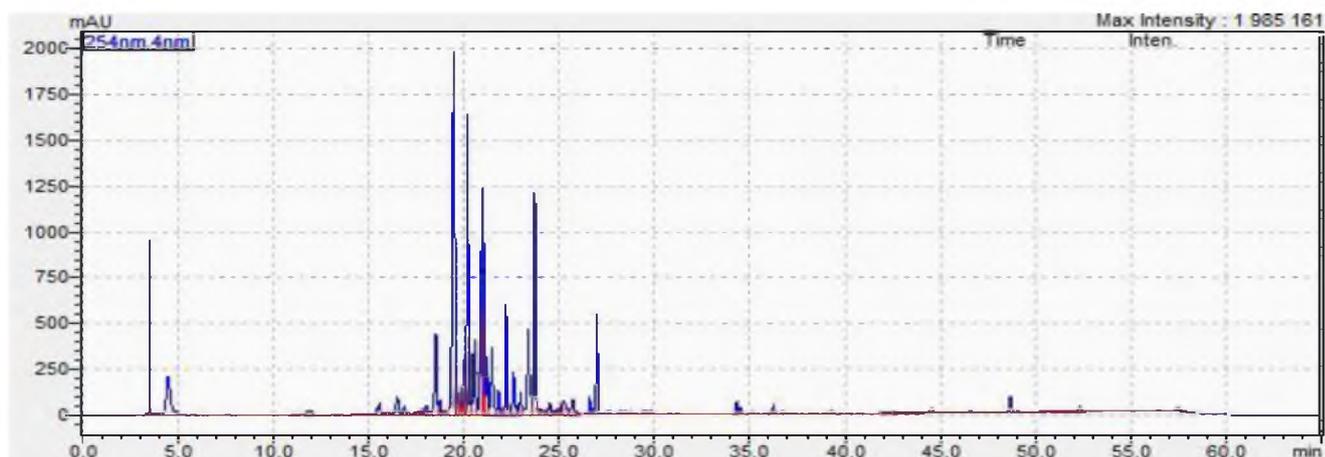


Рисунок 15 – ВЭЖХ хроматограмма суммарного экстракта *Ononis arvensis*

Полученное извлечение упаривали на вакуумно-ротационном испарителе при температуре 40 °С до удаления этанола (приблизительный объем – 200 мл), после чего проводили многократную жидкостно-жидкостную экстракцию. На первом этапе экстракцию проводили с равными объемами гексана до тех пор, пока сухой остаток, оставшийся после испарения аликвоты экстракта (2 мл), составлял не более 1 мг. Затем к остатку после экстракции гексаном добавляли 50 мл воды очищенной и по аналогии проводили жидкостно-жидкостную экстракцию с равными объемами дихлорметана. Водный остаток после экстракции гексаном и дихлорметаном упаривали до 100 мл и загружали на открытую колонку с обращенно-фазовым сорбентом Dianion HP 20 марки SUPELCO. Проводили градиентное элюирование с постепенным понижением полярности изначального элюента с шагом 10 % (с H₂O: 96 % EtOH 100:0 до H₂O: 96 % EtOH 0:100, по объему). Сбор элюата осуществлялся в колбы по 100 мл. Параллельно проводился скрининг собираемого из колонки элюата методом ТСХ в системе БУВ 4:1:2 для дальнейшего его объединения. Элюат, собранный из колонки при концентрации спирта 70 %, объединялся в 4 фракции согласно данным ТСХ, которые затем сгущались на вакуумно-ротационном испарителе при 45 градусах до объема 10–15 мл. Фракции № 1 и 4 загружались на препаративный ВЭЖХ, в результате чего из фракции № 4 были выделены соединения под шифрами **ОА1** ($t_R = 22,274$ мин), **ОА2** ($t_R = 22,701$ мин), а из фракции № 1 – **ОА6** ($t_R = 20,435$ мин) [7, 8, 37].

ОА1 представляет собой белое кристаллическое вещество. УФ-спектр соединения имеет максимумы поглощения при длинах волн 248, 262, 292 нм. HR-ESI-MS отображает пик молекулярного иона $[M+H]^+$ m/z 445,1134 (расч. 445,1135), что соответствует молекулярной формуле $C_{22}H_{20}O_{10}$. ¹H-ЯМР (DMCO- d_6 , δ , м.д., J/Гц): 8.45 (1H, с, Н-2), 7.99 (1H, д, J = 8.9, Н-5), 7.13 (1H, дд, J = 8.9, 2.0, Н-6), 7.19 (1H, д, J = 2.0, Н-8), 7.12 (1H, д, J = 1.5, Н-2'), 6.94 (1H, д, J = 8.1, Н-5'), 7.04 (1H, дд, J = 8.1, 1.5, Н-6'), 6.03 (2H, с, О-CH₂-О-3',4'), 5.08 (1H, д, J = 7.6, Н-1"), 3.25 (1H, м, Н-2"), 3.35 (1H, м, Н-3"), 3.17 (1H, м, Н-4"), 3.40 (1H, м, Н-5"), 3.61 (1H, м, Н-6a"), 3.45 (1H, м, Н-6b"), 5.51 (1H, д, J = 5.0, ОН-2"), 5.34 (1H, д, J = 3.8, ОН-3"), 5.31 (1H, д, J = 4.6, ОН-4"), 4.78 (1H, т, J = 7.0, 5.4, ОН-6"). Данные УФ- и ЯМР-спектроскопии свидетельствуют о принадлежности **ОА1** к группе изофлавоноидов и наличии в его составе остатка глюкозы в 7 положении, что было установлено по ¹H и NOESY ЯМР-спектрам.

Таким образом, **ОА1** идентифицировано как **псевдобаптигенин-7-О- β -D-глюкопиранозид**. Масса выделенного вещества составила 5,1 мг.

ОА2 представляет собой белое кристаллическое вещество. УФ-спектр соединения имеет максимумы поглощения при длинах волн 231, 248, 265, 310 нм. HR-ESI-MS дает молекулярный ион $[M + H]^+$ m/z 431,1341 (расч. 431,1342), что соответствует молекулярной формуле $C_{22}H_{22}O_9$. ¹H-ЯМР (DMCO- d_6 , δ , м.д., J/Гц): 8.44 (1H, с, Н-2), 8.00 (1H, д, J = 8.9, Н-5), 7.13 (1H, дд, J = 8.9, 2.0, Н-6), 7.19 (1H, д, J = 2.0, Н-8), 7.49 (2H, д, J = 8.6, Н-2',6'), 6.96 (2H, д, J = 8.6, Н-3',5'), 5.08 (1H, д, J = 7.8, Н-1"), 3.25 (1H, м, Н-2"), 3.35 (1H, м, Н-3"), 3.18 (1H, м, Н-4"), 3.41 (1H, м, Н-5"), 3.62 (1H, м, Н-6a"), 3.35 (1H, м, Н-6b"), 5.51 (1H, д, J = 4.9, ОН-2"), 5.34 (1H, д, J = 4.0, ОН-3"), 5.31 (1H, д, J = 4.6, ОН-4"), 4.78 (1H, т, J = 6.5, 6.0, ОН-6"), 3.75 (3H, с, ОMe-4'). Присутствие метоксигруппы в 4'-положении подтверждено наличием корреляции протонов метоксигруппы с протонами в 3' и 5' положениях в спектрах NOESY. Наличие остатка глюкозы в 7 положении установлено по наличию корреляции между аномерным протоном и протонами в 6 и 8 положениях кольца А в спектрах NOESY.

Таким образом, **ОА2** было идентифицировано как **формонетин-7-О-β-D-глюкопиранозид**. Масса выделенного вещества составила 6,9 мг.

ОА6 представляет собой желтое кристаллическое вещество, имеющее максимумы поглощения в УФ-спектре при длинах волн - 213, 249, 266, 346 нм. HR-ESI-MS дает молекулярный ион $[M + H]^+$ m/z 449,1083 (расч. 449,1084), что соответствует молекулярной формуле $C_{21}H_{20}O_{11}$. ¹H-ЯМР (DMCO-*d*₆, δ, м.д., J/Гц): 6.31 (1H, д, J = 1.7, H-6), 6.56 (1H, д, J = 1.7, H-8), 7.98 (2H, д, J = 8.9, H-2',6'), 6,92 (2H, д, J = 8.9, H-3',5'), 5.33 (1H, д, J = 7.5, H-1"), 3.15–3.69 (H-2"-H-6"), 5.15 (1H, д, J = 4.4, OH-2"), 4.92 (1H, д, J = 6.0, OH-3"), 4.69 (1H, д, J = 4.1, OH-4"), 4.73 (1H, дд, J = 6.5, 6.0, H-6"), 12.53 (1H, с, H-5), 11.48 (1H, уш. с, OH-7), 10.66 (1H, с, OH-4'). На основании анализа ¹H ЯМР-спектров и в сравнения с литературными данными установлено, что остаток глюкозы находится в положении 3.

Таким образом, **ОА6** идентифицировано как **кемпферол-3-О-β-D-глюкопиранозид (астрагалин)**. Масса выделенного вещества составила 5,1 мг.

В результате исследований впервые из экстракта травы *Ononis arvensis*, полученного с применением 95 %-го этанола в качестве экстрагента, были выделены два гликозидированных по 7 положению изофлавона: псевдобаптигенин-7-О-β-D-глюкопиранозид и формонетин-7-О-β-D-глюкопиранозид, а также флавонол гликозидированный по 3 положению: кемпферол-3-О-β-D-глюкопиранозид. Структура соединений, выделенных из травы *Ononis arvensis*, представлены на Рисунке 16.

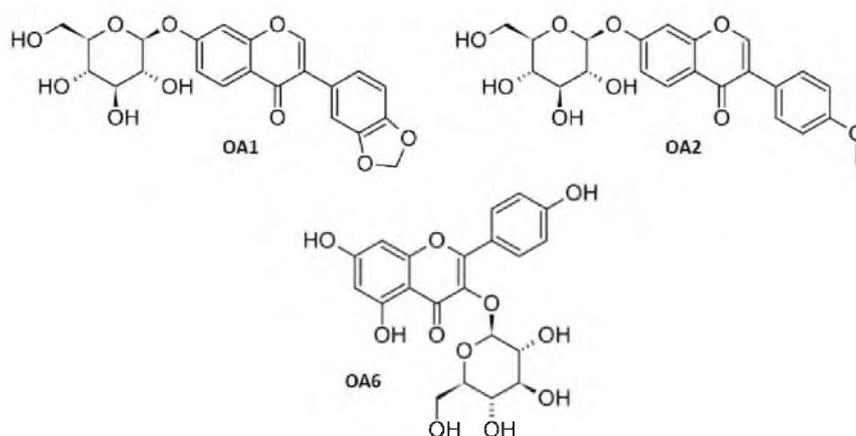


Рисунок 16 – Структура соединений, выделенных из травы *Ononis arvensis*

3.6 Индивидуальные соединения *Solidago canadensis* L.

Для выделения индивидуальных соединений из травы *S. canadensis* проводилась многократная экстракция 500 г сырья 5000 мл 80%-го этилового спирта (соотношение сырье–экстрагент 1 : 10) Хроматограмма суммарного этанольного экстракта золотарника канадского представлена на Рисунке 17.

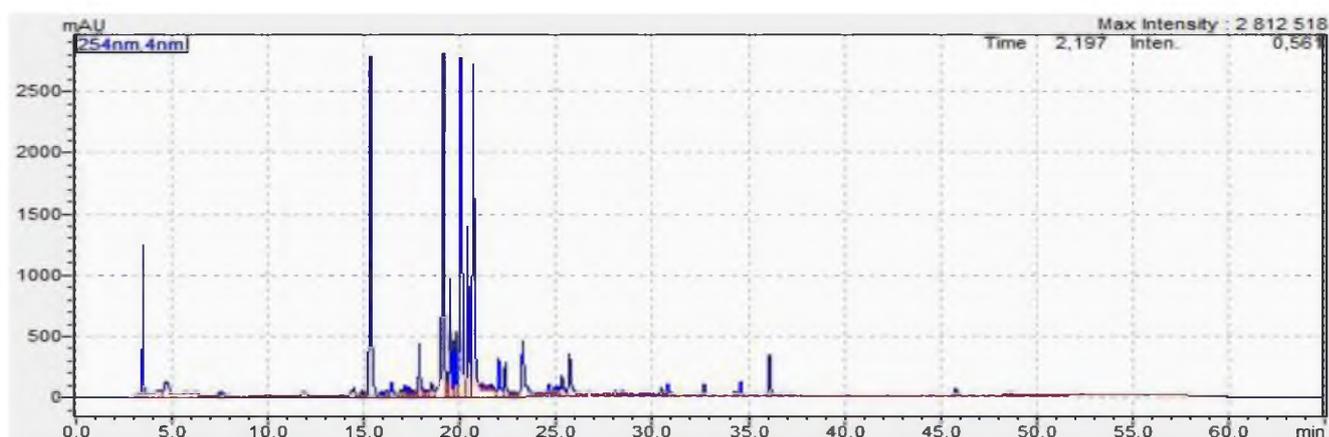


Рисунок 17 – ВЭЖХ хроматограмма суммарного экстракта *Solidago canadensis*

Полученное извлечение упаривали под вакуумом при температуре 40 °С до удаления этанола, после чего проводилась многократная жидкостно-жидкостная экстракция. На первом этапе экстракция проводилась с равными объемами гексана до тех пор, пока масса сухого остатка после испарения аликвоты (3 мл) гексанового экстракта составляла не более 1 мг. Затем к водному остатку после экстракции гексаном добавляли 100 мл воды очищенной и по аналогии проводили жидкостно-жидкостную экстракцию равными объемами н-бутанола. Объединенную бутанольную подфракцию упаривали до 100 мл, загружали на открытую колонку с сорбентом Sephadex LH 20 марки GE Healthcare и проводили изократическое элюирование 96 % этиловым спиртом. Сбор элюата осуществляли в пробирки. Параллельно проводился скрининг полученных из колонки порций элюата методом ТСХ в системе БУВ 4:1:2 для дальнейшего их объединения. Порции элюата, содержащие целевые соединения, объединялись и упаривались под вакуумом при 40 °С до объема 10–15 мл. Полученная фракция подвергалась

разделению на препаративном высокоэффективном жидкостном хроматографе, в результате чего были выделены соединения под шифрами **SC2** ($t_R = 20,905$ мин), **SC10** ($t_R = 20,672$ мин), **SC3** ($t_R = 19,236$ мин) и **SC1** ($t_R = 23,687$ мин) [7].

SC2 представляет собой жёлтое кристаллическое вещество. УФ-спектр соединения имеет максимумы поглощения (λ_{max}) при длинах волн 215, 249, (270), 349 нм. HR-ESI-MS дает пик молекулярного иона $[M + H]^+$ m/z 507,1138 (расч. 507,1139), что соответствует молекулярной формуле $C_{23}H_{22}O_{13}$. ¹H-ЯМР (DMCO- d_6 , δ , м.д., J/Гц): 6.29 (1H, д, J = 1.9, H-6), 6.54 (1H, д, J = 1.9, H-8), 7.60 (1H, д, J = 2.1, H-2'), 6.90 (1H, д, J = 8.5, H-5'), 7.50 (1H, дд, J = 8.5, 2.1, H-6'), 5.38 (1H, д, J = 7.4, H-1''), 4.11 (1H, дд, J = 12.0, 1.7, H-6a''), 3.92 (1H, дд, J = 12.0, 6.2, H-6b''), 3.0–3.35 (H-2''-5''), 1.69 (3H, с, OAc-6''), 12.58 (1H, с, OH-5), 11.36 (1H, с, OH-7), 9.40 (1H, с, OH-3'), 9.90 (1H, с, OH-4'). Наличие и расположение ацетильной группы в 6'' положении подтверждается ¹H и NOESY ЯМР-спектрами.

Таким образом, **SC2** идентифицировано как **кверцетин-3-О- β -D-6''-ацетилглюкопиранозид**. Масса выделенного вещества составила 8,2 мг.

SC10 представляет собой жёлтое кристаллическое вещество, имеющее два максимума поглощения в УФ-спектрах (λ_{max}) при длинах волн 253 и 352 нм. HR-ESI-MS отображает пик молекулярного иона $[M + H]^+$ m/z 626,1846 (расч. 626,1847), что соответствует молекулярной формуле $C_{28}H_{33}O_{16}$. ¹H-ЯМР (DMCO- d_6 , δ , м.д., J/Гц): 6.31 (1H, д, J = 2.0, H-6), 6.54 (1H, д, J = 2.0, H-8), 7.81 (1H, д, J = 2.0, H-2'), 7.01 (1H, д, J = 8.5, H-5'), 7.48 (1H, дд, J = 8.5, 2.0, H-6'), 5.42 (1H, д, J = 7.5, H-1''), 4.41 (1H, уш. с, H-1'''), 0.95 (3H, д, J = 6.1, H-6'''), 3.05–3.69 (H-2''-6'', H-2'''-5'''), 12.53 (1H, с, OH-5), 11.34 (1H, с, OH-7), 10.02 (1H, с, OH-3'), 3.80 (3H, с, OMe-4').

Таким образом, **SC10** идентифицировано как **изорамнетин-3-О- β -D-рутинозид (нарциссин)**. Масса выделенного вещества составила 3,0 мг.

SC3 представляет собой жёлтое кристаллическое вещество. УФ-спектр имеет два максимума поглощения (λ_{max}) при длинах волн 255 и 354 нм. HR-ESI-MS дает пик молекулярного иона при $[M + H]^+$ m/z 611,1611 (расч. 611,1612), что

соответствует молекулярной формуле $C_{27}H_{30}O_{16}$. 1H -ЯМР ($DMCO-d_6$, δ , м.д., J/Гц): 6.27 (1H, д, J = 1.8, H-6), 6.50 (1H, д, J = 1.8, H-8), 7.56 (1H, д, J = 2.2, H-2'), 6.91 (1H, д, J = 8.4, H-5'), 7.53 (1H, дд, J = 8.4, 2.2, H-6'), 5.34 (1H, д, J = 7.4, H-1'''), 4.37 (1H, д, J = 0.8, H-1'''), 0.97 (3H, д, J = 6.1, CH_3-6'''), 3.06–3.68 ($CH-2''-6''$, $CH-2'''-5'''$), 12.56 (1H, с, OH-5), 11.29 (1H, с, OH-7), 9.32 (1H, уш. с, OH-3'), 9.83 (1H, уш. с, OH-4').

Таким образом, **SC3** идентифицировано как **кверцетин-3-O-рутинозид (рутин)**. Масса выделенного вещества составила 6,9 мг.

SC1 представляет собой желтое кристаллическое вещество, имеющее максимумы поглощения в УФ-спектре (λ_{max}) при длинах волн 254 и 370 нм. HR-ESI-MS дает пик молекулярного иона при $[M + H]^+$ m/z 303,0504 (расч. 303,0505), что соответствует молекулярной формуле $C_{15}H_{10}O_7$. 1H -ЯМР ($DMCO-d_6$, δ , м.д., J/Гц): 6.27 (1H, д, J = 1.9, H-6), 6.54 (1H, д, J = 1.9, H-8), 7.65 (1H, д, J = 2.1, H-2'), 6.94 (1H, д, J = 8.5, H-5'), 7.52 (1H, дд, J = 8.5, 2.1, H-6'), 9.26 (1H, с, OH-3), 12.43 (1H, с, OH-5), 11.29 (1H, с, OH-7), 9.31 (1H, с, OH-3'), 9.81 (1H, с, OH-4').

Таким образом, **SC1** идентифицировано как **кверцетин**. Масса выделенного вещества составила 3,3 мг.

Структуры соединений, выделенных из травы *Solidago canadensis*, представлены на Рисунке 18.

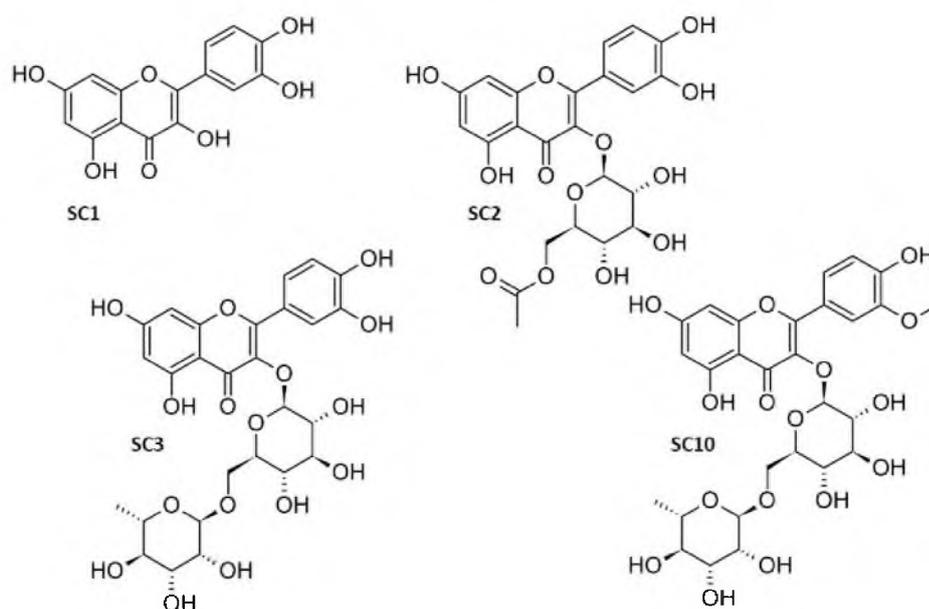


Рисунок 18 – Структуры соединений, выделенных из травы *Solidago canadensis*

Заключение к Главе 3

Проведено подробное исследование фенольных соединений, содержащихся в надземной части *Empetrum nigrum*, *Iris lactea*, *Ononis arvensis*, *Solidago canadensis* и листьях *Rubus chamaemorus*. В результате выделены и структурно идентифицированы 38 индивидуальных соединений, 8 из которых являются новыми природными. Масса выделенных веществ составила от 1,6 до 38,0 мг. Для всех выделенных индивидуальных веществ разработаны паспорта субстанций, содержащие шифр, химическое название, структурную формулу, ВЭЖХ-, УФ-, ЯМР- и масс-спектры, информацию о научно-практической новизне и иных характеристиках. Из паспортов субстанций сформирован реестр индивидуальных веществ фенольной природы, представленный в Приложении 1.

Из надземной части *Empetrum nigrum* выделены 1 производное флавоноидов, 3 таннина, 3 производных бибензила (из них новое природное соединение – **1-(3,5-дигидрокси-4-метоксифенил)-2-фенил этан**), 4 производных 9,10-дигидрофенантрена (из них новое природное соединение – **6-гидрокси-2,3,4-триметокси-9,10-дигидрофенантрен**), 4 производных дигидрохалконов (из них 1 новое природное соединение – **2', 4'-диметокси дигидрохалкон**), 2 производных халкона. Из листьев *Rubus chamaemorus* выделены 3 производных гликозидов глюкуроновых кислот, 2 таннина (из них 1 новое природное соединение – **4-O- α -L-арабинофуранозилэллаговая кислота**). Из надземной части *Iris lactea* выделены 8 производных С-гликозидов флавоноидов (из них 4 новых природных соединения – **5-гидрокси-7,4'-диметоксифлавоон-8-С-(2''-O- α -L-рамнопиранозил)-b-D-глюкопиранозид (изоэмбинин); 4^{'''}-ацетилэмбинин; 2^{'''},4^{'''}- диацетилэмбинин; 6^{''},4^{'''}-диацетилэмбинин;**), 1 производное ксантона. Из надземной части *Ononis arvensis* выделены 1 производное флавоноидов и 2 производных изофлавоноидов. Из надземной части *Solidago canadensis* выделены 4 производных флавоноидов.

ГЛАВА 4 ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ВОЗМОЖНЫХ МЕХАНИЗМОВ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ *IN SILICO* ВЫДЕЛЕННЫХ СОЕДИНЕНИЙ

4.1 Прогнозирование фармакологической активности индивидуальных соединений

Принимая во внимание широкий спектр известных биологических эффектов, связываемых как с экстрактами, так и с индивидуальными соединениями, проведение исчерпывающих экспериментальных исследований представляется чрезвычайно сложной задачей с высокой степенью неопределенности получаемых данных. Особую сложность представляет проблема экспериментальных исследований сочетанных биологических эффектов в результате взаимодействия нескольких биологически активных соединений.

Один из наиболее распространенных подходов к решению подобных задач заключается в проведение теоретических исследований *in silico* с использованием обширного арсенала методов имитационного численного моделирования живых систем, прогнозирования биологической активности малых молекул, поиска потенциальных мишеней воздействия, а также интеллектуального анализа данных для извлечения информации из результатов численных экспериментов.

В рамках диссертационной работы был предложен и реализован новый подход к прогнозированию сочетанной биологической активности смеси соединений, в основу которого положены известные методы оценки активности с учетом химической структуры соединения, поиск молекулярных мишеней и численное моделирование метаболических путей.

Предлагаемый подход включает следующие этапы:

1. Построение онтологии предметной области на основе прогностических данных, созданных сервисами Way2Drug и SwissTargetPrediction. На этом этапе

вначале создается перечень возможных сущностей, включающий белки-мишени, механизмы действия и биологические эффекты. Затем устанавливаются возможные логические и/или функциональные связи между химическими соединениями и сущностями модели. В завершении проводится отбор перспективных молекул и их сочетаний для дальнейших исследований по определенным критериям. В рамках данного диссертационного исследования были определены следующие критерии отбора:

а) для молекул-кандидатов известны и опубликованы метаболические пути, в которых они потенциально могут принимать участие;

б) существуют общепризнанные валидированные методики экспериментальной проверки биологической активности и (или) взаимодействия с молекулярными мишенями;

в) данный вид биологической активности известен и опубликован в открытых источниках.

Выбор именно этих критериев объясняется необходимостью максимально снизить неопределенность при выборе перспективных молекул и их сочетаний, по крайней мере, с точки зрения возможности экспериментальной проверки результатов прогнозирования.

2. После селекции перспективных молекул-кандидатов и их сочетаний осуществляется выбор одного вида биологической активности, проявление которого наиболее вероятно с учетом прогностических данных, полученных на первом этапе. Далее осуществляется определение существенных для реализации именно этого вида активности метаболических путей и их декомпозиция на отдельные минимально зависимые подсистемы.

3. Составление списка возможных точек взаимодействия (мишеней) молекул-кандидатов с выбранными метаболическими путями и проверка наличия трехмерных структур мишеней в банках данных (как правило, требуется наличие структуры в Protein Data Bank (PDB)). Параллельно возможно составление имитационной математической модели метаболических путей.

4. Проведение молекулярного докинга и исключение наименее вероятных взаимодействий. Для перспективных молекул с высокой вероятностью взаимодействия с мишенью проводится дополнительное численное имитационное моделирование возможных механизмов проявления биологических эффектов.

5. Выбираются перспективные молекулы-кандидаты и их сочетания для экспериментальной проверки.

Алгоритм реализации предложенного подхода приведен на Рисунке 19.

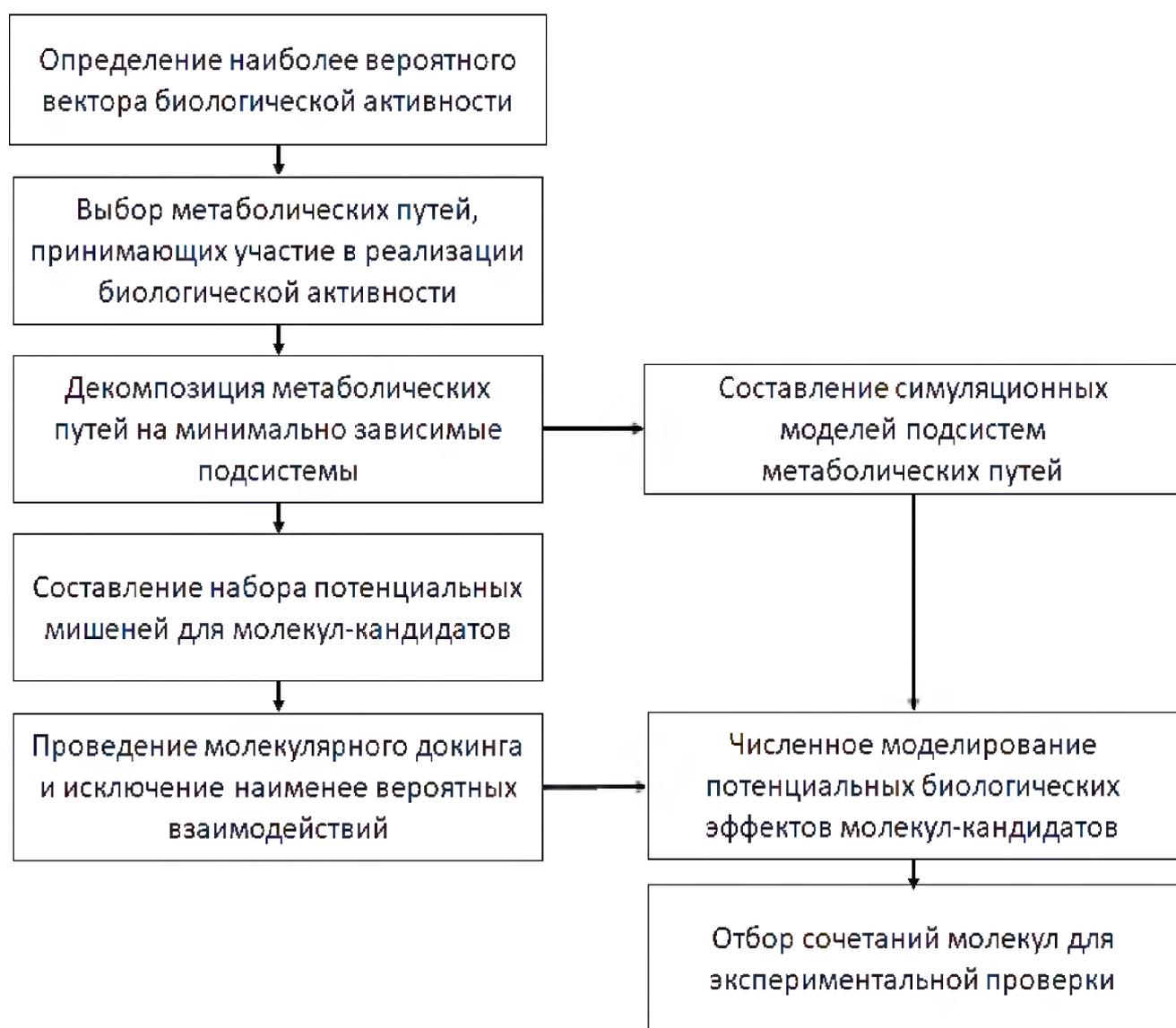


Рисунок 19 – Алгоритм выбора перспективных молекул и их сочетаний на основе анализа результатов прогностического моделирования

По результатам прогнозирования возможных видов биологической активности с помощью компьютерной программы PASS (Prediction of Activity Spectra for Substances, версия 2020 Refined), было выявлено 1945 возможных фармакологических эффектов и механизмов действия со средней точностью 97 % [88].

Распределение количества ожидаемых биологических эффектов по группам выделенных соединений приведено на Рисунке 20. Очевидно, что группа соединений EN доминирует как в абсолютном выражении, так и по количеству активностей на одно соединение (в среднем 520 эффектов на одно соединение).

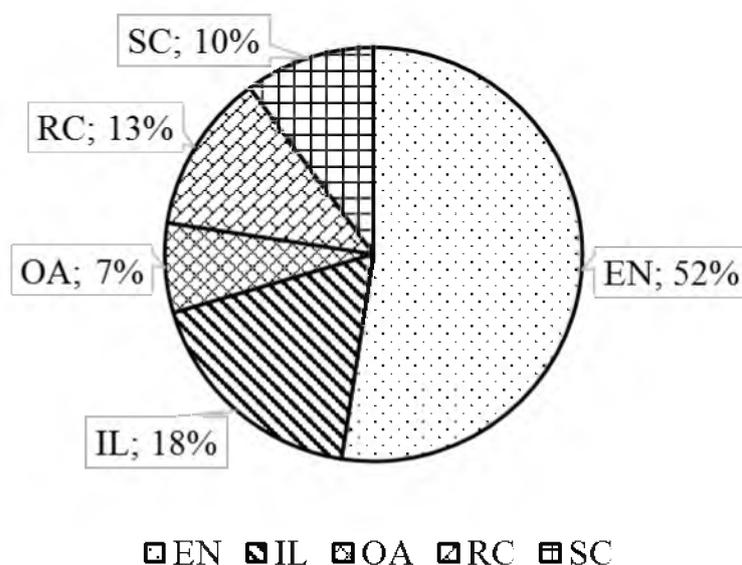


Рисунок 20 – Количество прогнозируемых видов активности по группам соединений

Построение онтологии биологических эффектов химических соединений, являющихся кандидатами в лекарственные средства, целесообразно проводить с использованием общедоступных рецензируемых баз данных, таких как Way2Drug, Swiss Prediction, KEGG. Выбор именно этих инструментов для начальной стадии поисковых исследований новых лекарственных средств обусловлен несколькими факторами, среди которых на первом месте – полнота и

достоверность содержащейся информации, а также высокоэффективные алгоритмы прогнозирования биологических эффектов.

Первый шаг построения онтологии биологических эффектов состоит в составлении как можно более полного перечня возможных видов влияния лекарственных кандидатов на известные биохимические процессы и метаболические пути с последующим сокращением списка за счет ранжирования по принципу наибольшей вероятности обнаружения и подтверждения прогнозируемого эффекта. Обычно ранжированные списки ожидаемых биологических эффектов, генерируемых каждой системой прогнозирования, содержат несколько сотен практически равнозначных видов активности. Для примера в Таблице 39 приведены первые несколько строк из ранжированного по количеству соединений с ожидаемым видом биологической активности для веществ, выделенных из *Empetrum nigrum*.

Таблица 39 – Прогнозируемые системой Way2Drug биологические эффекты химических соединений природного происхождения, выделенных из *Empetrum nigrum*

Количество соединений	Активность
17	Membrane integrity agonist
17	Estrogen-related receptor alpha agonist
15	Fibrinolytic
14	Chlordecone reductase inhibitor
13	Antineurotoxic
12	Penicillin-binding protein ampH inhibitor
11	Antiseborrheic
11	HSPB1 expression inhibitor
11	Feruloyl esterase inhibitor
9	3-Oxoacyl-[acyl-carrier-protein] reductase inhibitor

Как правило, для дальнейших исследований представляют интерес наиболее вероятные виды фармакологической активности. На Рисунке 21 приведен пример.

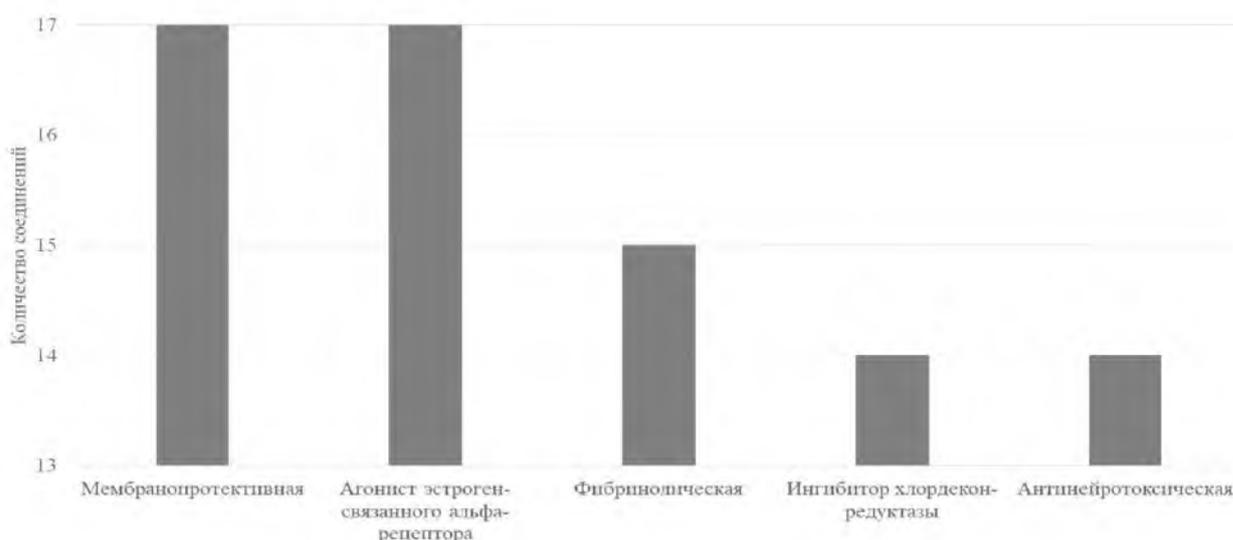


Рисунок 21 – Количество соединений, выделенных *Empetrum nigrum*, с наиболее вероятными прогнозируемыми видами биологической активности

Вторым инструментом, использованным для прогнозирования возможных мишеней для исследуемых соединений, был Swiss Target Prediction. Поскольку принципы работы прогностических систем Way2Drug и Swiss Target Prediction значительно отличаются, формат выдачи и прогнозируемые виды биологической активности существенно различны. Тем не менее, пересечения между прогнозируемыми разными системами видами активности вполне наблюдаемы. В Таблице 40 приведен пример выдачи результатов прогнозирования для соединения EN54. Swiss Target Prediction предполагает возможной мишенью эстроген-связанный альфа-рецептор, который также может являться, по результатам прогноза Way2Drug, мишенью еще для 16 других соединений, содержащихся в *Empetrum nigrum*. К сожалению, такие прямые совпадения относятся скорее к исключениям, в большинстве случаев требуется более глубокий анализ возможных мишеней с учетом возможности взаимодействия на разных уровнях биохимических систем и метаболических путей. В качестве

иллюстрации можно отметить, что Swiss Target Prediction не исключает тромбин и X фактор свертывания крови из числа потенциальных мишеней для соединения EN54, в то время как Way2Drug предполагает, что большинство изучаемых соединений могут обладать фибринолитической активностью. В данном случае пересечения возможных биологических эффектов уже не столь очевидно, и требуется глубокий анализ метаболических путей, формирующих систему свертывания крови и агрегации тромбоцитов.

Таблица 40 – Возможные мишени и вероятности взаимодействия для химического соединения EN54, вычисленные сервисом Swiss Target Prediction

Вещество	Активность	Вероятность
EN54	Acetylcholinesterase	0,14
EN54	Estrogen receptor alpha	0,12
EN54	Cytochrome P450 19A1	0,10
EN54	Monoamine oxidase B	0,10
EN54	Sigma opioid receptor	0,10
EN54	ATP-binding cassette sub-family G member 2	0,10
EN54	Thrombin and coagulation factor X	0,10
EN54	Protein kinase C gamma (by homology)	0,10
EN54	Gamma-secretase	0,10
EN54	Serine/threonine-protein kinase mTOR (by homology)	0,10
EN54	PI3-kinase p110-alpha subunit	0,10

Принимая во внимание огромный объем данных, подобный анализ невозможен без привлечения современных методов машинного анализа, в частности, элементов искусственного интеллекта и методов обработки больших данных.

Суммарно онтология возможной биологической активности всех исследованных соединений включает около тысячи элементов, преимущественно, мишеней и компонентов метаболических путей. В качестве

иллюстрации на Рисунке 22 приведен небольшой фрагмент онтологии, включающий химические вещества, потенциальные мишени и связи между ними. Для иллюстрации отобраны только те виды активности, которые встречаются у более чем 10 соединений и охватывают максимальный диапазон возможных биологических эффектов.

На Рисунке 22 отображены возможные точки взаимодействия изучаемых соединений с компонентами регуляторных систем. Следует подчеркнуть, что взаимодействие в данном случае не является прямым (связывание с ферментом или прямая регуляция активности гена), в парадигме онтологической модели связи рассматриваются как логические. Кроме того, в сложных биохимических системах взаимодействия в подавляющем большинстве оказываются косвенными и целесообразно их рассматривать как влияние биологически активных молекул на определенные внутриклеточные метаболические пути. В качестве примера приведены:

1) *PIK3CG* – фермент, регулятор воспалительных реакций, принимает участие в большом количестве метаболических путей, потенциальная мишень для новых противовоспалительных препаратов;

2) *HSD17B2* – регулятор активности стероидных гормонов, мишень для гормонозаместительной терапии;

3) *SYK* – один из важнейших регуляторов активности иммунной системы;

4) *CYP19A1* – ген кодирует компонент системы цитохромов P450;

5) *ABCG2* – один из важнейших генов системы клеточной защиты от ксенобиотиков;

6) *ALOX5* – ген, кодирующий семейство ферментов, участвующих в метаболизме арахидоновой кислоты;

Очевидно, что перечень возможных мишеней и генов, включенных в онтологическую модель, в целом соответствует прогнозируемым видам биологической активности, однако имеет гораздо более высокий уровень детализации и позволяет вычлениить наиболее вероятные метаболические пути для дальнейшего исследования.

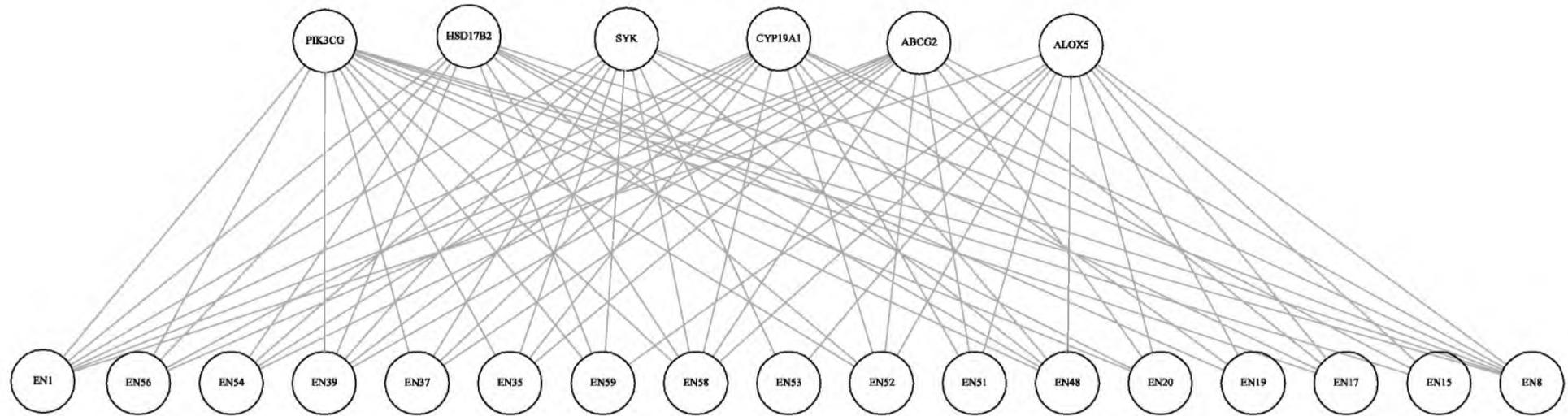


Рисунок 22 – Фрагмент онтологии видов биологической активности исследованных соединений

В дальнейшем каждой мишени был сопоставлен список метаболических путей, в которых она участвует в любом качестве (рецептор, субстрат, мессенджер, фермент и т.д.) и принадлежность к той или иной системе организма на верхнем уровне.

Для анализа столь сложной онтологии был разработан алгоритм классификации изучаемых соединений по возможным влияниям как на отдельные метаболические пути, так и на системы организма верхнего уровня. Наиболее устойчивые и воспроизводимые кластеризации были получены для соединений, выделенных из *Empetrum nigrum*, поэтому этой группе было уделено наибольшее внимание на данном этапе проведения исследований.

4.2 Отбор перспективных молекул-кандидатов по результатам предварительного прогнозирования

Из растения *Empetrum nigrum* всего было выделено 17 соединений, и все они, по данным прогноза Way2Drug, могут способствовать сохранению целостности клеточных мембран, однако проведенный анализ доступных литературных источников показал, что до настоящего времени не опубликованы данные о том, что соединения *Empetrum nigrum* обладают такой активностью, несмотря на более чем столетнюю историю изучения этого растения. Как следствие, неизвестны возможные метаболические пути и вероятные мишени для действия компонентов, выделенных из этого вида растений.

Второй вид биологической активности, который тоже отмечен у всех исследованных соединений, это агонист альфа эстроген-связанного рецептора. Этот рецептор относится к орфанным, не имеющим эндогенных лигандов, но при этом играет важнейшую роль в регуляции метаболизма. Активность эстроген-связанного рецептора регулируется, преимущественно, белками-корегуляторами, приводя к связыванию этого рецептора с определенным фрагментом ДНК. Как следствие, данный вид активности, если и проявляется, то в значительной степени опосредованно через длинную цепочку метаболических

реакций, что делает практически невозможным прямое доказательство влияния этих соединений именно на эстроген-связанный рецептор. Результаты молекулярного докинга показали, что большинство исследованных соединений, выделенных из *Empetrum nigrum*, обладают высокой аффинностью к центру связывания лиганда этого рецептора (от минус 6 до минус 8 kcal/mol), однако экспериментальное подтверждение этого факта на биологических моделях невозможно по двум причинам:

1) для данного рецептора нет однозначно определенного влияния на метаболические пути и/или биохимические превращения;

2) для исследования этого рецептора нет валидированных биологических экспериментальных моделей.

Третий по частоте встречаемости эффект – фибринолитический. Свертывающая система крови млекопитающих изучена достаточно хорошо, метаболические пути известны и представлены в виде структурных схем, созданы математические модели, с высокой степенью точности воспроизводящие экспериментально измеряемые параметры (например, динамика изменения концентрации фибриногена в плазме в процессе реализации каскада реакций системы свертывания). Проведённый молекулярный докинг показал, что соединения, выделенные из *Empetrum nigrum*, потенциально могут взаимодействовать с теми же мишенями, что и уже известные антикоагулянты.

Вторичные эффекты антикоагулянтов хорошо известны, и включают такие механизмы, как вазо- и кардиопротекция, коронарная вазодилатация (за счет взаимодействия с растворимой гуанилатциклазой). Эти потенциальные биологические эффекты вероятны у всех соединений, включенных в исследование.

Таким образом, по результатам предварительного анализа и обобщения результатов прогнозирования Way2Drug и SwissPredict возможных видов биологической активности можно сделать вывод о том, что наиболее перспективной системой организма человека для изучения действия исследуемых молекул на наибольшее количество вероятных мишеней для последующего

фармакологического скриннга методами *in vitro* является система гемостаза, а перспективным направлением может являться разработка новых препаратов противосвертывающего и антиагрегирующего действия на основе фенольных соединений растительного происхождения.

4.3 Идентификация метаболических путей системы коагуляции крови и агрегации тромбоцитов

4.3.1 Метаболические пути системы активации тромбоцитов

На основе предварительного анализа было установлено, что соединения, выделенные из *Empetrum nigrum*, могут обладать противосвертывающей активностью, однако детализированные данные о возможных молекулярных мишенях и механизмах реализации этой активности отсутствуют. Анализ публикаций по этой тематике позволяет предположить, что антикоагулянтная (точнее, антиагрегантная) активность реализуется посредством взаимодействия с компонентами системы активации тромбоцитов. Наиболее детальная структурная схема метаболических путей системы активации тромбоцитов представлена в банке данных KEGG [133] (Рисунок 23).

Активация тромбоцитов – это сложный многостадийный процесс, включающий несколько сигнальных путей и метаболических процессов. Наиболее значимые из них включают регуляцию активности тромбоцитов изменением количества ионов кальция, активацию процессов адгезии и агрегации Ras-связанным белком 1, а также метаболический путь обмена арахидоновой кислоты.

Наиболее распространенные противосвертывающие препараты используют в качестве мишеней компоненты метаболического пути арахидоновой кислоты, однако существуют и другие возможности для регуляции процессов активации тромбоцитов.

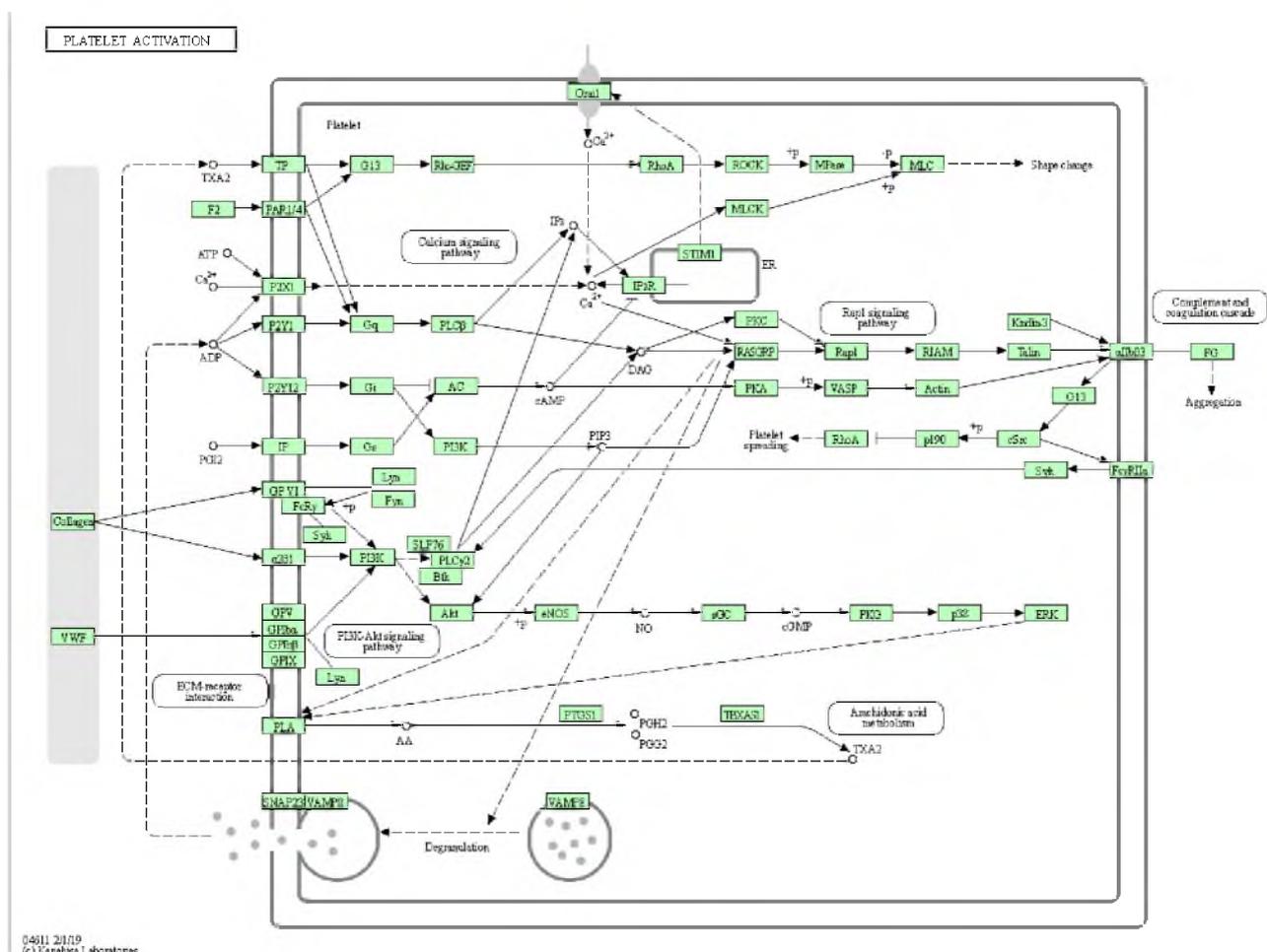


Рисунок 23 – Структурная схема метаболических путей системы активации тромбоцитов (KEGG, map04611)

На основе данных, содержащихся в базе KEGG, был составлен список известных химических соединений, способных модулировать процессы активации тромбоцитов, а также молекулярные мишени, посредством которых реализуется биологическая активность. Пример описания препарата приведен в Таблице 41.

При составлении списка потенциальных мишеней были применены методы анализа естественных языков, основанные на алгоритмах машинного обучения. В результате было получено 30 возможных молекулярных мишеней, входящих в состав системы активации тромбоцитов. Для большинства мишеней известен тип взаимодействия (активация или ингибирование), а также специфические лиганды, которые могут быть использованы как положительный контроль при проведении молекулярного докинга.

Таблица 41 – пример описания известных химических соединений (лекарственных препаратов) как элементов взаимодействия с системой активации тромбоцитов

Препарат	Принадлежность к группе	Применение	Возможные мишени
Еpoprostenol (USAN/INN)	Blood modifier agent DG01950 Antithrombotic agent DG01712 Antiplatelet agent Hormonal agent DG01961 Prostaglandin derivative DG01810 Prostacycline derivative	Platelet aggregation inhibitor, Prostaglandin I2 receptor agonist Pulmonary arterial hypertension	hsa04080 Neuroactive ligand-receptor interaction hsa04270 Vascular smooth muscle contraction hsa04611 Platelet activation
Ticlopidine hydrochloride (JP18/USP)	Blood modifier agent DG01950 Antithrombotic agent DG01712 Antiplatelet agent DG01808 Thienopyridine DG01809 P2Y12 receptor antagonist DG01808 Thienopyridine Metabolizing enzyme inhibitor DG01634 CYP1A2 inhibitor DG02892 CYP2B6 inhibitor DG01933 CYP2C19 inhibitor DG01645 CYP2D6 inhibitor	Anticoagulant, Platelet aggregation inhibitor, Purinergic receptor P2Y12 antagonist Thrombotic thrombocytopenic purpura, Aplastic anemia	hsa04611 Platelet activation

4.3.2 Выбор перспективных соединений на основе анализа данных молекулярного докинга

На основе полученного списка мишеней был проведен молекулярный докинг химических соединений природного происхождения, выделенных из *Empetrum nigrum*, с молекулярными мишенями системы активации тромбоцитов. Предварительно молекулы-мишени были подготовлены в соответствии с рекомендациями [53]. Лиганды были предварительно геометрически

оптимизированы в программе NWChem на уровне теории функционала плотности в базисе 6-31G. Для проведения расчетов была использована программа AutoDock Vina с оценочной функцией AutoDock Vina [86].

Результаты представлены в Таблице 42. При значениях аффинности менее 7 ккал/моль взаимодействие лиганда с молекулой-мишенью считалось вероятным. Точное значение порогового уровня определить невозможно, на практике применяются только эмпирические оценки, выбираемые с учетом целей и задач исследования. В данном случае основная цель докинга заключалась в ранжировании выделенных соединений по критерию вероятности взаимодействия с лигандами. На основании результатов моделирования *in silico* можно сделать вывод о том, что группа соединений, выделенных из *Emeptrum nigrum*, потенциально может взаимодействовать со многими молекулами, входящими в систему активации тромбоцитов. В частности, аффинность по отношению к циклооксигеназе (ЦОГ) 2-го типа, играющей важную роль в системе свертывания крови. Так, у многих соединений группы EN выше, чем у положительного контроля – ацетилсалициловой кислоты (аспирина).

Данная модель молекулярного докинга была применена к изучению всех исследуемых в настоящей диссертационной работе соединений. В Таблицах 43 и 44 приведены ранжированные аффинности в порядке убывания всех исследуемых соединений в отношении ЦОГ 1-го и 2-го типов, соответственно.

Таблица 42 – Результаты молекулярного докинга молекул веществ из *Empetrum nigrum*, аффинность, ккал/моль

Молекулярная мишень	Integrin AlphaIIbBeta3	Prosta-cyclin receptor	P2Y1 2 receptor	CYP 51	Throm-boxane A2 receptor	Integrin AlphaIIbBeta3	sGC deactivated	sGC activated	CYP3 A4	Human Cyclooxygenase-2	Human Cyclooxygenase-2	Human Cyclooxygenase-2	P-selectin
Код PDB	2vdm	4f8k	4ntj	6fmo	6iiu	7td8	7d9t	7d9u	7uf9	5f1a	5f1a_AB	5ikq	lg1r
Код лиганда													
A8X	-8.18	-6.49	-9.75	-8.27	-6.69	-8.73	-9.99	-10.24	-8.25	-6.78	-10.10	-8.33	-6.21
AZJ	-7.41	-6.32	-6.91	-8.84	-5.63	-8.10	-8.82	-9.62	-7.74	-1.15	-9.40	-6.25	-6.35
DVE	-8.33	-5.78	-6.91	-9.72	-6.53	-7.87	-8.13	-9.49	-7.88	6.40	-7.90	-4.20	-6.09
AGG	-7.20	-4.89	-5.65	-6.44	-4.34	-6.85	-7.80	-7.75	-5.38	-6.32	-8.50	-7.84	-5.01
Z90	-7.60	-4.36	-8.24	-7.62	-6.71	-7.33	-10.41	-11.27	-7.03	-6.98	-8.30	-6.12	-4.39
NH0	-7.40	-4.62	-8.14	-6.74	-5.13	-7.79	-9.46	-9.60	-6.61	-5.44	-7.40	-7.21	-5.45
Aspirin	-5.50	-5.51	-6.50	-5.91	-4.64	-5.37	-5.63	-5.86	-5.74	-6.82	-7.10	-6.72	-4.32
JMS	-7.15	-6.21	-6.43	-6.76	-6.81	-6.65	-7.51	-7.45	-6.95	-6.98	-7.04	-9.03	-5.60
MRD	-4.29	-4.52	-3.95	-4.21	-3.93	-4.12	-4.07	-4.10	-4.54	-4.93	-5.02	-4.40	-3.56
EN15	-7.43	-6.55	-7.66	-6.48	-5.76	-7.25	-7.29	-7.65	-7.29	-7.86	-8.20	-7.89	-5.61
EN17	-7.69	-6.13	-8.25	-6.90	-5.52	-7.46	-7.64	-8.55	-6.93	-7.66	-8.00	-7.61	-5.68
EN19	-7.14	-6.84	-7.65	-7.13	-6.27	-6.99	-7.13	-7.27	-7.40	-7.54	-8.30	-8.05	-5.47
EN20	-7.08	-6.26	-7.11	-6.96	-5.51	-7.06	-7.04	-7.91	-6.54	-6.49	-8.10	-8.71	-5.55
EN23	-7.11	-6.18	-7.63	-6.57	-6.57	-6.70	-6.63	-7.74	-7.58	-7.47	-8.50	-8.08	-5.13
EN35	-10.16	-6.98	-9.00	-8.60	-4.62	-9.68	-8.33	-12.52	-9.66	13.92	-7.90	7.91	-6.86

Продолжение Таблицы 42

Молекулярная мишень	Integrin AlphaIIbBeta3	Prosta-cyclin receptor	P2Y1 2 receptor	CYP 51	Throm-boxane A2 receptor	Integrin AlphaIIbBeta3	sGCdeactivated	sGCactivated	CYP3 A4	Human Cyclooxygenase-2	Human Cyclooxygenase-2	Human Cyclooxygenase-2	P-selectin
Код PDB	2vdm	4f8k	4ntj	6fmo	6iiu	7td8	7d9t	7d9u	7uf9	5f1a	5f1a_AB	5ikq	1glr
Код лиганда													
EN37	-10.14	-7.06	-9.55	-8.66	-4.85	-9.76	-8.71	-12.56	-10.07	13.92	-7.90	7.98	-6.87
EN39	-9.75	-7.75	-9.71	-9.17	-5.20	-9.87	-9.07	-11.51	-8.97	24.53	-8.50	6.99	-7.03
EN48	-7.15	-6.48	-7.21	-6.64	-5.96	-7.33	-7.23	-7.17	-7.42	-7.28	-8.50	-8.27	-5.48
EN51	-7.16	-6.13	-8.35	-7.29	-5.87	-7.01	-8.17	-7.86	-6.83	-6.87	-8.80	-7.82	-5.84
EN52	-7.05	-6.34	-7.56	-6.98	-6.66	-6.93	-7.90	-8.41	-6.71	-7.37	-8.50	-8.04	-5.10
EN53	-7.38	-6.17	-5.93	-6.27	-5.69	-7.03	-7.38	-8.22	-7.56	-3.92	-8.30	-6.50	-5.25
EN54	-6.39	-6.23	-7.59	-6.44	-6.49	-6.67	-7.74	-7.83	-6.80	-6.61	-8.10	-8.19	-5.13
EN55	-7.54	-6.90	-7.73	-7.79	-5.96	-7.26	-7.51	-8.35	-7.78	-7.64	-9.35	-8.88	-6.09
EN56	-7.79	-6.85	-8.11	-7.44	-7.52	-8.02	-8.83	-8.57	-8.08	-5.90	-9.50	-8.80	-6.15
EN58	-7.07	-6.01	-7.77	-7.36	-6.06	-6.95	-7.98	-8.36	-7.57	-7.07	-8.80	-7.97	-5.95
EN59	-6.80	-6.43	-7.77	-6.79	-6.26	-6.66	-7.16	-7.98	-7.12	-7.63	-8.60	-7.65	-5.27

Таблица 43 – Ранжированная афинность исследуемых соединений в отношении циклооксигеназы 1-го типа

Соединение	Аффиность в отношении ЦОГ 1, ккал/моль
EN58	-7,99
EN51	-7,74
EN52	-7,49
EN19	-7,36
EN23	-7,30
EN59	-7,05
EN48	-7,02
EN15	-6,88
EN54	-6,70
Ацетилсалициловая кислота	-6,49
EN55	-6,02
ProstaglandinI2	-5,84
EN20	-5,55
EN56	-5,38
SC1	-5,15
RC6	-4,79
EN17	-4,70
EN53	-2,19
OA2	-0,92
OA1	-0,83
RC14	-0,73
IL2	0,015
OA6	0,37
RC4	0,66
RC7	0,95
SC2	0,96
SC3	1,79
SC10	4,59

Продолжение Таблицы 43

Соединение	Аффинность в отношении ЦОГ 1, ккал/моль
IL3	5,62
RC5	5,83
IL23	6,50
IL10	7,00
IL22	7,40
IL12	8,27
IL11	9,27
IL21	10,63
IL9	11,69
EN35	14,24
EN37	14,38
EN39	15,73

Таблица 44 – Ранжированная аффинность исследуемых соединений в отношении циклооксигеназы 2-го типа

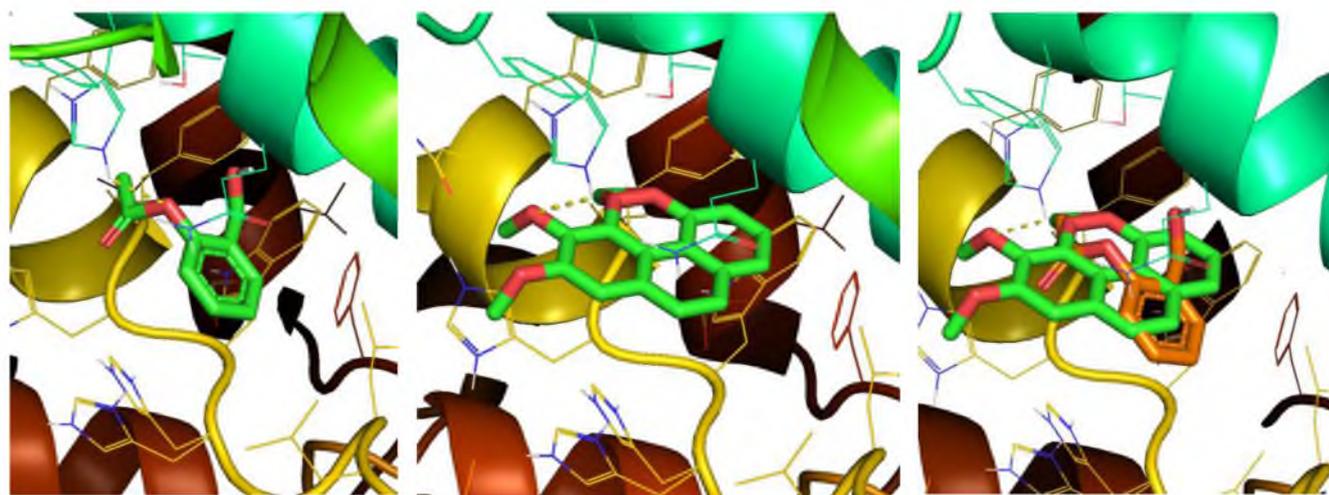
Соединение	Аффинность в отношении ЦОГ 2, ккал/моль
EN55	-8,74
EN54	-8,56
EN52	-8,54
EN59	-8,2
EN20	-8,19
EN23	-8,19
EN56	-8,13
EN58	-8,04
RC14	-7,92
EN51	-7,91
EN19	-7,75
EN48	-7,73
EN15	-7,51

Продолжение Таблицы 44

Соединение	Аффинность в отношении ЦОГ 2, ккал/моль
SC3	-7,36
EN39	-7,28
EN17	-7,23
IL2	-7,13
OA1	-7,03
OA2	-6,62
SC1	-6,56
IL22	-6,52
IL10	-6,47
RC6	-6,41
RC7	-6,34
Аспирин	-6,28
ProstaglandinI2	-6,25
RC5	-6,21
RC4	-6,16
OA6	-6,04
SC2	-5,97
SC10	-5,95
IL3	-5,91
IL11	-5,91
IL21	-5,6
EN53	-5,35
IL12	-4,87
IL23	-4,49
IL9	-3,02
EN35	2,83
EN37	3,81

Таким образом, в результате проведения молекулярного докинга было установлено, что наиболее перспективными соединениями для детального исследования на биологических моделях системы гемостаза организма человека определены соединения, выделенные из *Emeptrum nigrum* и относящиеся к производным флавоноидов (EN56), бибензила (EN19, EN48, EN15), 9,10-дигидрофенантрена (EN20, EN55), халконов (EN58, EN51) и дигидрохалконов (EN54, EN23, EN59, EN52), а также соединения, выделенные из *Rubus chamaemorus* и относящиеся к таннинам (RC14).

Пример взаимодействия индивидуального соединения EN55, ацетилсалициловой кислоты и ЦОГ 2-го типа представлена на Рисунке 24.



ЦОГ2 + ацетилсалици-
ловая кислота

ЦОГ2 + EN55

ЦОГ2 + ацетилсалици-
ловая кислота+EN55

Рисунок 24 – предполагаемая графическая модель взаимодействия EN55, ацетилсалициловой кислоты и ЦОГ 2-го типа

4.4 Имитационное моделирование времени образования сгустка в норме и при добавлении химических соединений, обладающих антиагрегантным действием

В результате проведенных теоретических исследований, принимая во внимание данные молекулярного докинга, можно обоснованно предположить,

что основным механизмом противосвертывающего действия соединений, выделенных *Empetrum nigrum*, будет взаимодействие с системой метаболизма арахидоновой кислоты путем ингибирования ЦОГ 2-го типа. Несмотря на то, что численные результаты не отвергают существование других механизмов действия, экспериментальное подтверждение этих предположений в настоящее время практически невозможно по причине отсутствия валидированных методик исследования соответствующих метаболических путей.

Первым шагом на пути создания подобных методик может стать создание математической имитационной модели, позволяющей описывать и прогнозировать ожидаемые эффекты, по крайней мере, на качественном уровне. В ходе выполнения диссертационного исследования была построена и реализована имитационная модель системы активации тромбоцитов и получены результаты численных экспериментов, на качественном уровне согласующиеся с результатами экспериментальных измерений.

За основу при построении модели были взяты результаты, полученные в работе Т. Wajima и соавт. [210]. Преимуществом имитационной модели, предложенной авторами, является возможность прямого моделирования теста протромбинового времени (РТ-тест). К сожалению, исходная модель не предусматривает возможности моделирования влияния противосвертывающих веществ, ингибирующих ЦОГ 2-го типа. Для исправления этого недостатка мы модифицировали исходную модель с использованием модели цикла арахидоновой кислоты, предложенной К. Yang и соавт. (2007) [100]. В модель коагуляции были добавлены дифференциальные уравнения, связывающие концентрации тромбина, фибриногена и фибрина с количеством активированных тромбоцитов. В модель активации тромбоцитов добавлены уравнения, изменяющие концентрацию фибриногена в плазме. Кроме того, обе модели были приведены к единой системе коэффициентов (размерности концентраций, кинетических констант и времени). Коэффициенты моделей подобраны с учетом имеющихся экспериментальных данных о времени образования сгустка, поэтому порог концентрации фибрина установлен эмпирически для обеспечения

соответствия результатам измерений. Модифицированная модель была реализована в виде программы для ЭВМ [35]. Свидетельство о регистрации представлено в Приложении 2.

Проведены численные исследования изменения времени образования сгустка в норме и при добавлении двух химических соединений, отобранных по результатам молекулярного докинга (из ряда EN55, EN56, EN48). Условия проведения эксперимента заданы следующие:

1) молярные концентрации химических соединений соответствуют терапевтическим молярным концентрациям ацетилсалициловой кислоты, применяемой для снижения активации тромбоцитов;

2) молярная концентрация сочетания соединений соответствует концентрации одного компонента;

3) расчеты проводятся без учета фармакокинетики и фармакодинамики исследуемых соединений, т.е. в условиях достижения равновесной концентрации.

Установлено, что в эквивалентных молярных концентрациях антиагрегантная активность выбранных химических соединений сравнима с активностью референсного препарата – ацетилсалициловой кислотой, что косвенно подтверждает результаты молекулярного докинга.

Сочетание двух химических соединений с одинаковым механизмом действия (ингибиторы циклоксигеназы) эквивалентно увеличению молярной концентрации любого из них и не приводит к появлению синергизма (Рисунок 25).

Точные значения времени образования сгустка и другие показатели *in vitro* могут быть получены путем идентификации параметров модели (подгонкой коэффициентов), однако это задача выходит далеко за рамки диссертационной работы.

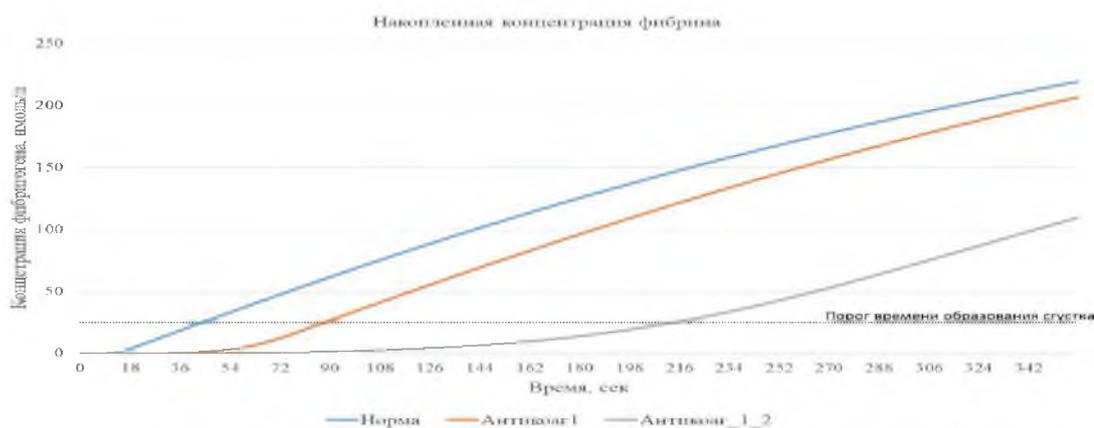


Рисунок 25 – Численное исследование возможного влияния выбранных химических соединений на время образования сгустка в виртуальном эксперименте

Значительным преимуществом имитационной математической модели является возможность проведения симуляционных экспериментов с изменением активности любых компонентов метаболических путей и прогнозированием возможных результатов экспериментов *in vivo*. В частности, выбор второго соединения с альтернативным механизмом действия может привести к значительному увеличению времени свертывания. Например, имитация добавления соединения EN35 с предположительным ингибирующим действием в отношении интегрин альфа2-бета3, приводит к значительному увеличению времени образования сгустка (на графике обозначено как *Антикоагул_1_2*).

Заключение к Главе 4

Современные численные методы, применяемые для поиска перспективных лекарственных кандидатов, имеют очень большой потенциал, однако существенно ограничены необходимостью построения верифицированных моделей, адекватно имитирующих метаболические процессы организма. Традиционно молекулярный докинг считается основным и зачастую единственным методом численных исследований при поиске новых лекарственных средств. В рамках данного диссертационного исследования

существенно дополнен арсенал инструментов для проведения исследований *in silico* и предложен новый подход, основанный на методологии прогнозирования биологической активности с использованием синтетической модели, включающей три компонента:

1) анализ и обобщение результата систем прогнозирования биологической активности химических соединений на основе методов искусственного интеллекта и обработки больших данных;

2) молекулярный докинг и моделирование взаимодействия рецептор-лиганд на уровне молекулярной динамики;

3) имитационные модели метаболических путей, позволяющие численно исследовать реакции биологических подсистем на различных уровнях.

Систематическое применение предложенного подхода позволяет прогнозировать биологические эффекты при одновременном воздействии нескольких химических соединений в разработке лекарственных средств сложного состава.

В результате предварительного анализа и обобщения результатов прогнозирования Way2Drug и SwissPredict возможных видов биологической активности система гемостаза организма человека определена как наиболее перспективная для последующего фармакологического скрининга методами *in silico* и *in vitro* с учётом возможности исследования биологического действия на наибольшее количество вероятных мишеней. Перспективным направлением может являться разработка новых препаратов противосвертывающего и антиагрегирующего действия на основе фенольных соединений растительного происхождения.

В результате проведения молекулярного докинга SwissPredict наиболее перспективными соединениями для детального исследования на биологических моделях системы гемостаза организма человека определены соединения, выделенные из *Emeptrum nigrum* и относящиеся к производным флавоноидов, бибензила, 9,10-дигидрофенантрена, халконов и дигидрохалконов, а также соединения, выделенные из *Rubus chamaemorus* и относящиеся к таннинам.

В ходе выполнения диссертационного исследования была построена и реализована имитационная модель системы активации тромбоцитов и получены результаты численных экспериментов, на качественном уровне согласующиеся с результатами экспериментальных измерений *in silico*. Разработан численный симулятор активации тромбоцитов, реализованный в виде программы для ЭВМ (Свидетельство RU 2023680120).

ГЛАВА 5 ИССЛЕДОВАНИЕ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ВЫДЕЛЕННЫХ СОЕДИНЕНИЙ

5.1 Скрининг полученных экстрактов и индивидуальных соединений в отношении системы гемостаза

Результаты исследования влияния суммарных экстрактов и индивидуальных веществ, выделенных из исследуемых растений на показатели активации и агрегации тромбоцитов, а также на показатели коагуляционного звена гемостаза представлены в Таблице 45.

Скрининг антикоагуляционной активности *in vitro* показал, что исследуемые растворы индивидуальных веществ показали различную степень выраженности влияния на плазменный компонент системы гемостаза, проявляющуюся изменением показателя внутреннего пути свертывания крови – АПТВ. В указанной концентрации растворы индивидуальных веществ не влияли на показатель концентрации фибриногена и протромбиновое время. Показатели удлинения АПТВ по отношению к контролю ни одного из исследуемых растворов выделенных индивидуальных веществ не превышали значения гепарина натрия.

Скрининг антиагрегационной активности *in vitro* показал, что растворы индивидуальных веществ под лабораторными шифрами EN-58, EN-53, EN-17, OA-1, OA-2, EN-23, RC-7, RC-4, IL-23, IL-22, IL-21, EN-35, EN-39, EN-37, IL-11, SC-2, SC-1, SC-10 проявили антиагрегационную активность на уровне ацетилсалициловой кислоты в условиях *in vitro* (по уровню снижения максимальной агрегации тромбоцитов – показатель МА в Таблице 45). Растворы веществ EN-56, EN-55, RC-14 и EN-48 проявили антиагрегационную активность, превосходящую значения ацетилсалициловой кислоты [5].

Следует отметить, что все перечисленные выше растворы, в отличие от ацетилсалициловой кислоты, удлиняли значения lag-периода, который характеризует «реакцию высвобождения тромбоцитов», что может

свидетельствовать о потенциально широком антиагрегационном эффекте исследуемых растворов. Растворы экстрактов *Empetrum nigrum*, *Solidago canadensis*, *Rubus chamaemorus*, *Iris lactea* и *Ononis arvensis* проявляли антиагрегационный эффект, при этом экстракты *Empetrum nigrum*, *Solidago canadensis*, *Rubus chamaemorus* ингибировали и латентный период до 5%. Примеры агрегатограмм экстрактов представлены на Рисунке 26.

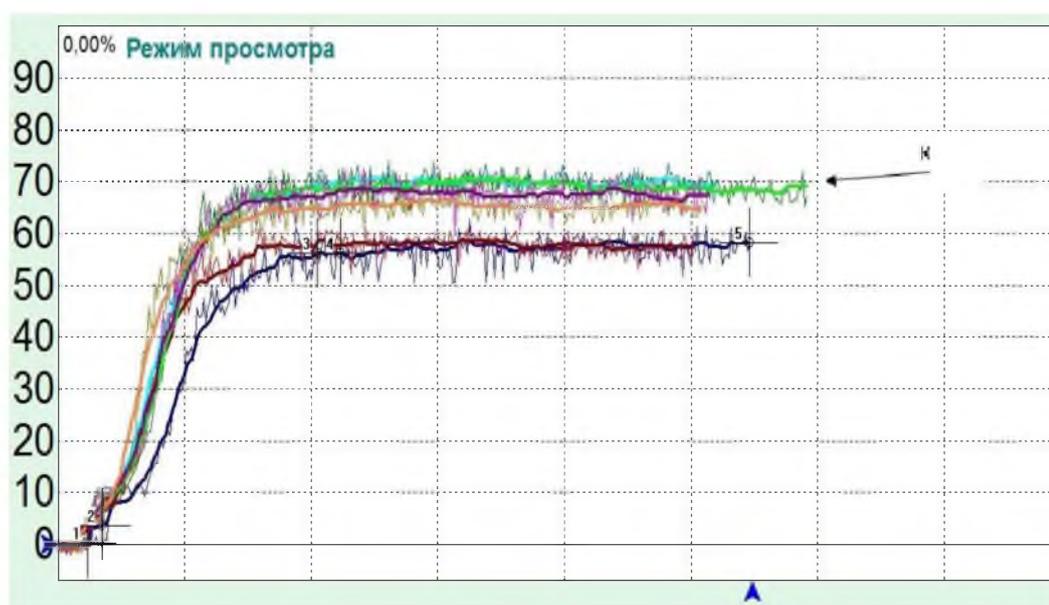
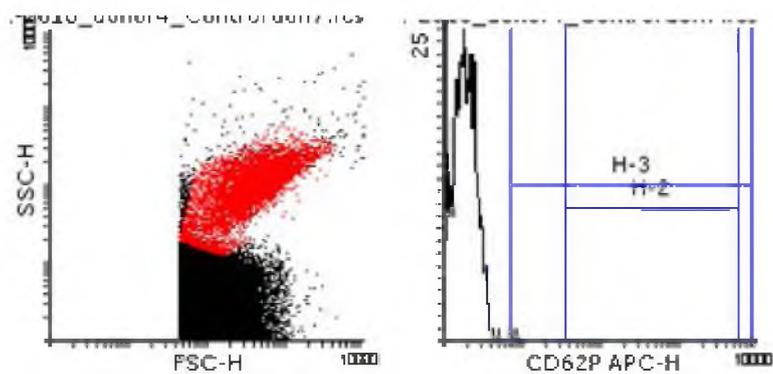
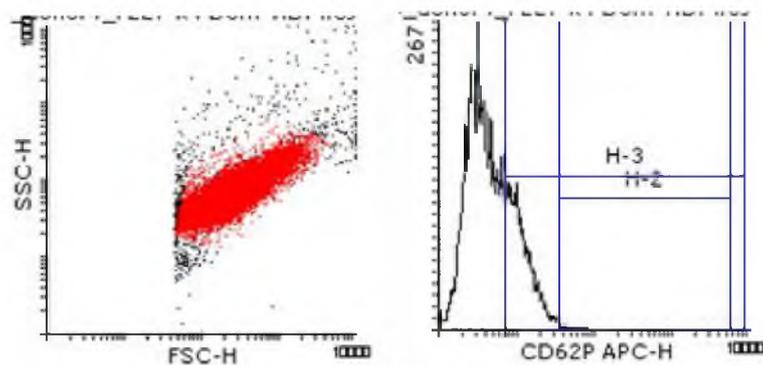


Рисунок 26 – Примеры агрегатограмм растворов экстрактов *Empetrum nigrum*, *Solidago canadensis*, *Rubus chamaemorus*, *Iris lactea*, *Ononis arvensis* и контроля (на графиках – К)

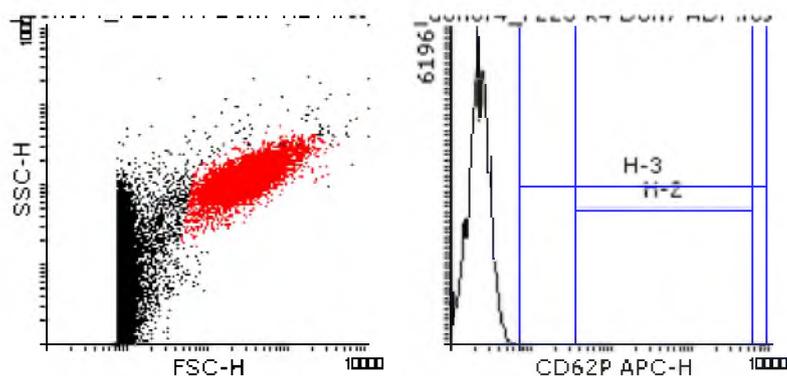
В результате скрининга активации тромбоцитов *in vitro* установлено, что растворы индивидуальных веществ EN54, EN15, RC-5, IL-10, IL-3, IL-9 и ацетилсалициловая кислота не влияли на уровень экспрессии CD62. Раствор вещества EN19 увеличивал экспрессию CD62. Растворы веществ EN20, RC6, IL-2, IL-12 слабо снижали экспрессию CD62. Остальные растворы индивидуальных соединений и экстрактов *Empetrum nigrum*, *Solidago canadensis*, *Rubus chamaemorus*, *Iris lactea*, *Ononis arvensis* полностью подавляли активацию тромбоцитов в изученных концентрациях (Рисунок 27).



a



б



в

Рисунок 27 – Примеры гистограмм: исходный уровень CD62 в контроле без активации (а), после активации АДФ (б) и в присутствии EN48 (в)

Таким образом, в результате скринингового исследования фармакологической активности *in vitro* в отношении системы гемостаза установлены вещества, обладающие антиагрегационной и антикоагуляционной активностью. Антиагрегационную активность на уровне ацетилсалициловой кислоты в условиях *in vitro* проявили индивидуальные вещества, относящиеся к производным халконов, дигидрохалконов, 9,10-дигидрофенантрена, гликозидов

глюкуроновых кислот, флавоноидов, изофлавоноидов, С-гликозидов флавоноидов и таннинов. Из 38 изученных индивидуальных веществ 4 вещества проявили антиагрегационную активность, превосходящую значения ацетилсалициловой кислоты: 3 вещества, выделенные из *Empetrum nigrum* (5,7-дигидрокси-6,8-диметилфлаванон, 5-гидрокси-2,3,4-триметокси-9,10-дигидрофенантрен, 1-(3-гидроксифенил)-2-(3,5-дигидрокси-4-метоксифенил)-этан) и 1 вещество, выделенное из *Rubus chamaemorus* (4-O- α -L-арабинофуранозилэллаговая кислота). Все четыре указанные соединения запатентованы в качестве средств, обладающих антиагрегационной активностью. Патенты RU 2806331, RU 2808460, RU 2811240, RU 2812630 представлены в Приложении № 2 к настоящей диссертационной работе. Полученные результаты скринингового исследования фармакологической активности *in vitro* выделенных из растительного сырья индивидуальных веществ в отношении системы гемостаза не противоречат и соответствуют результатам исследований *in silico*, которые отражены в Главе 4 настоящей диссертационной работы.

5.2 Определение взаимного влияния активных компонентов, выделенных из суммарных экстрактов

На данном этапе настоящего исследования предполагалось изучить вклад выделенных индивидуальных веществ в фармакологическую активность суммарных экстрактов растений, оценить взаимодействие индивидуальных соединений друг с другом при эквимольном смешении.

В результате выполненного скрининга установлено, что наиболее перспективным для дальнейшего изучения с целью последующей разработки средств для лечения сосудистой и кровеносной систем является экстракт *Empetrum nigrum*, из которого были получены индивидуальные соединения под шифрами EN-56, EN-55 и EN-48. В ходе эксперимента было изучено влияние на систему гемостаза смесей данных индивидуальных соединений при помощи серии опытов по последовательному введению в реакционную среду данных

соединений до достижения целевой концентрации 2,5 мг/кг и серии опытов с параллельным приготовлением растворов данных соединений до целевых значений концентраций в условиях *ex temporare*. Результаты описанного эксперимента демонстрируют отсутствие различий между двумя способами введения выделенных из экстрактов индивидуальных компонентов (Рисунок 28).

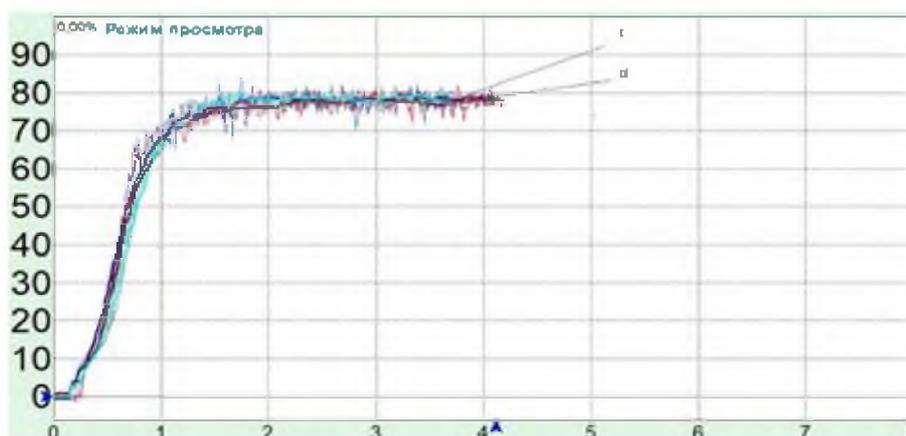


Рисунок 28 – Показатели агрегации тромбоцитов при последовательном введении в реакционную среду соединений EN-56 и EN-55 (I) и пробы со смешением до целевого значения концентраций в условиях *ex temporare* (II)

Эмпирические данные, указанные в таблице 45, свидетельствуют о том, что смешение индивидуальных соединений EN-56, EN-55 и EN-48 не привело к изменению активности в отношении процессов активации тромбоцитов (индивидуальные вещества и их смеси не вызывают активацию тромбоцитов и полностью подавляют активацию АДФ).

Наибольший интерес представляют результаты по оценке антиагрегационного и антикоагуляционного действия растворов индивидуальных соединений и их смесей. Установлено, что эквимольное смешение индивидуальных соединений EN-56, EN-55 и EN-48 приводит к снижению антиагрегационной и антикоагуляционной активности (возможно, за счет относительного снижения наиболее активных компонентов в растворе (эффект разбавления), либо за счет конкурирующего взаимодействия за одну мишень).

В завершение настоящего исследования проводили сравнительную оценку влияния на показатели агрегации тромбоцитов растворов выделенных индивидуальных соединений и соответствующих растворов суммарных экстрактов изученных растений (Таблица 45).

Установлено, что из экстракта *Empetrum nigrum*, проявляющего антиагрегационную активность на уровне ацетилсалициловой кислоты, выделено 17 индивидуальных соединений. 8 соединений проявили антиагрегационную активность, сопоставимую со значениями показателей активности экстракта *Empetrum nigrum* L. Однако соединения EN-48, EN-55 EN-56 проявили антиагрегационную активность, превосходящую значения исходного экстракта в среднем в 1,7 раза. Соединения под шифрами EN-56, EN-51, EN-58, EN-59, EN-48, EN-35, EN-39 и EN-37 удлиняли lag-период эффективнее экстракта более чем в 3 раза, а также удлиняли АПТВ более чем в 1,5 раза.

Из экстракта *Ononis arvensis* было выделено три индивидуальных соединения. Соединение ОА-2 проявило антиагрегационную активность, превосходящую таковую у ацетилсалициловой кислоты, а соединение ОА-1 подавляло агрегацию тромбоцитов на уровне ацетилсалициловой кислоты и исходного экстракта. Важно отметить, что оба соединения эффективнее ацетилсалициловой кислоты пролонгируют lag-период, который соответствует «реакции высвобождения тромбоцитов», при этом у суммарного экстракта *Ononis arvensis* данный эффект отсутствует. Также установлено, что соединения ОА-1, ОА-2 и ОА-6 увеличивают АПТВ более чем в 3 раза по сравнению с исходным экстрактом.

Среди пяти индивидуальных выделенных веществ, выделенных из *Rubus chamaemorus*, соединения RC-14, RC-7 и RC-4 проявили антиагрегационную активность, превосходящую значения суммарного экстракта по показателям удлинения lag-периода и снижения максимальной амплитуды. Соединение RC-5 подавляло агрегацию тромбоцитов на уровне экстракта. Следует отметить, что все выделенные индивидуальные вещества в среднем эффективнее в 2 раза увеличивали АПТВ по сравнению с экстрактом.

Таблица 45 – Влияние растительного сырья и препаратов сравнения на показатели системы гемостаза, Me (0,25-0,75).

№	Шифр	Латентный период, % к контролю	Максимальная амплитуда, % к контролю	Скорость агрегации, % к контролю	Время достижения МА, % к контролю	Удлинение АПТВ, % к контролю	CD62	
							АДФ-	АДФ+
1.	EN-56	+23,6 (22,7-25,0)**, ##, α	-19,5 (16,8-21,6)**, #, α	-19,7 (18,9-21,2)*, #, α	-21,2 (19,0-22,4)**, ##, α	7,3 (5,6-10,2)*	1,1 (0,9-1,2)*	1,0 (0,8-1,2)**, ‡
2.	EN-51	+15,0 (13,1-16,7)*, ##, α	-3,6 (2,0-5,7)#, α	-11,0 (9,8-12,1)*, α	-17,9 (15,7-19,6)*, ##, α	8,7 (6,1-10,3)*	1,4 (1,2-1,6)*	1,2 (1,1-1,4)**, ‡
3.	EN-58	+12,5 (10,6-14,9)*, ##, α	-16,6 (15,7-18,5)*, α	-21,5 (17,7-24,5)**, ##, α	+7,6 (5,6-10,3)*	9,2 (6,3-10,7)*	1,2 (1,1-1,4)*	1,4 (1,2-1,5)**, ‡
4.	EN-53	+2,3 (1,4-4,8)#	-15,4 (14,3-17,8)*, α	-12,6 (10,4-15,9)*, α	+14,8 (12,6-18,9)**, #	6,6 (5,8-7,5)*	1,3 (1,1-1,4)*	1,1 (1,0-1,4)**, ‡
5.	EN-17	+7,6 (6,7-8,3)*, ##	-12,9 (10,9-14,7)*	+2,9 (2,5-3,3)##, α	-1,0 (0,6-1,6)#, α	10,1 (9,6-11,2)*, α	1,4 (1,3-1,5)*	1,2 (1,1-1,5)**, ‡
6.	EN-55	+5,1 (4,4-8,6)#	-20,4 (18,5-23,9)**, #, α	-28,4 (24,6-30,2)**, ##, α	+21,4 (15,4-24,8)**, #, α	8,4 (7,5-11,3)*	1,2 (1,0-1,4)	1,4 (1,2-1,6)**, ‡
7.	EN-20	+0,3 (0,5-1,5)#, α	-0,7 (0,4-1,1)##, α	+17,4 (15,8-19,6)*, ##, α	-20,3 (18,8-22,4)**, ##, α	9,3 (8,2-11,7)* α	1,2 (1,1-1,4)*	12,3 (10,5-14,6)**, ‡‡
8.	EN-23	+3,0 (1,9-4,8)#	-16,6 (14,7-17,8)*, α	-12,6 (10,4-15,9)*, α	+14,8 (12,6-18,9)**, #	7,6 (6,5-9,3)*	1,1 (1,0-1,3)*	1,3 (1,2-1,4)**, ‡
9.	EN-52	+4,5 (3,9-5,6)#	-6,1 (5,0-7,1)*, ##, α	-3,1 (2,6-3,8)#	+11,5 (10,6-14,4)*	8,4 (7,9-9,6)*	1,2 (1,1-1,4)*	1,3 (1,1-1,6)**, ‡
10.	EN-54	-2,0 (0,3-3,9)α	-1,1 (0,5-1,6)#, α	-3,7 (1,3-4,1)##	-7,3 (5,3-9,6)*, ##, α	7,5 (6,7-9,2)*	1,3 (0,9-1,4)*	18,9 (19,4-22,5)*, ‡‡
11.	EN-59	+13,0 (10,2-16,1)*, ##, α	-10,3 (8,5-13,7)*	-31,2 (27,4-35,7)**, #, α	-3,6 (2,0-4,5)##, α	5,7 (4,3-8,3)*	1,1 (1,0-1,4)*	1,2 (1,1-1,4)**, ‡
12.	EN-15	-17,1 (15,6-18,7)*, #, α	-6,7 (4,7-9,1)*, #	-7,9 (6,7-8,5)*	-9,1(6,7-11,4)*, ##, α	9,6 (8,3-11,4)*, α	1,2 (1,1-1,4)*	17,1 (15,6-18,3)*, ‡‡
13.	EN-19	-25,2 (21,7-28,7)**, ##, α	-4,8 (3,9-5,5)#, α	+2,0 (1,1-3,8)##, α	-37,8 (28,5-34,4)**, ##, α	2,7 (1,2-3,5)	1,3 (0,8-1,5)*	21,7 (19,7-25,4)**, ‡‡

Продолжение Таблицы 45

№	Шифр	Латентный период, % к контролю	Максимальная амплитуда, % к контролю	Скорость агрегации, % к контролю	Время достижения МА, % к	Удлинение АПТВ, % к контролю	CD62	
							АДФ-	АДФ+
14.	EN-48	+21,7 (20,3-23,8)**, ##, α	-19,4 (17,8-21,5)**, #, α	-15,4 (13,7-18,7)*, #, α	-18,9 (16,4-20,3)**, ##, α	7,4 (7,1-9,5)*	1,2 (1,1-1,4)*	1,4 (1,2-1,5)**, ‡
15.	EN-35	+24,2 (22,9-26,2)**, ##, α	-16,5 (13,2-18,9)*, α	-27,3 (26,3-28,1)**, ##, α	-32,6 (29,2-34,4)**, ##, α	8,6 (6,1-10,9)*	1,4 (1,2-1,5)*	1,1 (0,9-1,3)**, ‡
16.	EN-39	+11,9 (10,7-15,6)*, ##, α	-15,0 (12,4-16,0)*, α	-12,2 (11,0-14,4)*, α	-26,8 (24,5-28,8)**, ##, α	5,2 (4,1-7,6)*	1,1 (0,9-1,2)*	1,2 (1,1-1,5)**, ‡
17.	EN-37	+29,0 (25,7-31,5)**, ##, α	-16,8 (14,5-18,3)*, α	-10,0 (8,7-10,6)*, α	-13,5 (11,5-15,4)*, ##, α	4,8 (3,7-6,9)*	1,3 (1,1-1,5)*	1,4 (1,2-1,5)**, ‡
18.	EN-56 + EN-55	+16,7 (14,3-18,5)**, #, α	-15,3 (14,8-16,3)**, α	-21,3 (19,8-22,6)**, #, α	-12,5 (10,4-13,9)*, ##, α	6,9 (5,2-8,1)*	1,4 (1,3-1,5)*	1,2 (1,1-1,5)**, ‡
19.	EN-56 + EN-48	+21,5 (18,3-23,6)**, #, α	-17,3 (15,8-19,5)**, α	-16,3 (15,3-18,1)**, #, α	-13,4 (10,5-14,7)*, ##, α	7,2 (7,1-8,5)*	1,2 (1,0-1,4)	1,4 (1,2-1,6)**, ‡
20.	EN-55 + EN-48	+18,5 (16,3-20,7)**, #, α	-16,9 (14,7-18,3)**, α	-17,1 (15,8-19,3)**, #, α	-10,1 (8,7-13,5)*, #, α	6,1 (5,4-7,3)*	1,1 (0,7-1,2)*	1,5 (1,2-1,7)**, ‡
21.	EN-56 + EN-55 + EN-48	+20,7 (18,3-22,9)**, #, α	-13,9 (11,4-14,8)**	-10,5 (8,9-12,7)*	-8,7 (7,4-10,3)*, #, α	5,3 (4,7-6,9)*	1,2 (0,9-1,4)*	1,1 (0,5-1,4)**, ‡
22.	<i>Empetrum nigrum</i>	+4,7 (3,9-5,8)*, #	-11,4 (10,5-13,9)*	-6,1 (5,8-8,3)*	+10,3 (8,7-12,5)*	4,9 (4,7-5,9)*	1,0 (0,9-1,2)*	1,2 (1,1-1,4)**, ‡
23.	RC-6	+14,8 (13,2-16,5)*, ##, β	-0,5 (0,2-0,9)##, β	+17,2 (15,6-19,4)*, ##, β	-21,1 (18,7-22,3)**, ##, β	8,4 (7,5-11,3)*, β	1,4 (1,2-1,5)*	11,3 (10,7-13,5)*, ‡‡

Продолжение Таблицы 45

№	Шифр	Латентный период, % к контролю	Максимальная амплитуда, % к контролю	Скорость агрегации, % к контролю	Время достижения МА, % к	Удлинение АПТВ, % к контролю	CD62	
							АДФ–	АДФ+
24	RC-14	+14,9 (14,1-17,8)*, ##, β	-19,1 (16,8-20,7)**, #, β	-13,9 (12,8-17,1)*, #, β	-23,0 (21,6-27,9)**, ##	6,2 (5,1-7,3)*, β	1,1 (0,8-1,3)*	1,1 (0,9-1,2)**, ‡
25	RC-7	+10,4 (7,9-14,7)*, #	-12,8 (10,5-14,6)*, β	-17,4 (14,7-19,0)**, #, β	+34,8 (30,2-38,5)**, #, β	9,4 (8,2-10,7)*, β	1,1 (1,0-1,3)*	1,5 (1,2-1,6)**, ‡
26	RC-4	+23,1 (22,2-24,5)**, ##, β	-12,5 (11,9-14,1)**, β	-19,1 (18,3-20,6)*, #, β	-20,7 (18,5-21,9)**, ##, β	6,4 (5,5-8,9)*, β	1,3 (1,2-1,4)*	1,2 (1,1-1,4)**, ‡
27	RC-5	-17,9 (14,8-19,4)*, ##, β	-9,1 (7,6-10,7)*, #	+4,4 (3,8-5,0)#, β	-10,7 (6,8-13,7)*, ##, β	8,1 (6,2-9,3)*, β	1,4 (1,1-1,5)*	15,3 (13,7-17,2)*, ‡‡
28	<i>Rubus Chamaemorus</i>	+3,1 (2,9–4,5)*, #	-7,4 (6,1–8,8)*, #	-7,4 (5,6–10,3)*	-27,4 (25,3–30,2)**, ##	3,1 (2,5-4,3)	1,2 (0,9-1,2)*	1,1 (0,9-1,3)**, ‡
29	IL-23	+13,3 (10,5-16,4)*, ##, γ	-10,6 (8,8-14,0)*	-31,5 (27,7-36,0)**, #	-3,5 (1,9-4,4)## γ	4,6 (2,5-7,7)	1,0 (0,8-1,2)*	1,3 (1,1-1,5)**, ‡
30	IL-22	+28,7 (25,8-30,9)**, ##, γ	-17,3 (15,4-19,2)*, #	-8,3 (6,7-9,1)*, γ	-17,6 (14,3-20,9)*, ##, γ	6,5 (4,7-9,6)*, γ	1,2 (1,1-1,5)*	1,5 (1,4-1,6)**, ‡
31	IL-21	+24,9 (21,7-28,3)**, ##, γ	-16,9 (15,2-18,7)*	-7,9 (6,1-10,3)*	-19,4 (16,2-22,1)*, ##, γ	3,2 (2,8-5,4)	1,5 (1,2-1,6)*	1,3 (1,1-1,5)**, ‡
32	IL-2	-6,5 (5,2-7,4)*, ##	-10,5 (7,3-12,7)*, γ	-15,6 (14,3-16,6)*, #, γ	-25,9 (24,3-28,5)**, ##, γ	10,3 (8,5-12,7)*, γ	1,3 (1,1-1,6)*	9,4 (7,8-10,5)*, ‡‡
33	IL-10	+1,0 (0,3-2,2)#, γ	+8,2 (7,3-10,4)*, ##, γ	+1,6 (0,7-3,4)##, γ	-10,4 (7,3-13,2)*, #, γ	11,2 (8,8-12,1)*, γ	1,4 (1,1-1,7)*	16,3 (14,5-19,2)*, ‡‡

Продолжение Таблицы 45

№	Шифр	Латентный период, % к контролю	Максимальная амплитуда, % к контролю	Скорость агрегации, % к контролю	Время достижения МА, % к	Удлинение АПТВ, % к контролю	CD62	
							АДФ-	АДФ+
34	IL-12	-3,1 (1,1-4,4) γ	+3,6 (2,2-5,4)### γ	+18,4 (17,6-19,7)*, ##, γ	+1,8 (1,4-2,0)#, γ	7,5 (4,3-10,6)*, γ	1,2 (1,1-1,4)*	13,2 (11,1-15,4)**, ††
35	IL-3	-3,7 (1,9-4,6) γ	+7,1 (5,5-8,0)*, ##, γ	+27,7 (24,3-29,6)**, ##, γ	-24,3 (20,3-28,1)**, ##, γ	9,2 (6,7-10,6)*, γ	1,3 (1,1-1,5)*	16,8 (13,4-18,5)*, ††
36.	IL-9	-5,9 (5,1-7,6)*,##	-6,7 (5,1-7,8)*, ##, γ	-13,8 (10,6-17,7)*, γ	-11,8 (10,4-13,5)*, ##, γ	10,4 (8,9-11,8)*, γ	1,1 (0,8-1,3)*	19,2 (16,3-20,1)*, ††
37.	IL-11	+18,0 (16,6-21,3)*, ##, γ	-14,7 (13,4-17,5)*	-15,8 (14,5-17,4)*, #, γ	-29,4 (26,7-32,3)**, ##, γ	7,3 (6,2-10,1)*, γ	1,4 (1,2-1,5)*	1,2 (0,9-1,5)*, †
38.	<i>Iris Lactea</i>	-8,7 (7,4-10,1)*, #	-17,4 (14,5-19,7)**, #	-28,3 (25,6-30,4)**, ##	+10,1 (8,3-11,7)*	3,1 (2,8-3,5)	1,1 (1,1-1,2)*	1,3 (1,2-1,4)**, ‡
39.	SC-2	+19,1 (16,6-22,5)*, ##, μ	-11,0 (8,6-12,7)*	+32,6 (30,8-34,5)**, ##, μ	-30,6 (27,9-32,5)**, ##, μ	4,6 (3,4-5,8)	1,2 (1,1-1,4)*	1,0 (0,8-1,2)**, ‡
40.	SC-1	+31,3 (28,9-35,3)**, ##, μ	-13,9 (11,7-15,3)*	-16,1 (14,6-17,5)*, #	-21,7 (18,9-23,8)**, ##, μ	7,2 (5,4-9,7)*, μ	1,3 (1,1-1,5)*	1,3 (1,1-1,6)**, ‡
41.	SC-10	+29,1 (24,9-29,9)**, ##, μ	-14,7 (13,9-17,1)*	-12,6 (10,9-15,8)*	-24,7 (23,3-29,8)**, ##, μ	5,9 (4,2-7,6)*	1,5 (1,2-1,6)*	1,1 (0,8-1,3)**, ‡
42.	SC-3	+6,3 (6,0-7,3)*, #	-2,1 (1,5-3,3)#, μ	+12,6 (10,5-15,2)*, #, μ	-20,8 (18,5-24,4)**, ##, μ	3,2 (3,1-5,5)	1,2 (1,1-1,4)*	1,3 (1,1-1,5)**, ‡
43.	<i>Solidago Canadensis</i>	+8,4 (7,3-9,7)*, #	-12,3 (9,4-13,5)*	-13,5 (11,7-15,6)*, #	-7,2 (5,1-9,4)##	4,7 (3,5-5,1)	1,3 (1,2-1,4)*	1,3 (1,2-1,5)**, ‡

Продолжение Таблицы 45

№	Шифр	Латентный период, % к контролю	Максимальная амплитуда, % к контролю	Скорость агрегации, % к контролю	Время достижения МА, % к контролю	Удлинение АПТВ, % к контролю	CD62	
							АДФ-	АДФ+
44.	ОА-1	+30,2 (24,9-29,9)**, ##, Δ	-14,6 (13,9-17,1)*, Δ	-12,1 (10,8-15,7)*, Δ	-24,7 (23,3-29,8)**, ##, Δ	11,1 (9,3-12,1)*, Δ	1,1 (0,7-1,2)*	1,5 (1,2-1,7)**, ‡
45.	ОА-2	+30,0 (25,7-31,5)**, ##, Δ	-16,5 (14,6-18,3)*, #, Δ	-10,0 (8,7-10,6)*, Δ	-13,6 (11,6-15,5)*, ##	7,3 (5,6-10,2)*, Δ	1,2 (0,9-1,4)*	1,1 (0,5-1,4)**, ‡
46.	ОА-6	+0,6 (0,3-1,6)#, Δ	-3,7 (2,1-5,8)#	-11,1 (9,9-12,2)*, Δ	-18,0 (15,8-19,7)*, ##	9,4 (7,2-11,7)*, Δ	1,4 (1,2-1,6)*	1,4 (1,3-1,7)**, ‡
47.	<i>Ononis Arvensis</i>	-7,8 (5,6-9,4)*, #	-11,5 (8,7-13,9)*	-24,7 (22,8-25,7)	-14,3 (12,6-18,5)	2,4 (2,1-3,5)	1,3 (1,2-1,4)*	1,2 (1,1-1,4)**, ‡
48.	Ацетилсалициловая кислота	-2,1 (1,1-2,6)	-13,7 (10,8-16,4)*	-10,5 (7,6-12,3)*	+10,5 (8,7-13,4)*	-	1,3 (1,1-1,4)*	16,4 (14,5-17,3)*, ‡‡
49.	Пентоксифиллин	-	-	-	-	-	1,2 (1,1-1,4)*	1,5 (0,7-1,1)**, ‡
50.	Гепарин натрия	-	-	-	-	20,3 (19,7-21,4)*	-	-

Примечание. * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.001$ - в сравнении с контролем; # $p \leq 0.05$, ## $p \leq 0.001$ - в сравнении с ацетилсалициловой кислотой; $\alpha p \leq 0.05$ - в сравнении с экстрактом *Empetrum Nigrum*; $\beta p \leq 0.05$ - в сравнении с экстрактом *Rubus Chamaemorus*; $\gamma p \leq 0.05$ - в сравнении с экстрактом *Iris Lactea*; $\mu p \leq 0.05$ - в сравнении с экстрактом *Solidago Canadensis*; $\Delta p \leq 0.05$ - в сравнении с экстрактом *Ononis Arvensis*; соединения vs гепарин натрия при $p \leq 0.05$. уровень статистической значимости различий признаков групп после активации АДФ: ‡ - $p > 0,05$, ‡‡ - $p \leq 0,05$. CD62АДФ- - экспрессия CD62 до воздействия АДФ, CD62АДФ+ - экспрессия CD62 после воздействия АДФ. n=6.

Экстракт *Iris lactea* проявил антиагрегационную активность, превосходящую значения ацетилсалициловой кислоты. Медиана снижения показателя МА для данного экстракта составила 17,4 %, против 13,4 % значений ацетилсалициловой кислоты. Среди девяти выделенных индивидуальных соединений из *Iris lactea* вещества IL-23, IL-11, IL-21, IL-2 проявили активность на уровне референтного антиагреганта, а соединение IL-22 оказывало эффект на уровне экстракта. Однако IL-23, IL-22, IL-21 и IL-11 эффективнее экстракта пролонгировали lag-период в среднем на 25 %, а соединения IL-22, IL-2, IL-10, IL-12, IL-3, IL-9 и IL-11 увеличивали АПТВ более чем в 2 раза по сравнению с экстрактом.

Из четырех веществ, выделенных из *Solidago canadensis* L., индивидуальные соединения SC-2, SC-1, SC-10 подавляли агрегацию тромбоцитов на уровне исходного экстракта и ацетилсалициловой кислоты, однако эффективнее более чем в 2,5 раза удлиняли lag-период и АПТВ.

Таким образом, активность ряда индивидуальных соединений превосходит как антиагрегационную, так и антикоагуляционную активность суммарных экстрактов растений, из которых они были выделены.

Заключение к Главе 5

В результате скрининга фармакологической активности выделенных индивидуальных веществ и суммарных экстрактов *in vitro* на моделях системы гемостаза организма человека установлено, что индивидуальные фенольные соединения, выделенные из *Empetrum nigrum*, *Rubus chamaemorus*, *Iris lactea*, *Ononis arvensis* и *Solidago canadensis*, обладают выраженной антиагрегационной активностью, сопоставимой, а в ряде случаев превышающую таковую у референтного препарата – ацетилсалициловой кислоты. При этом активность ряда индивидуальных соединений в стандартной концентрации 1,0 мг/мл превосходит как антиагрегационную, так и антикоагуляционную активность суммарных экстрактов растений в аналогичной концентрации, из которых они были выделены.

Антиагрегационную активность на уровне ацетилсалициловой кислоты в условиях *in vitro* проявили индивидуальные вещества, относящиеся к производным халконов, дигидрохалконов, 9,10-дигидрофенантрена, гликозидов глюкуроновых кислот, флавоноидов, изофлавоноидов, С-гликозидов флавоноидов и таннинов.

Из 38 изученных индивидуальных веществ 4 вещества проявили антиагрегационную активность, превосходящую значения ацетилсалициловой кислоты: 3 вещества, выделенные из *Empetrum nigrum* (**5,7-дигидрокси-6,8-диметилфлаванон**, **5-гидрокси-2,3,4-триметокси-9,10-дигидрофенантрен**, **1-(3-гидроксифенил)-2-(3,5-дигидрокси-4-метоксифенил)-этан**) и 1 вещество, выделенное из *Rubus chamaemorus* (**4-O- α -L-арабинофуранозилэллаговая кислота**). Все 4 указанные соединения запатентованы в качестве средств, обладающих антиагрегационной активностью (RU 2806331, RU 2808460, RU 2812630, RU 2811240). Таким образом, определены 4 наиболее перспективных лекарственных кандидата-лидера для последующей фармацевтической разработки средств для лечения заболеваний сосудистой и кровеносной систем.

Установлено, что эквимольное смешение растворов кандидатов-лидеров приводит к снижению антиагрегационной и антикоагуляционной активности исследуемых растворов, но не приводит к изменению активности в отношении процессов активации тромбоцитов.

Полученные результаты скринингового исследования фармакологической активности *in vitro* выделенных из растительного сырья индивидуальных веществ в отношении системы гемостаза не противоречат и соответствуют результатам исследований *in silico*, которые отражены в главе 4 настоящей диссертационной работы, что указывает на высокую степень достоверности используемых прогностических моделей.

ГЛАВА 6 БАЗОВЫЙ АЛГОРИТМ И ОСНОВНЫЕ ПРИНЦИПЫ МЕТОДОЛОГИИ ПОИСКА ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ КАНДИДАТОВ НА ОСНОВЕ ИНДИВИДУАЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

В результате выполненного диссертационного исследования разработана и предложена методология поиска потенциальных лекарственных кандидатов на основе индивидуальных веществ растительного происхождения. Воспроизводимость методологии была апробирована на классе полифенольных соединений.

Базовый алгоритм методологии представлен на Рисунке 29 и включает следующие этапы исследования:

1. Выбор объектов исследования, отвечающих основным научно-практическим критериям: а) преобладающей химической группой веществ в объектах исследования являются фенольные соединения; б) изучаемые растения относятся к различным таксономическим группам (семействам); в) изучаемые растения являются преимущественно дикорастущими, должны иметь обеспеченную сырьевую базу и потенциал к культивированию; г) в качестве материала для исследования рационально использовать надземные части растений как наиболее легко воспроизводимые источники основных вторичных метаболитов.

2. Заготовка сырья и выделение индивидуальных соединений целевой химической группы, точная идентификация их химической структуры.

3. Оценка потенциала биологической активности выделенных индивидуальных соединений *in silico* с интегральным использованием компьютерных сервисов Way2Drug и SwissPredict; определение наиболее перспективной модельной системы организма человека для изучения биологического действия исследуемых индивидуальных соединений на наибольшее количество вероятных мишеней.

4. Скрининг потенциальной фармакологической активности выделенных индивидуальных соединений *in silico* с использованием сервиса SwissPredict, анализируя вероятные сочетанные эффекты на большинство мишеней в исследуемых метаболических путях, для прогностического определения целевой группы перспективных лекарственных кандидатов.

5. Скрининг фармакологической активности выделенных индивидуальных веществ на воспроизводимых моделях выбранной системы организма человека *in vitro*; определение целевой группы перспективных лекарственных кандидатов-лидеров.

6. Изучение взаимного влияния лекарственных кандидатов-лидеров при эквимольном смешении на фармакологическую активность на воспроизводимых моделях выбранной системы организма человека *in vitro*.

Основные принципы методологии, которые определяют теоретические и практические особенности проведения исследований, обеспечивают воспроизводимость научных экспериментов, состоят в следующем [19]:

1. Выделение индивидуальных веществ единой химической группы из растительного сырья по универсальной неизбирательной методике;

2. Обеспечение относительной химической чистоты выделенных индивидуальных соединений, недопустимость примесей веществ сходной химической структуры;

3. Применение современных физико-химических методов анализа (ЯМР-спектроскопия и масс-спектрометрия высокого разрешения) для точного установления и подтверждения химической структуры молекул выделенных веществ, в том числе для определения изомеров, конформеров и др.

4. Выделение достаточного количества по массе индивидуальных веществ для осуществления последующего фармакологического скрининга и выбора целевых наиболее перспективных субстанций, предполагаемых к дальнейшей разработке.

5. Применение сочетанного фармакологического скрининга *in silico* для установления оптимальной экспериментальной системы организма и уточнения модели фармакологического скрининга *in vitro*.

6. Выбор оптимальной модели фармакологического скрининга *in vitro*, позволяющей прямо или опосредованно изучить эффективность действия индивидуальных соединений растительного происхождения на максимальное число органов и систем организма.

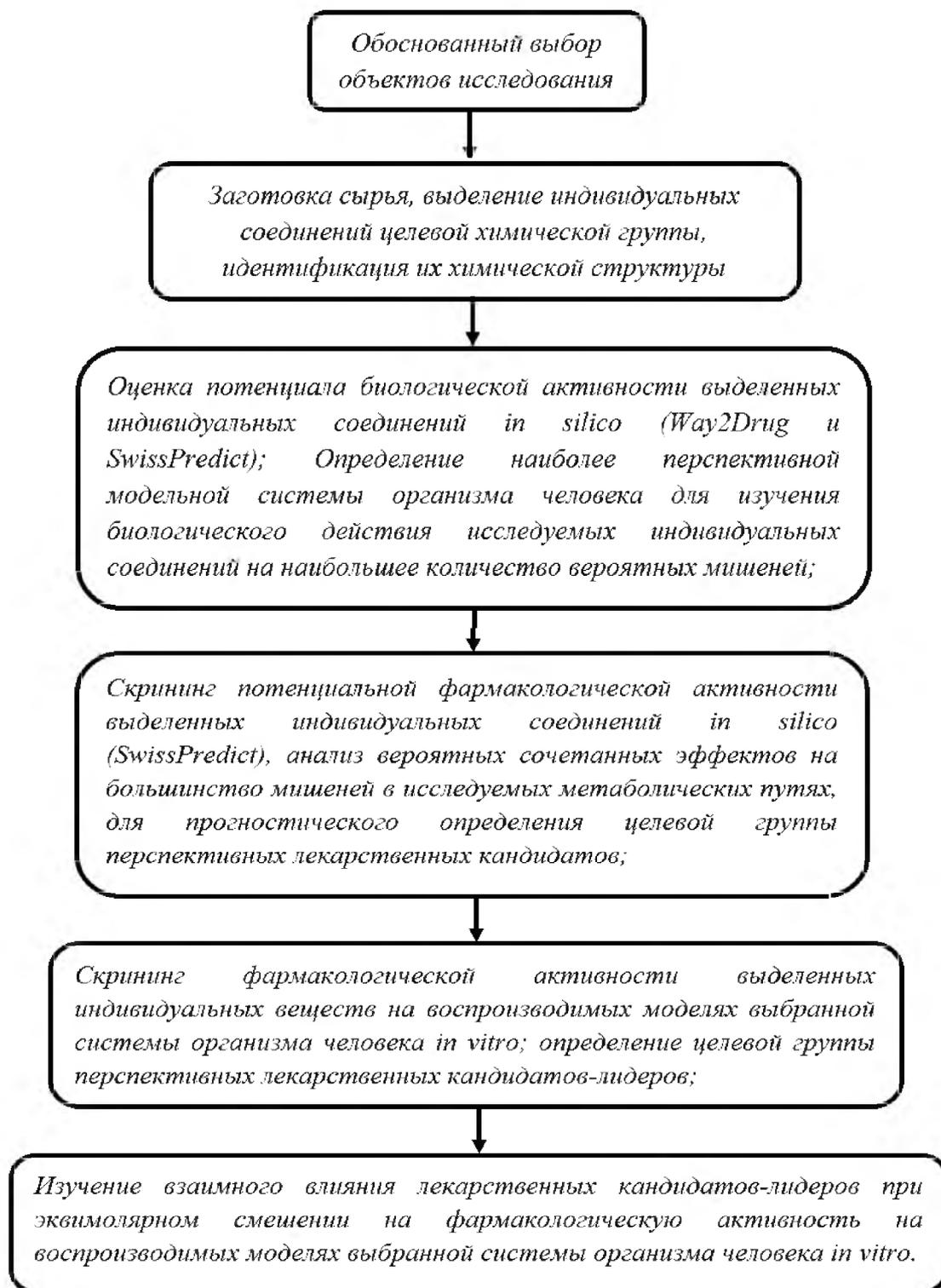


Рисунок 29 – Базовый алгоритм методологии исследования

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. На основании данных изученной литературы предложены критерии и обоснован выбор растительных объектов диссертационной работы, а также определены методы комплексного экспериментального исследования. В результате, в качестве объектов исследования выбраны надземные части *Empetrum nigrum*, *Iris lactea*, *Ononis arvensis*, *Solidago canadensis* и листья *Rubus chamaemorus*. Все указанные объекты соответствуют следующим критериям: а) преобладающей химической группой веществ в объектах исследования являются фенольные соединения; б) изучаемые растения относятся к различным таксономическим группам (семействам); в) изучаемые растения являются преимущественно дикорастущими, должны иметь обеспеченную сырьевую базу и потенциал к культивированию; г) в качестве материала для исследования рационально использовать надземные части растений как наиболее легко воспроизводимые источники основных вторичных метаболитов. Для выполнения задач диссертационной работы выбраны методы химического анализа и разделения: колоночной хроматография, ВЭЖХ, масс- и ЯМР-спектроскопия. Для проведения фармакологического скрининга выбраны как современные методы *in silico*, так и традиционные методы *in vitro*, которые в данном случае являются более релевантными и воспроизводимыми по сравнению с методами *in vivo*.

2. Проведено подробное исследование фенольных соединений, содержащихся в надземной части *Empetrum nigrum*, *Iris lactea*, *Ononis arvensis*, *Solidago canadensis* и листьях *Rubus chamaemorus*. В результате выделены и структурно идентифицированы 38 индивидуальных соединений, 8 из которых являются новыми природными. Из надземной части *Empetrum nigrum* выделены 1 производное флавоноидов, 3 таннина, 3 производных бибензила (из них новое природное соединение – **1-(3,5-дигидрокси-4-метоксифенил)-2-фенил этан**), 4 производных 9,10-дигидрофенантрена (из них новое природное соединение – **6-гидрокси-2,3,4-триметокси-9,10-дигидрофенантрен**), 4 производных

дигидрохалконов (из них новое природное соединение – **2', 4'-диметокси дигидрохалкон**), 2 производных халкона. Из листьев *Rubus chamaemorus* выделены 3 производных гликозидов глюкуроновых кислот, 2 таннина (из 1 новое природное соединение – **4-O- α -L-арабинофуранозилэллаговая кислота**). Из надземной части *Iris lactea* выделены 8 производных С-гликозидов флавоноидов (из них 4 новых природных соединения – **5-гидрокси-7,4'-диметоксифлавоон-8-C-(2''-O- α -L-рамнопиранозил)-b-D-глюкопиранозид (изоэмбинин); 4^{'''}-ацетилэмбинин; 2^{'''},4^{'''}- диацетилэмбинин; 6^{''},4^{'''}- диацетилэмбинин;**), 1 производное ксантона. Из надземной части *Ononis arvensis* выделены 1 производное флавоноидов и 2 производных изофлавоноидов. Из надземной части *Solidago canadensis* выделены 4 производных флавоноидов. Разработаны 38 паспортов субстанций для выделенных индивидуальных соединений, сформирован реестр индивидуальных веществ фенольной природы.

3. В результате предварительного анализа и обобщения результатов прогнозирования *in silico* Way2Drug и SwissPredict возможных видов биологической активности **система гемостаза организма человека** определена как наиболее перспективная для последующего фармакологического скрининга методами *in silico* и *in vitro* с учётом возможности исследования биологического действия на наибольшее количество вероятных мишеней.

4. В результате проведения молекулярного докинга SwissPredict наиболее перспективными соединениями для детального исследования на биологических моделях системы гемостаза организма человека определены соединения, выделенные из *Euphrasia nigrum* и относящиеся к производным флавоноидов, бибензила, 9,10-дигидрофенантрена, халконов и дигидрохалконов, а также соединения, выделенные из *Rubus chamaemorus* и относящиеся к таннинам. Разработан численный симулятор активации тромбоцитов, реализованный в виде программы для ЭВМ.

5. В результате скрининга фармакологической активности выделенных индивидуальных веществ и суммарных экстрактов *in vitro* на моделях системы

гемостаза организма человека установлено, что индивидуальные фенольные соединения обладают выраженной антиагрегационной активностью. Активность ряда соединений превосходит как антиагрегационную, так и антикоагуляционную активность суммарных экстрактов растений, из которых они были выделены. Антиагрегационную активность на уровне ацетилсалициловой кислоты в условиях *in vitro* проявили индивидуальные вещества, относящиеся к производным халконов, дигидрохалконов, 9,10-дигидрофенантрена, гликозидов глюкуроновых кислот, флавоноидов, изофлавоноидов, С-гликозидов флавоноидов и таннинов. Из 38 изученных индивидуальных веществ 4 вещества проявили антиагрегационную активность, превосходящую значения ацетилсалициловой кислоты: 3 вещества, выделенные из *Empetrum nigrum* (**5,7-дигидрокси-6,8-диметилфлаванон**, **5-гидрокси-2,3,4-триметокси-9,10-дигидрофенантрен**, **1-(3-гидроксифенил)-2-(3,5-дигидрокси-4-метоксифенил)-этан**) и 1 вещество, выделенное из *Rubus chamaemorus* (**4-O- α -L-арабинофуранозилэллаговая кислота**). Все 4 указанные соединения запатентованы в качестве средств, обладающих антиагрегационной активностью. Таким образом, определены 4 наиболее перспективных лекарственных кандидата-лидера для последующей фармацевтической разработки средств для лечения заболеваний сосудистой и кровеносной систем.

6. Установлено, что эквимольное смешение растворов кандидатов-лидеров приводит к снижению антиагрегационной и антикоагуляционной активности исследуемых растворов *in vitro*, но не приводит к изменению активности в отношении процессов активации тромбоцитов *in vitro*.

7. На основании полученных эмпирических данных сформулированы основные принципы и базовый алгоритм предлагаемой методологии поиска потенциальных лекарственных кандидатов на основе индивидуальных веществ растительного происхождения.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АДФ – аденозиндифосфат

АПТВ – активированное парциальное тромбопластиновое время

БАВ – биологически активные вещества

БУВ – бутанол-уксусная кислота-вода

ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография

ВЭЖХ-УФ – высокоэффективная жидкостная хроматография с ультрафиолетовым детекторованием

ВЭТСХ – высокоэффективная тонкослойная хроматография

ГХ – газовая хроматография

EtOH – этиловый спирт

КССВ – константы спин-спинового взаимодействия

ЛП – лекарственный препарат

СФХ – сверхкритическая флюидная хроматография

ТСХ – тонкослойная хроматография

ЦОГ – циклооксигеназа

ЭВМ – электронная вычислительная машина

ЯМР – ядерный магнитный резонанс

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Акамова, А. В. Многовекторный маркетинговый анализ российского рынка фитопрепаратов / А. В. Акамова, О. Д. Немятых, И. А. Наркевич // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2017. – № 4. – С. 276–280.
2. Анализ С-гликозидов флавонов и продуктов ступенчатого гидролиза их ацетатов в листьях *Rubus chamaemorus* L. / А. К. Уэйли, А. О. Понкратова, А. А. Орлова [и др.] // Химия растительного сырья. – 2021. – № 2. – С. 257–265.
3. Антиоксидантная и антибактериальная активность травы золотарника канадского (*Solidago canadensis* L.) / Ф. Ш. Сулейманова, О. В. Нестерова, И. Н. Аверцева [и др.] // Вестник Московского университета. Серия 2: Химия. – 2020. – Т. 61, № 4. – С. 330–332.
4. Буданцев, А. Л. Растительные ресурсы России: Дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность. Т. 6. Семейства *Butomaceae* – *Typhaceae* / А. Л. Буданцев, – СПб.; М.: Товарищество научных изданий КМК, 2014. – 392 с.
5. Влияние выделенных из *Empetrum nigrum* L. метаболитов на систему гемостаза в условиях *in vitro* / В. Г. Лужанин, А. В. Самородов, А. К. Уэйли [и др.] // Фармация. – 2023. – № 8. – С. 25–32 doi: 10.29296/25419218-2023-08-04
6. Выделение и установление структуры трех димерных проантоцианидинов типа А из надземной части *Empetrum Nigrum* L. / А. О. Понкратова, А. К. Уэйли, А. А. Орлова [и др.] // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2021. – Т. 10, № 2. – С. 80–86.
7. Выделение индивидуальных соединений из надземной части стальника полевого (*Ononis arvensis* L.) и золотарника канадского (*Solidago canadensis* L.) / В. Г. Лужанин, А. К. Уэйли, А. О. Понкратова [и др.] // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2021. – Т. 10, № 1. – С. 83–89. DOI: 10.33380/2305-2066-2021-10-1-83-89
8. Выделения формонетин-7-О-β-D-глюкопиранозиды из травы стальника полевого (*Ononis arvensis* L.) и оценка его влияния на индуцированную

активацию тромбоцитов / А. М. Богоутдинова, А. К. Уэйли, А. О. Понкратова [и др.] // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2021. – Т. 10, № S4. – С. 14–19.

9. Головкин, Ю. С. Современные методы поиска новых лекарственных средств / Ю. С. Головкин, О. А. Ивашкевич, А. С. Головкин // Вестник БГУ. – 2012. – №1. – С. 7–15.

10. Давитавян, Н. А. Изучение аминокислотного и минерального состава сухого экстракта из травы стальника полевого / Н. А. Давитавян, А. М. Сампиев // Здоровье и образование в XXI веке. – 2017. – № 10. – С. 347–350.

11. Изучение иммуностропных эффектов флавонового гликозида эмбинина / Н. В. Бычкова, А. А. Калашникова, А. К. Уэйли, В. Г. Лужанин, Н. М. Калинина [и др.] // Профилактическая и клиническая медицина. – 2019. – № 4 (73). – С. 77–82.

12. Казанцева, О. Д. Методология поиска новых биологически активных фармакологических веществ с рецепторной активностью / О. Д. Казанцева, А. С. Герасименко // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2016. – № 8 (4). – С. 522–525.

13. Касатик молочно-белый (*Iris Lactea* Pall.) – перспективный источник биологически активных веществ / В. Г. Лужанин, А. К. Уэйли, А. О. Понкратова [и др.] // Химия растительного сырья. – 2021. – № 3. – С. 5–17. URL: <http://journal.asu.ru/cw/article/view/8890>

14. Киселев, А. В. Адсорбционная газовая и жидкостная хроматография / А. В. Киселев, Я. И. Яшин. – Москва : Химия, 1979. – 288 с.

15. Компоненты растений семейства *Empetraceae*. II Флавоноиды *Empetrum nigrum* / В. Н. Василец, Л. А. Демиденко, Е. А. Краснов [и др.] // Химия природных соединений. – 1988. – № 6. – С. 875–876.

16. Компьютерное моделирование как один из современных методов прогнозирования в фармацевтической технологии / С. О. Лосенкова, А. В. Погребняк, Ю. А. Морозов, Э. Ф. Степанова // Фармация и фармакология. – 2014. – № 6 (7). – С. 105–113.

17. Лиманский, Е. С. Инструментальные методы скрининга биологической активности / Е. С. Лиманский, Е. С. Погорелова // Молодой ученый. – 2015. – № 11 (91). – С. 497–499.

18. Лужанин, В. Г. Качество лекарственных растительных препаратов: новые аспекты и решения / В. Г. Лужанин, В. А. Куркин, И. В. Гравель // Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств. – 2023. – Т. 13, № 2. – С. 128–133.

19. Лужанин, В. Г. Поиск перспективных фармацевтических субстанций на основе индивидуальных растительных веществ фенольной природы / В. Г. Лужанин, И. А. Самылина // V Гаммермановские чтения. Сборник научных трудов по материалам Научно-методической конференции, 9–10 ноября 2023 г.; под общ. ред. М. Н. Пovyдыш. – Москва : РУСАЙНС, 2023. – С. 176–180.

20. Лужанин, В. Г. Род *Ononis* L. (стальник) во флоре России и сопредельных государств: систематика и филогения: монография / В. Г. Лужанин, Г. П. Яковлев. – Москва : КНОРУС, 2019. – 130 с.

21. Нилова, Л. П. Морошка: особенности биохимического состава, антиоксидантные свойства, использование / Л. П. Нилова, С. М. Малютенкова, М. С. Кайгородцева // Вестник Южно-Уральского государственного университета. Серия: Пищевые и биотехнологии. – 2017. – Т. 5, № 4. – С. 19–26.

22. О некоторых видах рода Золотарник (обзор) / И. С. Сулоев, Н. А. Дудецкая, Л. С. Теслов [и др.] // Здоровье и образование в XXI веке. – 2019. – №6. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/o-nekotoryh-vidah-roda-zolotarnik-obzor> (дата обращения: 22.10.2023)

23. Обзор вторичных метаболитов морошки и их биологической активности / А. К. Уэйли, А. О. Понкратова, Л. С. Теслов, В. Г. Лужанин // Медико-фармацевтический журнал «Пульс». – 2020. – Т. 22, № 7. – С. 50–59.

24. Определение влажности лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов (ОФС.1.5.3.0007.15.) // Государственная Фармакопея Российской Федерации. – 14-е изд. – Москва, 2018. – Т. 2. – URL:

<https://docs.rucml.ru/feml/pharma/v14/vol2/547/#zoom=z> (дата обращения: 12.02.2024).

25. Определение содержания экстрактивных веществ, флавоноидов в экстракте шикши черной и установление его токсичности / Н. В. Плаксен, Л. В. Устинова, С. В. Степанов [и др.] // Дальневосточный медицинский журнал. – 2022. – № 2. – С. 51–56.

26. Определение фибриногена по методу Клаусса. Реагенты и анализаторы / А. А. Козлов, А. Л. Берковский, Е. В. Сергеева [и др.] // Клиническая лабораторная диагностика. – 2009. – № 12. – С. 31–33.

27. Перспективы использования фитопрепаратов в современной фармакологии / Т. В. Самбукова, Б. В. Овчинников, В. П. Ганапольский [и др.] // Обзоры по клинич. фармакологии и лек. терапии. – 2017. – Т. 15, № 2. – С. 56–63.

28. Понкратова, А. О. Фитохимическое изучение побегов водяники черной (*Empetrum nigrum* L.): специальность 34.20.00 : диссертация на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук / Понкратова Анастасия Олеговна. – Санкт-Петербург, 2022. – 146 с.

29. Прогноз научно-технологического развития России: 2030. Медицина и здравоохранение; под. ред. Л. М. Гохберга, Л. М. Огородовой. – Москва : Минобрнауки РФ, Высшая школа экономики, 2014. – 48 с.

30. Противомикробная активность соединений полифенольной природы / В. Г. Лужанин, А. К. Уэйли, А. О. Понкратова [и др.] // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2022. – Т. 11, № 2. – С. 65–72. Doi:10.33380/2305-2066-2022-11-2-65-72

31. Противосудорожные свойства *Empetrum nigrum* L / А. С. Саратиков, Г. З. Ханин, Е. А. Краснов, В. К. Горшкова // Растительные ресурсы. – 1991. – Т. 27, № 4. – С. 69–75.

32. Род *Ononis* (*Fabaceae*) во флоре России и сопредельных государств / В. Г. Лужанин, Д. В. Гельтман, А. В. Родионов, Г. П. Яковлев // Ботанический журнал. – 2013. – Т. 98, № 11. – С. 1403–1415.

33. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. – Москва : Гриф и К., 2012. – 944 с.

34. Сафонова, Н. В. Обзор российского рынка растительных препаратов / Н. В. Сафонова, Е. О. Трофимова // Ремедиум. – 2021. – № 3. Doi: 10.21518/1561-5936-2021-3-11-22

35. Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ RU 2023680120 Численный симулятор активации тромбоцитов / В. Г. Лужанин, К. С. Бразовский. №2023669099, 13.09.2023 Дата подачи заявки: 13.09.2023. Опубликовано 26.09.2023

36. Сравнительный фитохимический анализ образцов надземной части *Empetrum nigrum* L., собранных в различных регионах РФ, как перспективного источника фармакологически активных вторичных метаболитов / А. О. Понкратова, А. К. Уэйли, Е. В. Жохова [и др.] // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2021. – Т. 10, № 4. – С. 138–145. doi: 10.33380/2305-2066-2021-10-4(1)-138-145

37. Стальник полевой (*Ononis arvensis* L.) – перспективный источник веществ с различной биологической активностью / В. Г. Лужанин, А. О. Понкратова, А. К. Уэйли [и др.] // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2020. – Т. 23, № 11. С. 3–9.

38. Сухих, А. С. Применение сорбента универсального назначения сефадекса LH-20 в современных медико-биологических исследованиях / А. С. Сухих, П. В. Кузнецов // Медицина в Кузбассе. – 2009. – № 4. – С. 3–12.

39. Тулайкин, А. И. Изучение химического состава травы стальника полевого / А. И. Тулайкин, Г. П. Яковлев // Фармация. – 2007. – № 2. – С. 10–11.

40. Уэйли, А. К. Фитохимический анализ листьев морошки обыкновенной (*Rubus chamaemorus* L.): специальность 14.04.02. Фармацевтическая химия, фармакогнозия: диссертация на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук / Уэйли Андрей Кеннет. – Санкт-Петербург, 2021. – 114 с.

41. Фитопрепараты, анализ фармацевтического рынка Российской Федерации / Н. Н. Бойко, А. В. Бондарев, Е. Т. Жилиякова [и др.] // Научный результат. Медицина и фармация. – 2017. – Т. 3, № 4. – С. 30–38.

42. Фитохимический анализ вторичных метаболитов полифенольной природы в листьях морозники обыкновенной (*Rubus Chamaemorus* L.) / А. К. Уэйли, А. О. Понкратова, А. А. Орлова [и др.] // Химико-фармацевтический журнал. 2021. – Т. 55, № 3. – С. 22–27.

43. Химический состав золотарника лекарственного (золотая розга – *solidato virgaurea (canadensis)*, семейство розоцветных) / А. А. Хадарцев, Г. Т. Сухих, В. В. Платонов [и др.] // Вестник новых медицинских технологий. – 2019. – Т. 26, №3. – С. 43–54.

44. Экспериментальные исследования на животных в эпоху трансляционной медицины. Какими им быть? / И. В. Александров, Е. И. Егорова, Е. Ю. Васина [и др.] // Трансляционная медицина. – 2017. – № 4 (2). – С. 52–70.

45. Эмбинин – перспективное кардиотоническое средство растительного происхождения / Д. Ю. Ивкин, В. Г. Лужанин, А. А. Карпов, С. М. Минасян, Я. И. Полещенко [и др.] // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2018. – № 3 (24). – С. 166–170.

46. A network pharmacology approach to investigate the mechanism of Shuxuening injection in the treatment of ischemic stroke / Q. Cui, Y. L. Zhang, Y. H. Ma [et al.] // Journal of Ethnopharmacology. – 2020. – Vol. 257. – P. 112891.

47. A network pharmacology study on the triterpene saponins from *medicago sativa* l. For the treatment of neurodegenerative diseases / X. G. Liu, M. C. Lv, M. Y. Huang [et al.] // Journal of Food Biochemistry. – 2019. – Vol. 43, No. 8. – P. e12955.

48. A network pharmacology-based study of the molecular mechanisms of shaoyao-gancao decoction in treating Parkinson's disease / L. Li, H. Qiu, M. Liu, Y. Cai // Interdisciplinary Sciences: Computational Life Sciences. – 2020. – Vol. 12. – P. 131–144.

49. A new bibenzyl and 9,10-dihydrophenanthrene derivative from aerial parts of crowberry (*Empetrum nigrum* L.) / А. О. Понкратова, А. К. Whaley, О. А. Balabas [et al.] // Phytochemistry Letters. – 2021. – Vol. 42. – P. 15–17. doi: 10.1016/j.phytol.2021.01.001

50. A new dimethoxy dihydrochalcone isolated from the shoots of *Empetrum nigrum* L. / A. O. Ponkratova, A. K. Whaley, A. A. Orlova [et al.] // Nat Prod Res. – 2022 Oct. – No. 36(20). – P. 5142–5147. doi: 10.1080/14786419.2021.1920584

51. A new skeletal triterpenoid isolated from *Empetrum nigrum* / C. Toiron, A. Rumbero, E. Wollenweber [et al.] // Tetrahedron Letters. – 1995. – No. 36(36). – P. 6559–6562.

52. A plant-derived recombinant human glucocerebrosidase enzyme – a preclinical and phase I investigation / D. Aviezer, E. Brill-Almon, Y. Shaaltiel [et al.] // PLoS One. – 2009. – No. 4 (3). – P. e4792. doi: 10.1371/journal.pone.0004792

53. A practical Guide to large-scale docking / B. J. Bender, S. Gahbauer, A. Lutten [et al.] // Nat Protoc. – 2021. – Vol. 16. – P. 4799–4832. doi: 10.1038/s41596-021-00597-z

54. Acute coronary syndromes / B. A. Bergmark, N. Mathenge, P. A. Merlini [et al.] // Lancet. – 2022. – Vol. 399, No. 10332. – P. 1347–1358.

55. Albuquerque, U. P. New strategies for drug discovery in tropical forests based on ethnobotanical and chemical ecological studies / U. P. Albuquerque, M. A. Ramos, J. G. Melo // Journal of Ethnopharmacology. – 2012. – No. 140. – P. 197–201.

56. Altemimi, A. Phytochemicals: Extraction, Isolation, and Identification of Bioactive Compounds from Plant Extracts / A. Altemimi, N. Lakhssassi, A. Baharlouei // Plants. – 2017. – No. 6 (4). – P. 42. doi: 10.3390/plants6040042

57. An Effective Chromatography Process for Simultaneous Purification and Separation of Total Lignans and Flavonoids from *Valeriana amurensis* / M. Zhang, B. Yang, M. Ye [et al.] // Molecules. – 2022 Dec 6. – No. 27(23). – P. 8598. doi: 10.3390/molecules27238598. PMID: 36500691; PMCID: PMC9741226.

58. Andersen, M. L. Animal models in biological and biomedical research – experimental and ethical concerns / M. L. Andersen, L. M. F. Winter // Anais da Academia Brasileira de Ciencias. – 2017. – Vol. 91. – P. 1–14.

59. Animal models in modern biomedical research / P. Belma, D. Pehlivanovic, E. Fetahovic [et al.] // European Journal of Pharmaceutical and Medical Research. – 2019. – Vol. 6. – P. 35–38.

60. Anthocyanins in cardioprotection: A path through mitochondria / J. Liobikas, K. Skemiene, S. Trumbeckaite, V. Borutaite // *Pharmacol Res.* 2016 Nov. – Vol. 113 (Pt B). – P. 808–815. doi: 10.1016/j.phrs.2016.03.036. Epub 2016 Mar 30. PMID: 27038533

61. Antimicrobial effects of Finnish plant extracts containing flavonoids and other phenolic compounds / J. P. Rauha, S. Remes, M. Heinonen [et al.] // *Int J Food Microbiol.* – 2000 May 25. – Vol. 56, No. 1. – P. 3–12.

62. Antioxidant Activity of Isolated Ellagitannins from Red Raspberries and Cloudberries / M. Kähkönen, P. Kylli, V. Ollilainen [et al.] // *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* – 2012. – Vol. 60, No. 5. – P. 1167–1174.

63. Antioxidant, α -glucosidase inhibitory and anti-inflammatory effects of aerial parts extract from Korean crowberry (*Empetrum nigrum var. japonicum*) / T. K. Hyun, H. C. Kim, Y. J. Ko, J. S. Kim // *Saudi J Biol Sci.* – 2016 Mar. – Vol. 23, No. 2. – P. 181–188. doi: 10.1016/j.sjbs.2015.02.008. Epub 2015 Feb 14. PMID: 26980998. PMCID: PMC4778518

64. Antiviral activity of green tea and black tea polyphenols in prophylaxis and treatment of COVID-19: A review / S. Mhatre, T. Srivastava, S. Naik, V. Patravale // *Phytomedicine.* – 2021 May. – Vol. 85. – P. 153286. doi: 10.1016/j.phymed.2020.153286. Epub 2020 Jul 17. PMID: 32741697. PMCID: PMC7367004

65. Artificial Intelligence for COVID-19 Drug Discovery and Vaccine Development / A. Keshavarzi Arshadi, J. Webb, M. Salem [et al.] // *JS Front. Artif. Intell.* – 2020. – P. 3–65. doi: 10.3389/frai.2020.00065

66. Aspirin in the primary and secondary prevention of vascular disease: Collaborative meta-analysis of individual participant data from randomised trials / C. Baigent, L. Blackwell, R. Collins [et al.] // *Lancet.* – 2009. – Vol. 373. – P. 1849–1860.

67. Assessment of Antioxidant, Immunomodulatory Activity of Oxidised Epigallocatechin-3-Gallate (Green Tea Polyphenol) and Its Action on the Main Protease of SARS-CoV-2-An *In Vitro* and *In Silico* Approach / R. Ungarala,

M. Munikumar, S. N. Sinha [et al.] // *Antioxidants* (Basel). – 2022 Jan 31. – Vol. 11, No. 2. – P. 294. doi: 10.3390/antiox11020294. PMID: 35204178. PMCID: PMC8868081

68. Badyal, D. K. Animal use in pharmacology education and research: The changing scenario / D. K. Badyal, C. Desai // *Indian Journal of Pharmacology*. – 2014. – Vol. 46, No. 3. – P. 257.

69. Barré-Sinoussi, F. Animal models are essential to biological research: issues and perspectives / F. Barré-Sinoussi, X. Montagutelli // *Future Science OA*. – 2015. – Vol. 1, No. 4. – P. 1–3.

70. Bauer, A. Industrial natural product chemistry for drug discovery and development / A. Bauer, M. Bronstrup // *Natural Product Reports*. – 2014. – Iss. 1, No. 1. – P. 35–60. DOI: 10.1039/c3np70058e

71. Bernard, P. Modulating testosterone pathway: a new strategy to tackle male skin aging / P. Bernard, T. Scior, Q. T. Do // *Clinical Interventions in Aging*. – 2012. – No. 7. – P. 351–361.

72. Biosensor-based small molecule fragment screening with bilayer interferometry / C. A. Wartchow, F. Podlaski, S. Li [et al.] // *Journal of Computer-Aided Molecular Design*. – 2011. – Vol. 25, No. 7. – P. 669.

73. Black Crowberry (*Empetrum nigrum* L.) Flavonoids and Their Health Promoting Activity / T. Jurikova, J. Mlcek, S. Skrovankova [et al.] // *Molecules*. – 2016 Dec 7. – Vol. 21, No. 12. – P. 1685. doi: 10.3390/molecules21121685. PMID: 27941619. PMCID: PMC6272966

74. Born, G. V. R. Aggregation of Blood Platelets by Adenosine Diphosphate and Its Reversal / G. V. R. Born // *Nature*. – 1962. – Vol. 194. – P. 927–929.

75. Bucar, F. Natural product isolation – how to get from biological material to pure compounds / F. Bucar, A. Wube, M. Schmid // *Nat. Prod. Rep.* – 2013. – No. 30. – P. 525–545. DOI: 10.1039/C3NP20106F

76. Bull, C. S. Properties of Protein Drug Target Classes / C. S. Bull, A. J. Doig // *PLoS ONE*. – 2015. – No. 10. DOI: 10.1371/journal.pone.0117955

77. Butein as a potential binder of human ACE2 receptor for interfering with SARS-CoV-2 entry: a computer-aided analysis / N. Kapoor, S. M. Ghorai, P. K. Khuswaha [et al.] // *J Mol Model.* – 2022 Aug 24. – Vol. 28, No. 9. – P. 270. doi: 10.1007/s00894-022-05270-0. PMID: 36001177. PMCID: PMC9399596

78. Cannabinoid receptor 1 antagonist genistein attenuates marijuana-induced vascular inflammation / T. T. Wei, M. Chandy, M. Nishiga [et al.] // *Cell.* – 2022. – Vol. 185, No. 13– P. 2387–2389.

79. Chen, Y. Biomechanical thrombosis: the dark side of force and dawn of mechano-medicine / Y. Chen, L. A. Ju // *Stroke Vasc Neurol.* – 2020. – Vol. 5, No. 2. – P. 185–197.

80. Cloudberry (*Rubus chamaemorus* L.) Supplementation Attenuates the Development of Metabolic Inflammation in a High-Fat Diet Mouse Model of Obesity / T. Pemmari, M. Hämäläinen, R. Ryyti [et al.] // *Nutrients.* – 2022 Sep 17. – No. 14(18). – P. 3846. doi: 10.3390/nu14183846. PMID: 36145221. PMCID: PMC9503149

81. Clough, E. The gene expression omnibus database / E. Clough, T. Barrett // *Statistical Genomics: Methods and Protocols.* – 2016. – P. 93–110.

82. Combined MS/MS-NMR Annotation Guided Discovery of *Iris lactea* var. *chinensis* Seed as a Source of Viral Neuraminidase Inhibitory Polyphenols / H. W. Kim, S. S. Kim, K. B. Kang [et al.] // *Molecules.* – 2020. – Vol. 25, No.15. – P. 3383.

83. Comparison of alamar blue and MTT assays for high through-put screening / R. Hamid, Y. Rotshteyn, L. Rabadi [et al.] // *Toxicology in vitro.* – 2004. – Vol. 18, No. 5. – P. 703–710.

84. Comparison of Polyphenol Profile and Antimutagenic and Antioxidant Activities in Two Species Used as Source of *Solidaginis herba* – Goldenrod / D. Woźniak, S. Ślusarczyk, K. Domaradzki [et al.] // *Chem Biodivers.* 2018 Apr. – Vol. 15, No. 4. – P. e1800023. doi: 10.1002/cbdv.201800023. Epub 2018 Apr 19. PMID: 29537689

85. Comprehensive Characterization of Secondary Metabolites in Fruits and Leaves of Cloudberry (*Rubus chamaemorus* L.) / A. V. Faleva, N. V. Ul'yanovskii,

A. A. Onuchina [et al.] // *Metabolites*. – 2023 Apr 27. – Vol. 13, No. 5. – P. 598. doi: 10.3390/metabo13050598. PMID: 37233639. PMCID: PMC10222136

86. Computational protein-ligand docking and virtual drug screening with the AutoDock suite / S. Forli, R. Huey, M. E. Pique [et al.] // *Nature Protocols*. – 2016. – Vol. 11, No. 5. – P. 905–919.

87. Computational Study of Jozimine A2, a Naphthylisoquinoline Alkaloid with Antimalarial Activity / In *Concepts, Methods and Applications of Quantum Systems in Chemistry and Physics* / eds. M. K. Bilonda, L. Mammino. – Springer: Vancouver, Canada, 2018. – P. 305–328.

88. Computer-aided prediction of biological activity spectra for chemical compounds: opportunities and limitation / D. A. Filimonov, D. S. Druzhilovskiy, A. Lagunin [et al.] // *Biomedical Chemistry: Research and Methods*. – 2018. – No. 1 (1). – P. e00004. DOI: 10.18097/BMCRM00004.130

89. Crowberry inhibits cell proliferation and migration through a molecular mechanism that includes inhibition of DEK and Akt signaling in cholangiocarcinoma / X. Wang, X. Zhou, L. Zhang [et al.] // *Chin Med*. – 2022 Jun 13. – Vol. 17, No. 1. – P. 69. doi: 10.1186/s13020-022-00623-6. PMID: 35698073. PMCID: PMC9190153

90. Current progress and future perspectives of polypharmacology: From the view of non-small cell lung cancer / R. Karuppasamy, S. Veerappapillai, S. Maiti [et al.] // *Seminars in Cancer Biology*. – Academic Press. – 2021. – Vol. 68. – P. 84–91.

91. Cyanidin-3-O-glucoside, cyanidin, and oxidation products of cyanidin protect neuronal function through alleviating inflammation and oxidative damage / Z. Zhu, L. Yang, Z. Li, Q. Liu // *J. Food Sci*. – 2022 May. – Vol. 87, No. 5. – P. 2159–2172. doi: 10.1111/1750-3841.16125. Epub 2022 Mar 26. PMID: 35340035

92. Daina, A. Swiss Target Prediction: updated data and new features for efficient prediction of protein targets of small molecules / A. Daina, O. Michielin, V. Zoete // *Nucleic Acids Research*. Oxford University Press. – 2019. – Vol. 47, No. W1. – P. W3357–W3664.

93. Deciphering the molecular targets and mechanisms of HGWD in the treatment of rheumatoid arthritis via network pharmacology and molecular docking /

W. Liu, Y. Fan, C. Tian [et al.] // *Evid. Based Complement. Altern. Med.* – 2020. – Vol. 20. Doi: 10.1155/2020/7151634

94. Devi, A. *In silico* and *in vitro* neutralization of PLA2 activity of Daboxin P by butein, mimosine and bakuchiol / A. Devi, N. D. Namsa, R. Doley // *Int J Biol Macromol.* – 2020 Dec 15. – No. 165(Pt A). – P. 1066–1078. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2020.09.223. Epub 2020 Oct 6. PMID: 33035526

95. DGIdb 2.0: mining clinically relevant drug-gene interactions / A. H. Wagner, A. C. Coffman, B. J. Ainscough [et al.] // *Nucleic Acids Research.* – 2016. – Vol. 44, Iss. D1. – P. D1036–D1044. doi: 10.1093/nar/gkv1165

96. Dibenz[b,f]oxepin and Antimycobacterial Chalcone Constituents of *Empetrum nigrum* / H. Li, S. Jean, D. Webster [et al.] // *Journal of Natural Products.* – 2015. – Vol. 78, No. 11. – P. 2837–2840. doi: 10.1021/acs.jnatprod.5b00627. Epub 2015 Oct 16. PMID: 26473275

97. Dopaminergic modulation by quercetin: *In silico* and *in vivo* evidence using *Caenorhabditis elegans* as a model / W. G. Salgueiro, M. V. Soares, C. F. Martins [et al.] // *Chem Biol Interact.* 2023 Sep 1. – Vol. 382. – P. 110610. doi: 10.1016/j.cbi.2023.110610. PMID: 37348670; PMCID: PMC10527449

98. Drews, J. Drug discovery: a historical perspective / J. Drews // *Science.* – 2000. – Vol. 287, No. 5460. – P. 1960.

99. Drug discovery from plant sources: An integrated approach / C. Katiyar, A. Gupta, S. Kanjilal [et al.] // *Ayu.* – 2012. – No. 33 (1). – P. 10–19. DOI: 10.4103/0974-8520.100295

100. Dynamic simulations on the arachidonic acid metabolic network / K. Yang, W. Ma, H. Liang [et al.] // *PLoS Comput Biol.* – 2007 Mar 23. – No. 3 (3). P. e55. doi: 10.1371/journal.pcbi.0030055. PMID: 17381237. PMCID: PMC1829479

101. Ellagitannin-rich cloudberry inhibits hepatocyte growth factor induced cell migration and phosphatidylinositol 3-kinase/AKT activation in colon carcinoma cells and tumors in Min mice / A. M. Pajari, E. Päiväranta, L. Paavolainen [et al.] // *Oncotarget.* 2016 Jul 12. – No. 7 (28). – P. 43907–43923. doi: 10.18632/oncotarget.9724. PMID: 27270323. PMCID: PMC5190067

102. Enna, S. J. Dorzolamide / S. J. Enna, D. B. Bylund // *xPharm: The Comprehensive Pharmacology Reference*. – Elsevier, 2007. – P. 1–2. doi:10.1016/B978-008055232-3.61645-9

103. Epigallocatechin-3-gallate inhibits osteoclastic differentiation by modulating mitophagy and mitochondrial functions / J. Sarkar, M. Das, M. S. I. Howlader [et al.] // *Cell Death Dis.* – 2022 Oct 28. – No. 13(10). – P. 908. doi: 10.1038/s41419-022-05343-1. PMID: 36307395. PMCID: PMC9616829

104. Ernst, W. Humanized mice in infectious diseases / W. Ernst // *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*. – 2016. – Vol. 49. – P. 29–38.

105. Extraction, Isolation and Characterization of Bioactive Compounds from Plants & apos; Extracts / S. Sasidharan, Y. Chen, D. Saravanan [et al.] // *Afr J Tradit Complement Altern Med.* – 2011. – No. 8(1). – P. 1–10.

106. Extraction technologit for medicinal and aromatic plants / S. S. Handa, S. P. S. Khanuja, G. Longo, D. D. Rakesh. – ICS-UNIDO, 2008. – 266 p.

107. Fakhari, F. D. Charting latency transcripts in Kaposi & apos; s sarcoma-associated herpesvirus by whole-genome real-time quantitative PCR / F. D. Fakhari, D. P. Dittmer // *Journal of Virology*. – 2002. – Vol. 76, No. 12. – P. 6213–6223.

108. Flow cytometry for high-throughput, high-content screening / B. S. Edwards [et al.] // *Current Opinion in Chemical Biology*. – 2004. – Vol. 8, No. 4. – P. 392–398.

109. Freshney, R. I. Culture of animal cells: a manual of basic technique and specialized applications / R. I. Freshney. – John Wiley & Sons, 2015. 832 p.

110. Fried, L. E. Honokiol, a Multifunctional Antiangiogenic and Antitumor Agent / L. E. Fried, J. L. Arbiser // *Antioxid Redox Signal.* – 2009. – No. 11 (5). – P. 1139–1148. DOI: 10.1089/ars.2009.2440

111. Gao, Q. Pharmacophore Based Drug Design Approach as a Practical Process in Drug Discovery / Q. Gao, L. Yang, Y. Zhu // *Current Computer-Aided Drug Design*. – 2010. – No. 6 (1). doi: 10.2174/157340910790980151

112. Gas chromatography of essential oil: State-of-the-art, recent advances, and perspectives / C. Cagliero, C. Bicchi, A. Marengo [et al.] // *J Sep Sci.* 2022 Jan. – Vol. 45, No. 1. – P. 94–112. doi: 10.1002/jssc.202100681. PMID: 34897986

113. Genistein carbon dots exhibit antioxidant and anti-inflammatory effects *in vitro* / K. S. Jaiswal, O. Malka, N. Shauloff [et al.] // *Colloids Surf B Biointerfaces*. – 2023 Mar. – Vol. 223. – P. 113173. doi: 10.1016/j.colsurfb.2023.113173. Epub 2023 Jan 25. PMID: 36724562

114. Genistein Inhibits Proliferation and Metastasis in Human Cervical Cancer Cells through the Focal Adhesion Kinase Signaling Pathway: A Network Pharmacology-Based *In Vitro* Study in HeLa Cells / T. Chen, J. Wang, M. Li [et al.] // *Molecules*. – 2023 Feb 17. – Vol. 28, No. 4. – P. 1919. doi: 10.3390/molecules28041919. PMID: 36838908; PMCID: PMC9963694

115. Gray, A. I. Natural products isolation in modern drug discovery programs / A. I. Gray, J. O. Igoli, R. A. Edrada-Ebel // *Natural Products Isolation*. – 2012. – P. 515–534.

116. Green tea derivative (-)-epigallocatechin-3-gallate (EGCG) confers protection against ionizing radiation-induced intestinal epithelial cell death both *in vitro* and *in vivo* / L. W. Xie, S. Cai, T. S. Zhao [et al.] // *Free Radic Biol Med*. – 2020 Dec. – Vol. 161. – P. 175–186. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2020.10.012. Epub 2020 Oct 15. PMID: 33069855

117. Guo, X. Surface plasmon resonance based biosensor technique: a review / X. Guo // *Journal of Biophotonics*. – 2012. – Vol. 5, No. 7. – P. 483–501.

118. Hånell, A. Structured evaluation of rodent behavioral tests used in drug discovery research / A. Hånell, N. Marklund // *Front. Behav. Neurosci*. – 2014. – No. 8. – P. 252. doi: 10.3389/fnbeh.2014.00252

119. Histological and antimicrobial study of *Ononis arvensis* L. / T. Dénes, S. G. Bartha, M. Kerényi [et al.] // *Acta Biol Hung*. – 2017 Sep. – Vol. 68, No. 3. – P. 321–333. doi: 10.1556/018.68.2017.3.9. PMID: 28901804

120. Hopkins, A. L. Network pharmacology / A. L. Hopkins // *Nature Biotechnology*. – 2007. – Vol. 25, No. 10. – P. 1110–1111.

121. Hopkins, A. L. Network pharmacology: the next paradigm in drug discovery / A. L. Hopkins // *Nature Chemical Biology*. – 2008. – Vol. 4, No. 11. – P. 682–690.

122. Huang, Y. Chemical constituents from *Solidago canadensis* with hypolipidemic effects in HFD-fed hamsters / Y. Huang, Y. L. Hao, X. Y. Mai // J Asian Nat Prod Res. – 2013. – Vol. 15, No. 4. – P. 319–324.

123. *In Silico* Method for the Screening of Phytochemicals against Methicillin-Resistant *Staphylococcus Aureus* / R. Tabassum, S. Kousar, G. Mustafa [et al.] // Biomed Res Int. – 2023 May 18. – 2023:5100400. doi: 10.1155/2023/5100400. PMID: 37250750. PMCID: PMC10212682

124. *In silico* methods and tools for drug discovery / B. Shaker, S. Ahmad, J. Lee [et al.] // Comput Biol Med. – 2021. – Vol. 137. – P. 104851.

125. *In vitro* analysis of DNA-protein interactions by proximity ligation / S. M. Gustafsdottir, J. Schlingemann, A. Rada-Iglesias [et al.] // Proceedings of the National Academy of Sciences. – 2007. – Vol. 104, No. 9. – P. 3067–3072.

126. *In vitro* and *in silico* evaluation of the design of nano-phyto-drug candidate for oral use against *Staphylococcus aureus* / Y. Budama-Kilinc, B. Gok, C. Cetin Aluc, S. Kecel-Gunduz // Peer J. – 2023 Jun 8. – No. 11. – P. e15523. doi: 10.7717/peerj.15523. PMID: 37309371; PMCID: PMC10257901

127. *In Vitro* and *In Vivo* Antiangiogenic Activity of Crowberry (*Empetrum nigrum* var. *japonicum*) / H. S. Bae, H. J. Kim, H. Jeong da [et al.] // Nat Prod Commun. – 2016 Apr. – Vol. 11, No. 4. – P. 503–506. PMID: 27396205

128. Isolation and Characterization of a New Flavone C-glycoside Isoembinin from *Iris lactea* along with its Effects on Platelet Activation / A. Whaley, A. Ponkratova, N. Rukoyatkina [et al.] // Planta medica – 2022. – Jun 10. doi: 10.1055/a-1873-6785

129. Isolation of oligostilbenes from *Iris lactea* Pall. var. *chinensis* (Fisch.) Koidz and their anti-inflammatory activities / F. F. Tie, Y. Y. Fu, N. Hu [et al.] // RSC Adv. – 2022 Nov 16. – No. 12(51). – P. 32912–32922. doi: 10.1039/d2ra05176a. PMID: 36425180; PMCID: PMC9667474

130. Jaroch, K. Cell cultures in drug discovery and development: The need of reliable *in vitro* – *in vivo* extrapolation for pharmacodynamics and pharmacokinetics assessment / K. Jaroch, A. Jaroch, B. Bojko // Journal of Pharmaceutical and

Biomedical Analysis. – 2018. – No. 147. – P. 297–312. DOI: 10.1016/j.jpba.2017.07.023

131. Jin, H. Dietary flavonoid for preventing colorectal neoplasms / H. Jin, Q. Leng, C. Li // Cochrane Database Syst. Rev. – 2012. Doi:10.1002/14651858.CD009350

132. Jorgensen, W. L. The Many Roles of Computation in Drug Discovery / W. L. Jorgensen // Science. – 2004. – No. 303. – P. 1813–1818.

133. KEGG for taxonomy-based analysis of pathways and genomes / M. Kanehisa, M. Furumichi, Y. Sato [et al.] // Nucleic Acids Res. – 2023. – Vol. 51. – P. D587–D592.

134. Kell, D. Screensavers: trends in high-throughput analysis / D. Kell // Trends in Biotechnology. – 1999. – Vol. 17, No. 3. – P. 89–91.

135. Lipophilic Phenolics from the Leaves of *Empetrum nigrum* – Chemical Structures and Exudate Localization / E. Wollenweber, M. Dörr, R. Stelzer, F. J. Arriaga-Giner // Botanica Acta. – 1992. – Vol. 105, Iss. 4. – P. 300–305.

136. Marine sponge cyclic peptide theonellamide A disrupts lipid bilayer integrity without forming distinct membrane pores / R. A. Espiritu, K. Cornelio, M. Kinoshita [et al.] // Biochim Biophys Acta. – 2016 Jun. – Vol. 1858, No. 6. – P. 1373–1379. doi: 10.1016/j.bbamem.2016.03.019

137. Mechanism of Dayuanyin in the treatment of coronavirus disease 2019 based on network pharmacology and molecular docking / X. Ruan, P. Du, K. Zhao [et al.] // Chinese Medicine. – 2020. – Vol. 15, No. 1. – P. 1–17.

138. Mechanism of voltage gating in potassium channels / M. O. Jensen, V. Jogini, D. W. Borhani [et al.] // Science. – 2012. – No. 336. – P. 229–233. DOI: 10.1126/science.1216533

139. Miscevic, F. Advances in zebrafish high content and high throughput technologies / F. Miscevic, O. Rotstein, X. Y. Wen // Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening. – 2012. – Vol. 15, No. 7. – P. 515–521.

140. Modern Approaches in the Discovery and Development of Plant-Based Natural Products and Their Analogues as Potential Therapeutic Agents / A. Najmi,

S. A. Javed, M. Al Bratty, H. A. Alhazmi // *Molecules*. – 2022. – No. 27. – P. 349. doi: 10.3390/molecules27020349

141. Nasim, N. Plant-derived natural products for drug discovery: current approaches and prospects / N. Nasim, I. S. Sandeep, S. Mohanty // *Nucleus (Calcutta)*. – 2022. – No. 65 (3). – P. 399–411. doi: 10.1007/s13237-022-00405-3

142. Natural products in drug discovery: advances and opportunities / A. G. Atanasov, S. B. Zotchev, V. M. Dirsch [et al.] // *Nat. Rev. Drug Discov.* – 2012. – No. 20. – P. 200–216. doi: 10.1038/s41573-020-00114-z

143. Nemmani, K. V. S. Pharmacological Screening: Drug Discovery. In: Poduri, R. (eds.) *Drug Discovery and Development*. – Springer, Singapore, 2021. – P. 211–233. doi: 10.1007/978-981-15-5534-3_7

144. Network pharmacology and molecular docking analysis on molecular targets and mechanisms of Huashi Baidu formula in the treatment of COVID-19 / Q. Tao, J. Du, X. Li [et al.] // *Drug Development and Industrial Pharmacy*. – 2020. – Vol. 46, No. 8. – P. 1345–1353.

145. Network pharmacology applications to map the unexplored target space and therapeutic potential of natural products / M. Kibble, N. Saarinen, J. Tang [et al.] // *Natural Product Reports*. – 2015. – Vol. 32, No. 8. – P. 1249–1266.

146. Network Pharmacology Approach for Medicinal Plants: Review and Assessment / F. Noor, M. Tahir ul Qamar, U. A. Ashfaq [et al.] // *Pharmaceuticals*. – 2022. – No. 15. – P. 572. doi: 10.3390/ph15050572

147. Network pharmacology for the identification of phytochemicals in traditional Chinese medicine for COVID-19 that may regulate Interleukin-6 / W. H. Niu, F. Wu, W. Y. Cao [et al.] // *Bioscience Reports*. – 2021. – Vol. 41, No. 1. – P. 1–16.

148. Network pharmacology exploration reveals a common mechanism in the treatment of cardio-cerebrovascular disease with *Salvia miltiorrhiza* Burge and *Carthamus tinctorius* L / Y. Wang, Y. Shi, J. Zou [et al.] // *BMC Complementary Medicine and Therapies*. – 2020. – Vol. 20, No. 1. – P. 1–18.

149. Network pharmacology-based prediction of the active ingredients and potential targets of Chinese herbal Radix Curcumae formula for application to cardiovascular disease / W. Tao, X. Xu, X. Wang [et al.] // Journal of Ethnopharmacology. – 2013. – Vol. 145, No. 1. – P. 1–10.

150. Network pharmacology-based strategy to investigate pharmacological mechanisms of *Tinospora sinensis* for treatment of Alzheimer's disease / F. Zhou, K. He, Y. Guan [et al.] // Journal of Ethnopharmacology. – 2020. – Vol. 259. – P. 112940.

151. New acetylated flavone C-glycosides from *Iris lacteal* / A. K. Whaley, W. Ebrahim, M. El-Neketi [et al.] // Tetrahedron Letters. – 2017 May 31. – Vol. 58, Iss. 22. – P. 2171–2173.

152. Newman, D. J. Natural products as sources of new drugs from 1981 to 2014 / D. J. Newman, G. M. Cragg // Journal of Natural Products. – 2016. – Vol. 79, No. 3. – P. 629–661.

153. Newman, D. J. Natural products as sources of new drugs over the nearly four decades from 01/1981 to 09/2019 / D. J. Newman, G. M. Cragg // Journal of Natural Products. – 2020. – Vol. 83, No. 3. – P. 770–803.

154. Newman, D. J. Natural products as sources of new drugs over 30 years from 1981 to 2010 / D. J. Newman, G. M. Cragg // J. Nat. Prod. – 2012. – No. 75. – P. 311–335.

155. Newman, D. J. The influence of natural products upon drug discovery / D. J. Newman, G. M. Cragg, K. M. Snader // Natural Product Reports. – 2000. Vol. 17, No. 3. – P. 215–234.

156. O'Brien, P. *In vitro* cytotoxicity assessment / P. O'Brien, J. R. Haskins // High Content Screening: A Powerful Approach to Systems Cell Biology and Drug Discovery. – 2006. – P. 415–425.

157. Oh, K. K. Network pharmacology of bioactives from *Sorghum bicolor* with targets related to diabetes mellitus / K. K. Oh, M. Adnan, D. H. Cho // PLoS One. – 2020. – Vol. 15, No. 12. – P. e0240873.

158. Oparin, A. I. The origin of life on the Earth / A. I. Oparin – 3rd Ed. – 1957. 495 p.

159. Optimized ultrasound-assisted extraction of total polyphenols from *Empetrum nigrum* and its bioactivities / Y. Gao, S. Wang, S. Dang [et al.] // J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci. – 2021 Apr 20. – No. 1173. – P. 122699. doi: 10.1016/j.jchromb.2021.122699. Epub ahead of print. PMID: 33915384

160. Paquin, A. Recent Advances in the Use of the Dimerization Strategy as a Means to Increase the Biological Potential of Natural or Synthetic Molecules / A. Paquin, C. Reyes-Moreno, G. Berube // Molecules. – 2021. – No. 26 (8). – P. 2340. doi: 10.3390/molecules26082340

161. Patel, D. K. Biological Importance and Pharmacological Activities of Meranzin and Meranzin Hydrate Against Human Disorders / D. K. Patel, K. Patel // Current Chinese Chemistry. – 2022. – Vol. 2, No. 3 – P. 1–8. DOI: 10.2174/2666001602666220524140540

162. Phenolic components of *Empetrum nigrum* extract and the crystal structure of one of them / E. A. Krasnov, E. V. Ermilova, T. V. Kadyrova [et al.] // Chemistry of Natural Compounds. – 2000. – Vol. 36, No. 5. – P. 493–496.

163. PhIN: a protein pharmacology interaction network database / Z. Wang, J. Li, R. Dang [et al.] // CPT Pharmacomet Syst Pharmacol. – 2015. – No. 4 (3). – P. 160–166. DOI: 10.1002/psp4.25

164. Phlebotonics for haemorrhoids / N. Perera, D. Liolitsa, S. Iype [et al.] // Cochrane Database Syst. Rev. 2012. doi: 10.1002/14651858.CD004322.pub3

165. Phytochemical analysis of *Ononis arvensis* L. by liquid chromatography coupled with mass spectrometry / N. Gampe, A. Darcsi, A. Nagyné Nedves [et al.] // J Mass Spectrom. – 2019 Feb. – Vol. 54, No. 2. – P. 121–133. doi: 10.1002/jms.4308.

166. Phytochemical analysis of polyphenol secondary metabolites in cloudberry (*Rubus chamaemorus* L.) leaves / A. K. Whaley, A. O. Ponkratova, A. A. Orlova [et al.] // Pharm Chem J. – 2021. – No. 55. – P. 253–258. Doi: 10.1007/s11094-021-02407-y

167. Phytochemical Composition and *In Vitro* Biological Activity of *Iris* spp. (*Iridaceae*): A New Source of Bioactive Constituents for the Inhibition of Oral Bacterial Biofilms / L. Hoang, F. Beneš, M. Fenclová [et al.] // *Antibiotics* (Basel). – 2020 Jul 11. – No. 9 (7). – P. 403. doi: 10.3390/antibiotics9070403. PMID: 32664528. PMCID: PMC7399867

168. Phytochemistry, ethnopharmacology and pharmacology of the *genus Empetrum*: a review / E. A. Bezverkhniaia, E. V. Ermilova, T. V. Kadyrova [et al.] // *Advances in Traditional Medicine*. – 2023. – Vol. 23. – P. 659–672.

169. Potent Antioxidant and Anti-Tyrosinase Activity of Butein and Homobutein Probed by Molecular Kinetic and Mechanistic Studies / W. Pan, I. Giovanardi, T. Sagynova [et al.] // *Antioxidants* (Basel). – 2023 Sep 14. – No. 12(9). – P. 1763. doi: 10.3390/antiox12091763. PMID: 37760066. PMCID: PMC10525132

170. Prediction of the biological activity spectra of organic compounds using the PASS online web resource / D. A. Filimonov, A. A. Lagunin, T. A. Glorizova [et al.] // *Chemistry of Heterocyclic Compounds*. – 2014. – Vol. 50, No. 3. – P. 444-457.

171. Proanthocyanidins Ameliorated Deficits of Lipid Metabolism in Type 2 Diabetes Mellitus Via Inhibiting Adipogenesis and Improving Mitochondrial Function / F. Tie, J. Wang, Y. Liang [et al.] // *Int J Mol Sci*. – 2020 Mar 16. – Vol. 21, No. 6. – P. 2029. doi: 10.3390/ijms21062029. PMID: 32188147. PMCID: PMC7139784

172. Qing-Wen Zhang. Techniques for extraction and isolation of natural products: a comprehensive review / Qing-Wen Zhang, Li-Gen Lin, Wen-Cai Ye // *Chin Med*. – 2018. – No. 13. – P. 20. doi: 10.1186/s13020-018-0177-x

173. QNA-based ‘Star Track’ QSAR approach / D. A. Filimonov, A. V. Zakharov, A. A. Lagunin, V. V. Poroikov // *SAR and QSAR in Environmental Research*. – 2009. – Vol. 20, No. 7–8. – P. 679–709.

174. Qualitative and Quantitative Analysis of C-glycosyl-flavones of *Iris lactea* Leaves by Liquid Chromatography/Tandem Mass Spectrometry / D. Chen, Y. Meng, Y. Zhu [et al.] // *Molecules*. – 2018 Dec 18. – Vol. 23, No. 12. – P. 3359. doi: 10.3390/molecules23123359. PMID: 30567397. PMCID: PMC6320948

175. Quantitative determination of isoflavonoids in *Ononis* species by UPLC-UV-DAD / N. Gampe, E. Nagy, L. Kursinszki, S. Béni // *Phytochemical Analysis*. – 2021 Jul. – Vol. 32, No. 4. – P. 474–481. doi: 10.1002/pca.2995. Epub 2020 Sep 14. PMID: 32929804

176. Raks, V. Isolation, Separation, and Preconcentration of Biologically Active Compounds from Plant Matrices by Extraction Techniques / V. Raks, H. Al-Suod, B. Buszewski // *Chromatographia*. – 2018. – No. 81. – P. 189–202. doi: 10.1007/s10337-017-3405-0

177. Rao, V. Analytical Methods of Isolation and Identification / V. Rao, D. Mans, L. Rao // *Phytochemicals in Human Health*. – Intech Open, 2019. – 298 p. DOI: 10.5772/intechopen.88122

178. Rapid Electrochemical Method for the Determination of L-DOPA in Extract From the Seeds of *Mucuna Prurita* / D. M. Stankovič, A. Samphao, B. Dojcinović, K. Kalcher // *Acta Chim Slov*. – 2016. – Vol. 63, No. 2. – P. 220–226. doi: 10.17344/acsi.2015.1541. PMID: 27333543

179. Rapid Separation of Three Proanthocyanidin Dimers from *Iris lactea* Pall. var. *Chinensis* (Fisch.) Koidz by High-Speed Counter-Current Chromatography With Continuous Sample Load and Double-Pump Balancing Mode / H. Lv, Z Yuan, X. Wang [et al.] // *Phytochemical Analysis*. – 2015 Nov-Dec. – Vol. 26, No. 6. – P. 444–453. doi: 10.1002/pca.2579. Epub 2015 Jun 23. PMID: 26103066

180. Rasul, M. G. Extraction, isolation and characterization of natural products from medical plants / M. G. Rasul // *International Journal of Basic Sciences and Applied Computing*. – 2018. – Vol. 2, Iss. 6. – P. 1–6.

181. Recent Advances in Ligand-Based Drug Design: Relevance and Utility of the Conformationally Sampled Pharmacophore Approach / C. Acharya, A. Coop, J. E. Polliard, A. D. MacKerell // *Current Computer-Aided Drug Design*. – 2011. – No. 7 (1). doi: 10.2174/157340911793743547

182. Recent Developments and Anticancer Therapeutics of Paclitaxel: An Update / A. Ahmed Khalil, A. Rauf, F. A. Alhumaydhi [et al.] // *Curr Pharm Des*. – 2022. – Vol. 28(41). – P. 3363–3373. doi: 10.2174/1381612829666221102155212

183. Relationship between Hormonal Modulation and Gastroprotective Activity of Malvidin and Cyanidin Chloride: *In Vivo* and *In Silico* Approach / M. L. Zarricueta, F. L. Fagundes, Q. C. Pereira [et al.] // *Pharmaceutics*. – 2022 Mar 4. – Vol. 14, No. 3. – P. 565. doi: 10.3390/pharmaceutics14030565. PMID: 35335941. PMCID: PMC8953580

184. Reverse pharmacognosy: application of Selnergy, a new tool for lead discovery. The example of ϵ -viniferin / Q. T. Do, I. Renimel, P. Andre [et al.] // *Current Drug Discovery Technologies*. – 2005. – No. 2. – P. 1–7.

185. Reverse pharmacognosy: identifying biological properties for plants by means of their molecule constituents: application to Meranzin / Q.-T. Do, C. Lamy, I. Renimel [et al.] // *Planta Med.* – 2007. – No. 73. – P. 1235–1240.

186. Role of animal models in biomedical research: a review / P. Mukherjee, S. Roy, D. Ghosh, S. K. Nandi // *Laboratory Animal Research*. – 2022. – Vol. 38, No. 18. doi: 10.1186/s42826-022-00128-1

187. Russell, W. M. S. The principles of humane experimental technique. *Principles of humane experimental technique*. / W. M. S. Russell, R. L. Burch. – London: Methuen & Co. Limited, 1960. – 252 p.

188. Sanguin H-6 Fractionated from Cloudberry (*Rubus chamaemorus*) Seeds Can Prevent the Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Biofilm Development during Wound Infection / J. J. Aguilera-Correa, S. Fernández-López, I. D. Cuñas-Figueroa [et al.] // *Antibiotics (Basel)*. – 2021 Dec 3. – Vol. 10, No. 12. – P. 1481. doi: 10.3390/antibiotics10121481. PMID: 34943693. PMCID: PMC8698471

189. Schwikkard, S. L. Useful Methods for Targeted Plant Selection in the Discovery of Potential New Drug Candidates / S. L. Schwikkard, D. A. Mulholland // *Planta Medica*. – 2014. – Vol. 80, No. 14. – P. 1154–1160. DOI:10.1055/s-0034-1368549

190. Shifting from the single to the multitarget paradigm in drug discovery / J. L. Medina-Franco [et al.] // *Drug Discovery Today*. – 2013. – Vol. 18, No. 9–10. – P. 495–501.

191. Simmons, D. The use of animal models in studying genetic disease: transgenesis and induced mutation / D. Simmons // Nature Education. – 2008. – Vol. 1, No. 1. – P. 70.

192. Sittampalam, G. S. High-throughput screening: advances in assay technologies / G. S. Sittampalam, S. D. Kahl, W. P. Janzen // Current Opinion in Chemical Biology. – 1997. – Vol. 1, No. 3. – P. 384–391.

193. STI571 (Glivec) inhibits the interaction between c-KIT and heats hock protein 90 of the gastrointestinals tromal tumor cellline, GIST-T1 / H. Nakatani, M. Kobayashi, T. Jin [et al.] / Cancer Science. – 2005. – Vol. 96, Iss. 2. – P. 116–119. DOI: 10.1111/j.1349-7006.2005.00018.x

194. Structure elucidation and NMR assignments of a new dihydrochalcone from *Empetrum nigrum subsp. asiaticum* (Nakai ex H. Ito) Kuvaev / S. Bao, Q. Wang, W. Bao, W. Ao // Nat Prod Res. – 2020 Apr. – Vol. 34, No. 7. – P. 930–934. doi: 10.1080/14786419.2018.1542390. Epub 2018 Dec 25. PMID: 30584772

195. Super computer-Based Ensemble Docking Drug Discovery Pipeline with Application to COVID-19 / A. Acharya, R. Agarwal, M. B. Baker [et al.] // J. Chem. Inf. Model. – 2020. – Iss. 60, No. 12. – P. 5832–5852. DOI: 10.1021/acs.jcim.0c01010

196. Synthesis, crystal structure, spectroscopic properties and potential anti-cancerous activities of four unsaturated bis-norcantharimides / S.-S. Cheng, Y. Shi, X.-N. Ma [et al.] // J. Mol. Struct. – 2016. – No. 1115. – P. 228–240.

197. Synthesis of amide-spacered dimers of ursolic and oleanolic acid / S. Hoenke, I. Wiengarn, I. Serbian [et al.] // Mediterr. J. Chem. – 2019. – No. 9. – P. 24–36.

198. Systematic investigation of Ginkgo biloba leaves for treating cardio-cerebrovascular diseases in an animal model / Y. Yang, Y. Li, J. Wang [et al.] // ACS Chemical Biology. – 2017. – Vol. 12, No. 5. – P. 1363–1372.

199. Tang, W. Preparative separation and purification of rosmarinic acid from perilla seed meal via combined column chromatography / W. Tang, B. Sun, Y. Zhao // J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci. – 2014 Feb 1. – No. 947–948. – P. 41–48. doi: 10.1016/j.jchromb.2013.12.007. Epub 2013 Dec 17. PMID: 24381020

200. Targeting cancer stem cells and signalling pathways through phytochemicals: A promising approach against colorectal cancer / W. Liao, L. Zhang, X. Chen [et al.] // *Phytomedicine*. – 2023 Jan. – Vol. 108. – P. 154524. doi: 10.1016/j.phymed.2022.154524. Epub 2022 Oct 31. PMID: 36375238

201. TCM-Mesh: the database and analytical system for network pharmacology analysis for TCM preparations / R. Z. Zhang, S. J. Yu, H. Bai [et al.] // *Sci Rep*. – 2017. – No. 7 (1). – P. 1–4. DOI: 10.1038/s41598-017-03039-7

202. *The Pharmacological Basis of Therapeutics* / L. Brunton, L. Goodman, A. Gilman, B. Knollmann. – McGraw-Hill Medical, New York, ed. 14, 2022. – 1664 p.

203. The Role of Flavonoids in Invasion Strategy of *Solidago canadensis* L. / A. Likhanov, M. Oliinyk, N. Pashkevych, A. Churilov, M. Kozyr // *Plants (Basel)*. 2021 Aug 23. – Vol. 10, No. 8. – P. 1748. doi: 10.3390/plants10081748. PMID: 34451793. PMCID: PMC8401302

204. Therapeutic target database update 2016: enriched resource for bench to clinical drug target and targeted pathway information / H. Yang, C. Qin, Y. H. Li [et al.] // *Nucleic Acids Res*. – 2016. – No. 44 (D1). – P. 1069–1074. DOI: 10.1093/nar/gkv1230

205. Trabectedin in Cancers: Mechanisms and Clinical Applications / J. Wang, P. Wang, Z. Zeng [et al.] // *Curr Pharm Des*. – 2022. – No. 28 (24). – P. 1949–1965. doi: 10.2174/1381612828666220526125806

206. Underlying mechanisms and molecular targets of genistein in the management of type 2 diabetes mellitus and related complications / T. Jiang, Y. Dong, W. Zhu [et al.] // *Crit Rev Food Sci Nutr*. – 2023 Jul 27. – P. 1–13. doi: 10.1080/10408398.2023.2240886. PMID: 37497995

207. Uria, A. R. Biosynthetic Insights of Calyculin- and Misakinolide-Type Compounds in *Candidatus Entotheonella* sp. / A. R. Uria, J. Piel, T. Wakimoto // *Methods Enzymol*. – 2018. – Vol. 604. – P. 287–330. doi: 10.1016/bs.mie.2018.02.017. Epub 2018 May 7. PMID: 29779656

208. US Food and drug administration. <https://www.fda.gov/>

209. Van Dam, D. Animal models in the drug discovery pipeline for Alzheimer's disease / D. Van Dam, P. P. De Deyn // *British Journal of Pharmacology*. – 2011. – Vol. 164, No. 4. – P. 1285-1300.

210. Wajima, T. A comprehensive model for the humoral coagulation network in humans / T. Wajima, G. K. Isbister, S. B. Duffull // *Clinical Pharmacology and Therapeutics*. – 2009. – Vol. 86, No. 3. – P. 290–298. Doi: 10.1038/clpt.2009.87

211. William, J. Powers 2018 Guidelines for the Early Management of Patients With Acute Ischemic Stroke: A Guideline for Healthcare Professionals From the American Heart Association/American Stroke Association / J. William // *Stroke*. – 2018. – Vol. 49. – P. 46–99.

212. Wishart, D. S. Applications of Metabolomics in Drug Discovery and Development / D. S. Wishart // *Drugs RD*. – 2008. – No. 9. – P. 307–322. Doi: 10.2165/00126839-200809050-00002

213. Wu-Tou decoction in rheumatoid arthritis: integrating network pharmacology and *in vivo* pharmacological evaluation / Q. Guo, K. Zheng, D. Fan [et al.] // *Frontiers in Pharmacology*. – 2017. – Vol. 8. – P. 230.

214. X-ray Structure Determination, Antioxidant Voltammetry Studies of Butein and 2',4'-Dihydroxy-3,4-dimethoxychalcone. Computational Studies of 4 Structurally Related 2',4'-diOH Chalcones to Examine Their Antimalarial Activity by Binding to Falcipain-2 / I. Okoye, S. Yu, F. Caruso, M. Rossi // *Molecules*. – 2021 Oct 28. – No. 26 (21). – P. 6511. doi: 10.3390/molecules26216511. PMID: 34770920. PMCID: PMC8588236

215. Yinchenhao decoction suppresses rat liver fibrosis involved in an apoptosis regulation mechanism based on network pharmacology and transcriptomic analysis / F. F. Cai, Y. Q. Bian, R. Wu[et al.] // *Biomedicine & Pharmacotherapy*. – 2019. – Vol. 114. – P. 108863.

216. Zeng, L. Exploring the pharmacological mechanism of Yanghe Decoction on HER2-positive breast cancer by a network pharmacology approach / L. Zeng, K. Yang // *Journal of Ethnopharmacology*. – 2017. – Vol. 199. – P. 68–85.

ПРИЛОЖЕНИЕ № 1

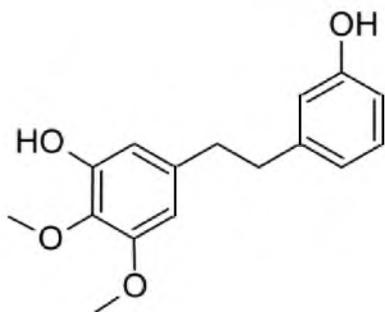
Реестр выделенных индивидуальных соединений

ПАСПОРТ СУБСТАНЦИИ EN15

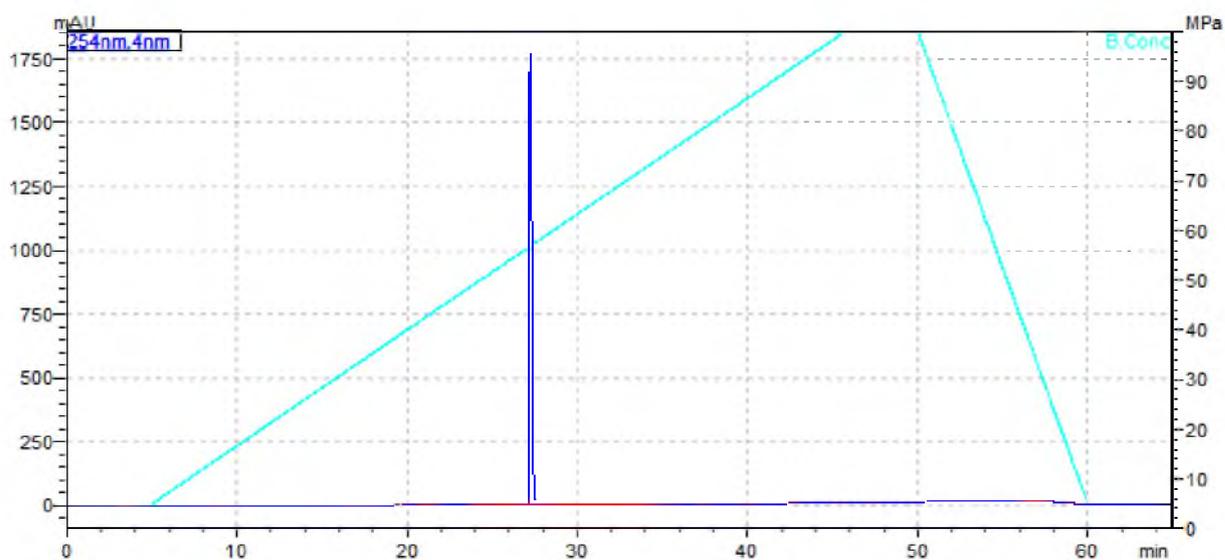
1) Шифр субстанции: EN15

2) Название соединения: 1-(3-гидроксифенил)-2-(3-гидрокси-4,5-диметоксифенил) этан

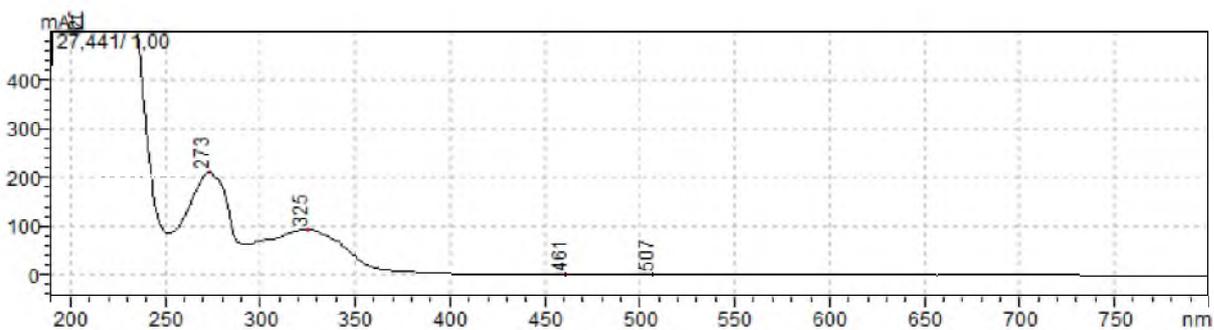
3) Формула соединения:



4) ВЭЖХ-спектр:

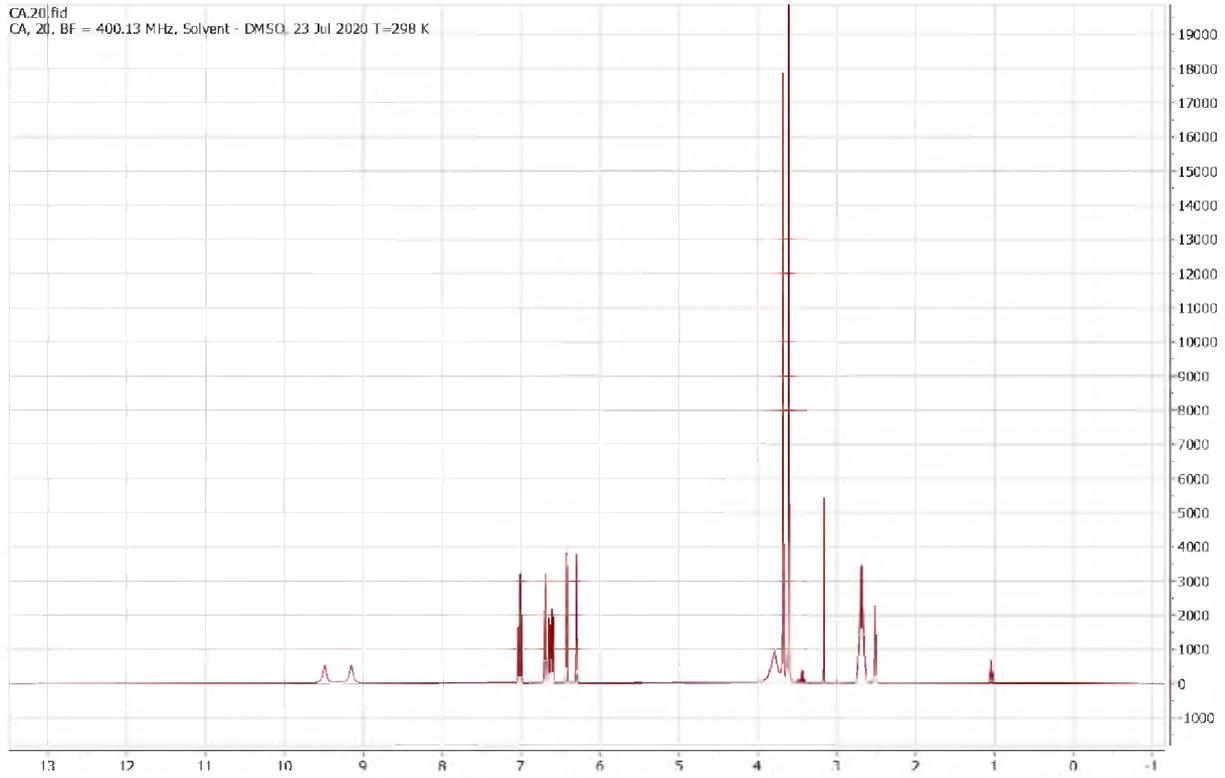


5) УФ-спектр:

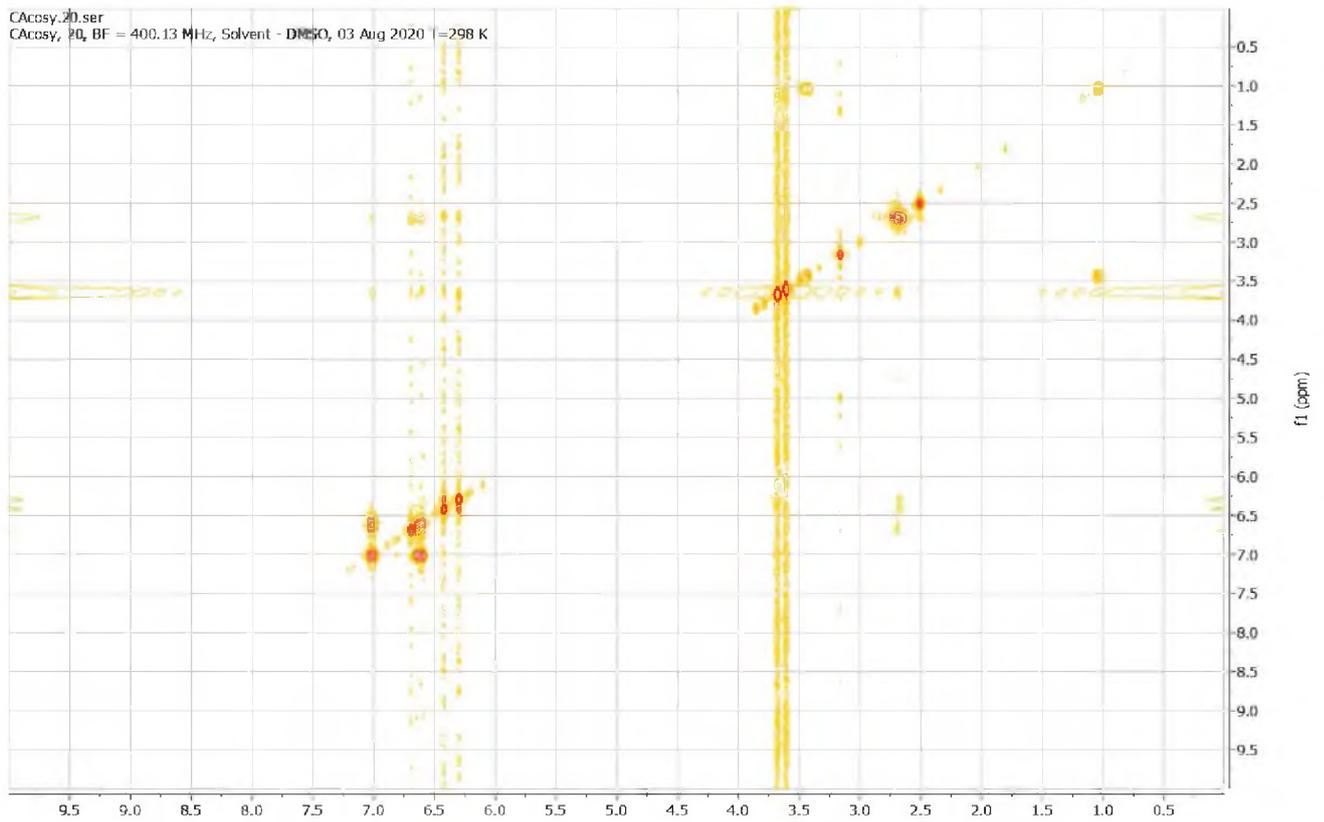


Максимумы УФ-поглощения: 273, 325 нм

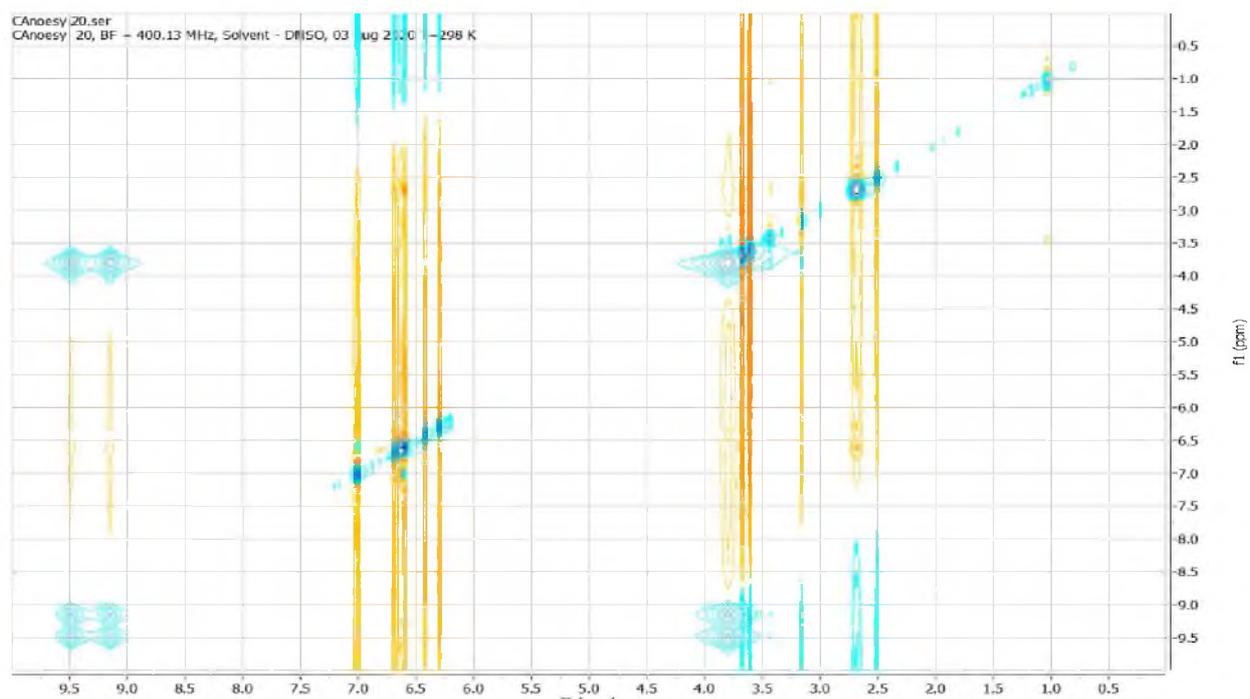
6) ЯМР-спектры:

 ^1H ЯМР

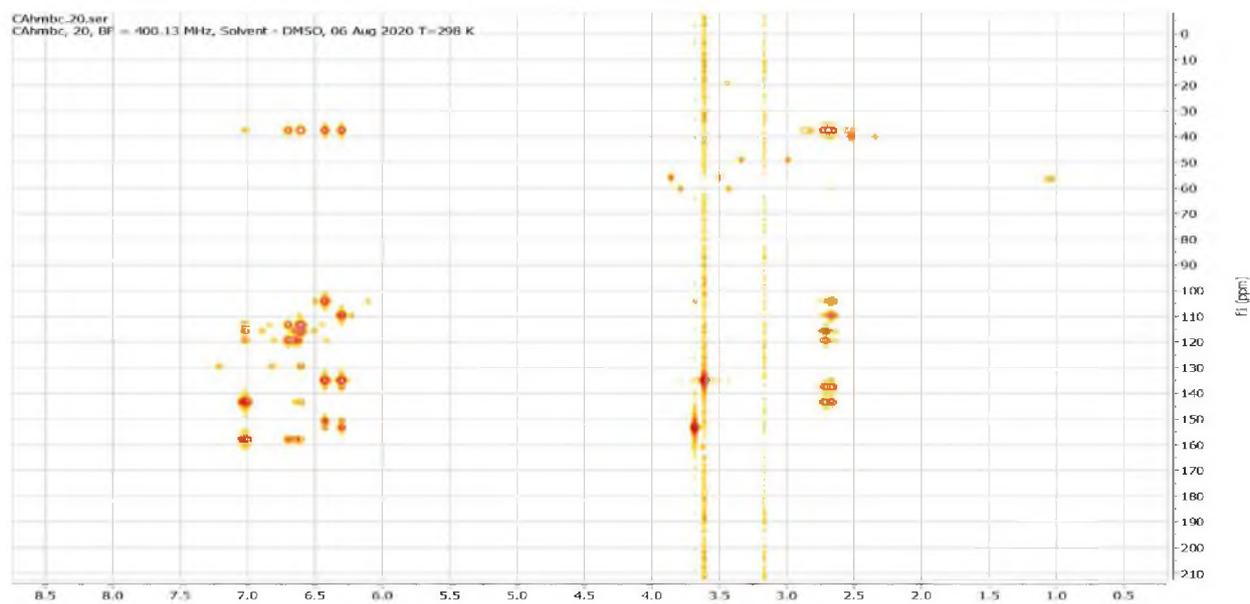
COSY



NOESY

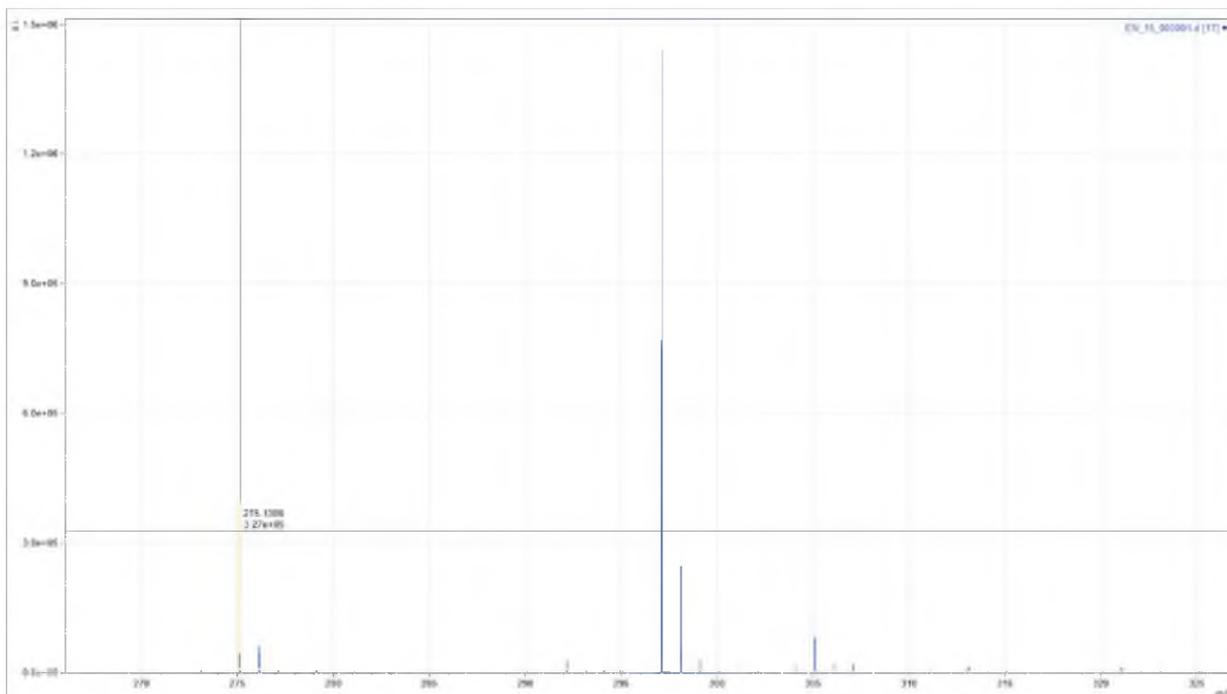


HMBC



7) Масс-спектр:

$[M+H]^+$ m/z 275.1265 (calc. 275.1283)

**СПРАВОЧНО:**

- 1) **Группа соединений:** производное бибензила
- 2) **Масса:** 30 мг
- 3) **Статус:** ранее известное для растения
- 4) **Прогноз фармакологической активности Way2Drug**

Pa	Pi	Activity
0,925	0,002	Linoleate diol synthase inhibitor
0,909	0,003	Feruloyl esterase inhibitor
0,902	0,004	Chlordecone reductase inhibitor
0,893	0,004	Aldehyde oxidase inhibitor
0,889	0,003	HSPB1 expression inhibitor
0,888	0,010	Membrane integrity agonist
0,875	0,001	Carminative
0,868	0,004	Cardiovascular analeptic
0,864	0,001	Steroid N-acetylglucosaminyltransferase inhibitor
0,858	0,002	Preneoplastic conditions treatment
0,865	0,010	Estrogen-related receptor alpha agonist
0,836	0,002	MAP kinase stimulant
0,833	0,004	Methylquercetagenin 6-O-methyltransferase inhibitor

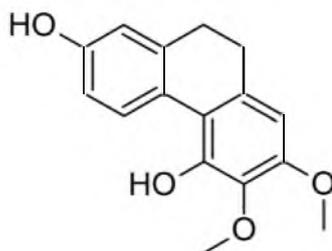
0,835	0,006	5 Hydroxytryptamine release stimulant
0,810	0,001	Vanillyl-alcohol oxidase inhibitor
0,807	0,009	Taurine dehydrogenase inhibitor
0,796	0,005	APOA1 expression enhancer
0,801	0,013	Penicillin-binding protein ampH inhibitor
0,793	0,015	Antiseborrheic
0,778	0,001	N1L inhibitor
0,779	0,004	Antiinflammatory, intestinal
0,782	0,014	Antineurotoxic
0,772	0,006	Fibrinolytic
0,764	0,004	Gastric secretion stimulant
0,761	0,005	Peroxidase inhibitor
0,756	0,002	3-Demethylubiquinone-9 3-O-methyltransferase inhibitor
0,734	0,004	Antimutagenic
0,733	0,004	Beta-carotene 15,15'-monooxygenase inhibitor
0,736	0,012	Mucositis treatment
0,717	0,004	3-Oxoacyl-[acyl-carrier-protein] reductase inhibitor
0,717	0,005	APOC3 expression inhibitor
0,721	0,013	15-Oxoprostaglandin 13-reductase inhibitor
0,711	0,004	Vasodilator, renal
0,707	0,005	General pump inhibitor
0,715	0,015	Dehydro-L-gulonate decarboxylase inhibitor

ПАСПОРТ СУБСТАНЦИИ EN17

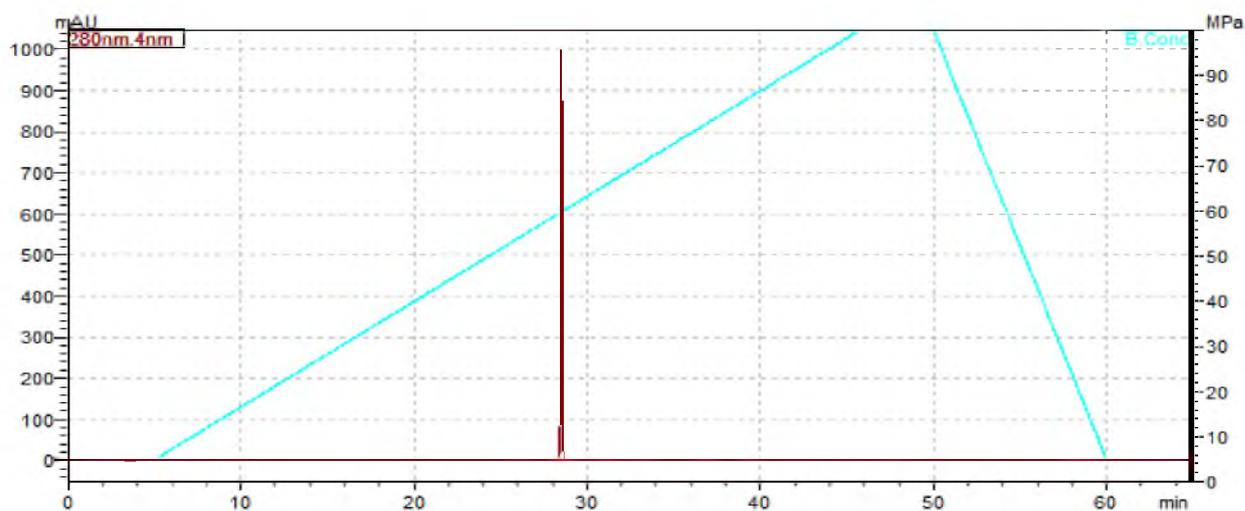
1) Шифр субстанции: EN17

2) Название соединения: 4,7-дигидрокси-2,3-диметокси-9,10-дигидрофенантрен

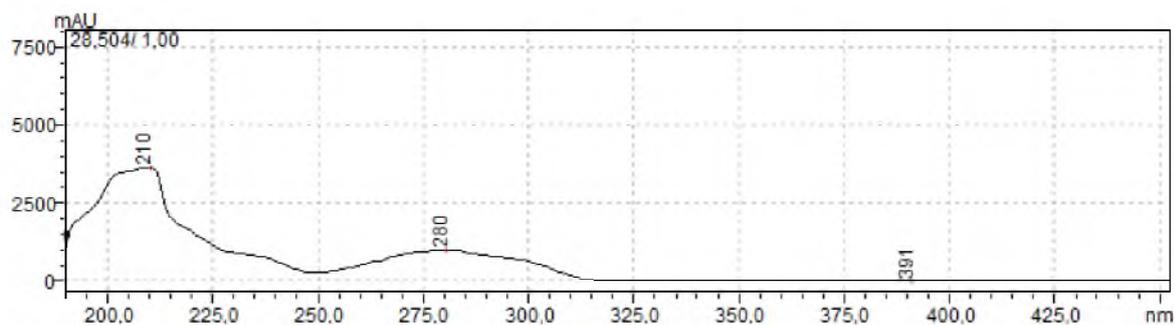
3) Формула соединения:



4) ВЭЖХ-спектр:

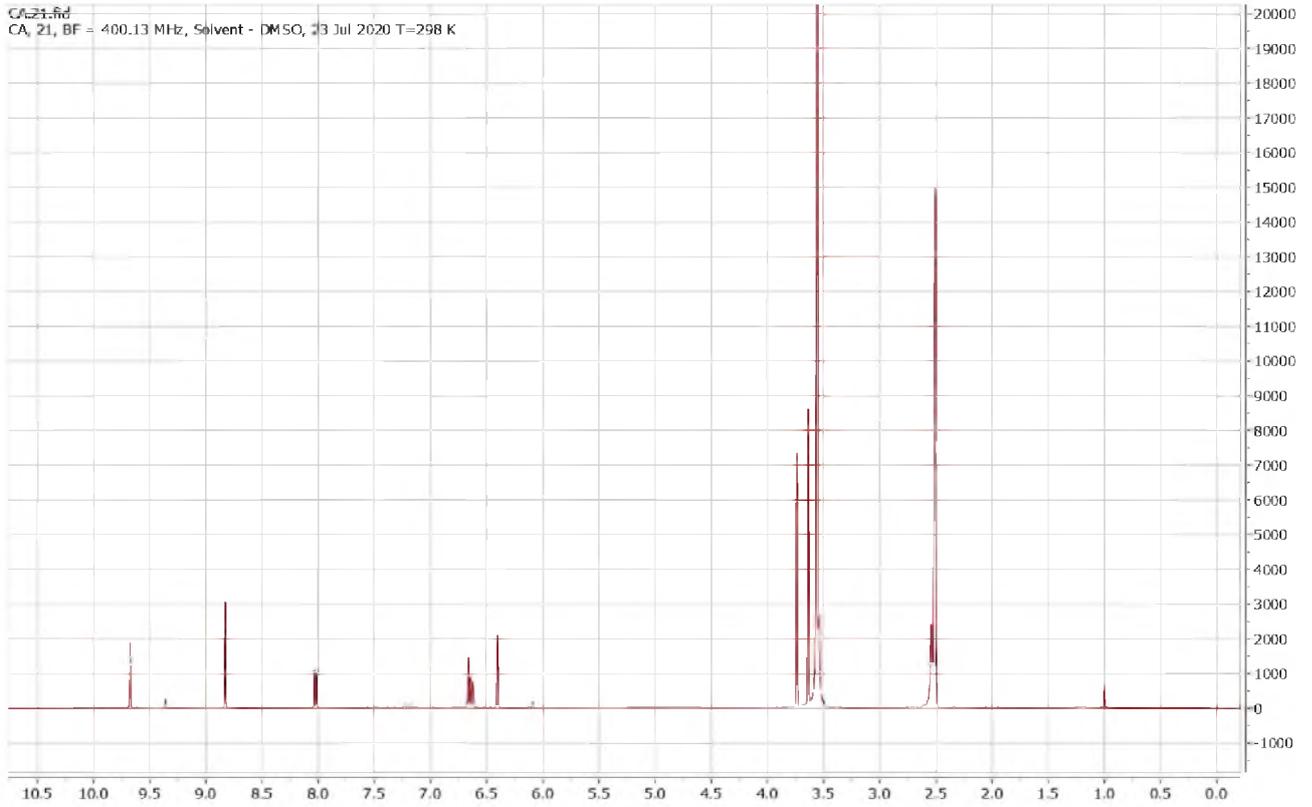


5) УФ-спектр:

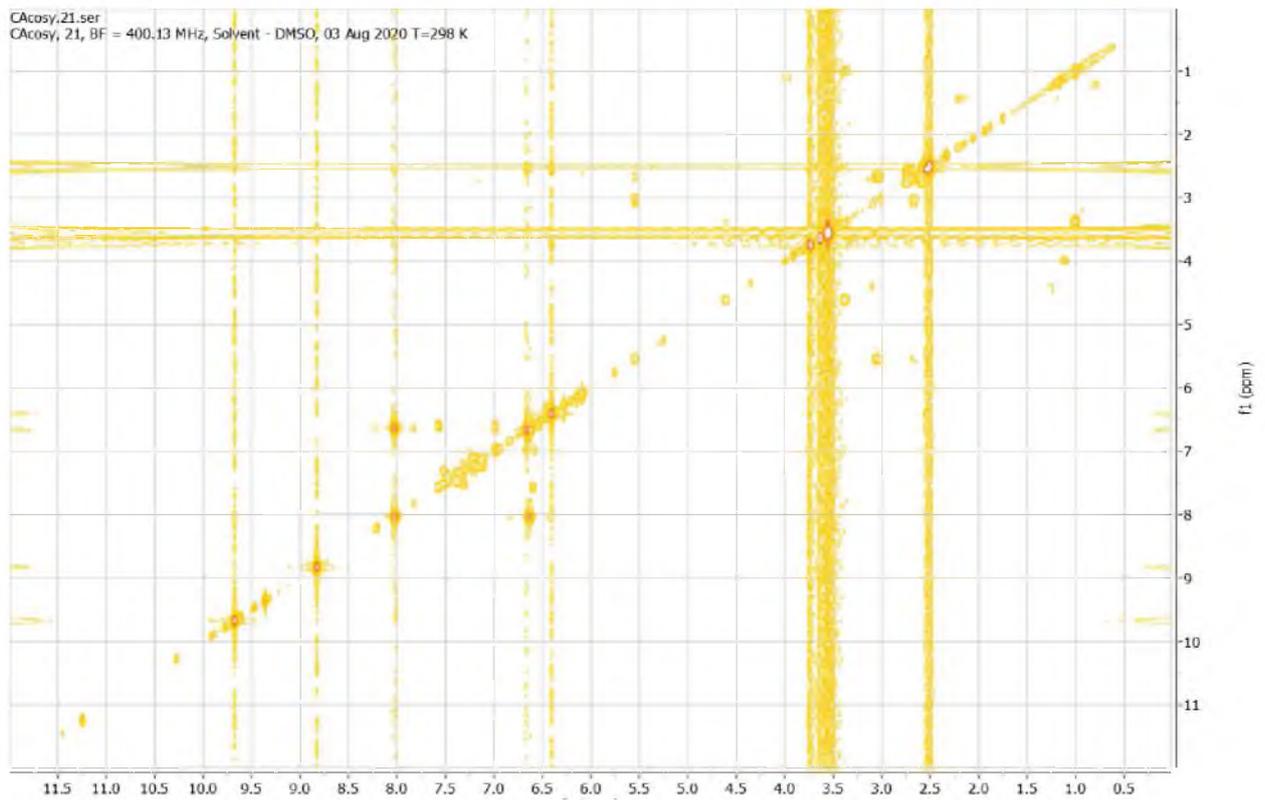


Максимумы УФ-поглощения: 210, (238), 280 нм

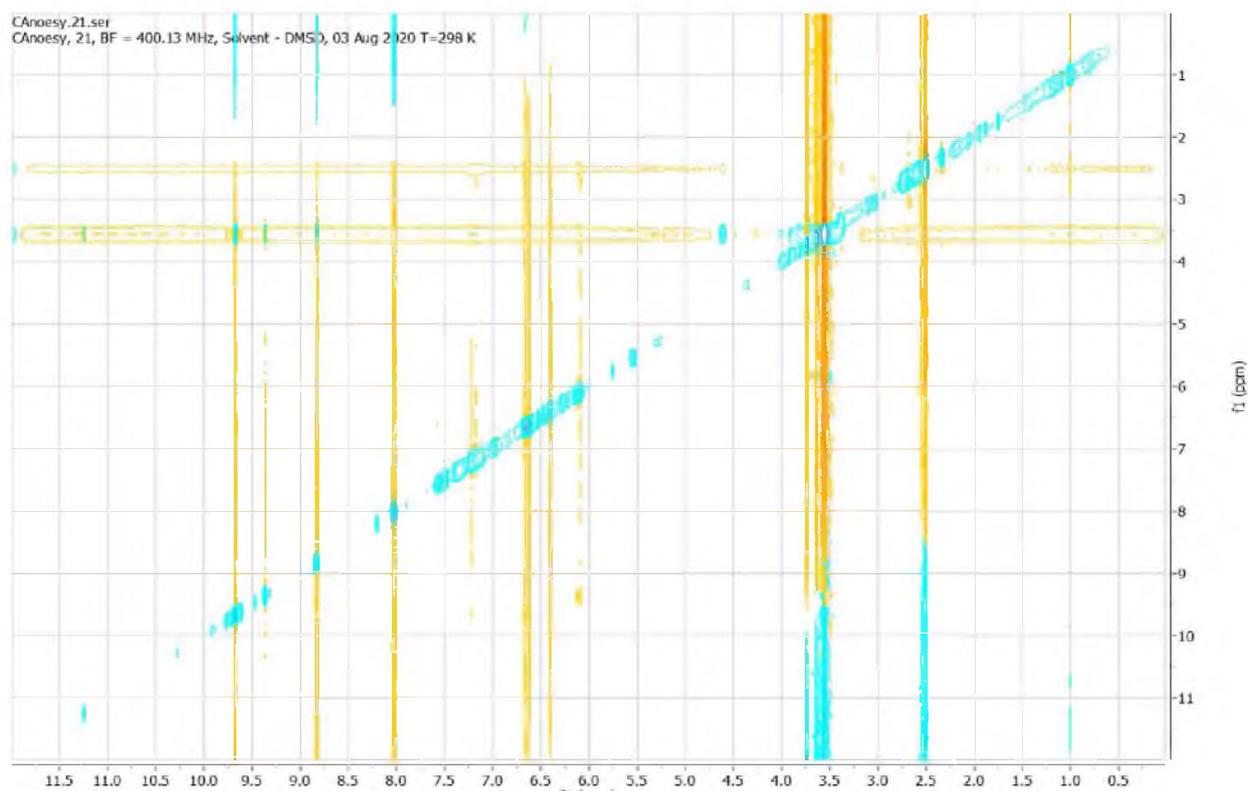
6) ЯМР-спектры:

 ^1H ЯМР

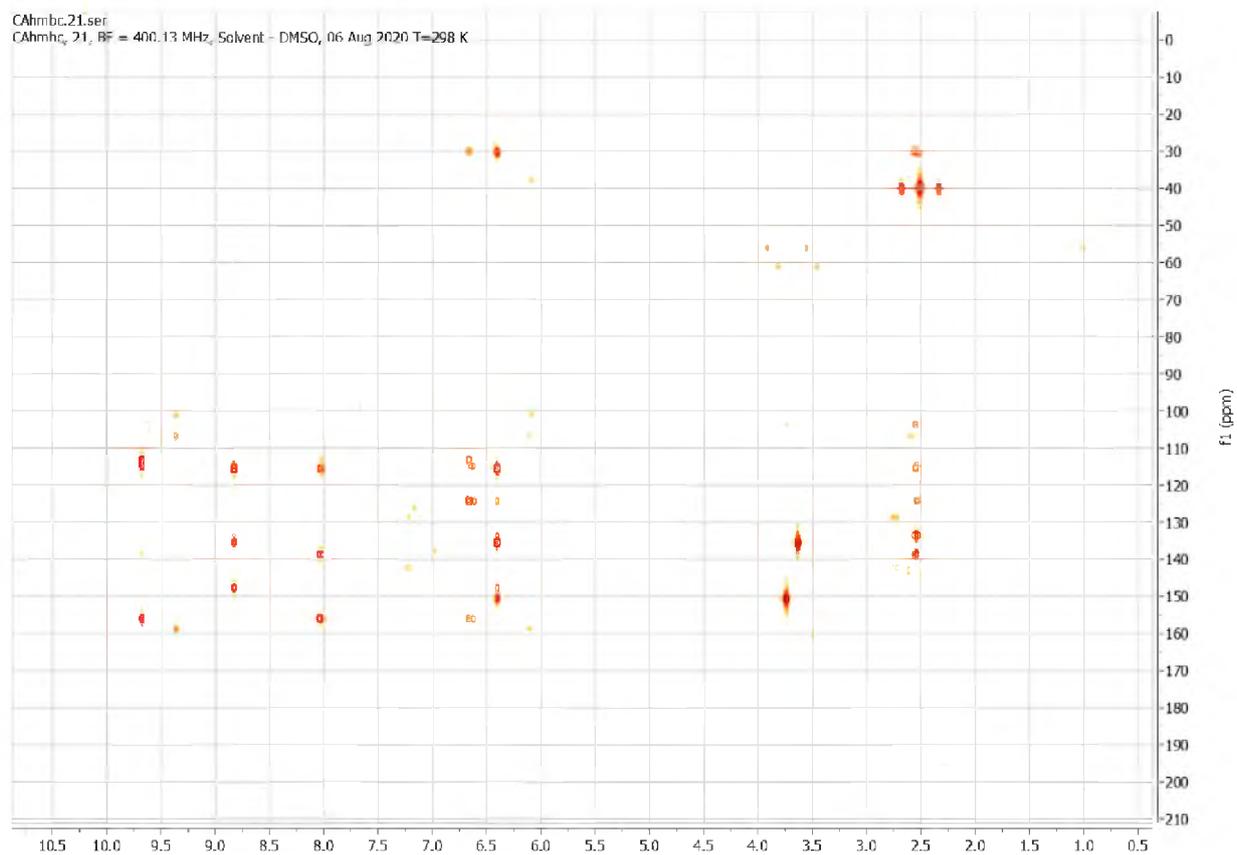
COSY

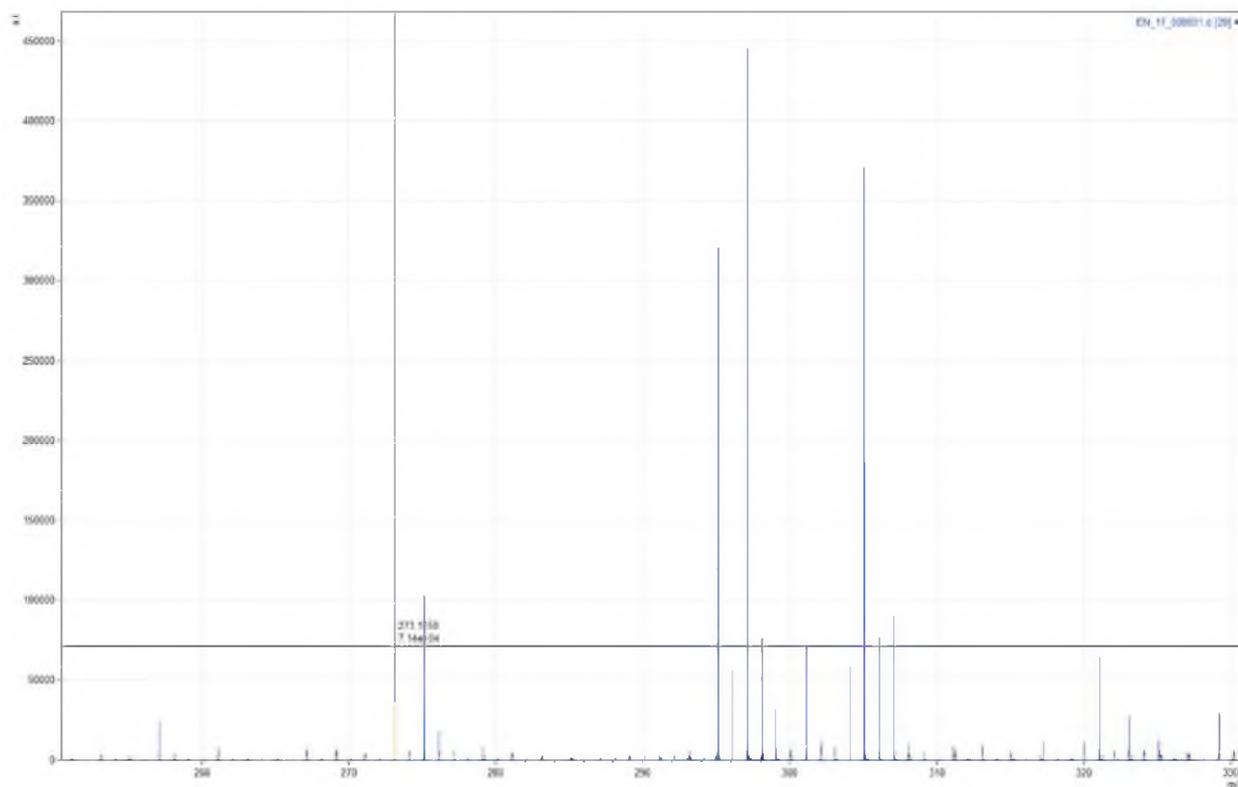


NOESY



HMBC



7) Масс-спектр:[M+H]⁺ *m/z* 273.1128 (calc. 273.1127)**СПРАВОЧНО:**

- 1) **Группа соединений:** производные 9,10-дигидрофенантрена
- 2) **Масса:** 20 мг
- 3) **Статус:** ранее неизвестное для растения
- 4) **Прогноз фармакологической активности Way2Drug**

Pa	Pi	Activity
0,895	0,007	Estrogen-related receptor alpha agonist
0,874	0,004	5 Hydroxytryptamine release stimulant
0,867	0,004	Aldehyde oxidase inhibitor
0,865	0,006	Chlordecone reductase inhibitor
0,843	0,004	Methylquercetagenin 6-O-methyltransferase inhibitor
0,839	0,005	HSPB1 expression inhibitor
0,833	0,002	Steroid N-acetylglucosaminyltransferase inhibitor
0,838	0,009	Antiseborrheic
0,802	0,006	Fructose-bisphosphate aldolase inhibitor
0,777	0,004	General pump inhibitor
0,769	0,003	MAP kinase stimulant
0,763	0,004	Gastric secretion stimulant
0,766	0,011	Feruloyl esterase inhibitor
0,770	0,029	Membrane integrity agonist

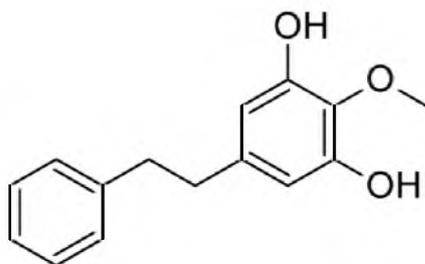
0,742	0,011	Alopecia treatment
0,731	0,003	Alpha tubulin antagonist
0,734	0,007	Female germline-specific tumor suppressor gld-1 inhibitor
0,731	0,005	Antiinflammatory, intestinal
0,741	0,022	Antineurotoxic
0,721	0,006	Vasoprotector
0,736	0,022	Neuroprotector
0,726	0,013	Fibrinolytic
0,710	0,003	Tubulin antagonist
0,708	0,003	Leukopoiesis inhibitor
0,716	0,012	Lysase inhibitor
0,724	0,021	Penicillin-binding protein ampH inhibitor
0,702	0,004	Carminative

ПАСПОРТ СУБСТАНЦИИ EN19

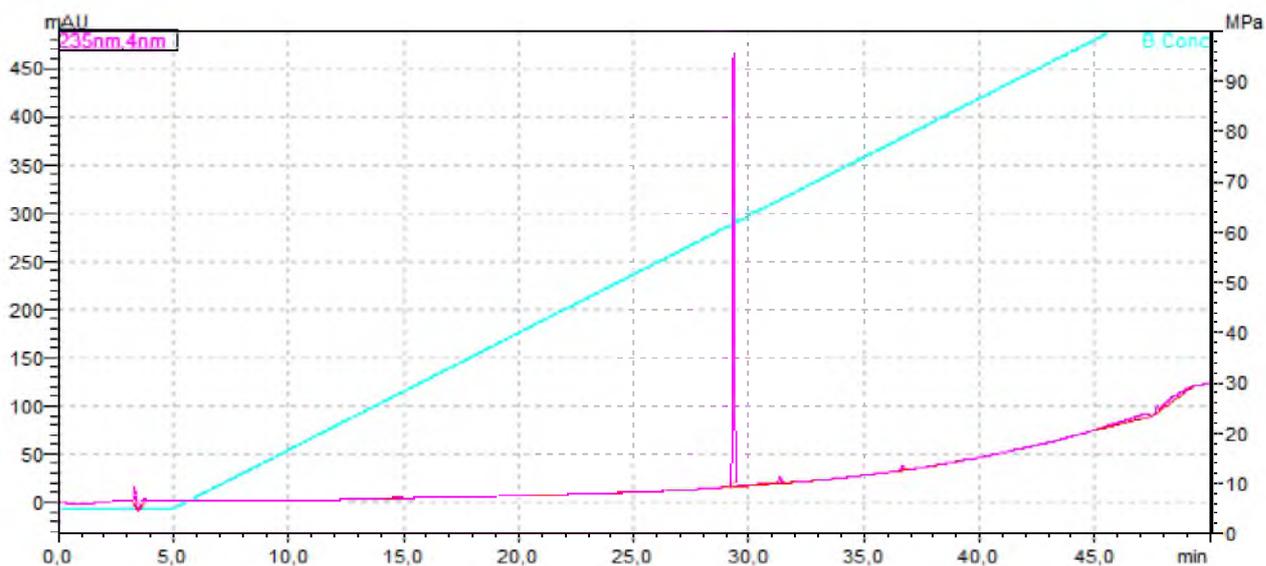
1) Шифр субстанции: EN19

2) Название соединения: 1-(3,5-дигидрокси-4-метоксифенил)-2-фенилэтан

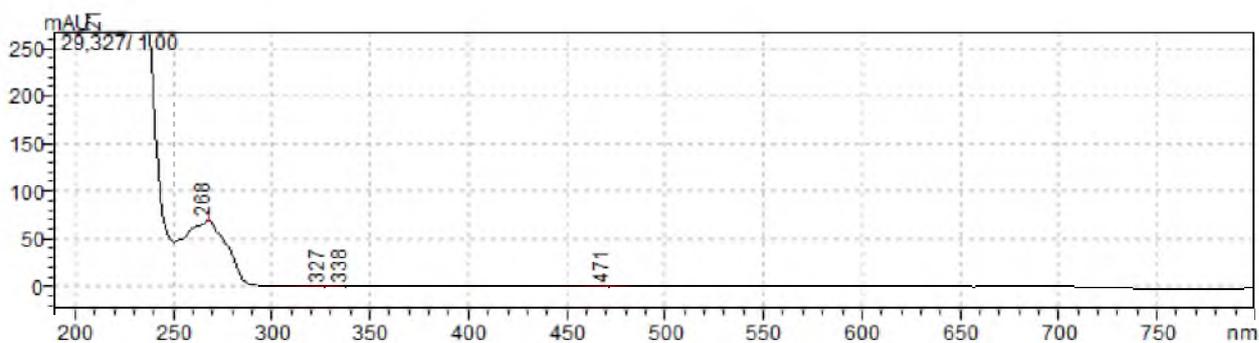
3) Формула соединения:



4) ВЭЖХ-спектр:

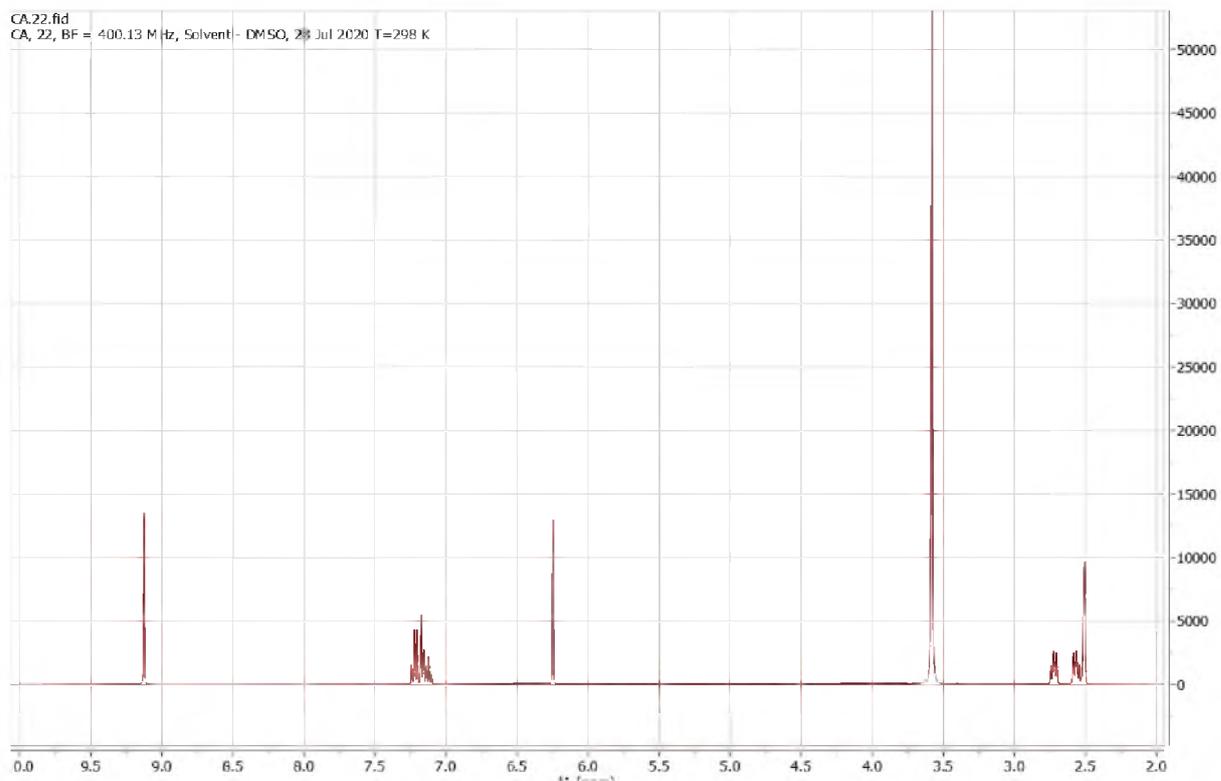


5) УФ-спектр:

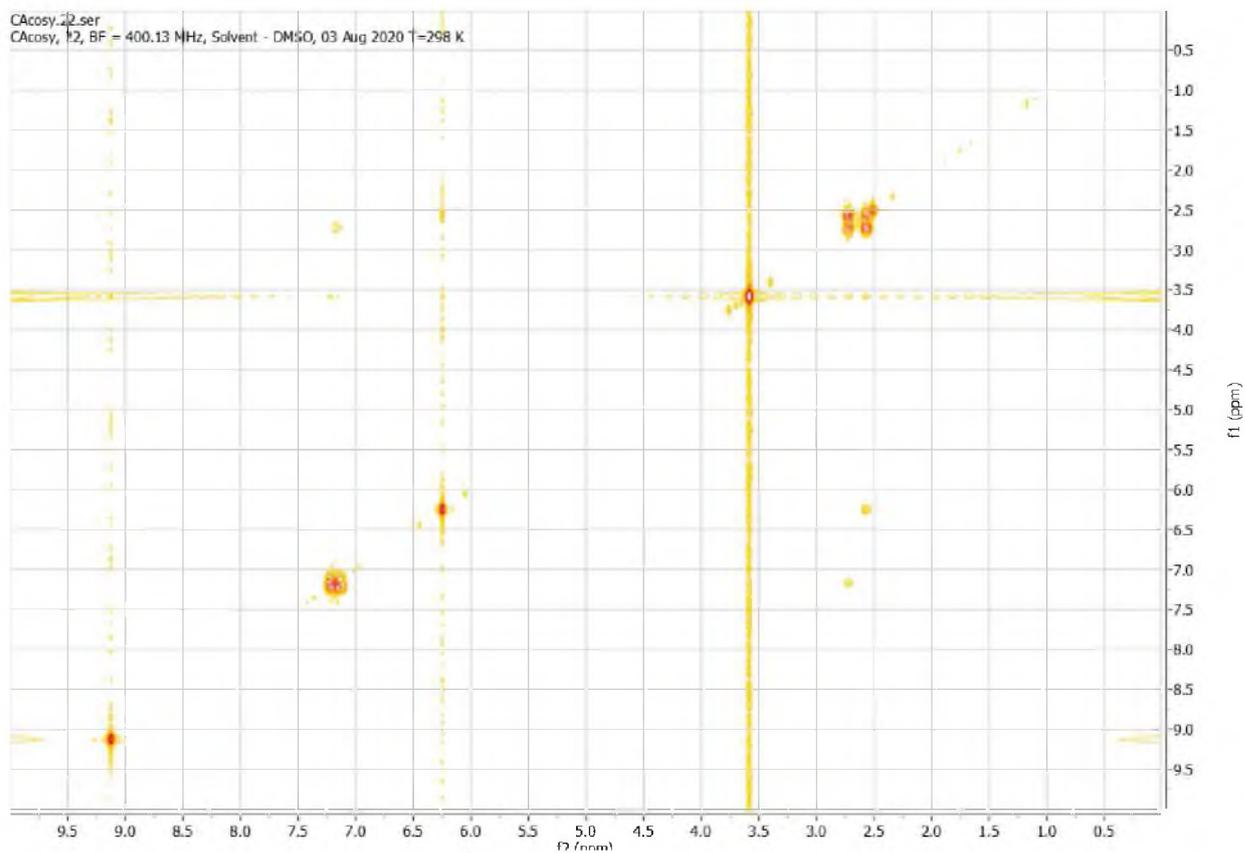


Максимумы УФ-поглощения: 268 нм

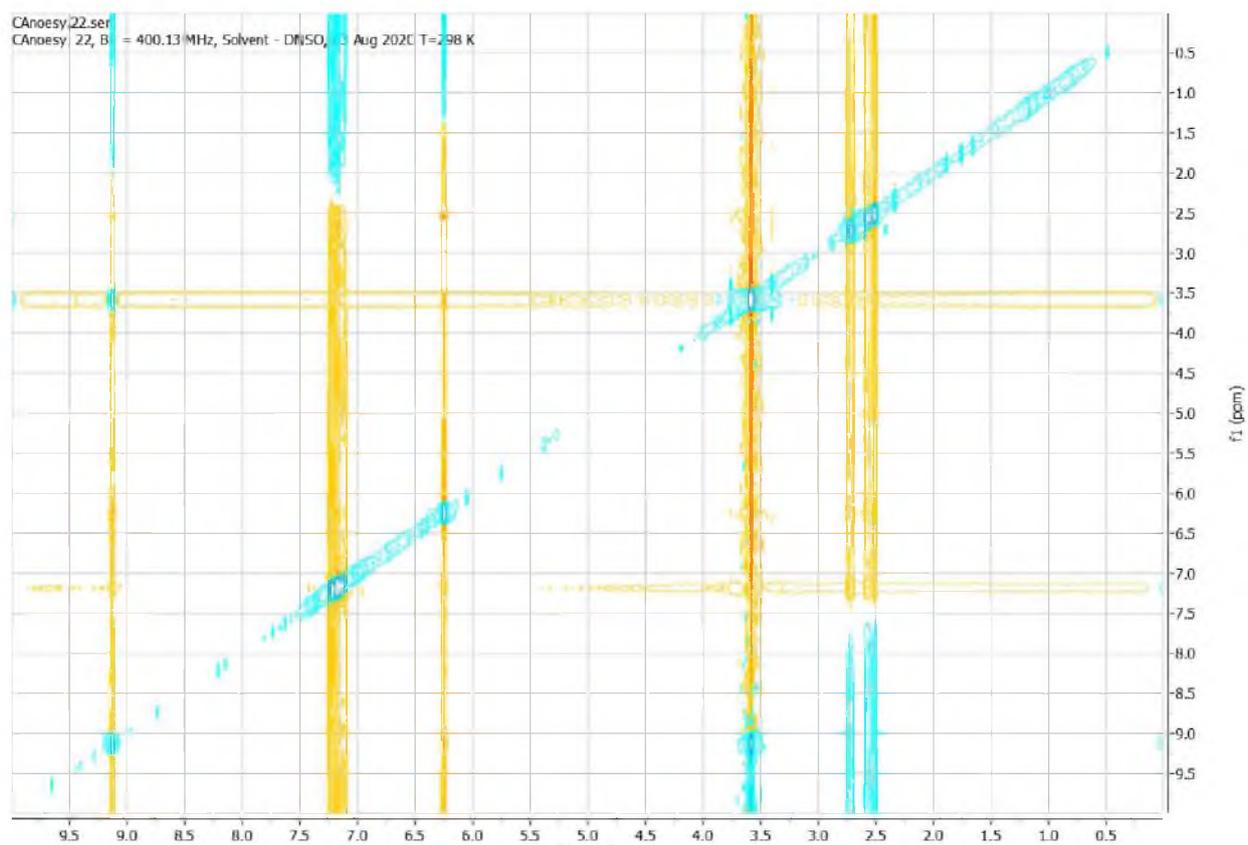
6) ЯМР-спектры:

 ^1H ЯМР

COSY

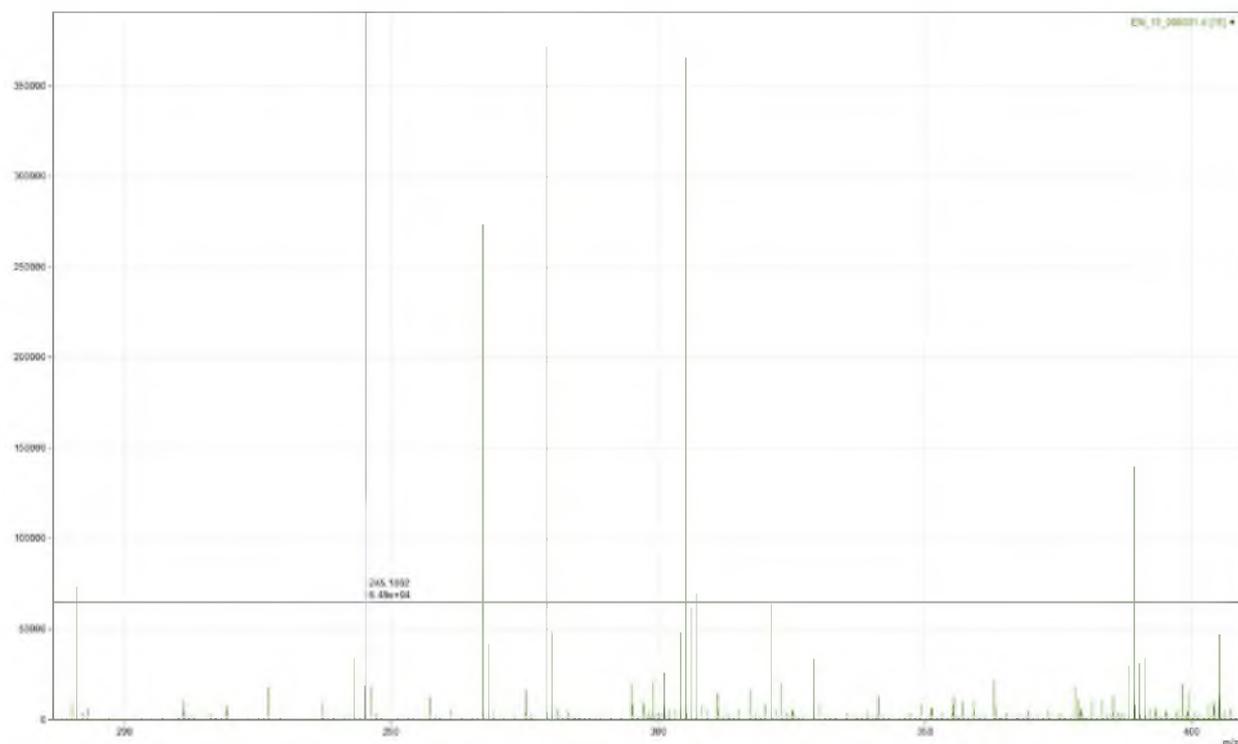


NOESY



HMBC



7) Масс-спектр:[M+H]⁺ *m/z* 245,1164 (calc. 245.1178)**СПРАВОЧНО:**

- 1) **Группа соединений:** производное бибензила
- 2) **Масса:** 20 мг
- 3) **Статус:** новое природное соединение
- 4) **Прогноз фармакологической активности Way2Drug**

Pa	Pi	Activity
0,913	0,003	Feruloyl esterase inhibitor
0,898	0,003	Linoleate diol synthase inhibitor
0,897	0,004	Chlordecone reductase inhibitor
0,886	0,010	Membrane integrity agonist
0,869	0,004	HSPB1 expression inhibitor
0,864	0,005	Taurine dehydrogenase inhibitor
0,843	0,002	Carminative
0,837	0,004	Methylquercetagetin 6-O-methyltransferase inhibitor
0,836	0,005	Aldehyde oxidase inhibitor
0,825	0,002	Steroid N-acetylglucosaminyltransferase inhibitor
0,825	0,003	Preneoplastic conditions treatment
0,822	0,004	Cardiovascular analeptic
0,790	0,003	MAP kinase stimulant
0,786	0,001	3-Demethylubiquinone-9 3-O-methyltransferase inhibitor
0,788	0,010	Glutamyl endopeptidase II inhibitor
0,783	0,005	NADPH-cytochrome-c2 reductase inhibitor

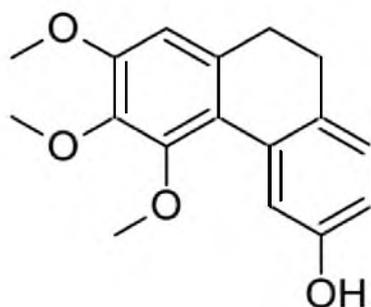
0,785	0,009	5 Hydroxytryptamine release stimulant
0,780	0,004	Antiinflammatory, intestinal
0,790	0,014	Penicillin-binding protein ampH inhibitor
0,795	0,021	Estrogen-related receptor alpha agonist
0,786	0,016	Antiseborrheic
0,770	0,005	2-Hydroxyquinoline 8-monooxygenase inhibitor
0,765	0,001	N1L inhibitor
0,766	0,010	Dehydro-L-gulonate decarboxylase inhibitor
0,760	0,005	Peroxidase inhibitor
0,766	0,017	Antineurotoxic
0,750	0,003	3-Oxoacyl-[acyl-carrier-protein] reductase inhibitor
0,754	0,008	Fibrinolytic
0,752	0,007	APOA1 expression enhancer
0,745	0,004	Gastric secretion stimulant
0,744	0,004	APOC3 expression inhibitor
0,743	0,016	Sugar-phosphatase inhibitor
0,735	0,015	Nicotinic alpha6beta3beta4alpha5 receptor antagonist
0,729	0,009	Alkane 1-monooxygenase inhibitor
0,729	0,012	15-Oxoprostaglandin 13-reductase inhibitor
0,727	0,011	Lysase inhibitor
0,706	0,004	Vasodilator, renal
0,708	0,007	Caspase 9 stimulant
0,714	0,014	Mucositis treatment

ПАСПОРТ СУБСТАНЦИИ EN20

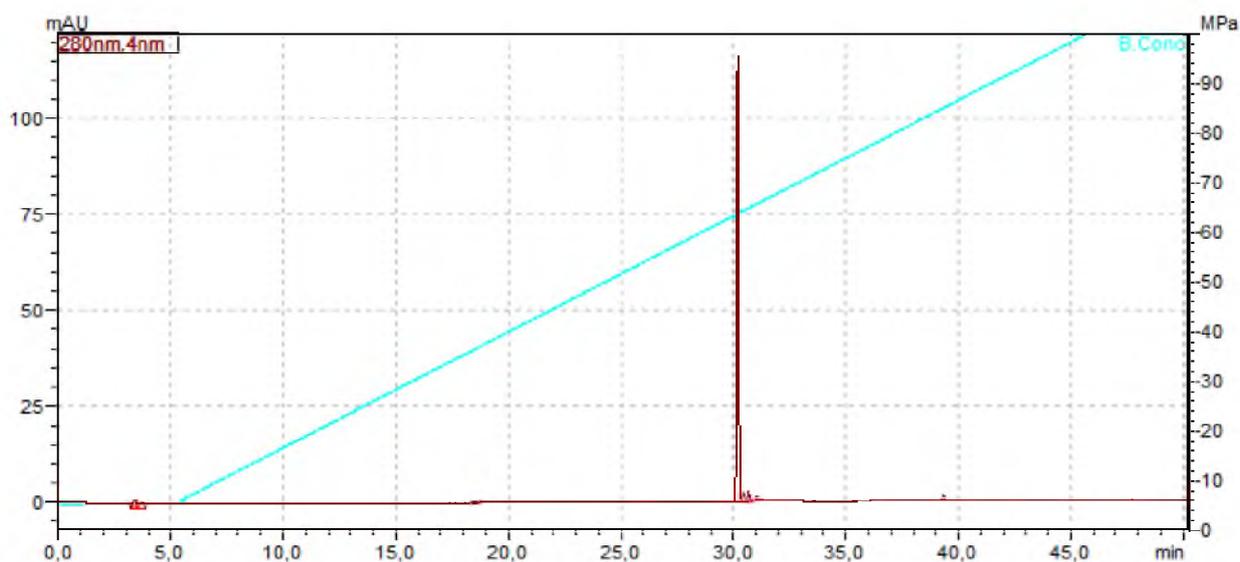
1) Шифр субстанции: EN20

2) Название соединения: 6-гидрокси-2,3,4-триметокси-9,10-дигидрофенантрен;

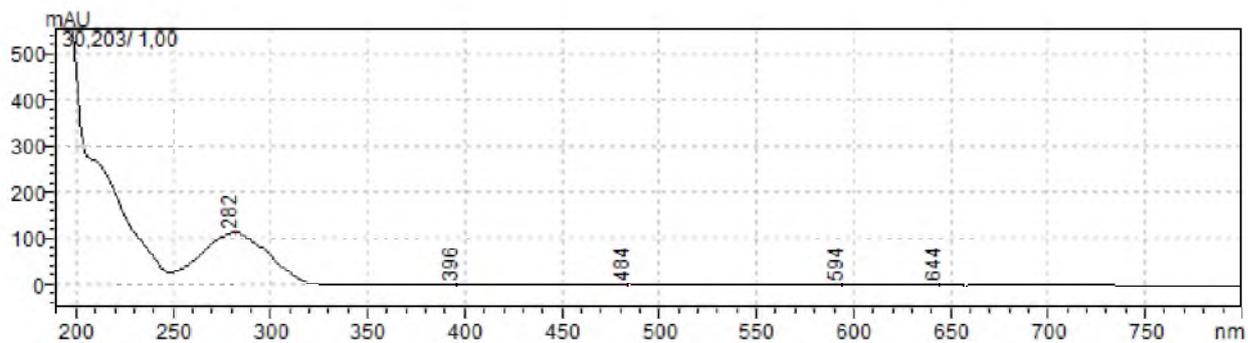
3) Формула соединения:



4) ВЭЖХ-спектр:

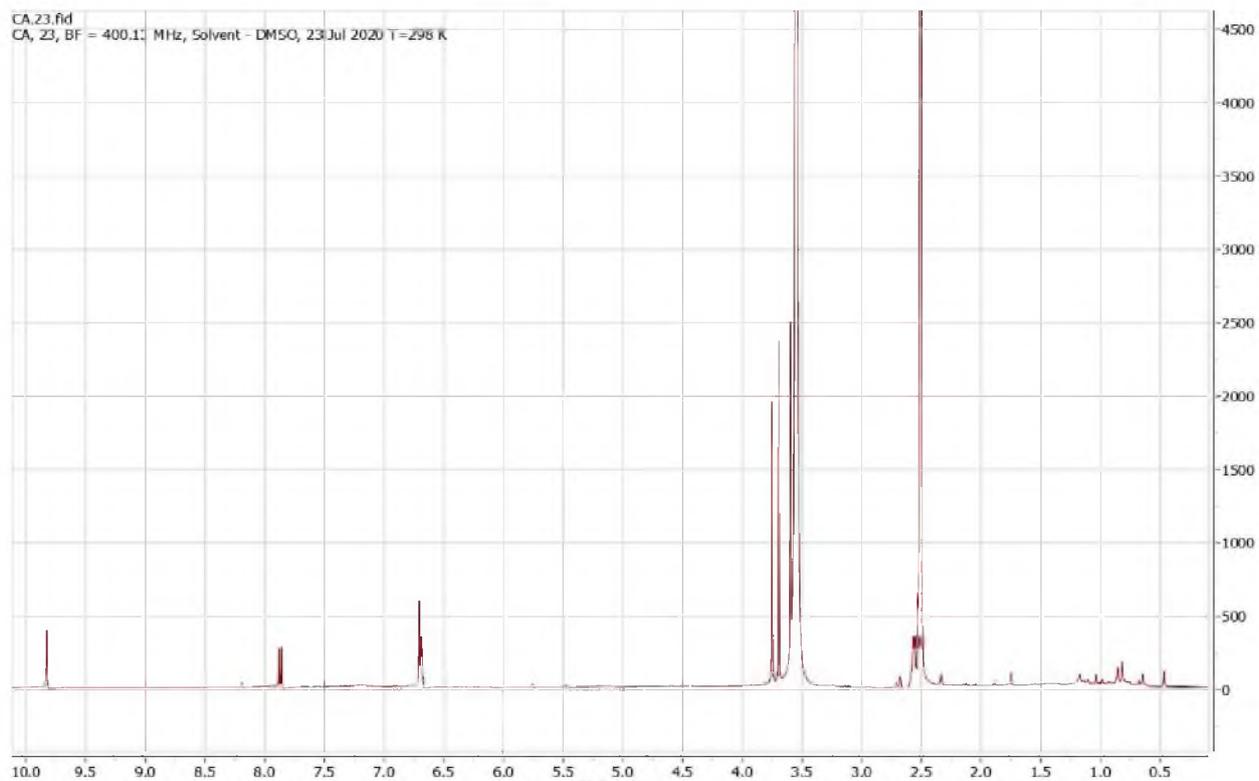


5) УФ-спектр:

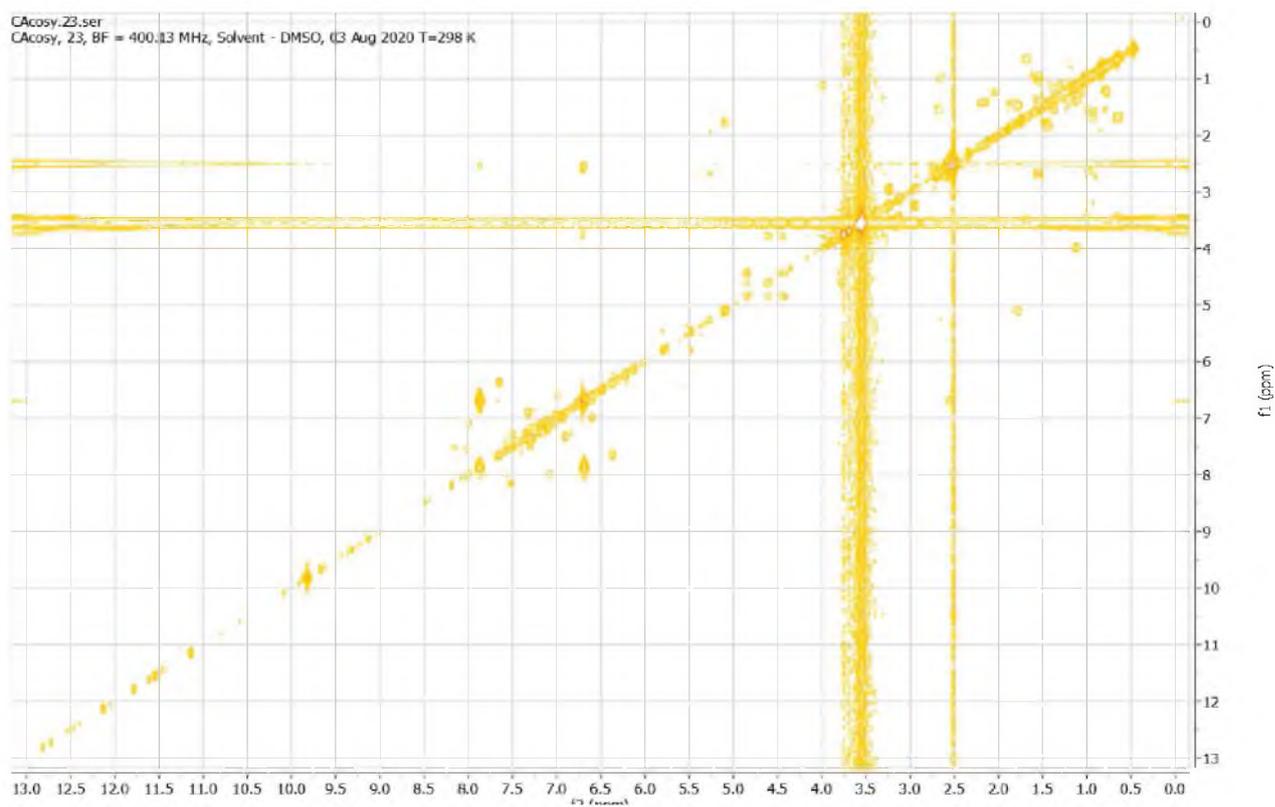


Максимумы УФ-поглощения: 282 нм

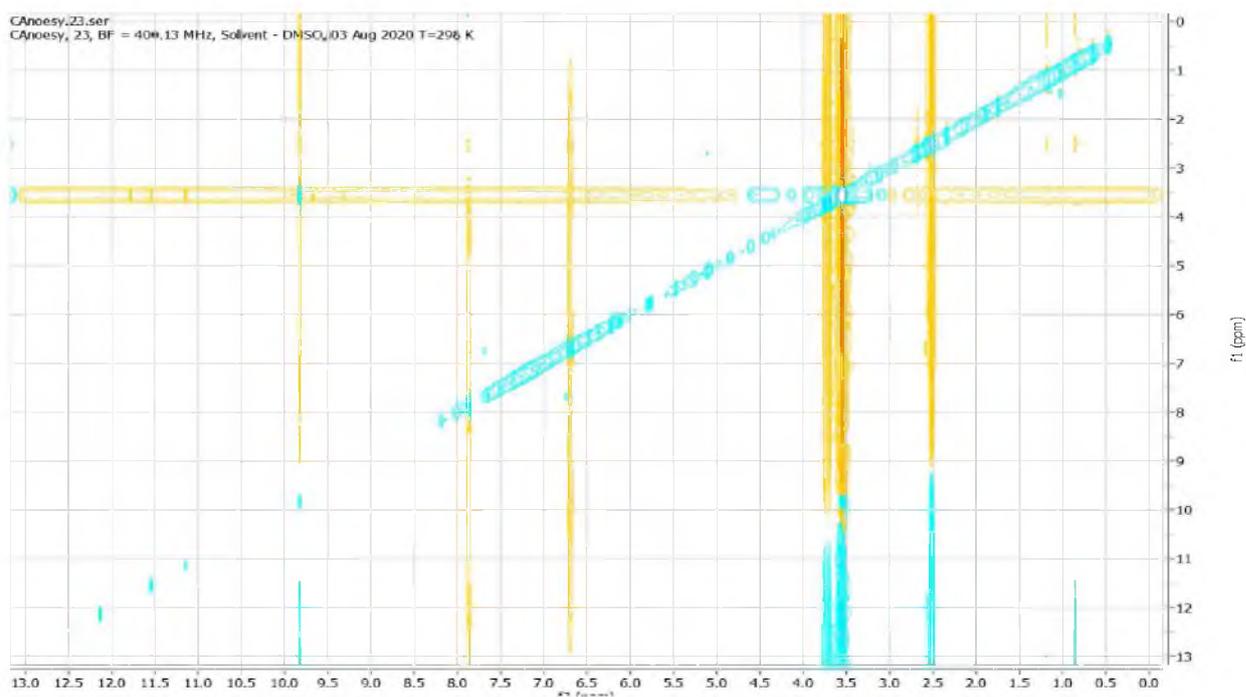
6) ЯМР-спектры:

 ^1H ЯМР

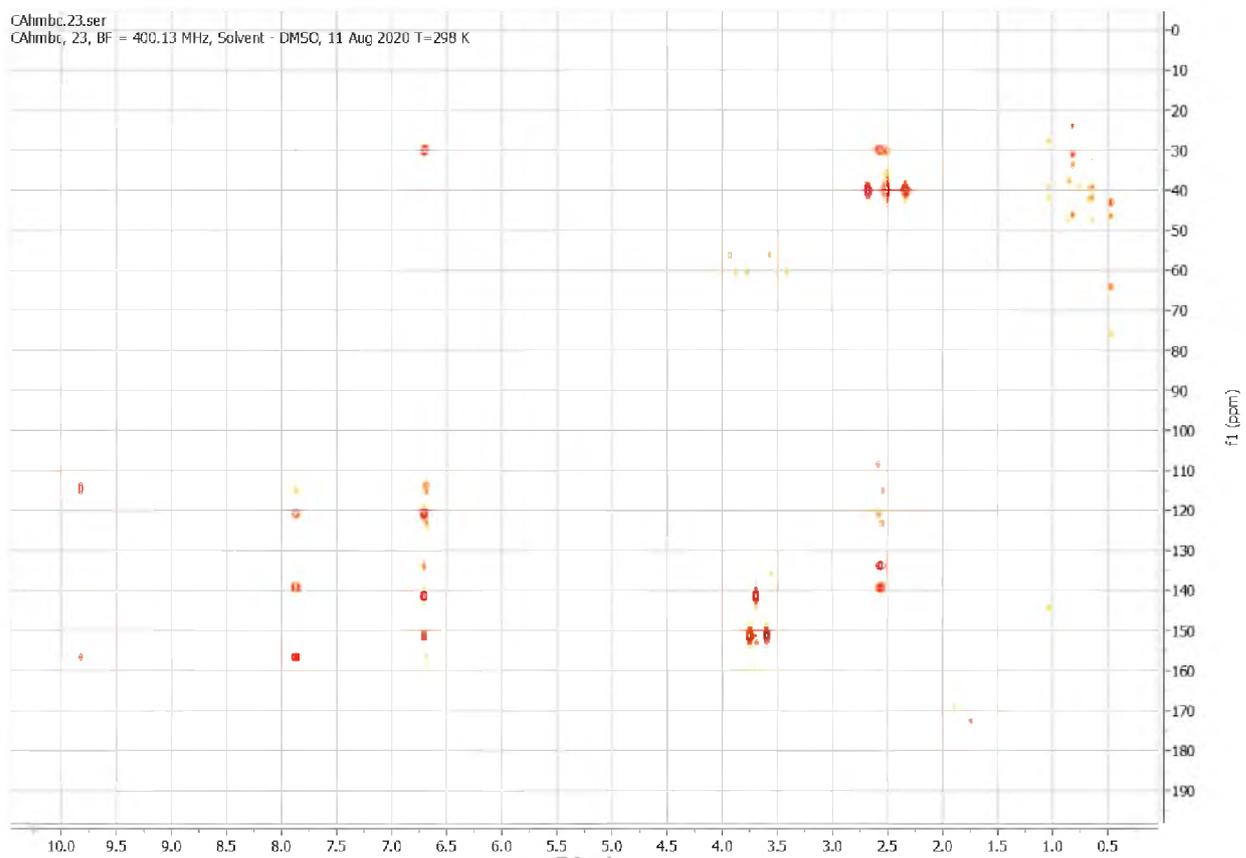
COSY



NOESY

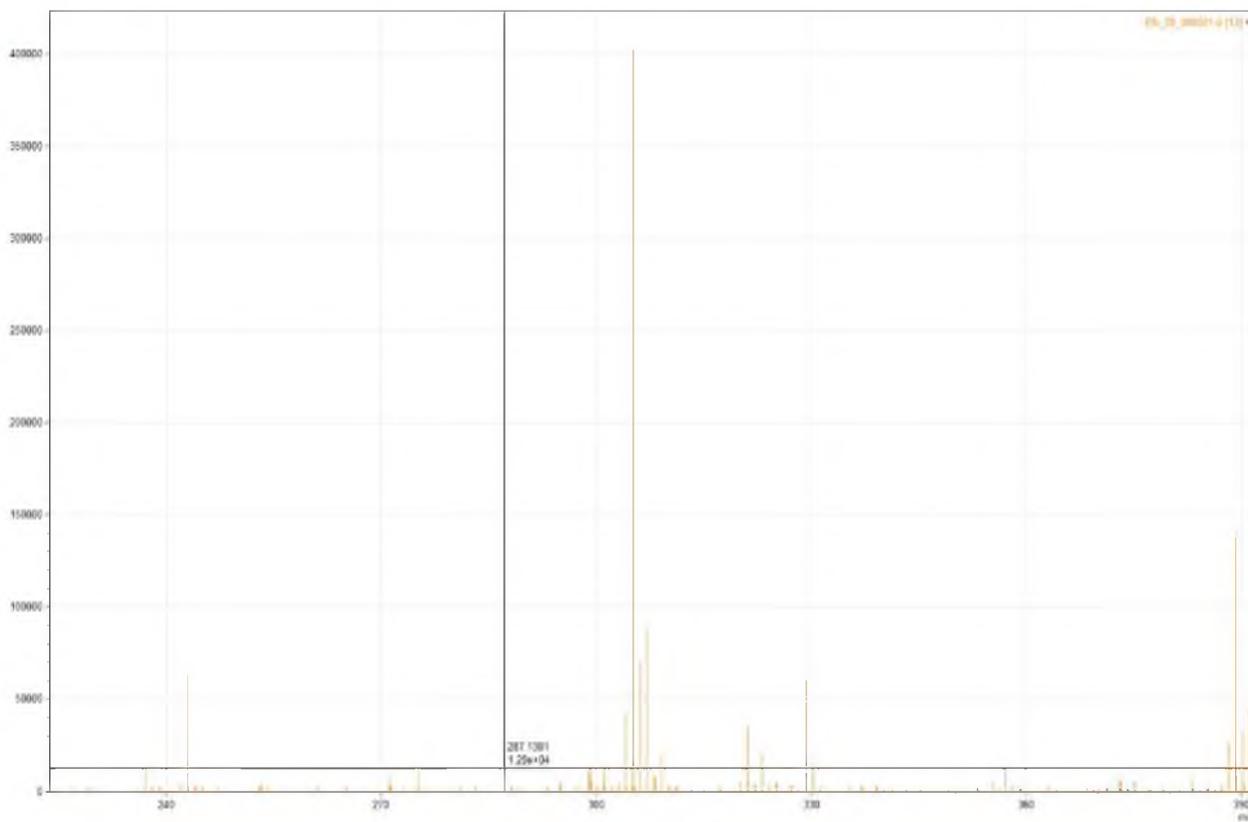


HMBC



7) Масс-спектр:

$[M+H]^+$ m/z 287.1271 (calc. 287.1283)

**СПРАВОЧНО:**

- 1) **Группа соединений:** производные 9,10-дигидрофенантрена
- 2) **Масса:** 15 мг
- 3) **Статус:** новое природное соединение
- 4) **Прогноз фармакологической активности Way2Drug**

Pa	Pi	Activity
0,919	0,003	Aldehyde oxidase inhibitor
0,895	0,007	Estrogen-related receptor alpha agonist
0,865	0,006	Chlordecone reductase inhibitor
0,839	0,005	HSPB1 expression inhibitor
0,833	0,002	Steroid N-acetylglucosaminyltransferase inhibitor
0,838	0,009	Antiseborrheic
0,830	0,003	Alpha tubulin antagonist
0,815	0,003	MAP kinase stimulant
0,810	0,007	5 Hydroxytryptamine release stimulant
0,805	0,005	Methylquercetagenin 6-O-methyltransferase inhibitor

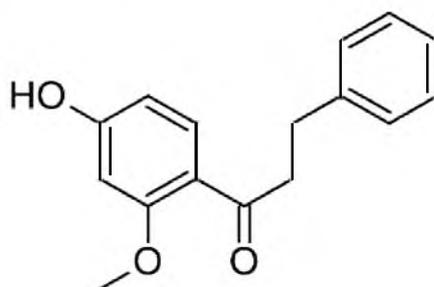
0,803	0,006	Fructose-bisphosphate aldolase inhibitor
0,781	0,003	Tubulin antagonist
0,763	0,003	Leukopoiesis inhibitor
0,766	0,011	Feruloyl esterase inhibitor
0,770	0,029	Membrane integrity agonist
0,742	0,011	Alopecia treatment
0,731	0,005	Antiinflammatory, intestinal
0,728	0,007	Female germline-specific tumor suppressor gld-1 inhibitor
0,741	0,022	Antineurotoxic
0,723	0,005	Gastric secretion stimulant
0,721	0,006	Vasoprotector
0,726	0,013	Fibrinolytic
0,711	0,005	General pump inhibitor
0,716	0,012	Lysase inhibitor
0,724	0,021	Penicillin-binding protein ampH inhibitor
0,702	0,004	Carminative
0,700	0,003	Beta tubulin antagonist

ПАСПОРТ СУБСТАНЦИИ EN23

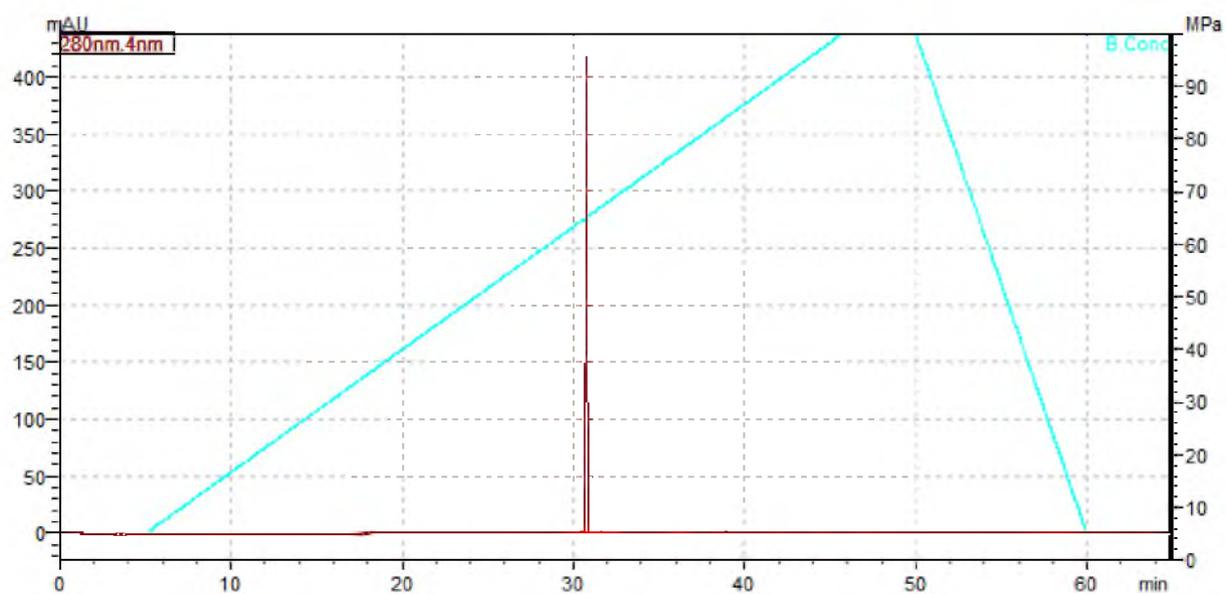
1) Шифр субстанции: EN23

2) Название соединения: 4'-гидрокси-2'-метоксидигидрохалкон

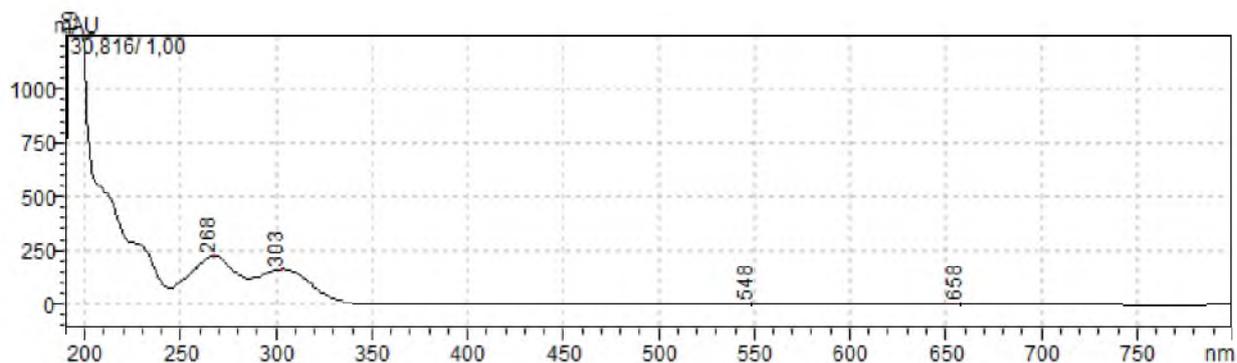
3) Формула соединения:



4) ВЭЖХ-спектр:

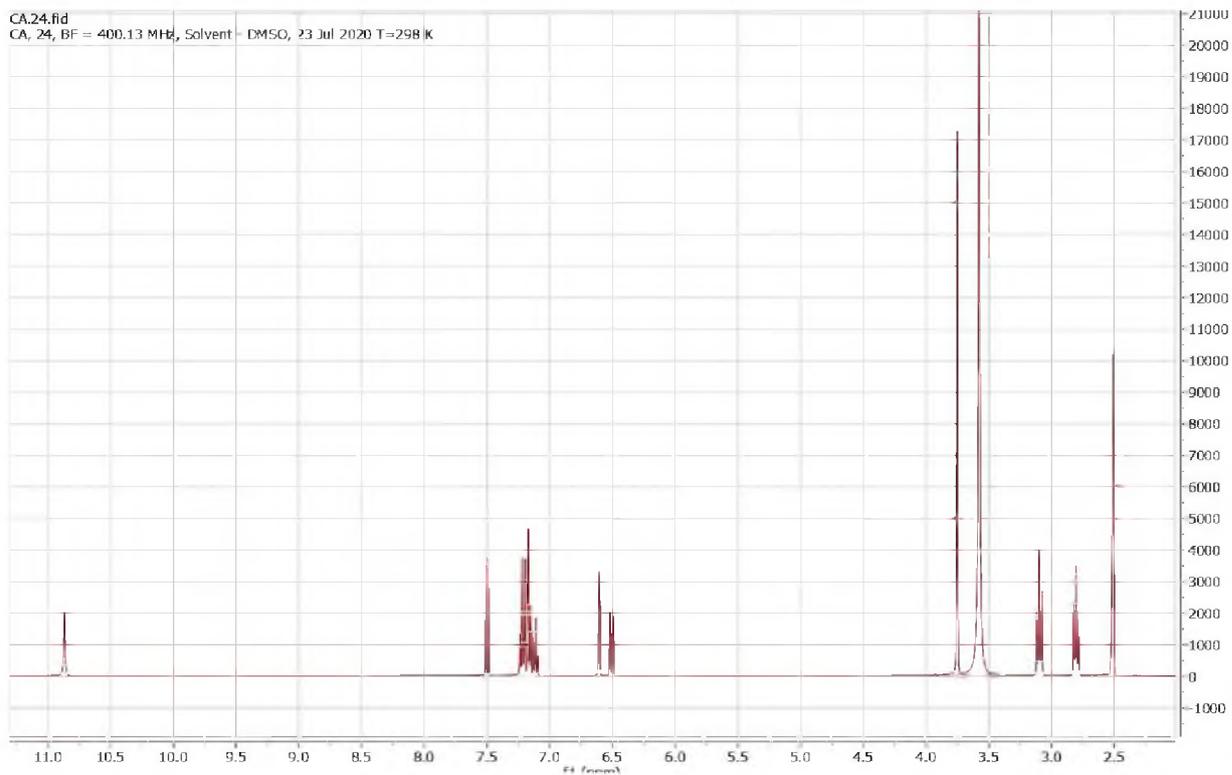


5) УФ-спектр:

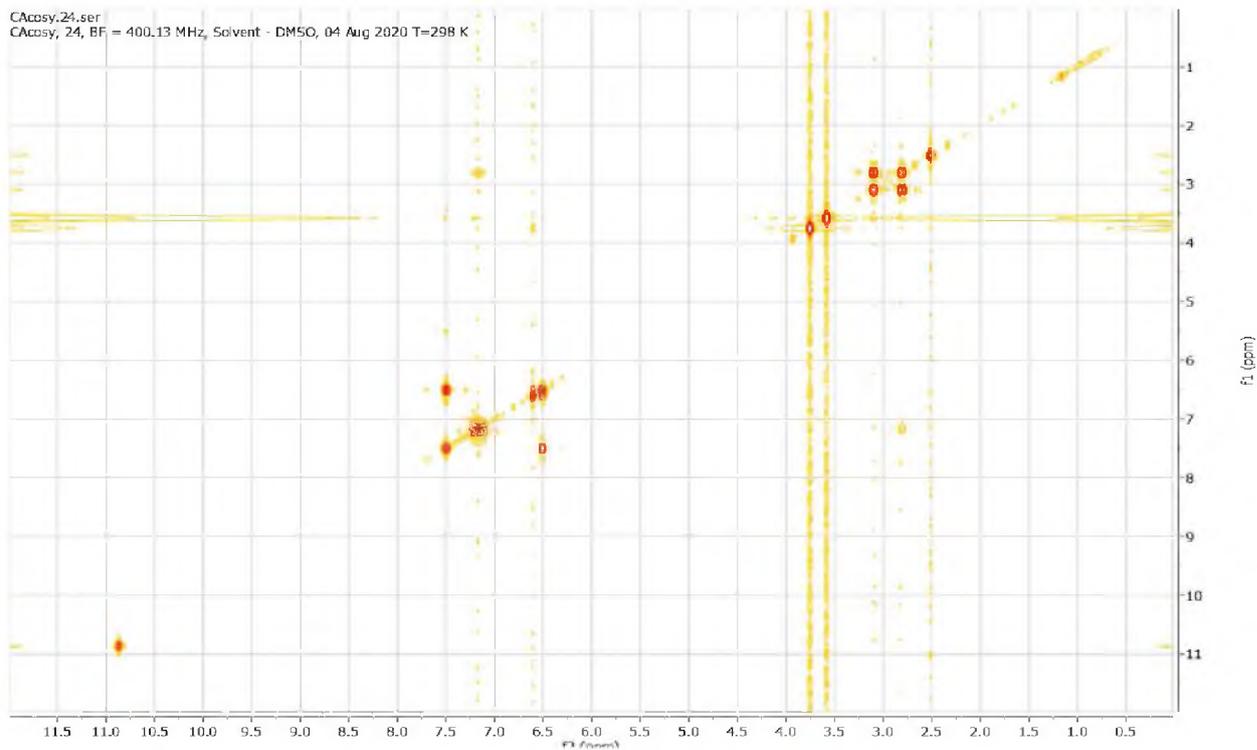


Максимумы УФ-поглощения: 268, 303 нм

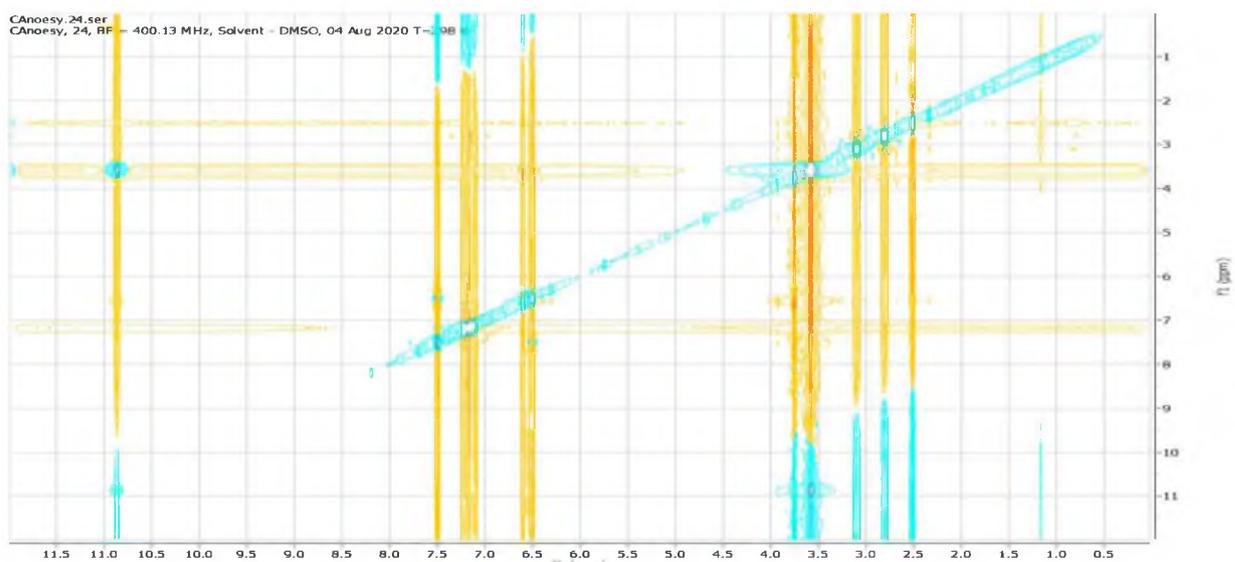
6) ЯМР-спектры:

 ^1H ЯМР

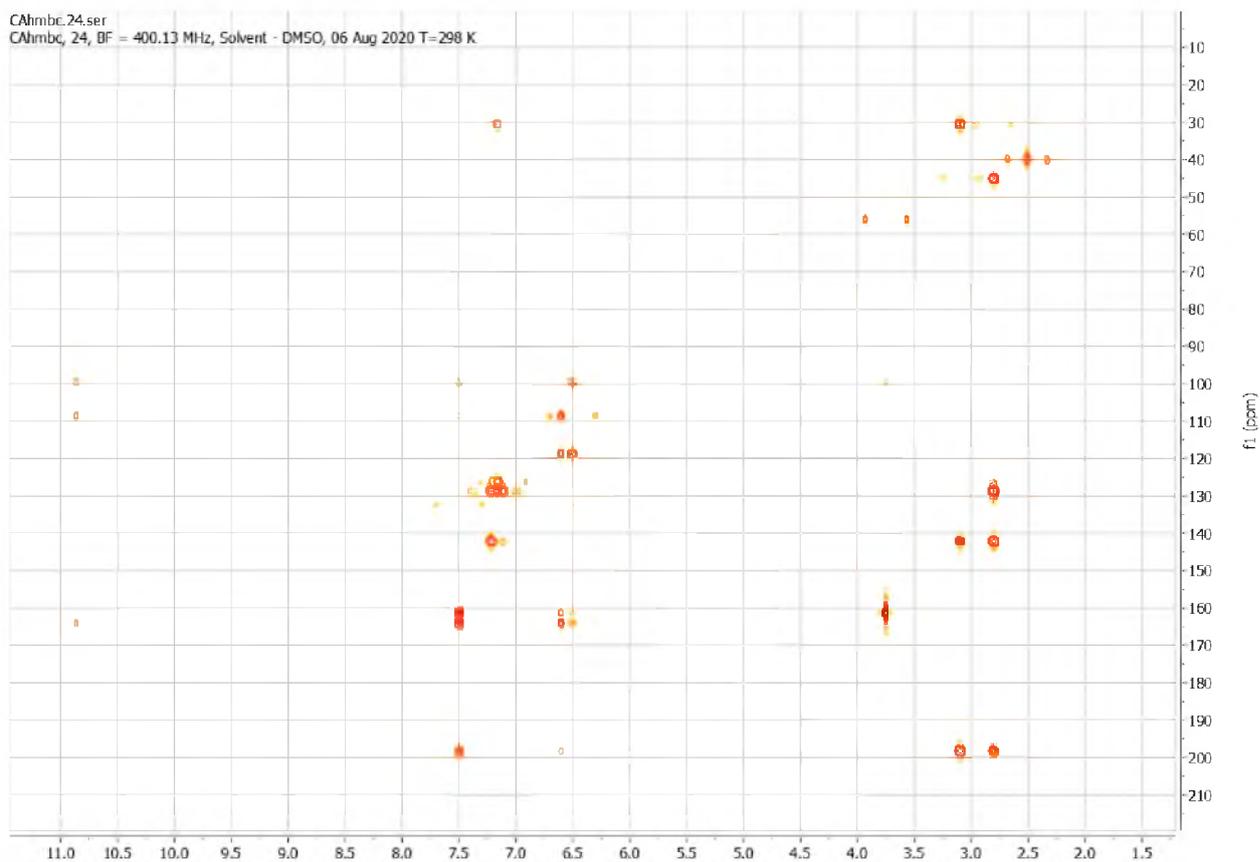
COSY



NOESY

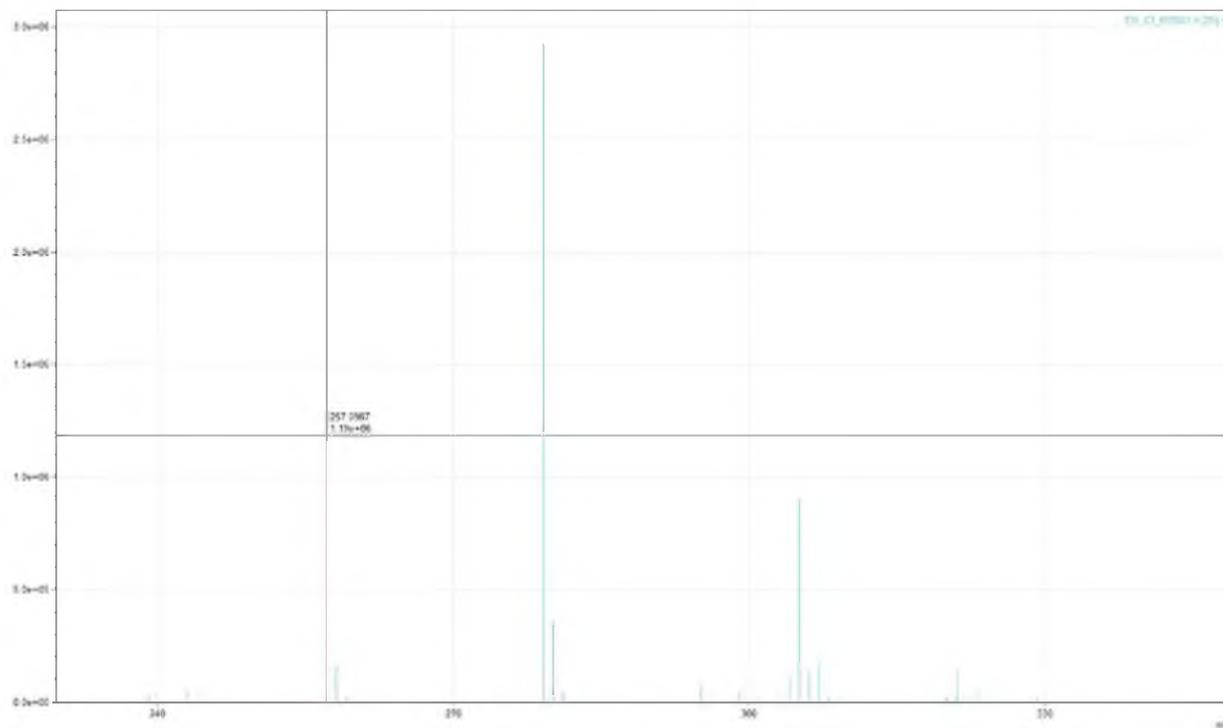


HMBC



7) Масс-спектр:

$[M+H]^+$ m/z 257.1182 (calc. 257.1178)

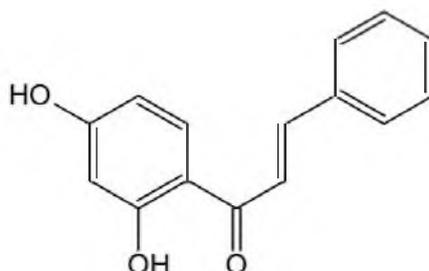
**СПРАВОЧНО:**

- 1) **Группа соединений:** производные дигидрохалконов
- 2) **Масса:** 30,6 мг
- 3) **Статус:** известное для растения
- 4) **Прогноз фармакологической активности Way2Drug**

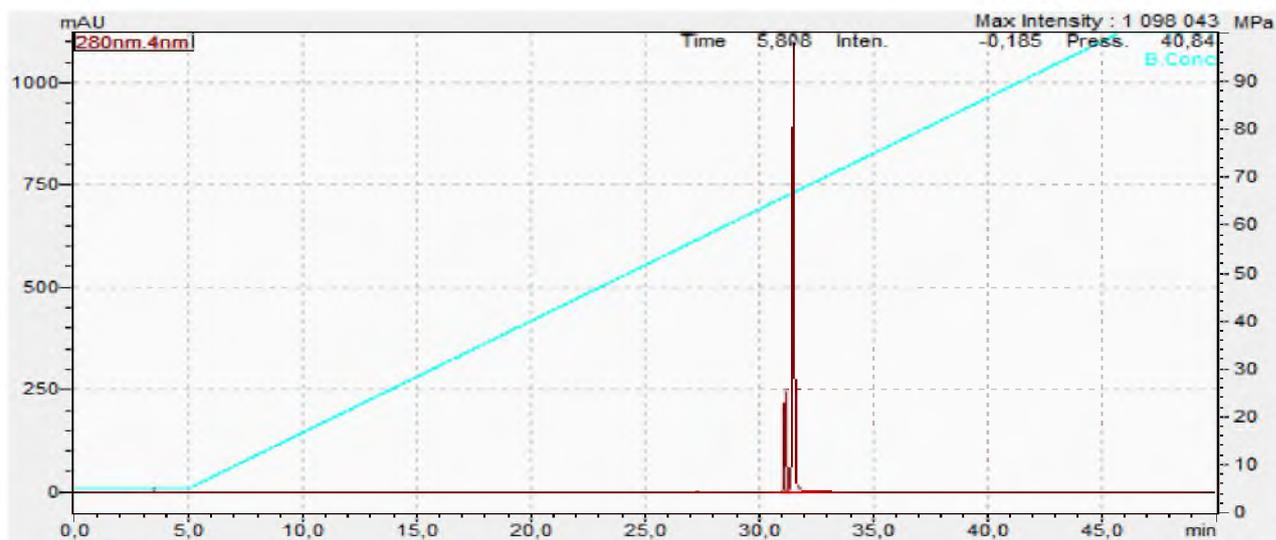
Pa	Pi	Activity
0,905	0,004	Chlordecone reductase inhibitor
0,891	0,009	Membrane integrity agonist
0,863	0,003	3-Phytase inhibitor
0,845	0,006	Antineurotoxic
0,832	0,007	Feruloyl esterase inhibitor
0,822	0,016	Estrogen-related receptor alpha agonist
0,803	0,003	Beta-carotene 15,15'-monooxygenase inhibitor
0,796	0,003	Lactase inhibitor
0,803	0,014	Antiseborrheic
0,784	0,004	Antiinflammatory, intestinal
0,779	0,005	Fibrinolytic
0,778	0,015	Penicillin-binding protein ampH inhibitor
0,748	0,013	HSPB1 expression inhibitor
0,741	0,008	Kinase inhibitor
0,739	0,015	Methylenetetrahydrofolate reductase (NADPH) inhibitor
0,725	0,005	Histidine kinase inhibitor
0,717	0,007	Insulin receptor agonist
0,704	0,004	3-Oxoacyl-[acyl-carrier-protein] reductase inhibitor

ПАСПОРТ СУБСТАНЦИИ EN58

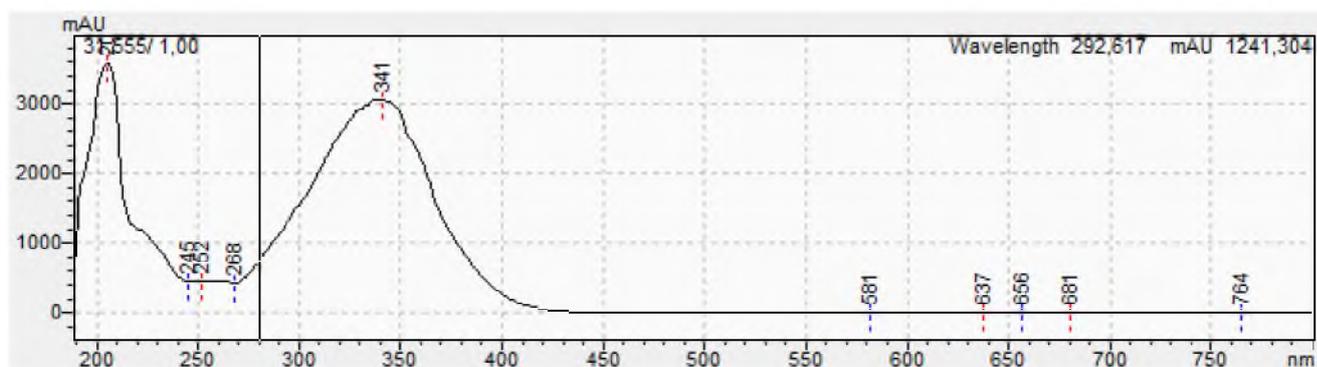
- 1) Шифр субстанции: EN58
- 2) Название соединения: 2', 4'-дигидроксихалкон;
- 3) Формула соединения:



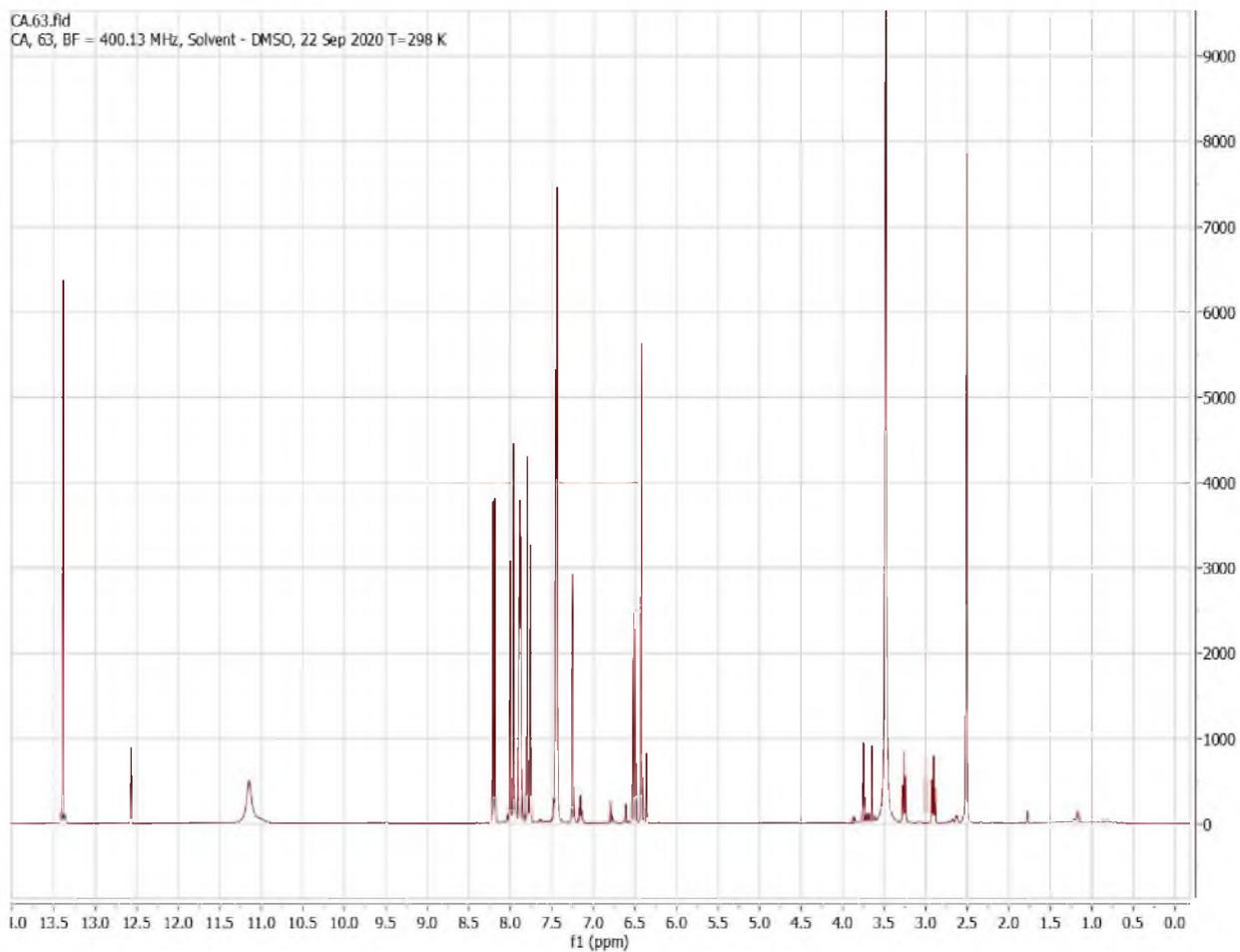
4) ВЭЖХ-спектр:



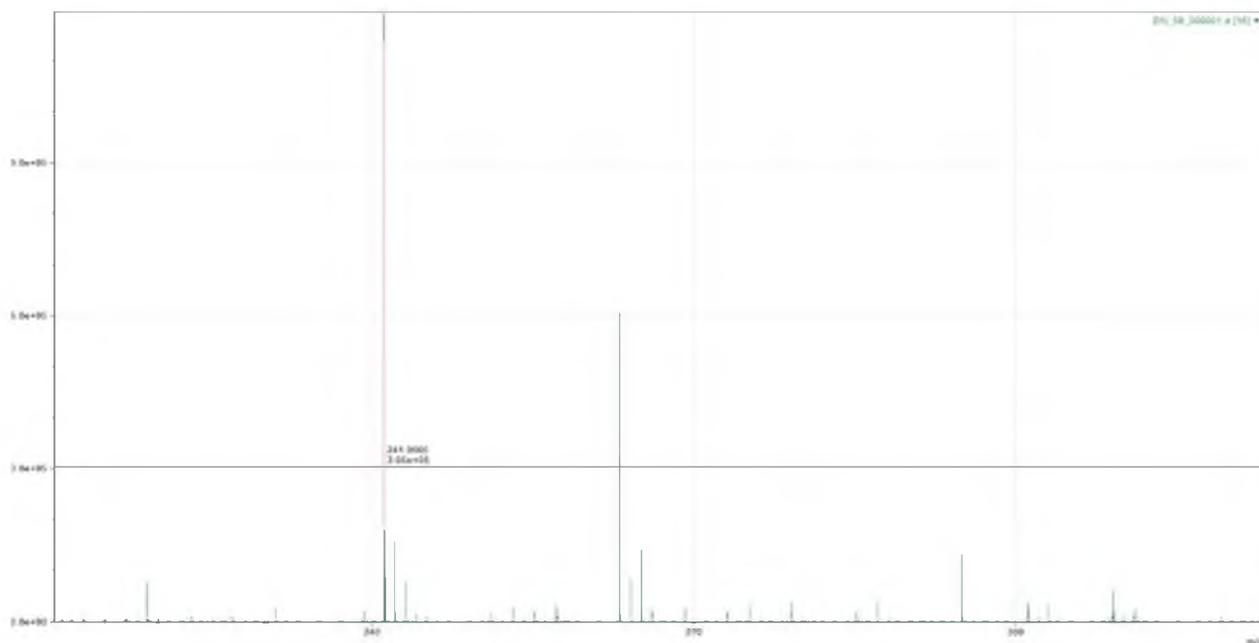
5) УФ-спектр:



Максимумы УФ-поглощения: 252, 341 нм

6) ЯМР-спектр: **^1H ЯМР****7) Масс-спектр:**

$[\text{M}+\text{H}]^+$ m/z 241.08645 (calc. 241.0865)



СПРАВОЧНО:**1) Группа соединений:** производные халконов**2) Масса:** 20 мг**3) Статус:** известное для растения**4) Прогноз фармакологической активности Way2Drug**

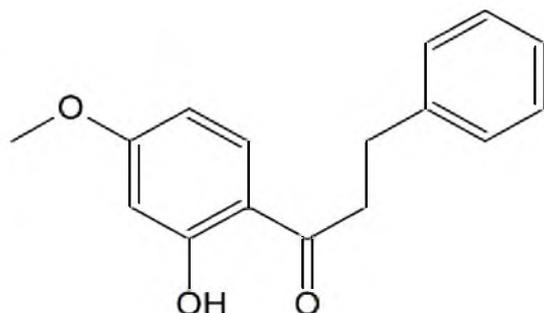
Pa	Pi	Activity
0,968	0,002	Penicillin-binding protein ampH inhibitor
0,927	0,004	Membrane integrity agonist
0,926	0,003	Feruloyl esterase inhibitor
0,922	0,002	1-Acylglycerol-3-phosphate O-acyltransferase ABHD5 inhibitor
0,920	0,002	Perilipin-5 inhibitor
0,917	0,002	Perilipin-1 inhibitor
0,893	0,003	HSPB1 expression inhibitor
0,865	0,010	Estrogen-related receptor alpha agonist
0,860	0,007	Chlordecone reductase inhibitor
0,826	0,005	APOA1 expression enhancer
0,820	0,002	Monophenol monooxygenase inhibitor
0,805	0,004	Interleukin antagonist
0,805	0,007	Dehydro-L-gulonate decarboxylase inhibitor
0,789	0,004	Fatty-acyl-CoA synthase inhibitor
0,785	0,002	Skin whitener
0,779	0,003	Beta-carotene 15,15'-monooxygenase inhibitor
0,789	0,016	Antiseborrheic
0,776	0,004	Antihypoxic
0,775	0,004	LGALS1 expression inhibitor
0,775	0,005	12-Lipoxygenase inhibitor
0,771	0,003	3-Oxoacyl-[acyl-carrier-protein] reductase inhibitor
0,776	0,011	APOB expression inhibitor
0,765	0,007	Glutathione thiolesterase inhibitor
0,760	0,004	3-Phytase inhibitor
0,746	0,003	Pyruvate decarboxylase inhibitor
0,743	0,007	Phosphatidylcholine-retinol O-acyltransferase inhibitor
0,741	0,006	Antidote, cyanide
0,729	0,004	Antiprotozoal (Leishmania)
0,729	0,005	Heat shock protein 90 alpha antagonist
0,727	0,003	Carminative
0,728	0,008	Transcription factor NF kappa B inhibitor
0,729	0,012	Fibrinolytic
0,717	0,002	Penicillin binding protein antagonist
0,718	0,005	Preneoplastic conditions treatment
0,722	0,011	Glucan endo-1,6-beta-glucosidase inhibitor
0,719	0,009	Alkane 1-monooxygenase inhibitor

ПАСПОРТ СУБСТАНЦИИ EN52

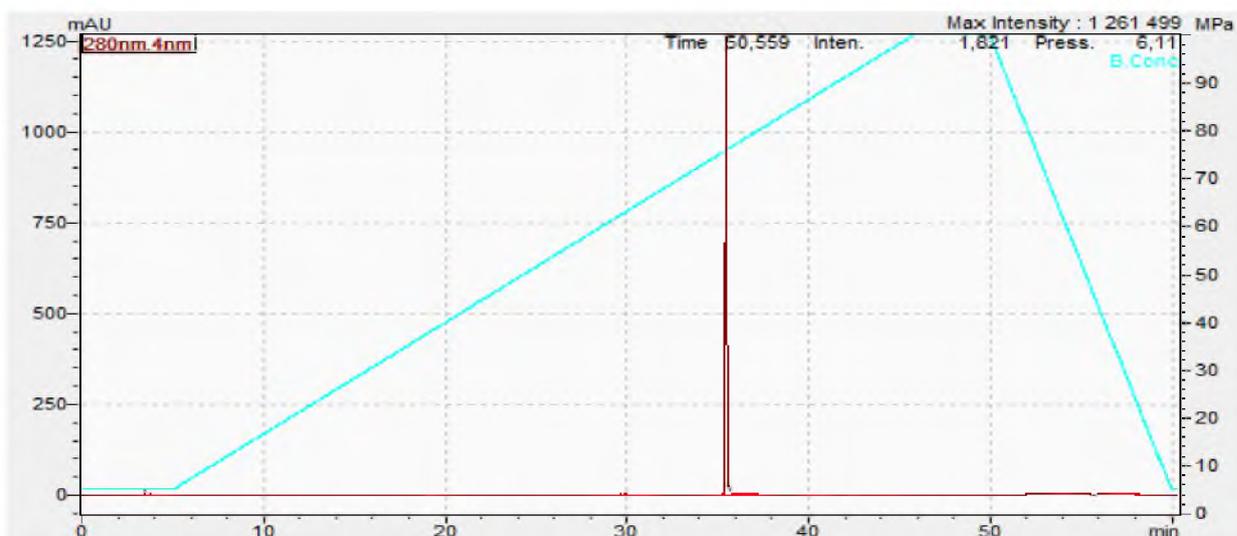
1) Шифр субстанции: EN52

2) Название соединения: 2'-гидрокси 4'-метоксидигидрохалкон;

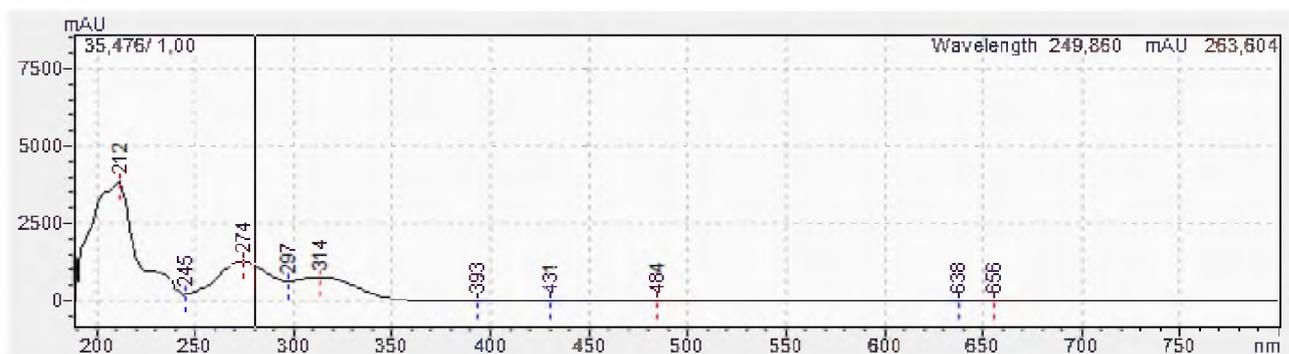
3) Формула соединения:



4) ВЭЖХ-спектр:

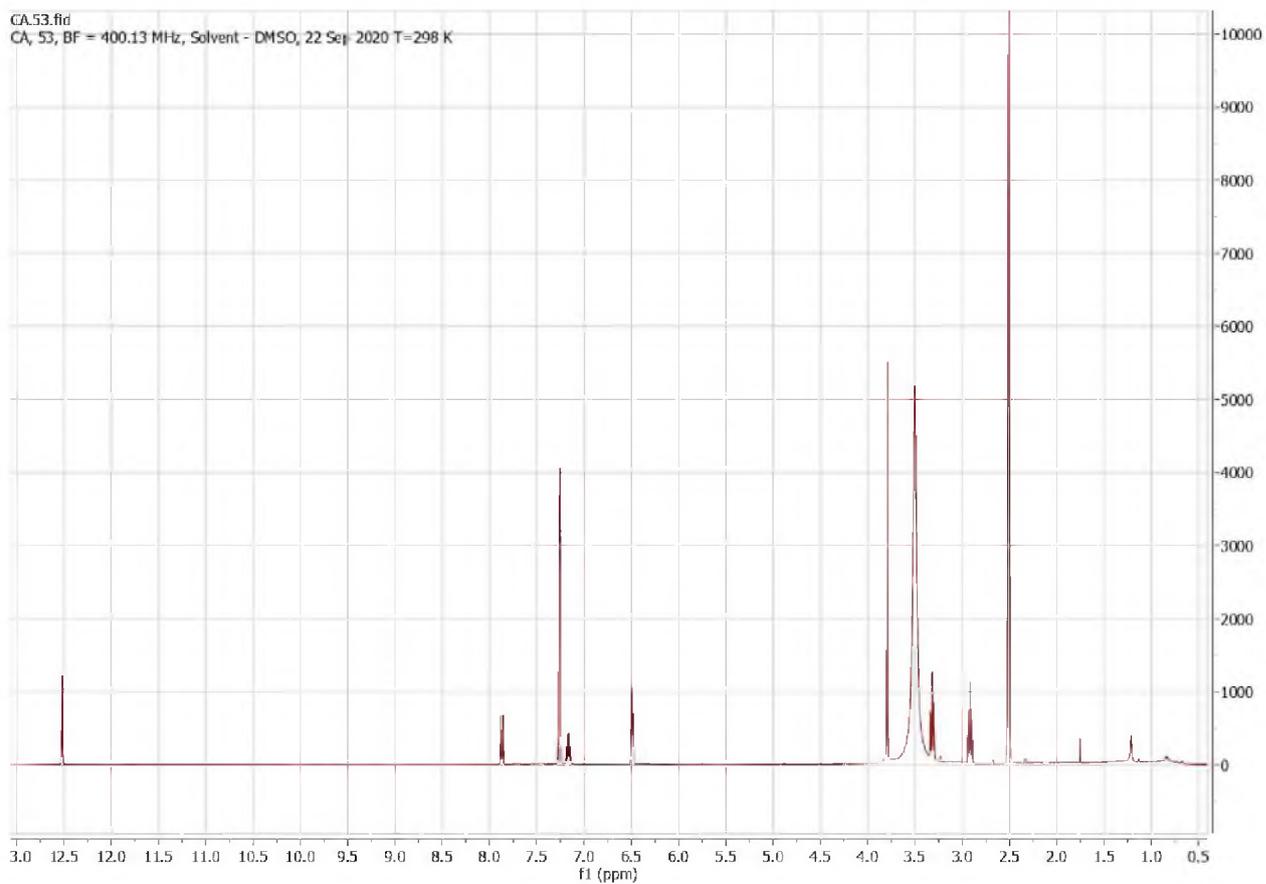


5) УФ-спектр:

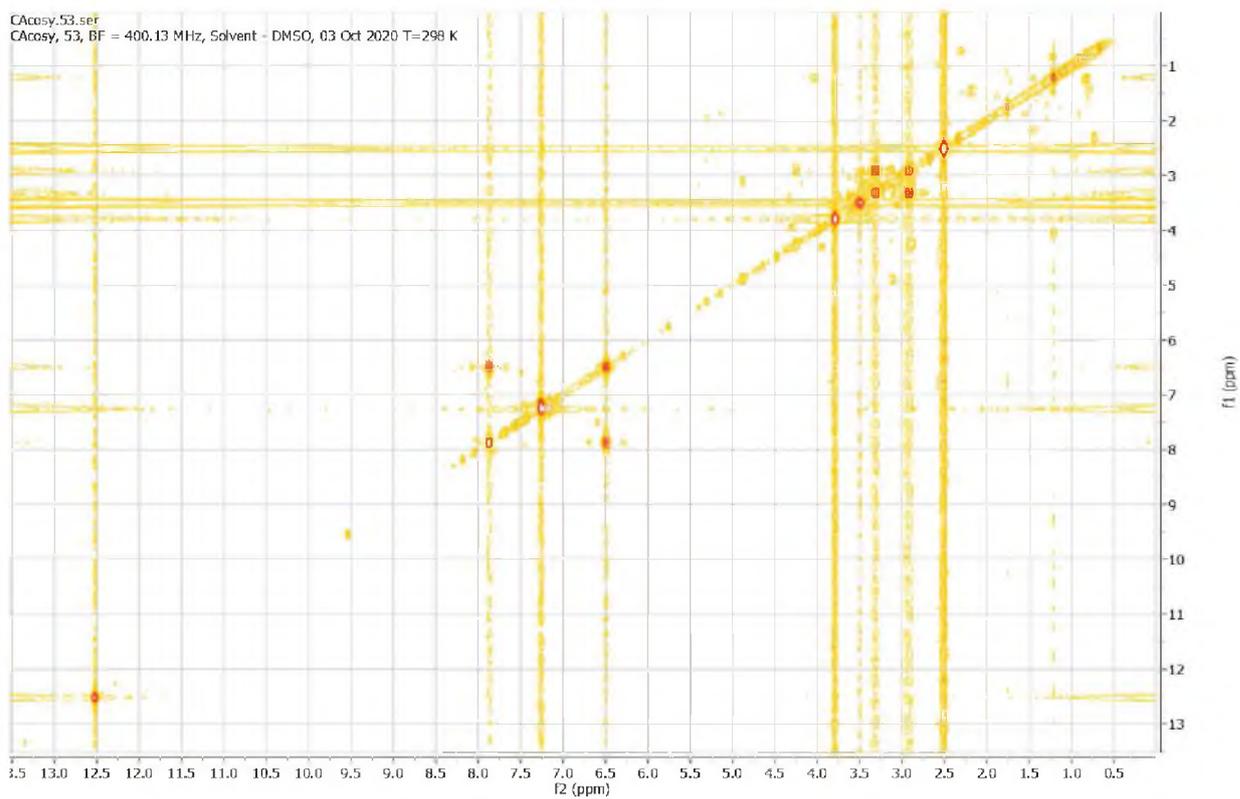


Максимумы УФ-поглощения: 274, 314 нм

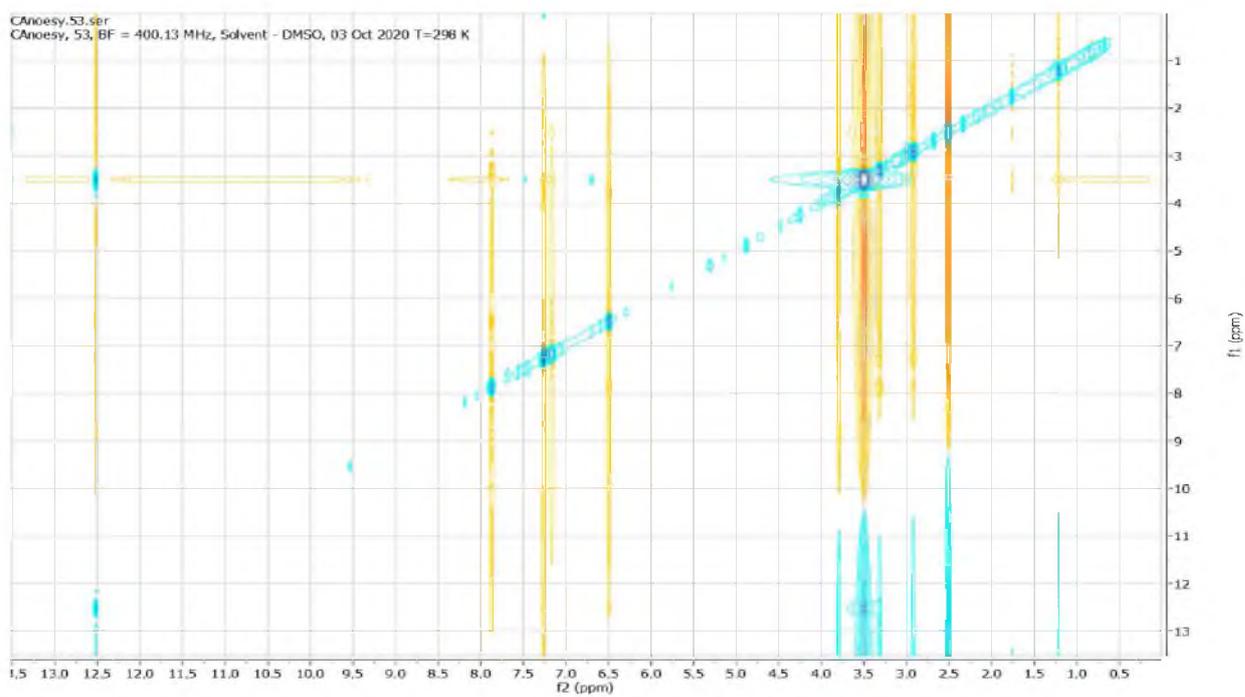
6) ЯМР-спектры:

 ^1H ЯМР

COSY

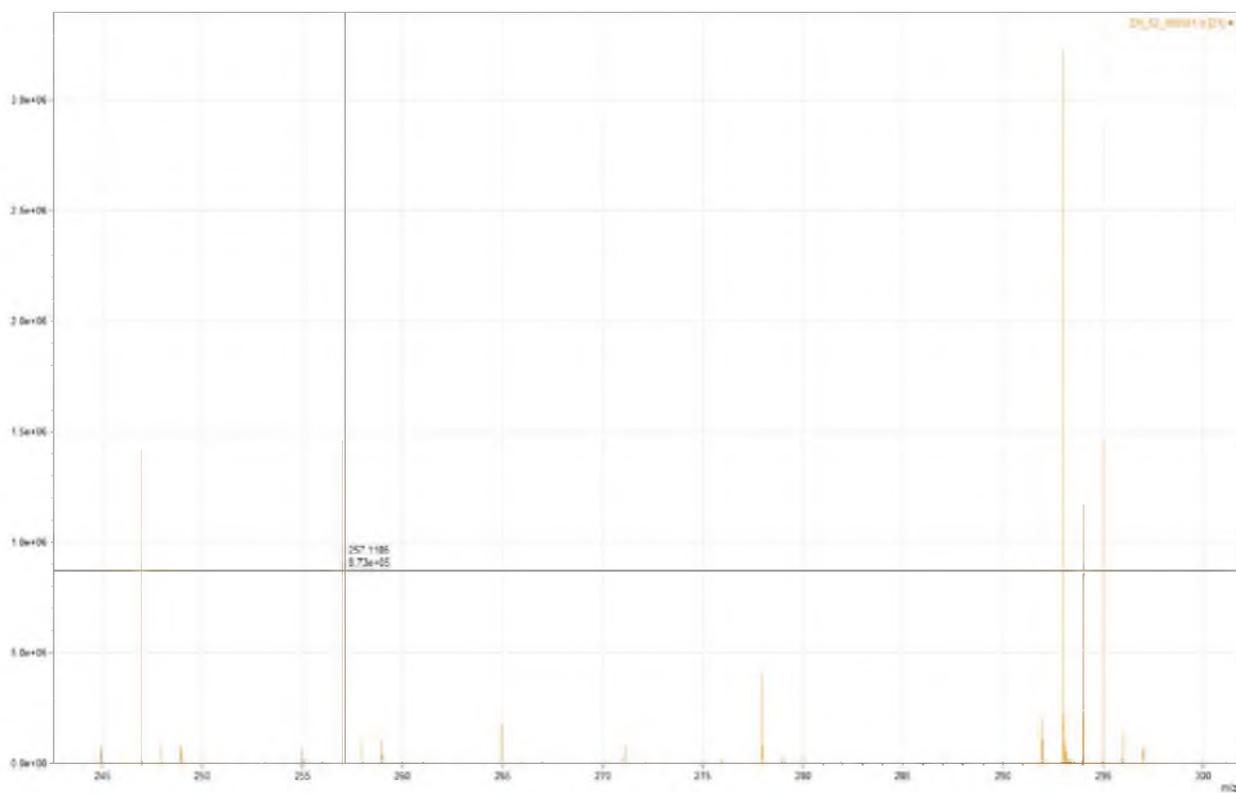


NOESY



7) Масс-спектр:

$[M+H]^+$ m/z 257.11774 (calc. 257.1178)



СПРАВОЧНО:

1) Группа соединений: производные дигидрохалконов

2) Масса: 5 мг

3) Статус: известное для растения

4) Прогноз фармакологической активности Way2Drug

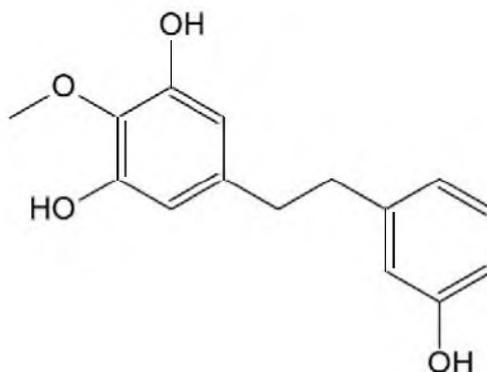
Pa	Pi	Activity
0,898	0,004	Chlordecone reductase inhibitor
0,851	0,003	3-Phytase inhibitor
0,817	0,003	Beta-carotene 15,15'-monooxygenase inhibitor
0,816	0,003	Lactase inhibitor
0,825	0,021	Membrane integrity agonist
0,794	0,015	Antiseborrheic
0,777	0,013	Taurine dehydrogenase inhibitor
0,772	0,011	Feruloyl esterase inhibitor
0,751	0,004	Antiinflammatory, intestinal
0,749	0,009	Fibrinolytic
0,750	0,020	Antineurotoxic
0,754	0,028	Estrogen-related receptor alpha agonist
0,727	0,005	General pump inhibitor
0,724	0,003	P-glycoprotein inhibitor
0,707	0,003	Carminative
0,716	0,013	5 Hydroxytryptamine release stimulant
0,703	0,003	P-glycoprotein 1 inhibitor
0,716	0,017	HSPB1 expression inhibitor
0,708	0,009	Kinase inhibitor
0,707	0,015	Antineurotic
0,700	0,009	Insulin receptor agonist

ПАСПОРТ СУБСТАНЦИИ EN48

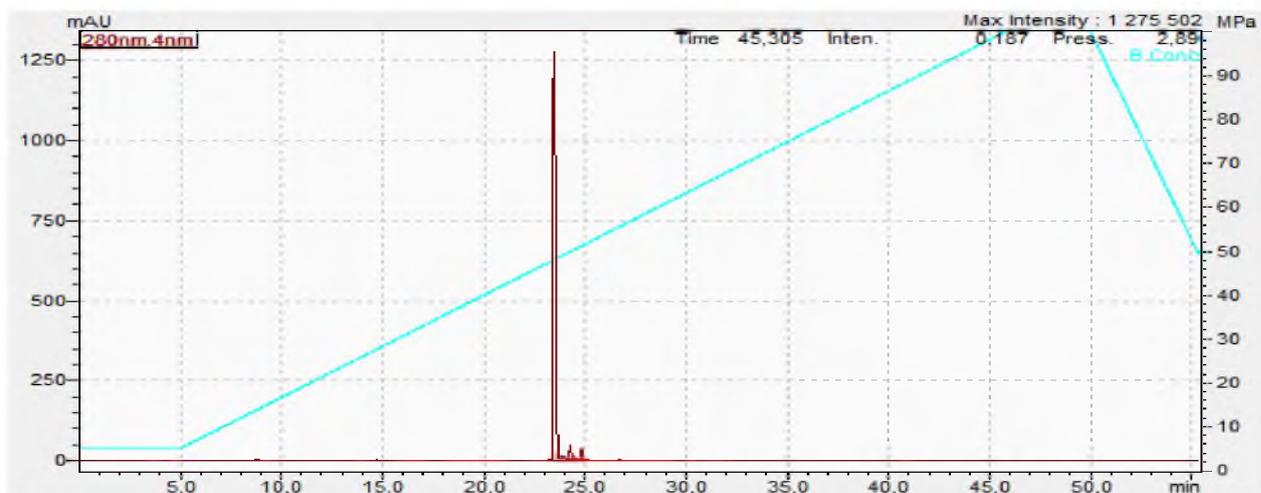
1) Шифр субстанции: EN48

2) Название соединения: 1-(3,5-дигидрокси-4-метоксифенил)-2-(3-гидроксифенил) этан

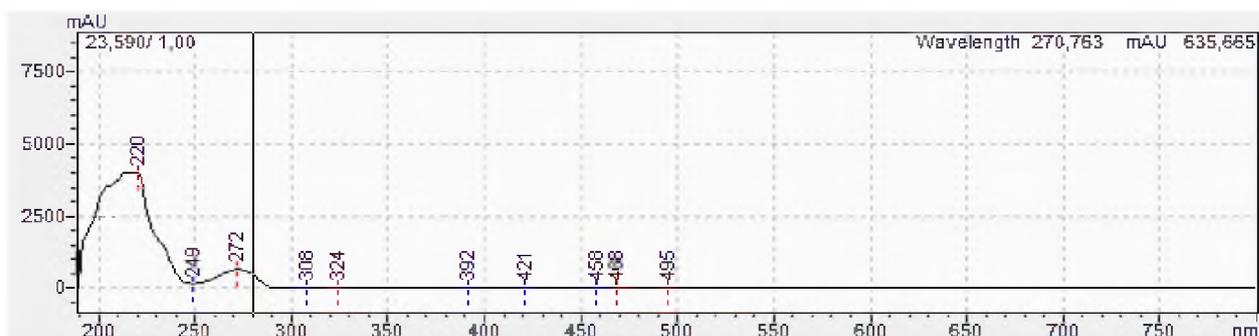
3) Формула соединения:



4) ВЭЖХ-спектр:

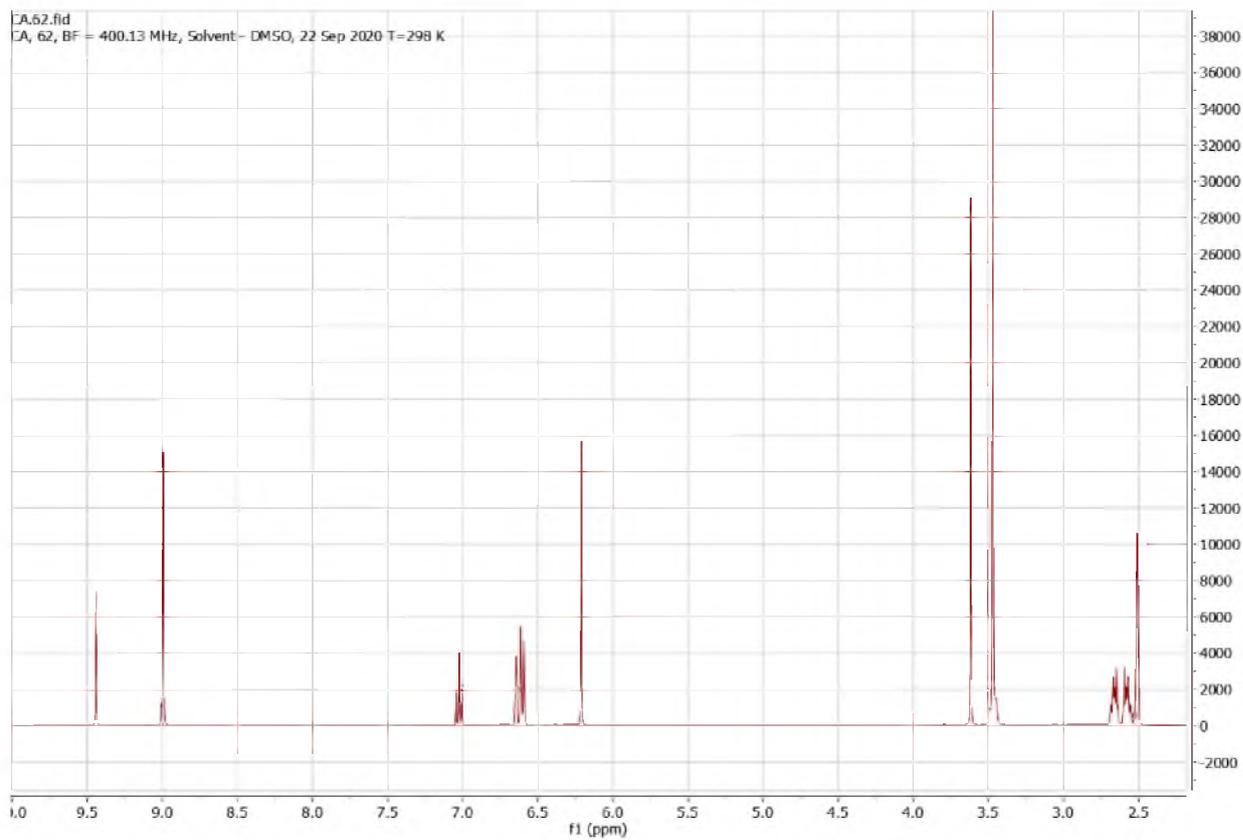


5) УФ-спектр:

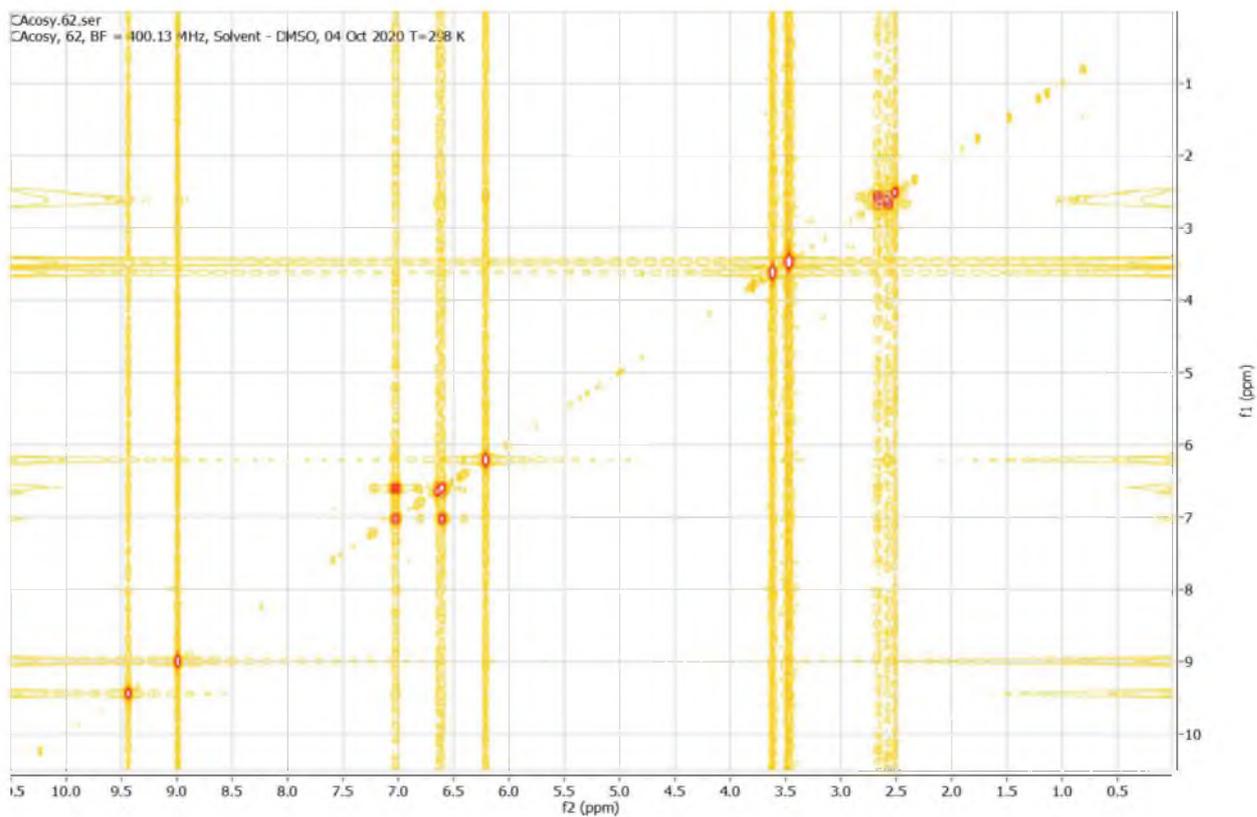


Максимумы УФ-поглощения: 220, 272 нм

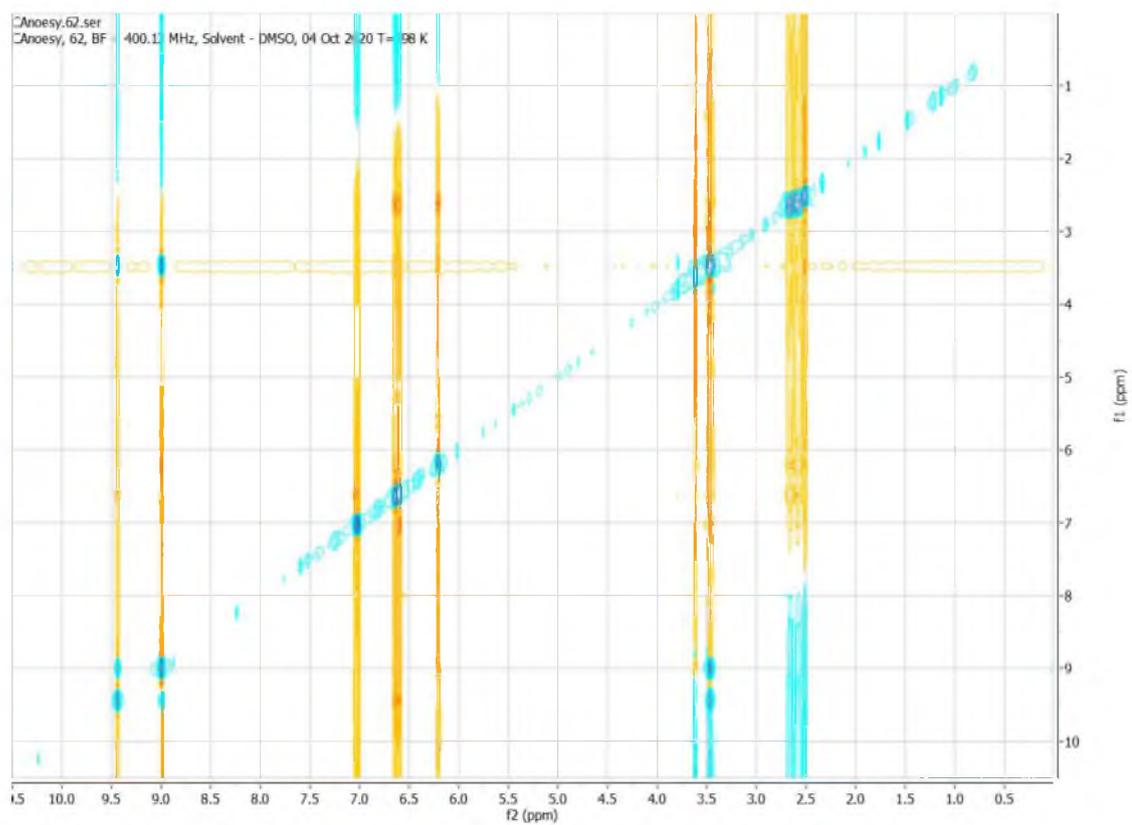
6) ЯМР-спектры:

 ^1H ЯМР

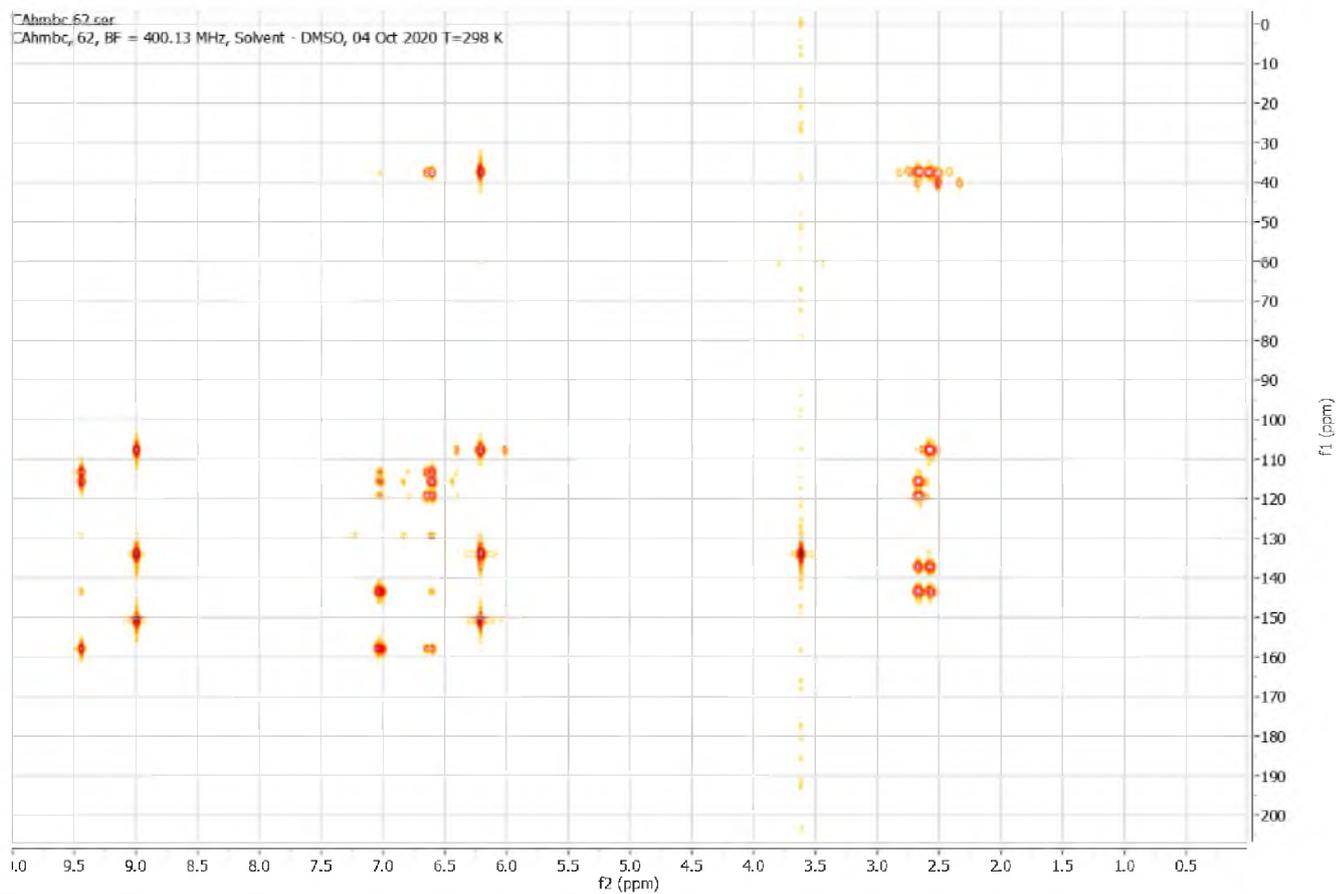
COSY



NOESY

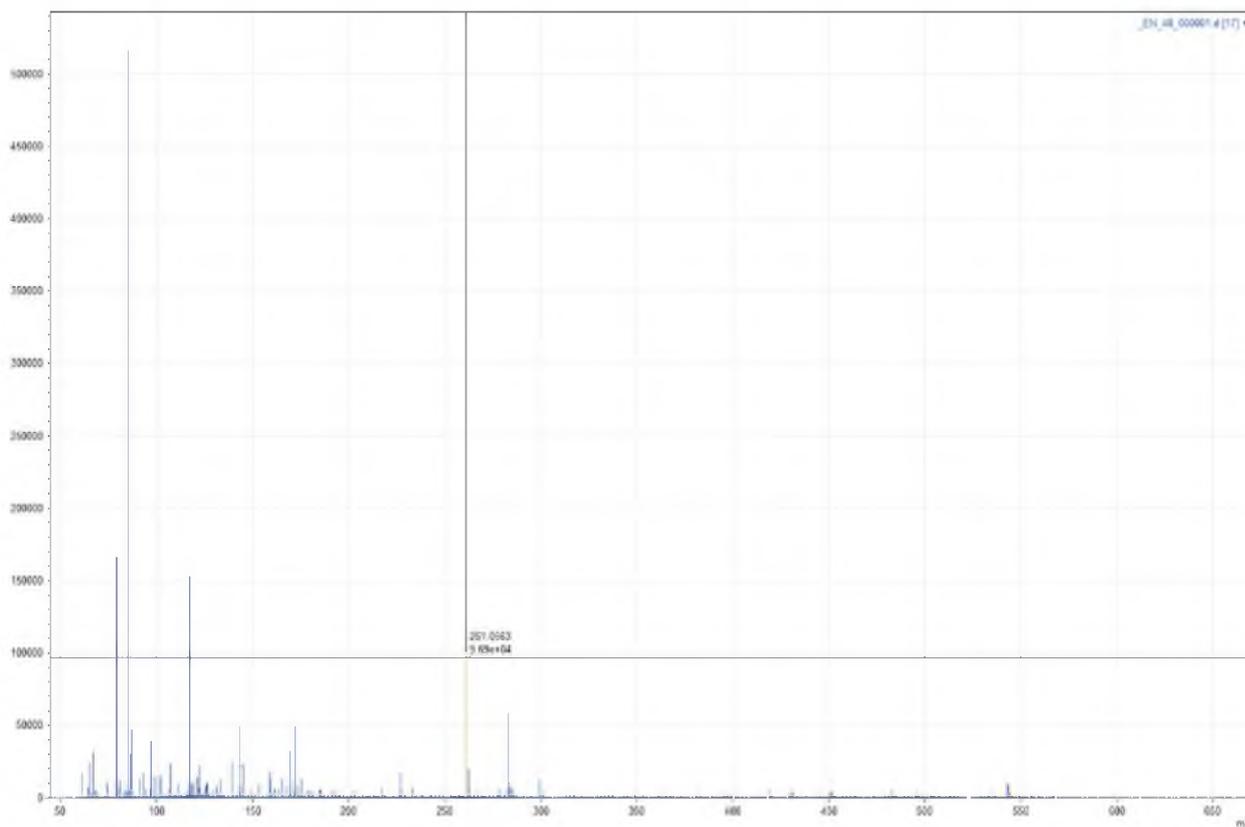


HMBC



7) Масс-спектр:

$[M+H]^+$ m/z 261.11267 (calc. 261.1127)

**СПРАВОЧНО:**

- 1) **Группа соединений:** производное бибензила
- 2) **Масса:** 15 мг
- 3) **Статус:** ранее известное для растения
- 4) **Прогноз фармакологической активности Way2Drug**

Pa	Pi	Activity
0,917	0,003	Linoleate diol synthase inhibitor
0,913	0,004	Chlordecone reductase inhibitor
0,904	0,007	Membrane integrity agonist
0,900	0,004	Feruloyl esterase inhibitor
0,884	0,004	Aldehyde oxidase inhibitor
0,883	0,004	HSPB1 expression inhibitor
0,864	0,001	Carminative
0,861	0,004	Cardiovascular analeptic

0,852	0,002	Steroid N-acetylglucosaminyltransferase inhibitor
0,845	0,002	Preneoplastic conditions treatment
0,852	0,012	Estrogen-related receptor alpha agonist
0,834	0,007	Taurine dehydrogenase inhibitor
0,825	0,002	MAP kinase stimulant
0,830	0,010	Penicillin-binding protein ampH inhibitor
0,824	0,005	APOA1 expression enhancer
0,819	0,004	Methylquercetagetin 6-O-methyltransferase inhibitor
0,818	0,011	Antiseborrheic
0,811	0,007	5 Hydroxytryptamine release stimulant
0,792	0,004	Peroxidase inhibitor
0,787	0,002	Vanillyl-alcohol oxidase inhibitor
0,778	0,001	3-Demethylubiquinone-9 3-O-methyltransferase inhibitor
0,776	0,015	Antineurotoxic
0,764	0,007	Fibrinolytic
0,757	0,004	Antiinflammatory, intestinal
0,754	0,001	N1L inhibitor
0,754	0,004	Gastric secretion stimulant
0,746	0,003	3-Oxoacyl-[acyl-carrier-protein] reductase inhibitor
0,749	0,012	Dehydro-L-gulonate decarboxylase inhibitor
0,742	0,013	APOB expression inhibitor
0,737	0,011	15-Oxoprostaglandin 13-reductase inhibitor
0,726	0,004	Beta-carotene 15,15'-monooxygenase inhibitor
0,730	0,008	2-Hydroxyquinoline 8-monooxygenase inhibitor
0,729	0,008	NADPH-cytochrome-c2 reductase inhibitor
0,737	0,017	Glutamyl endopeptidase II inhibitor
0,720	0,004	Antimutagenic
0,726	0,013	Mucositis treatment
0,712	0,004	Vasodilator, renal
0,711	0,009	Antidote, cyanide
0,706	0,010	Alkane 1-monooxygenase inhibitor
0,713	0,019	Nicotinic alpha6beta3beta4alpha5 receptor antagonist

ПАСПОРТ СУБСТАНЦИИ EN51

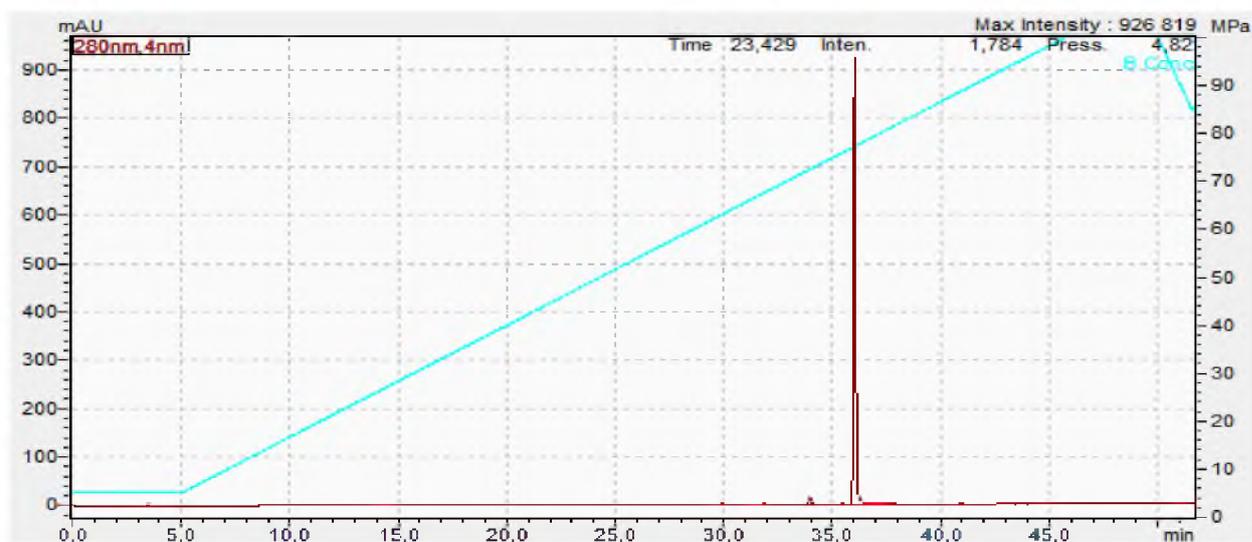
1) Шифр субстанции: EN51

2) Название соединения: 2'-гидрокси 4'-метоксихалкон;

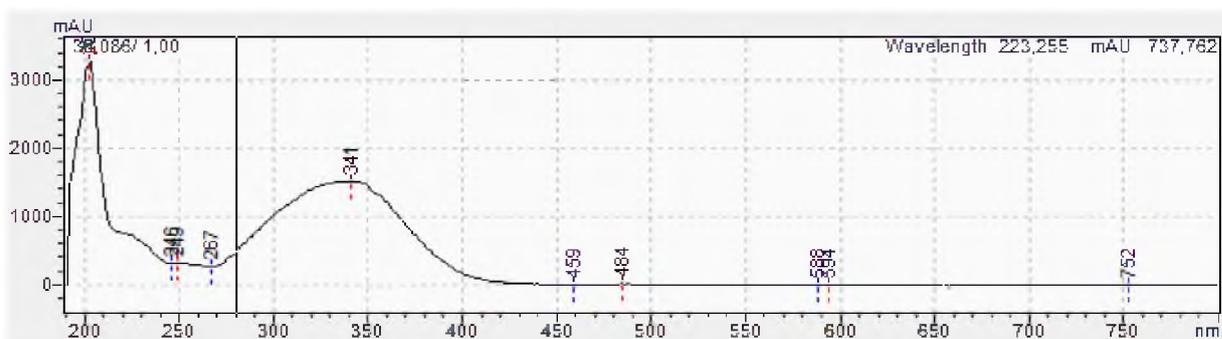
3) Формула соединения:



4) ВЭЖХ-спектр:

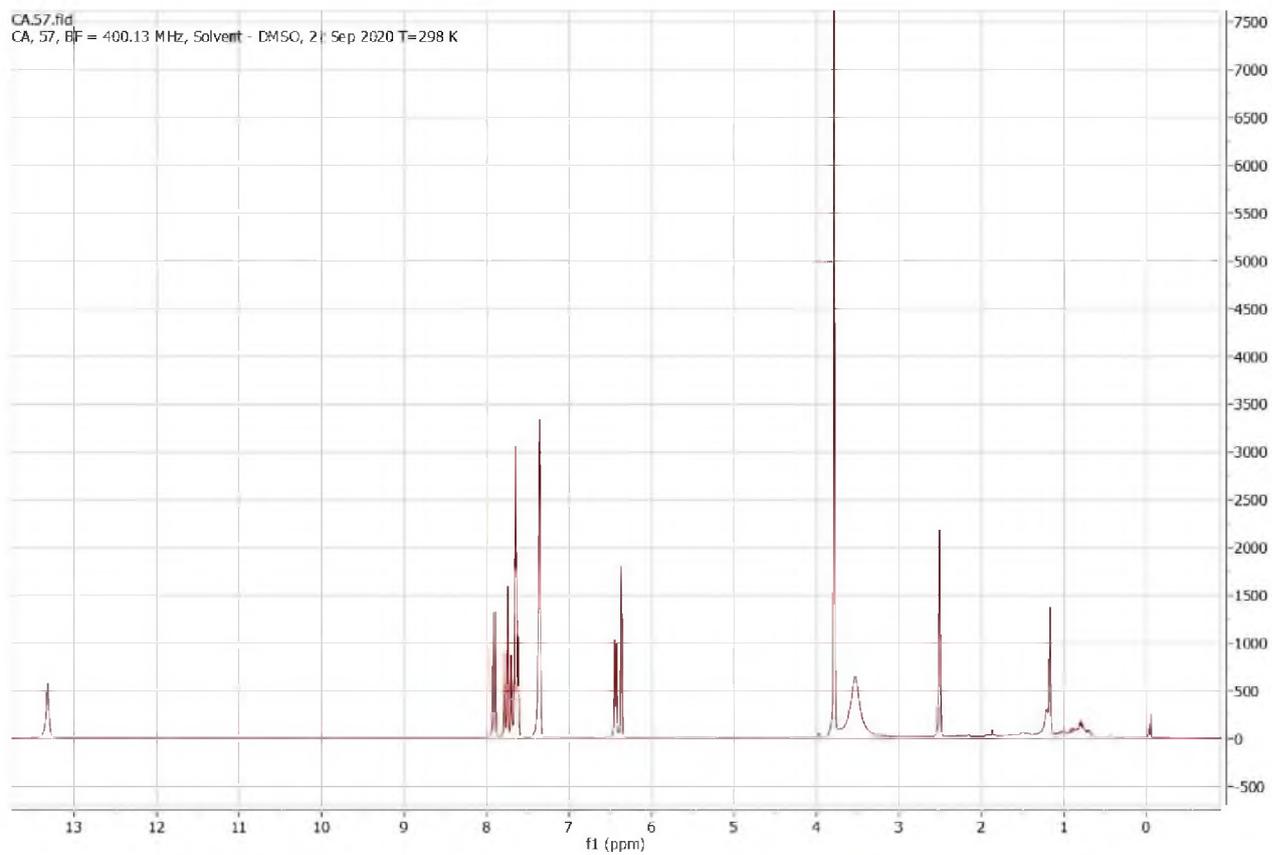


5) УФ-спектр:

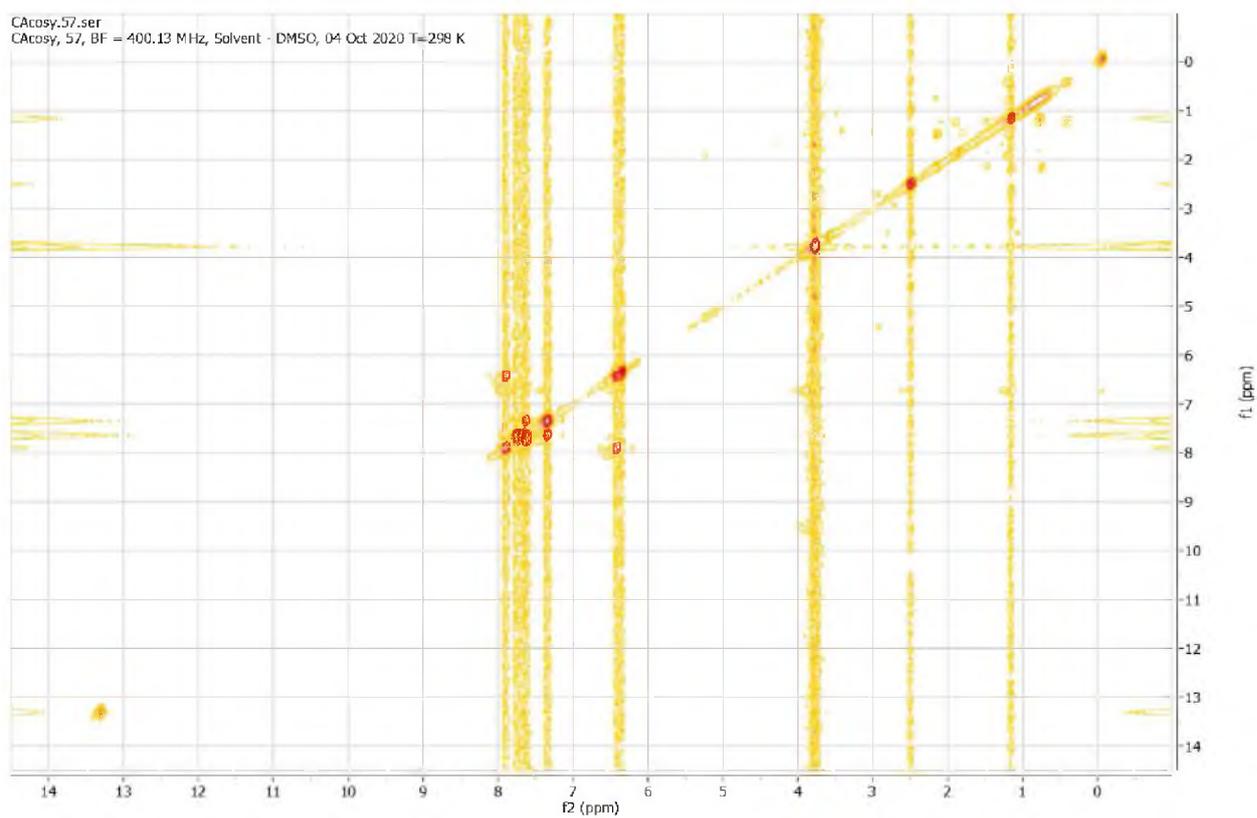


Максимумы УФ-поглощения: 341 нм

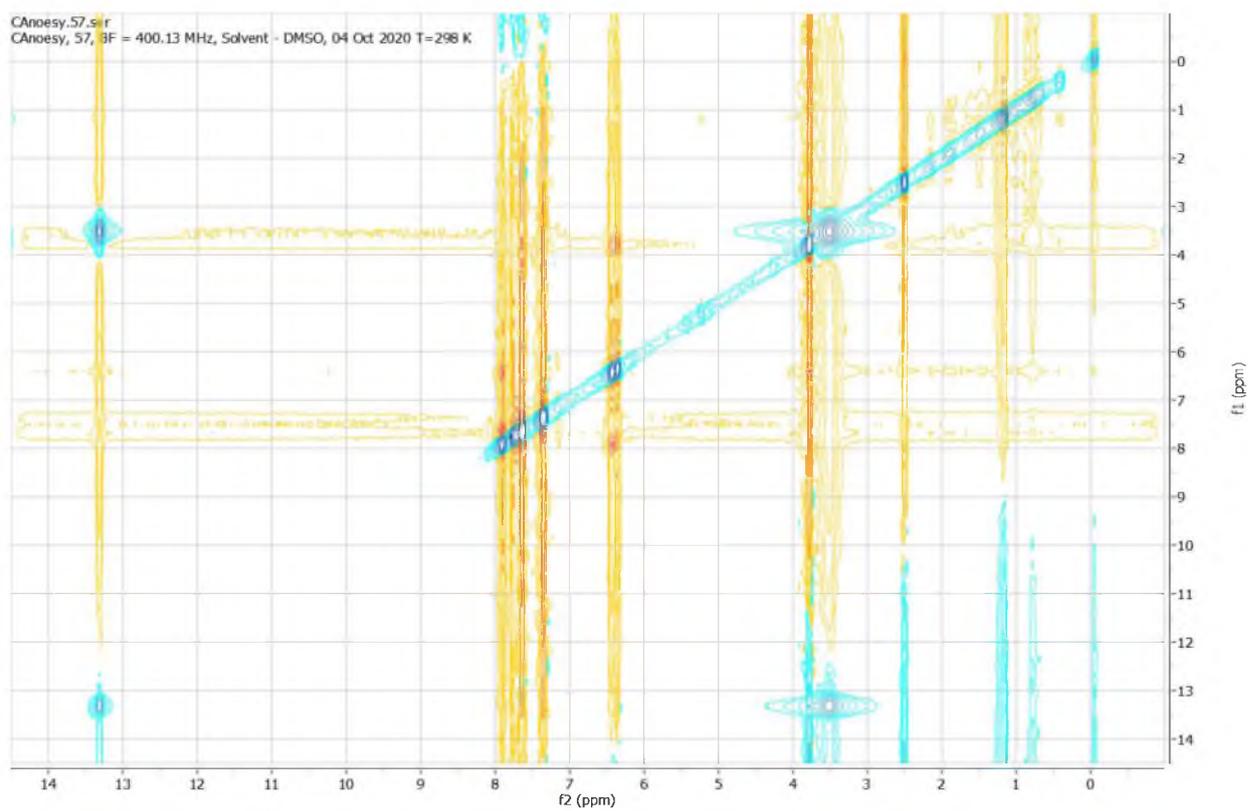
6) ЯМР-спектры:

 ^1H ЯМР

COSY

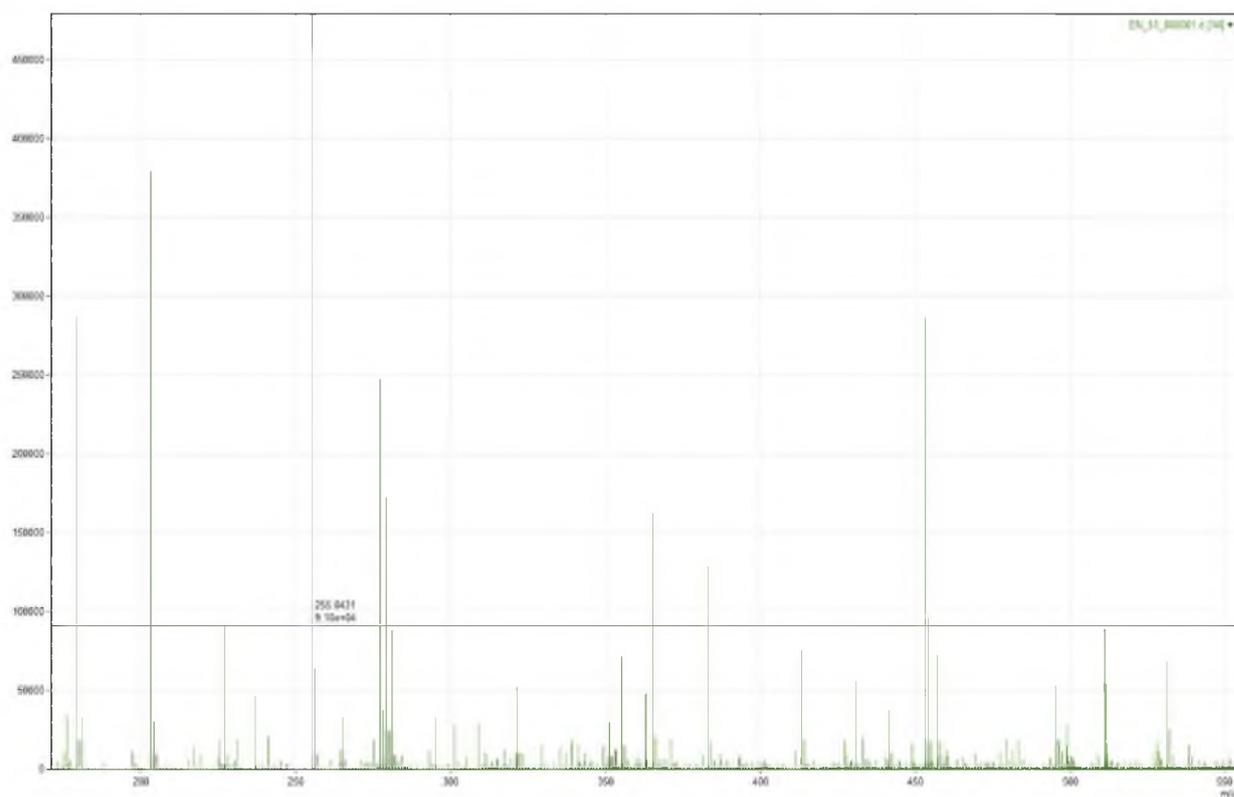


NOESY



7) Масс-спектр:

$[M+H]^+$ m/z 255.10209 (calc. 255.1021)



СПРАВОЧНО:

1) Группа соединений: производные халконов

2) Масса: 10 мг

3) Статус: известное для растения соединение

4) Прогноз фармакологической активности Way2Drug

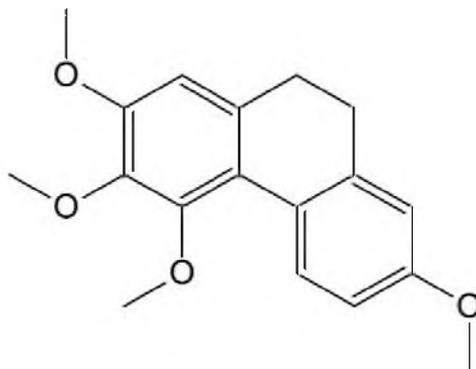
Pa	Pi	Activity
0,957	0,002	1-Acylglycerol-3-phosphate O-acyltransferase ABHD5 inhibitor
0,956	0,002	Perilipin-1 inhibitor
0,955	0,002	Perilipin-5 inhibitor
0,931	0,003	Penicillin-binding protein ampH inhibitor
0,929	0,003	Feruloyl esterase inhibitor
0,906	0,007	Membrane integrity agonist
0,866	0,006	Chlordecone reductase inhibitor
0,841	0,005	HSPB1 expression inhibitor
0,828	0,015	Estrogen-related receptor alpha agonist
0,792	0,002	Carminative
0,789	0,004	12-Lipoxygenase inhibitor
0,788	0,004	Antiinflammatory, intestinal
0,775	0,002	Skin whitener
0,747	0,004	Beta-carotene 15,15'-monooxygenase inhibitor
0,732	0,004	Interleukin antagonist
0,730	0,005	Preneoplastic conditions treatment
0,723	0,003	Caspase 3 stimulant
0,724	0,005	Antihypoxic
0,716	0,004	Lipoxygenase inhibitor
0,709	0,001	Breast cancer-resistant protein inhibitor
0,715	0,015	Fibrinolytic
0,703	0,005	Heat shock protein 90 alpha antagonist
0,704	0,009	Transcription factor NF kappa B inhibitor
0,690	0,005	MAP kinase stimulant
0,708	0,028	Antiseborrhoeic

ПАСПОРТ СУБСТАНЦИИ EN53

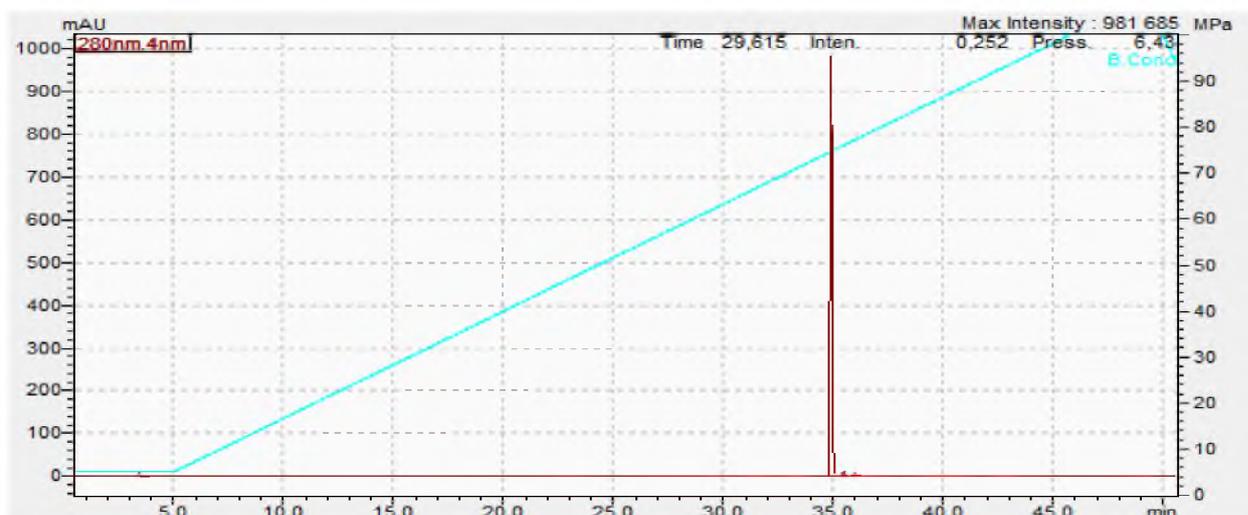
1) Шифр субстанции: EN53

2) Название соединения: 2,3,4,8-тетраметокси-9,10-дигидрофенантрен

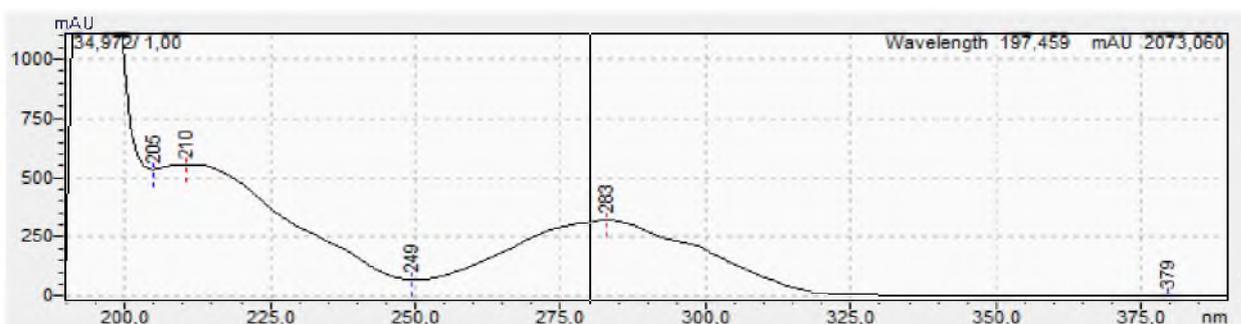
3) Формула соединения:



4) ВЭЖХ-спектр:

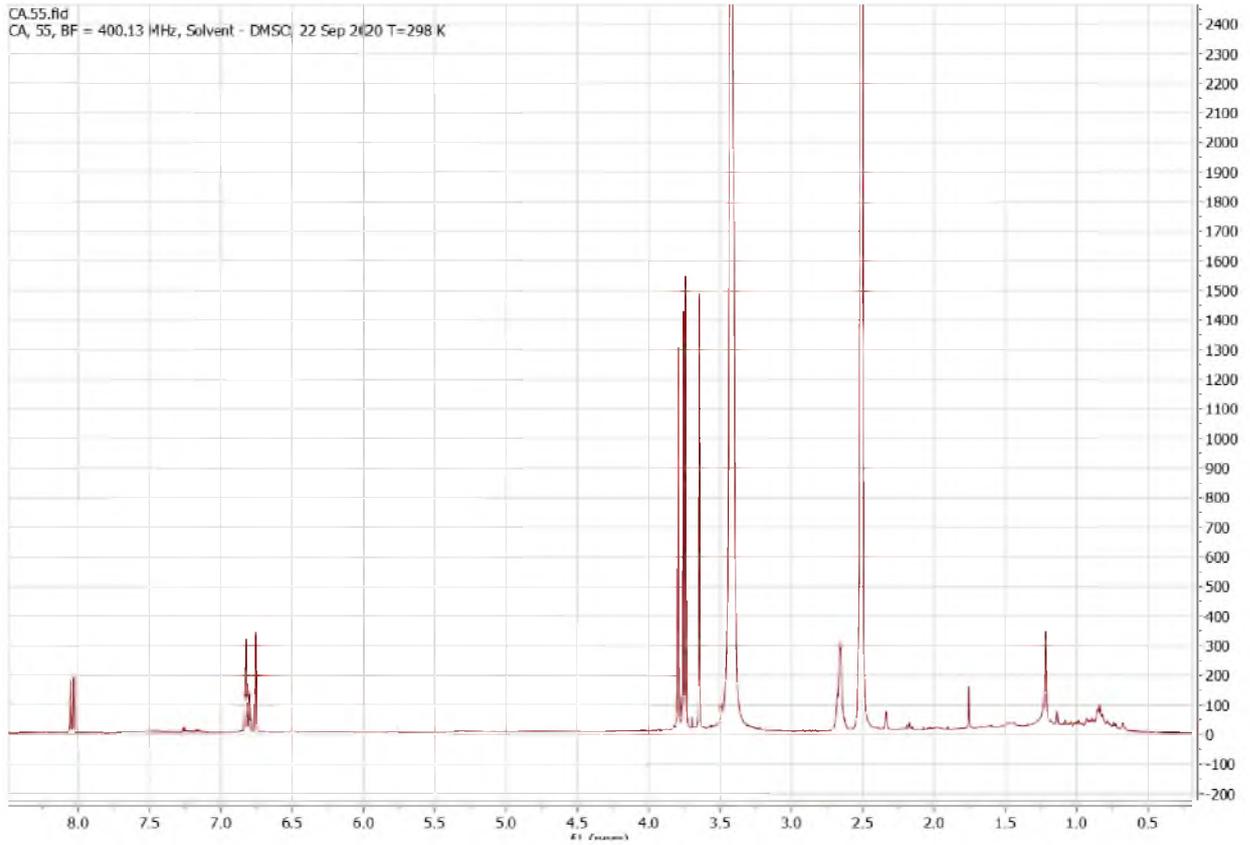


5) УФ-спектр:

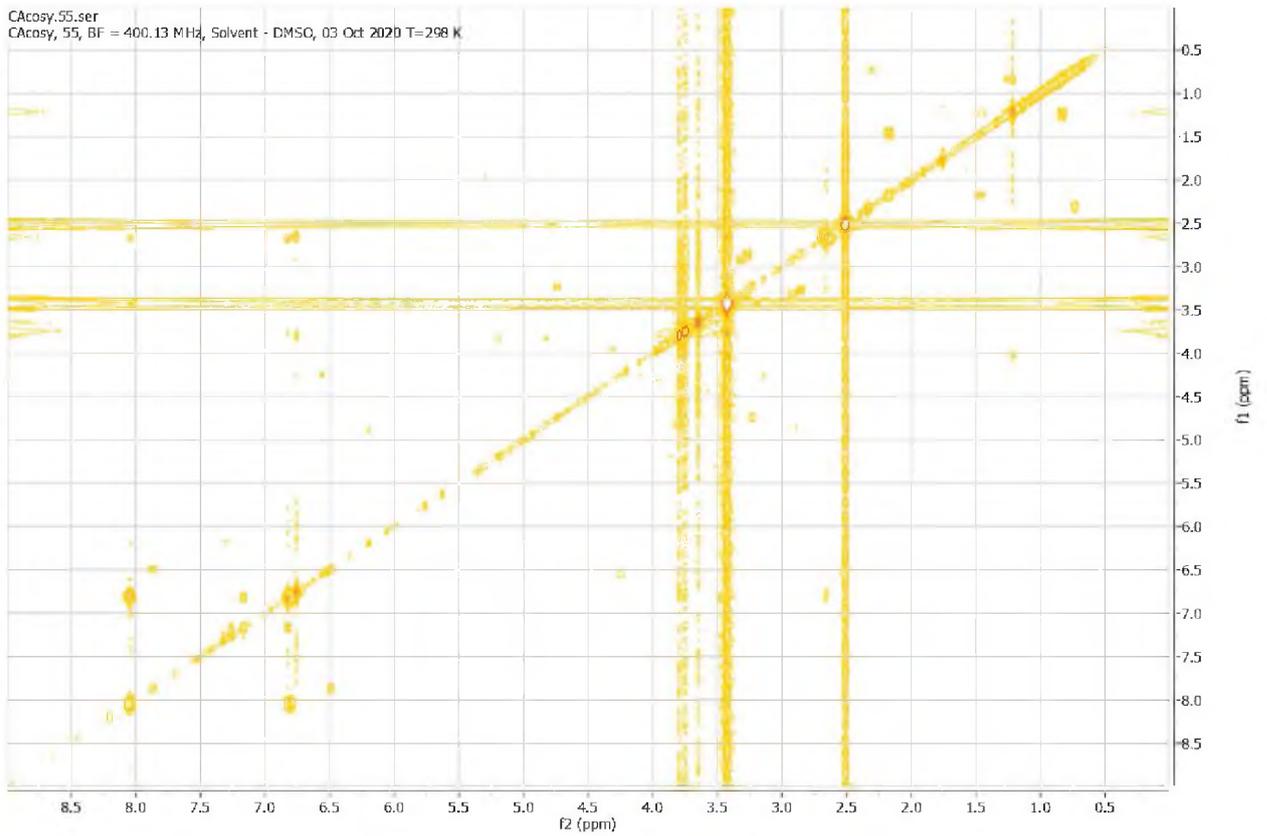


Максимумы УФ-поглощения: 210, 283, (300) нм

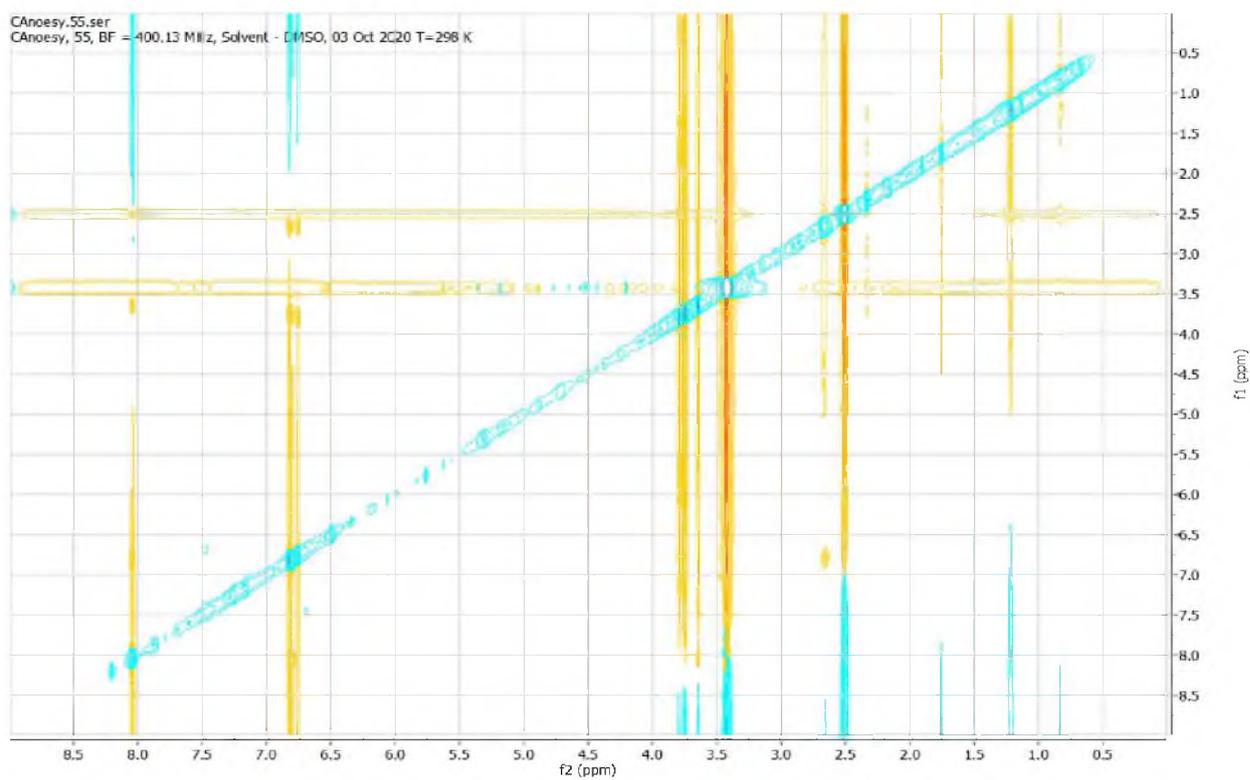
6) ЯМР-спектры:

 ^1H ЯМР

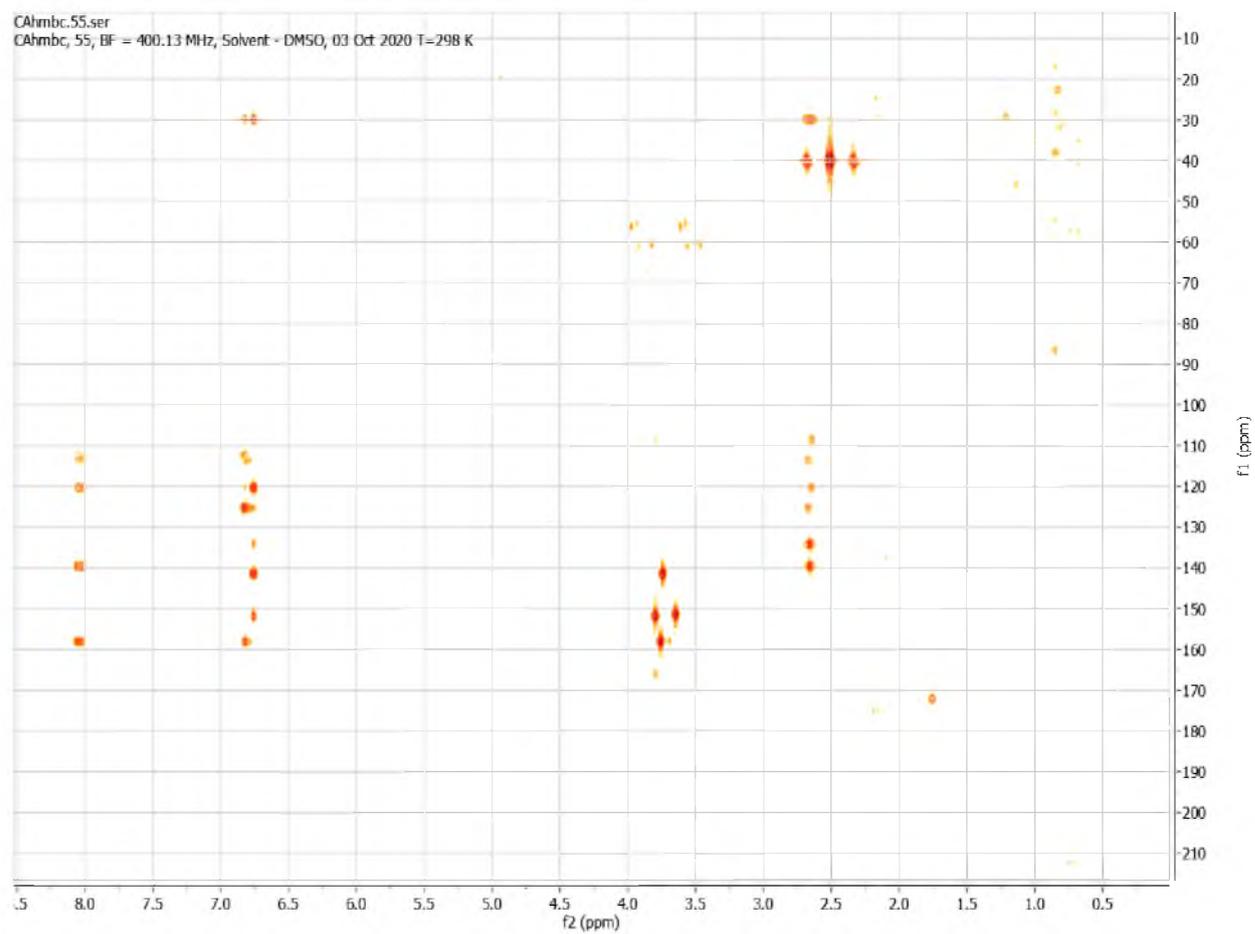
COSY



NOESY

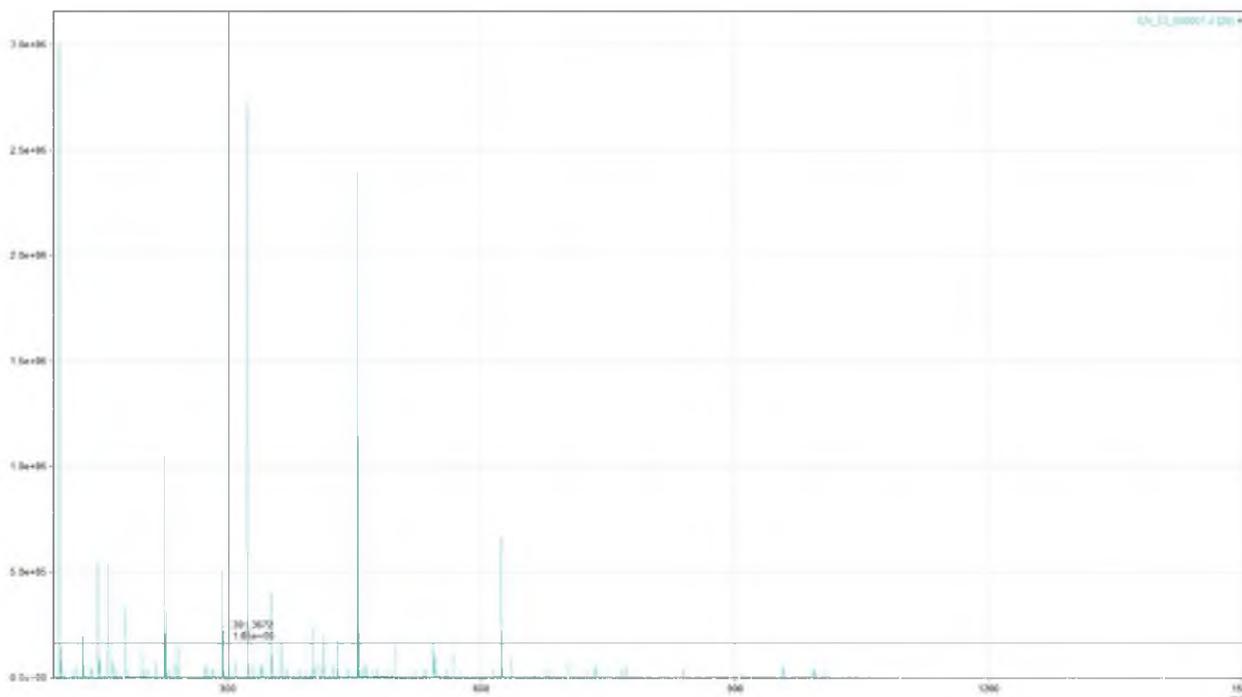


HMBC



7) Масс-спектр:

$[M+H]^+$ m/z 301.14398 (calc. 301.1440)

**СПРАВОЧНО:**

1) Группа соединений: производные 9,10-дигидрофенантрена

2) Масса: 8 мг

3) Статус: ранее неизвестное для растения

4) Прогноз фармакологической активности Way2Drug

Pa	Pi	Activity
0,913	0,002	Alpha tubulin antagonist
0,852	0,003	Tubulin antagonist
0,848	0,008	Chlordecone reductase inhibitor
0,818	0,006	HSPB1 expression inhibitor
0,813	0,008	Feruloyl esterase inhibitor
0,809	0,005	Methylquercetagetin 6-O-methyltransferase inhibitor
0,799	0,004	APOC3 expression inhibitor
0,791	0,007	Fructose-bisphosphate aldolase inhibitor
0,781	0,006	Aldehyde oxidase inhibitor
0,764	0,005	Female germline-specific tumor suppressor gld-1 inhibitor

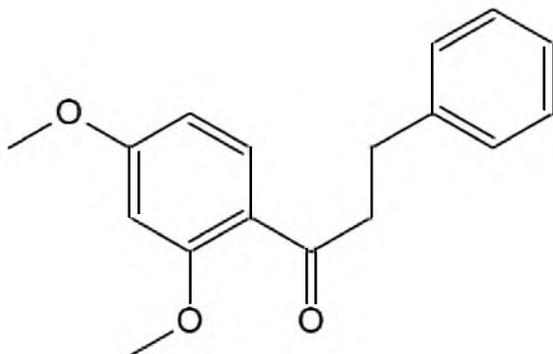
0,778	0,024	Estrogen-related receptor alpha agonist
0,753	0,001	N1L inhibitor
0,769	0,019	Chymosin inhibitor
0,769	0,019	Saccharopepsin inhibitor
0,769	0,019	Acrocyllindropepsin inhibitor
0,753	0,004	4-Nitrophenol 2-monooxygenase inhibitor
0,743	0,002	Beta tubulin antagonist
0,751	0,017	Taurine dehydrogenase inhibitor
0,750	0,022	Antiseborrhoeic
0,730	0,008	Nitrate reductase inhibitor
0,730	0,008	Nitrate reductase (cytochrome) inhibitor
0,723	0,004	MAP kinase stimulant
0,711	0,005	General pump inhibitor
0,705	0,005	2-Hydroxyquinoline 5,6-dioxygenase inhibitor
0,707	0,009	2-Hydroxyquinoline 8-monooxygenase inhibitor
0,700	0,003	Leukopoiesis inhibitor

ПАСПОРТ СУБСТАНЦИИ EN54

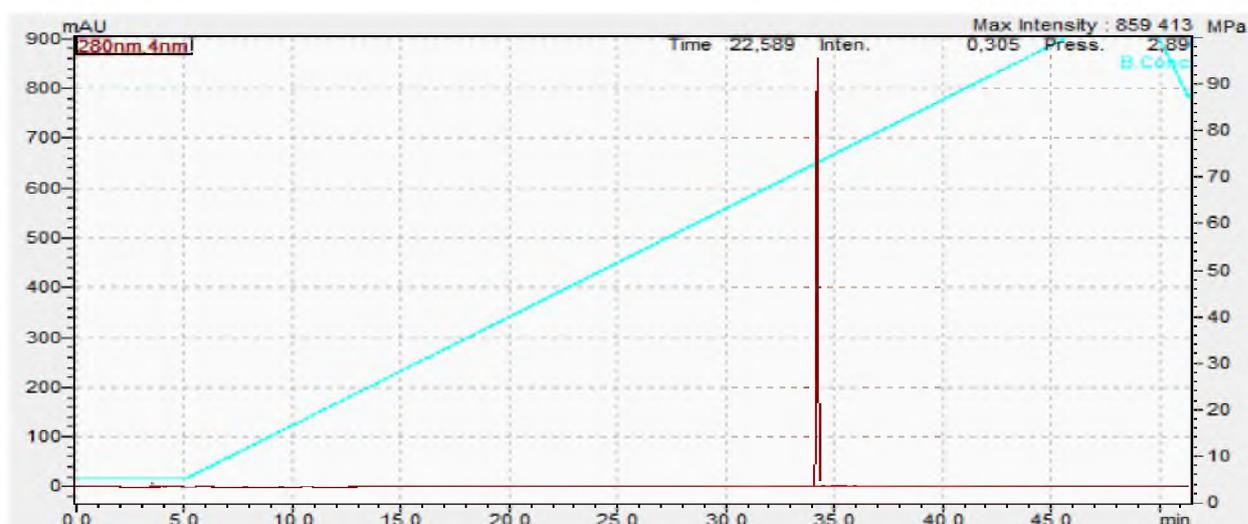
1) Шифр субстанции: EN54

2) Название соединения: 2', 4'-диметоксидигидрохалкон

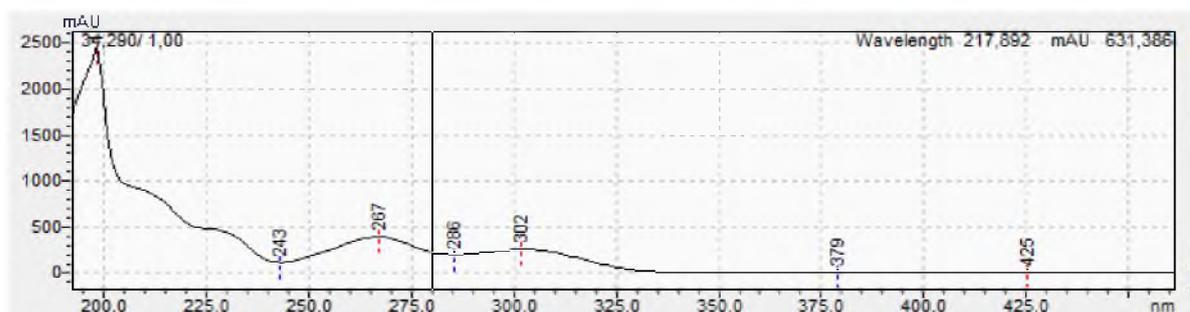
3) Формула соединения:



4) ВЭЖХ-спектр:

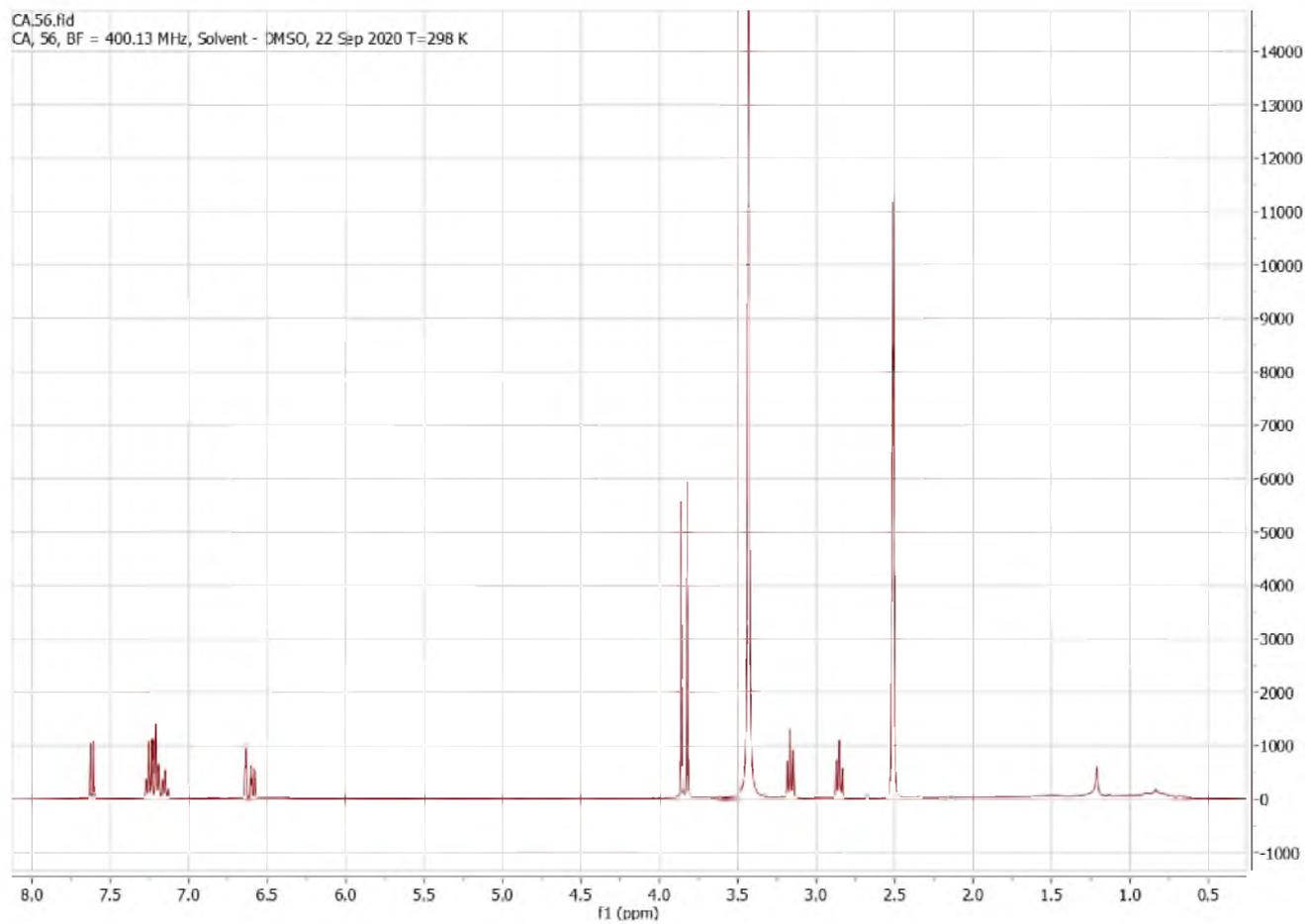


5) УФ-спектр:

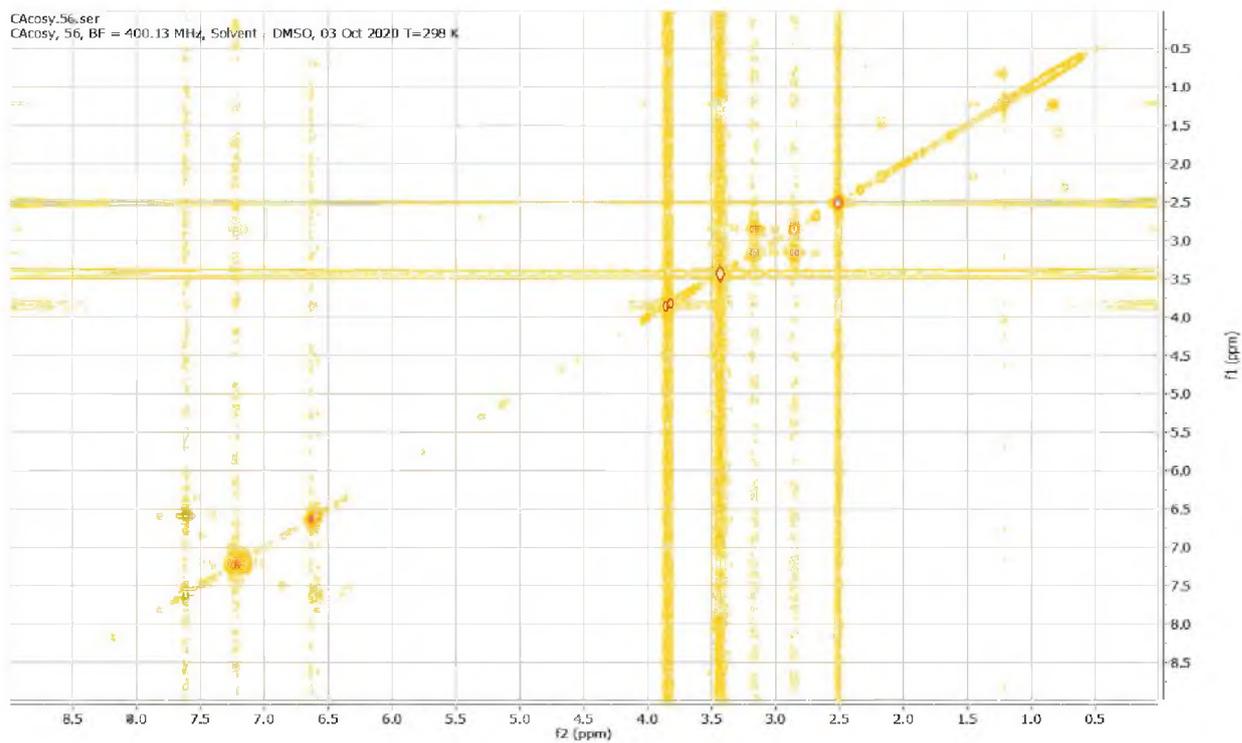


Максимумы УФ-поглощения: (230), 267, 302 нм

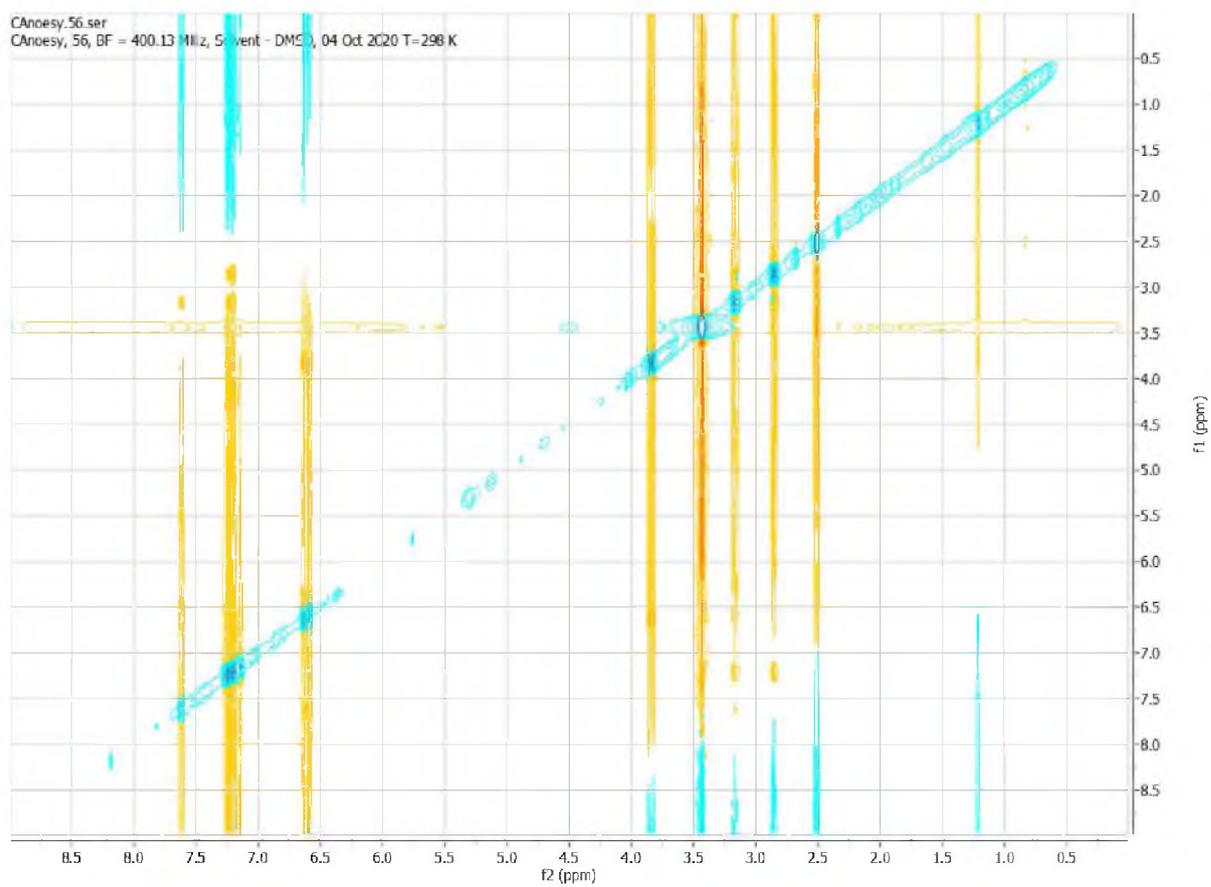
6) ЯМР-спектры:

 ^1H ЯМР

COSY

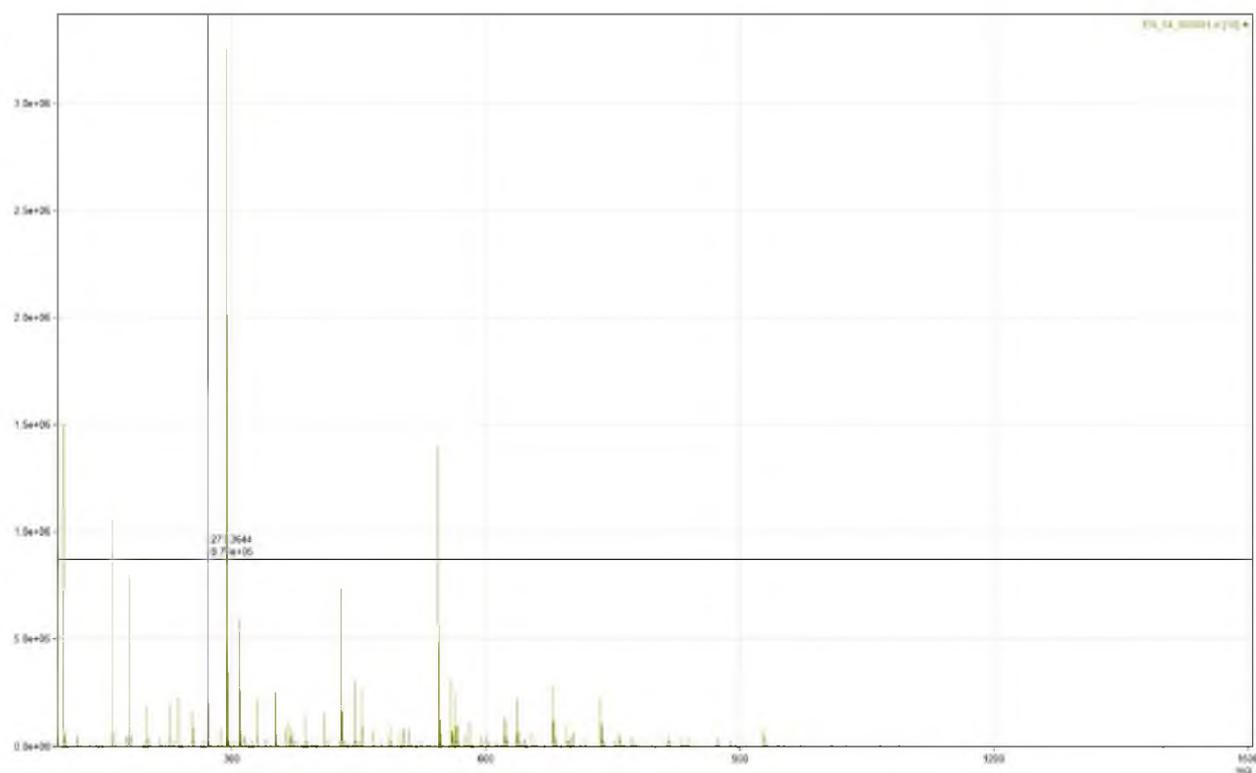


NOESY



7) Масс-спектр:

$[M+H]^+$ m/z 271.13337 (calc.271.1334)



СПРАВОЧНО:

1) Группа соединений: производные дигидрохалконов

2) Масса: 4 мг

3) Статус: новое природное соединение

4) Прогноз фармакологической активности Way2Drug

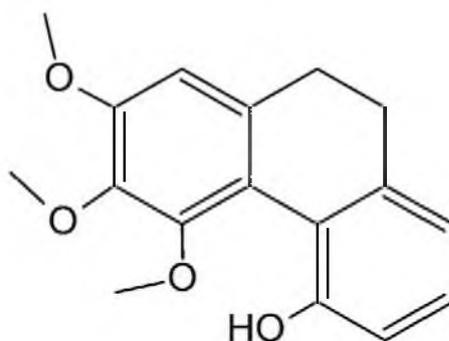
Pa	Pi	Activity
0,863	0,007	Chlordecone reductase inhibitor
0,834	0,005	Antineurotic
0,809	0,003	P-glycoprotein inhibitor
0,801	0,003	P-glycoprotein 1 inhibitor
0,808	0,011	Antineurotoxic
0,786	0,003	Lactase inhibitor
0,750	0,004	Beta-carotene 15,15'-monooxygenase inhibitor
0,745	0,007	Kinase inhibitor
0,736	0,019	Taurine dehydrogenase inhibitor
0,721	0,014	Fibrinolytic
0,699	0,005	3-Phytase inhibitor
0,727	0,036	Membrane integrity agonist
0,691	0,006	General pump inhibitor
0,697	0,016	Feruloyl esterase inhibitor
0,690	0,015	5 Hydroxytryptamine release stimulant
0,703	0,031	Saccharopepsin inhibitor
0,703	0,031	Acrocylindropepsin inhibitor
0,703	0,031	Chymosin inhibitor

ПАСПОРТ СУБСТАНЦИИ EN55

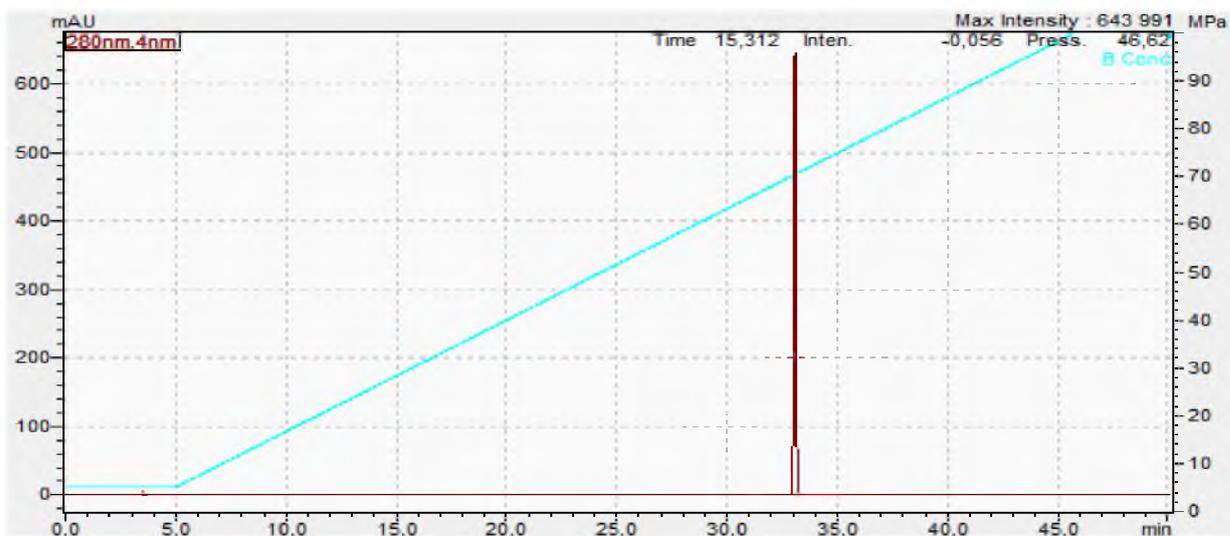
1) Шифр субстанции: EN55

2) Название соединения: 2,3,4-триметокси-5-гидрокси-9,10-дигидрофенантрен

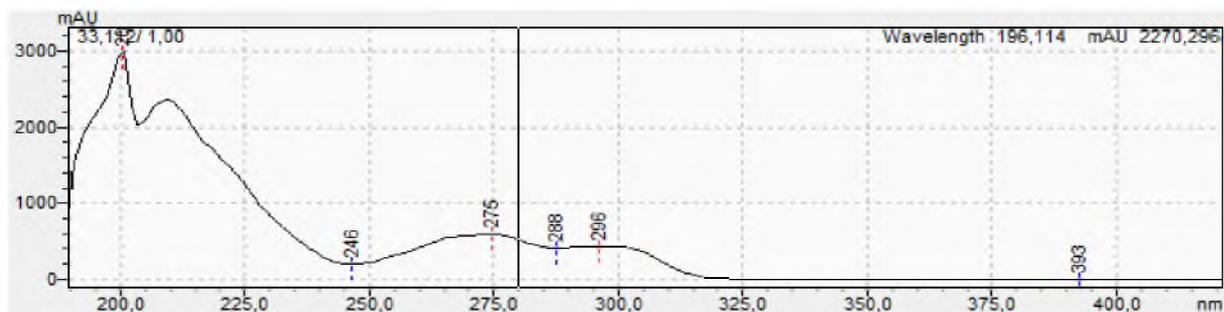
3) Формула соединения:



4) ВЭЖХ-спектр:

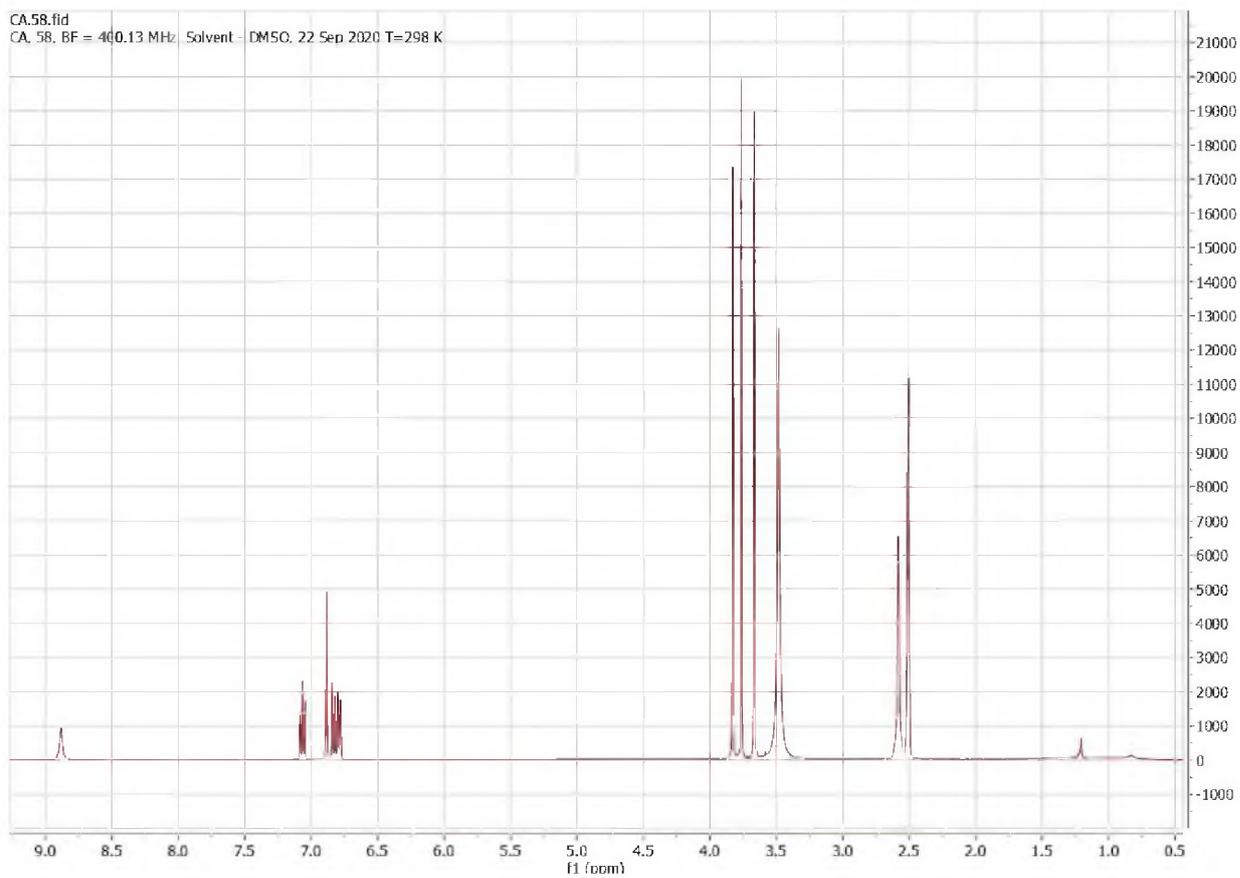


5) УФ-спектр:

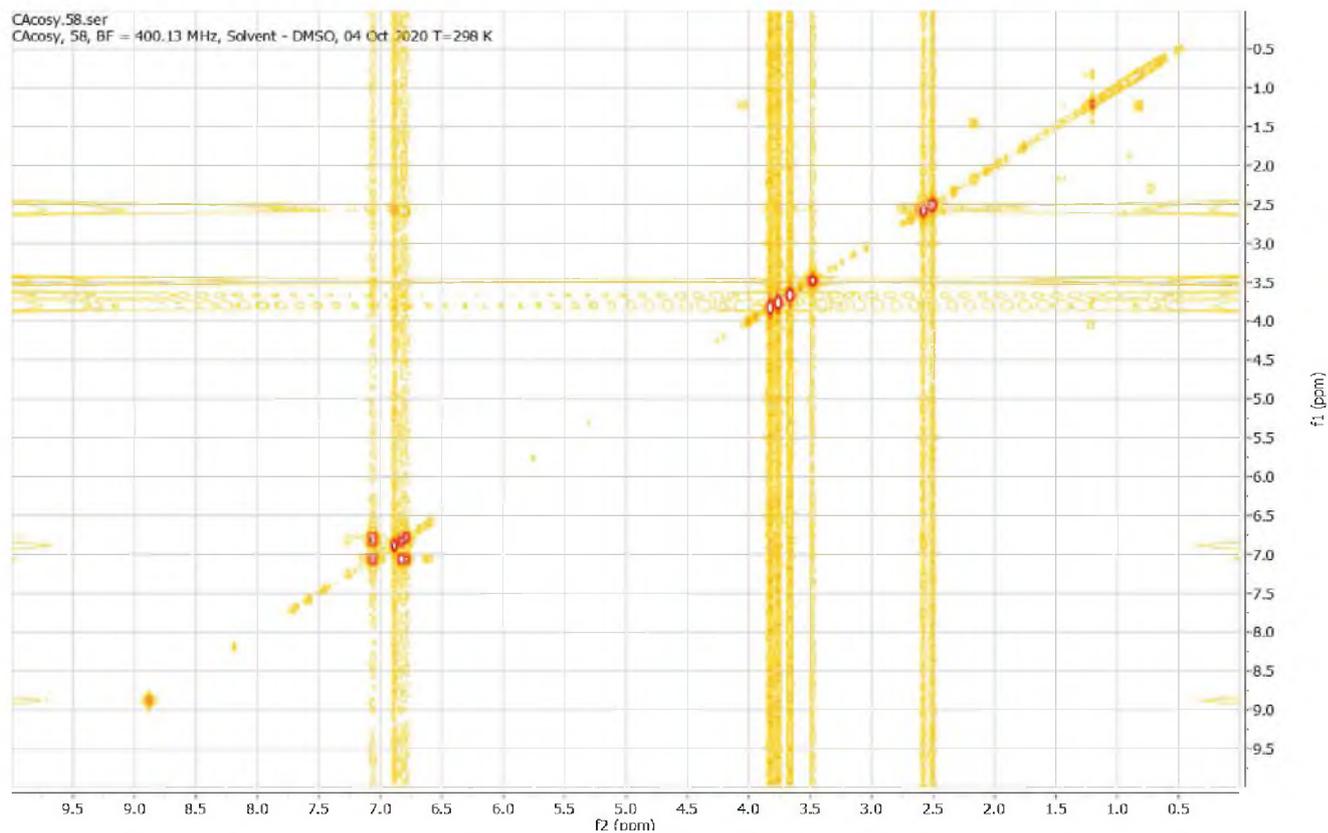


Максимумы УФ-поглощения: 275, 296 нм

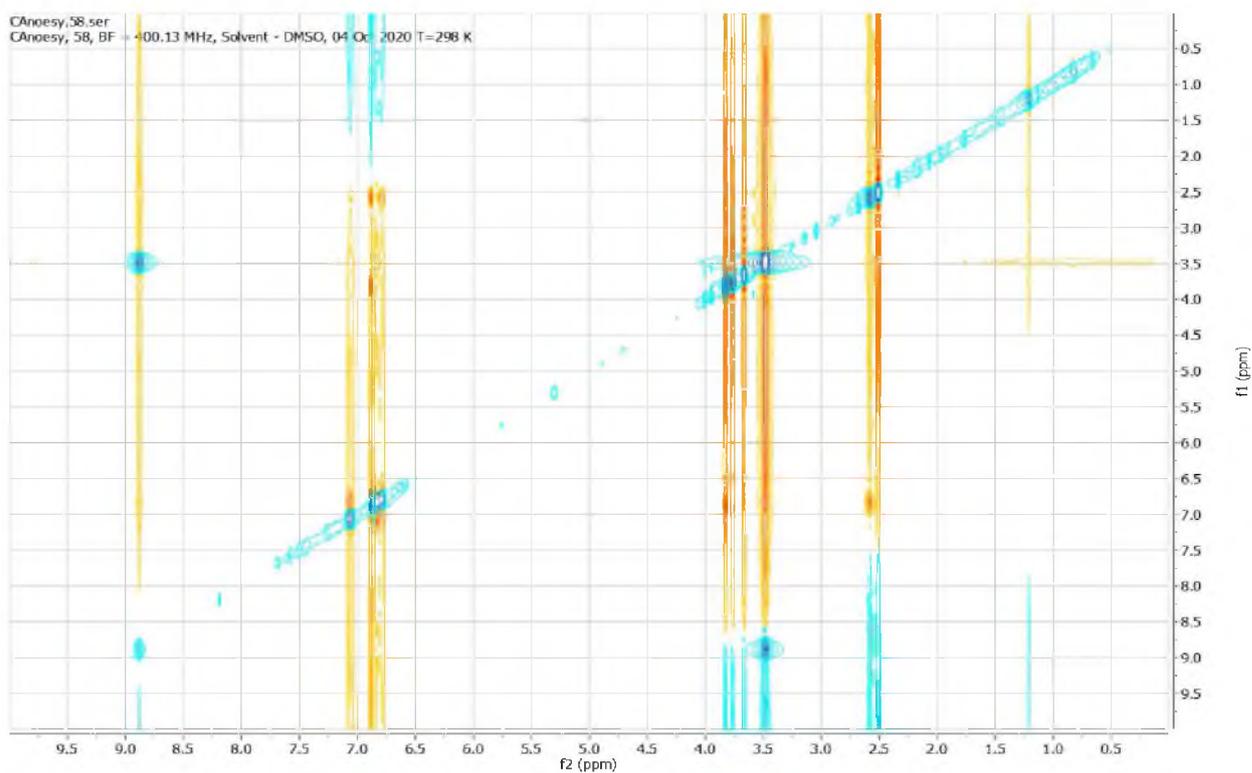
6) ЯМР-спектры:

 ^1H ЯМР

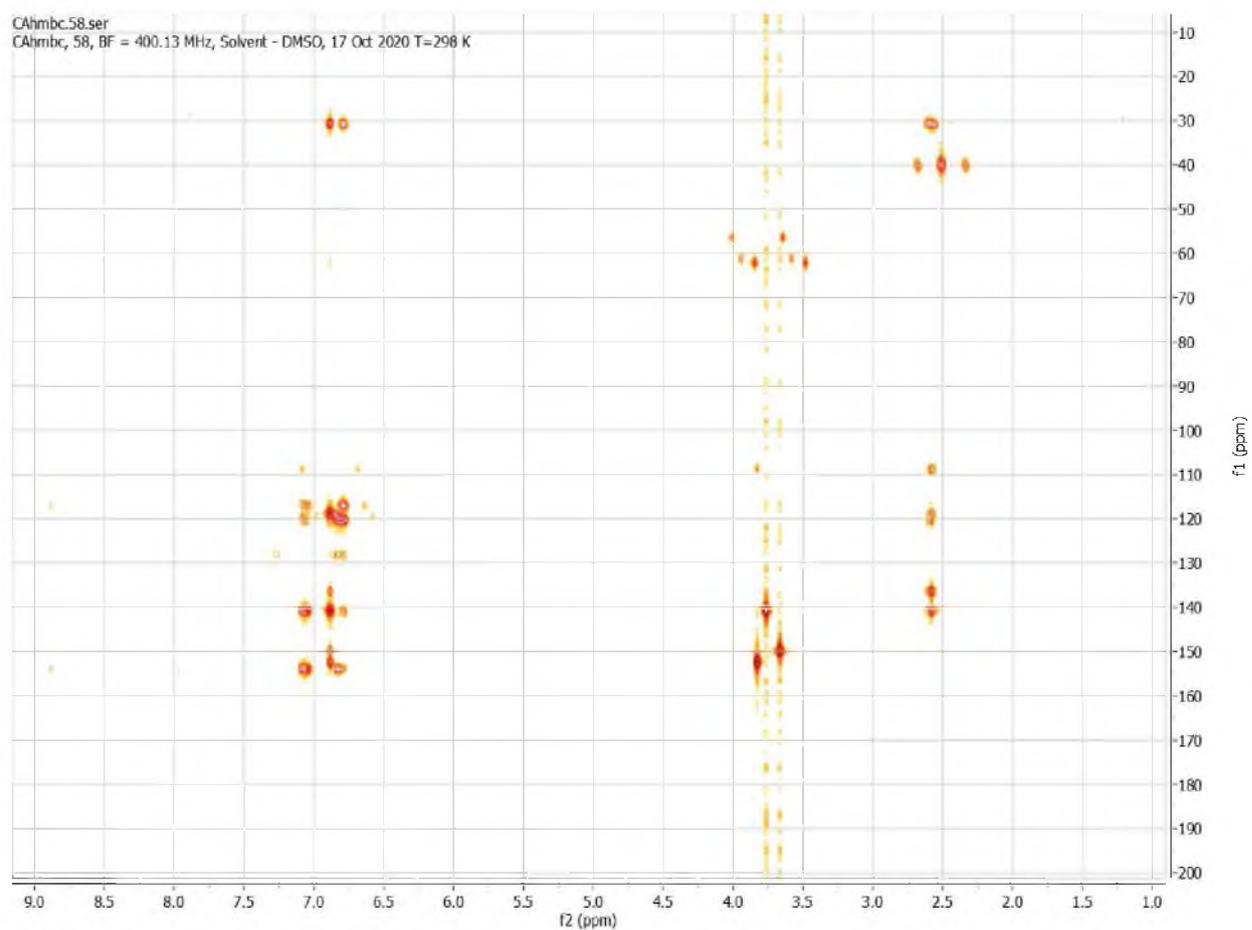
COSY



NOESY

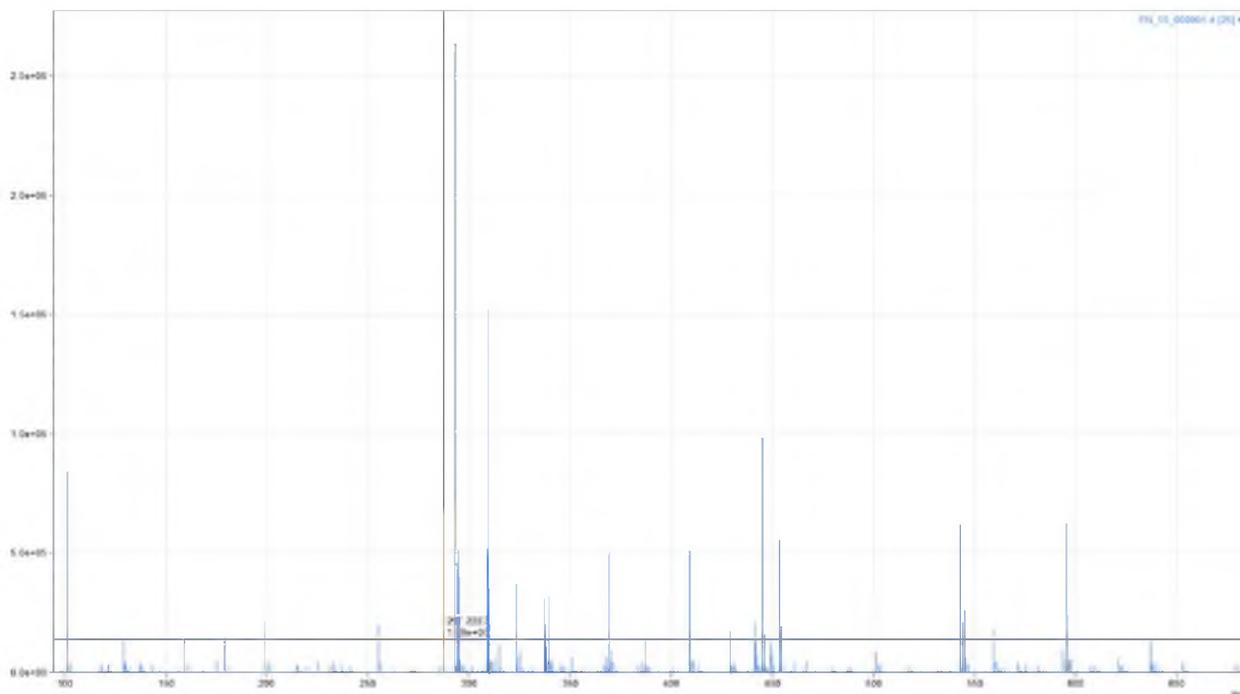


HMBC



7) Масс-спектр:

$[M+H]^+$ m/z 283.12831 (calc. 287.1283)

**СПРАВОЧНО:**

1) Группа соединений: производные 9,10-дигидрофенантрена

2) Масса: 10 мг

3) Статус: известное для растения

4) Прогноз фармакологической активности Way2Drug

Pa	Pi	Activity
0,923	0,003	Aldehyde oxidase inhibitor
0,898	0,002	Alpha tubulin antagonist
0,896	0,004	Chlordecone reductase inhibitor
0,888	0,004	Female germline-specific tumor suppressor gld-1 inhibitor
0,886	0,008	Estrogen-related receptor alpha agonist
0,875	0,004	Feruloyl esterase inhibitor
0,853	0,003	Methylquercetagenin 6-O-methyltransferase inhibitor

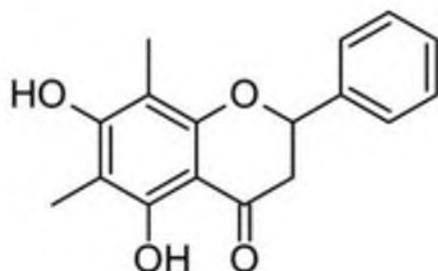
0,848	0,008	Penicillin-binding protein ampH inhibitor
0,842	0,006	Taurine dehydrogenase inhibitor
0,836	0,005	HSPB1 expression inhibitor
0,823	0,001	N1L inhibitor
0,806	0,003	Tubulin antagonist
0,810	0,013	Antiseborrheic
0,798	0,005	Nitrate reductase inhibitor
0,798	0,005	Nitrate reductase (cytochrome) inhibitor
0,805	0,024	Membrane integrity agonist
0,782	0,004	Peroxidase inhibitor
0,781	0,009	Dehydro-L-gulonate decarboxylase inhibitor
0,754	0,003	MAP kinase stimulant
0,765	0,017	Antineurotoxic
0,747	0,006	2-Hydroxyquinoline 8-monooxygenase inhibitor
0,738	0,011	Fibrinolytic
0,727	0,003	Steroid N-acetylglucosaminyltransferase inhibitor
0,723	0,002	Beta tubulin antagonist
0,730	0,012	5 Hydroxytryptamine release stimulant
0,723	0,005	Antiinflammatory, intestinal
0,720	0,004	Tetrahydroxynaphthalene reductase inhibitor
0,727	0,012	Fructose-bisphosphate aldolase inhibitor
0,719	0,005	Histidine kinase inhibitor
0,723	0,011	Glutathione thiolesterase inhibitor
0,722	0,013	15-Oxoprostaglandin 13-reductase inhibitor
0,712	0,004	4-Methoxybenzoate monooxygenase (O-demethylating) inhibitor
0,709	0,002	3-Demethylubiquinone-9 3-O-methyltransferase inhibitor
0,713	0,007	Vasoprotector
0,709	0,006	4-Nitrophenol 2-monooxygenase inhibitor
0,704	0,004	Antimutagenic
0,706	0,013	Lysase inhibitor

ПАСПОРТ СУБСТАНЦИИ EN56

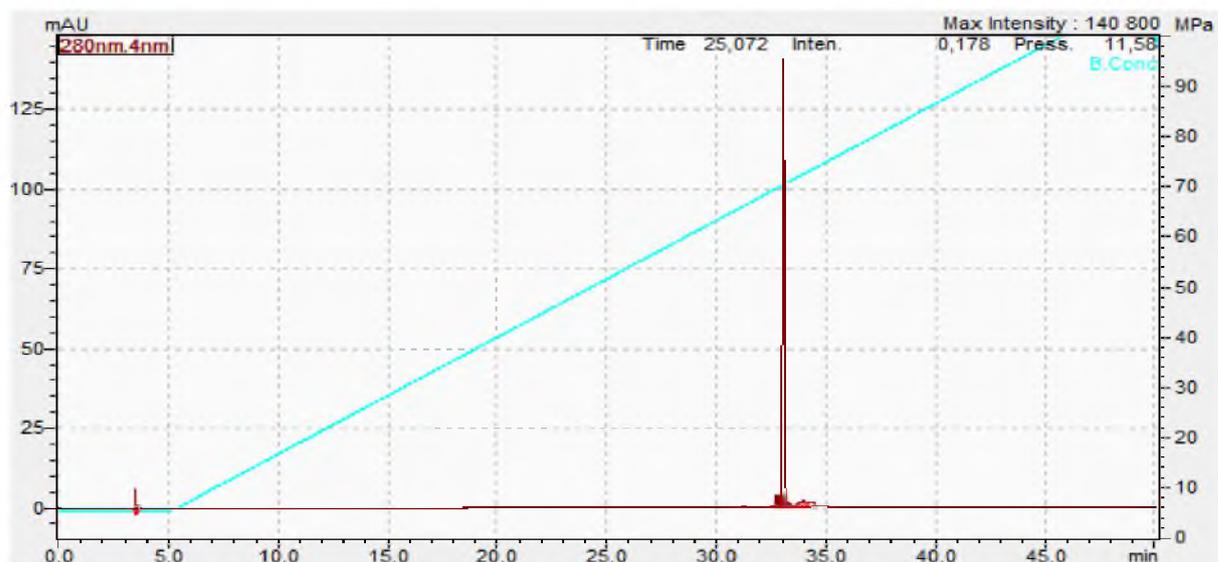
1) Шифр субстанции: EN56

2) Название соединения: 5,7-дигидрокси-6,8-диметил флаванон

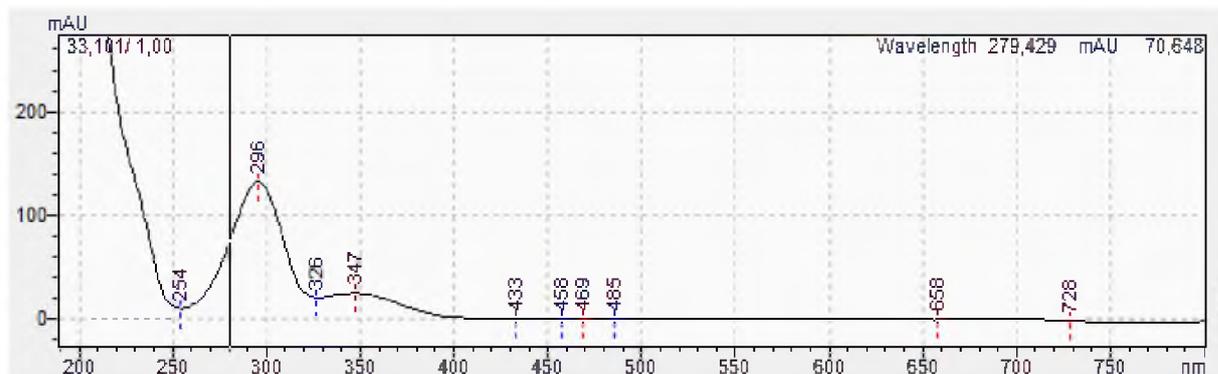
3) Формула соединения:



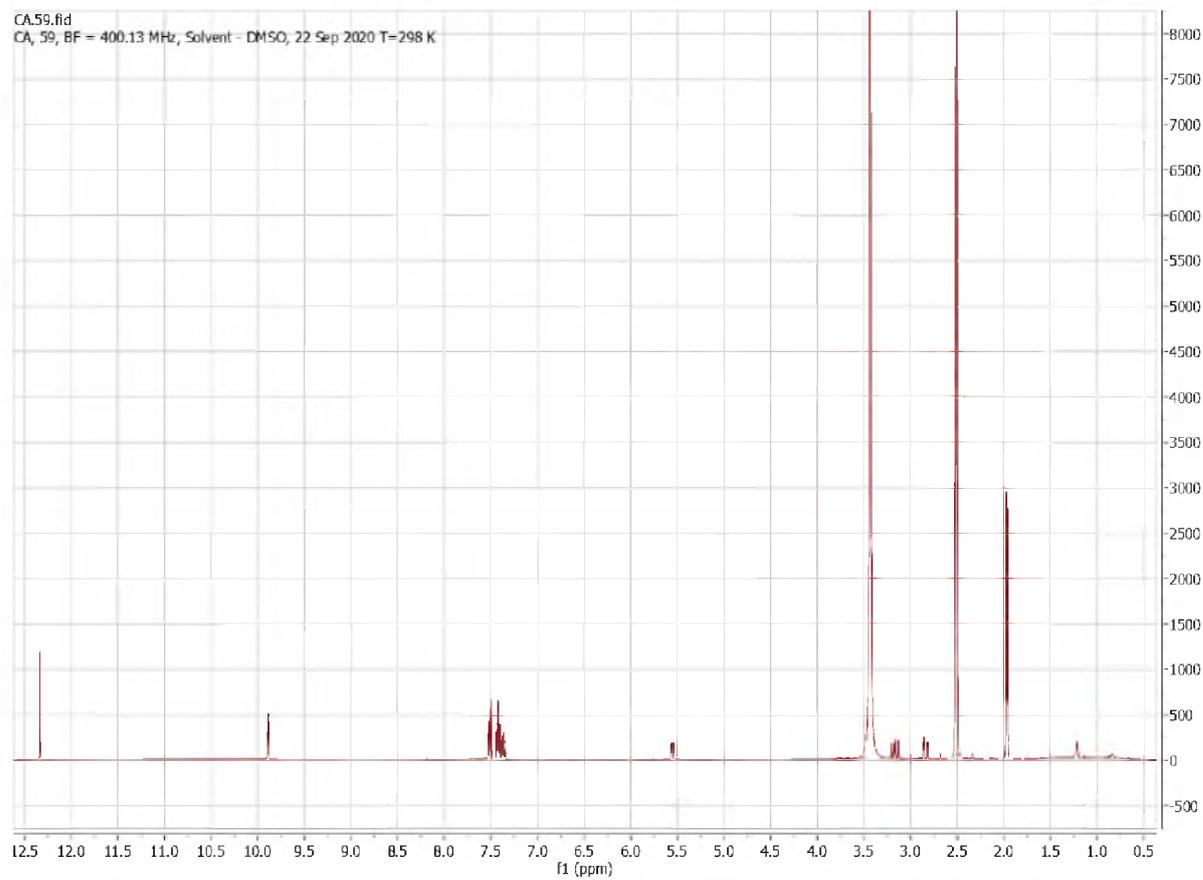
4) ВЭЖХ-спектр:



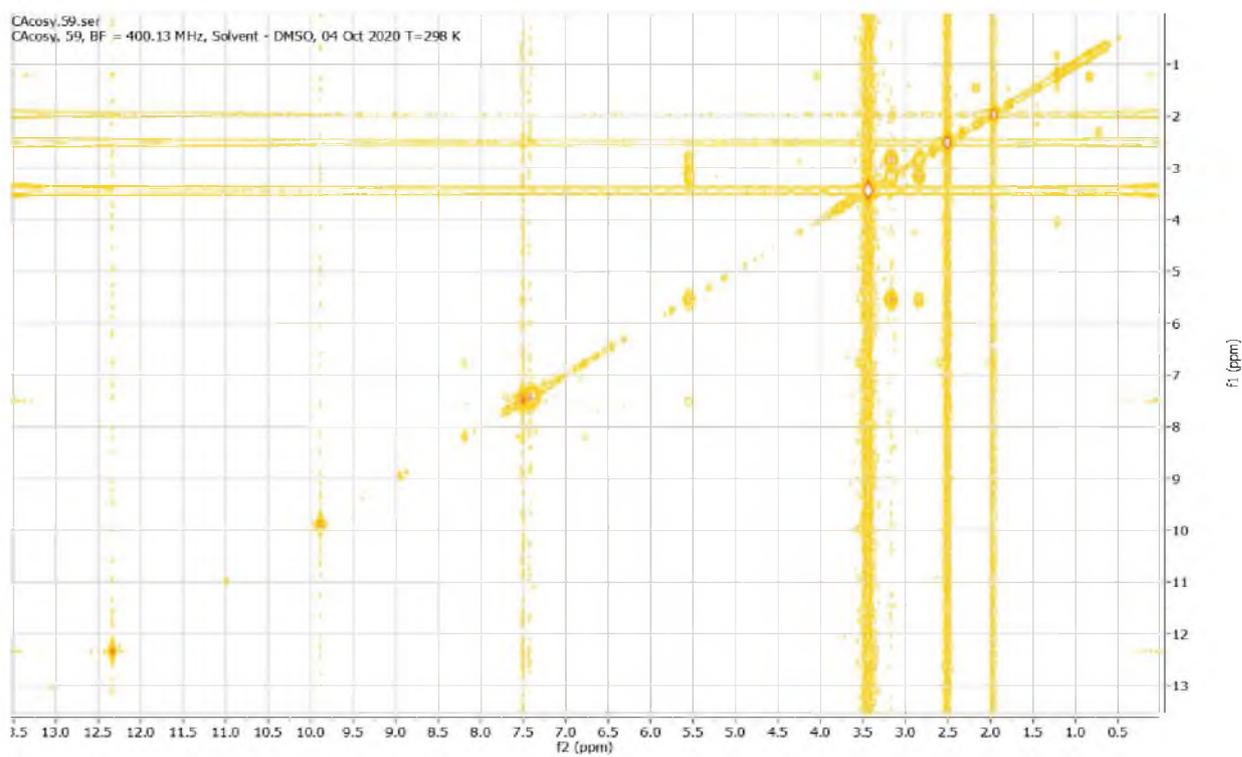
5) УФ-спектр:



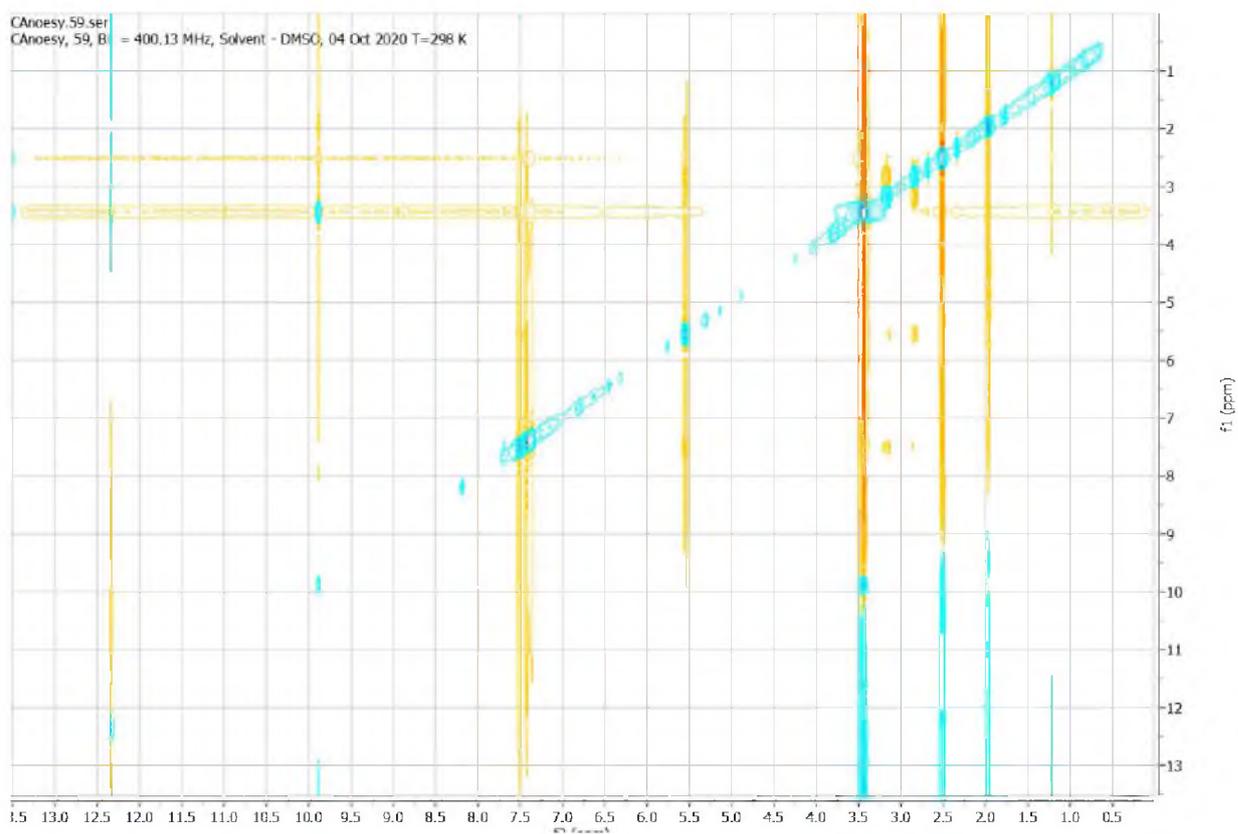
6) ЯМР-спектры:

 ^1H ЯМР

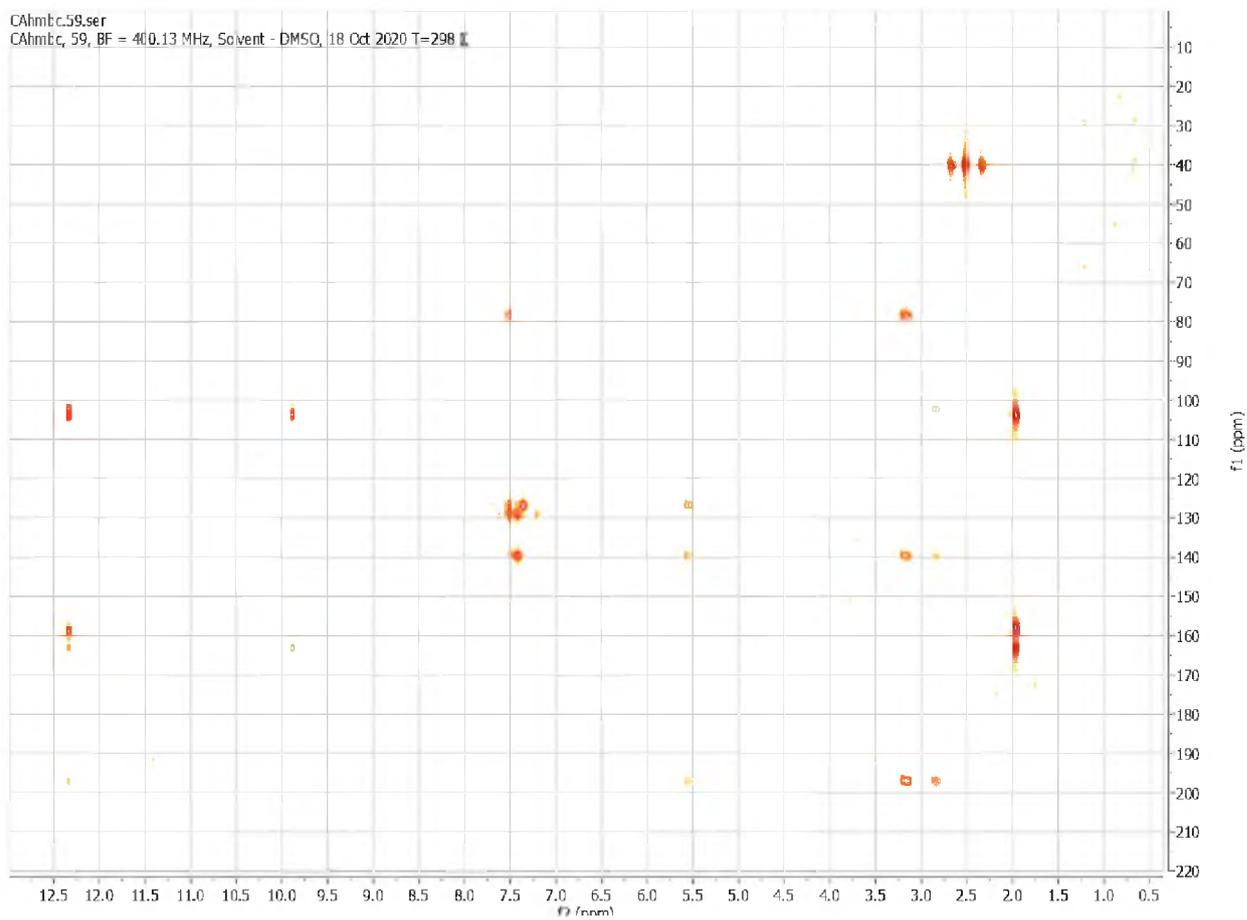
COSY

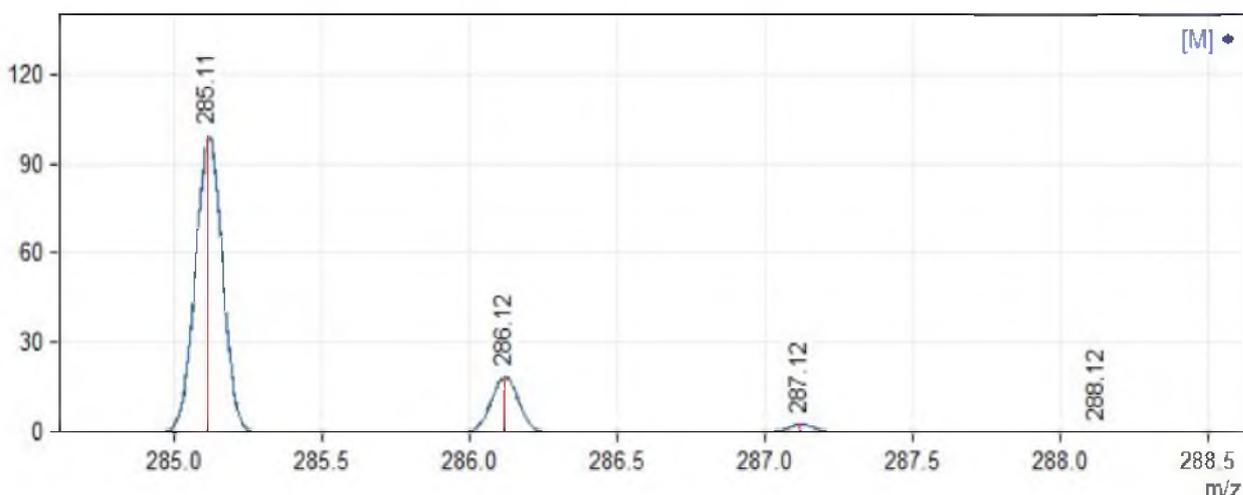


NOESY



HMBC



7) Масс-спектр: $[M+H]^+$ **СПРАВОЧНО:**

1) **Группа соединений:** производные флавоноидов

2) **Масса:** 6 мГ

3) **Статус:** известное для растения

4) **Прогноз фармакологической активности Way2Drug**

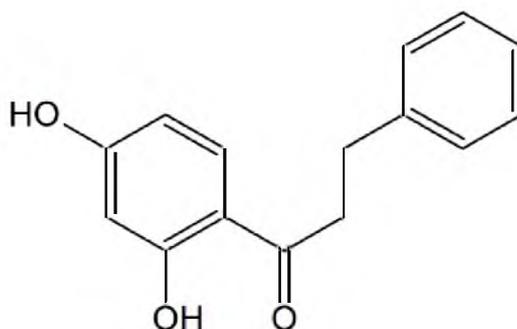
Pa	Pi	Activity
0,917	0,001	Cytochrome P450 stimulant
0,907	0,007	Membrane integrity agonist
0,890	0,005	Penicillin-binding protein ampH inhibitor
0,845	0,009	Neuroprotector
0,808	0,005	Kinase inhibitor
0,791	0,002	Skin whitener
0,798	0,020	Estrogen-related receptor alpha agonist
0,766	0,004	Histamine release inhibitor
0,771	0,024	CDP-glycerol glycerophosphotransferase inhibitor
0,750	0,003	Free radical scavenger
0,743	0,004	Histidine kinase inhibitor
0,738	0,007	Antiinflammatory
0,724	0,008	APOA1 expression enhancer
0,730	0,014	APOB expression inhibitor
0,716	0,009	Membrane integrity antagonist
0,712	0,008	Female germline-specific tumor suppressor gld-1 inhibitor
0,727	0,024	Antineurotoxic
0,703	0,010	Antihypercholesterolemic

ПАСПОРТ СУБСТАНЦИИ EN59

1) Шифр вещества: EN59

2) Название соединения: 2',4'-дигидроксидигидрохалкон

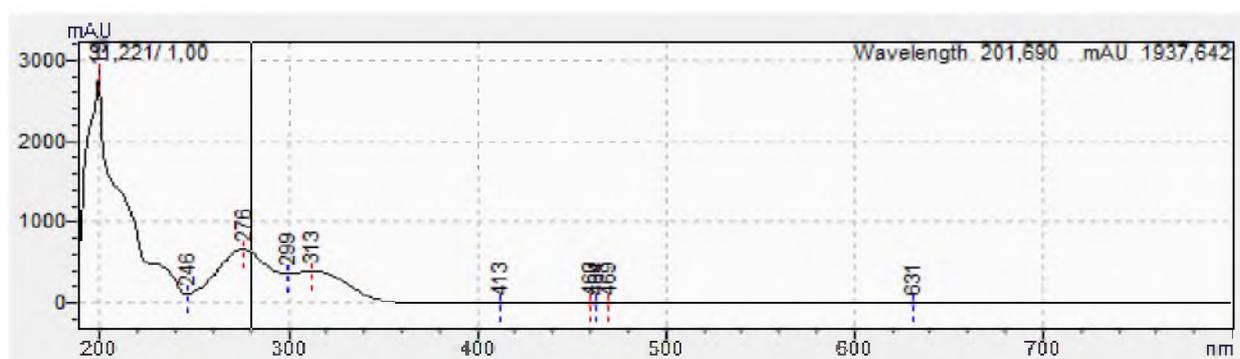
3) Формула соединения:



4) ВЭЖХ-спектр:

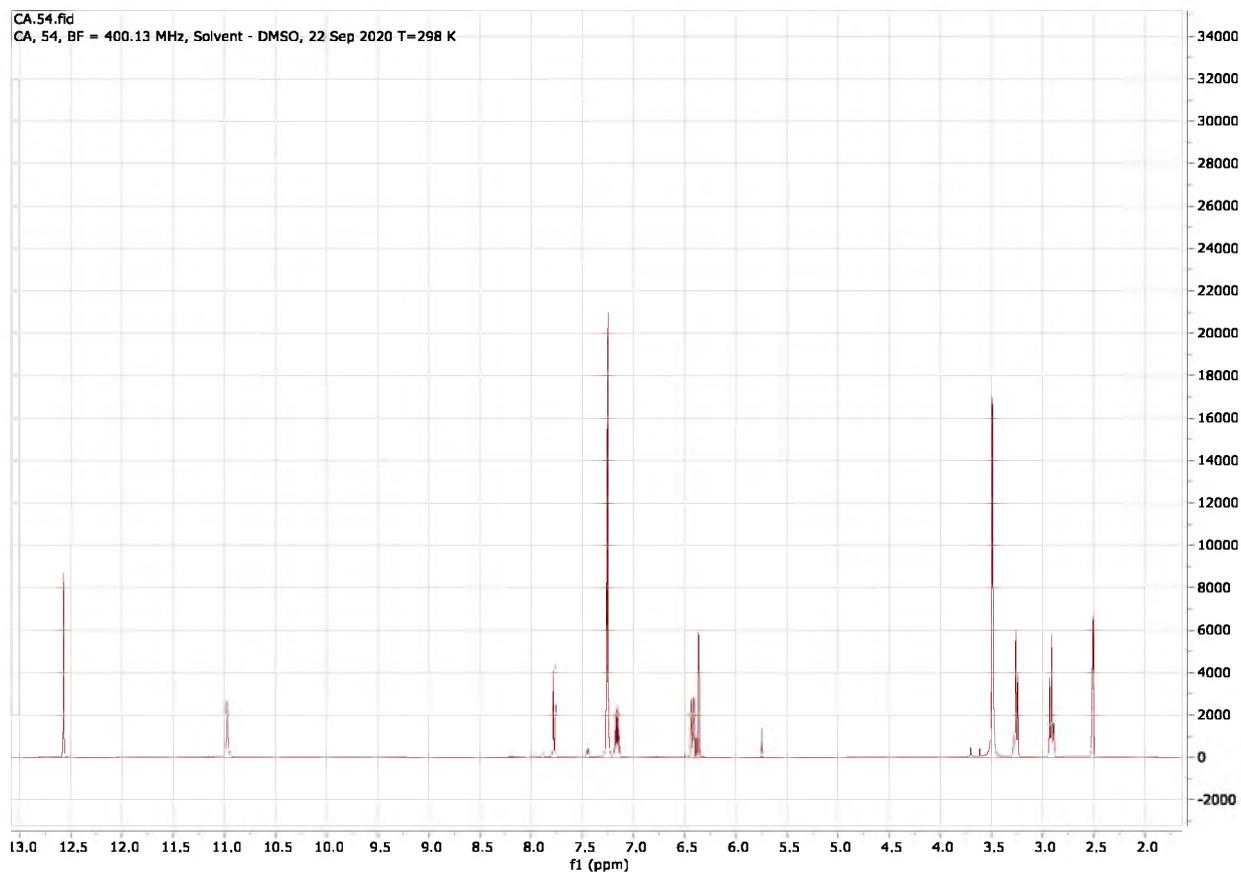


5) УФ-спектр:



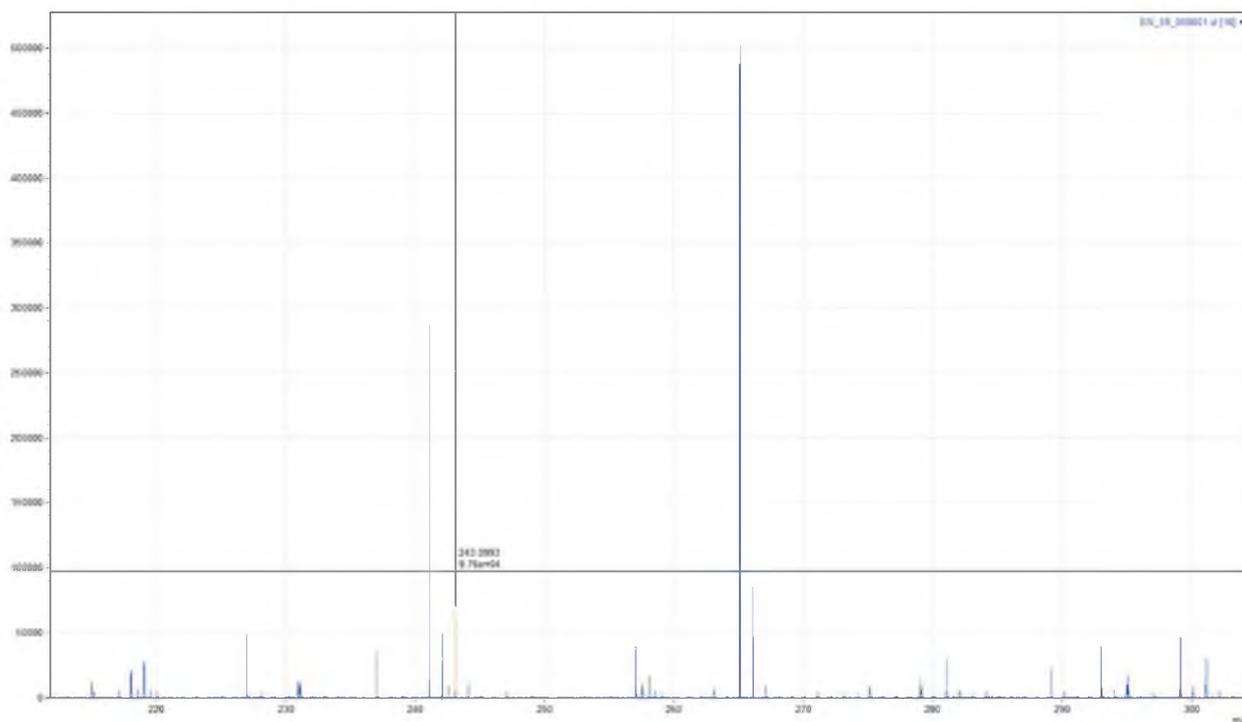
Максимумы УФ-поглощения: 276, 313 нм

6) ЯМР-спектры:

 ^1H ЯМР

9)

Масс-спектр:

 $[\text{M}+\text{H}]^+$ m/z 243.10211 (calc. 243.1021)

СПРАВОЧНО:

1) Группа соединений: производные дигидрохалконов

2) Масса: 30 мг

3) Статус: известное для растения

4) Прогноз фармакологической активности Way2Drug

Pa	Pi	Activity
0,941	0,001	3-Phytase inhibitor
0,893	0,004	Chlordecone reductase inhibitor
0,876	0,002	Lactase inhibitor
0,879	0,005	Penicillin-binding protein ampH inhibitor
0,875	0,012	Membrane integrity agonist
0,844	0,007	Antineurotoxic
0,839	0,002	Beta-carotene 15,15'-monooxygenase inhibitor
0,842	0,008	Antiseborrheic
0,813	0,007	HSPB1 expression inhibitor
0,794	0,003	Histidine kinase inhibitor
0,803	0,019	Estrogen-related receptor alpha agonist
0,787	0,004	Antidote, cyanide
0,779	0,009	Dehydro-L-gulonate decarboxylase inhibitor
0,782	0,013	Taurine dehydrogenase inhibitor
0,769	0,004	Insulin receptor agonist
0,768	0,003	P-glycoprotein inhibitor
0,766	0,003	3-Oxoacyl-[acyl-carrier-protein] reductase inhibitor
0,767	0,006	Kinase inhibitor
0,769	0,012	Glutamyl endopeptidase II inhibitor
0,762	0,007	Fibrinolytic
0,758	0,004	General pump inhibitor
0,762	0,011	Nicotinic alpha6beta3beta4alpha5 receptor antagonist
0,754	0,003	P-glycoprotein 1 inhibitor
0,759	0,012	Feruloyl esterase inhibitor
0,746	0,007	NADPH-cytochrome-c2 reductase inhibitor
0,750	0,013	APOB expression inhibitor
0,733	0,010	Glucan endo-1,6-beta-glucosidase inhibitor
0,733	0,010	Glutathione thiolesterase inhibitor
0,731	0,011	Hydrolase inhibitor
0,722	0,004	Antiseptic
0,727	0,013	5 Hydroxytryptamine release stimulant
0,731	0,018	Sugar-phosphatase inhibitor
0,718	0,007	Linoleate diol synthase inhibitor
0,713	0,005	Peptide alpha-N-acetyltransferase inhibitor
0,715	0,010	2-Dehydropantoate 2-reductase inhibitor
0,711	0,007	Fatty-acyl-CoA synthase inhibitor
0,704	0,007	Nerve growth factor agonist
0,708	0,016	Transcription factor STAT1 inhibitor
0,701	0,015	Glucose oxidase inhibitor

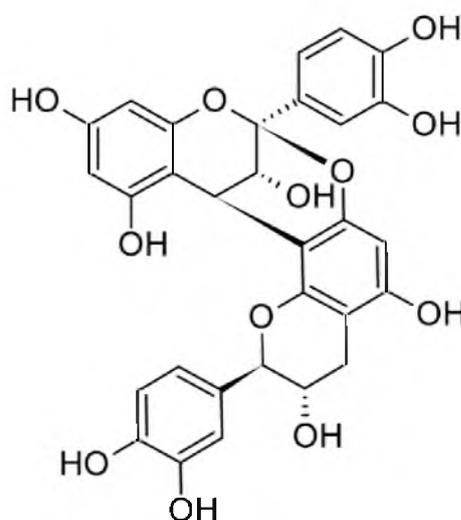
ПАСПОРТ СУБСТАНЦИИ EN35

1) Шифр субстанции: EN35

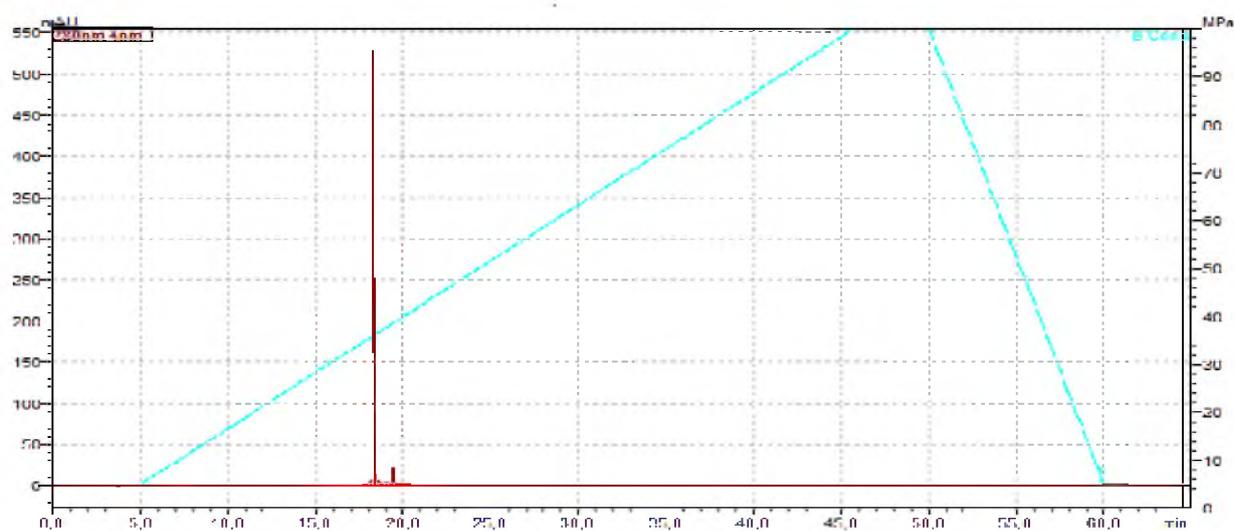
2) Название соединения: эпикатехин-(2 β →O→7, 4 β →8)-катехин

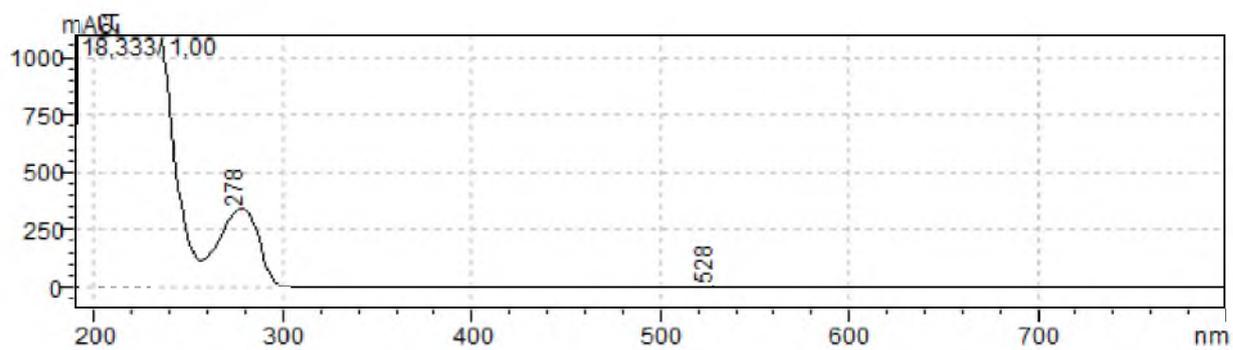
(Процианидин A1)

3) Формула соединения:

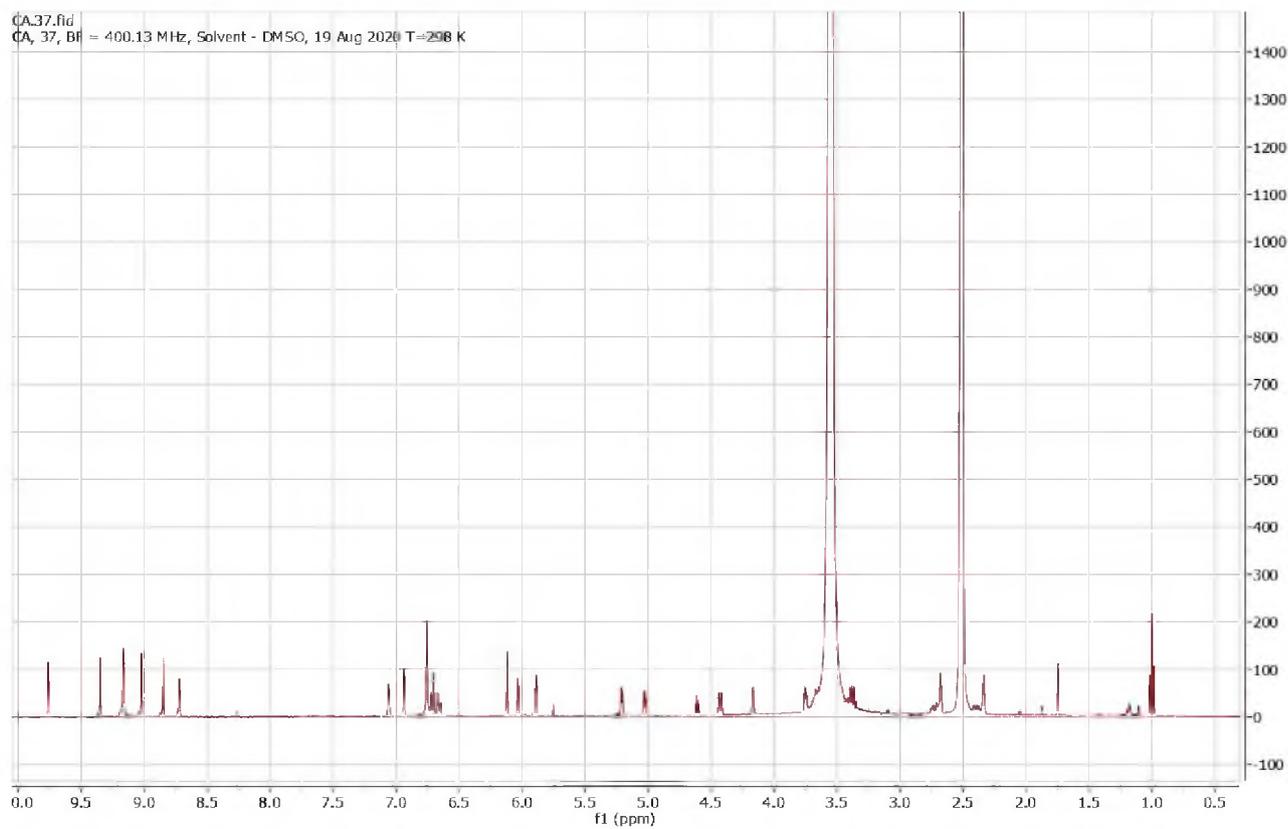


4) ВЭЖХ-спектр:

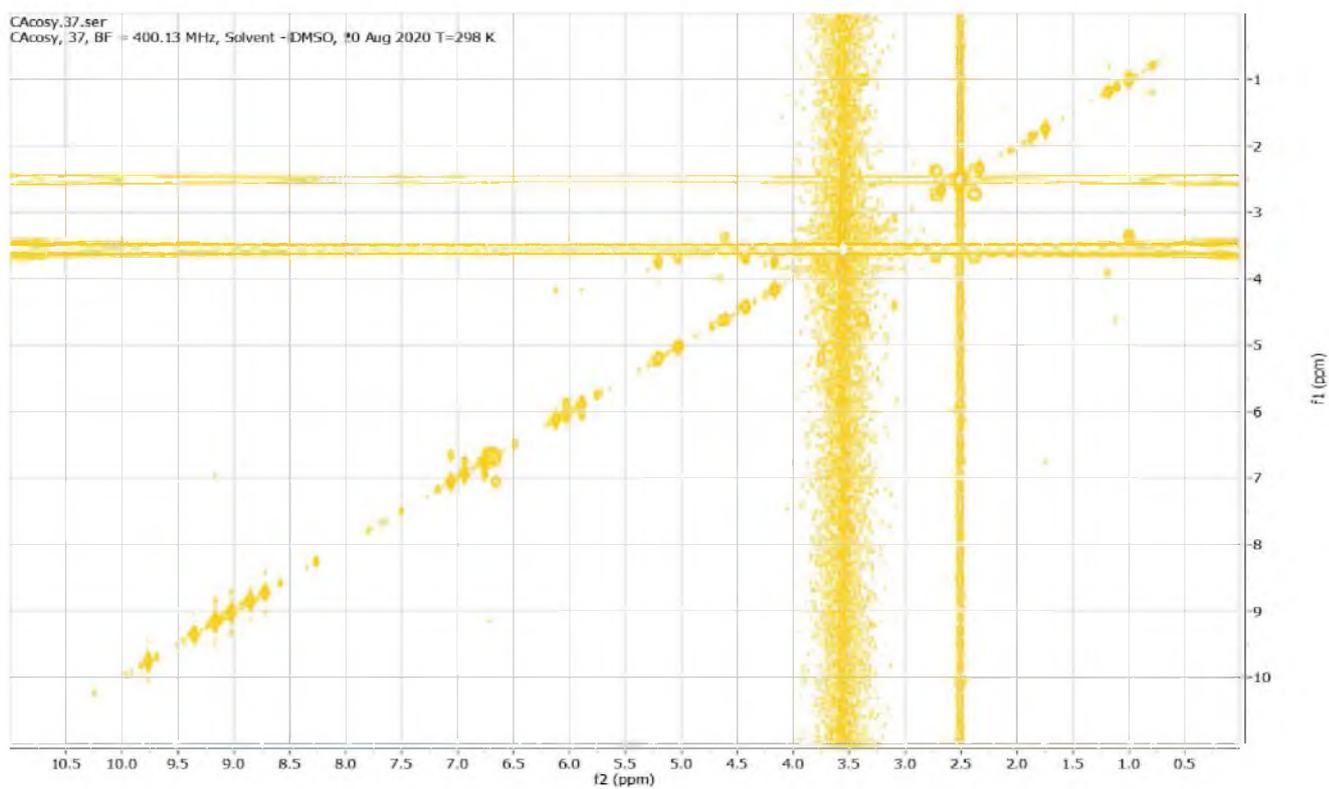


5) УФ-спектр:

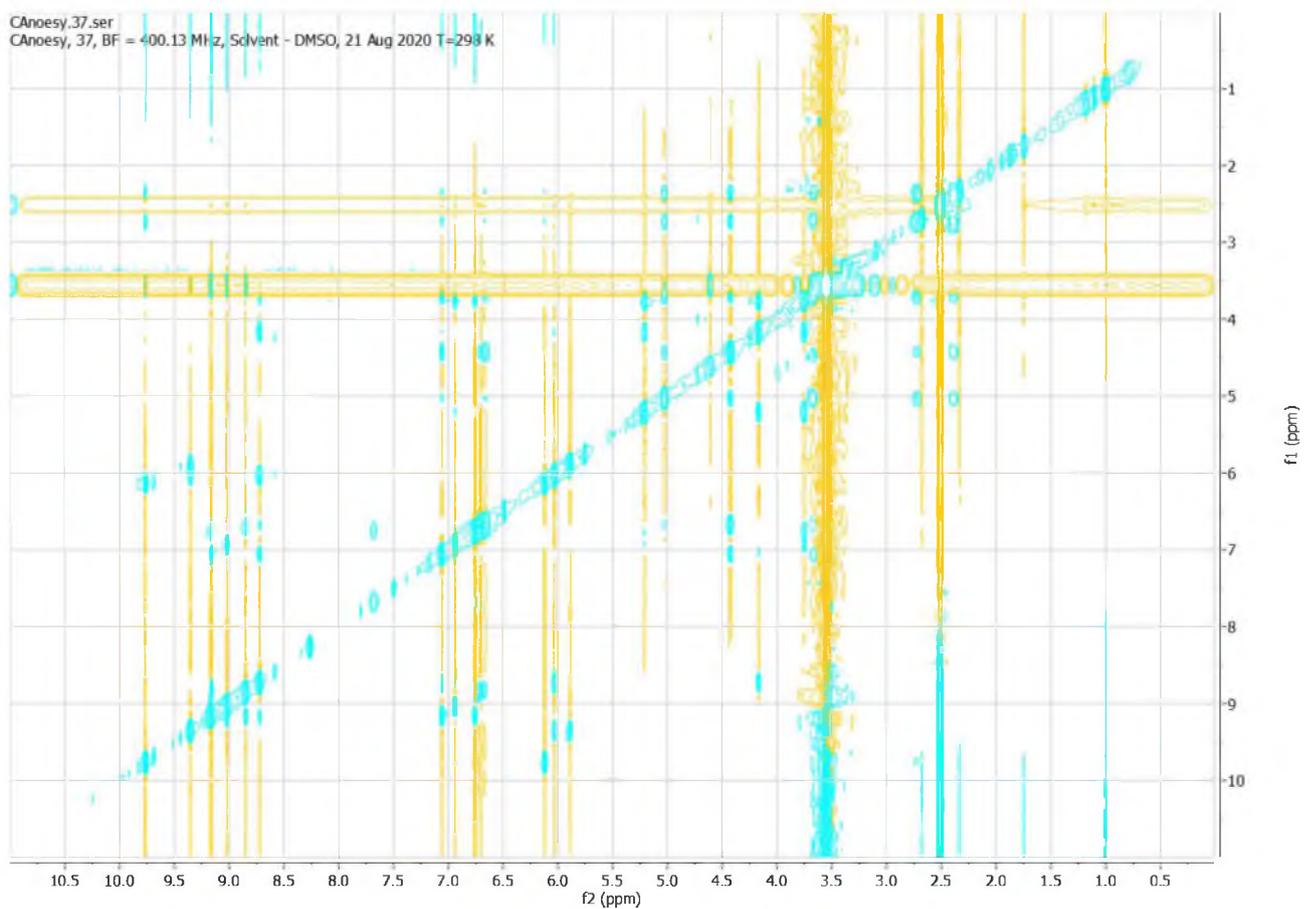
Максимумы УФ-поглощения: 278 нм

6) ЯМР-спектры: **^1H ЯМР**

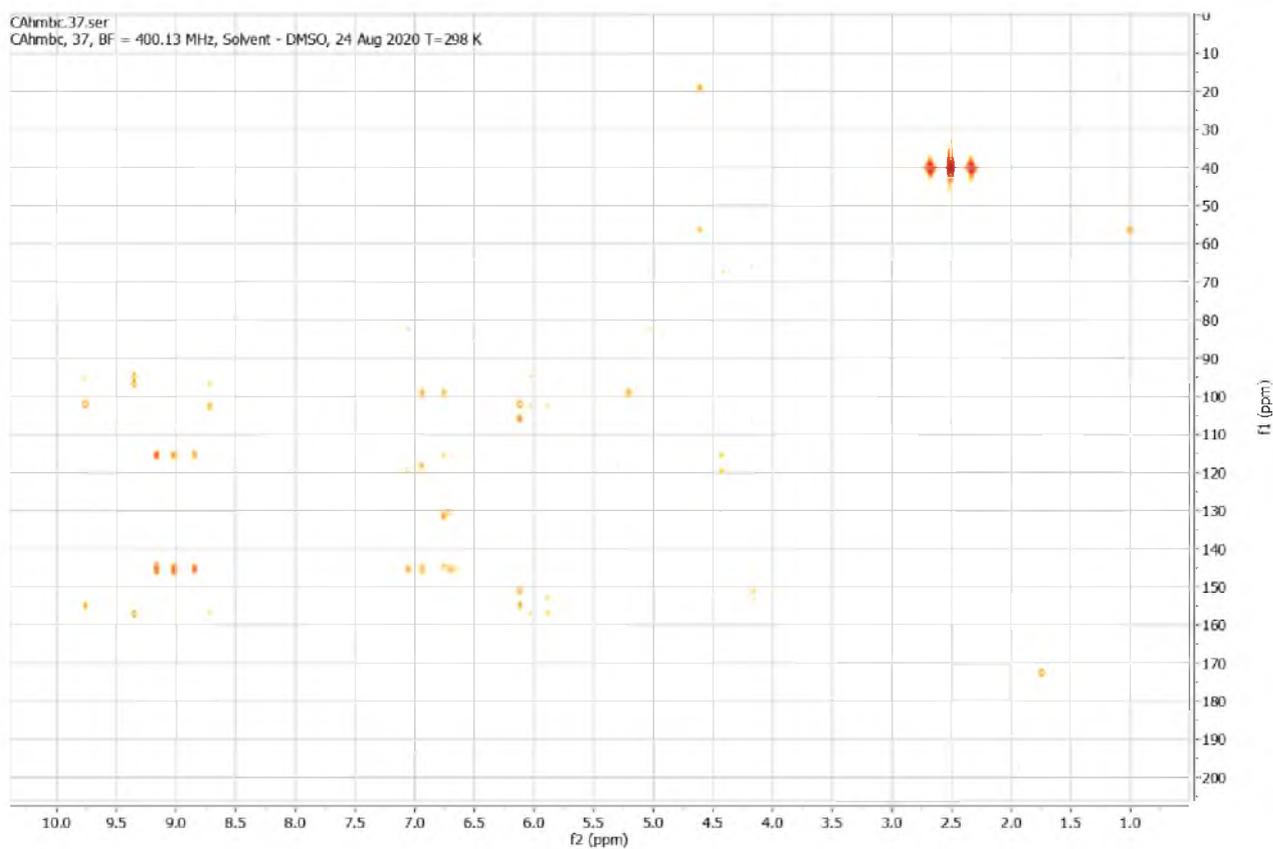
COSY



NOESY

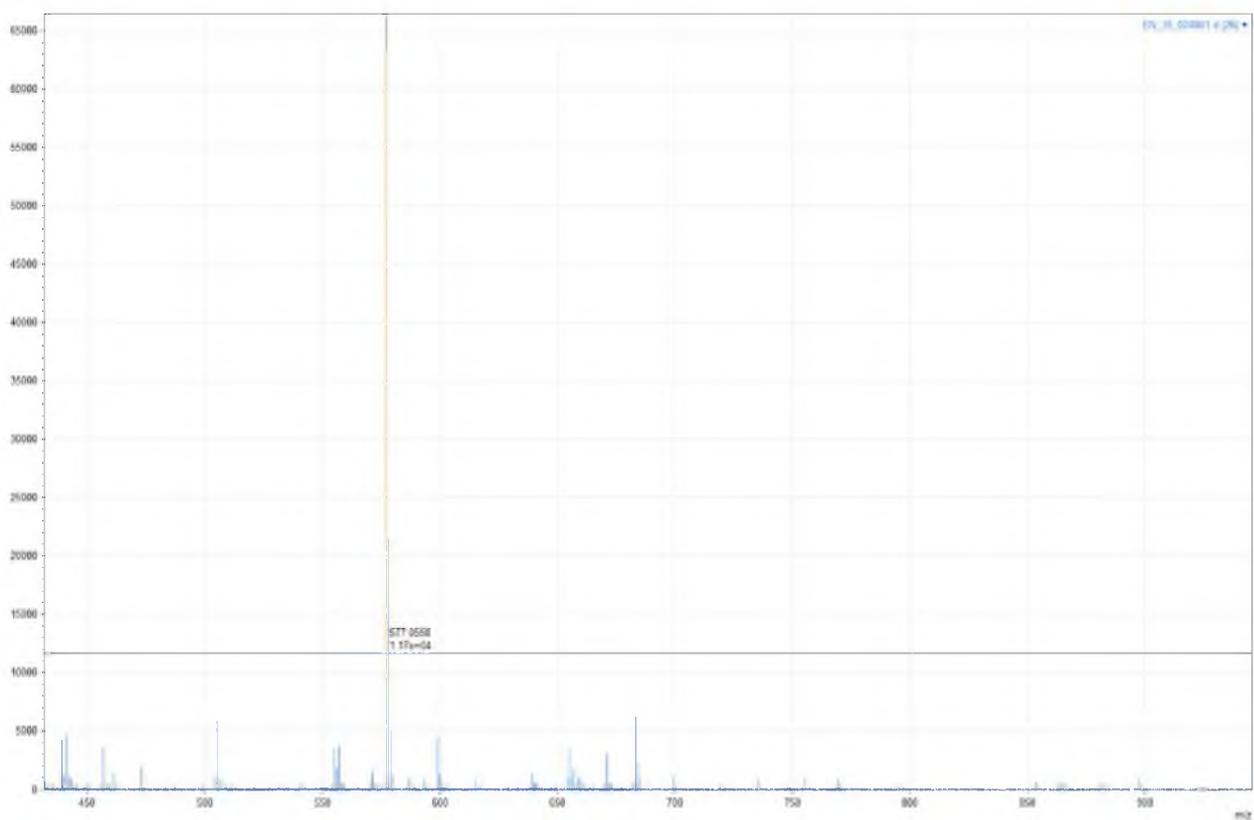


HMBC



7) Масс-спектр:

$[M+H]^+$ m/z 577.13459 (calc. 577.1346)



СПРАВОЧНО:

1) Группа соединений: конденсированные танины

2) Масса: 3,58 мг

3) Статус: ранее неизвестное для растения

4) Прогноз фармакологической активности Way2Drug

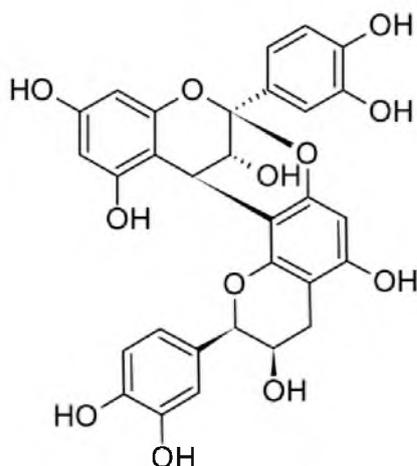
Pa	Pi	Activity
0,975	0,002	Membrane integrity agonist
0,954	0,002	cAMP-dependent protein kinase alpha catalytic subunit inhibitor
0,950	0,004	Neuroprotector
0,894	0,002	Histidine kinase inhibitor
0,893	0,001	cAMP-dependent protein kinase beta catalytic subunit inhibitor
0,868	0,005	Antineurotoxic
0,863	0,010	Estrogen-related receptor alpha agonist
0,854	0,002	Pectate lyase inhibitor
0,852	0,003	Protein kinase A inhibitor
0,843	0,001	Vasoprotector
0,841	0,002	3-Oxoacyl-[acyl-carrier-protein] reductase inhibitor
0,837	0,003	IRS1 expression inhibitor
0,839	0,006	APOB expression inhibitor
0,780	0,005	Fibrinolytic
0,772	0,004	Histamine release inhibitor
0,773	0,007	Anticarcinogenic
0,757	0,003	Cytoprotectant
0,747	0,003	Free radical scavenger
0,750	0,007	APOA1 expression enhancer
0,741	0,005	Chemopreventive
0,736	0,004	Antimutagenic
0,732	0,003	Chemoprotective
0,729	0,003	Carbonyl reductase [NADPH] inhibitor
0,717	0,004	Hepatoprotectant
0,708	0,004	Proliferative diseases treatment
0,704	0,004	Antioxidant

ПАСПОРТ СУБСТАНЦИИ EN37

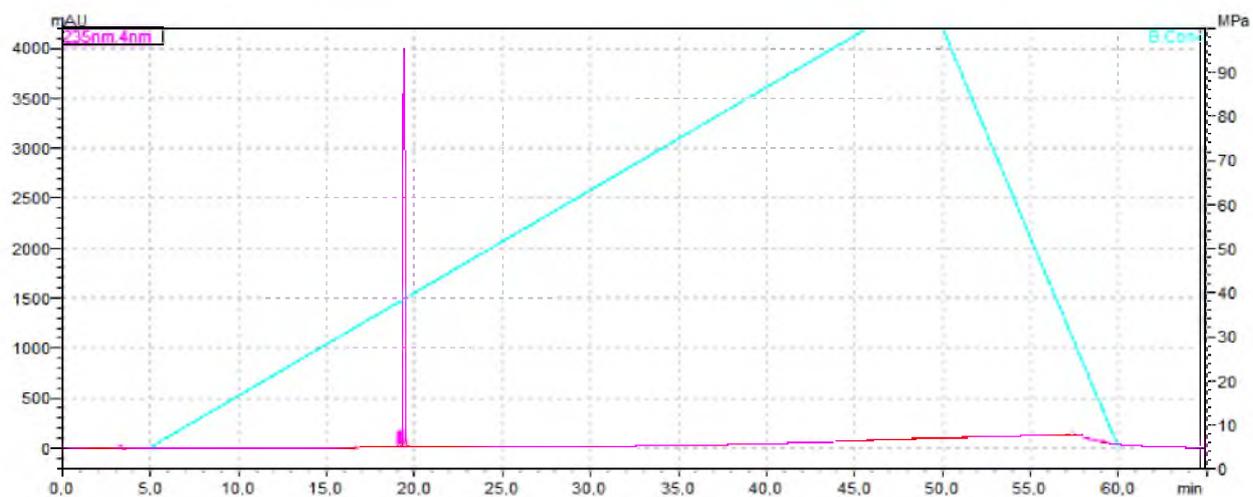
1) Шифр субстанции: EN37

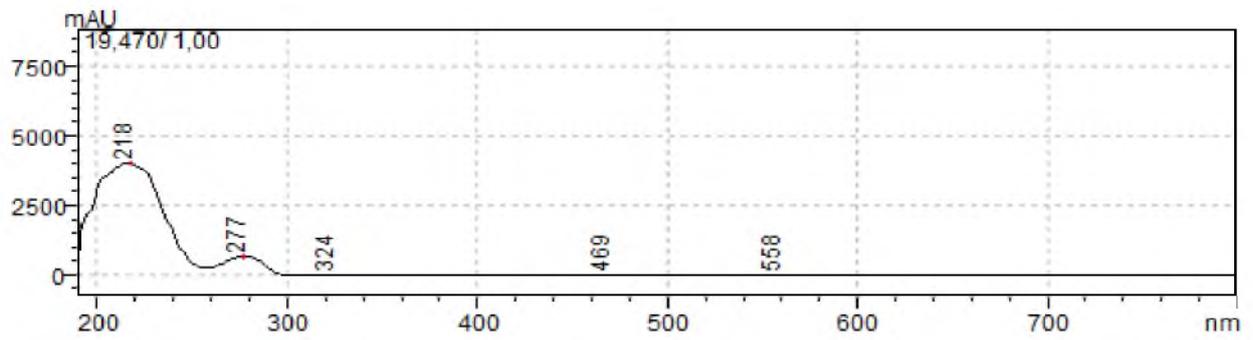
2) Название соединения: эпикатехин-(2 β →O→7, 4 β →8)-эпикатехин
(Процианидин A2)

3) Формула соединения:

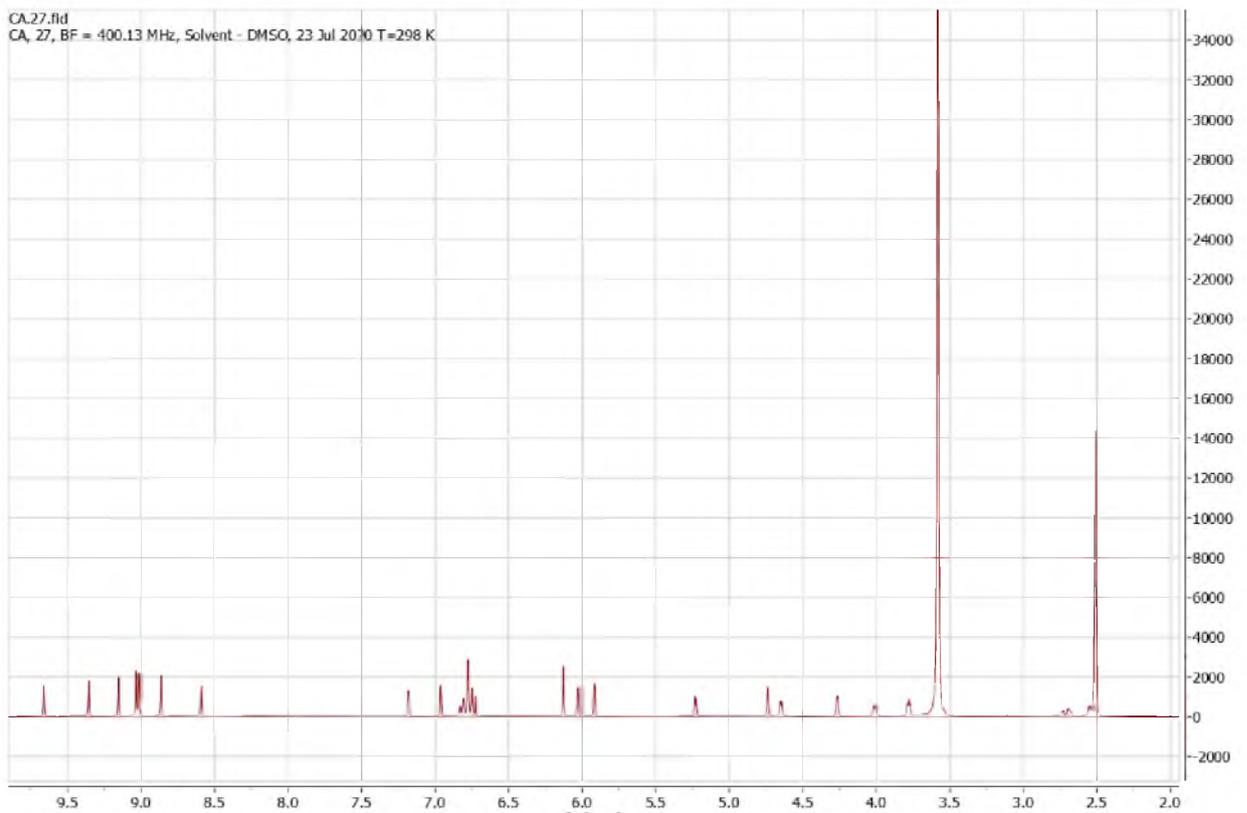


4) ВЭЖХ-спектр:

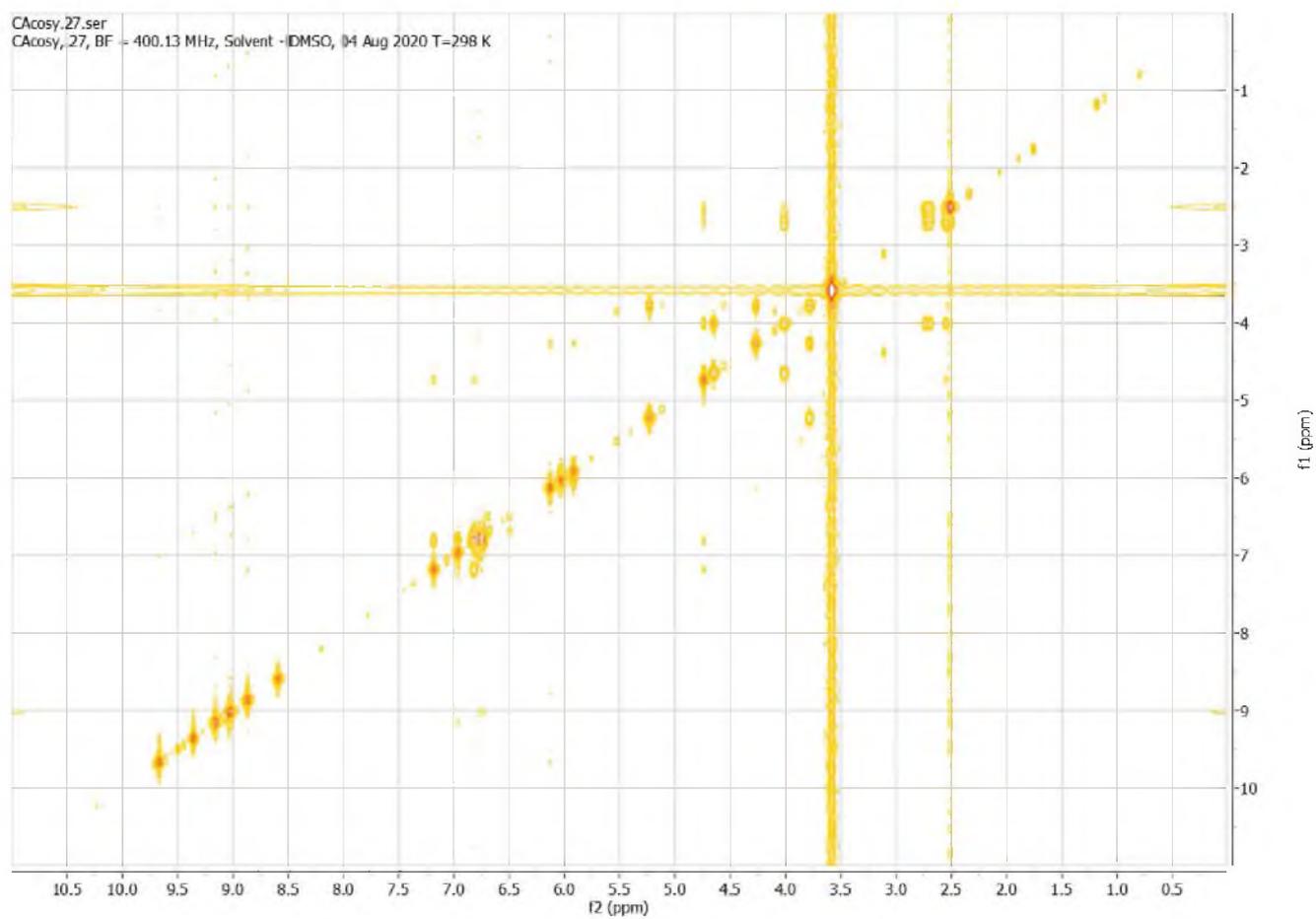


5) УФ-спектр:

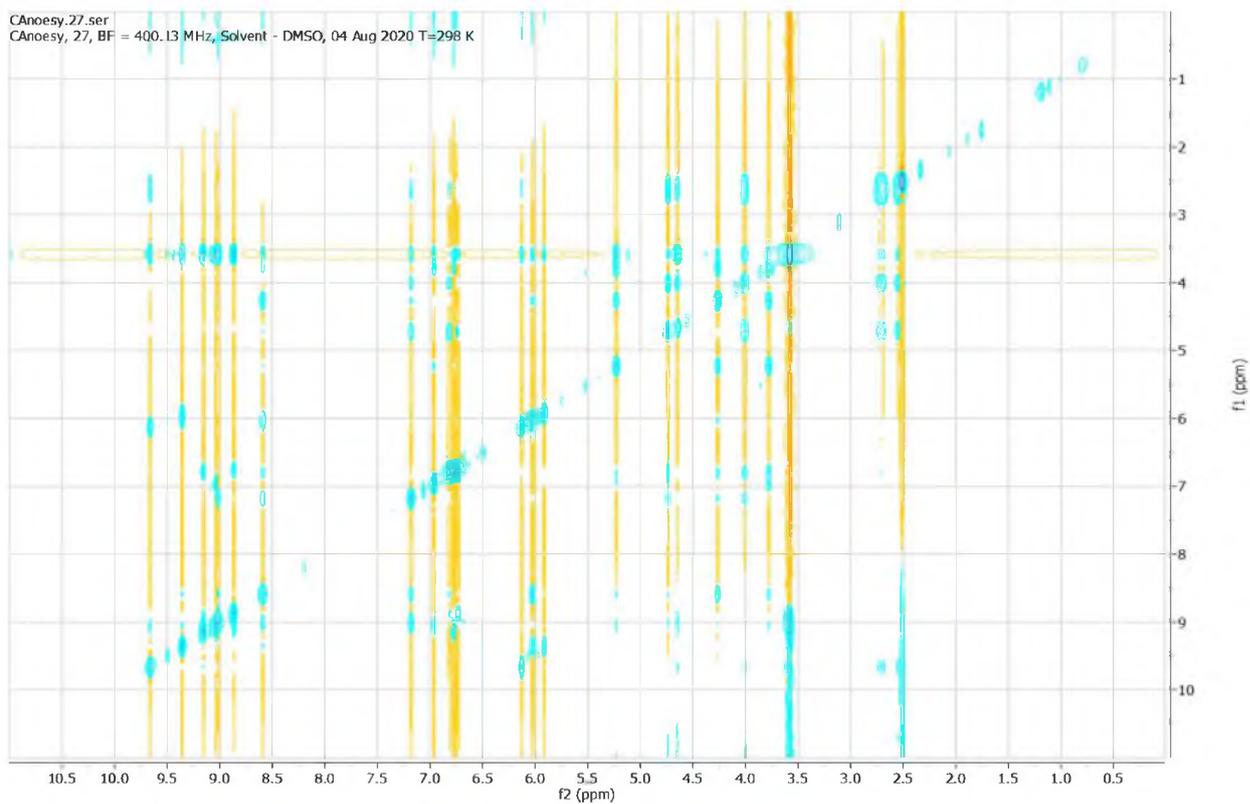
Максимумы УФ-поглощения: (218), 277 нм

6) ЯМР-спектры: **^1H ЯМР**

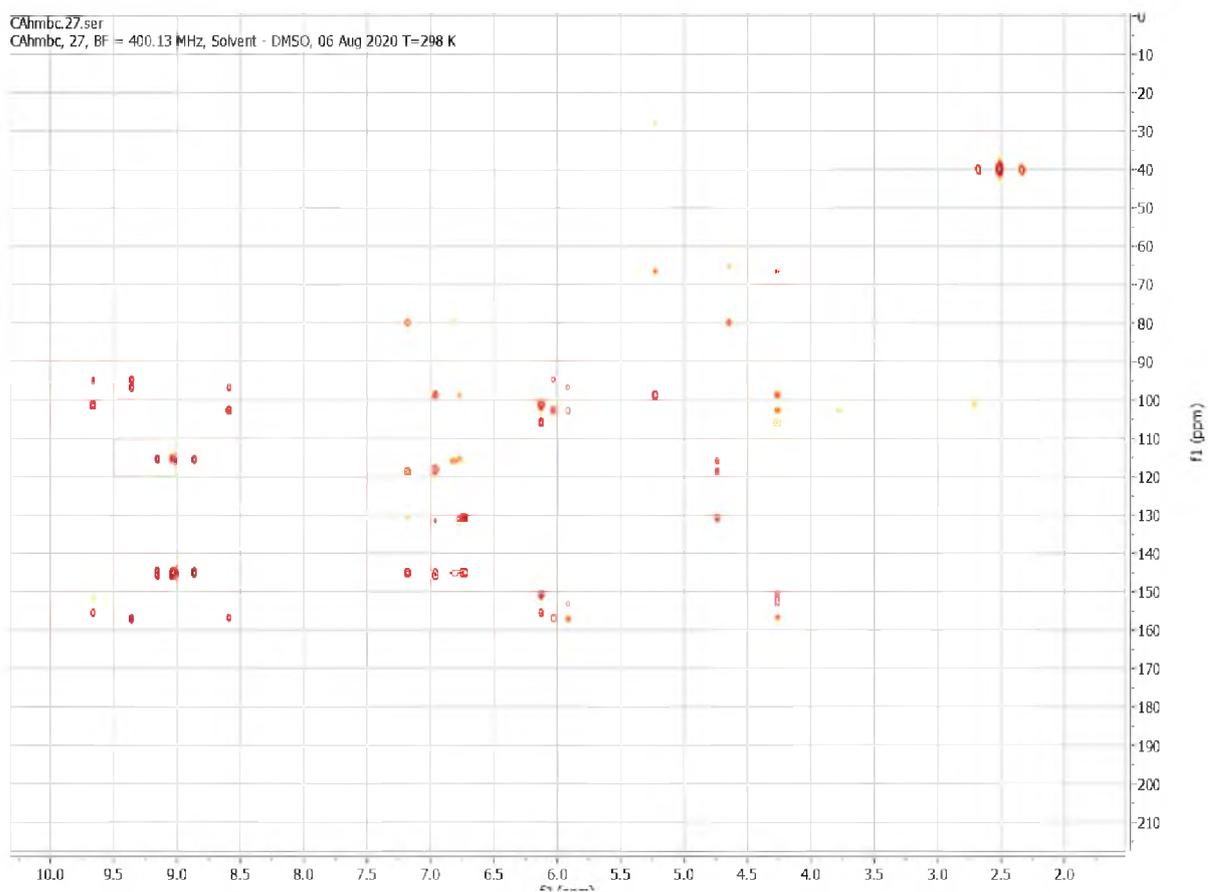
COSY



NOESY

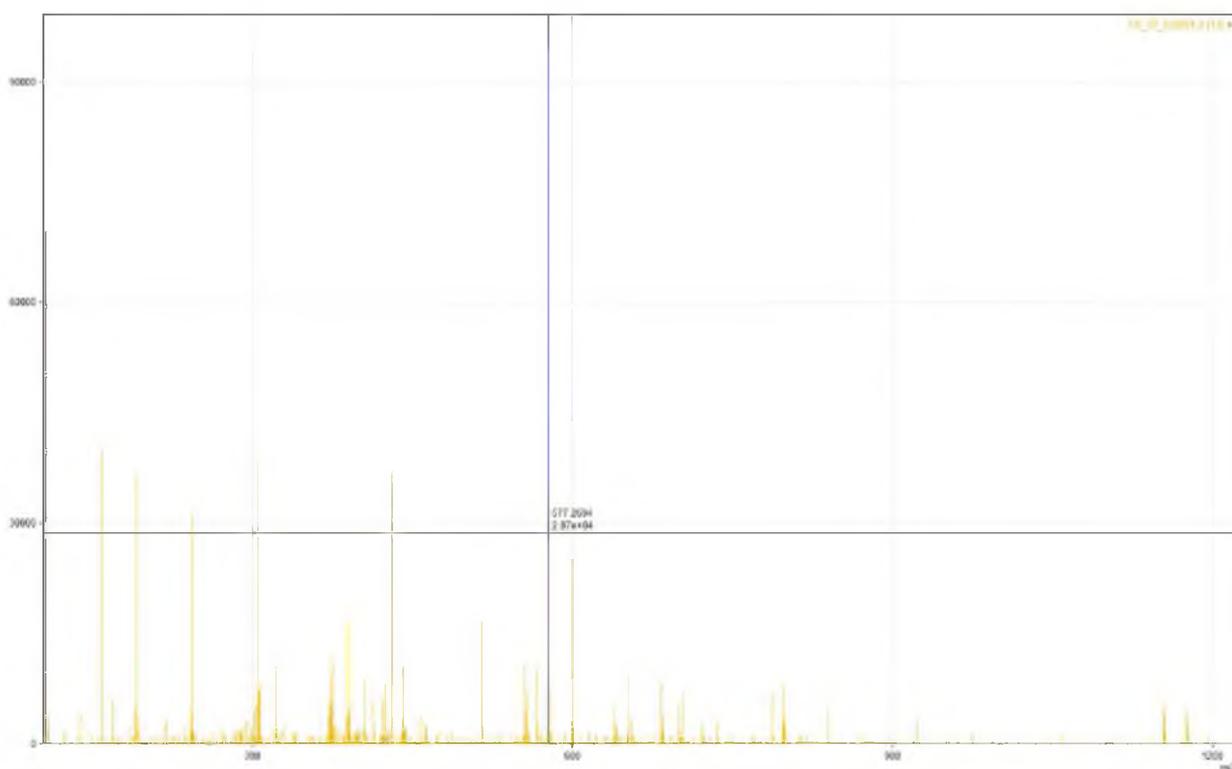


HMBC



7) Масс-спектр:

$[M+H]^+$ m/z 577,13458 (calc. 577.1346)



СПРАВОЧНО:

1) Группа соединений: конденсированные танины

2) Масса: 24,68 мг

3) Статус: ранее неизвестное для растения

4) Прогноз фармакологической активности Way2Drug

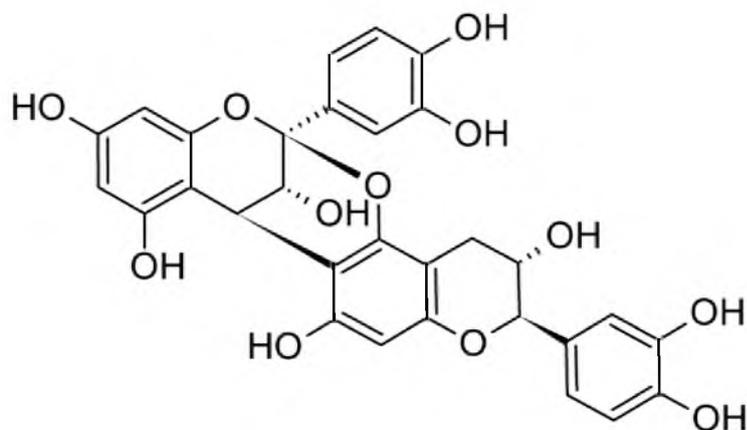
Pa	Pi	Activity
0,975	0,002	Membrane integrity agonist
0,954	0,002	cAMP-dependent protein kinase alpha catalytic subunit inhibitor
0,950	0,004	Neuroprotector
0,894	0,002	Histidine kinase inhibitor
0,893	0,001	cAMP-dependent protein kinase beta catalytic subunit inhibitor
0,868	0,005	Antineurotoxic
0,863	0,010	Estrogen-related receptor alpha agonist
0,854	0,002	Pectate lyase inhibitor
0,852	0,003	Protein kinase A inhibitor
0,843	0,001	Vasoprotector
0,841	0,002	3-Oxoacyl-[acyl-carrier-protein] reductase inhibitor
0,837	0,003	IRS1 expression inhibitor
0,839	0,006	APOB expression inhibitor
0,780	0,005	Fibrinolytic
0,772	0,004	Histamine release inhibitor
0,773	0,007	Anticarcinogenic
0,757	0,003	Cytoprotectant
0,747	0,003	Free radical scavenger
0,750	0,007	APOA1 expression enhancer
0,741	0,005	Chemopreventive
0,736	0,004	Antimutagenic
0,732	0,003	Chemoprotective
0,729	0,003	Carbonyl reductase [NADPH] inhibitor
0,717	0,004	Hepatoprotectant
0,708	0,004	Proliferative diseases treatment
0,704	0,004	Antioxidant

ПАСПОРТ СУБСТАНЦИИ EN39

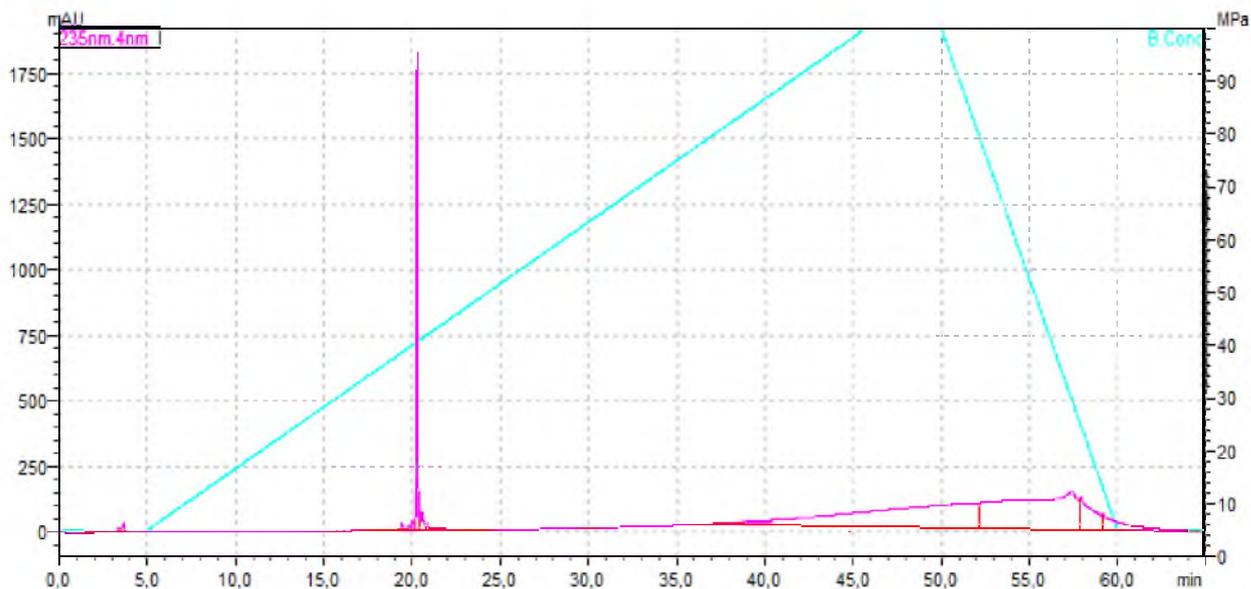
1) Шифр субстанции: EN39

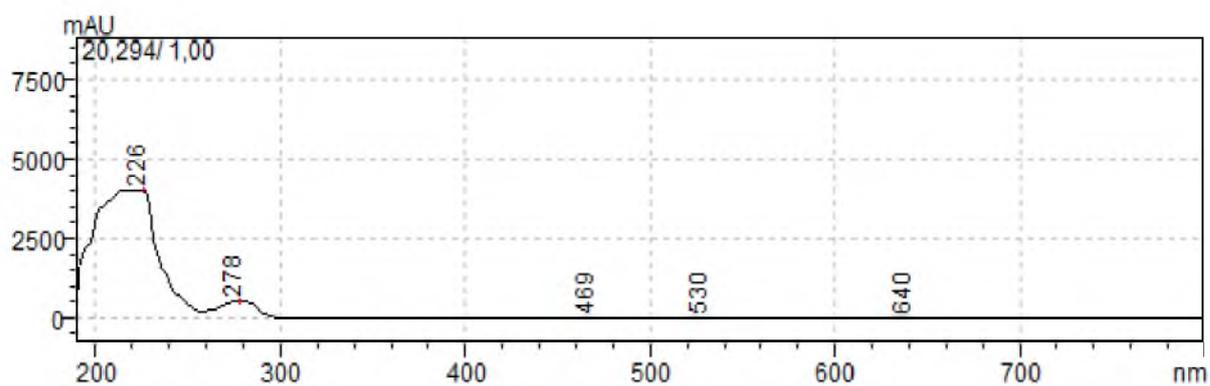
2) Название соединения: эпикатехин-(2 β →O→5, 4 β →6)-катехин

3) Формула соединения:

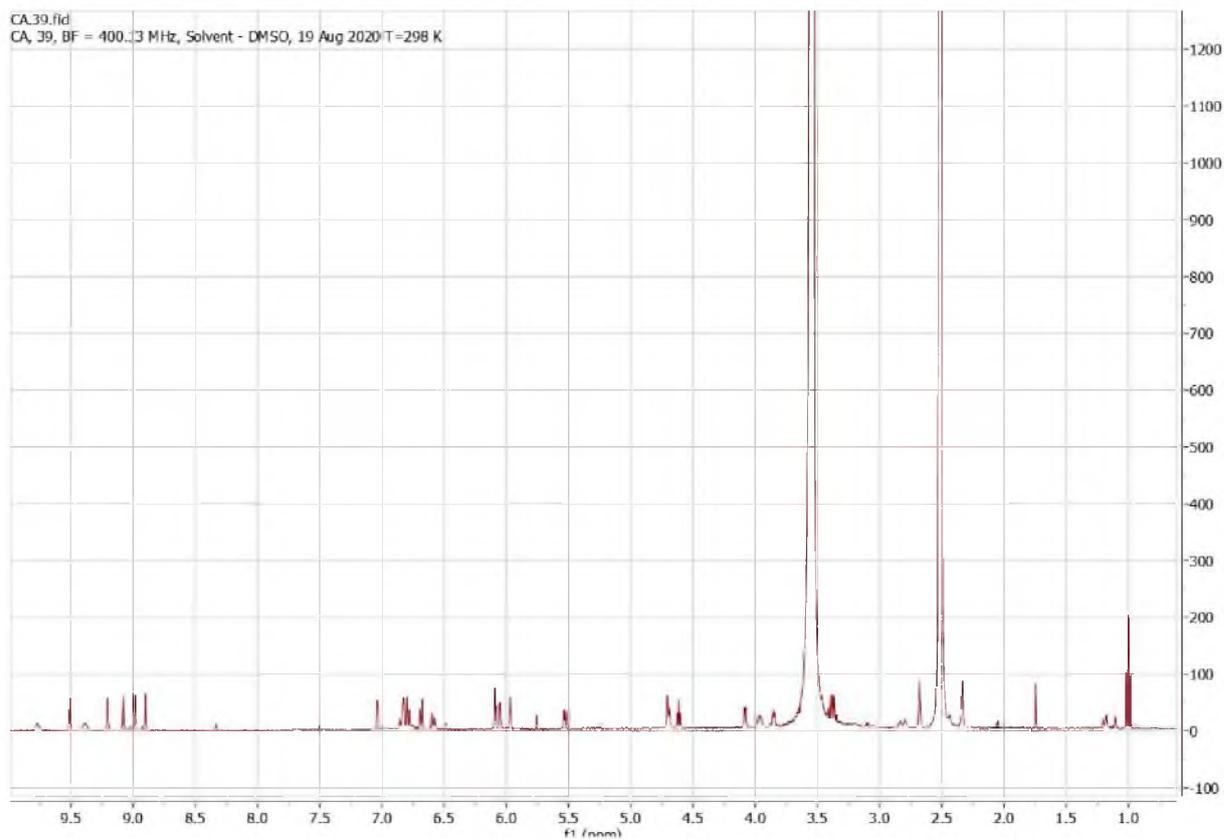


4) ВЭЖХ-спектр:

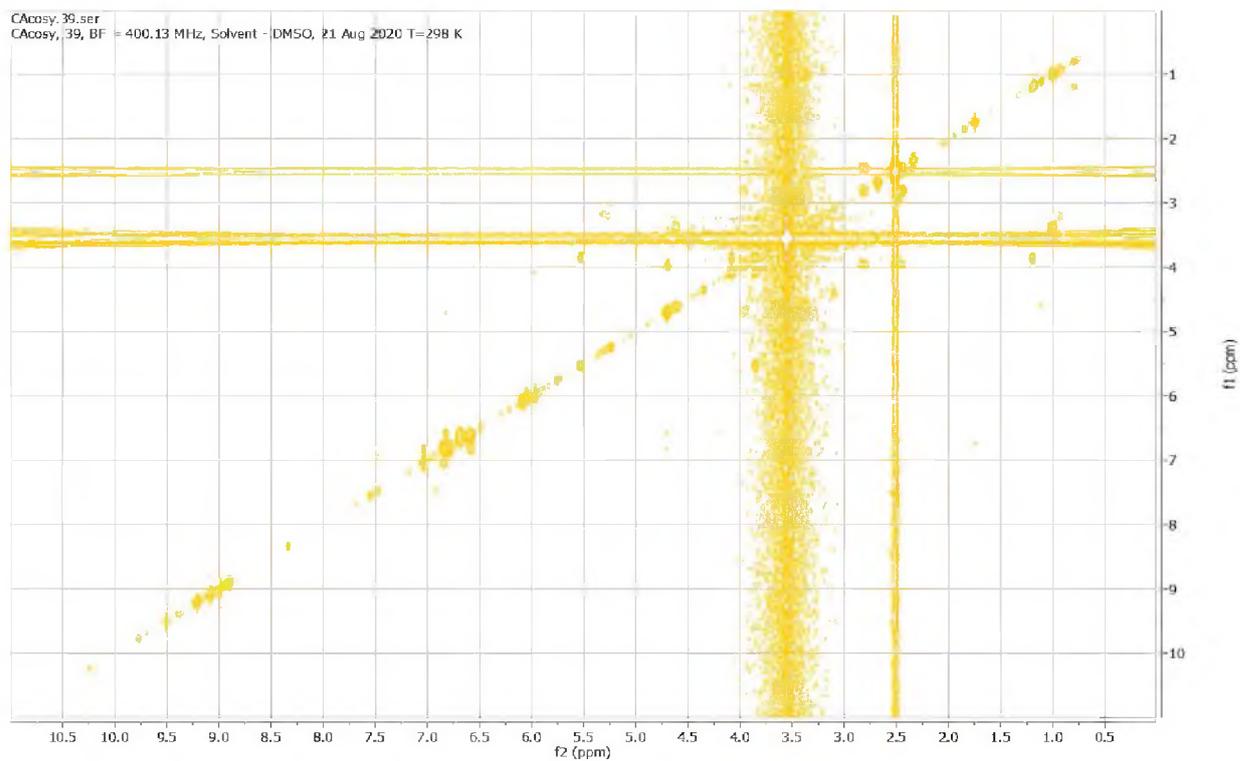


5) УФ-спектр:

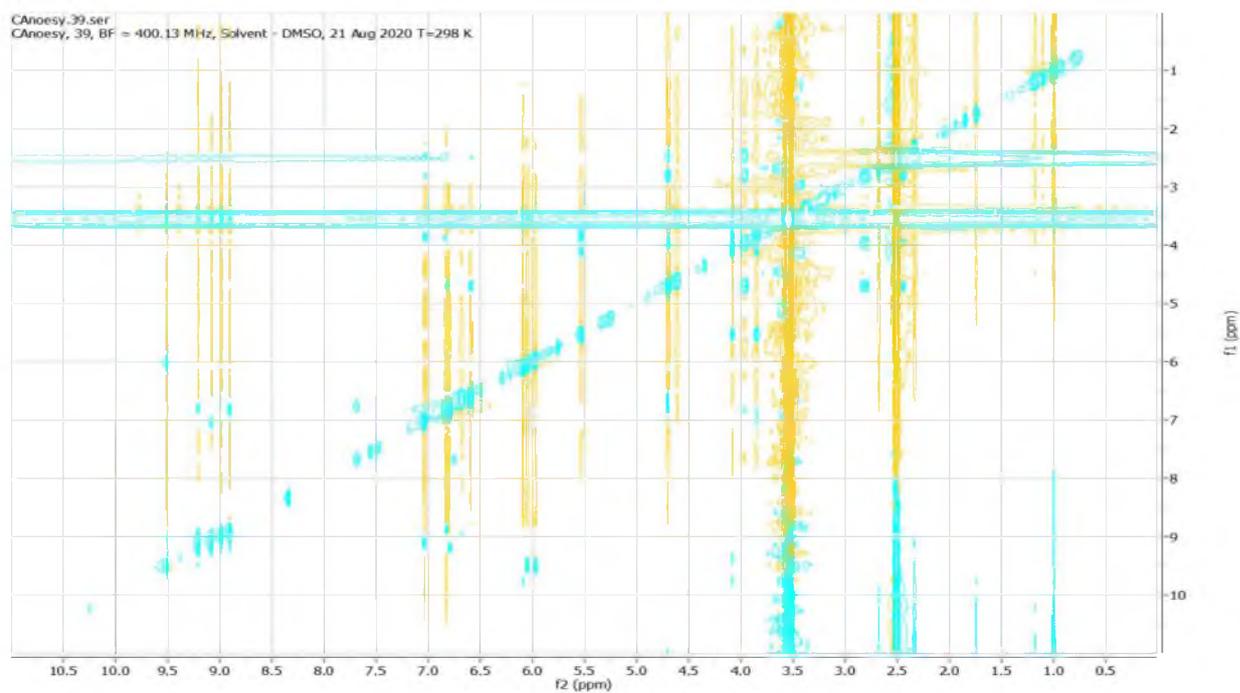
Максимумы УФ-поглощения: (226), 278 нм

6) ЯМР-спектры:**¹H ЯМР**

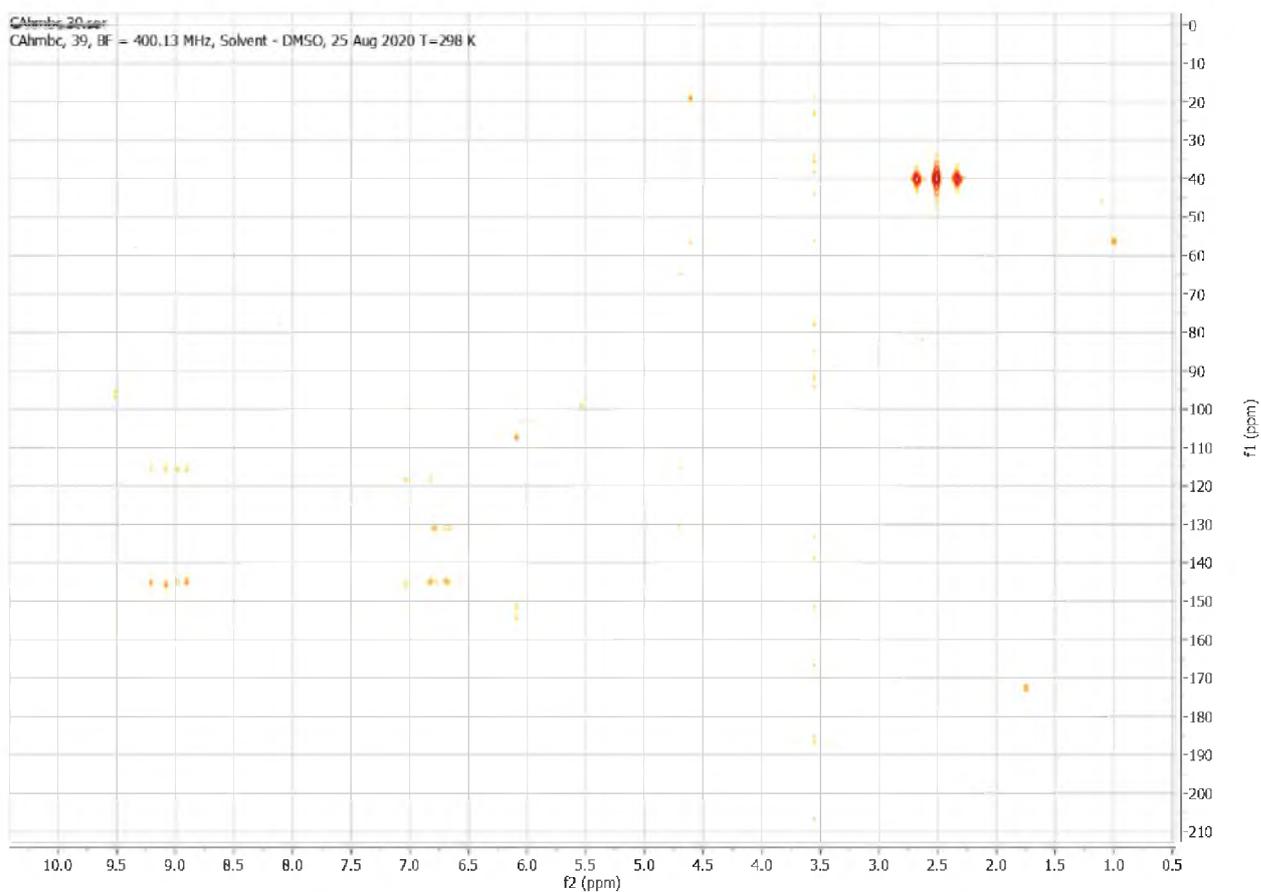
COSY



NOESY

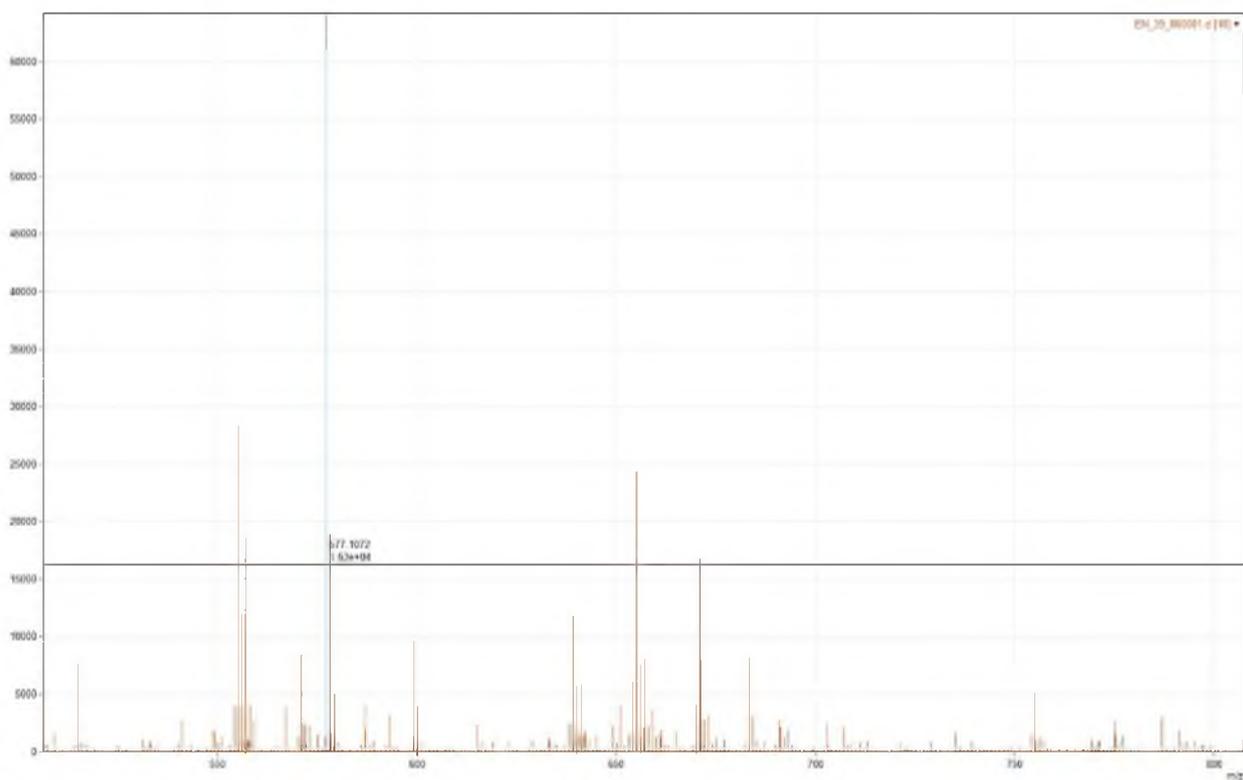


HMBC



7) Масс-спектр:

$[M+H]^+$ m/z 577,13459 (calc. 577.1346)



СПРАВОЧНО:**1) Группа соединений:** конденсированные танины**2) Масса:** 1,6 мг**3) Статус:** ранее неизвестное для растения**4) Прогноз фармакологической активности Way2Drug**

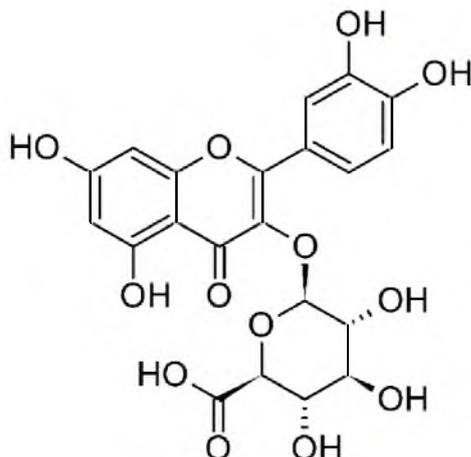
Pa	Pi	Activity
0,971	0,002	Membrane integrity agonist
0,944	0,002	cAMP-dependent protein kinase alpha catalytic subunit inhibitor
0,929	0,005	Neuroprotector
0,899	0,002	Histidine kinase inhibitor
0,887	0,004	Antineurotoxic
0,866	0,001	cAMP-dependent protein kinase beta catalytic subunit inhibitor
0,870	0,010	Estrogen-related receptor alpha agonist
0,862	0,005	APOB expression inhibitor
0,834	0,001	Vasoprotector
0,833	0,002	Pectate lyase inhibitor
0,831	0,002	L-pipecolate oxidase inhibitor
0,821	0,002	3-Oxoacyl-[acyl-carrier-protein] reductase inhibitor
0,801	0,006	Anticarcinogenic
0,791	0,003	Protein kinase A inhibitor
0,772	0,006	APOA1 expression enhancer
0,765	0,004	Chemopreventive
0,760	0,008	Fibrinolytic
0,743	0,004	Histamine release inhibitor
0,730	0,004	Cytoprotectant
0,716	0,003	Free radical scavenger
0,712	0,003	Chemoprotective
0,707	0,003	Carbonyl reductase [NADPH] inhibitor

ПАСПОРТ СУБСТАНЦИИ RC4

1) Шифр субстанции: RC4

2) Название соединения: Кверцетин-3-О-β-D-глюкуронид (миквелианин)

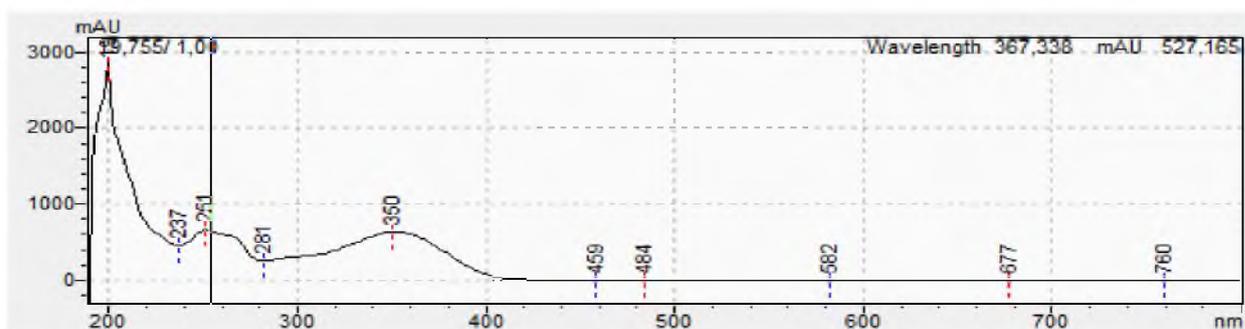
3) Структурная формула соединения:



4) ВЭЖХ:

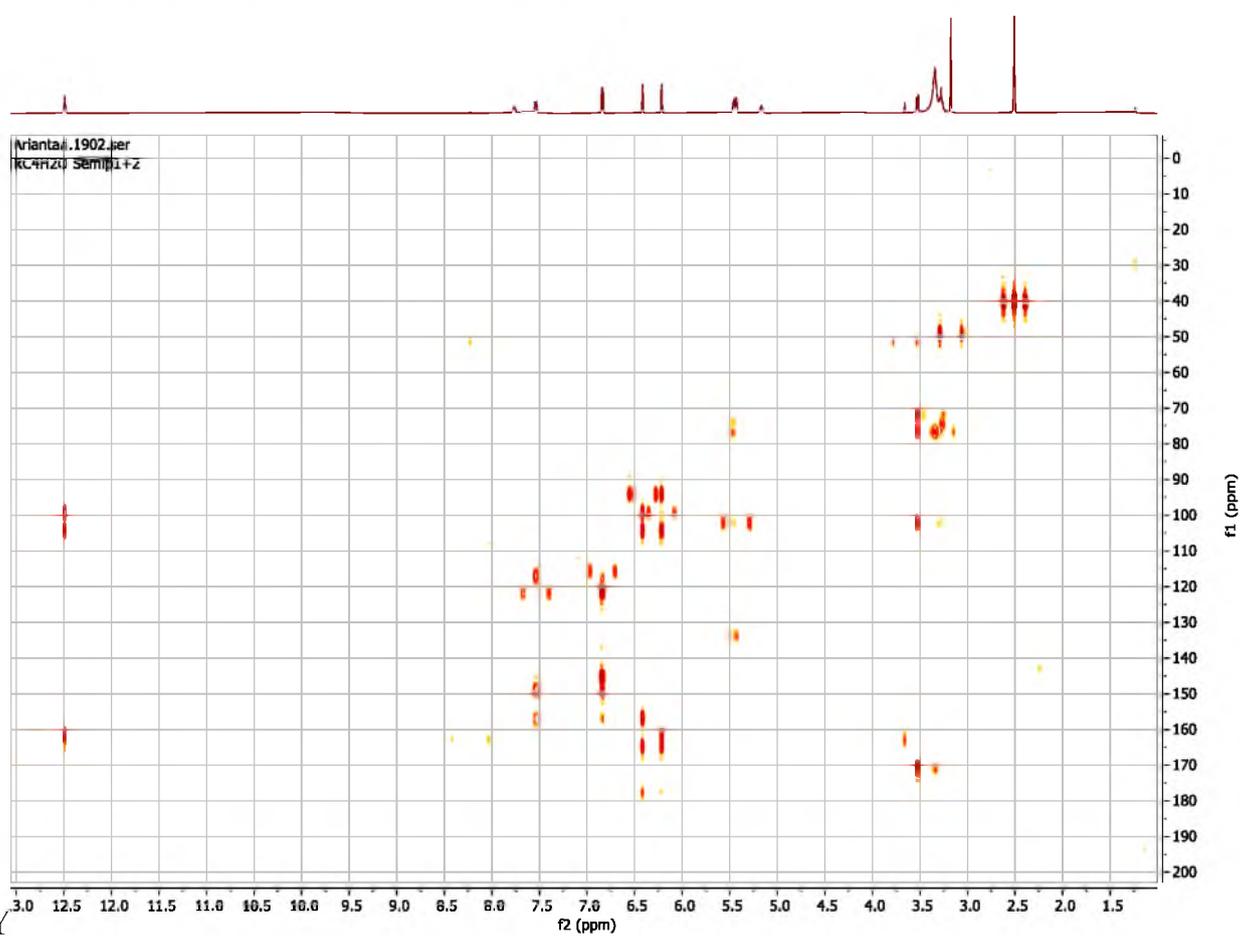
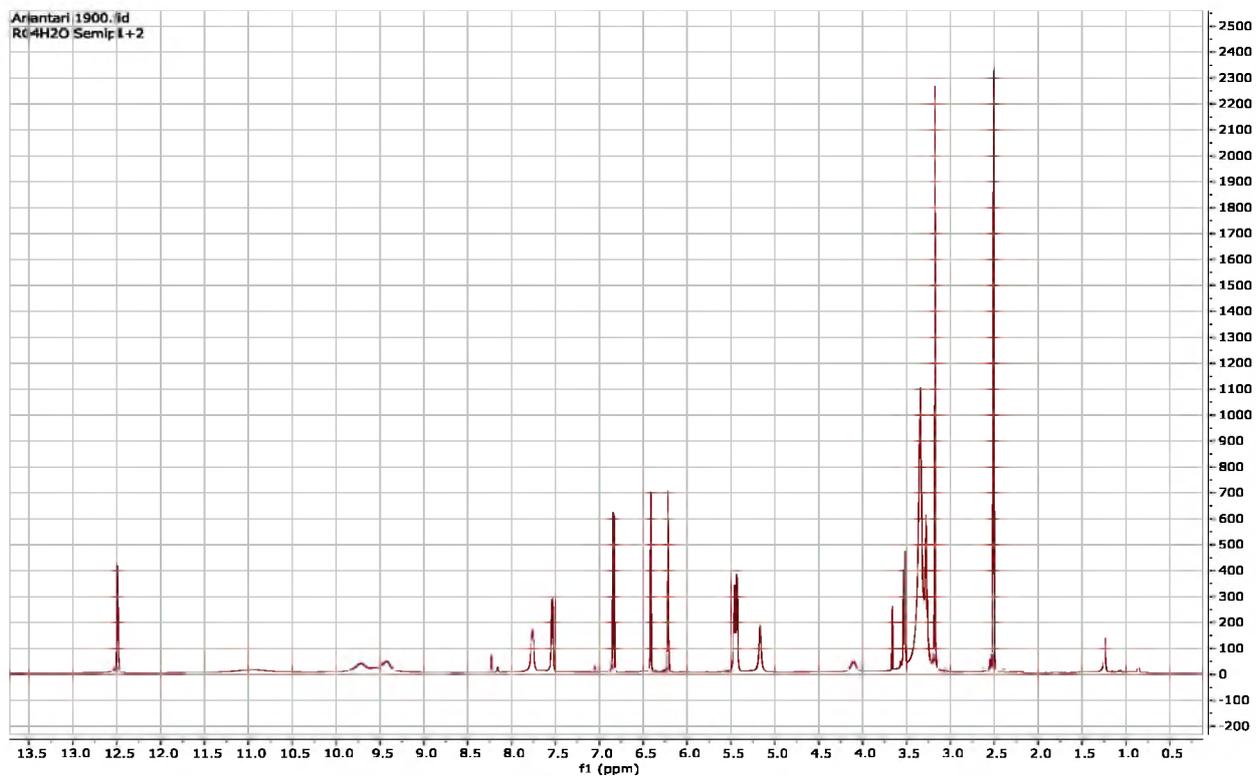


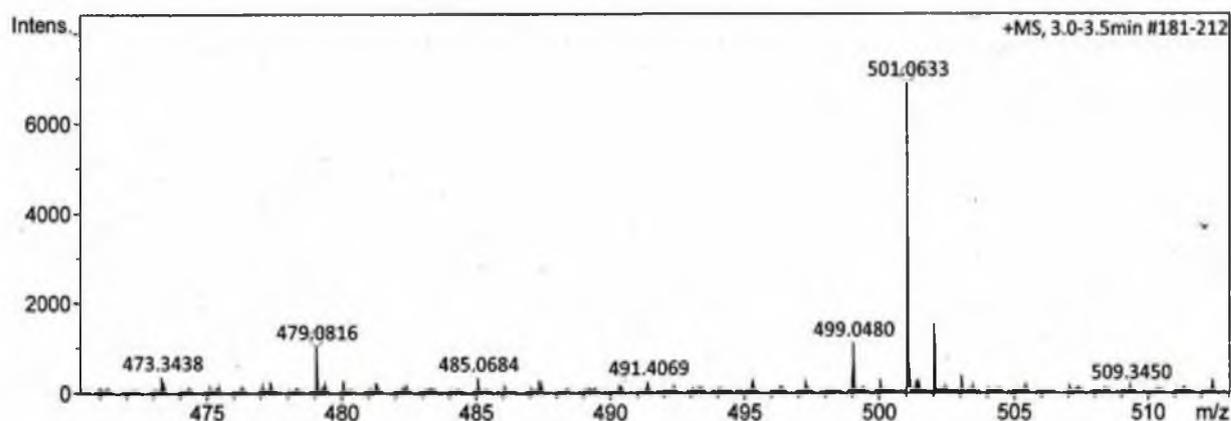
5) УФ-спектр:



Максимумы УФ-поглощения: 251, 350 нм

6) ЯМР-спектры:

 ^1H 

7) Масс-спектр:[M+H⁺] *m/z* 479.0820 (calc. 479.0826)**СПРАВОЧНО:****1) Группа соединений:** производные гликозидов глюкуроновых кислот**2) Масса:** 2,27 мг**3) Статус:** ранее известен для растения**4) Прогноз фармакологической активности Way2Drug**

Pa	Pi	Activity
0,983	0,001	UGT1A9 substrate
0,981	0,002	Hypoglycemic
0,979	0,004	Alpha-glucosidase inhibitor
0,976	0,001	Antimutagenic
0,976	0,001	Genotoxic
0,975	0,003	Mutagenic
0,972	0,001	Monophenol monooxygenase inhibitor
0,961	0,002	Lipid peroxidase inhibitor
0,959	0,002	Chemopreventive
0,949	0,001	UGT1A1 substrate
0,949	0,003	Carcinogenic
0,944	0,003	TNF expression inhibitor
0,937	0,001	Cystathionine beta-synthase inhibitor
0,939	0,003	Antioxidant
0,935	0,002	Skin whitener
0,935	0,001	Amylase inhibitor
0,927	0,002	Proliferative diseases treatment
0,926	0,002	Sulfotransferase substrate
0,925	0,002	NOS2 expression inhibitor
0,923	0,003	UDP-glucuronosyltransferase substrate
0,918	0,003	Antihypercholesterolemic

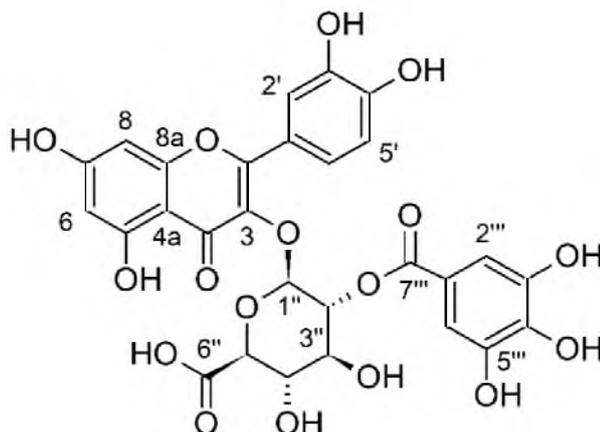
0,909	0,002	Antihypoxic
0,906	0,003	Free radical scavenger
0,905	0,002	Histamine release inhibitor
0,903	0,003	Radioprotector
0,898	0,006	Transcription factor NF kappa B inhibitor
0,890	0,001	Antihemorrhagic
0,889	0,004	Spasmolytic
0,881	0,003	UGT1A6 substrate
0,874	0,003	Cardioprotectant
0,868	0,005	CYP2C9 substrate
0,867	0,004	Cytostatic
0,865	0,008	Antiinflammatory
0,853	0,003	Vasodilator, coronary
0,850	0,009	Apoptosis agonist
0,820	0,005	Cyclophilin D inhibitor
0,820	0,005	Antidiabetic
0,800	0,005	Caspase 9 stimulant
0,796	0,004	NOS3 expression inhibitor
0,801	0,010	Teratogen
0,792	0,006	Respiratory analeptic
0,781	0,004	Antithrombotic
0,776	0,002	Antihypotensive
0,783	0,011	Embryotoxic
0,771	0,004	Angiogenesis stimulant
0,765	0,004	Antihypertriglyceridemic
0,758	0,004	Vascular (periferal) disease treatment
0,756	0,005	Antibacterial
0,747	0,002	Carbonic anhydrase XIII inhibitor
0,747	0,004	AR expression inhibitor
0,743	0,003	Ulceration
0,753	0,014	CYP3A4 substrate
0,733	0,003	Antidote
0,735	0,006	CTGF expression inhibitor
0,718	0,005	Hepatic disorders treatment
0,716	0,004	Hypoxia inducible factor 1 alpha inhibitor

ПАСПОРТ СУБСТАНЦИИ RC5

1) Шифр субстанции: RC5

2) Название соединения: кверцетин-3-О-β-D-2'''-галлоилглюкуронид
(2'''-галлоилмиквелианин)

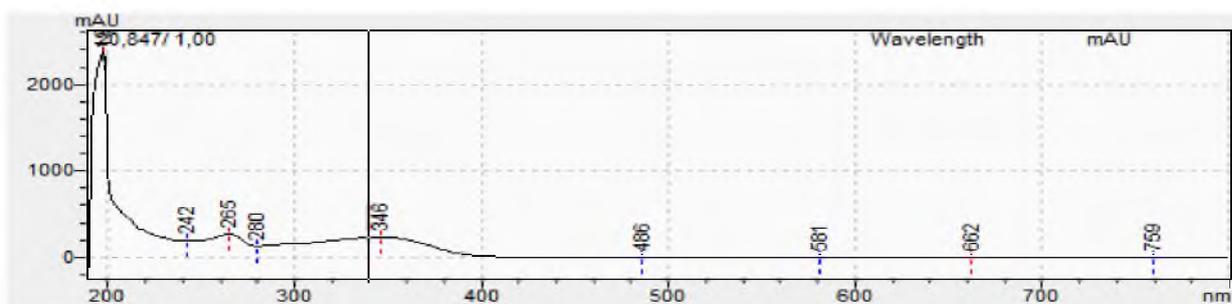
3) Формула соединения:



4) ВЭЖХ-спектр:

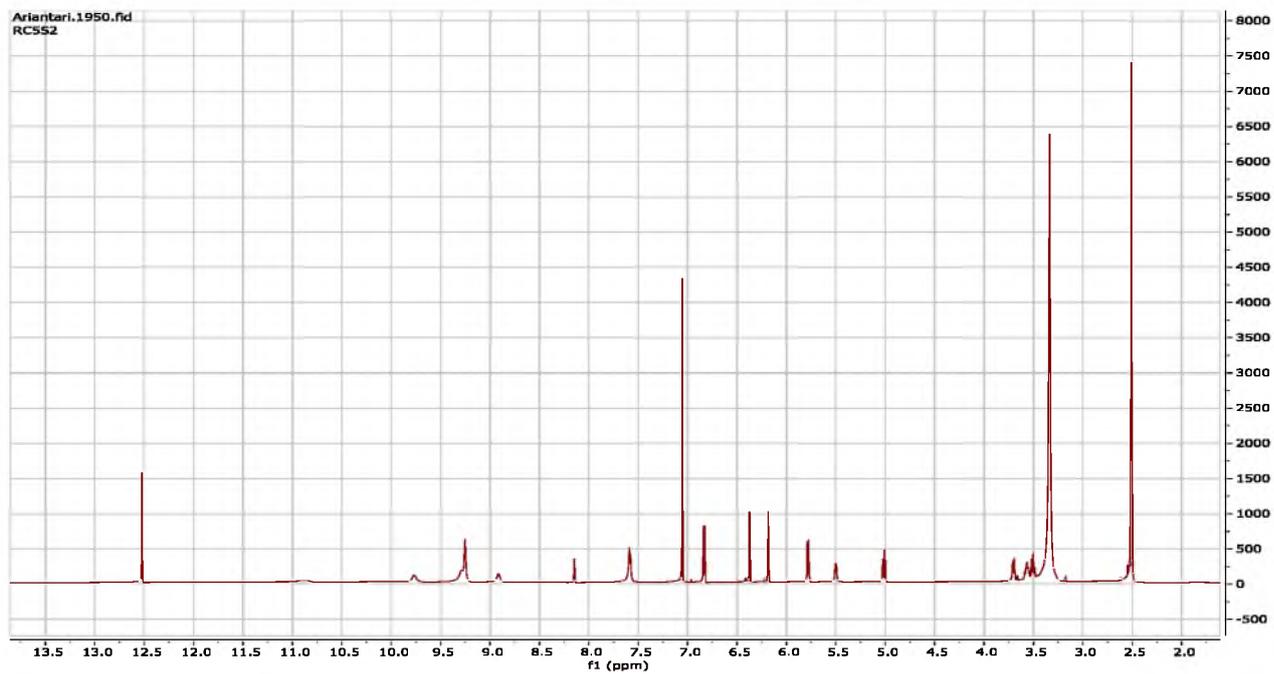


5) УФ-спектр:

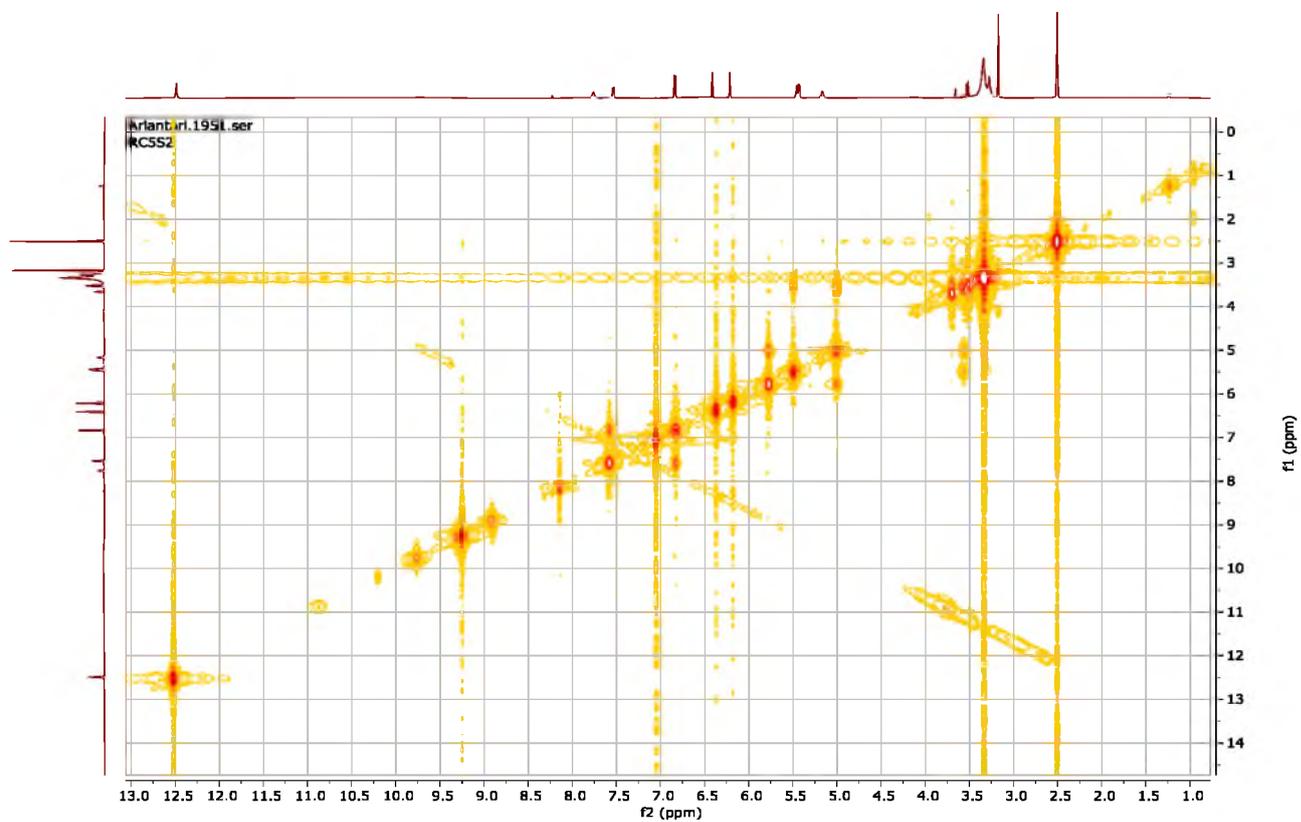


Максимумы УФ-поглощения: 265, 346 нм

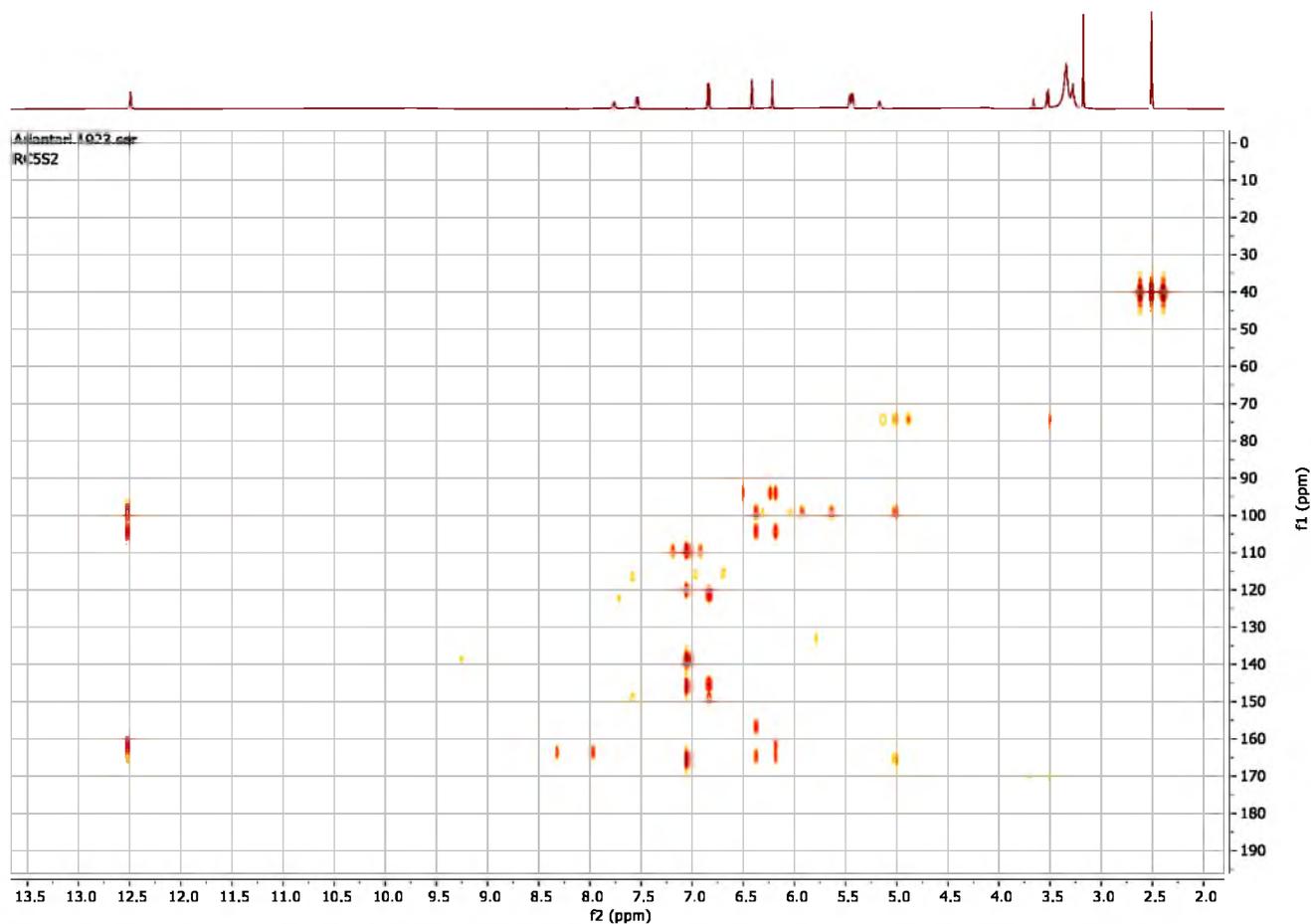
6) ЯМР-спектры:

 ^1H 

COSY

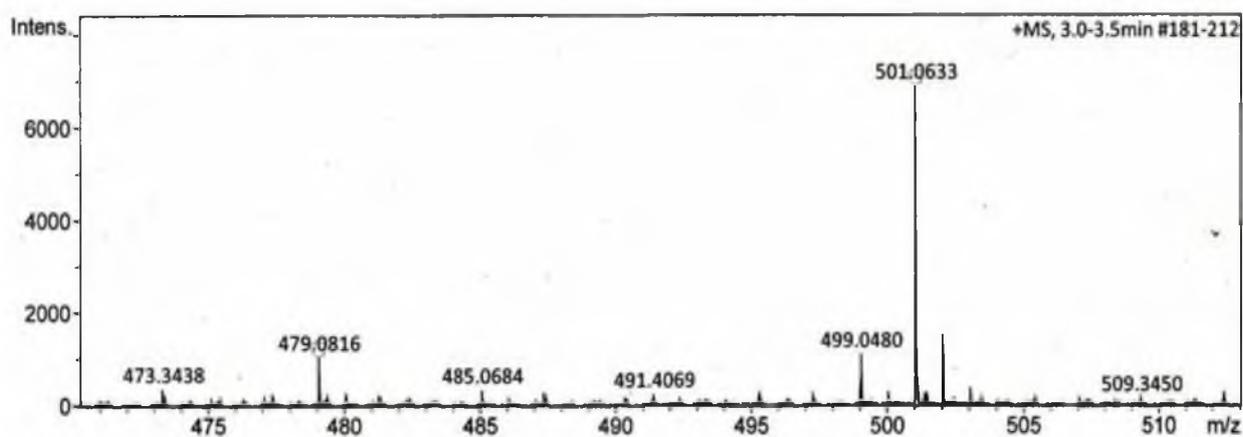


HMBC



7) Масс-спектр:

$[\text{M}+\text{H}^+]$ m/z 631.09347 (calc. 631.0935)



СПРАВОЧНО:

1) Группа соединений: производные гликозидов глюкуроновых кислот

2) Масса: 11 мг

3) Статус: ранее неизвестное для растения

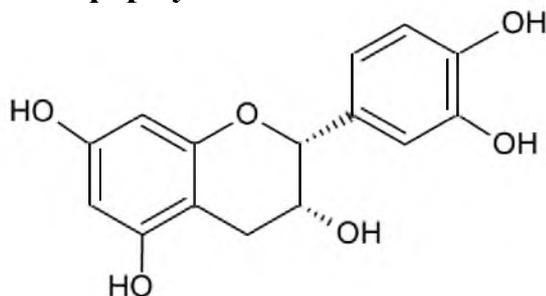
4) Прогноз фармакологической активности Way2Drug

Pa	Pi	Activity
0,990	0,004	Alpha-glucosidase inhibitor
0,987	0,001	UGT1A9 substrate
0,987	0,001	Lipid peroxidase inhibitor
0,982	0,002	Hypoglycemic
0,977	0,001	Genotoxic
0,974	0,001	Monophenol monooxygenase inhibitor
0,970	0,001	Chemopreventive
0,968	0,001	Antimutagenic
0,958	0,001	UGT1A1 substrate
0,956	0,001	Cystathionine beta-synthase inhibitor
0,954	0,003	Carcinogenic
0,951	0,004	Mutagenic
0,945	0,002	Skin whitener
0,943	0,003	TNF expression inhibitor
0,935	0,001	Amylase inhibitor
0,934	0,002	Proliferative diseases treatment
0,931	0,003	Antioxidant
0,906	0,003	Free radical scavenger
0,906	0,003	Radioprotector
0,903	0,003	Antihypercholesterolemic
0,905	0,005	Transcription factor NF kappa B inhibitor
0,884	0,003	UDP-glucuronosyltransferase substrate
0,882	0,003	UGT1A6 substrate
0,880	0,002	Antihypoxic
0,874	0,005	CYP2C9 substrate
0,867	0,004	Cytostatic
0,864	0,003	NOS2 expression inhibitor
0,864	0,004	Spasmolytic
0,857	0,002	Sulfotransferase substrate
0,859	0,008	Apoptosis agonist
0,852	0,009	Antiinflammatory
0,842	0,003	Cardioprotectant
0,815	0,003	Histamine release inhibitor
0,815	0,004	Vasodilator, coronary
0,776	0,004	CTGF expression inhibitor
0,775	0,007	Caspase 9 stimulant
0,767	0,004	NOS3 expression inhibitor
0,761	0,005	Antibacterial
0,758	0,004	Vascular (periferal) disease treatment
0,763	0,013	Teratogen
0,749	0,005	Antithrombotic
0,753	0,009	Antidiabetic
0,753	0,009	Cyclophilin D inhibitor
0,742	0,001	Antihemorrhagic

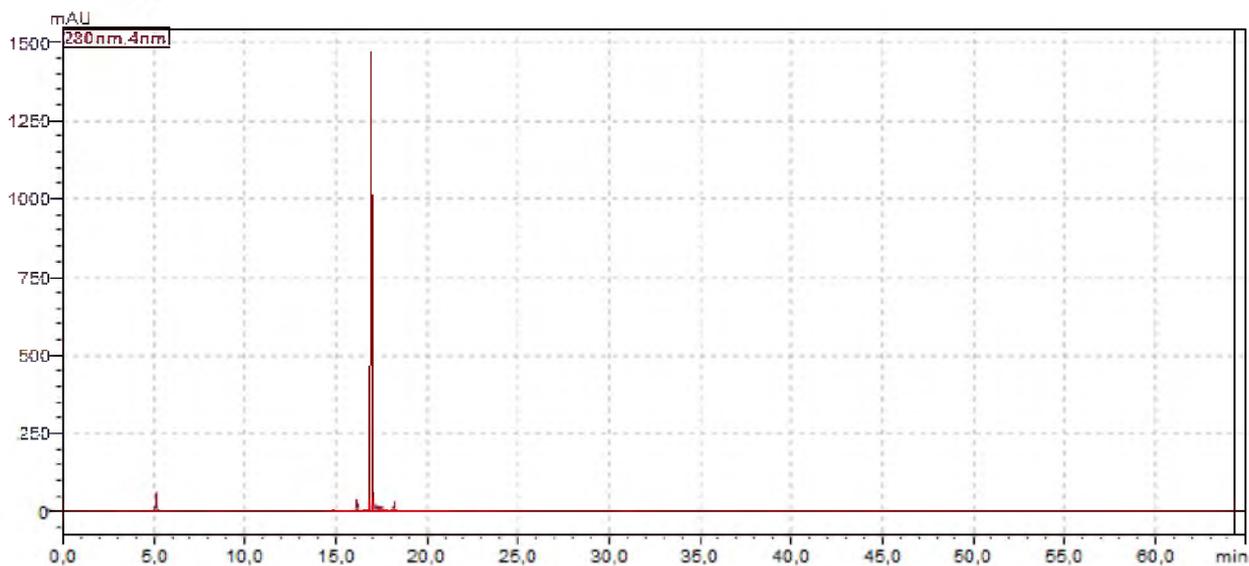
0,744	0,004	AR expression inhibitor
0,739	0,004	Antihypertriglyceridemic
0,747	0,014	Embryotoxic
0,745	0,014	CYP3A4 substrate
0,723	0,004	DNA damaging
0,719	0,004	Ulceration
0,719	0,004	Antiamyloidogenic
0,724	0,010	Respiratory analeptic

ПАСПОРТ СУБСТАНЦИИ RC6

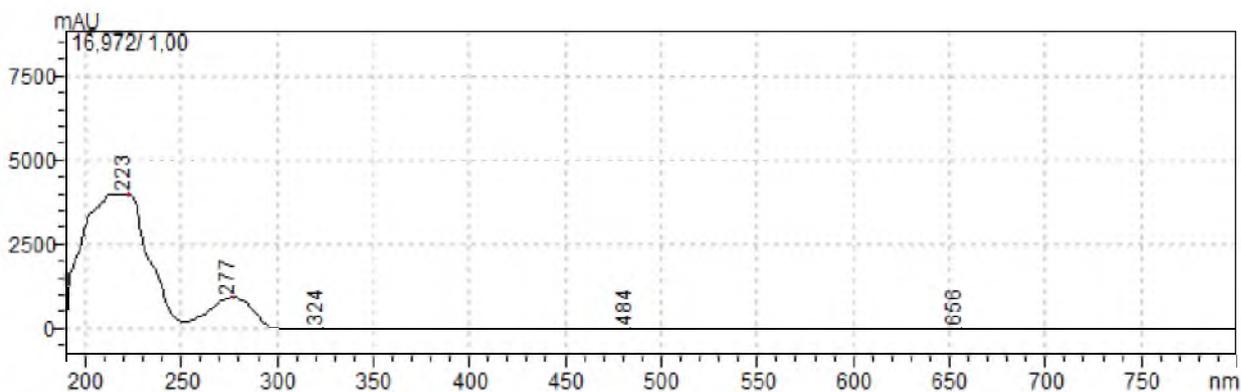
- 1) Шифр субстанции: RC6
- 2) Название соединения: (-) эпикатехин
- 3) Химическая формула:



4) ВЭЖХ:

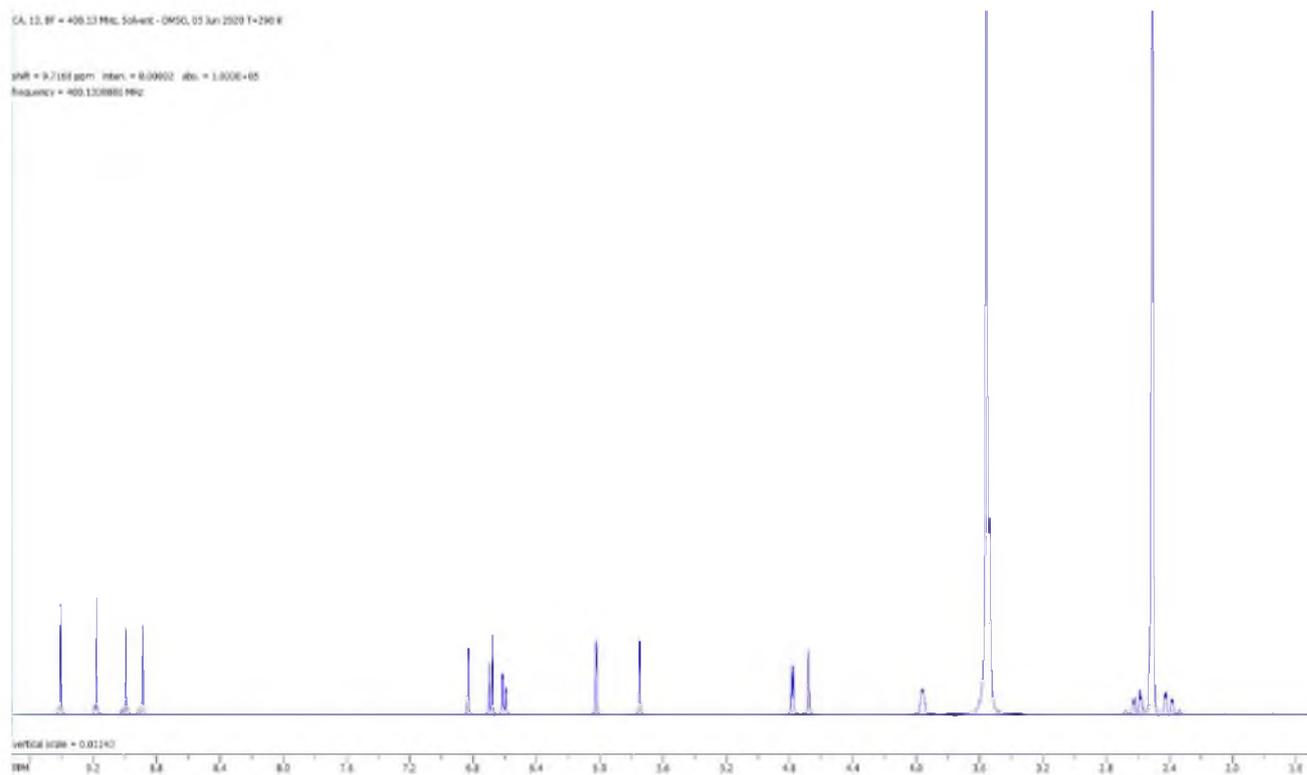


5) УФ-спектр:

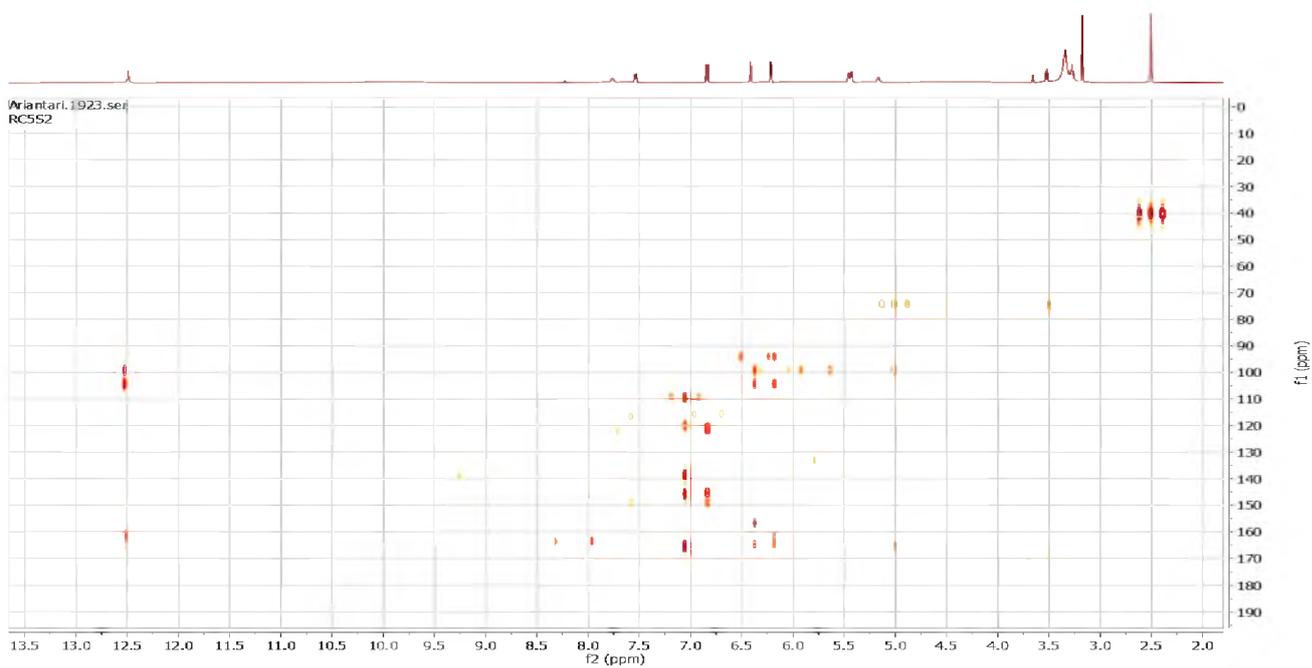


Максимумы УФ-поглощения: 223,277 нм

6) ЯМР-спектры:

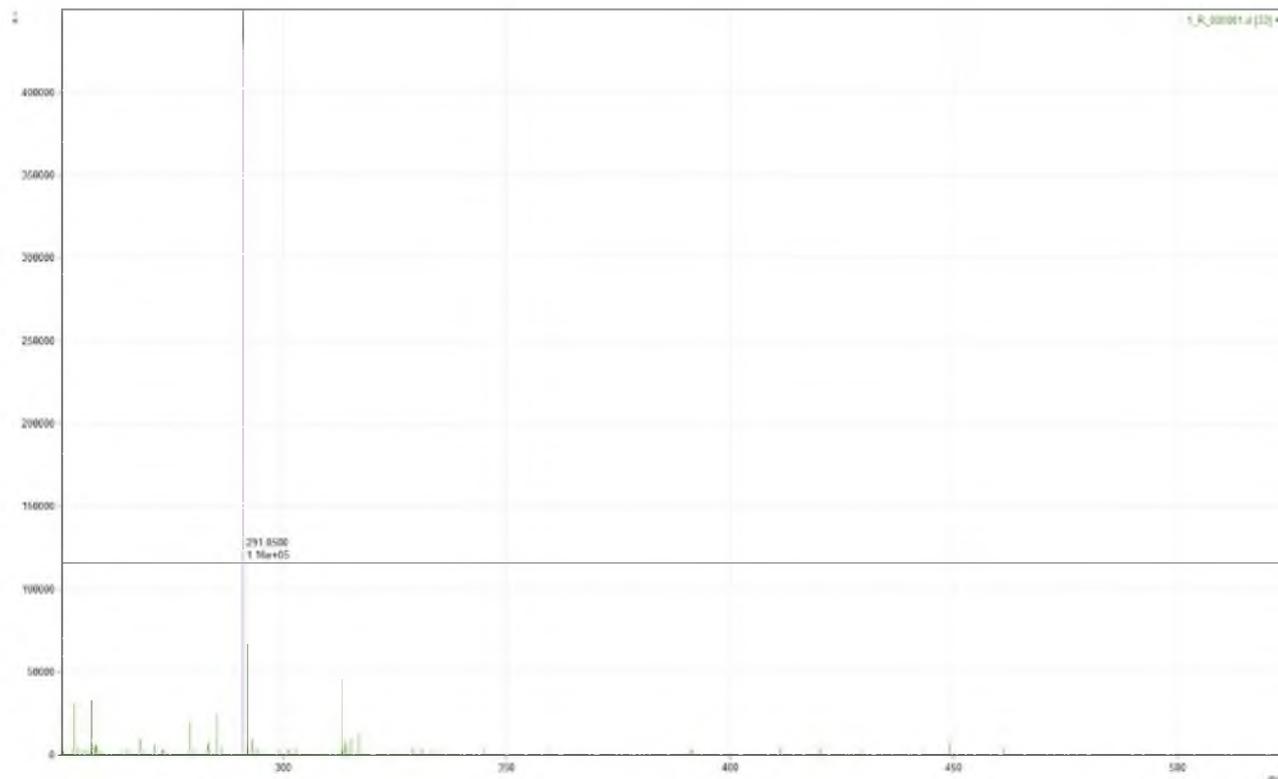
 ^1H 

HMBC



7) Масс-спектр:

$[M+H]^+$ m/z 291.08687 (calc.291.0869)

**СПРАВОЧНО:**

1) Группа соединений: таннины

2) Масса: 3,58 мг

3) Статус: ранее известное для растения

4) Прогноз фармакологической активности Way2Drug

Pa	Pi	Activity
0,946	0,003	CYP1A2 substrate
0,941	0,003	Antioxidant
0,920	0,002	Antimutagenic
0,918	0,001	SULT1A3 substrate
0,917	0,000	Creatine kinase inhibitor
0,915	0,002	UGT1A6 substrate

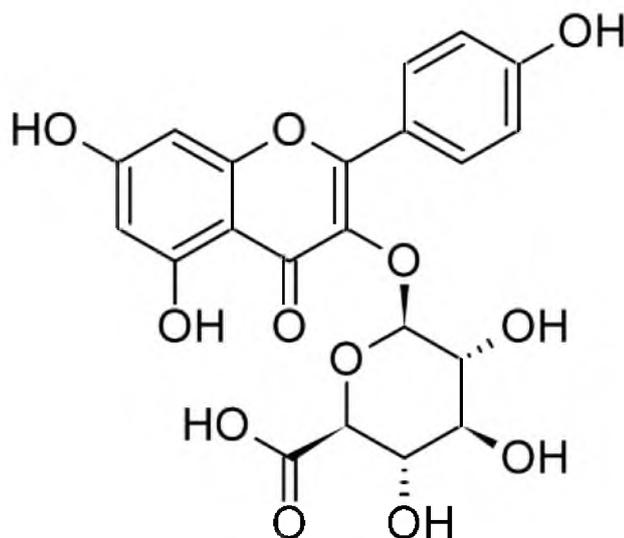
0,913	0,004	Amyloid beta aggregation inhibitor
0,911	0,003	Genotoxic
0,898	0,003	Free radical scavenger
0,886	0,002	UGT1A9 substrate
0,881	0,004	Aldehyde oxidase inhibitor
0,872	0,004	UDP-glucuronosyltransferase substrate
0,868	0,005	Mutagenic
0,860	0,004	CYP2C19 substrate
0,850	0,003	NOS2 expression inhibitor
0,848	0,003	Antihypertriglyceridemic
0,850	0,005	Antihypercholesterolemic
0,847	0,003	Skin whitener
0,847	0,003	Sulfotransferase substrate
0,848	0,009	Transcription factor NF kappa B inhibitor
0,834	0,003	CTGF expression inhibitor
0,840	0,010	Apoptosis agonist
0,834	0,005	Hypoglycemic
0,821	0,003	Lipid peroxidase inhibitor
0,821	0,004	Cytostatic
0,816	0,002	UGT1A3 substrate
0,823	0,012	Antiinflammatory
0,809	0,002	Chemoprotective
0,820	0,019	Alpha-glucosidase inhibitor
0,803	0,003	UGT1A1 substrate
0,799	0,002	Carbonic anhydrase III inhibitor
0,803	0,008	CYP2C9 substrate
0,801	0,007	Antidiabetic
0,801	0,007	Cyclophilin D inhibitor
0,795	0,004	AR expression inhibitor
0,796	0,006	15-Lipoxygenase inhibitor
0,791	0,002	Cystathionine beta-synthase inhibitor
0,789	0,004	Hepatic disorders treatment
0,790	0,008	TNF expression inhibitor
0,769	0,002	Melanin inhibitor
0,762	0,004	Histamine release inhibitor
0,765	0,009	Caspase 9 stimulant
0,759	0,003	Hepatoprotectant
0,760	0,007	Chemopreventive
0,733	0,005	Caspase 3 stimulant
0,732	0,016	CYP3A4 substrate
0,714	0,002	UGT2B15 substrate
0,715	0,004	Hypoxia inducible factor 1 alpha inhibitor
0,710	0,007	CYP2D6 substrate

ПАСПОРТ СУБСТАНЦИИ RC7

1) Шифр субстанции: RC7

2) Название соединения: Кемпферол-3-О-β-D-глюкуронид

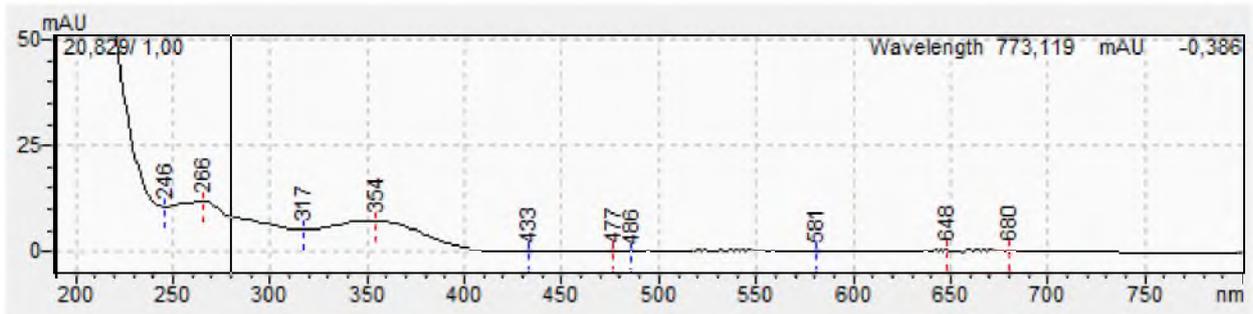
3) Формула соединения:



4) ВЭЖХ-спектр:

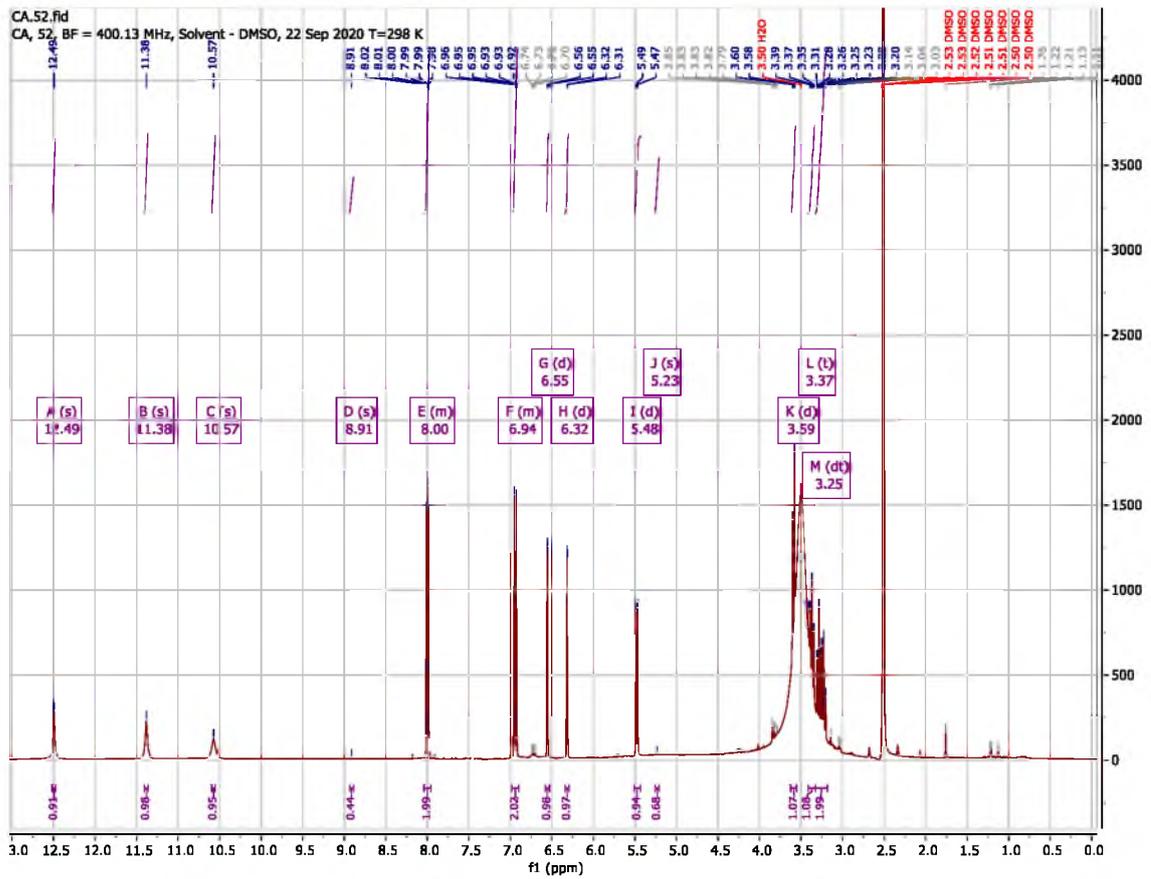


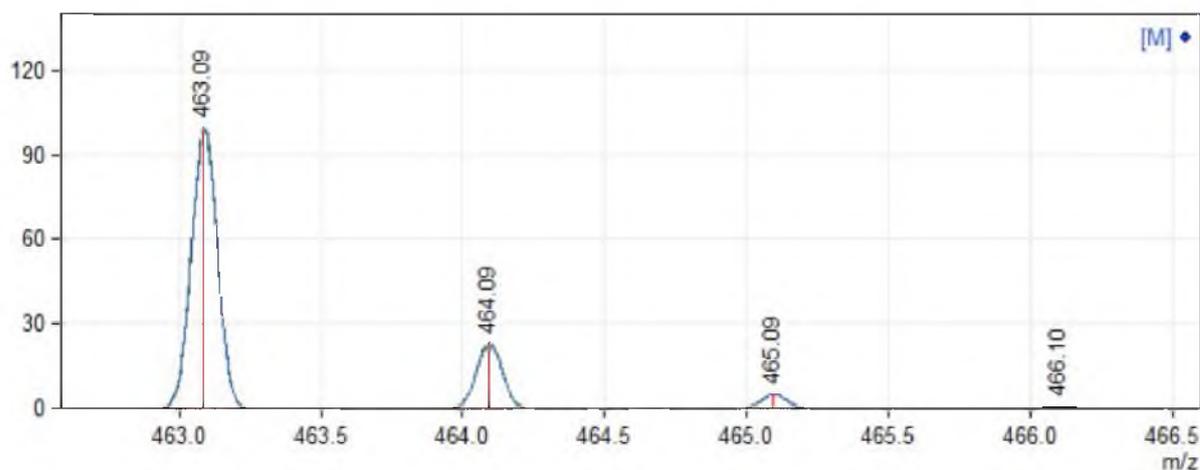
5) УФ-спектр:



Максимумы УФ-поглощения: 266, 354 нм

6) ЯМР-спектры:

¹H ЯМР

7) Масс-спектр: $[M+H]^+$ 

СПРАВОЧНО:

- 1) **Группа соединений:** производные гликозидов глюкуроновых кислот
- 2) **Масса:** 8 мг
- 3) **Статус:** ранее известен для растения
- 4) **Прогноз фармакологической активности Way2Drug**

Pa	Pi	Activity
0,976	0,002	Hypoglycemic
0,974	0,001	UGT1A9 substrate
0,969	0,002	Genotoxic
0,968	0,001	Antimutagenic
0,969	0,003	Mutagenic
0,968	0,004	Alpha-glucosidase inhibitor
0,961	0,002	Monophenol monooxygenase inhibitor
0,945	0,002	Chemopreventive
0,940	0,004	Carcinogenic
0,937	0,002	Lipid peroxidase inhibitor
0,930	0,001	UGT1A1 substrate
0,932	0,003	Antioxidant
0,929	0,003	TNF expression inhibitor
0,920	0,001	Amylase inhibitor
0,918	0,003	UDP-glucuronosyltransferase substrate
0,914	0,001	Cystathionine beta-synthase inhibitor
0,911	0,003	Antihypercholesterolemic
0,908	0,002	Skin whitener
0,907	0,002	Proliferative diseases treatment
0,907	0,002	Antihypoxic
0,906	0,002	NOS2 expression inhibitor
0,896	0,003	Radioprotector
0,893	0,001	Antihemorrhagic

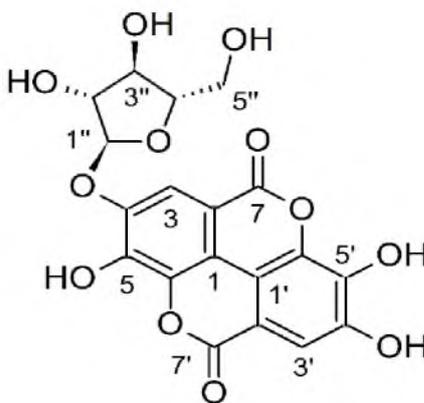
0,895	0,003	Free radical scavenger
0,890	0,002	Sulfotransferase substrate
0,880	0,003	Histamine release inhibitor
0,875	0,003	Cardioprotectant
0,876	0,007	Transcription factor NF kappa B inhibitor
0,873	0,005	CYP2C9 substrate
0,863	0,004	Spasmolytic
0,863	0,008	Antiinflammatory
0,854	0,004	Cytostatic
0,846	0,003	Vasodilator, coronary
0,843	0,004	UGT1A6 substrate
0,843	0,010	Apoptosis agonist
0,831	0,005	Antidiabetic
0,831	0,005	Cyclophilin D inhibitor
0,799	0,004	NOS3 expression inhibitor
0,797	0,005	Caspase 9 stimulant
0,791	0,006	Respiratory analeptic
0,788	0,011	Teratogen
0,778	0,004	Angiogenesis stimulant
0,774	0,004	Antithrombotic
0,766	0,004	Vascular (periferal) disease treatment
0,764	0,004	Antihypertriglyceridemic
0,769	0,012	Embryotoxic
0,753	0,006	Antibacterial
0,752	0,014	CYP3A4 substrate
0,733	0,004	AR expression inhibitor
0,726	0,004	5 Hydroxytryptamine release inhibitor
0,724	0,005	Hepatic disorders treatment
0,718	0,002	Antihypotensive
0,716	0,004	Ulceration
0,710	0,003	Antidote

ПАСПОРТ СУБСТАНЦИИ RC14

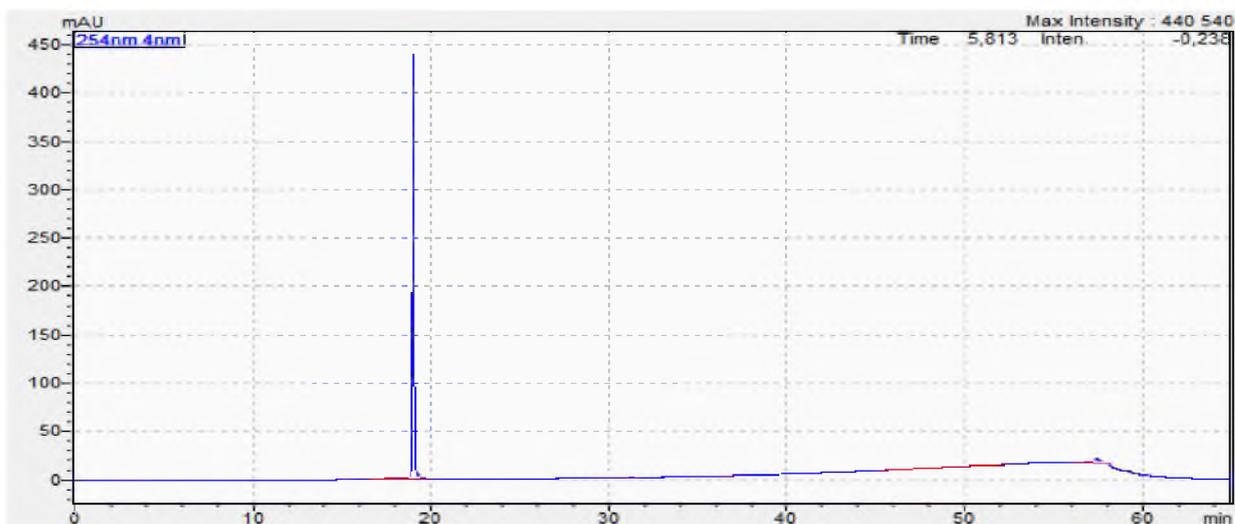
1) Шифр субстанции: RC14

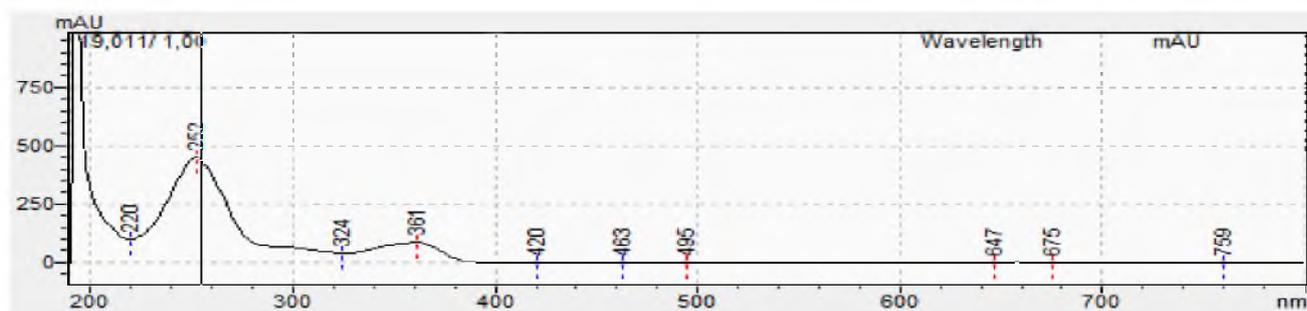
2) Название соединения: 4-O- α -L-арабинофуранозилэллаговая кислота;

3) Формула соединения:

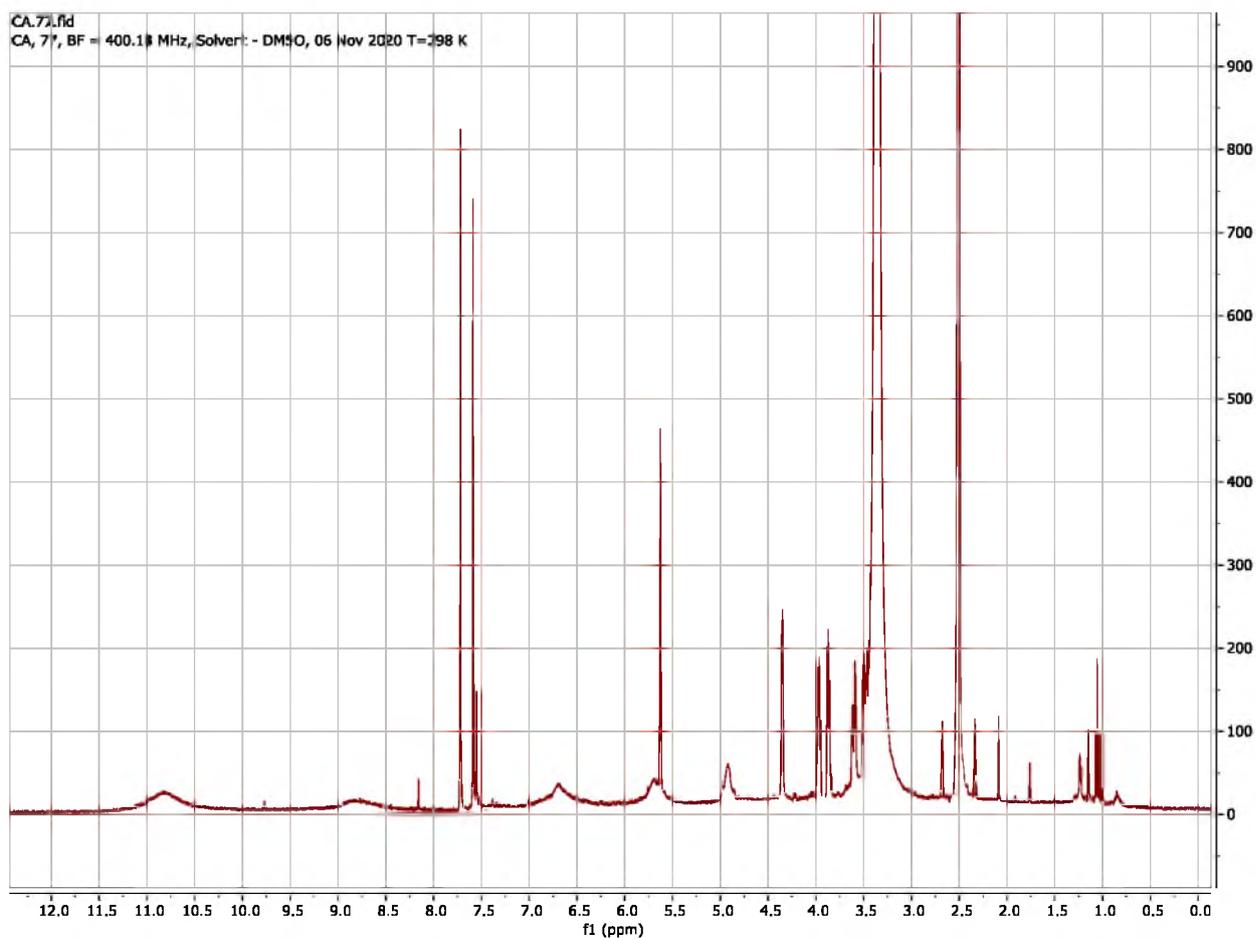


4) ВЭЖХ:

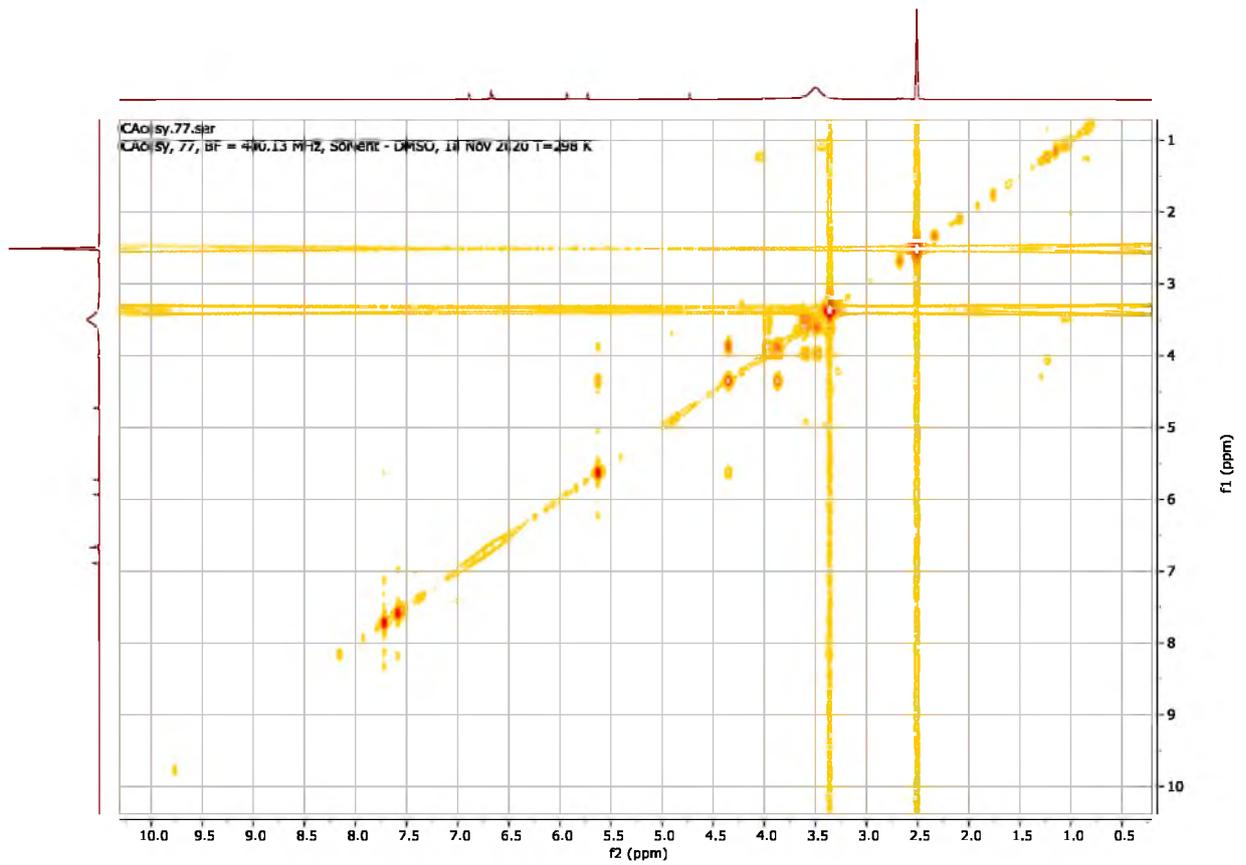


5) УФ-спектр:

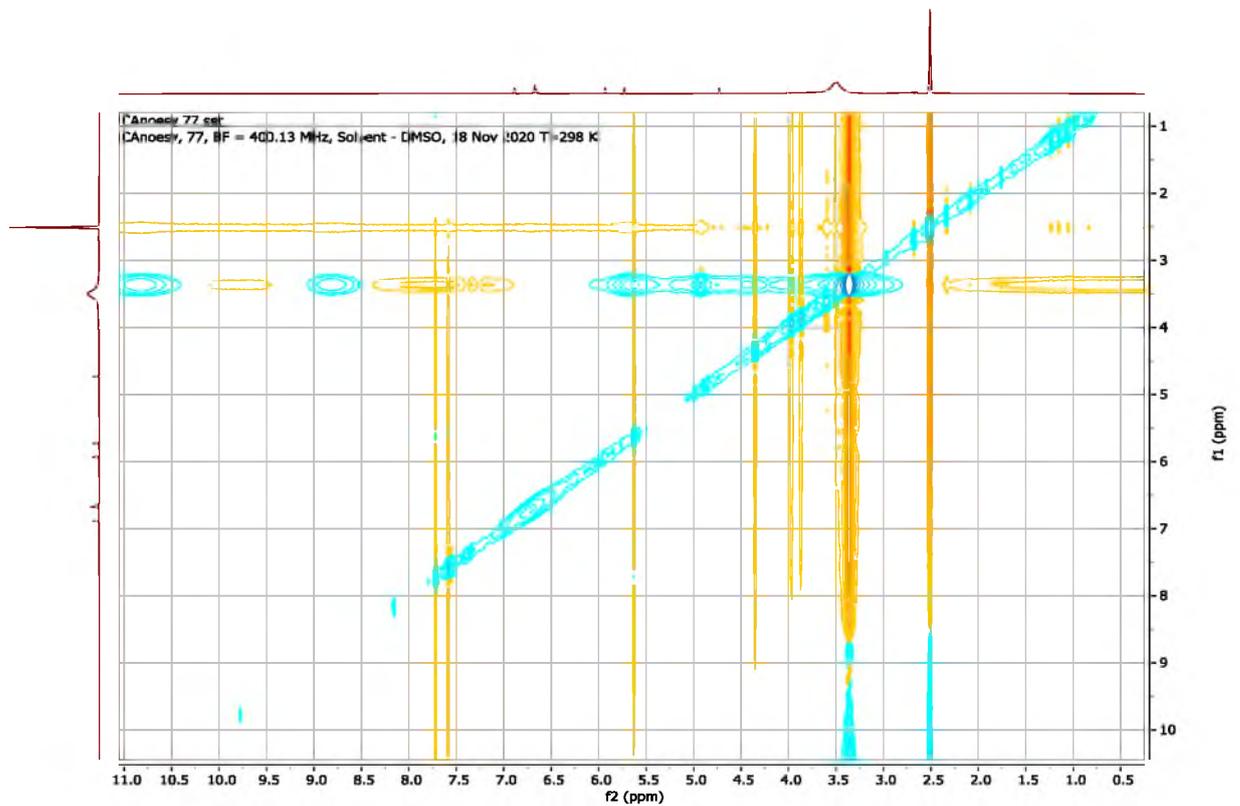
Максимумы УФ-поглощения: 252, 361 нм

6) ЯМР-спектры: ^1H 

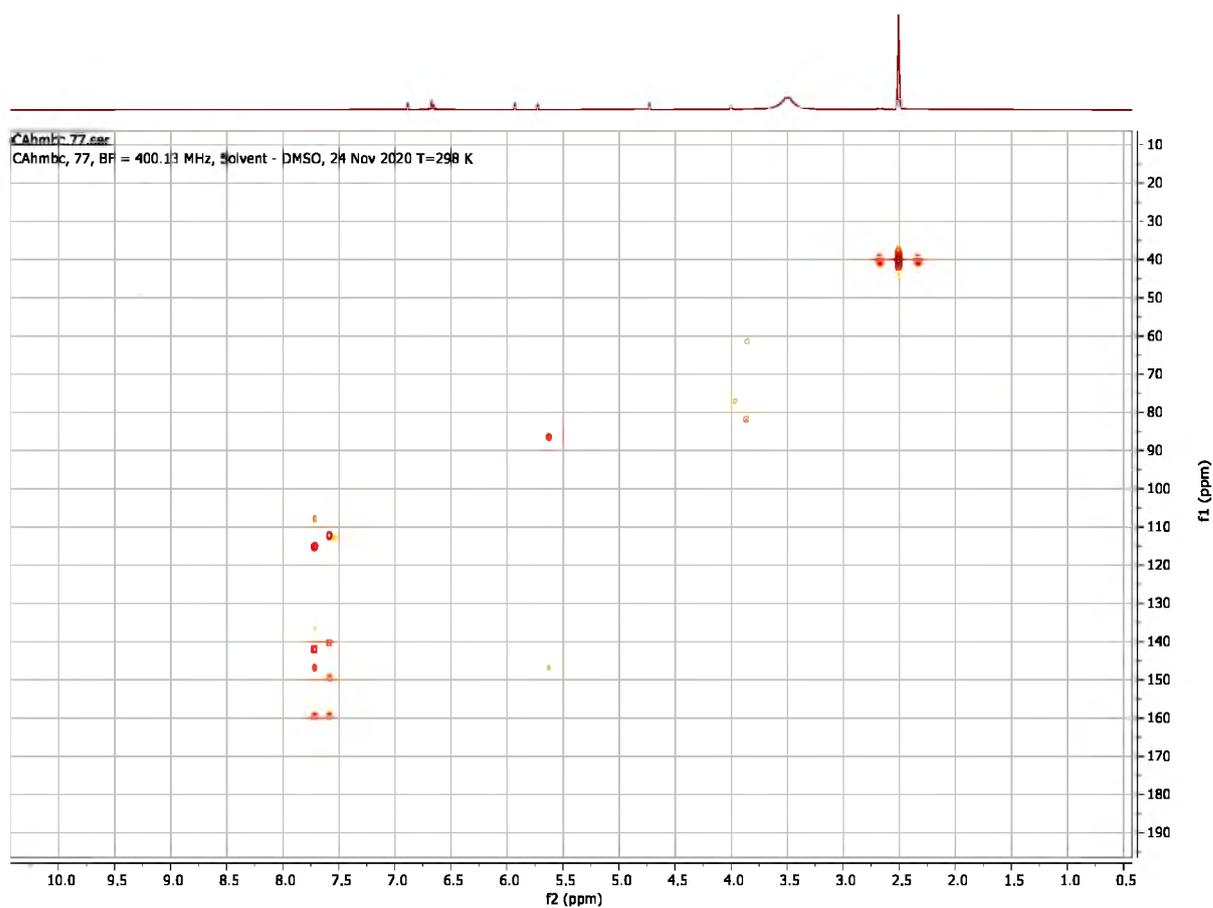
COSY



NOESY

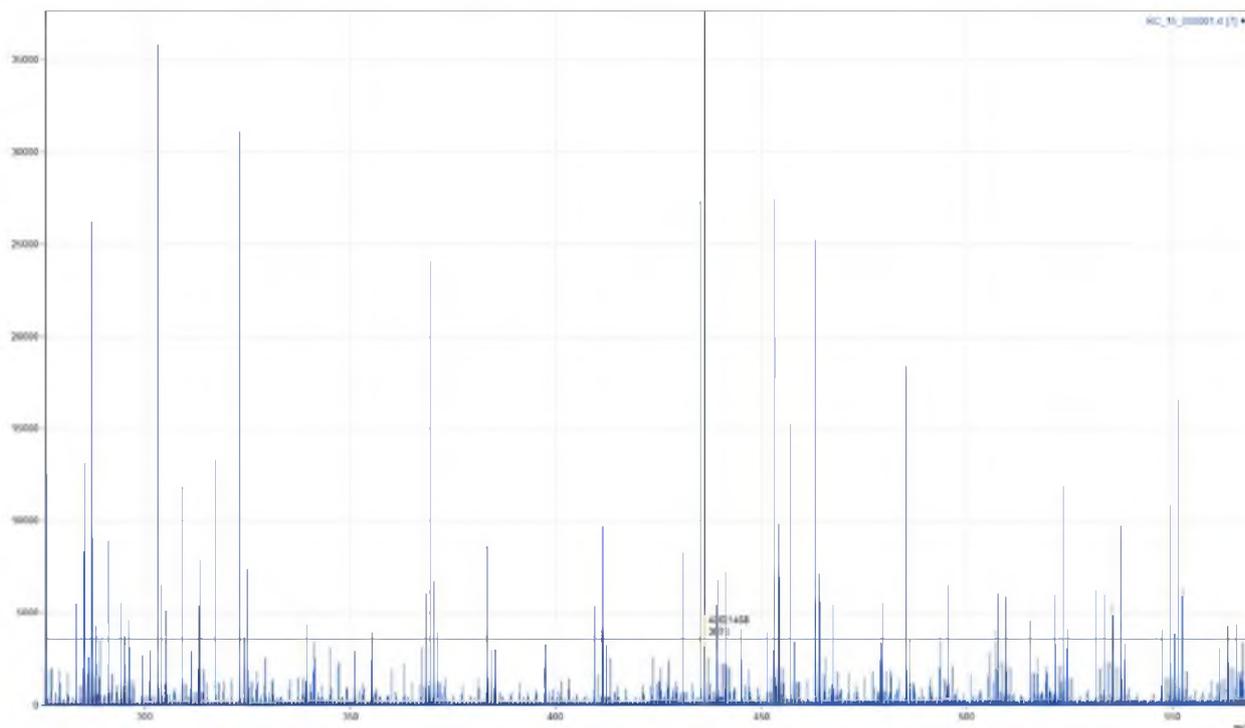


HMBC



7) Масс-спектр:

$[M+H]^+$ m/z 436.06416 (calc.436.0642)



СПРАВОЧНО:**1) Группа соединений:** танины**2) Масса:** 2 мг**3) Статус:** новое природное соединение**4) Прогноз фармакологической активности Way2Drug**

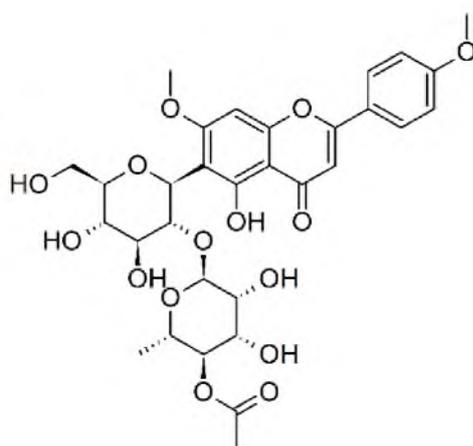
Pa	Pi	Activity
0,963	0,001	Antimutagenic
0,949	0,004	Mutagenic
0,928	0,002	Genotoxic
0,930	0,006	Alpha-glucosidase inhibitor
0,924	0,004	Carcinogenic
0,917	0,001	Amylase inhibitor
0,893	0,004	Antioxidant
0,883	0,004	Hypoglycemic
0,878	0,001	Neurotrophic factor enhancer
0,881	0,004	Teratogen
0,879	0,005	Embryotoxic
0,875	0,007	Transcription factor NF kappa B inhibitor
0,861	0,003	Antihypoxic
0,863	0,005	CYP2C9 substrate
0,855	0,004	Chemopreventive
0,855	0,005	Antihypercholesterolemic
0,850	0,005	TNF expression inhibitor
0,853	0,009	Antiinflammatory
0,845	0,002	Carbonic anhydrase XIII inhibitor
0,836	0,004	Free radical scavenger
0,828	0,005	Respiratory analeptic
0,828	0,005	Radioprotector
0,822	0,004	Cardioprotectant
0,820	0,003	Lipid peroxidase inhibitor
0,817	0,003	NOS2 expression inhibitor
0,814	0,003	Sulfotransferase substrate
0,810	0,004	UGT1A9 substrate
0,808	0,003	Proliferative diseases treatment
0,805	0,003	Monophenol monooxygenase inhibitor
0,806	0,006	Cyclophilin D inhibitor
0,806	0,006	Antidiabetic
0,809	0,013	Apoptosis agonist
0,796	0,003	Skin whitener
0,790	0,003	UGT1A1 substrate
0,777	0,004	NOS3 expression inhibitor
0,772	0,005	Sensitization
0,768	0,004	UDP-glucuronosyltransferase substrate
0,773	0,012	CYP3A4 substrate
0,757	0,005	Antithrombotic
0,741	0,006	Antibacterial
0,741	0,007	Analeptic
0,730	0,004	Non-steroidal antiinflammatory agent
0,709	0,004	Angiogenesis stimulant

ПАСПОРТ СУБСТАНЦИИ IL10

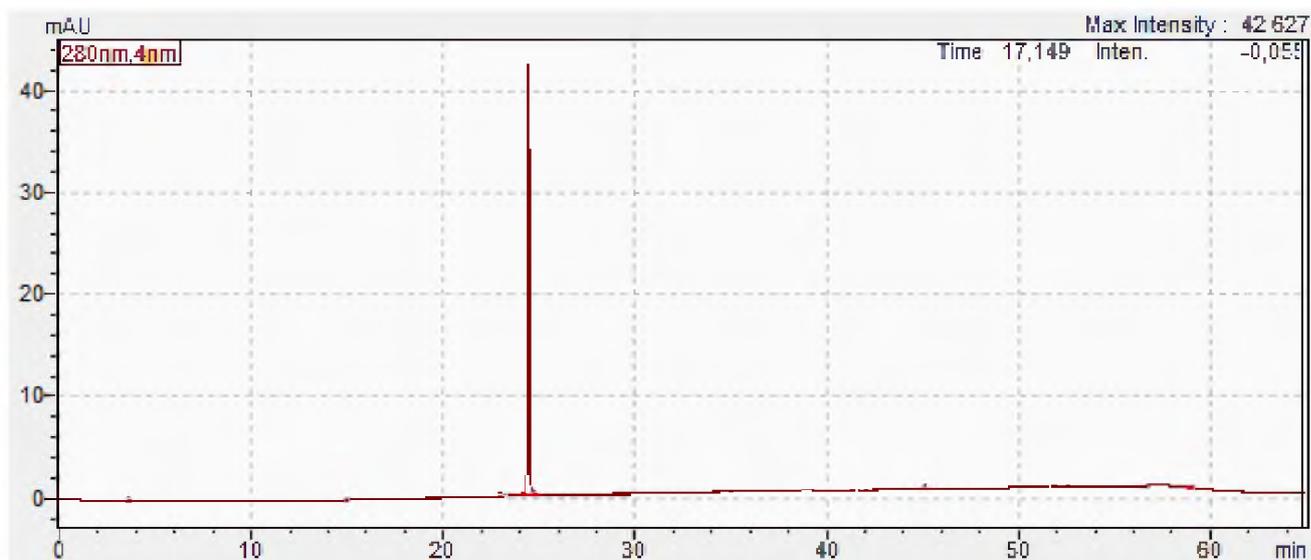
1) Код субстанции: IL10

2) Название соединения: 5-гидрокси-7,4'-диметоксифлавоон-6-C-(2''-O- α -L-4'''-O-ацетилрамнопиранозил)- β -D-глюкопиранозид (4'''-ацетилэмбинин)

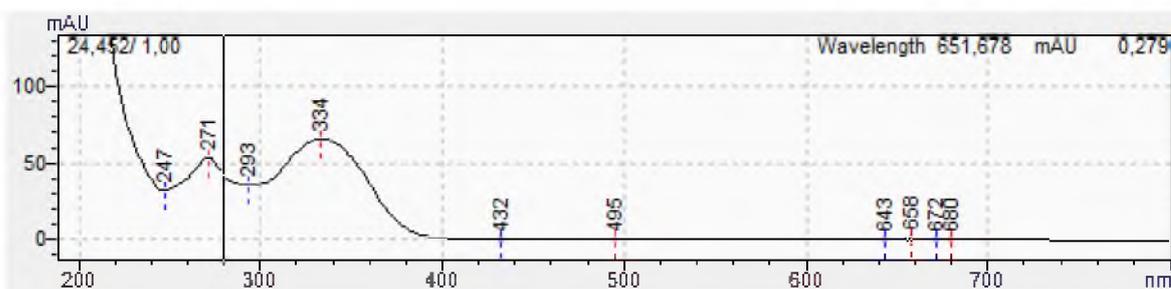
3) Формула соединения:



4) ВЭЖХ:



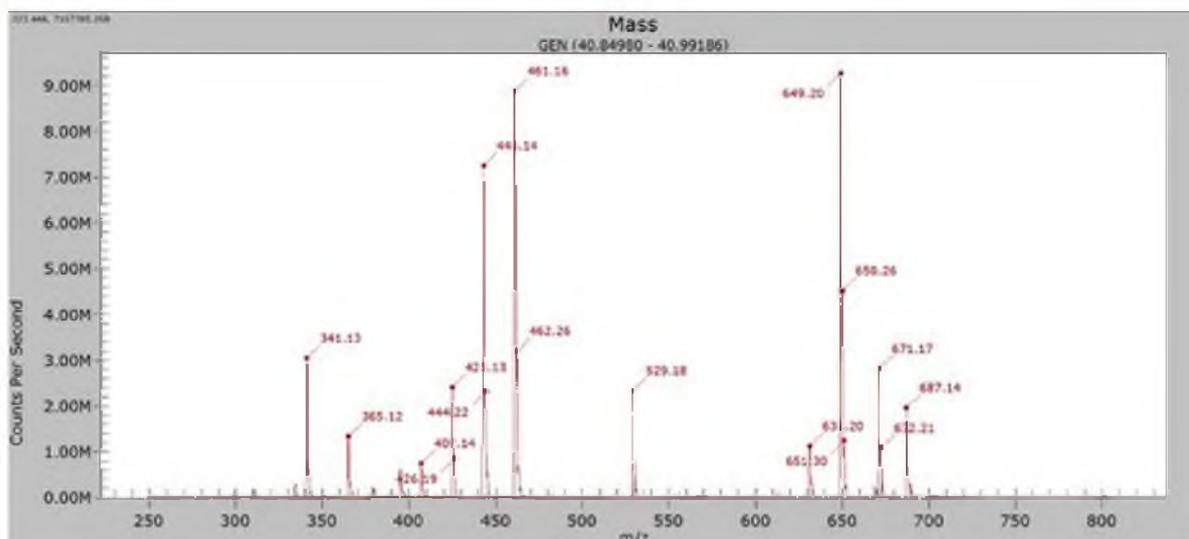
5) УФ-спектр:



Максимумы УФ-поглощения: 271, 334 нм

6) Характеристики ЯМР-спектра:

Положение протона	Химический сдвиг	
	Мажорный ротамер	Минорный ротамер
3-CH	6.96, s	6.99, s
8-CH	6.95, s	6.90, s
2',6'-CH	8.08, d (8.8 Hz)	8.08, d (8.8 Hz)
3',5'-CH	7.13, d (8.8 Hz)	7.13, d (8.8 Hz)
1''-CH	4.69, d (9.8 Hz)	4.70, d (9.8 Hz)
2''-CH	4.31, m	4.10, m
3''-CH	3.38, m	3.39, m
4''-CH	3.11, m	3.11, m
5''-CH	3.15, m	3.15, m
6a''-CH	3.73, m	3.73, m
6b''-CH	3.39, m	3.39, m
1'''-CH	5.20, d (1.2 Hz)	5.15, d (1.2 Hz)
2'''-CH	3.60, m	3.63, m
3'''-CH	3.21, m	3.31, m
4'''-CH	4.43, m	4.43, m
5'''-CH	2.17, m	2.17, m
6'''-CH ₃	0.41, d (6.2 Hz)	0.51, d (6.0 Hz)
5-OH	13.43, brs	13.47, brs
7-OMe	3.93, s	3.90, s
4'-OMe	3.86, s	3.86, s
4'''-OAc	1.78, s	1.65, s

7) Масс-спектр: 649.20 [M + H]⁺

СПРАВОЧНО:

- 1) **Группа соединений:** С-гликозид флавоноидов
- 2) **Масса:** 3 мг
- 3) **Статус:** новое природное соединение
- 4) **Прогноз фармакологической активности Way2Drug**

Pa	Pi	Activity
0,996	0,001	Hypoglycemic
0,981	0,003	Mutagenic
0,969	0,002	Chemopreventive
0,964	0,001	Antimutagenic
0,955	0,002	Monophenol monooxygenase inhibitor
0,943	0,002	Skin whitener
0,929	0,002	NOS2 expression inhibitor
0,927	0,002	Cytostatic
0,925	0,003	Antihypercholesterolemic
0,919	0,004	Transcription factor NF kappa B inhibitor
0,896	0,002	Proliferative diseases treatment
0,895	0,005	Carcinogenic
0,891	0,003	Vasodilator, coronary
0,889	0,003	Radioprotector
0,886	0,002	Antihypoxic
0,885	0,005	Antidiabetic
0,885	0,005	Cyclophilin D inhibitor
0,879	0,002	Amylase inhibitor
0,870	0,003	Lipid peroxidase inhibitor
0,870	0,004	Antioxidant
0,848	0,007	Teratogen
0,844	0,003	DNA damaging

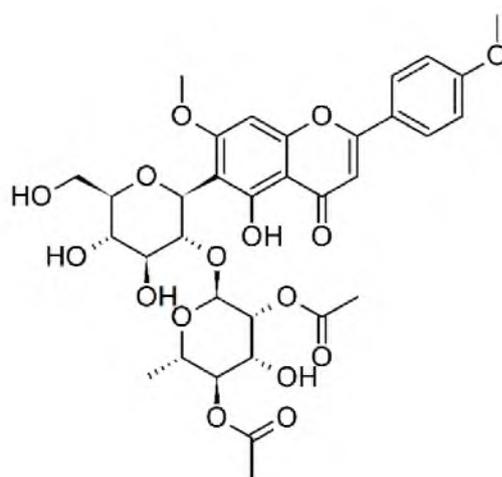
0,843	0,006	TNF expression inhibitor
0,844	0,008	Embryotoxic
0,841	0,016	Alpha-glucosidase inhibitor
0,831	0,006	CYP2C9 substrate
0,819	0,004	Antibacterial
0,812	0,003	UGT1A1 substrate
0,808	0,003	Angiogenesis stimulant
0,816	0,013	Antiinflammatory
0,812	0,013	Apoptosis agonist
0,801	0,004	UGT1A9 substrate
0,791	0,004	Cardioprotectant
0,783	0,006	Caspase 9 stimulant
0,779	0,003	Genotoxic
0,777	0,004	Cytotoxic
0,767	0,005	Cholesterol antagonist
0,756	0,004	Antipyretic
0,755	0,004	Histamine release inhibitor
0,750	0,004	Free radical scavenger
0,751	0,006	Sensitization
0,744	0,002	VCAM1 expression inhibitor
0,748	0,014	CYP3A4 substrate
0,734	0,004	Antiparasitic
0,739	0,009	Respiratory analeptic
0,725	0,002	Alkylator
0,717	0,004	Apoptosis antagonist
0,706	0,003	Antihelminthic

ПАСПОРТ СУБСТАНЦИИ IL11

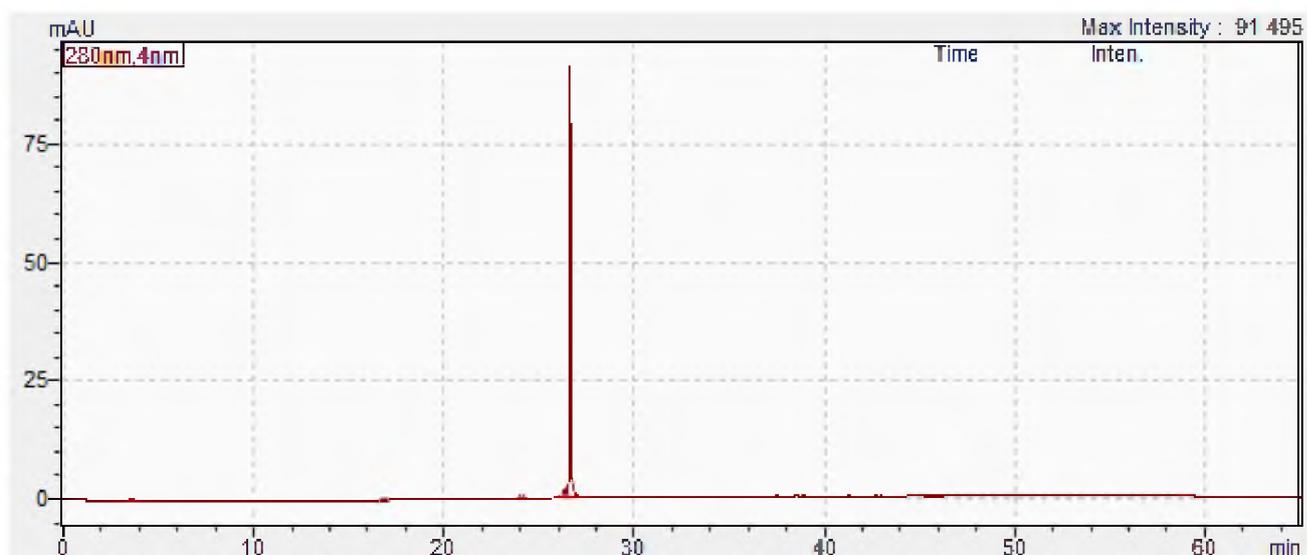
1) Код субстанции: IL11

2) Название соединения: 5-гидрокси-7,4'-диметоксифлавонон-6-С-(2''-О- α -L-2''',4'''-О-диацетилрамнопиранозил)- β -D-глюкопиранозид (2''',4'''-диацетилэмбинин)

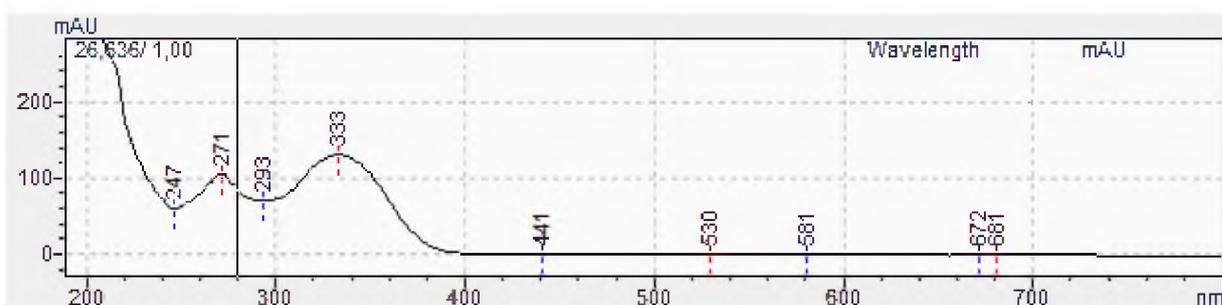
3) Формула соединения:



4) ВЭЖХ:



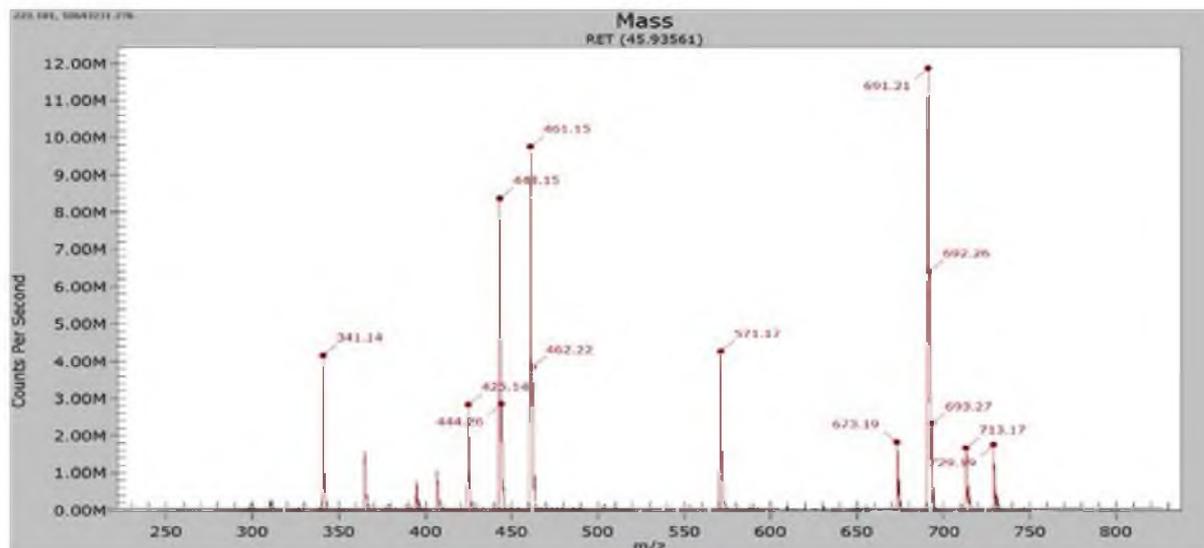
5) УФ-спектр:



Максимумы УФ-поглощения: 271, 333 нм

6) Характеристики ЯМР-спектра:

Положение протона	Химический сдвиг	
	Мажорный ротамер	Минорный ротамер
3-CH	6.98, s	7.02, s
8-CH	6.99, s	6.93, s
2',6'-CH	8.08, d (8.8 Hz)	8.09, d (8.8 Hz)
3',5'-CH	7.13, d (8.8 Hz)	7.13, d (8.8 Hz)
1''-CH	4.72, d (9.8 Hz)	4.74, d (9.8 Hz)
2''-CH	4.32, m	4.11, m
3''-CH	3.43, m	3.43, m
4''-CH	3.09, m	3.09, m
5''-CH	3.17, m	3.17, m
6a''-CH	3.72, m	3.72, m
6b''-CH	3.37, m	3.37, m
1'''-CH	5.25, d (1.4 Hz)	5.18, d (1.4 Hz)
2'''-CH	4.91, m	4.93, m
3'''-CH	3.36, m	3.48, m
4'''-CH	4.36, m	4.37, m
5'''-CH	2.29, m	2.27, m
6'''-CH ₃	0.49, d (6.3 Hz)	0.58, d (6.2 Hz)
5-OH	13.46, s	13.52, s
7-OMe	3.95, s	3.89, s
4'-OMe	3.87, s	3.87, s
2'''-OAc	1.99, s	1.99, s
4'''-OAc	1.76, s	1.66, s

7) Масс-спектр: 691.21 [M + H]⁺

СПРАВОЧНО:

- 1) Группа соединений: С-гликозид флавоноидов
- 2) Масса: 6 мг
- 3) Статус: новое природное соединение
- 4) Прогноз фармакологической активности Way2Drug

Pa	Pi	Activity
0,996	0,001	Hypoglycemic
0,976	0,003	Mutagenic
0,954	0,002	Monophenol monooxygenase inhibitor
0,954	0,002	Chemopreventive
0,949	0,001	Antimutagenic
0,942	0,002	Skin whitener
0,914	0,002	Cytostatic
0,907	0,002	NOS2 expression inhibitor
0,900	0,004	Antihypercholesterolemic
0,898	0,006	Transcription factor NF kappa B inhibitor
0,888	0,005	Carcinogenic
0,874	0,005	Antidiabetic
0,874	0,005	Cyclophilin D inhibitor
0,869	0,003	Lipid peroxidase inhibitor
0,858	0,003	Antihypoxic
0,859	0,004	Antioxidant
0,856	0,004	Radioprotector
0,852	0,003	DNA damaging
0,851	0,003	Proliferative diseases treatment
0,835	0,003	Vasodilator, coronary
0,832	0,002	Amylase inhibitor

0,823	0,004	Antibacterial
0,813	0,013	Apoptosis agonist
0,808	0,009	Teratogen
0,817	0,019	Alpha-glucosidase inhibitor
0,810	0,014	Antiinflammatory
0,793	0,010	Embryotoxic
0,791	0,008	TNF expression inhibitor
0,785	0,005	Caspase 9 stimulant
0,782	0,004	Cytotoxic
0,779	0,003	UGT1A1 substrate
0,778	0,004	Angiogenesis stimulant
0,778	0,009	CYP2C9 substrate
0,762	0,004	Cardioprotectant
0,751	0,006	Sensitization
0,744	0,005	UGT1A9 substrate
0,741	0,005	Free radical scavenger
0,734	0,004	Antiparasitic
0,730	0,002	Alkylator
0,718	0,007	Cholesterol antagonist
0,707	0,003	Antihelminthic
0,707	0,004	Apoptosis antagonist
0,704	0,005	Histamine release inhibitor

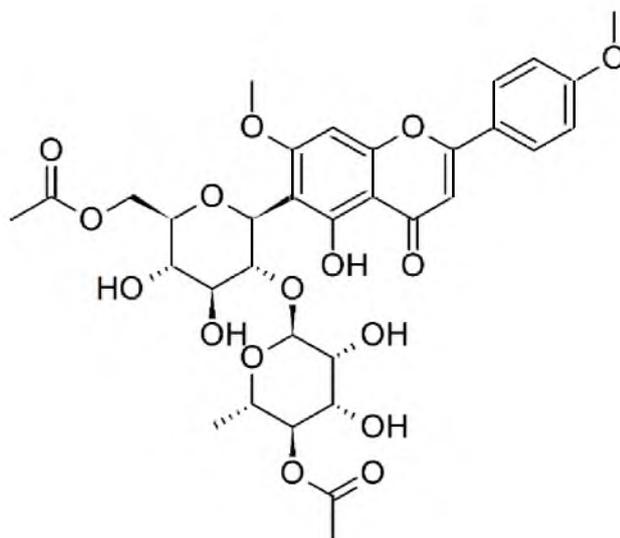
ПАСПОРТ СУБСТАНЦИИ IL12

1) Код субстанции: IL12

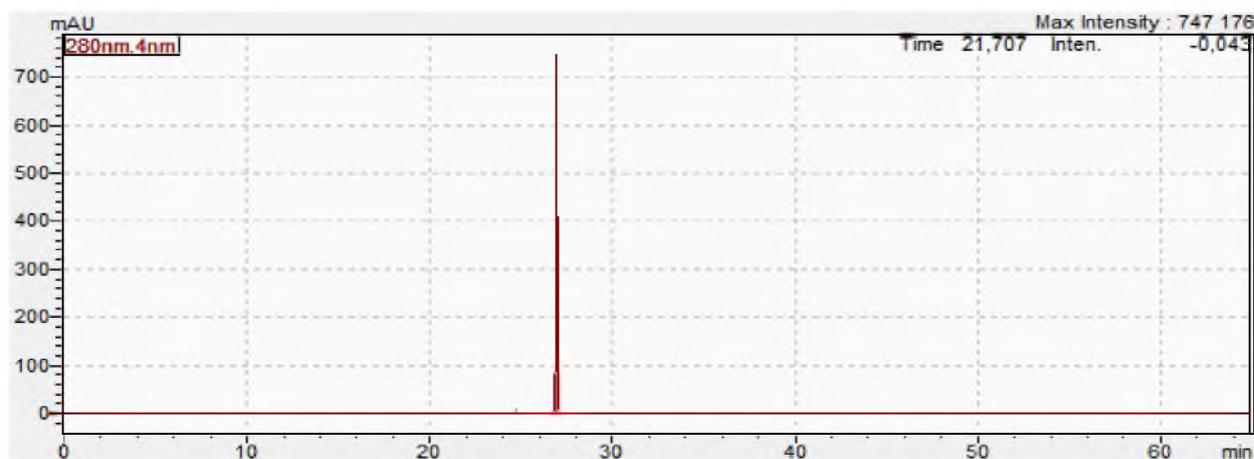
2) Название соединения: 5-гидрокси-7,4'-диметоксифлавонон-6-С-(2''-О- α -L-4'''-О-ацетилрамнопиранозил)- β -D-6''-О-ацетилглюкопиранозид

(6'',4'''-диацетилэмбинин)

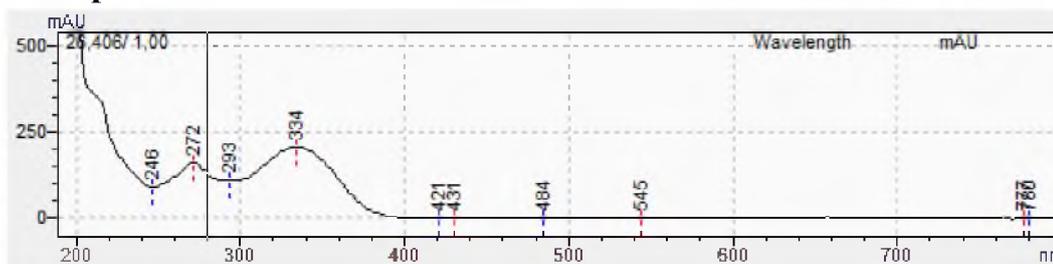
3) Формула соединения:



4) ВЭЖХ:



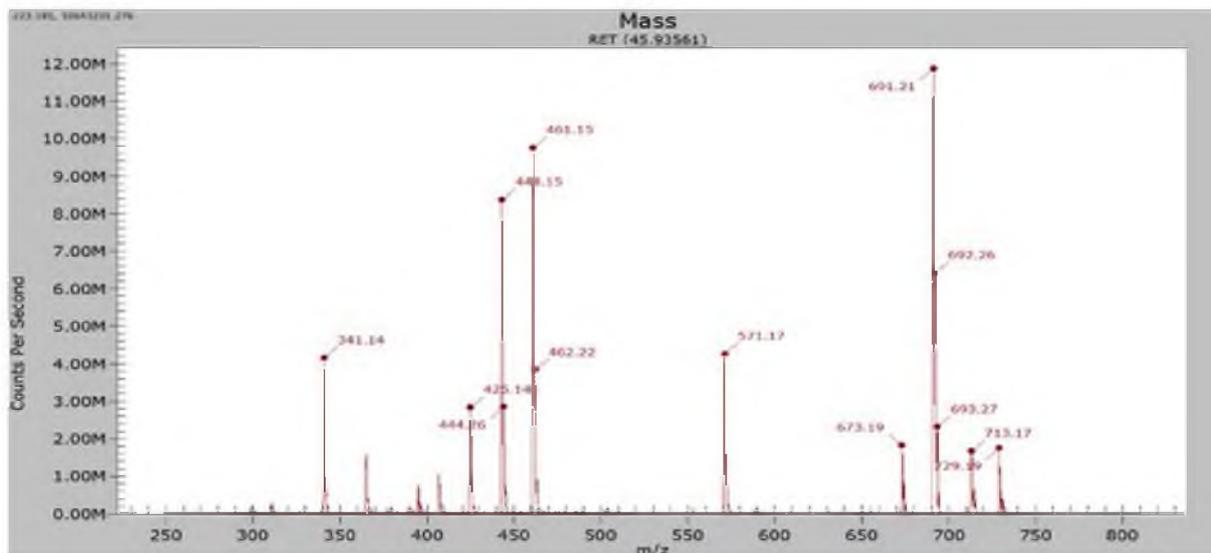
5) УФ-спектр:



Максимумы УФ-поглощения: 271, 334 нм

7) Характеристики ЯМР-спектра:

Положение протона	Химический сдвиг	
	Мажорный ротамер	Минорный ротамер
3-CH	6.98, s	7.01, s
8-CH	6.97, s	6.92, s
2',6'-CH	8.09, d (8.8 Hz)	8.09, d (8.8 Hz)
3',5'-CH	7.14, d (8.8 Hz)	7.14, d (8.8 Hz)
1''-CH	4.71, d (9.8 Hz)	4.73, d (9.8 Hz)
2''-CH	4.29, m	4.08, m
3''-CH	3.41, m	3.41, m
4''-CH	3.17, m	3.17, m
5''-CH	3.38, m	3.38, m
6a''-CH	4.40, m	4.40, m
6b''-CH	3.88, m	3.88, m
1'''-CH	5.20, d (1.3 Hz)	5.14, d (1.3 Hz)
2'''-CH	3.61, m	3.61, m
3'''-CH	3.19, m	3.30, m
4'''-CH	4.42, m	4.42, m
5'''-CH	2.15, m	2.11, m
6'''-CH ₃	0.40, d (6.2 Hz)	0.50, d (6.2 Hz)
5-OH	13.43, s	13.50, s
7-OMe	3.94, s	3.90, s
4'-OMe	3.87, s	3.87, s
6'''-OAc	1.99, s	2.0, s
4'''-OAc	1.78, s	1.65, s

7) Масс-спектр: 691.21 [M + H]⁺

СПРАВОЧНО:

- 1) Группа соединений: С-гликозид флавоноидов
- 2) Масса: 5 мг
- 3) Статус: новое природное соединение
- 4) Прогноз фармакологической активности Way2Drug

Pa	Pi	Activity
0,995	0,001	Hypoglycemic
0,985	0,002	Mutagenic
0,962	0,002	Chemopreventive
0,957	0,002	Monophenol monooxygenase inhibitor
0,945	0,002	Skin whitener
0,923	0,003	Antihypercholesterolemic
0,923	0,004	Transcription factor NF kappa B inhibitor
0,904	0,002	Antimutagenic
0,905	0,004	Carcinogenic
0,899	0,002	NOS2 expression inhibitor
0,898	0,002	Proliferative diseases treatment
0,896	0,003	Cytostatic
0,882	0,002	Antihypoxic
0,874	0,002	DNA damaging
0,874	0,004	Antioxidant
0,866	0,003	Lipid peroxidase inhibitor
0,860	0,005	Cyclophilin D inhibitor
0,860	0,005	Antidiabetic
0,838	0,007	Teratogen
0,832	0,008	Embryotoxic

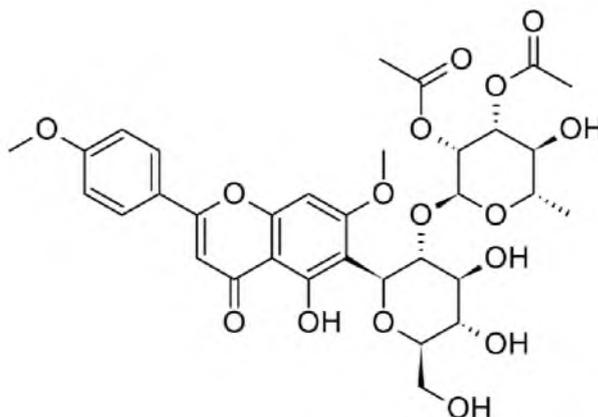
0,818	0,002	Amylase inhibitor
0,826	0,012	Antiinflammatory
0,818	0,004	Antibacterial
0,818	0,005	Radioprotector
0,824	0,012	Apoptosis agonist
0,794	0,004	Antipyretic
0,805	0,021	Alpha-glucosidase inhibitor
0,785	0,004	Cytotoxic
0,784	0,003	Angiogenesis stimulant
0,765	0,004	Cardioprotectant
0,765	0,004	Vasodilator, coronary
0,766	0,008	Caspase 9 stimulant
0,759	0,004	Free radical scavenger
0,759	0,010	TNF expression inhibitor
0,749	0,002	Alkylator
0,742	0,003	Antiparasitic
0,723	0,004	UGT1A1 substrate
0,729	0,011	CYP2C9 substrate
0,723	0,005	UGT1A9 substrate
0,724	0,007	Cholesterol antagonist
0,716	0,004	Apoptosis antagonist
0,708	0,003	Anthelmintic

ПАСПОРТ СУБСТАНЦИИ ПЛ21

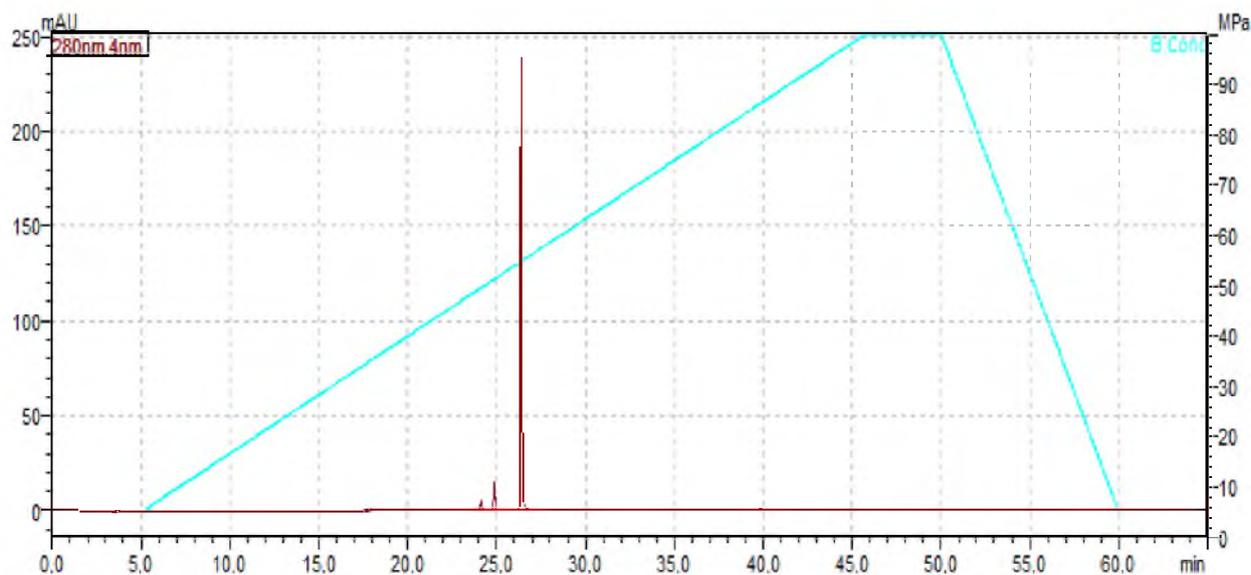
1) Код субстанции: ПЛ1

2) Название соединения: 2''',3'''-диацетилэмбинин

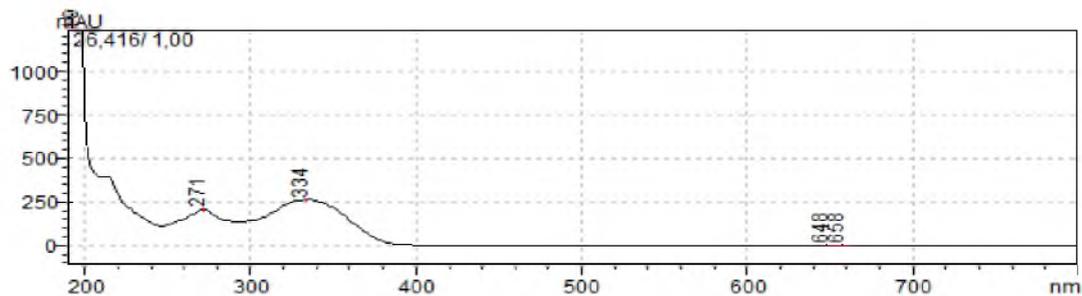
3) Структурная формула соединения:



4) ВЭЖХ:

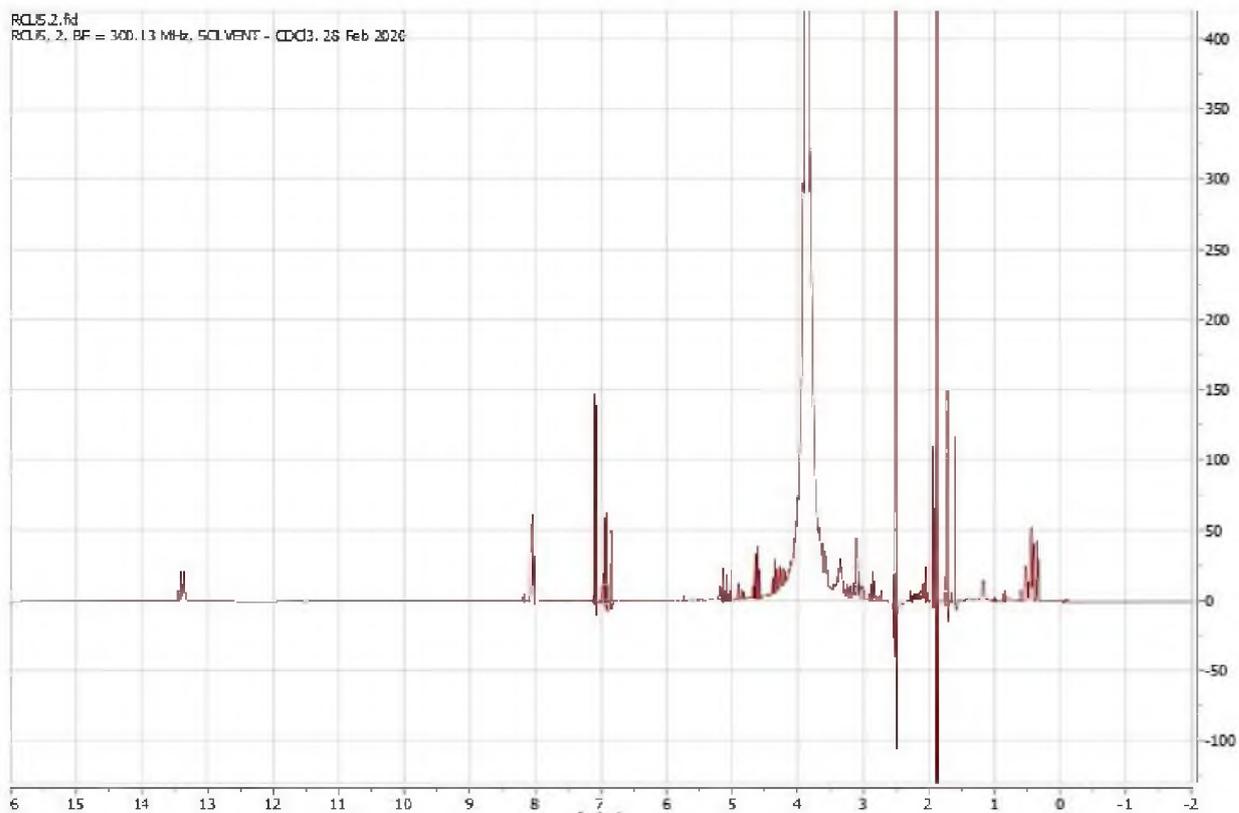


5) УФ-спектр:

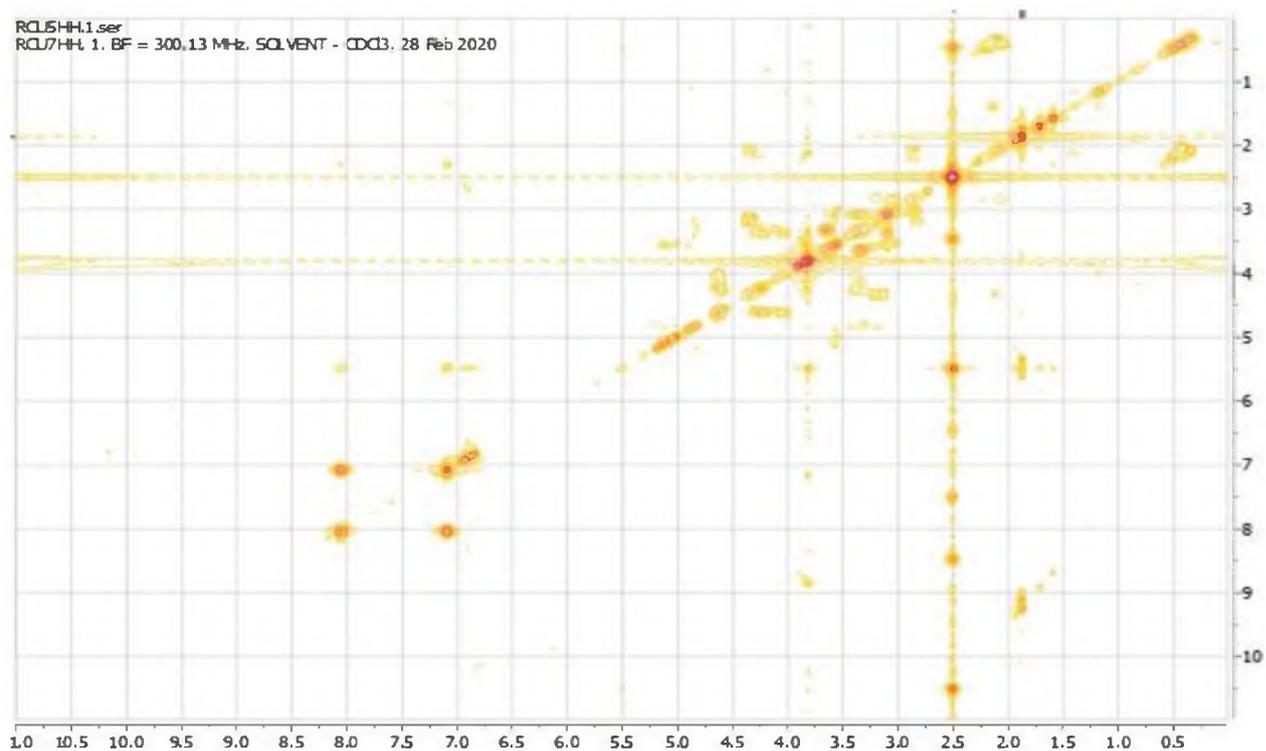


Максимумы УФ-поглощения: 271, 334 нм

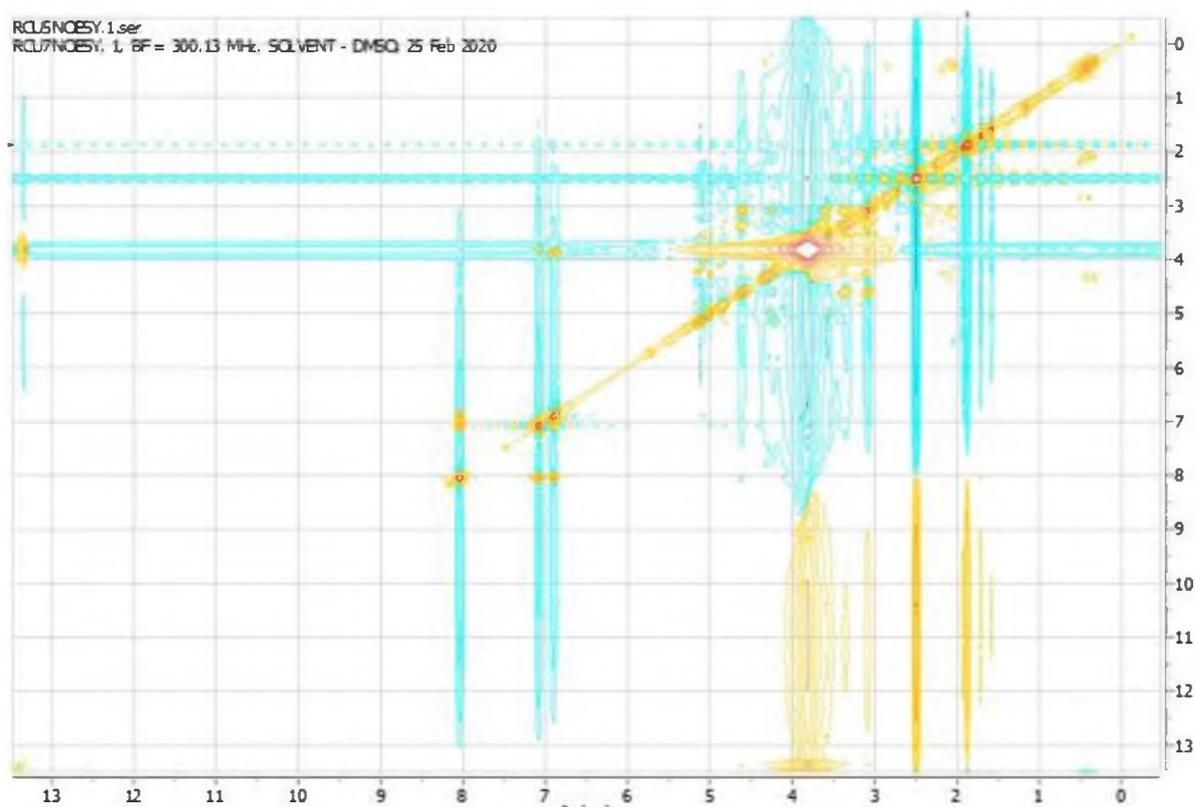
6) ЯМР-спектры:

 ^1H 

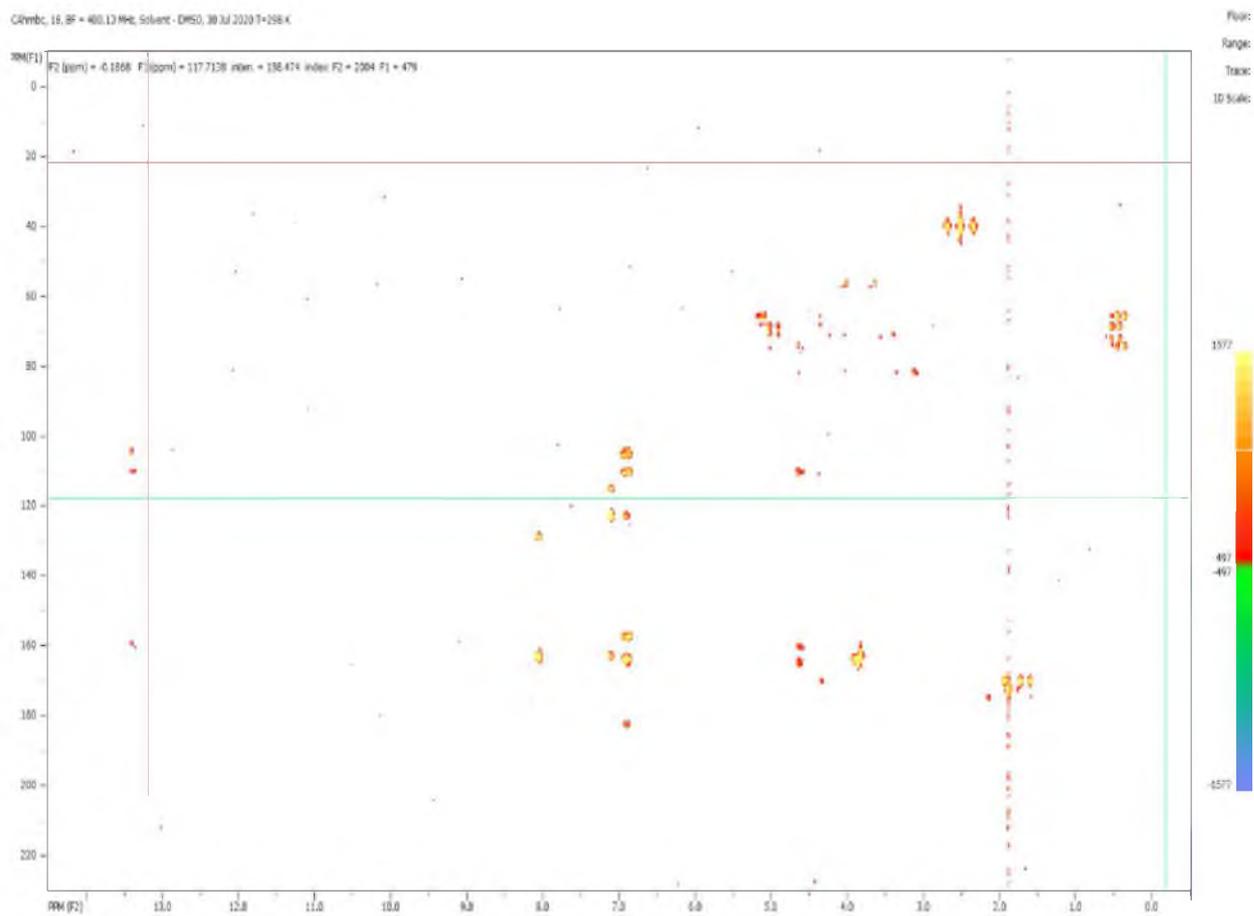
COSY



NOESY

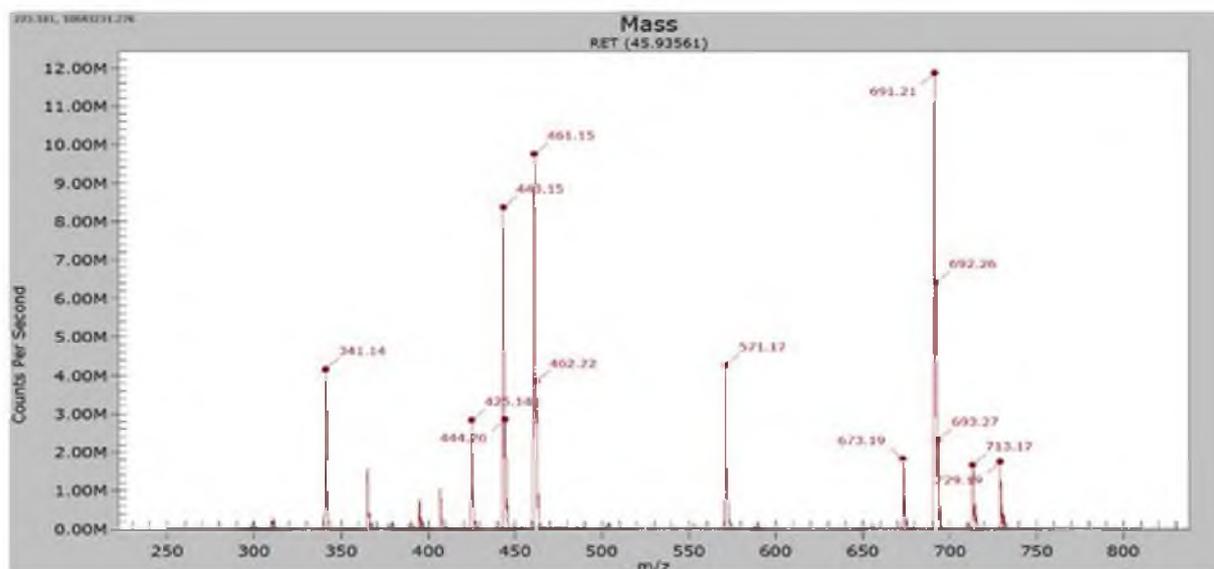


HMBC



7) Масс-спектр:

2''',3'''-диацетилэмбинин	729.29 [M + K] ⁺
	713.17 [M + Na] ⁺
	691.21 [M + H] ⁺
	673.19 [(M + H) – H ₂ O] ⁺
	571.17 [(M + H) – C ₈ H ₇ O] ⁺
	461.15 [(M + H) – C ₁₀ H ₁₅ O ₇] ⁺
	443.15 [(M + H) – C ₁₀ H ₁₅ O ₇ – H ₂ O] ⁺
	425.14 [(M + H) – C ₁₀ H ₁₅ O ₇ – 2H ₂ O] ⁺



ESI масс-спектр 2''',3'''-диацетилэмбинина с использованием положительного режима ионизации.

СПРАВОЧНО:

- 1) Группа соединений: С-гликозид флавоноидов;
- 2) Масса: 5 мг
- 3) Статус: известное для растения
- 4) Прогноз фармакологической активности Way2Drug

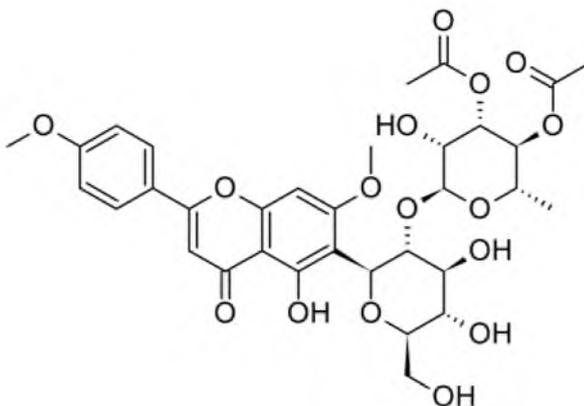
Pa	Pi	Activity
0,996	0,001	Hypoglycemic
0,978	0,003	Mutagenic
0,968	0,002	Chemopreventive
0,957	0,002	Monophenol monooxygenase inhibitor
0,949	0,001	Antimutagenic
0,948	0,002	Skin whitener
0,914	0,002	Cytostatic
0,907	0,002	NOS2 expression inhibitor
0,905	0,005	Transcription factor NF kappa B inhibitor
0,900	0,004	Antihypercholesterolemic
0,892	0,005	Carcinogenic
0,877	0,005	Cyclophilin D inhibitor
0,877	0,005	Antidiabetic
0,872	0,003	Lipid peroxidase inhibitor
0,859	0,003	Proliferative diseases treatment
0,858	0,003	Antihypoxic
0,858	0,004	Antioxidant
0,856	0,004	Radioprotector
0,856	0,005	TNF expression inhibitor
0,847	0,003	DNA damaging
0,835	0,003	Vasodilator, coronary
0,832	0,002	Amylase inhibitor
0,843	0,016	Alpha-glucosidase inhibitor
0,826	0,003	Antibacterial
0,811	0,013	Antiinflammatory
0,811	0,013	Apoptosis agonist
0,802	0,004	Sensitization
0,803	0,010	Teratogen
0,793	0,008	CYP2C9 substrate
0,785	0,004	Cytotoxic
0,791	0,011	Embryotoxic
0,785	0,005	Caspase 9 stimulant
0,779	0,003	UGT1A1 substrate
0,778	0,004	Angiogenesis stimulant
0,747	0,004	Cardioprotectant
0,744	0,005	UGT1A9 substrate
0,737	0,005	Free radical scavenger
0,733	0,004	Antiparasitic
0,724	0,002	Alkylator
0,735	0,015	CYP3A4 substrate
0,729	0,009	Respiratory analeptic
0,704	0,005	Histamine release inhibitor
0,700	0,003	Antihelmintic

ПАСПОРТ СУБСТАНЦИИ ПЛ 22

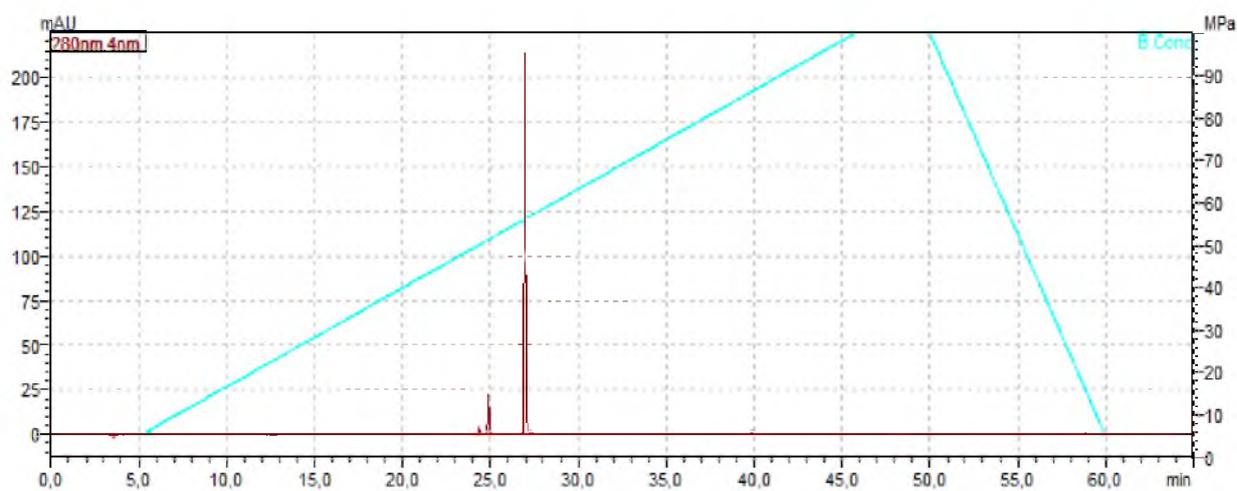
1) Код субстанции: ПЛ 22

2) Название соединения: 3''',4''' диацетилэмбинин

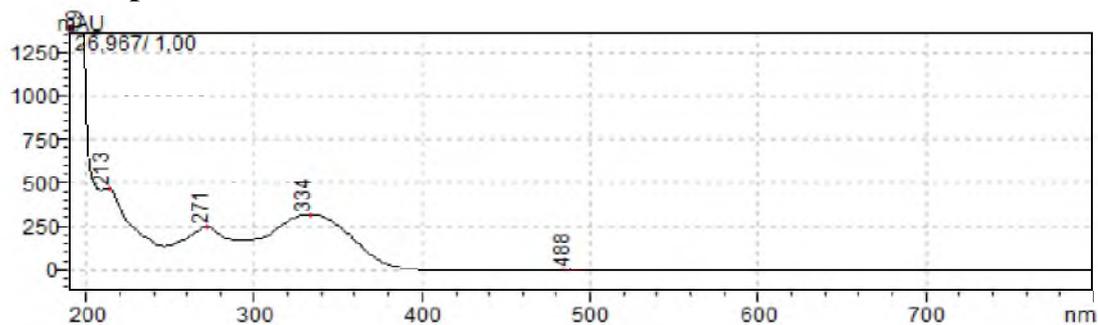
3) Структурная формула соединения:



4) ВЭЖХ:

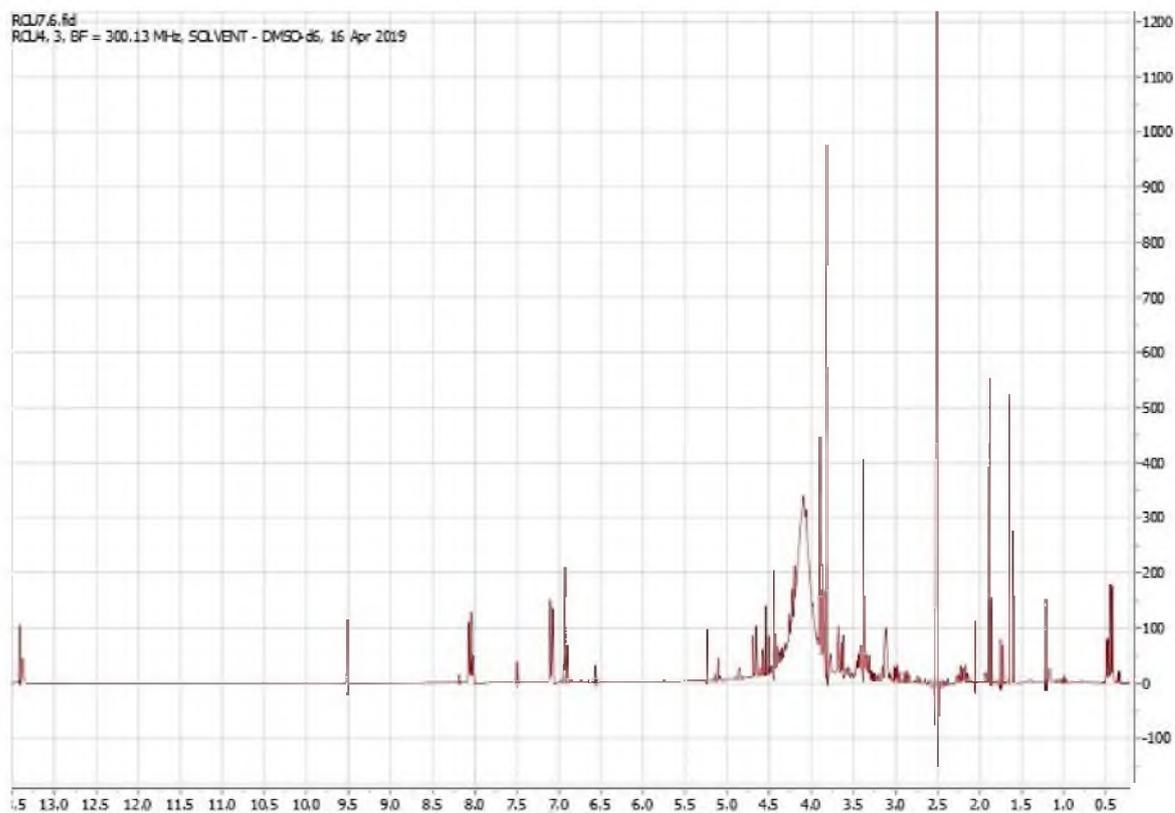
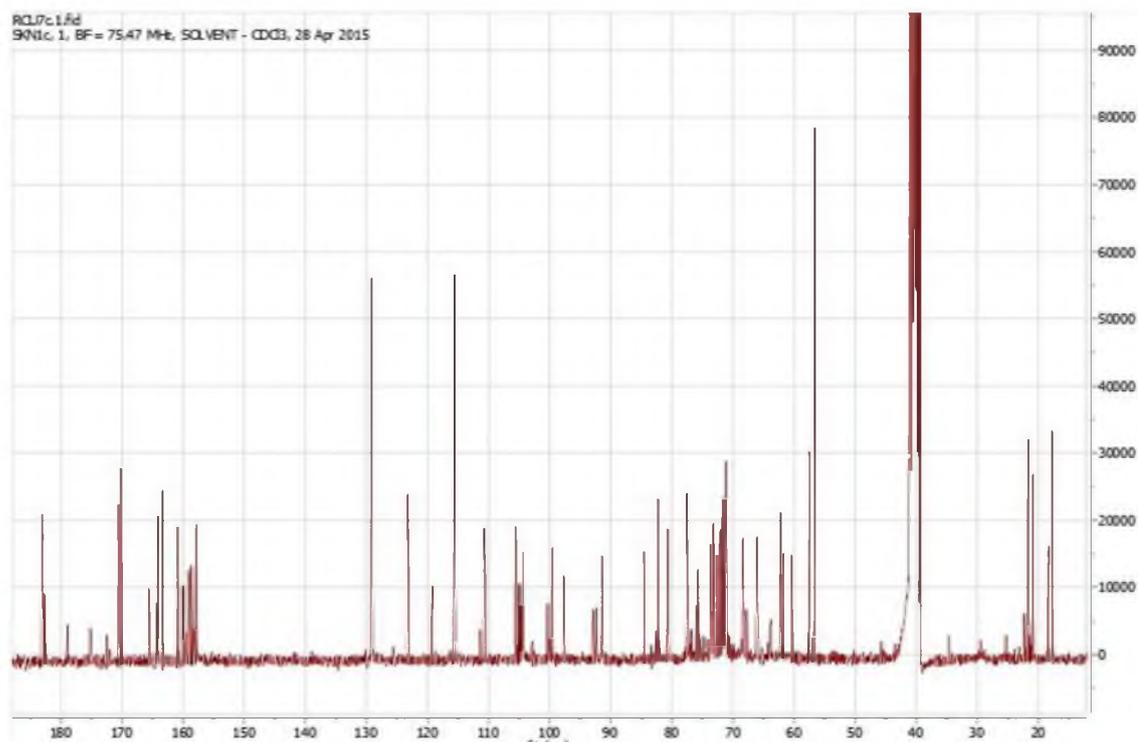


5) УФ-спектр:

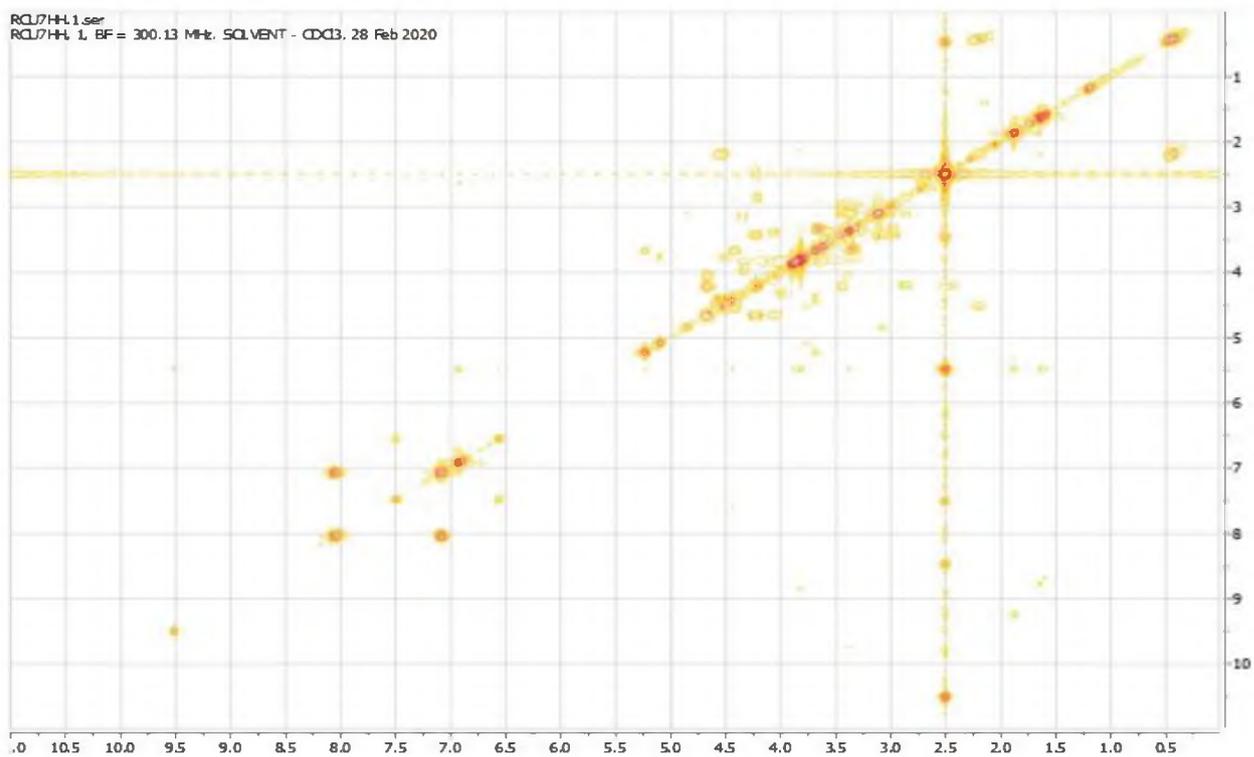


Максимумы УФ-спектров: 271,334 нм

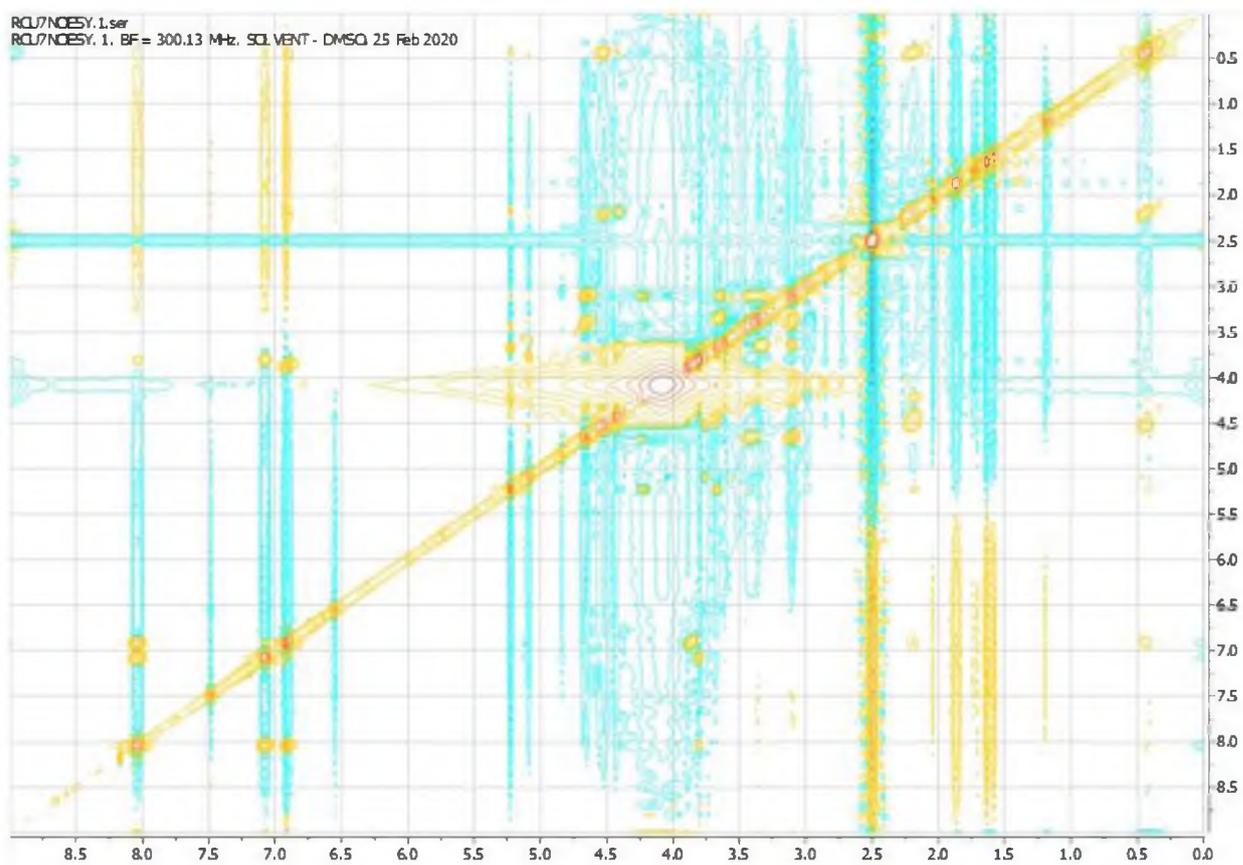
6) ЯМР-спектры:

 ^1H  ^{13}C 

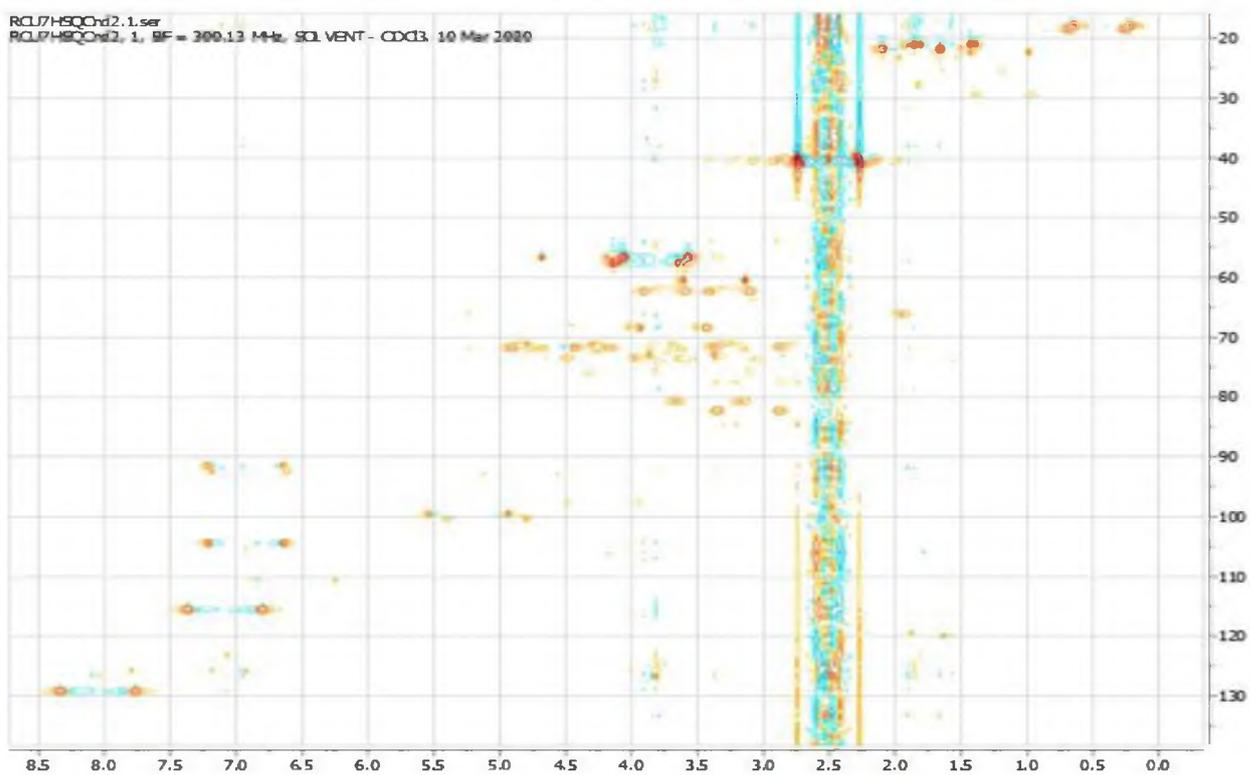
COSY



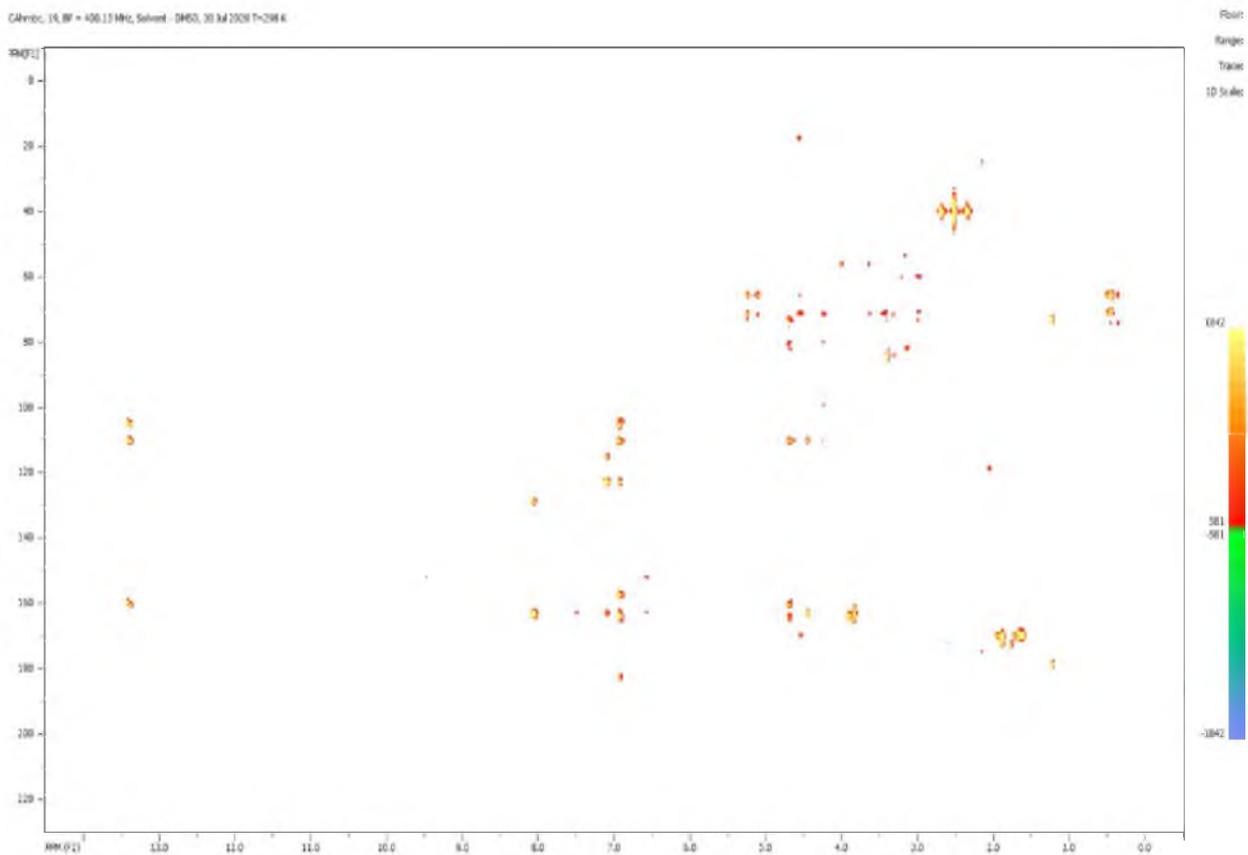
NOESY



HSQC

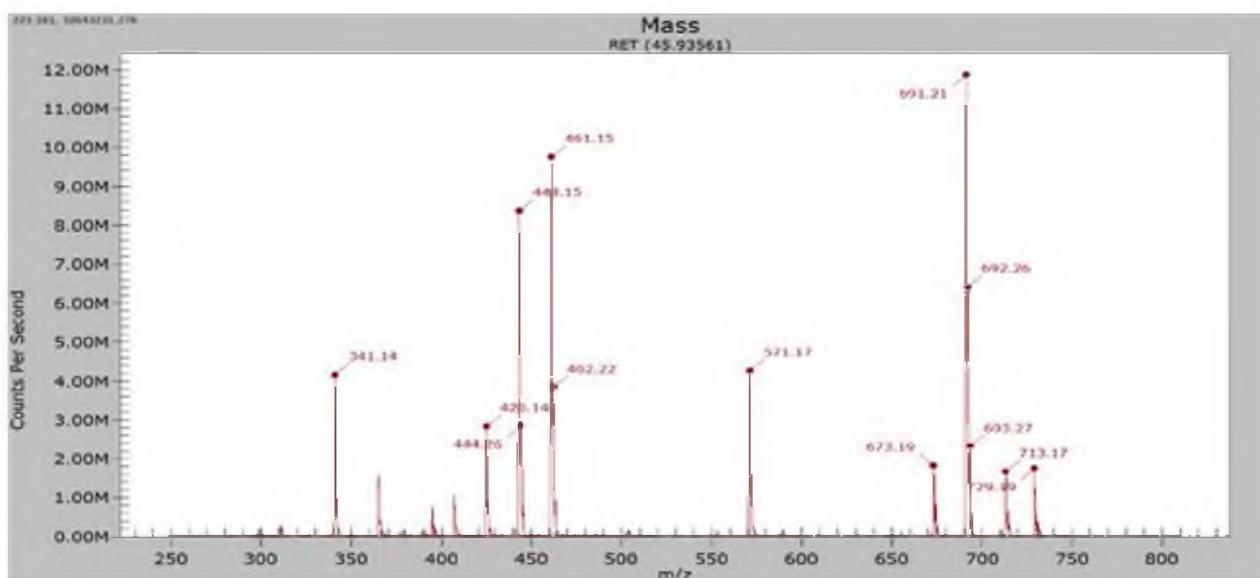


HMBC



7) Масс-спектр:

3'''',4'''-диацетилэмбинин	729.29 [M + K] ⁺
	713.17 [M + Na] ⁺
	691.21 [M + H] ⁺
	673.19 [(M + H) – H ₂ O] ⁺
	571.17 [(M + H) – C ₈ H ₇ O] ⁺
	461.15 [(M + H) – C ₁₀ H ₁₅ O ₇] ⁺
	443.15 [(M + H) – C ₁₀ H ₁₅ O ₇ – H ₂ O] ⁺
	425.14 [(M + H) – C ₁₀ H ₁₅ O ₇ – 2H ₂ O] ⁺



ESI масс-спектр 3'''',4'''-диацетилэмбинина с использованием положительного режима ионизации.

СПРАВОЧНО:

- 1) Группа соединений: С-гликозид флавоноидов
- 2) Масса: 5 мг

3) Статус: ранее неизвестное для растения

4) Прогноз фармакологической активности Way2Drug

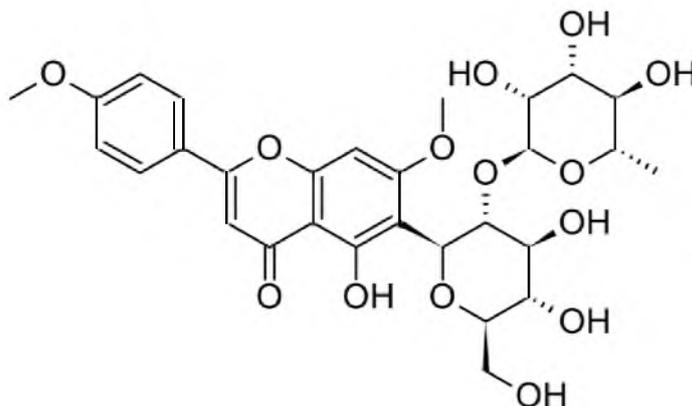
Pa	Pi	Activity
0,996	0,001	Hypoglycemic
0,981	0,003	Mutagenic
0,973	0,001	Chemopreventive
0,963	0,002	Monophenol monooxygenase inhibitor
0,957	0,001	Antimutagenic
0,954	0,001	Skin whitener
0,932	0,003	Antihypercholesterolemic
0,924	0,004	Transcription factor NF kappa B inhibitor
0,918	0,002	NOS2 expression inhibitor
0,918	0,002	Cytostatic
0,911	0,002	Proliferative diseases treatment
0,901	0,005	Carcinogenic
0,887	0,003	Lipid peroxidase inhibitor
0,886	0,005	Antidiabetic
0,886	0,005	Cyclophilin D inhibitor
0,873	0,002	Antihypoxic
0,872	0,004	Antioxidant
0,870	0,004	Radioprotector
0,870	0,005	TNF expression inhibitor
0,876	0,012	Alpha-glucosidase inhibitor
0,858	0,002	DNA damaging
0,859	0,003	Vasodilator, coronary
0,856	0,002	Amylase inhibitor
0,857	0,005	CYP2C9 substrate
0,855	0,006	Teratogen
0,853	0,007	Embryotoxic
0,831	0,003	Antibacterial
0,819	0,012	Antiinflammatory
0,818	0,012	Apoptosis agonist
0,797	0,003	Angiogenesis stimulant
0,794	0,003	UGT1A1 substrate
0,791	0,004	Cytotoxic
0,778	0,004	Cardioprotectant
0,778	0,007	Caspase 9 stimulant
0,770	0,005	Sensitization
0,766	0,004	UGT1A9 substrate
0,762	0,008	Respiratory analeptic
0,761	0,013	CYP3A4 substrate
0,751	0,004	Free radical scavenger
0,741	0,002	Alkylator
0,739	0,006	Cholesterol antagonist
0,736	0,004	Antiparasitic
0,727	0,004	Genotoxic
0,721	0,004	Histamine release inhibitor
0,707	0,002	VCAM1 expression inhibitor
0,707	0,004	Apoptosis antagonist
0,706	0,003	Antihelminthic
0,703	0,005	Antipyretic

ПАСПОРТ СУБСТАНЦИИ ПЛ 23

1) Код субстанции: ПЛ 23

2) Название соединения: эмбинин

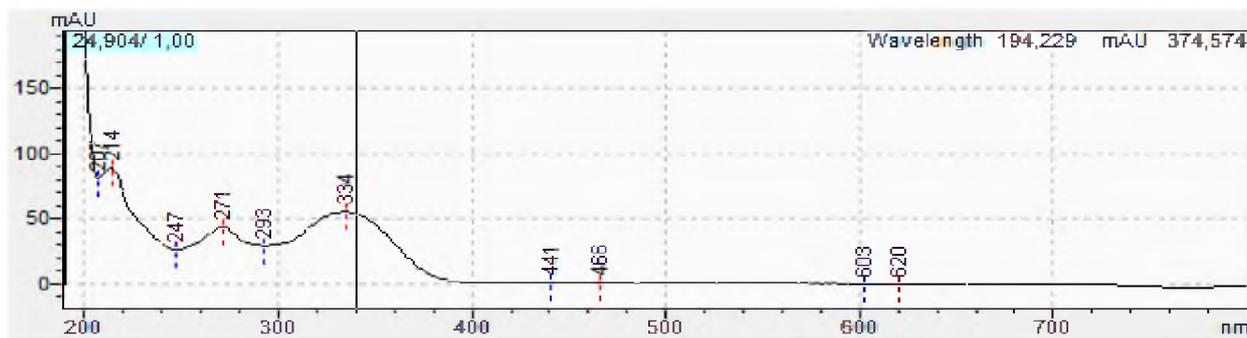
3) Структурная формула соединения:



4) ВЭЖХ:



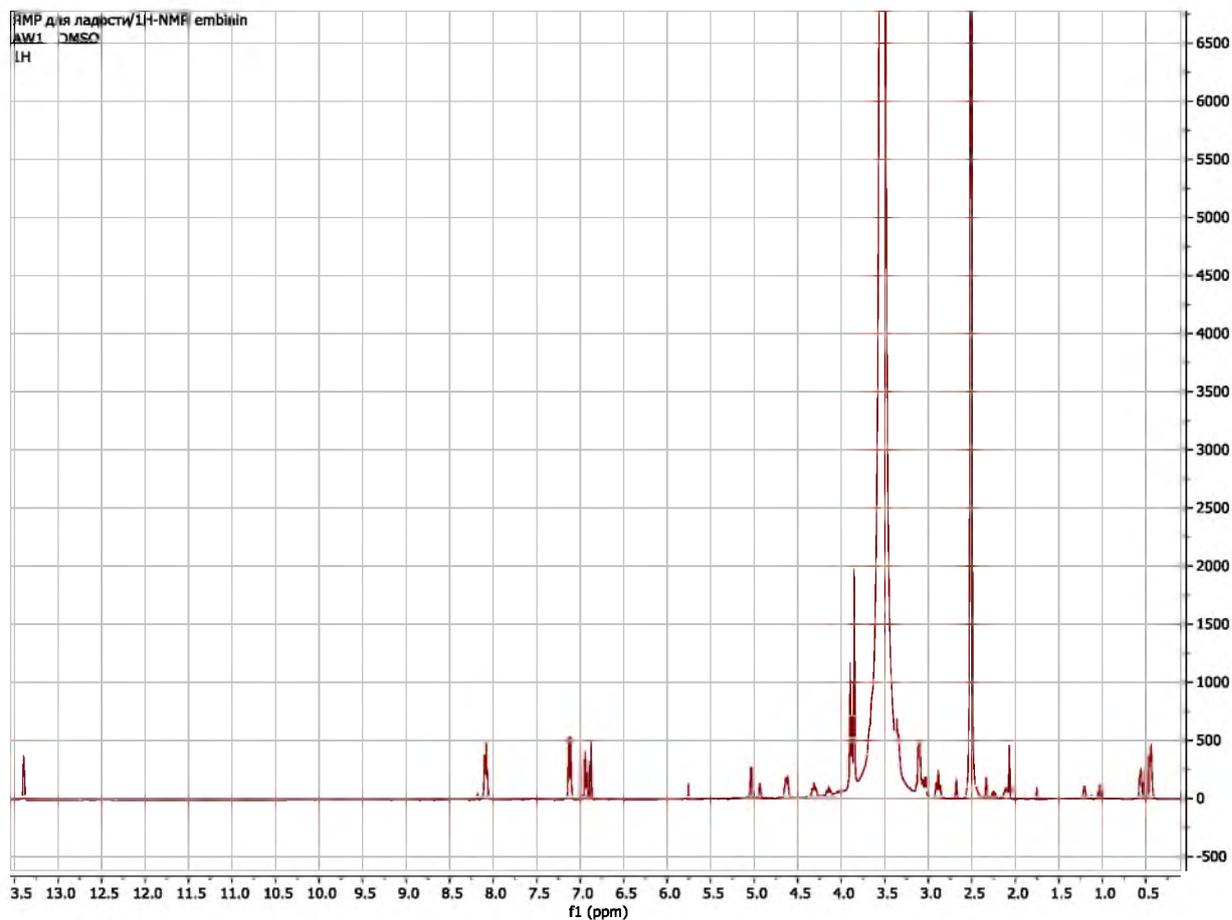
5) УФ-спектр:



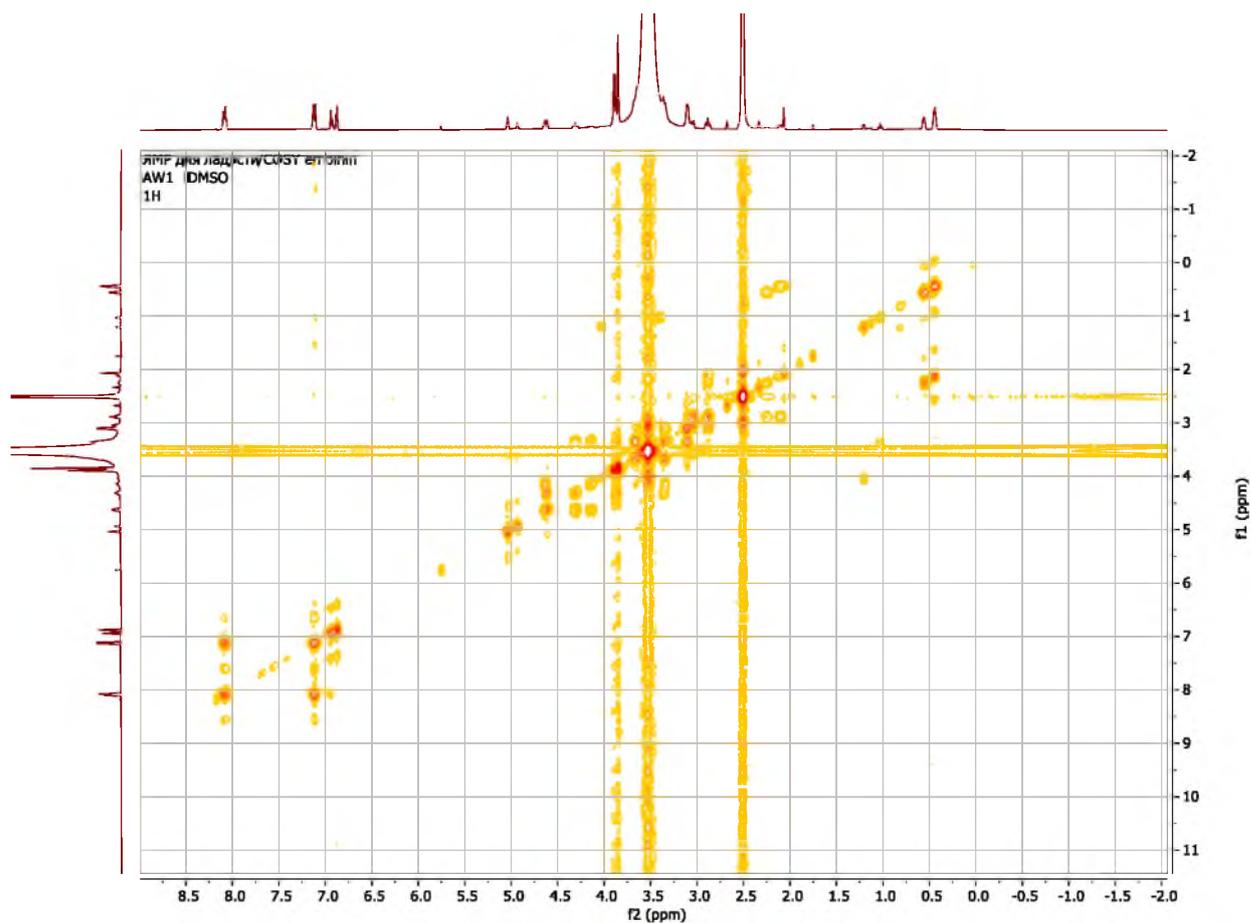
Максимумы УФ-поглощения: 214, 271, 334 нм

б) ЯМР-спектры:

^1H

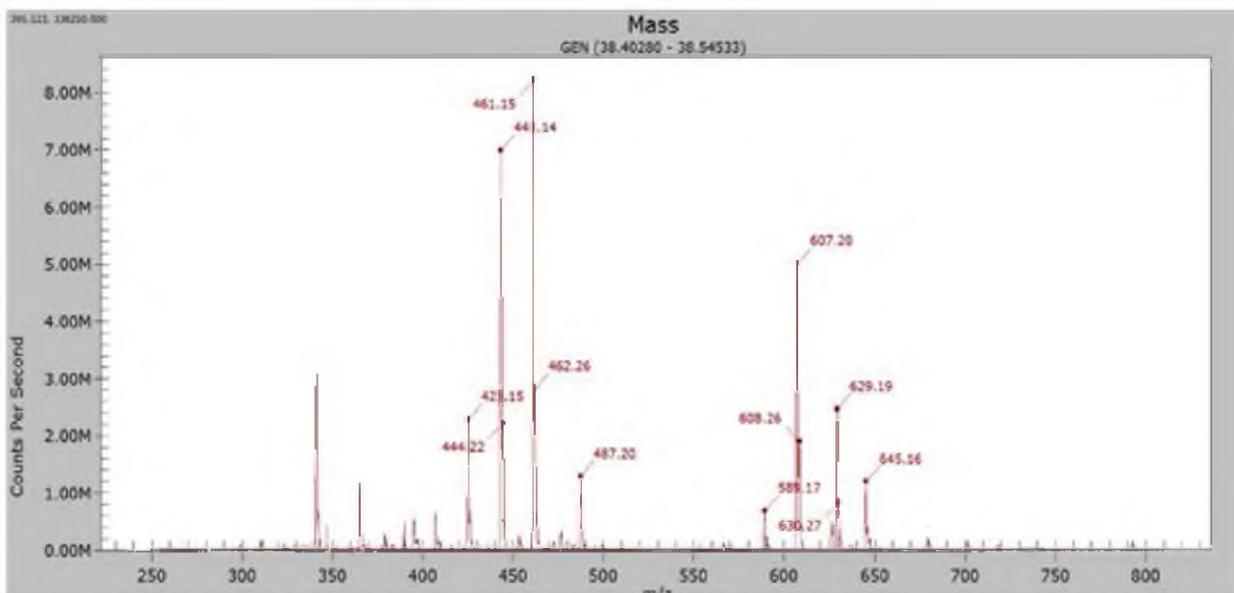


COSY



7) Масс-спектр:

Эмбинин	654.16 $[M + K]^+$
	629.19 $[M + Na]^+$
	607.20 $[M + H]^+$
	673.19 $[(M + H) - H_2O]^+$
	487.20 $[(M + H) - C_8H_7O]^+$
	461.15 $[(M + H) - C_6H_{11}O_4]^+$
	443.14 $[(M + H) - C_6H_{11}O_5]^+$
	425.15 $[(M + H) - C_6H_{11}O_5 - H_2O]^+$



ESI масс-спектр эмбинина с использованием положительного режима ионизации.

СПРАВОЧНО:

- 1) **Группа соединений:** С-гликозид флавоноидов
- 2) **Масса:** 3 мг
- 3) **Статус:** известное для растения
- 4) **Прогноз фармакологической активности Way2Drug**

Pa	Pi	Activity
0,993	0,002	Hypoglycemic
0,974	0,001	Antimutagenic
0,964	0,003	Mutagenic
0,955	0,002	Chemopreventive
0,936	0,002	NOS2 expression inhibitor
0,915	0,002	Skin whitener
0,910	0,003	Cytostatic
0,907	0,001	Amylase inhibitor
0,906	0,005	Antidiabetic
0,906	0,005	Cyclophilin D inhibitor
0,897	0,003	Radioprotector
0,889	0,004	Antioxidant
0,879	0,002	Antihypoxic
0,880	0,003	Genotoxic
0,878	0,002	Monophenol monooxygenase inhibitor
0,878	0,003	UGT1A9 substrate
0,877	0,004	Antihypercholesterolemic
0,875	0,007	Transcription factor NF kappa B inhibitor
0,866	0,013	Alpha-glucosidase inhibitor
0,850	0,003	Angiogenesis stimulant

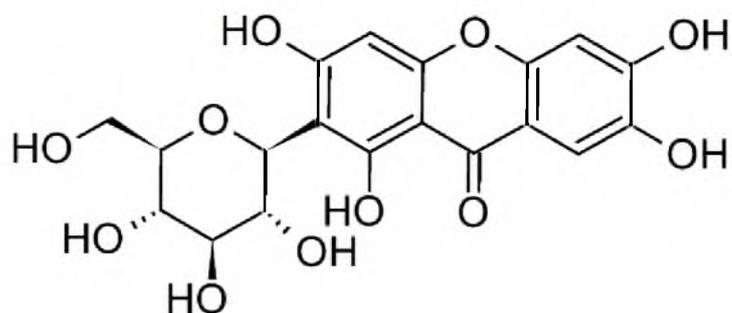
0,845	0,003	Vasodilator, coronary
0,826	0,002	UGT1A1 substrate
0,821	0,009	Carcinogenic
0,813	0,003	Proliferative diseases treatment
0,809	0,004	Cardioprotectant
0,813	0,013	Antiinflammatory
0,785	0,004	Histamine release inhibitor
0,784	0,006	Caspase 9 stimulant
0,779	0,005	Antibacterial
0,785	0,015	Apoptosis agonist
0,771	0,004	Lipid peroxidase inhibitor
0,769	0,003	DNA damaging
0,766	0,004	Free radical scavenger
0,769	0,009	TNF expression inhibitor
0,749	0,014	Teratogen
0,723	0,004	Apoptosis antagonist
0,725	0,016	Embryotoxic
0,707	0,004	Antiparasitic

ПАСПОРТ СУБСТАНЦИИ IL2

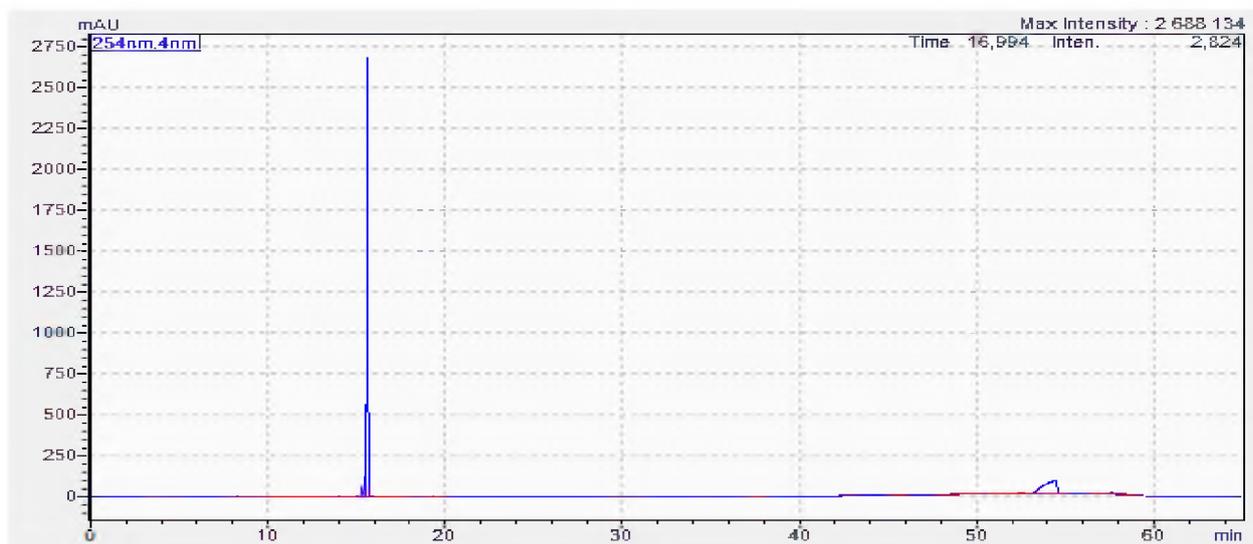
1) Код субстанции: IL2

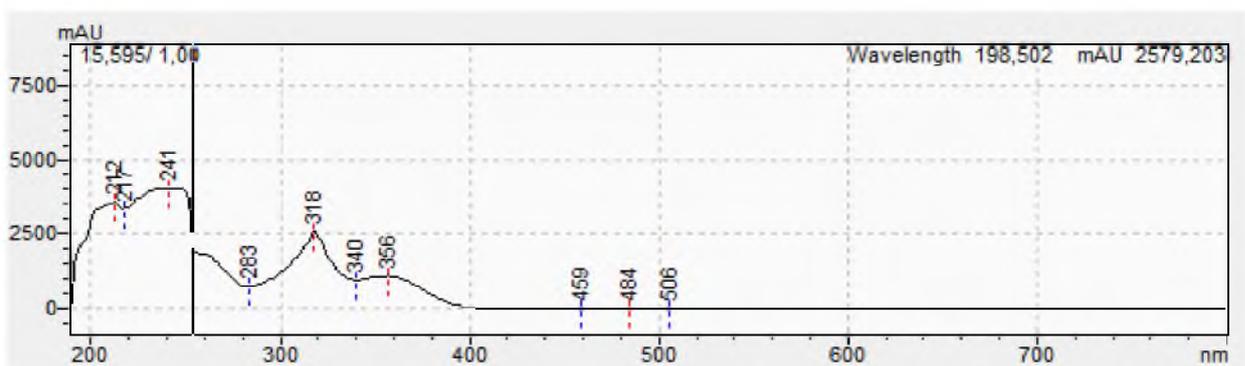
2) Название соединения: мангиферин

3) Формула соединения:

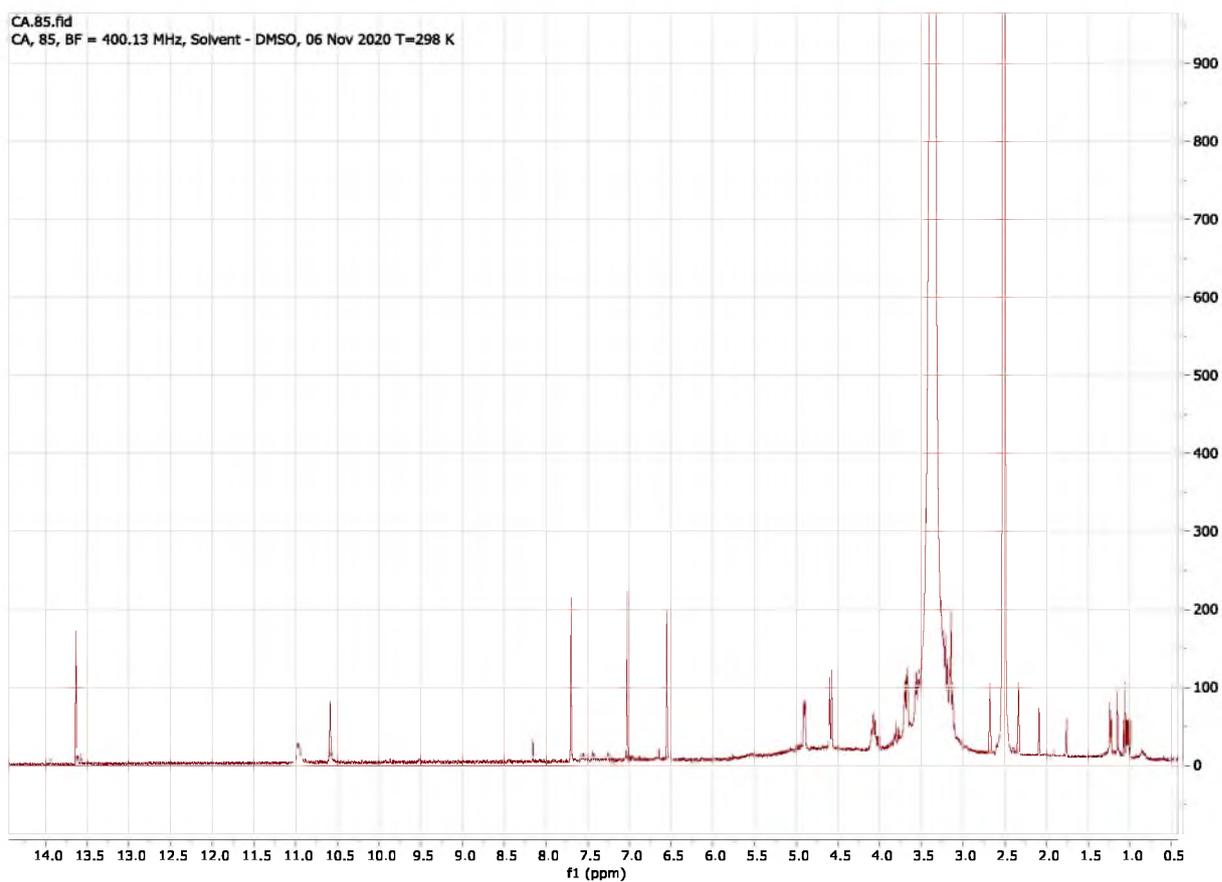


4) ВЭЖХ:



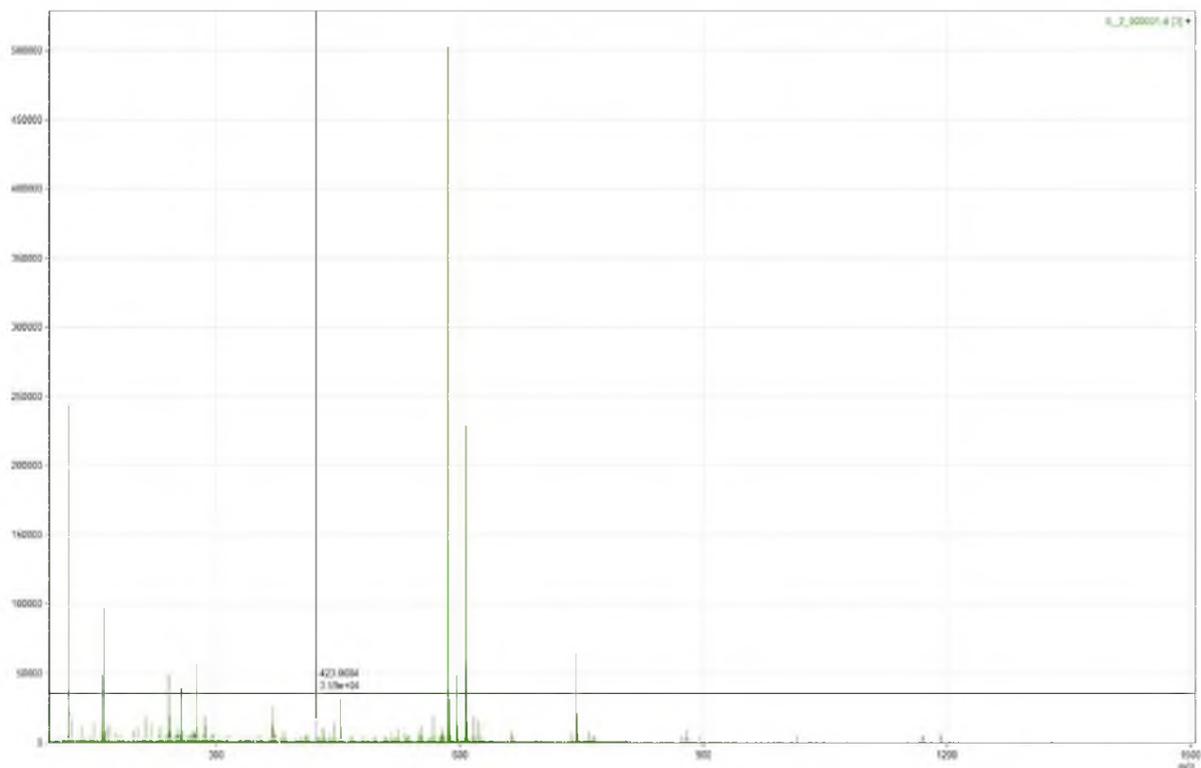
5) УФ-спектр:

Максимумы УФ-поглощения: 241, 318, 356 нм

6) ЯМР-спектры: **^1H ЯМР**

7) Масс-спектр:

$[M+H]^+$ m/z 423.09269 (calc. 423.0927)

**СПРАВОЧНО:**

- 1) **Группа соединений:** производные ксантона
- 2) **Масса:** 3 мг
- 3) **Статус:** ранее известное для растения
- 4) **Прогноз фармакологической активности Way2Drug**

Pa	Pi	Activity
0,966	0,001	Antimutagenic
0,968	0,003	Mutagenic
0,958	0,003	Hypoglycemic
0,947	0,004	Antidiabetic
0,947	0,004	Cyclophilin D inhibitor
0,940	0,002	NOS2 expression inhibitor
0,927	0,002	Genotoxic

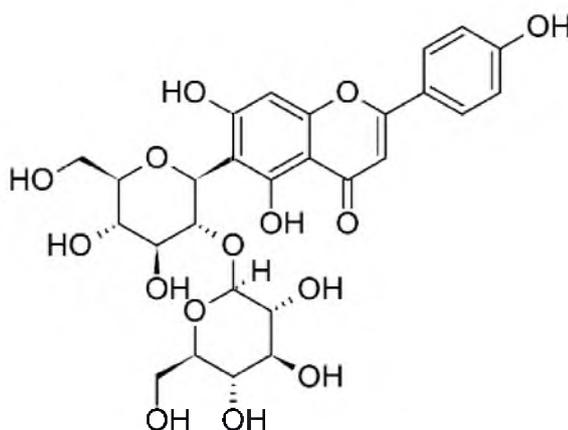
0,919	0,002	UGT1A9 substrate
0,905	0,003	Radioprotector
0,906	0,009	Alpha-glucosidase inhibitor
0,897	0,003	Cytostatic
0,886	0,003	Chemopreventive
0,874	0,004	Antioxidant
0,873	0,006	Carcinogenic
0,859	0,002	Skin whitener
0,838	0,002	UGT1A1 substrate
0,838	0,003	Cardioprotectant
0,825	0,004	Vasodilator, coronary
0,819	0,003	Monophenol monooxygenase inhibitor
0,810	0,013	Apoptosis agonist
0,797	0,004	Free radical scavenger
0,796	0,004	AR expression inhibitor
0,796	0,005	Caspase 9 stimulant
0,786	0,012	Transcription factor NF kappa B inhibitor
0,763	0,003	Amylase inhibitor
0,764	0,004	Histamine release inhibitor
0,747	0,005	Antidiabetic (type 2)
0,748	0,008	Antihypercholesterolemic
0,739	0,004	Angiogenesis stimulant
0,726	0,003	Aldehyde dehydrogenase inhibitor
0,722	0,005	Proliferative diseases treatment
0,735	0,023	Antiinflammatory
0,703	0,005	UDP-glucuronosyltransferase substrate
0,701	0,004	Antihypertriglyceridemic
0,702	0,006	NOS3 expression inhibitor
0,708	0,016	Teratogen

ПАСПОРТ СУБСТАНЦИИ IL3

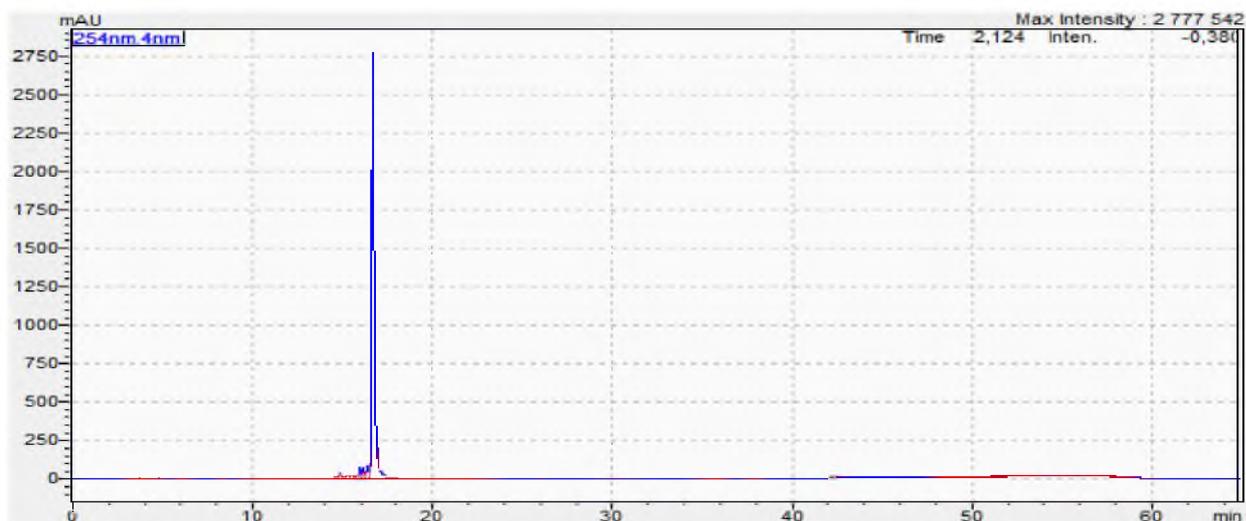
1) Код субстанции: IL3

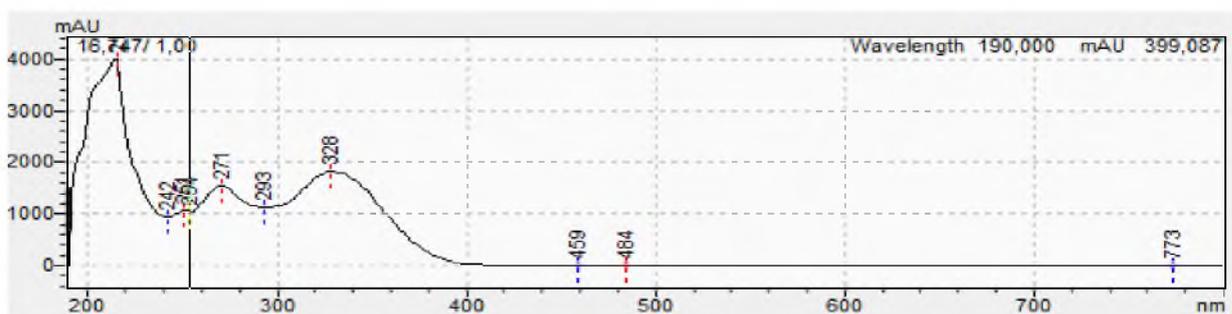
2) Название соединения: апигенин-6-С-(2''-β-D-глюкопиранозил)-β-D-глюкозид

3) Формула соединения:

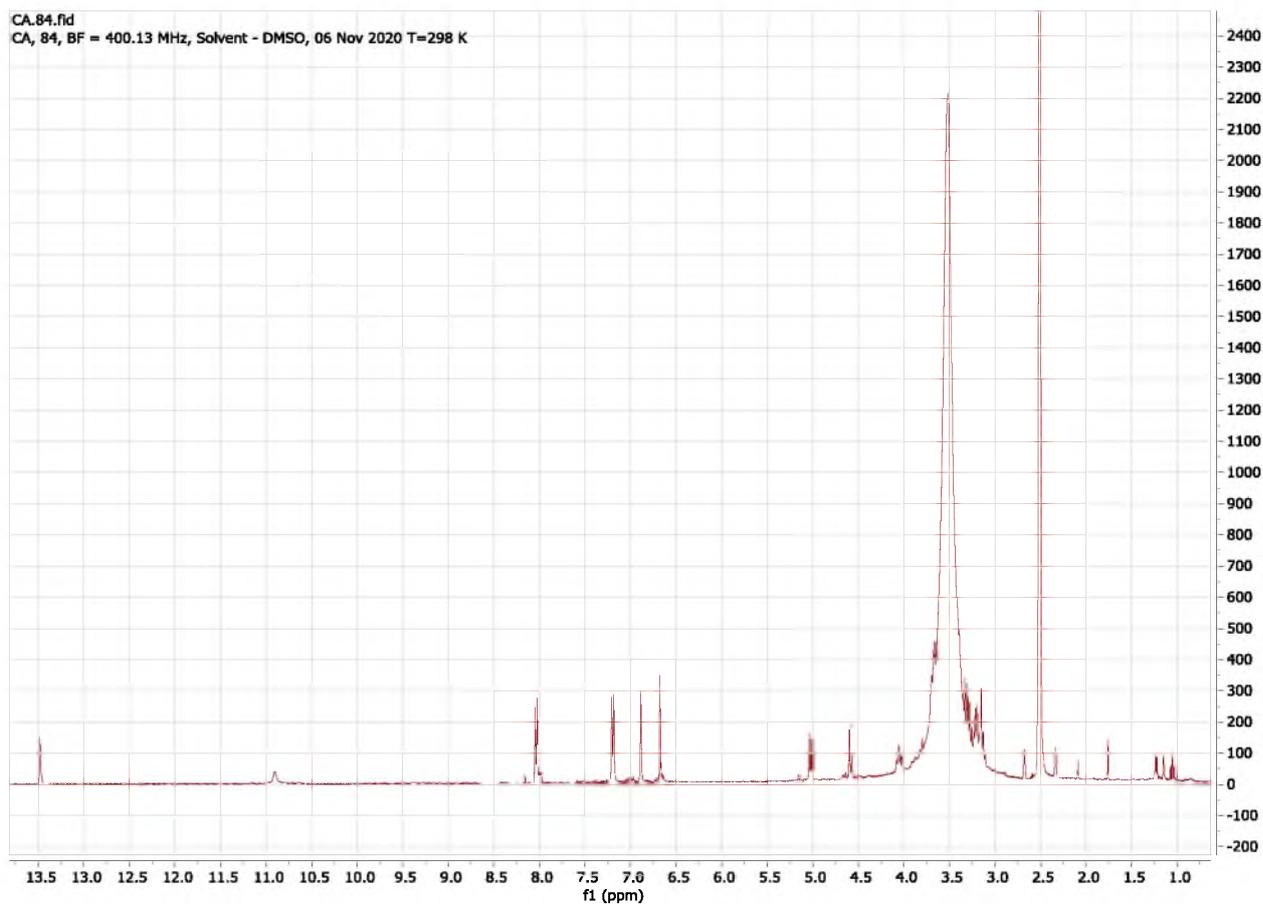


4) ВЭЖХ:



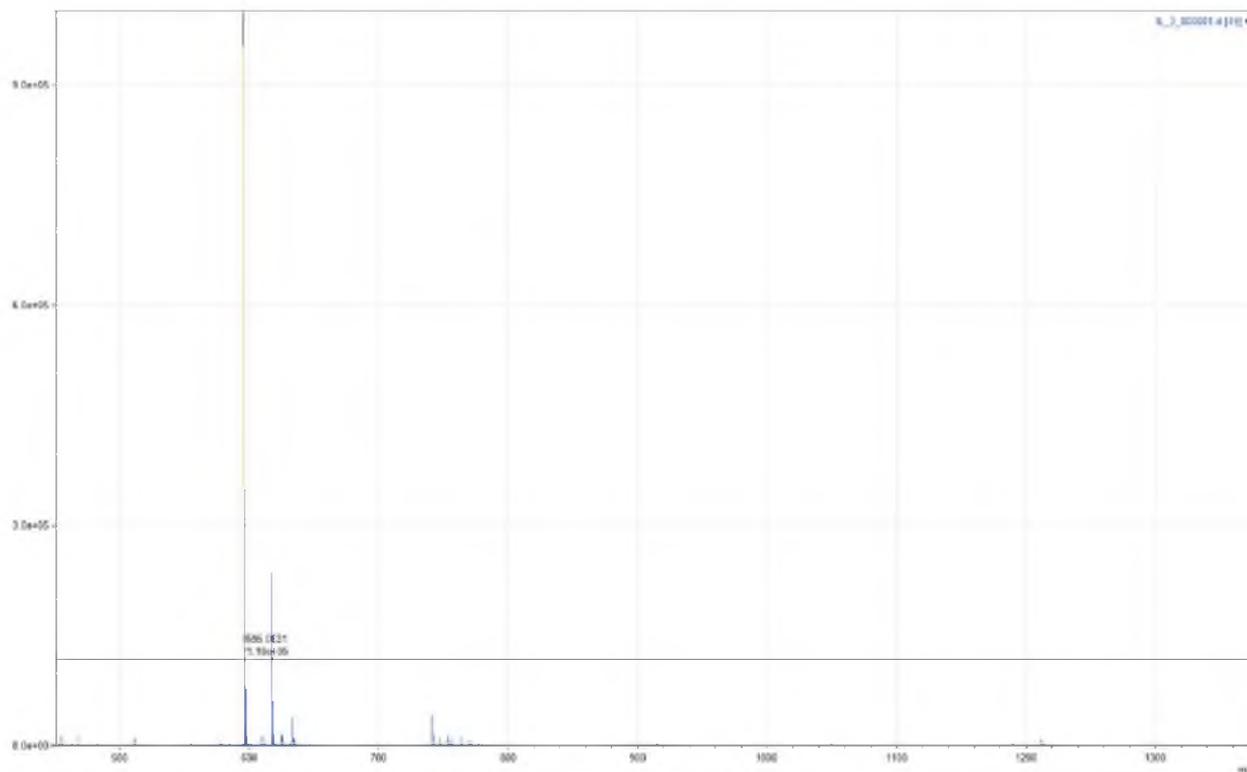
5) УФ-спектр:

Максимумы УФ-поглощения: 254, 271, 328 нм

6) ЯМР-спектры:**¹H ЯМР**

7) Масс-спектр:

$[M+H]^+$ m/z 595.16610 9 (calc. 595.1663)

**СПРАВОЧНО:**

- 1) **Группа соединений:** С-гликозид флавоноидов
- 2) **Масса:** 3 мг
- 3) **Статус:** ранее неизвестное для растения
- 4) **Прогноз фармакологической активности Way2Drug**

Pa	Pi	Activity
0,995	0,001	Hypoglycemic
0,986	0,002	Mutagenic
0,982	0,001	Antimutagenic
0,981	0,001	Monophenol monooxygenase inhibitor
0,964	0,001	NOS2 expression inhibitor
0,961	0,002	Genotoxic
0,960	0,001	UGT1A9 substrate
0,957	0,001	Skin whitener
0,954	0,002	Vasodilator, coronary
0,941	0,004	Cyclophilin D inhibitor

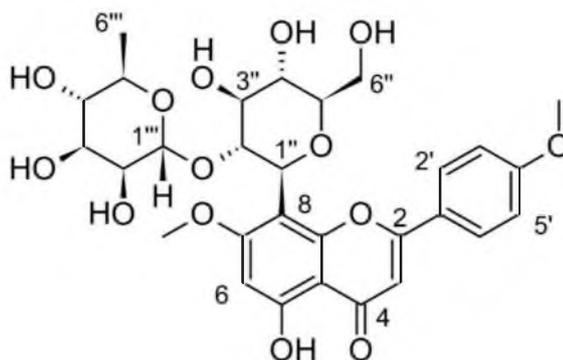
0,941	0,004	Antidiabetic
0,934	0,001	Amylase inhibitor
0,935	0,002	Chemopreventive
0,924	0,002	Radioprotector
0,915	0,003	Antioxidant
0,913	0,001	UGT1A1 substrate
0,914	0,004	Carcinogenic
0,912	0,003	Antihypercholesterolemic
0,912	0,005	Transcription factor NF kappa B inhibitor
0,895	0,003	Cytostatic
0,891	0,002	Antihypoxic
0,884	0,011	Alpha-glucosidase inhibitor
0,854	0,003	Cardioprotectant
0,841	0,003	Sulfotransferase substrate
0,841	0,003	AR expression inhibitor
0,839	0,006	TNF expression inhibitor
0,835	0,003	Proliferative diseases treatment
0,830	0,004	Free radical scavenger
0,834	0,010	Apoptosis agonist
0,811	0,004	Caspase 9 stimulant
0,817	0,013	Antiinflammatory
0,797	0,004	Lipid peroxidase inhibitor
0,770	0,004	NOS3 expression inhibitor
0,767	0,004	Histamine release inhibitor
0,767	0,004	Angiogenesis stimulant
0,755	0,005	Antibacterial
0,758	0,013	Teratogen
0,743	0,004	DNA damaging
0,737	0,004	Antihypertriglyceridemic
0,723	0,003	Aldehyde dehydrogenase inhibitor
0,734	0,015	Embryotoxic
0,716	0,004	Vascular (periferal) disease treatment
0,706	0,003	NOS3 expression enhancer
0,706	0,005	UDP-glucuronosyltransferase substrate
0,705	0,004	Apoptosis antagonist
0,705	0,004	Hypoxia inducible factor 1 alpha inhibitor
0,704	0,005	Hepatic disorders treatment

ПАСПОРТ СУБСТАНЦИИ IL9

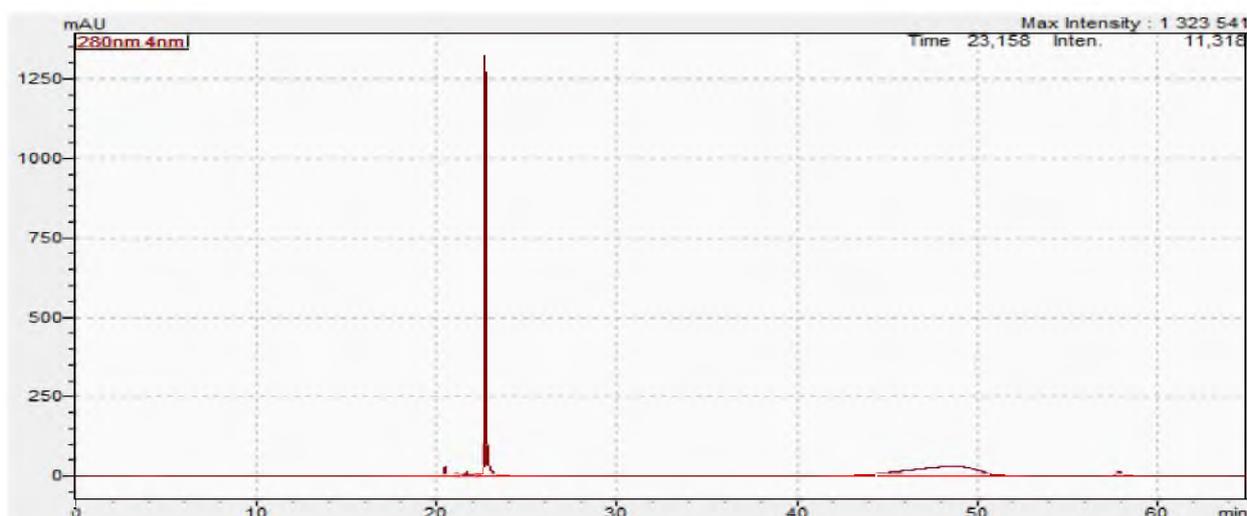
1) Код субстанции: IL9

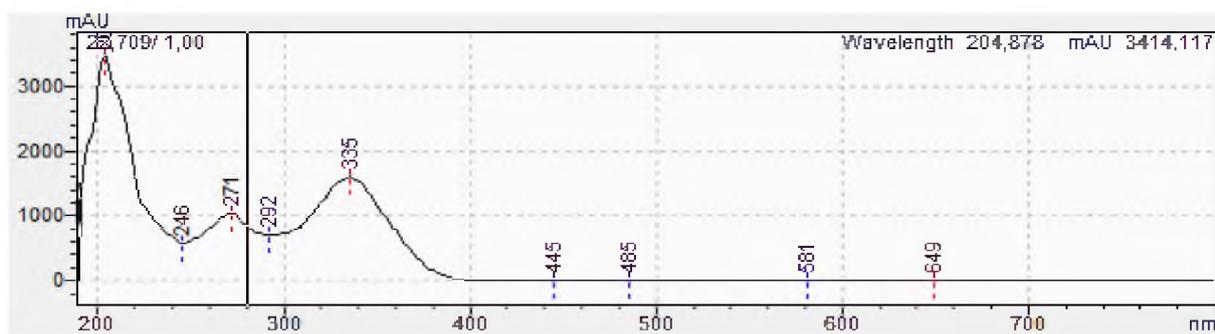
2) Название соединения: 5-гидрокси-7,4'-диметоксифлавоон-8-С-(2''-О- α -L-рамнопиранозил)- β -D-глюкопиранозид (изоэмбинин)

3) Формула соединения:

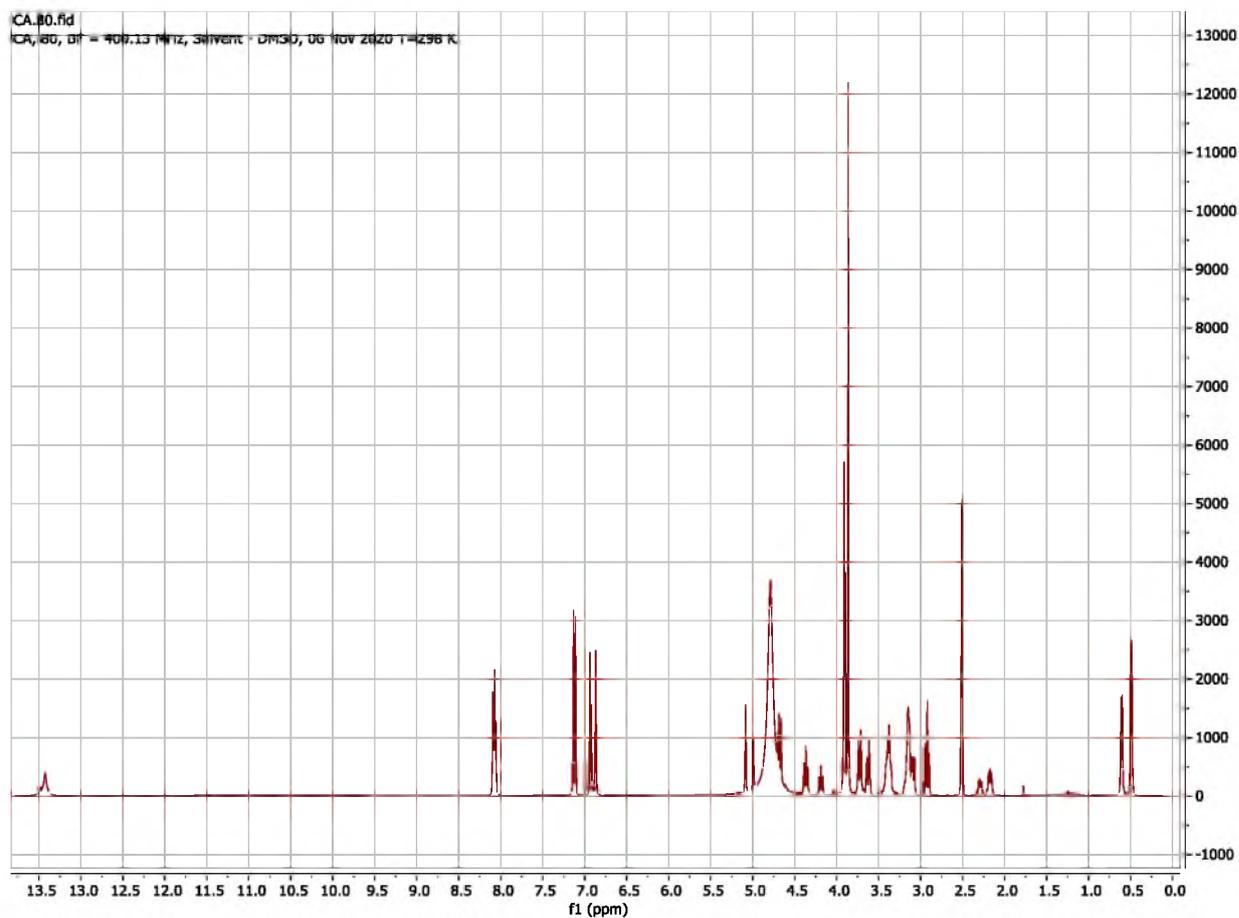


4) ВЭЖХ:

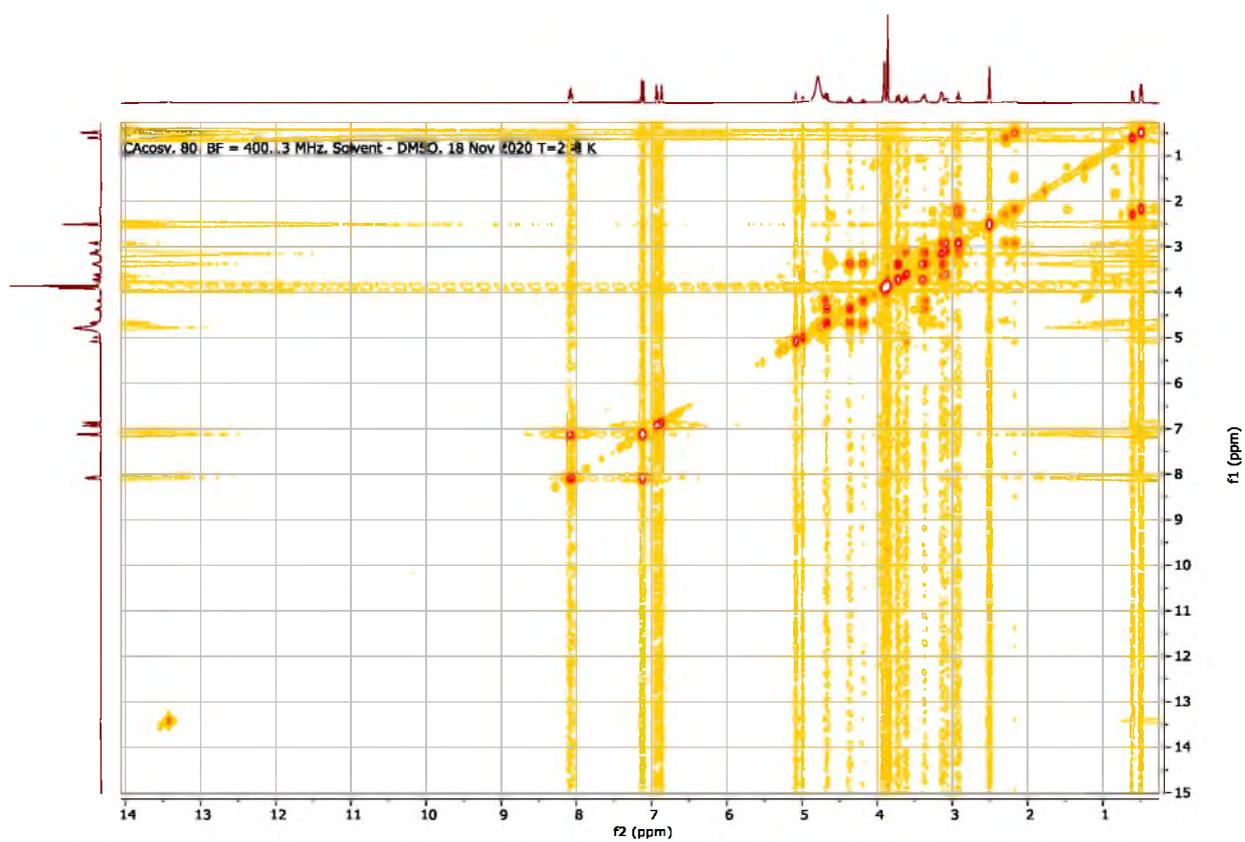


5) УФ-спектр:

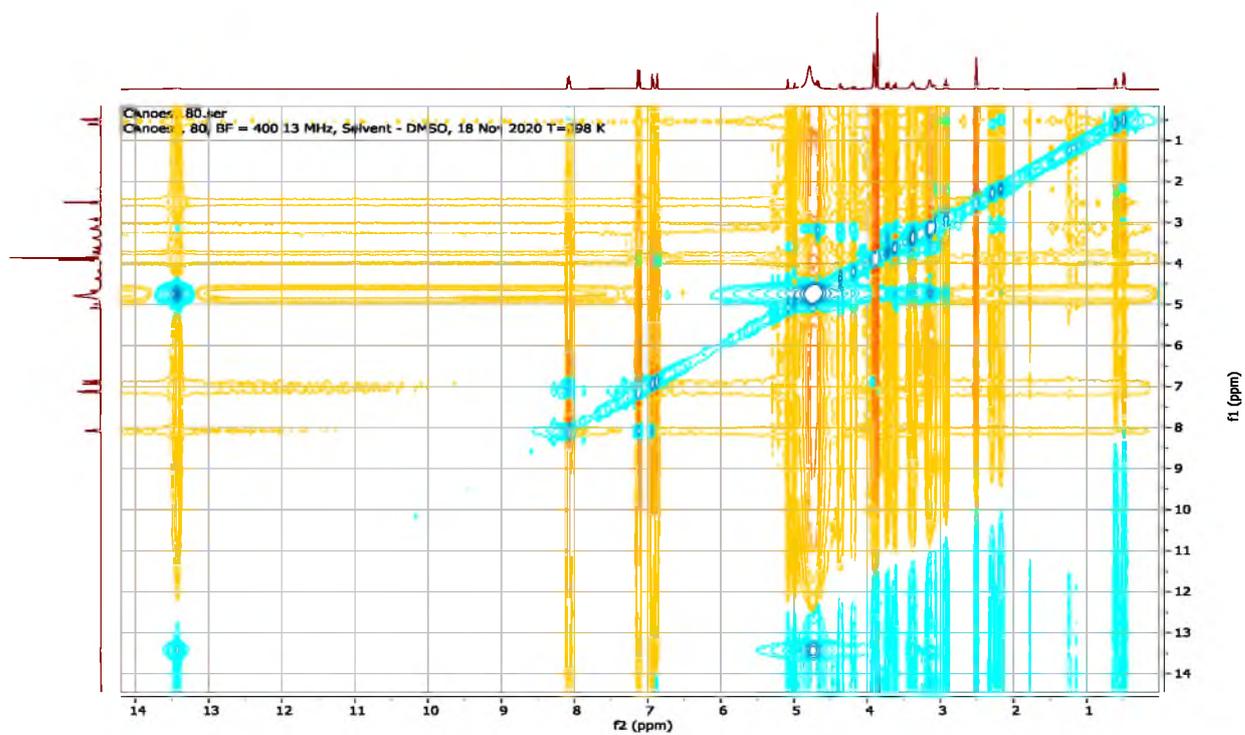
Максимумы УФ-поглощения: 271, 335 нм

6) ЯМР-спектры: **^1H ЯМР**

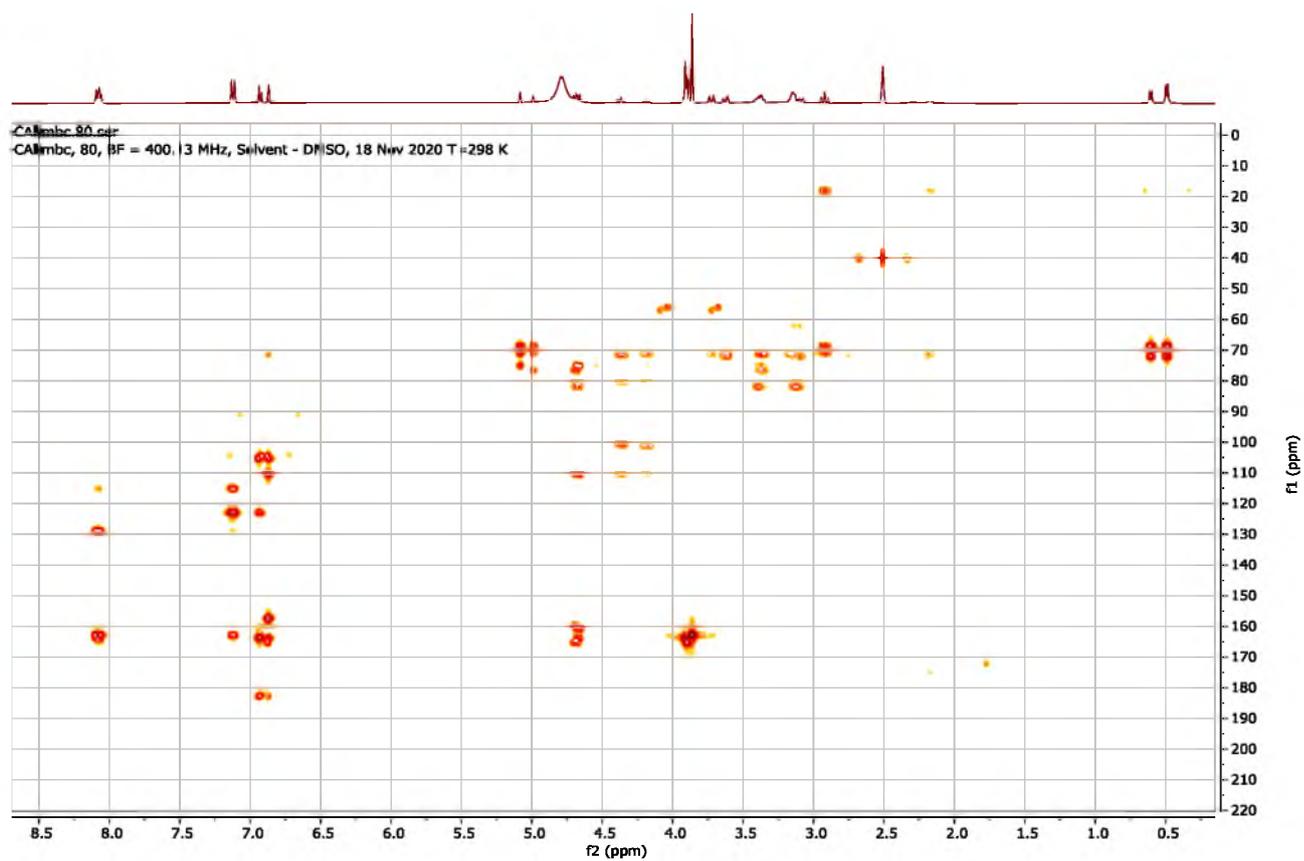
COSY



NOESY

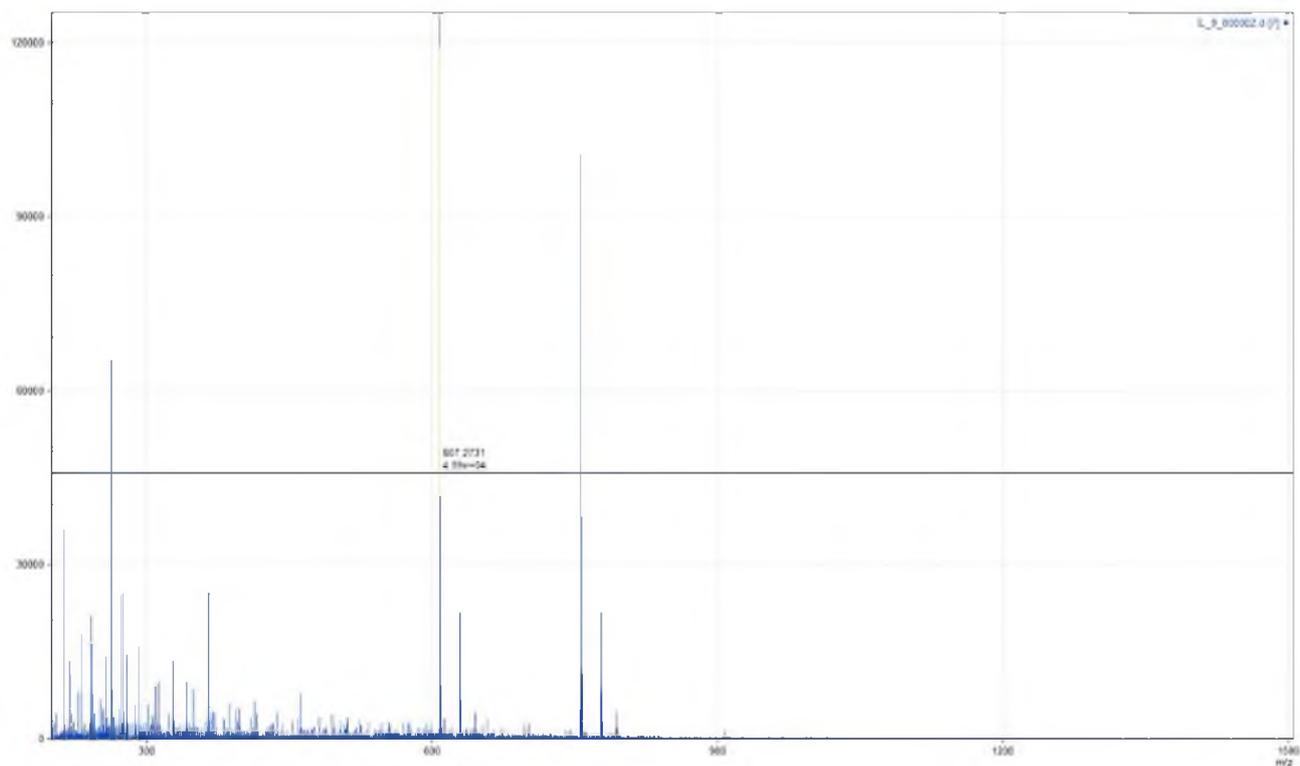


HMBC



9) Масс-спектр:

$[M+H]^+$ m/z 607.20265 (calc. 607.2027)



СПРАВОЧНО:

- 1) Группа соединений:** С-гликозид флавоноидов
- 2) Масса:** 8 мг
- 3) Статус:** новое природное соединение
- 4) Прогноз фармакологической активности Way2Drug**

Pa	Pi	Activity
0,995	0,001	Hypoglycemic
0,980	0,001	Antimutagenic
0,976	0,003	Mutagenic
0,969	0,001	Monophenol monooxygenase inhibitor
0,961	0,001	NOS2 expression inhibitor
0,955	0,002	Chemopreventive
0,948	0,002	Skin whitener
0,929	0,001	Amylase inhibitor
0,925	0,002	UGT1A9 substrate
0,926	0,004	Transcription factor NF kappa B inhibitor
0,921	0,003	Genotoxic
0,912	0,002	Cytostatic
0,910	0,003	Vasodilator, coronary
0,907	0,003	Antihypercholesterolemic
0,905	0,003	Radioprotector
0,901	0,004	Antioxidant
0,891	0,002	Antihypoxic
0,886	0,002	UGT1A1 substrate
0,878	0,005	Cyclophilin D inhibitor
0,878	0,005	Antidiabetic
0,869	0,003	Histamine release inhibitor
0,857	0,003	Proliferative diseases treatment
0,851	0,007	Carcinogenic
0,822	0,007	TNF expression inhibitor
0,809	0,004	Cardioprotectant
0,816	0,013	Antiinflammatory
0,808	0,013	Apoptosis agonist
0,798	0,004	Lipid peroxidase inhibitor
0,797	0,003	Angiogenesis stimulant
0,793	0,003	DNA damaging
0,792	0,005	Caspase 9 stimulant
0,789	0,004	Free radical scavenger
0,786	0,004	Antibacterial
0,761	0,004	AR expression inhibitor
0,778	0,025	Alpha-glucosidase inhibitor
0,740	0,004	Apoptosis antagonist
0,738	0,014	Teratogen
0,720	0,004	Hypoxia inducible factor 1 alpha inhibitor
0,704	0,005	Antiparasitic
0,704	0,006	Cytotoxic
0,710	0,017	Embryotoxic

ПАСПОРТ СУБСТАНЦИИ ОА1

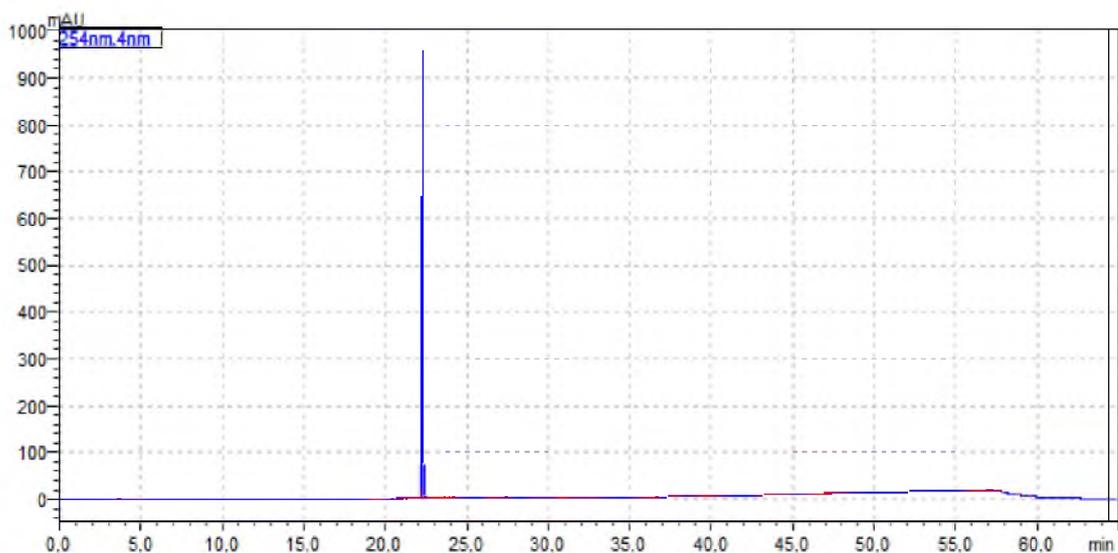
1) Код субстанции: ОА1

2) Название соединения: Псевдобаптигенин-7-О-β-D-глюкопиранозид

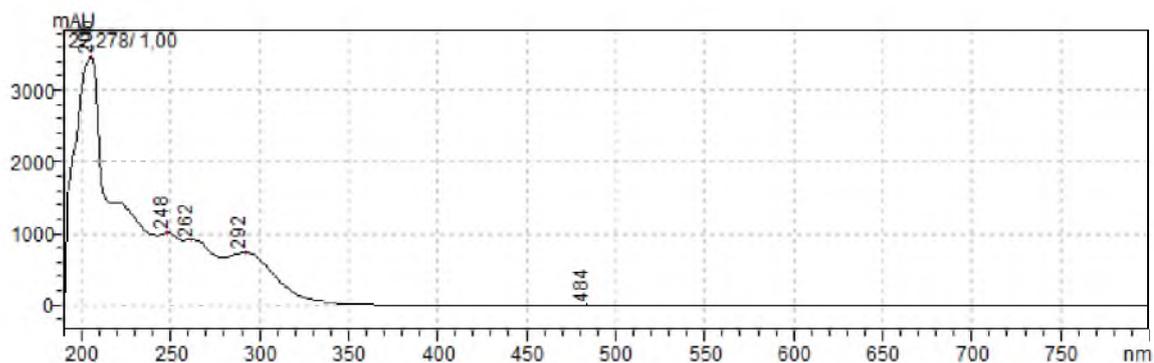
3) Формула соединения:



4) ВЭЖХ:

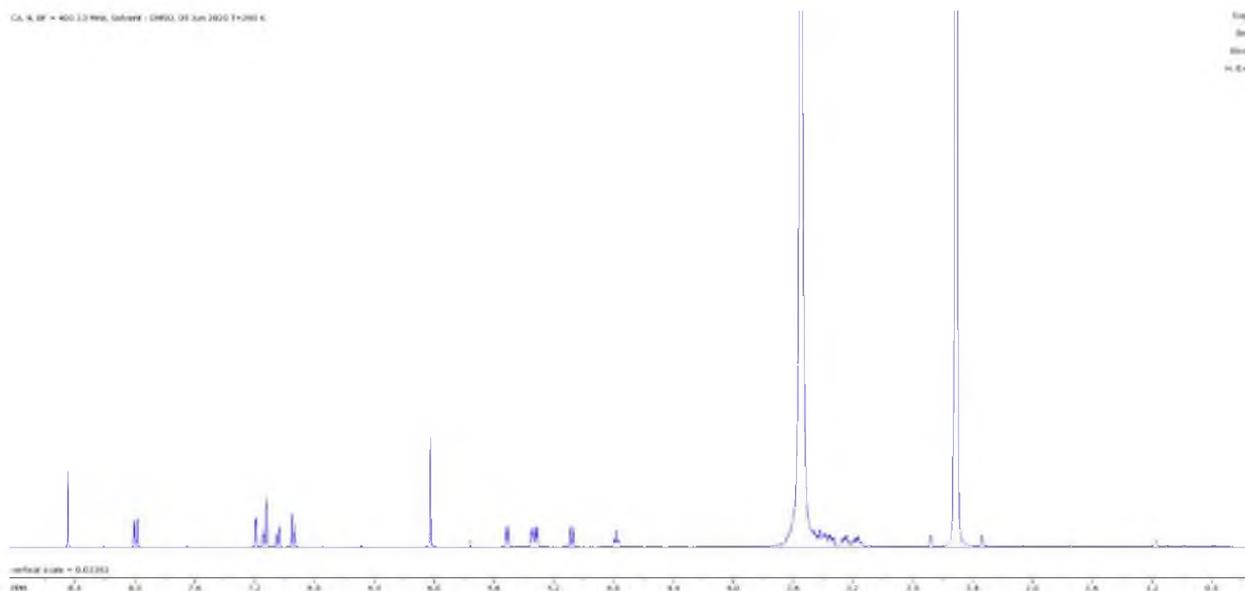


5) УФ-спектр:

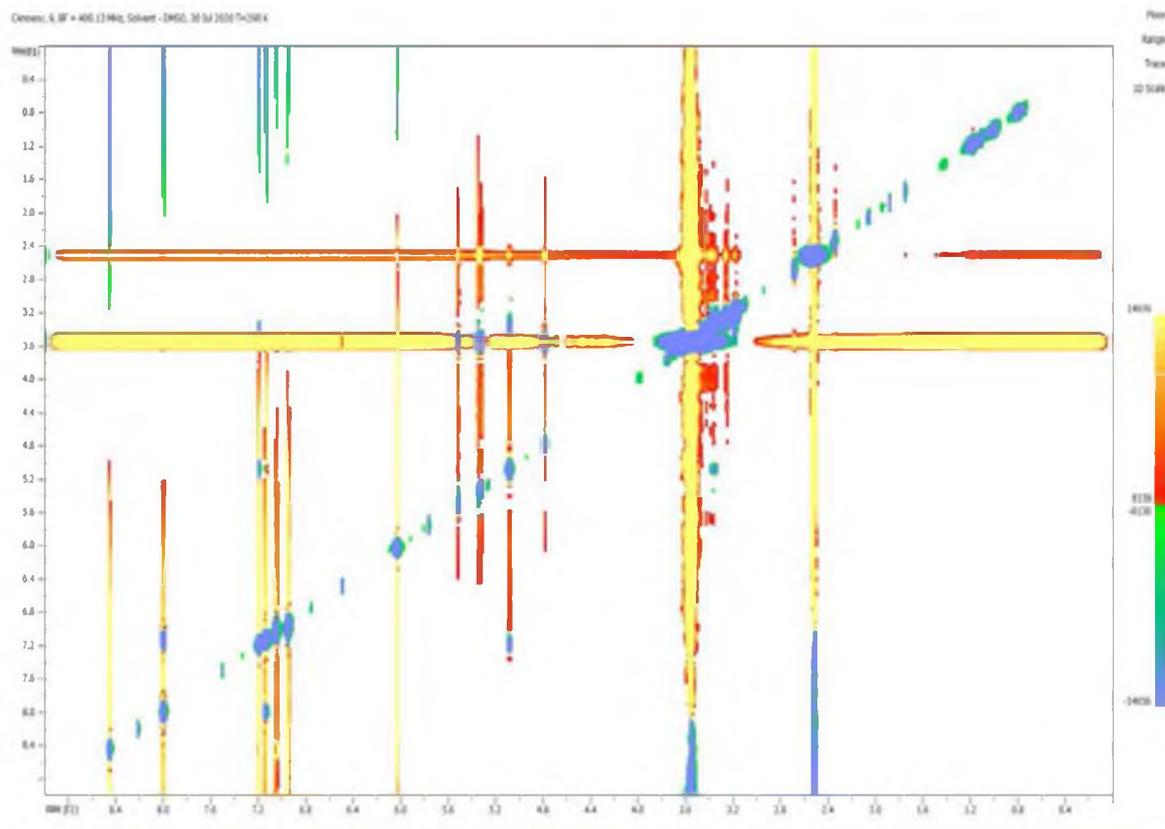


Максимумы УФ-поглощения: 248, 262, 292 нм

6) ЯМР-спектры:

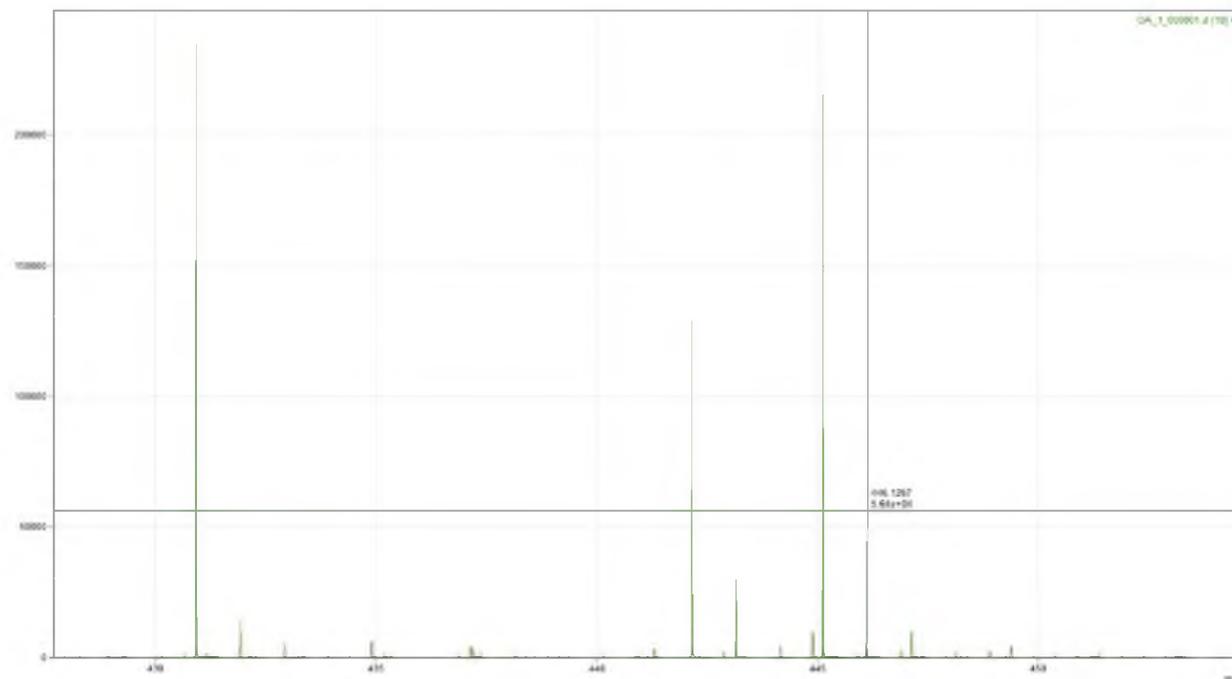
 ^1H ЯМР

NOESY



7) Масс-спектр:

$[M+H]^+$ m/z 446.12126 (calc. 446.1213)

**СПРАВОЧНО:**

1) **Группа соединений:** производное изофлавоноидов

2) **Масса:** 5,11 мг

3) **Статус:** ранее известное для растения

4) **Прогноз фармакологической активности Way2Drug**

Pa	Pi	Activity
0,944	0,001	NOS2 expression inhibitor
0,938	0,002	Antihypercholesterolemic
0,937	0,005	Alpha-glucosidase inhibitor
0,933	0,002	Vasodilator, coronary
0,915	0,003	Hypoglycemic
0,914	0,004	Mutagenic
0,895	0,003	Chemopreventive
0,893	0,001	Amylase inhibitor
0,896	0,005	Carcinogenic
0,891	0,001	Carcinogenic, group 2A
0,864	0,002	Antihypoxic
0,861	0,004	Radioprotector
0,847	0,009	Transcription factor NF kappa B inhibitor

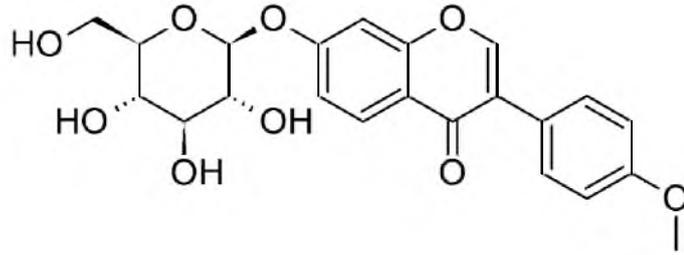
0,836	0,003	Skin whitener
0,834	0,004	Cytostatic
0,808	0,006	Respiratory analeptic
0,807	0,007	CYP2C9 substrate
0,795	0,003	Proliferative diseases treatment
0,786	0,003	Monophenol monooxygenase inhibitor
0,778	0,007	Caspase 9 stimulant
0,756	0,004	Cardioprotectant
0,754	0,003	Aldehyde dehydrogenase inhibitor
0,756	0,004	NOS3 expression inhibitor
0,764	0,018	Apoptosis agonist
0,747	0,004	Lipid peroxidase inhibitor
0,743	0,005	Antioxidant
0,743	0,015	CYP3A4 substrate
0,730	0,005	Caspase 3 stimulant
0,726	0,004	Antimutagenic
0,732	0,010	Antidiabetic
0,732	0,010	Cyclophilin D inhibitor
0,714	0,004	Genotoxic
0,711	0,004	Hypoxia inducible factor 1 alpha inhibitor
0,703	0,004	DNA damaging

ПАСПОРТ СУБСТАНЦИИ ОА2

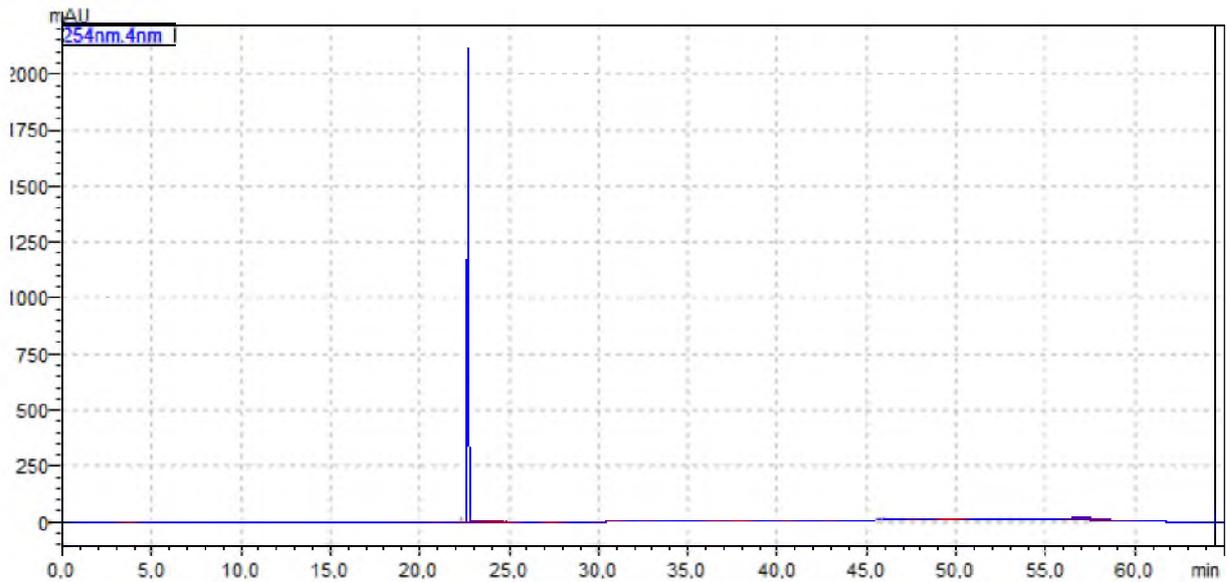
1) Код субстанции: ОА2

2) Название соединения: Формонетин-7-О-β-D-глюкопиранозид

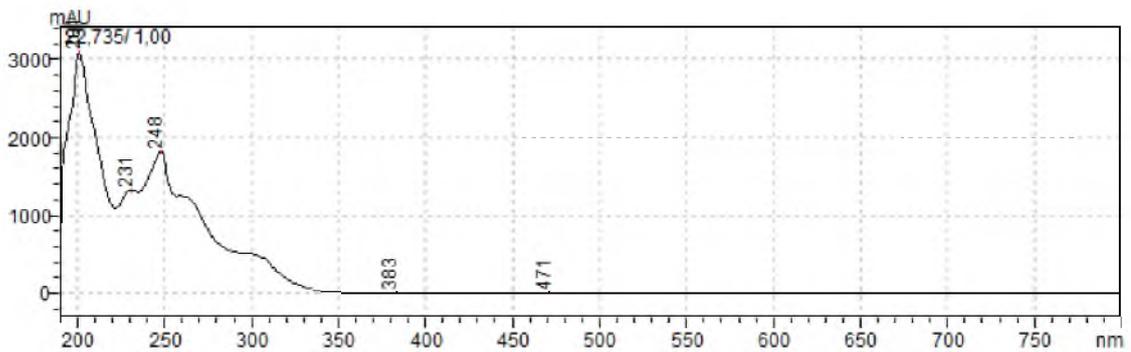
3) Формула соединения:



4) ВЭЖХ:

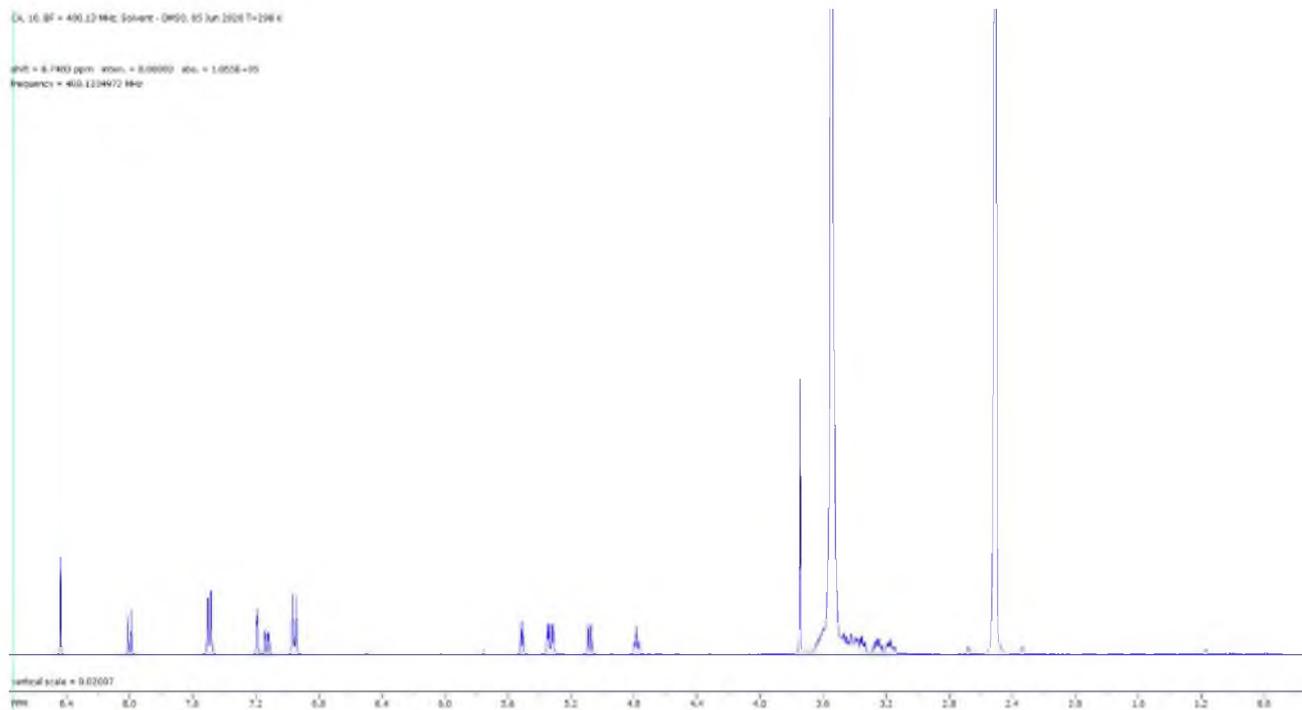


5) УФ-спектр:

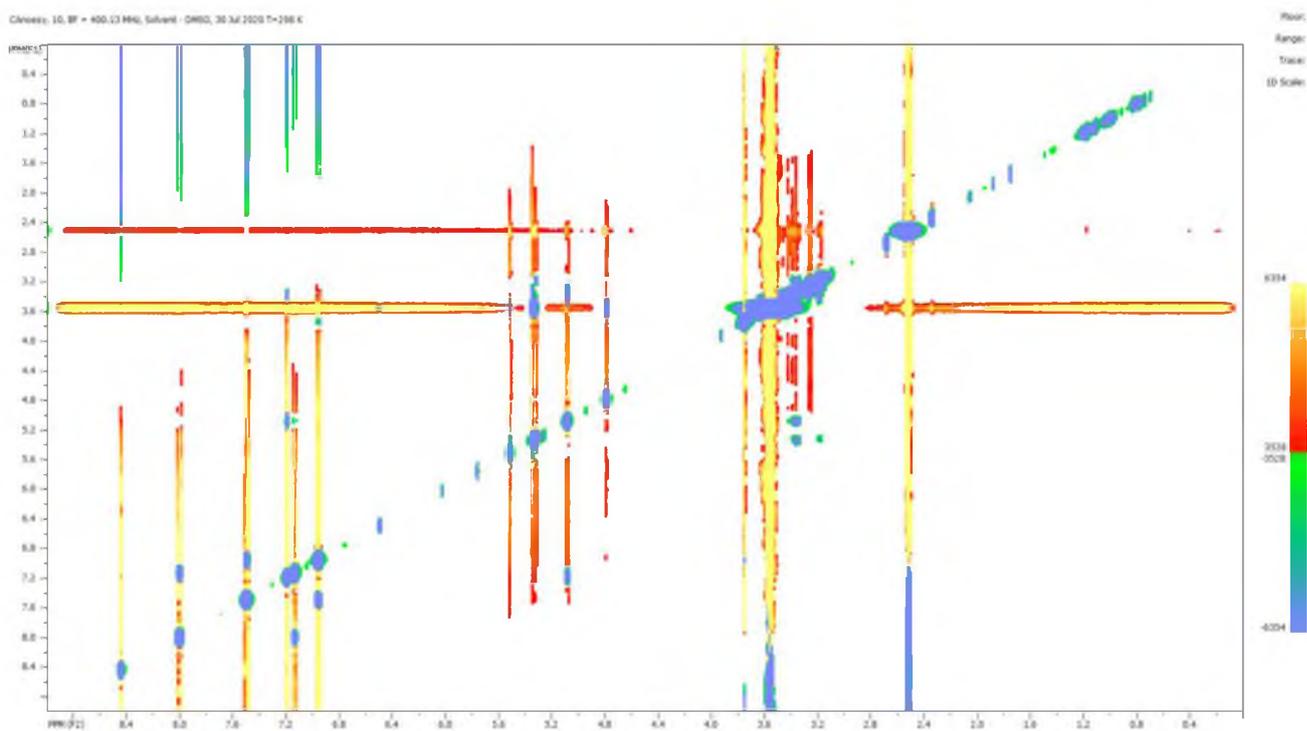


Максимумы УФ-поглощения: 231, 248, (265), (310)

6) ЯМР-спектры:

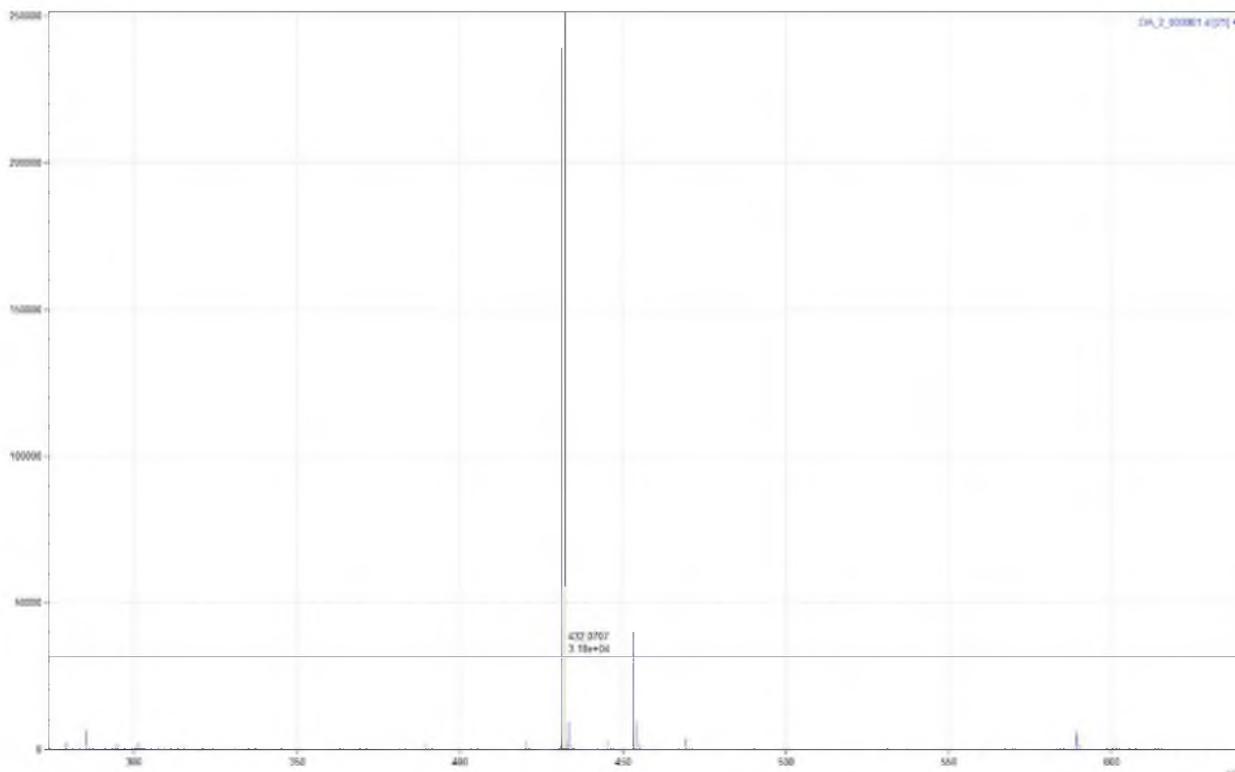
 ^1H ЯМР

NOESY



7) Масс-спектр:

$[M+H]^+$ m/z 432,14202 (calc. 432.1420)

**СПРАВОЧНО:**

1) Группа соединений: производное изофлавоноидов

2) Масса: 6,92 мг

3) Статус: ранее известное для растения

4) Прогноз фармакологической активности Way2Drug

Pa	Pi	Activity
0,937	0,002	Antimutagenic
0,931	0,001	Amylase inhibitor
0,931	0,002	NOS2 expression inhibitor
0,924	0,003	Antihypercholesterolemic
0,924	0,003	Hypoglycemic
0,900	0,003	Vasodilator, coronary
0,897	0,002	Skin whitener
0,895	0,002	Monophenol monooxygenase inhibitor

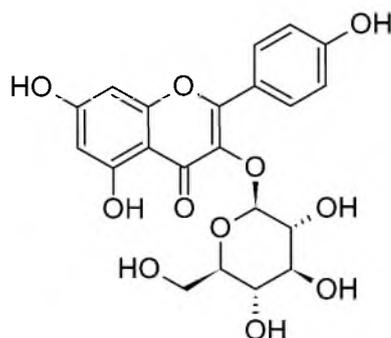
0,893	0,004	Mutagenic
0,897	0,009	Alpha-glucosidase inhibitor
0,888	0,003	Radioprotector
0,887	0,003	Chemopreventive
0,859	0,001	Aldehyde dehydrogenase inhibitor
0,849	0,005	CYP2C9 substrate
0,846	0,007	Carcinogenic
0,837	0,003	Antihypoxic
0,818	0,003	Sulfotransferase substrate
0,822	0,010	Transcription factor NF kappa B inhibitor
0,804	0,003	UGT1A1 substrate
0,806	0,005	Cytostatic
0,800	0,003	Proliferative diseases treatment
0,797	0,007	Antidiabetic
0,797	0,007	Cyclophilin D inhibitor
0,792	0,004	Cardioprotectant
0,792	0,004	NOS3 expression inhibitor
0,789	0,002	Carcinogenic, group 2A
0,772	0,004	Antioxidant
0,767	0,004	Lipid peroxidase inhibitor
0,763	0,005	CYP2C19 substrate
0,751	0,010	Caspase 9 stimulant
0,738	0,005	UGT1A9 substrate
0,751	0,021	Antiinflammatory
0,733	0,004	Angiogenesis stimulant
0,745	0,020	Apoptosis agonist
0,735	0,015	CYP3A4 substrate
0,703	0,013	TNF expression inhibitor

ПАСПОРТ СУБСТАНЦИИ ОА6

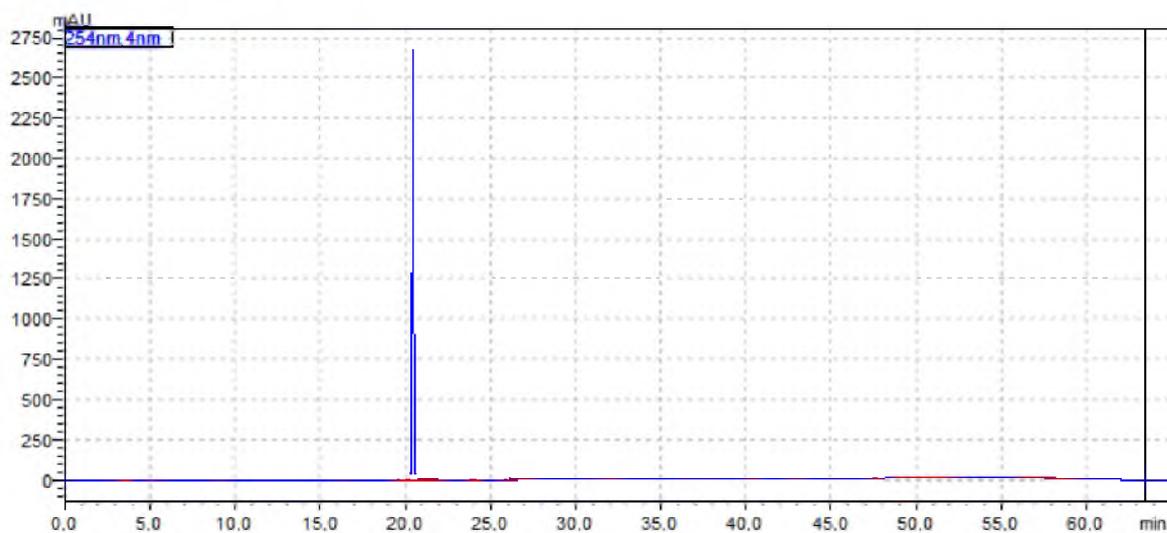
1) Код субстанции: ОА6

2) Название соединения: кемпферол-3-О-β-D-глюкопиранозид

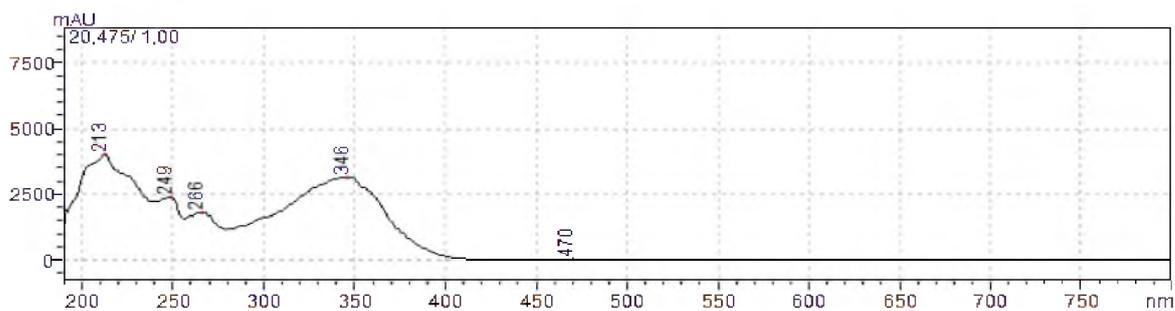
3) Формула соединения:



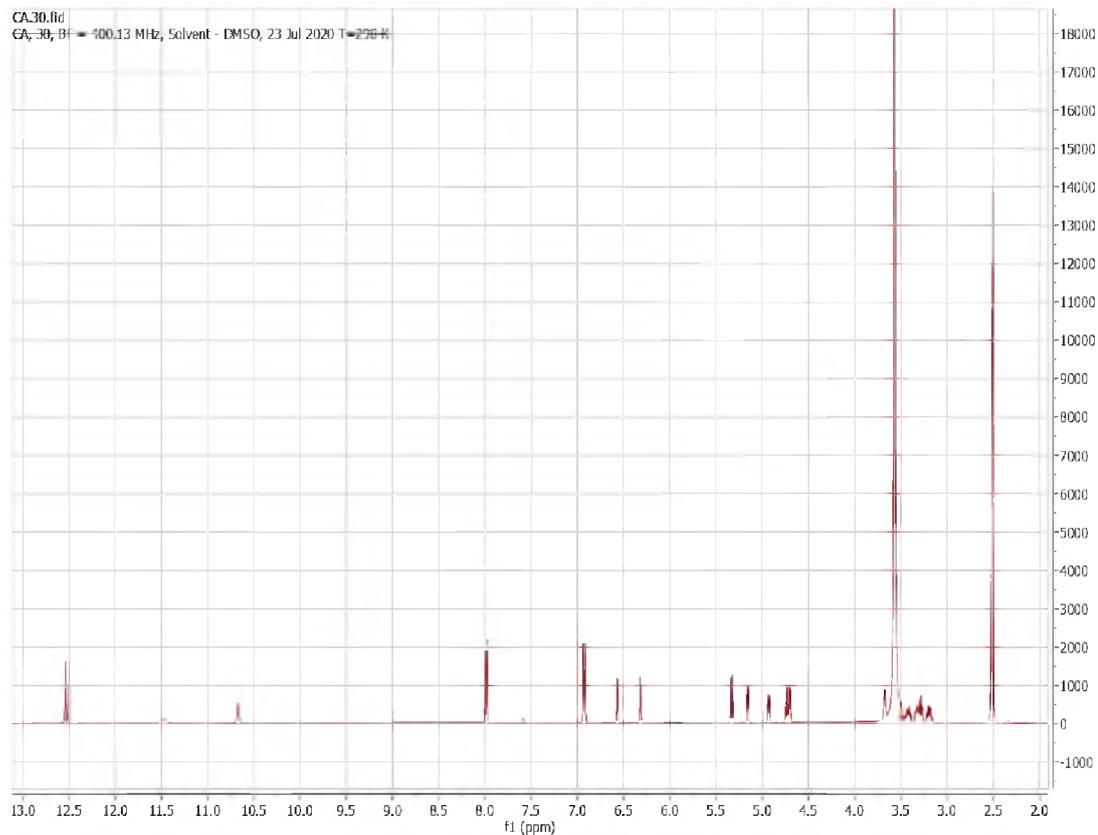
4) ВЭЖХ:



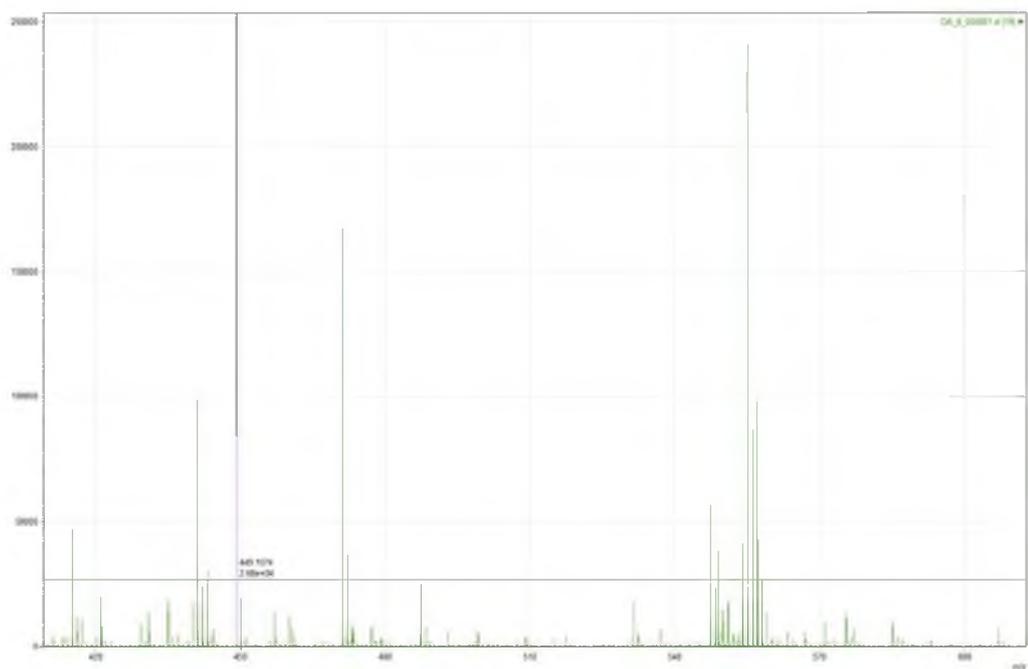
5) УФ-спектр:



Максимумы УФ-поглощения: 213, 249, 266, 346 нм

6) ЯМР-спектры: **^1H ЯМР****7) Масс-спектр:**

$[\text{M}+\text{H}]^+$ m/z 449.10837 (calc. 449.1084)



СПРАВОЧНО:

1) Группа соединений: производные флавоноидов

2) Масса: 2 мг

3) Статус: ранее неизвестное для растения

4) Прогноз фармакологической активности Way2Drug

Pa	Pi	Activity
0,981	0,001	Antimutagenic
0,980	0,002	Hypoglycemic
0,979	0,003	Mutagenic
0,975	0,004	Alpha-glucosidase inhibitor
0,971	0,001	Monophenol monooxygenase inhibitor
0,969	0,001	Amylase inhibitor
0,955	0,002	Genotoxic
0,954	0,001	UGT1A9 substrate
0,953	0,001	Skin whitener
0,950	0,001	NOS2 expression inhibitor
0,946	0,004	Carcinogenic
0,942	0,002	Chemopreventive
0,941	0,003	TNF expression inhibitor
0,936	0,002	Radioprotector
0,934	0,001	Antihypoxic
0,932	0,003	Antioxidant
0,927	0,002	Lipid peroxidase inhibitor
0,920	0,002	Proliferative diseases treatment
0,912	0,003	Vasodilator, coronary
0,895	0,004	Antihypercholesterolemic
0,890	0,002	UGT1A1 substrate
0,883	0,001	Antihemorrhagic
0,883	0,003	Free radical scavenger
0,879	0,003	Cardioprotectant
0,868	0,002	Sulfotransferase substrate
0,869	0,005	Antidiabetic
0,869	0,005	Cyclophilin D inhibitor
0,860	0,004	Cytostatic
0,856	0,008	Transcription factor NF kappa B inhibitor
0,847	0,003	NOS3 expression inhibitor
0,850	0,009	Antiinflammatory
0,848	0,009	Apoptosis agonist
0,827	0,001	Cystathionine beta-synthase inhibitor
0,826	0,002	Carbonic anhydrase XIII inhibitor
0,830	0,008	Teratogen
0,820	0,004	Caspase 9 stimulant
0,816	0,001	Antihypotensive
0,820	0,009	Embryotoxic
0,815	0,004	Spasmolytic
0,799	0,004	UGT1A6 substrate
0,797	0,004	UDP-glucuronosyltransferase substrate

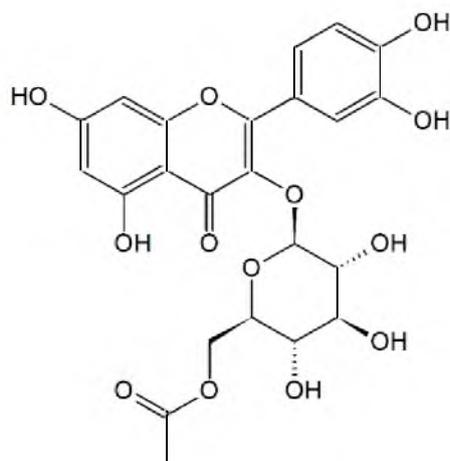
0,794	0,003	DNA damaging
0,794	0,008	CYP2C9 substrate
0,785	0,003	Angiogenesis stimulant
0,768	0,002	Antidote
0,767	0,004	Antihypertriglyceridemic
0,753	0,004	AR expression inhibitor
0,752	0,006	Antibacterial
0,742	0,005	Antithrombotic
0,733	0,003	Chemoprotective
0,734	0,009	Respiratory analeptic
0,721	0,003	Mediator release inhibitor
0,722	0,004	Vascular (periferal) disease treatment
0,724	0,007	Sensitization
0,716	0,003	Aldehyde dehydrogenase inhibitor
0,717	0,004	Histamine release inhibitor
0,711	0,005	Caspase 3 stimulant
0,711	0,005	Nitric oxide antagonist
0,702	0,005	Hepatic disorders treatment

ПАСПОРТ СУБСТАНЦИИ SC2

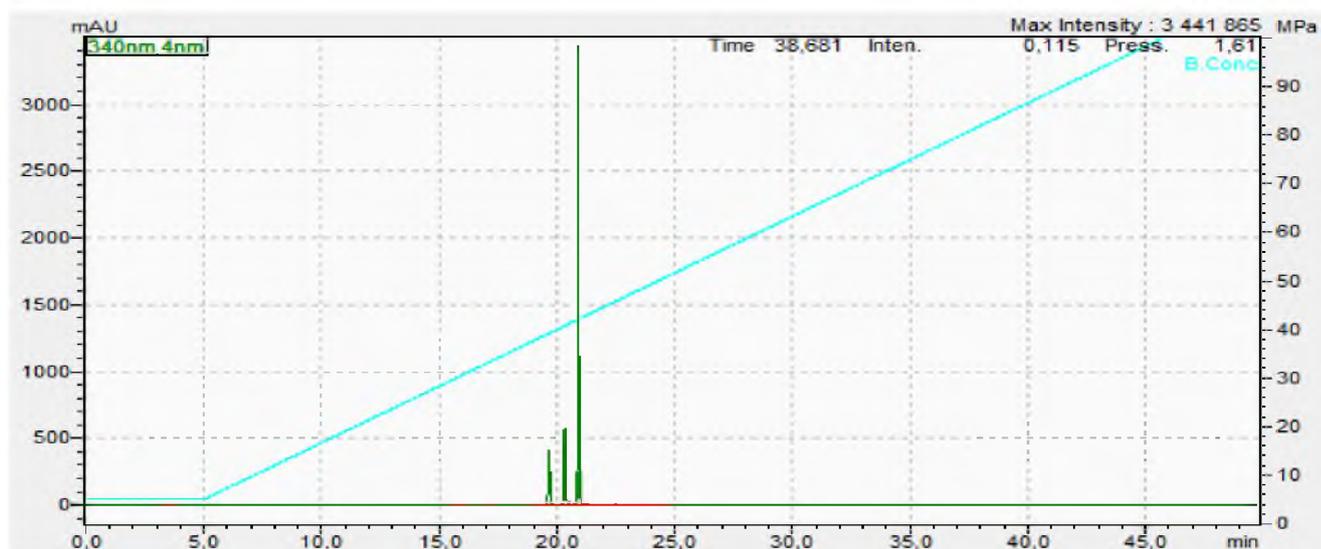
1) Код субстанции: SC 2

2) Название соединения: Кверцетин-3-О-β-D-6''-ацетилглюкопиранозид

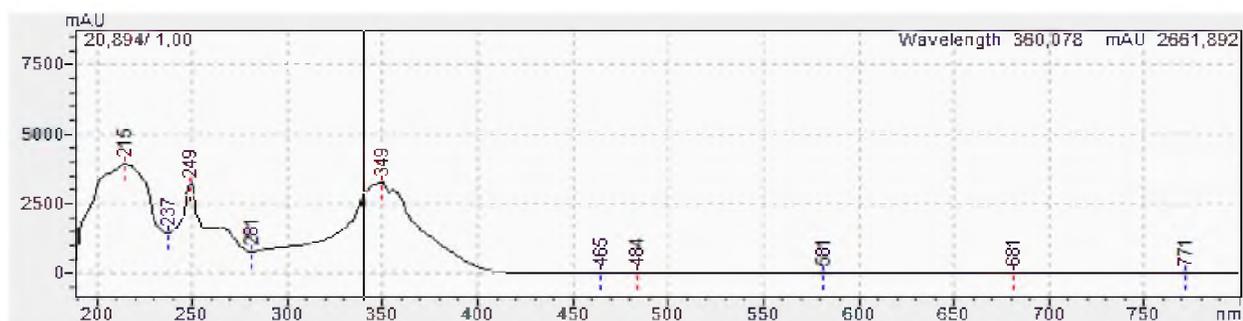
3) Формула соединения:



4) ВЭЖХ:



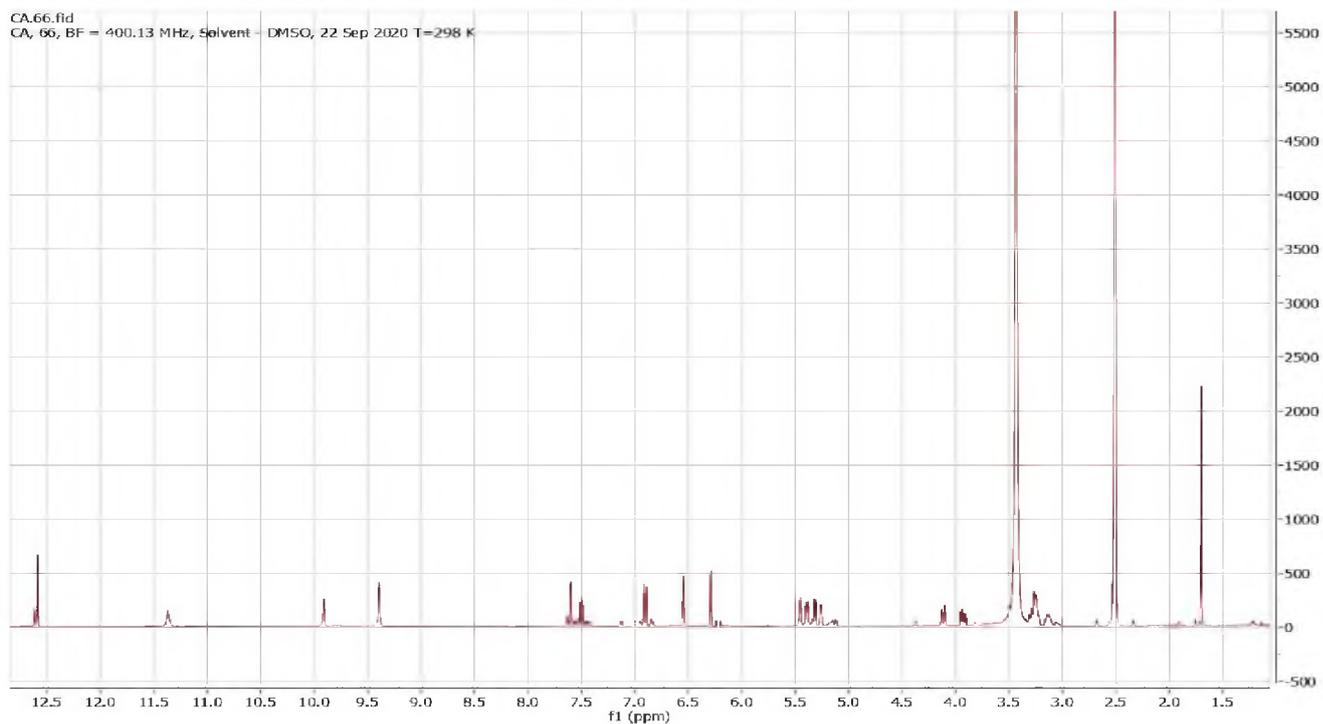
5) УФ-спектр:



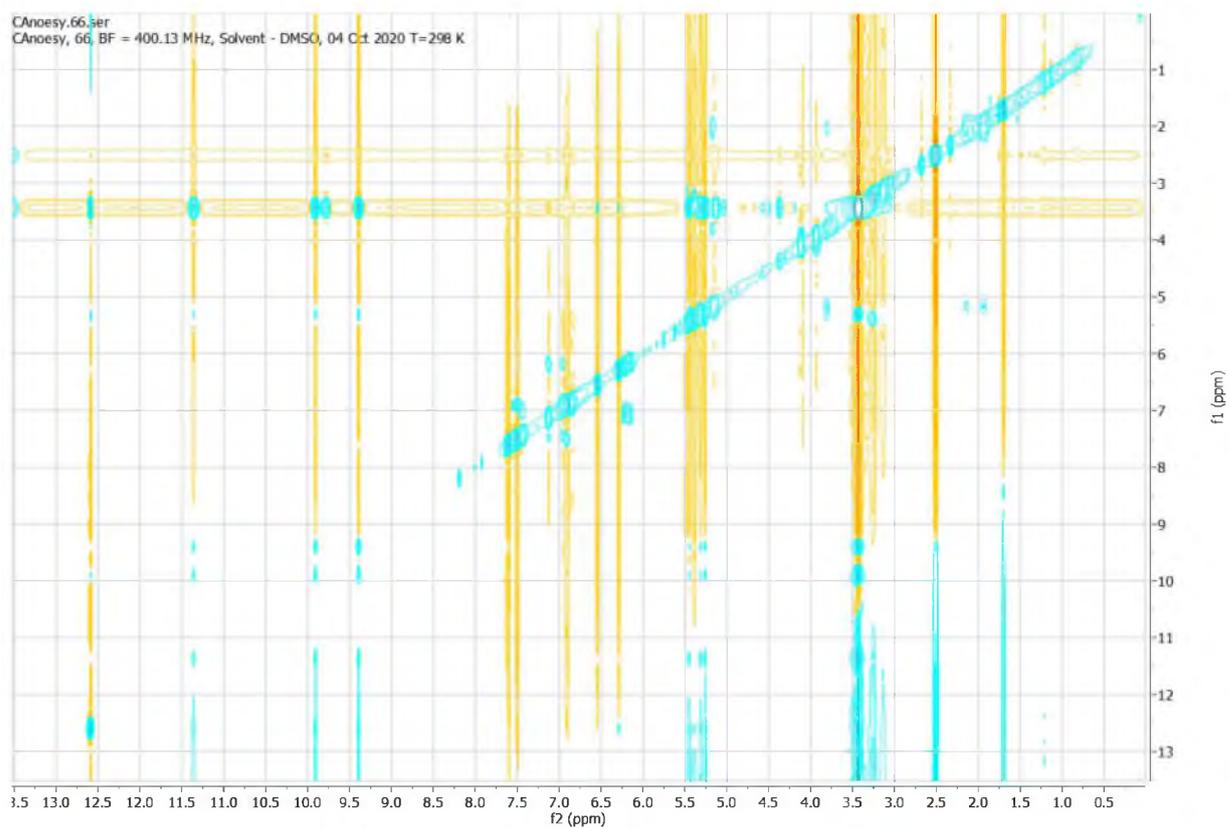
Максимумы УФ-поглощения: 215, 249, (270), 349 нм

6) ЯМР-спектры:

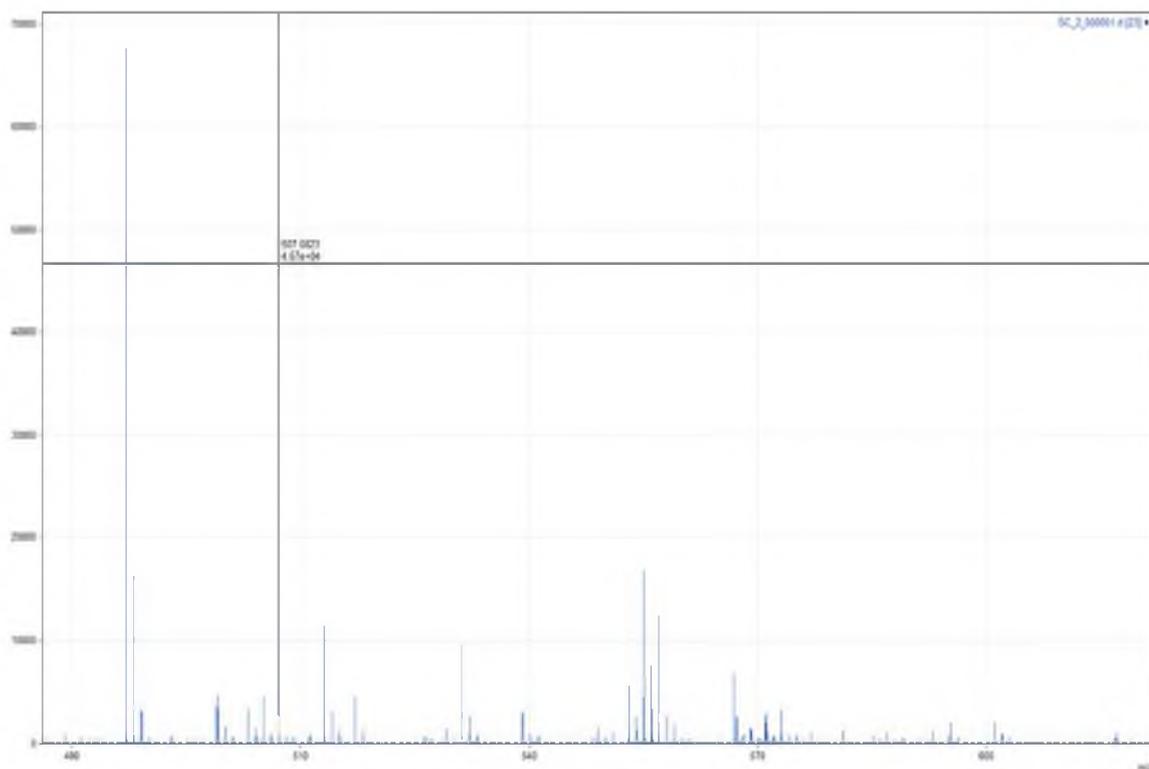
^1H ЯМР



NOESY



7) Масс-спектр:

 $[M+H]^+$ m/z 507,11386 (calc. 507,1139)

СПРАВОЧНО:

- 1) **Группа соединений:** производные флавоноидов
- 2) **Масса:** 8,2 мг
- 3) **Статус:** ранее известное для растения
- 4) **Прогноз фармакологической активности Way2Drug**

Pa	Pi	Activity
0,993	0,001	Monophenol monooxygenase inhibitor
0,992	0,002	Mutagenic
0,984	0,002	Hypoglycemic
0,977	0,003	Carcinogenic
0,973	0,001	Skin whitener
0,971	0,002	Lipid peroxidase inhibitor
0,968	0,001	Antimutagenic
0,971	0,004	Alpha-glucosidase inhibitor
0,966	0,001	Amylase inhibitor
0,961	0,002	Chemopreventive
0,955	0,001	Proliferative diseases treatment
0,952	0,001	Carbonic anhydrase XIII inhibitor
0,952	0,001	NOS2 expression inhibitor
0,952	0,003	TNF expression inhibitor
0,951	0,002	Genotoxic
0,940	0,001	Antihypoxic
0,930	0,003	Antihypercholesterolemic
0,926	0,002	UGT1A9 substrate
0,919	0,003	Antioxidant
0,914	0,003	Radioprotector
0,911	0,005	Transcription factor NF kappa B inhibitor
0,880	0,003	Free radical scavenger
0,870	0,002	DNA damaging
0,867	0,002	Antidote
0,868	0,005	Teratogen
0,866	0,006	Embryotoxic
0,858	0,004	Spasmolytic
0,856	0,002	Sulfotransferase substrate
0,855	0,002	UGT1A1 substrate
0,854	0,003	Vasodilator, coronary
0,856	0,009	Antiinflammatory
0,853	0,009	Apoptosis agonist
0,842	0,003	Cardioprotectant
0,841	0,002	Ulceration
0,834	0,002	Mediator release inhibitor
0,827	0,004	Cytostatic
0,802	0,005	Caspase 9 stimulant
0,793	0,004	Antipyretic
0,792	0,007	Cyclophilin D inhibitor
0,792	0,007	Antidiabetic
0,786	0,004	UGT1A6 substrate
0,782	0,004	NOS3 expression inhibitor
0,776	0,002	Cystathionine beta-synthase inhibitor
0,768	0,001	Antihemorrhagic

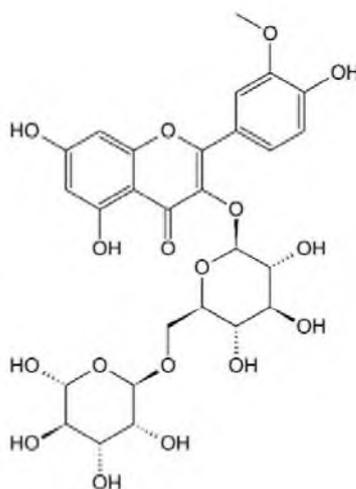
0,768	0,003	Non-steroidal antiinflammatory agent
0,768	0,005	Antibacterial
0,761	0,005	Antithrombotic
0,764	0,008	Respiratory analeptic
0,760	0,004	Carcinogenic, group 3
0,746	0,004	Antihypertriglyceridemic
0,741	0,010	CYP2C9 substrate
0,731	0,004	UDP-glucuronosyltransferase substrate
0,721	0,004	AR expression inhibitor
0,722	0,008	Sensitization
0,715	0,004	Vascular (periferal) disease treatment
0,711	0,005	Caspase 3 stimulant
0,707	0,004	Angiogenesis stimulant
0,697	0,004	Chemoprotective
0,701	0,008	CYP2C19 substrate

ПАСПОРТ СУБСТАНЦИИ SC10

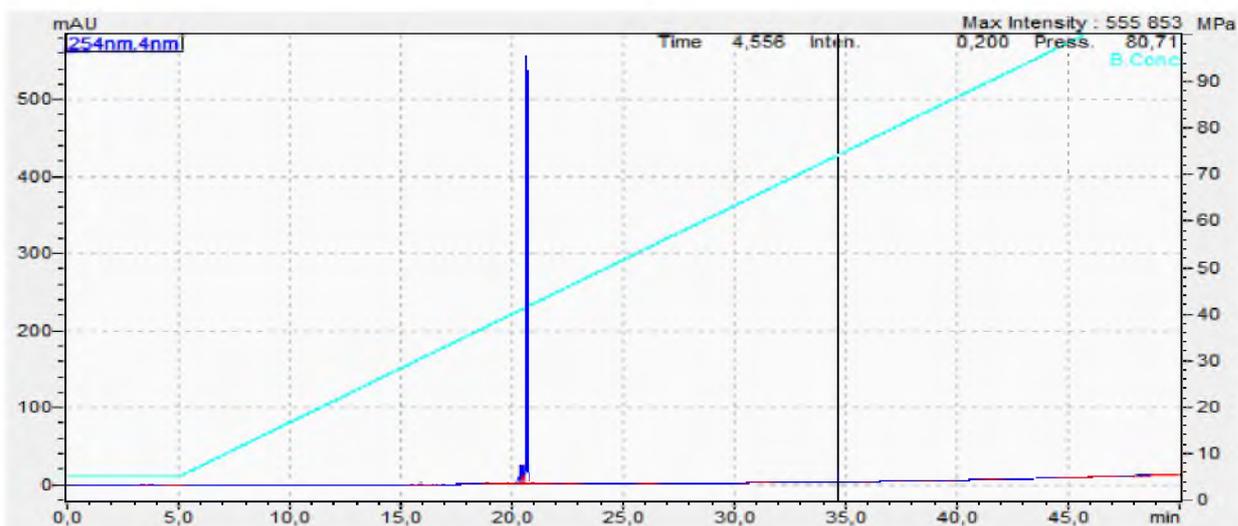
1) Код субстанции: SC 10

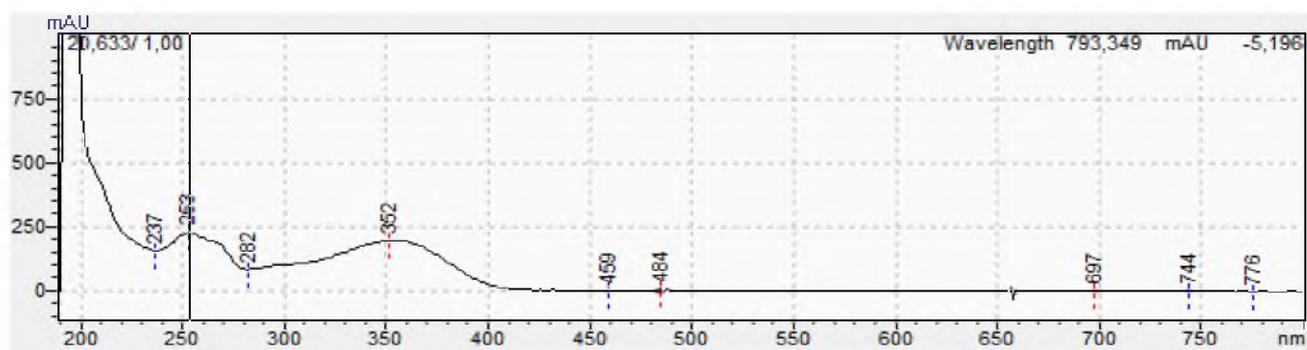
2) Название соединения: Изорамнетин-3-О-рутозид (нарциссин)

3) Формула соединения:

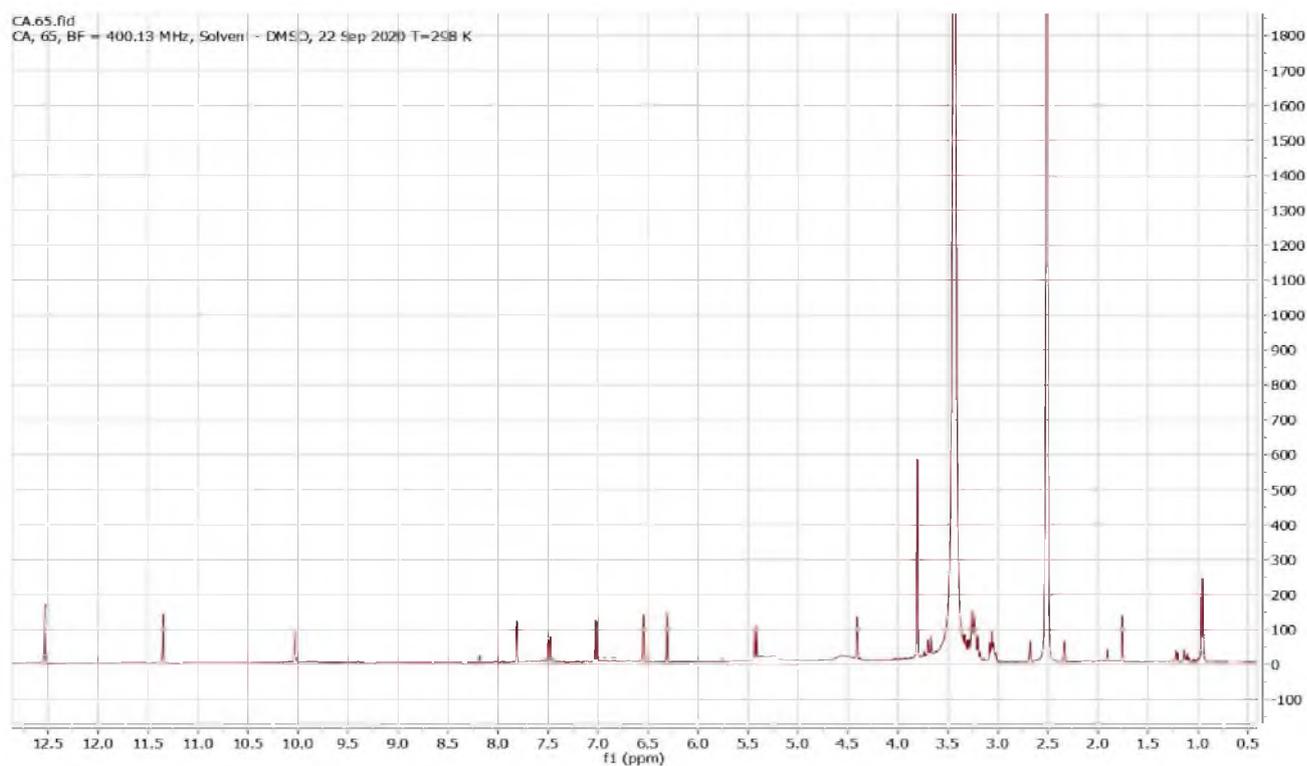


4) ВЭЖХ:



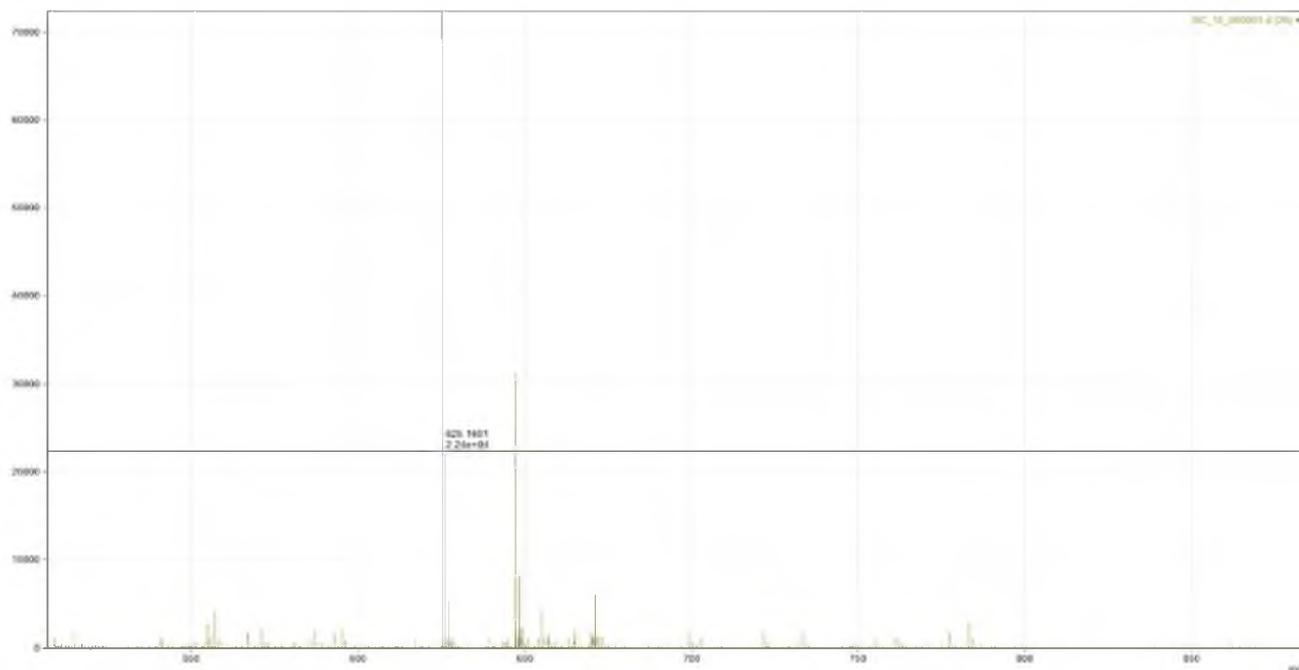
5) УФ-спектр:

Максимумы УФ-поглощения: 253, 352 нм

6) ЯМР-спектры: **^1H ЯМР**

7) Масс-спектр:

$[M+H]^+$ m/z 625,17689 (calc. 625,1769)

**СПРАВОЧНО:**

- 1) **Группа соединений:** производные флавоноидов
- 2) **Масса:** 3,02 мг
- 3) **Статус:** ранее известное для растения
- 4) **Прогноз фармакологической активности Way2Drug**

Pa	Pi	Activity
0,991	0,000	Antimutagenic
0,990	0,002	Hypoglycemic
0,991	0,004	Alpha-glucosidase inhibitor
0,985	0,002	Mutagenic
0,980	0,001	Chemopreventive
0,974	0,002	Lipid peroxidase inhibitor
0,973	0,001	NOS2 expression inhibitor
0,972	0,002	Genotoxic
0,970	0,001	Amylase inhibitor
0,968	0,002	Radioprotector
0,965	0,002	Monophenol monooxygenase inhibitor
0,958	0,001	Proliferative diseases treatment
0,957	0,001	Skin whitener
0,956	0,003	Carcinogenic

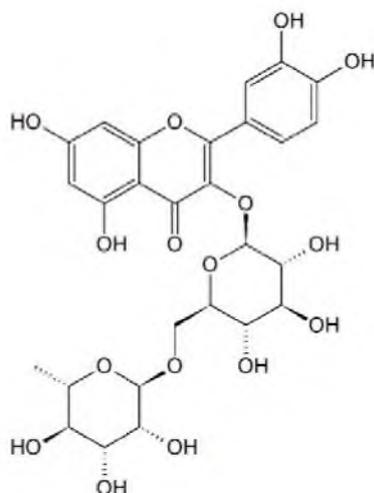
0,940	0,001	Antihypoxic
0,922	0,003	Antihypercholesterolemic
0,921	0,003	Antioxidant
0,913	0,001	Antihemorrhagic
0,916	0,005	Transcription factor NF kappa B inhibitor
0,900	0,003	Vasodilator, coronary
0,897	0,004	Spasmolytic
0,895	0,004	TNF expression inhibitor
0,890	0,002	DNA damaging
0,881	0,001	Antihypotensive
0,883	0,003	Free radical scavenger
0,880	0,002	UGT1A9 substrate
0,868	0,002	Ulceration
0,863	0,003	Cardioprotectant
0,856	0,001	Cystathionine beta-synthase inhibitor
0,850	0,002	UGT1A1 substrate
0,855	0,009	Apoptosis agonist
0,843	0,002	Antidote
0,828	0,004	Cytostatic
0,832	0,011	Antiinflammatory
0,825	0,008	Teratogen
0,819	0,004	Caspase 9 stimulant
0,822	0,009	Embryotoxic
0,799	0,004	UGT1A6 substrate
0,787	0,004	Antibacterial
0,770	0,004	Antithrombotic
0,769	0,012	CYP3A4 substrate
0,760	0,003	Antiamyloidogenic
0,764	0,009	CYP2C9 substrate
0,757	0,004	Sulfotransferase substrate
0,755	0,004	Caspase 3 stimulant
0,755	0,004	Antihypertriglyceridemic
0,752	0,004	AR expression inhibitor
0,755	0,009	Antidiabetic
0,755	0,009	Cyclophilin D inhibitor
0,741	0,004	UDP-glucuronosyltransferase substrate
0,728	0,005	NOS3 expression inhibitor
0,721	0,002	Carbonic anhydrase XIII inhibitor
0,715	0,003	Mediator release inhibitor
0,711	0,004	Angiogenesis stimulant
0,707	0,005	Nitric oxide antagonist
0,703	0,004	Vascular (periferal) disease treatment

ПАСПОРТ СУБСТАНЦИИ SC3

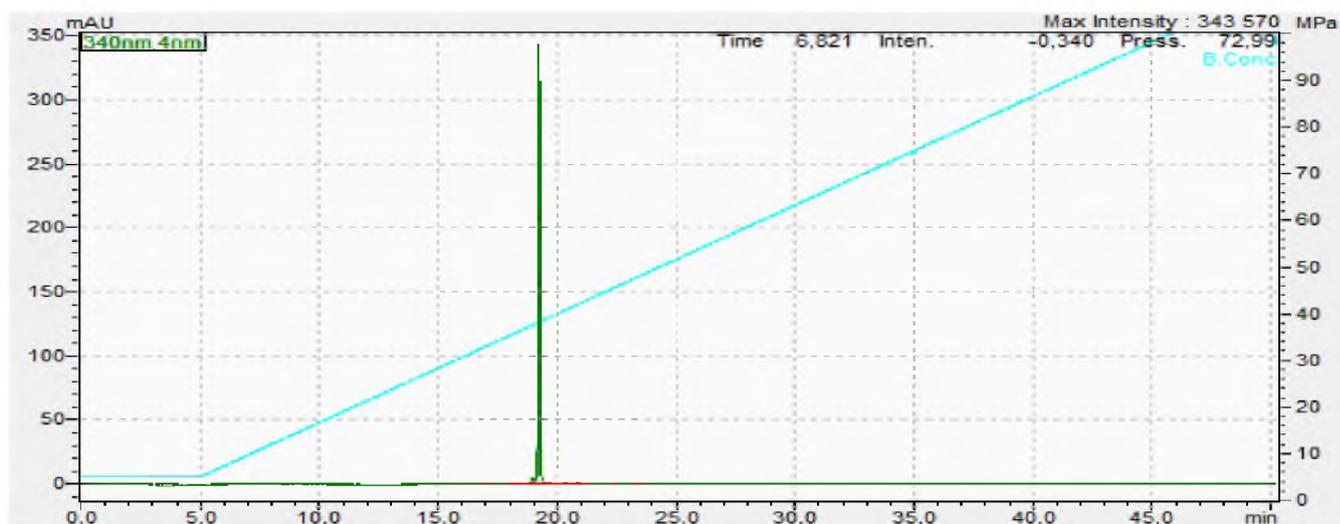
1) Код субстанции: SC 3

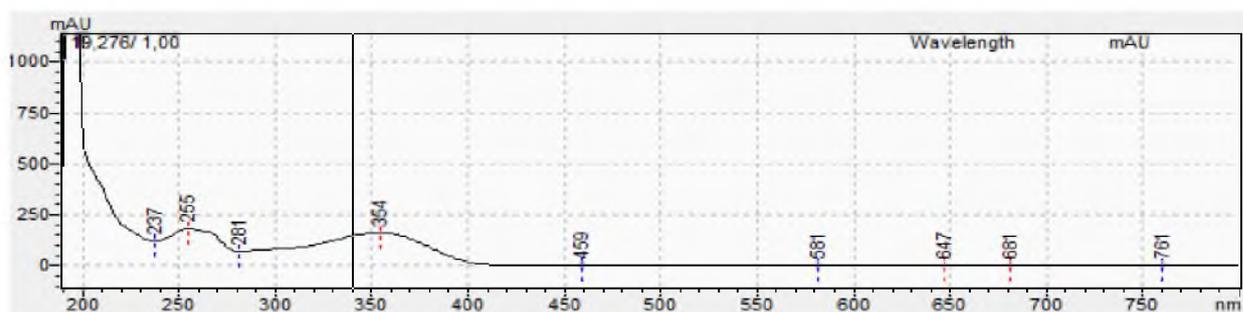
2) Название соединения: 3,3',4',5,7-пентагидроксифлавонон-3-О-рутинозид;
Кверцетин-3-О-рутинозид (рутин)

3) Формула соединения:

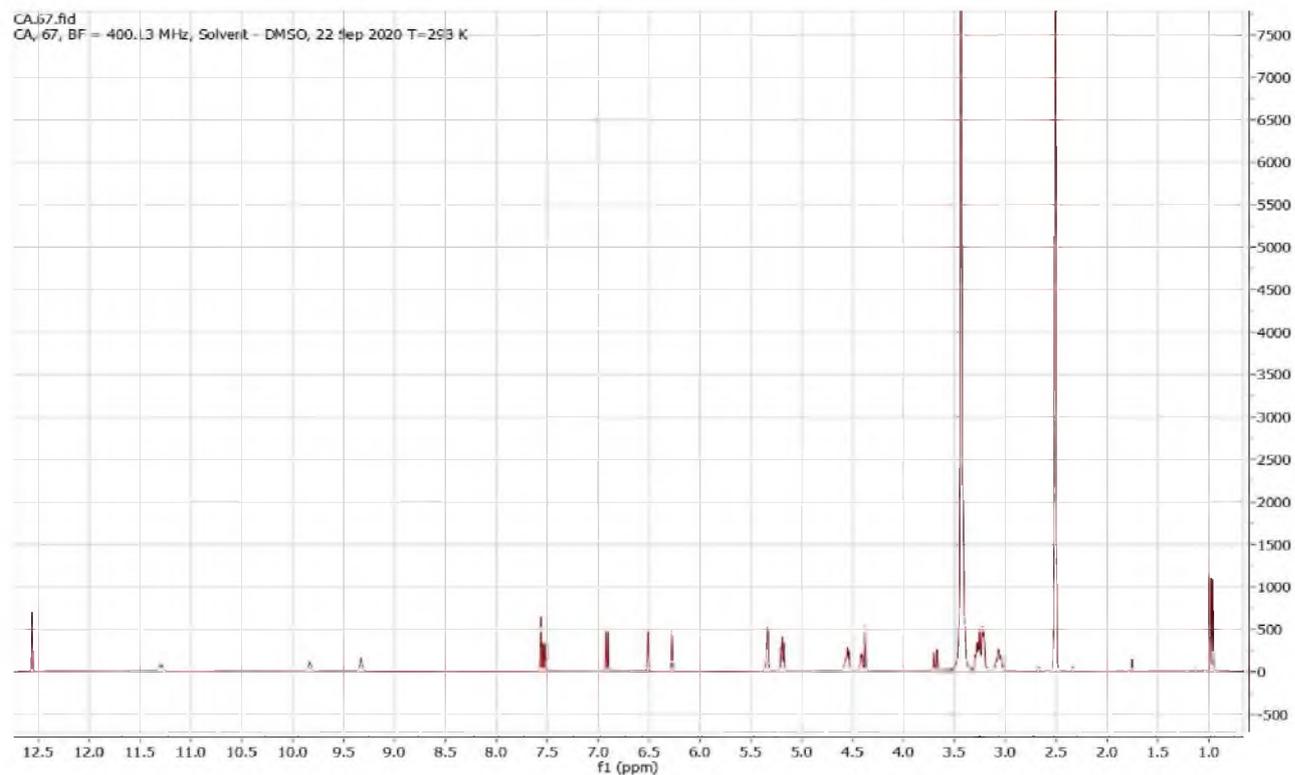


4) ВЭЖХ:

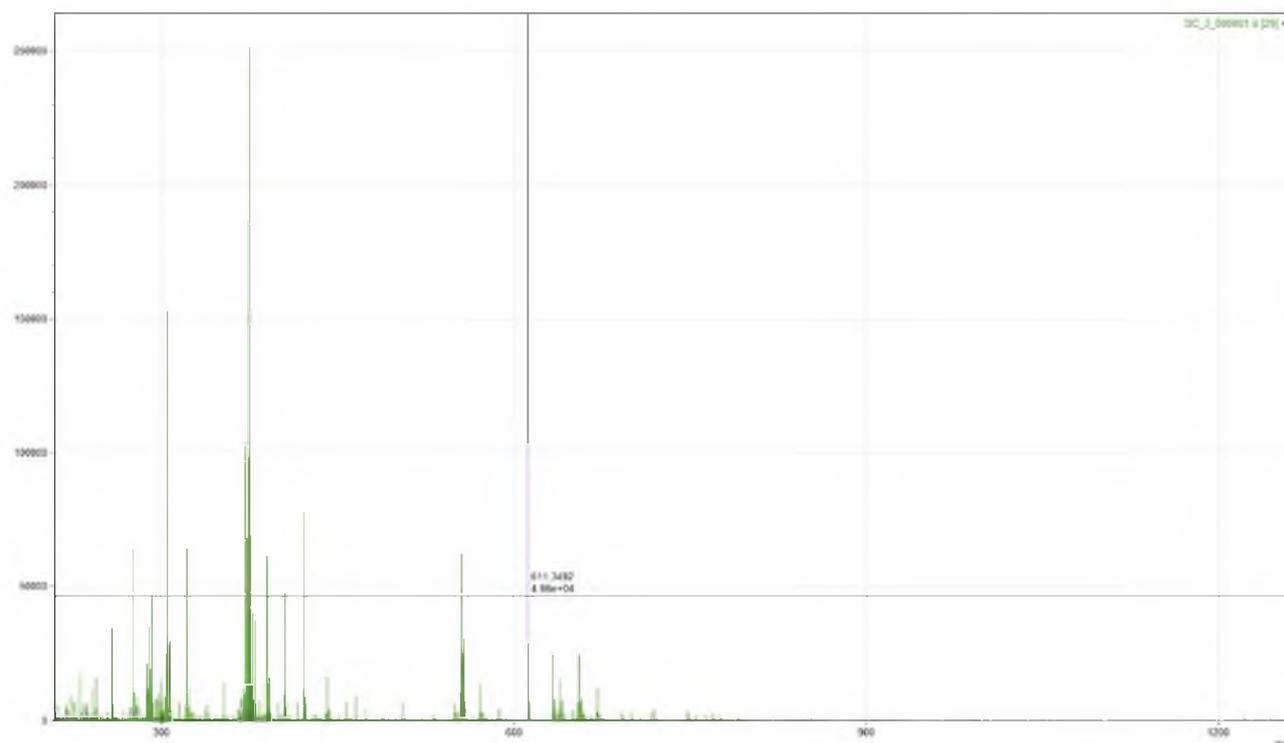


5) УФ-спектр:

Максимумы УФ-поглощения: 255, 354 нм

6) ЯМР-спектры: **^1H ЯМР**

7) Масс-спектр: $[M+H]^+$ m/z 611,16116 (cal. 611,1612)



СПРАВОЧНО:

- 1) **Группа соединений:** производные флавоноидов
- 2) **Масса:** 6,93 мг
- 3) **Статус:** ранее известное для растения
- 4) **Прогноз фармакологической активности Way2Drug**

Pa	Pi	Activity
0,992	0,001	Cardioprotectant
0,990	0,000	Antimutagenic
0,992	0,002	Neuroprotector
0,986	0,001	Membrane integrity agonist
0,982	0,000	Free radical scavenger
0,983	0,001	Anticarcinogenic
0,981	0,000	Iodide peroxidase inhibitor
0,980	0,001	Hemostatic
0,979	0,001	Monophenol monooxygenase inhibitor
0,968	0,001	Chemopreventive
0,968	0,001	Carbonyl reductase [NADPH] inhibitor
0,960	0,000	Glutathione-disulfide reductase inhibitor
0,959	0,002	APOB expression inhibitor
0,956	0,001	IRS1 expression inhibitor
0,952	0,000	Histamine release stimulant

0,944	0,000	Morphine 6-dehydrogenase inhibitor
0,943	0,000	Vasoprotector
0,943	0,001	Capillary fragility treatment
0,944	0,003	Estrogen-related receptor alpha agonist
0,938	0,001	Antihemorrhagic
0,935	0,000	15-Oxoprostaglandin 13-reductase inhibitor
0,935	0,001	Protein disulfide-isomerase inhibitor
0,931	0,001	Hepatoprotectant
0,931	0,003	Antihypercholesterolemic
0,923	0,004	CDP-glycerol glycerophosphotransferase inhibitor
0,911	0,003	Spasmolytic
0,899	0,001	Sepiapterin reductase inhibitor
0,899	0,003	Hypoglycemic
0,892	0,003	Vasodilator, coronary
0,885	0,003	SV40 T antigen inhibitor
0,880	0,003	2-Dehydropantoate 2-reductase inhibitor
0,876	0,004	Spermicide
0,873	0,001	Antidote
0,875	0,003	Antioxidant
0,872	0,005	1-Phosphatidylinositol-4-phosphate 5-kinase inhibitor
0,871	0,005	Mucinaminyserine mucinaminidase inhibitor
0,872	0,006	Benzoate-CoA ligase inhibitor
0,865	0,000	Beta-N-acetylhexosaminidase inhibitor
0,857	0,001	Antihypotensive
0,853	0,001	Inotropic
0,853	0,003	Insulin receptor agonist
0,848	0,001	Xanthine dehydrogenase inhibitor
0,842	0,004	Cytostatic
0,835	0,002	Lactase inhibitor
0,832	0,003	Proliferative diseases treatment
0,827	0,003	P-benzoquinone reductase (NADPH) inhibitor
0,821	0,003	Antitoxic
0,826	0,011	Chlordecone reductase inhibitor
0,817	0,006	Antiinfective
0,804	0,002	Lipid peroxidase inhibitor
0,798	0,002	Skin whitener
0,782	0,003	Cytoprotectant
0,783	0,005	Radioprotector
0,781	0,006	Oxidoreductase inhibitor
0,782	0,008	Apoptosis agonist
0,776	0,005	Transcription factor NF kappa B inhibitor
0,774	0,003	NADPH-ferrihemoprotein reductase inhibitor
0,771	0,002	Mediator release inhibitor
0,770	0,002	Carbonic anhydrase XIII inhibitor
0,770	0,015	Transferase inhibitor
0,759	0,007	Kinase inhibitor
0,757	0,005	Anaphylatoxin receptor antagonist
0,755	0,004	Transcription factor NF kappa B1 inhibitor
0,751	0,006	Membrane integrity antagonist
0,744	0,002	4-Coumarate-CoA ligase inhibitor
0,744	0,003	Vascular (periferal) disease treatment
0,739	0,002	Laxative
0,736	0,002	Intestinal alkaline phosphatase inhibitor
0,733	0,003	Nitric oxide antagonist
0,733	0,005	Histidine kinase inhibitor
0,731	0,004	Antifungal
0,723	0,005	Caspase 9 stimulant

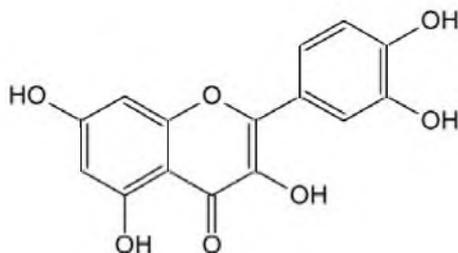
0,721	0,003	Antitussive
0,716	0,003	NOS3 expression enhancer
0,725	0,013	Fibrinolytic
0,731	0,020	Penicillin-binding protein ampH inhibitor
0,710	0,001	Sweetener
0,709	0,001	Melanin inhibitor
0,708	0,003	Caspase 8 stimulant
0,706	0,002	Mitochondrial electron transport inhibitor
0,714	0,012	Methylquercetagetin 6-O-methyltransferase inhibitor
0,706	0,006	Antithrombotic
0,707	0,009	Antiinflammatory

ПАСПОРТ СУБСТАНЦИИ SC1

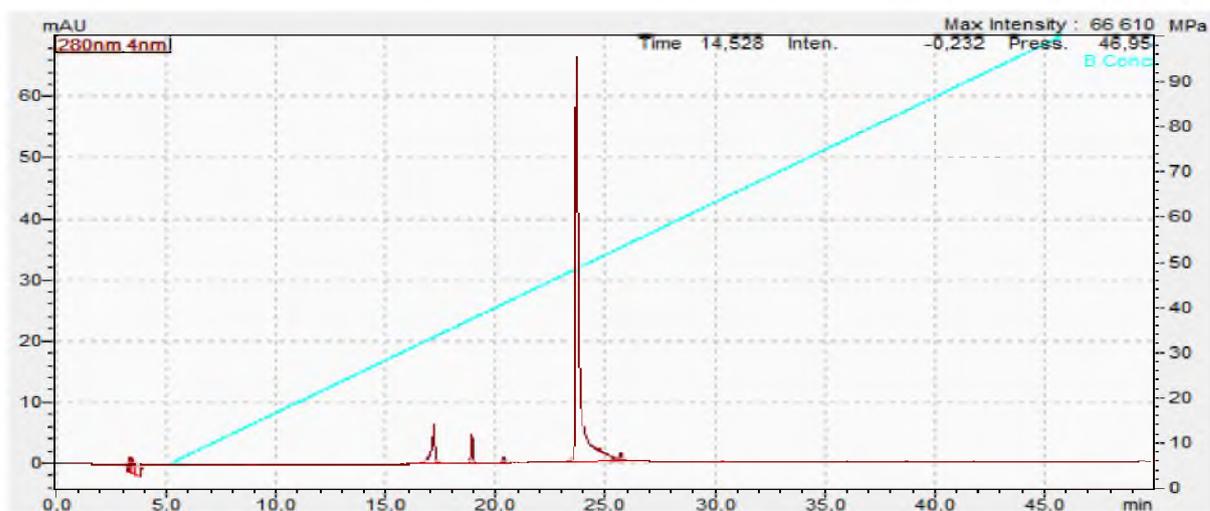
1) Код субстанции: SC 1

2) Название соединения: 3,3',4',5,7-пентагидроксифлавоон; кверцетин;

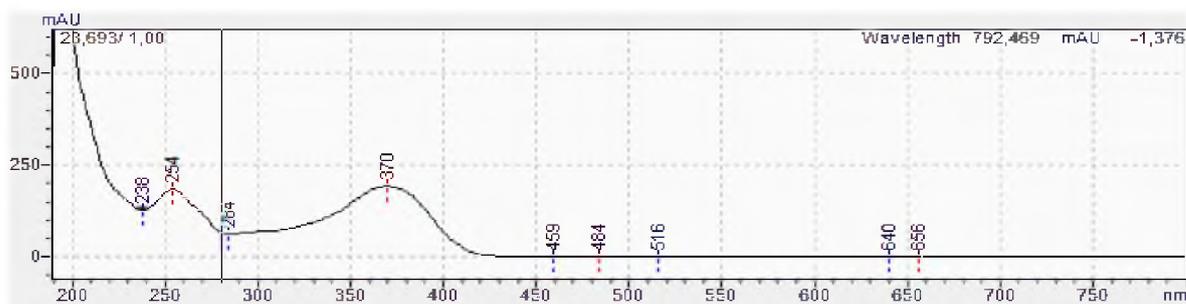
3) Формула соединения:



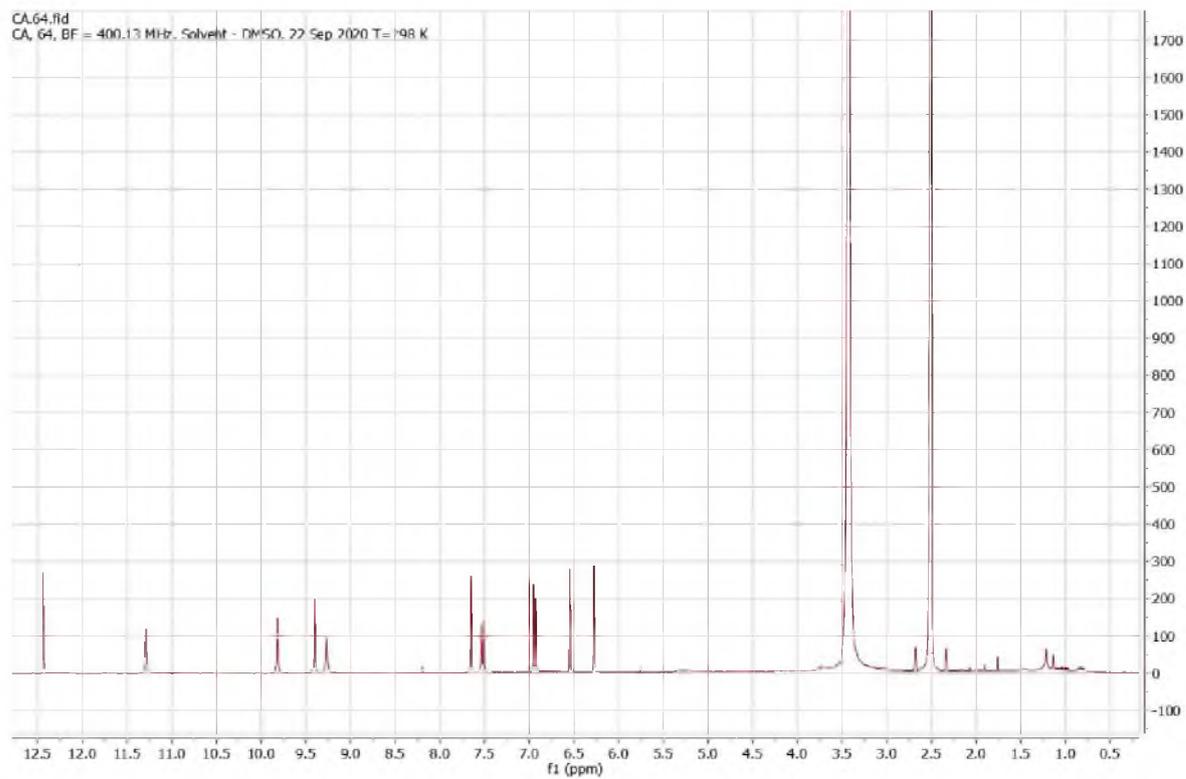
4) ВЭЖХ:



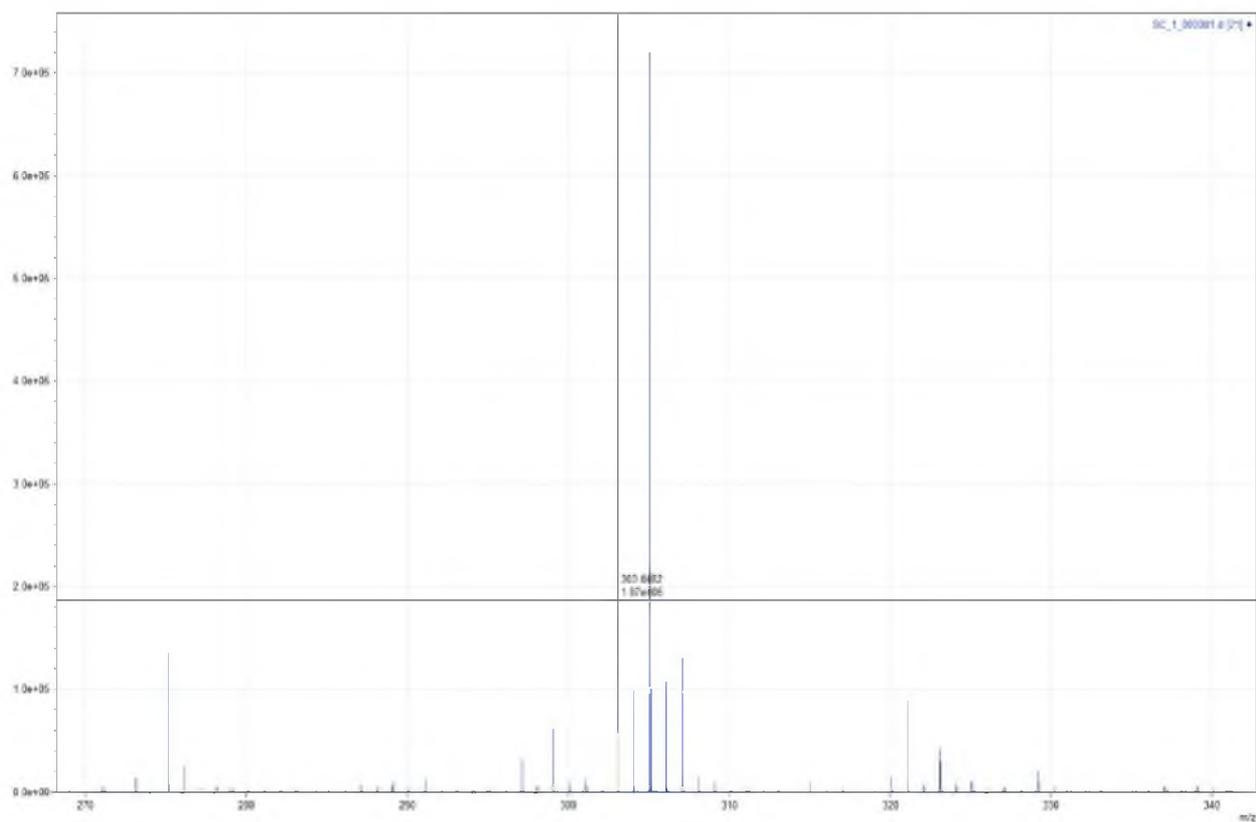
5) УФ-спектр:



Максимумы УФ-поглощения: 254, 370 нм

6) ЯМР-спектры: **^1H ЯМР****9) Масс-спектр:**

$[\text{M}+\text{H}]^+$ m/z 303,05047 (calc. 303,0505)



СПРАВОЧНО:

- 1) **Группа соединений:** производные флавоноидов
- 2) **Масса:** 3,34 мг
- 3) **Статус:** ранее известное для растения
- 4) **Прогноз фармакологической активности Way2Drug**

Pa	Pi	Activity
0,988	0,001	Penicillin-binding protein ampH inhibitor
0,987	0,001	Chlordecone reductase inhibitor
0,986	0,001	Estrogen-related receptor alpha agonist
0,977	0,001	APOB expression inhibitor
0,973	0,001	2-Dehydropantoate 2-reductase inhibitor
0,973	0,002	Membrane integrity agonist
0,970	0,000	Aryl-alcohol dehydrogenase (NADP+) inhibitor
0,970	0,001	1-Phosphatidylinositol-4-phosphate 5-kinase inhibitor
0,967	0,001	P-benzoquinone reductase (NADPH) inhibitor
0,961	0,001	Peroxidase inhibitor
0,959	0,002	Kinase inhibitor
0,958	0,001	Antimutagenic
0,956	0,001	NADPH-ferrihemoprotein reductase inhibitor
0,946	0,001	Cystathionine beta-synthase inhibitor
0,945	0,000	Glycerol dehydrogenase (NADP+) inhibitor
0,944	0,001	2-Dehydropantolactone reductase (A-specific) inhibitor
0,936	0,001	Quercetin 2,3-dioxygenase inhibitor
0,934	0,001	IRS1 expression inhibitor
0,934	0,001	MAP kinase stimulant
0,934	0,001	Methylquercetagenin 6-O-methyltransferase inhibitor
0,934	0,001	Beta-carotene 15,15'-monooxygenase inhibitor
0,922	0,001	Chalcone isomerase inhibitor
0,917	0,002	Alcohol dehydrogenase (NADP+) inhibitor
0,919	0,004	15-Lipoxygenase inhibitor
0,907	0,004	Aldehyde oxidase inhibitor
0,908	0,005	Neuroprotector
0,902	0,001	2-Enoate reductase inhibitor
0,901	0,001	Iodide peroxidase inhibitor
0,894	0,001	Testosterone 17beta-dehydrogenase inhibitor
0,893	0,002	Histidine kinase inhibitor
0,893	0,003	12-Lipoxygenase inhibitor
0,887	0,001	Carbonyl reductase [NADPH] inhibitor
0,882	0,004	Antineurotoxic
0,878	0,001	Creatine kinase inhibitor
0,876	0,001	Enoyl-[acyl-carrier-protein] reductase (NADH) inhibitor
0,875	0,002	15-Oxoprostaglandin 13-reductase inhibitor
0,871	0,005	Apoptosis agonist
0,852	0,002	Monophenol monooxygenase inhibitor
0,853	0,003	Cardioprotectant
0,849	0,003	SV40 T antigen inhibitor
0,834	0,002	Xenobiotic-transporting ATPase inhibitor
0,833	0,001	3-Methylbutanal reductase inhibitor
0,831	0,002	Carbonic anhydrase III inhibitor
0,830	0,002	3-Oxoacyl-[acyl-carrier-protein] reductase inhibitor

0,829	0,003	Hemostatic
0,833	0,009	Antiseborrheic
0,824	0,001	1-Alkylglycerophosphocholine O-acetyltransferase inhibitor
0,819	0,001	Alcohol dehydrogenase [NAD(P)+] inhibitor
0,817	0,001	Capillary fragility treatment
0,815	0,002	Free radical scavenger
0,812	0,001	Penicillin binding protein antagonist
0,810	0,001	Morphine 6-dehydrogenase inhibitor
0,811	0,003	Interleukin 4 antagonist
0,804	0,003	Antioxidant
0,797	0,004	LGALS1 expression inhibitor
0,795	0,005	APOA1 expression enhancer
0,786	0,003	Vasoprotector
0,788	0,012	3-Hydroxyacyl-CoA dehydrogenase 2 inhibitor
0,788	0,012	3-Hydroxyacyl-CoA dehydrogenase inhibitor
0,782	0,007	Anticarcinogenic
0,780	0,005	Female germline-specific tumor suppressor gld-1 inhibitor
0,764	0,003	Histamine release stimulant
0,763	0,004	4-Nitrophenol 2-monooxygenase inhibitor
0,763	0,004	Lipoxygenase inhibitor
0,762	0,003	Pectate lyase inhibitor
0,760	0,002	Protein disulfide-isomerase inhibitor
0,757	0,004	Histamine release inhibitor
0,755	0,004	Proliferative diseases treatment
0,752	0,002	Carbonic anhydrase XIII inhibitor
0,748	0,002	Xanthine dehydrogenase inhibitor
0,749	0,003	Breast cancer type 1 susceptibility protein inhibitor
0,746	0,001	Glutathione-disulfide reductase inhibitor
0,747	0,004	Transcription factor NF kappa B1 inhibitor
0,743	0,001	Fatty acid synthase inhibitor
0,751	0,010	Fructose-bisphosphate aldolase inhibitor
0,742	0,002	Carbonic anhydrase VI inhibitor
0,739	0,003	GABA C receptor rho-3 antagonist
0,740	0,006	27-Hydroxycholesterol 7alpha-monooxygenase inhibitor
0,728	0,002	Troponin C inhibitor
0,728	0,002	Troponin I, cardiac muscle inhibitor
0,728	0,002	Troponin T, cardiac muscle inhibitor
0,732	0,008	Transcription factor NF kappa B inhibitor
0,719	0,003	Malate dehydrogenase inhibitor
0,715	0,006	Chemopreventive
0,713	0,007	Anaphylatoxin receptor antagonist
0,701	0,003	G-protein coupled receptor 35 antagonist

ПРИЛОЖЕНИЕ № 2

Акты внедрения
и результаты интеллектуальной деятельности

Утверждаю:
Проректор по учебно-
воспитательной работе
ФГБОУ ВО ПГФА
Минздрава России



АКТ

О внедрении результатов диссертационной работы Лужанина Владимира Геннадьевича «Методология поиска перспективных лекарственных кандидатов на основе индивидуальных веществ растительного происхождения» на соискание ученой степени доктора фармацевтических наук по специальности 3.4.2 – «Фармацевтическая химия, фармакогнозия» (фармацевтические науки) на кафедре фармакогнозии ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России

Комиссия в составе сотрудников кафедры фармакогнозии ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России к.фарм. наук, доцента Турышева А.Ю., к.фарм. наук, доцента Курицына А.В., к.фарм. наук, доцента Гилевой А.А. подтверждает использование методики выделения индивидуальных веществ из растительного сырья, обладающих лекарственным потенциалом и относящихся к производным бибензила, 9,10-дигидрофенантрена и дигидрохалконов в учебном процессе кафедры фармакогнозии ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России для чтения лекций и проведения практических занятий по темам «Лекарственные растения и лекарственное растительное сырьё, содержащее фенольные соединения» в рамках дисциплин «Фармакогнозия» и «Фармакогностический анализ лекарственного растительного сырья»

Члены комиссии:

Доцент кафедры фармакогнозии,
к.фарм.наук, доцент

Турышев А.Ю.

Доцент кафедры фармакогнозии,
к.фарм.наук, доцент

Курицын А.В.

Доцент кафедры фармакогнозии,
к.фарм.наук, доцент

Гилева А.А.

« 30 » августа 2023 г.

УТВЕРЖДАЮ
Ректор ФГБОУ ВО СПХФУ
Минздрава России,
д.фарм.н., профессор


И.А. Наркевич
«14» 2021 г.



**Акт внедрения
результатов научно-практической работы
в научно-исследовательский процесс**

Комиссия в составе:

Председателя	проректора по научной работе, д-р. фармацевт. наук	Е.В. Флисюк
и членов комиссии	научного сотрудника департамента науки и подготовки научно-педагогических кадров, канд. фармацевт. наук	К.О. Сидорова
	директора департамента науки и подготовки научно- педагогических кадров, канд. биол. наук	И.А. Титович

назначенная приказом ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России от «12» марта 2021 г. № 100, составила акт о нижеследующем:

Результаты диссертационного исследования Лужанина Владимира Геннадьевича на тему «Методология поиска перспективных лекарственных кандидатов на основе индивидуальных веществ растительного происхождения», представленного на соискание ученой степени доктора фармацевтических наук, использовано в научно-исследовательской деятельности кафедры фармакогнозии ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России в рамках экспериментального поиска молекул природного происхождения, обладающих фармакологическим потенциалом.

Председатель	проректор по научной работе, д-р. фармацевт. наук		Е.В. Флисюк
Члены комиссии	научный сотрудник департамента науки и подготовки научно- педагогических кадров, канд. фармацевт. наук		К.О. Сидоров
	директор департамента науки и подготовки научно- педагогических кадров, канд. биол. наук		И.А. Титович



«14» ноября 2023 г.
г. Санкт-Петербург

АКТ о внедрении

- 1. Наименование предложения для внедрения:** алгоритм выбора перспективных для фармацевтической разработки молекул и их сочетаний на основе анализа результатов прогностического моделирования.
- 2. Кем разработано:** физическое лицо Лужанин Владимир Геннадьевич.
- 3. Где и когда внедрено:** отдел по разработкам и развитию АО «Фармпроект», ноябрь 2023 года.
- 4. Результаты внедрения:** положительные.
- 5. Эффективность внедрения:** разработанный автором алгоритм выбора перспективных для фармацевтической разработки молекул и их сочетаний с применением методов искусственного интеллекта позволил оптимизировать фармакологический скрининг и сократить затраты на этапе доклинических испытаний потенциальных лекарственных кандидатов.

Ответственный за внедрение: _____

Руководитель отдел по разработкам и
развитию АО «Фармпроект»
М.Ю. Янсон

Утверждаю:

генеральный директор

ООО «Тенториум»

Семущин С.В.

2024 г.



АКТ ВНЕДРЕНИЯ

результатов диссертационной работы Лужанина Владимира Геннадьевича «Методология поиска перспективных лекарственных кандидатов на основе индивидуальных веществ растительного происхождения» на соискание ученой степени доктора фармацевтических наук по специальности 3.4.2 – «Фармацевтическая химия, фармакогнозия» (фармацевтические науки) в работу ООО «Тенториум».

Результаты диссертационного исследования Лужанина В.Г., посвященного методологии поиска перспективных лекарственных кандидатов на основе индивидуальных веществ растительного происхождения, внедрены в деятельность ООО «Тенториум».

Разработанная автором методика выделения индивидуальных производных С-гликозидов флавоноидов и ксантонов из травы *Iris lactea* используется в производственном процессе ООО «Тенториум» для получения химически чистых веществ из растительного сырья с целью разработки продуктов для профилактики метаболических заболеваний.

Главный технолог

Псянчин М.М.

«15» 01 2024 г.

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

**ПАТЕНТ**

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2806331

**ПРИМЕНЕНИЕ 1-(3,5-ДИГИДРОКСИ-4-
МЕТОКСИФЕНИЛ)-2-(3-ГИДРОКСИФЕНИЛ)-ЭТАНА
В КАЧЕСТВЕ СРЕДСТВА, ОБЛАДАЮЩЕГО
АНТИАГРЕГАЦИОННОЙ АКТИВНОСТЬЮ**

Патентообладатель: *Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Пермская государственная фармацевтическая академия Министерства здравоохранения Российской Федерации (RU)*

Авторы: *Лужанин Владимир Геннадьевич (RU), Уэйли Андрей Кеннет (RU), Уэйли Анастасия Олеговна (RU), Самородов Александр Владимирович (RU)*

Заявка № **2023111080**

Приоритет изобретения **28 апреля 2023 г.**

Дата государственной регистрации

в Государственном реестре изобретений

Российской Федерации **31 октября 2023 г.**

Срок действия исключительного права

на изобретение истекает **28 апреля 2043 г.**

*Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности*



ДОКУМЕНТ ПОДПИСАН ЭЛЕКТРОННОЙ ПОДПИСЬЮ
Сертификат 42956029-130-1264849983072640x7
Владимир Зубов Юридическая Компания
Действителен с 23.08.2023 по 02.08.2024

Ю.С. Зубов

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

**ПАТЕНТ**

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2808460

**ПРИМЕНЕНИЕ 2,3,4-ТРИМЕТОКСИ-5-ГИДРОКСИ-
9,10-ДИГИДРОФЕНАНТРЕНА В КАЧЕСТВЕ
СРЕДСТВА, ОБЛАДАЮЩЕГО
АНТИАГРЕГАЦИОННОЙ АКТИВНОСТЬЮ**

Патентообладатель: *Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Пермская государственная фармацевтическая академия Министерства здравоохранения Российской Федерации (RU)*

Авторы: *Лужанин Владимир Геннадьевич (RU), Уэйли Андрей Кеннет (RU), Уэйли Анастасия Олеговна (RU), Самородов Александр Владимирович (RU)*

Заявка № **2023111081**

Приоритет изобретения **28 апреля 2023 г.**

Дата государственной регистрации

в Государственном реестре изобретений

Российской Федерации **28 ноября 2023 г.**

Срок действия исключительного права

на изобретение истекает **28 апреля 2043 г.**

*Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности*

документ подписан электронной подписью
Сертификат: 42906a07e38c1364b6791683b73b4aa7
Инициалы: **Зубов Юрий Сергеевич**
Действителен с: 28.11.2023 по 02.08.2024

Ю.С. Зубов



РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

**ПАТЕНТ**

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2812630

**ПРИМЕНЕНИЕ 5,7-ДИГИДРОКСИ-6,8-
ДИМЕТИЛФЛАВАНОНА В КАЧЕСТВЕ СРЕДСТВА,
ОБЛАДАЮЩЕГО АНТИАГРЕГАЦИОННОЙ
АКТИВНОСТЬЮ**

Патентообладатель: *Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Пермская государственная фармацевтическая академия Министерства здравоохранения Российской Федерации (RU)*

Авторы: *Лужанин Владимир Геннадьевич (RU), Уэйли Андрей Кеннет (RU), Уэйли Анастасия Олеговна (RU), Самородов Александр Владимирович (RU)*

Заявка № 2023112688

Приоритет изобретения 17 мая 2023 г.

Дата государственной регистрации
в Государственном реестре изобретений
Российской Федерации 30 января 2024 г.

Срок действия исключительного права
на изобретение истекает 17 мая 2043 г.

*Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности*

Электронный документ подписан квалифицированной подписью
Сертификат 429462063412649918137304447
Владимир Зубов Юрий Сергеевич
Действителен с 2023 по 02.08.2024

Ю.С. Зубов



РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

**ПАТЕНТ**

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2811240

**ПРИМЕНЕНИЕ 4-О- α -
АРАБИНОФУРАНОЗИЛЭЛЛАГОВОЙ КИСЛОТЫ В
КАЧЕСТВЕ СРЕДСТВА, ОБЛАДАЮЩЕГО
АНТИАГРЕГАЦИОННОЙ АКТИВНОСТЬЮ**

Патентообладатель: *Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Пермская государственная фармацевтическая академия" Министерства здравоохранения Российской Федерации (RU)*

Авторы: *Лужанин Владимир Геннадьевич (RU), Уэйли Андрей Кеннет (RU), Уэйли Анастасия Олеговна (RU), Самородов Александр Владимирович (RU)*

Заявка № **2023112690**

Приоритет изобретения **17 мая 2023 г.**

Дата государственной регистрации
в Государственном реестре изобретений
Российской Федерации **11 января 2024 г.**

Срок действия исключительного права
на изобретение истекает **17 мая 2043 г.**

*Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности*

Электронный документ подписан электронной подписью
Сертификат: 429964097 330 7264b99983e7184aa7
Владимир Зубов Юлий Сергеевич
Действителен с 2023-08-02 по 2024-08-02

Ю.С. Зубов



РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

**СВИДЕТЕЛЬСТВО**

о государственной регистрации программы для ЭВМ

№ 2023680120**Численный симулятор активации тромбоцитов**

Правообладатель: *Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации (RU)*

Авторы: *Лужанин Владимир Геннадьевич (RU), Бразовский Константин Станиславович (RU)*

Заявка № **2023669099**Дата поступления **13 сентября 2023 г.**

Дата государственной регистрации

в Реестре программ для ЭВМ **26 сентября 2023 г.**

*Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности*

Ю.С. Зубов