

## **ФЕНОЛЬНЫЕ КИСЛОТЫ И ФЛАВОНОИДЫ ЛИСТЬЕВ ЛИМОННИКА КИТАЙСКОГО (*SCHISANDRA CHINENSIS*)**

*Аксенов Андрей Алексович*, н.с. лаборатории атомарно-молекулярной биорегуляции и селекции, E-mail: [andrej.a.aksenov@gmail.com](mailto:andrej.a.aksenov@gmail.com)

*Кроль Татьяна Анатольевна*, к.с.-х.н., в.н.с. лаборатории атомарно-молекулярной биорегуляции и селекции, E-mail: [tatianakroll1@gmail.com](mailto:tatianakroll1@gmail.com)

ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений

**Аннотация:** Лимонник китайский – фармакопейное растение, плоды и семена которого применяются как адаптогенное средство. В результате проведенного УЭЖХ-ДД-МС анализа ацетонового экстракта листьев идентифицировано 20 соединений, в том числе 7 фенольных кислот и 8 флавоноидов.

**Ключевые слова:** Лимонник китайский, *Schisandra chinensis*, УЭЖХ-ДД-МС анализ, фенольные соединения, фенольные кислоты, флавоноиды

**Введение.** Лимонник китайский (*Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill) – многолетнее растение, относящееся к семейству лимонниковых (*Schisandraceae*). Род Лимонник (*Schisandra*) насчитывает порядка 25 видов и представлен листопадными одревесневшими лианами длиной до 10-15 метров, произрастающими в Восточной и Юго-Восточной Азии [1]. В России *S. chinensis* встречается на Дальнем Востоке. В Китае и Корее данный вид введен в культуру. Экстракты из *S. chinensis* обладают широким спектром биологической активности: противоопухолевой, антиоксидантной, нейропротекторной, гепатопротекторной и противовоспалительной активностью [1, 2].

Лимонник китайский широко используется в медицине и включен во многие фармакопеи. В России он разрешен как адаптогенное средство, улучшающее переносимость болезней, стрессов и повышающее физическую работоспособность. Плоды (ФС.2.5.0081.18) и семена (ФС.2.5.0082.18) входят в Государственную фармакопею Российской Федерации. Основным источником сырья служат как дикорастущие, так и культивируемые растения.

Качественный состав плодов и листьев активно изучается [2, 3]. К настоящему времени обнаружено порядка 200 соединений, которые представлены лигнанами, терпенами, фенольными кислотами, флавоноидами, полисахаридами [1]. Большинство научных исследований сосредоточено на изучении дибензоциклооктадиеновых лигнанов, которые являются основными действующими веществами специфичными для рода *Schisandra*, обнаруженными в плодах [3].

**Целью** данного исследования было изучение качественного состава фенольных кислот и флавоноидов листьев растений *S. chinensis*, произрастающих в условиях Московской области, методом ультра-эффективной жидкостной хроматографии

с диодно-матричным детектированием в сочетании с масс-спектрометрией (УЭЖХ-ДД-МС).

**Материалы и методы.** Объектом исследования являлись листья растений *S. chinensis* произрастающих на фармакопейном участке Ботанического сада ФГБНУ ВИЛАР. Сбор образцов проводили в 2019 году. Собранные листья замораживали и проводили лиофилизацию образцов (Labconco FreeZone 2.5 L, США). Затем листья измельчали (ММ 400, Retsch, Германия) и проводили трехкратную экстракцию 80% ацетоном. Полученный образец растворяли в 1 мл деионизованной воды в течение 60 минут и центрифугировали в течение 20 минут при 14000 об/мин. (Eppendorf 5430R, Германия). Затем водный раствор метаболитов разбавляли деионизованной водой 1 к 5.

Анализ УЭЖХ-ДД-МС проводили на хроматографической системе (Acquity UPLC® 2.9.0, Waters Corporation, Милфорд, США), сопряженной с фотодиодным детектором (190-500 нм) и тройным квадрупольным масс-спектрометром Xevo TQ (Waters Corporation, Милфорд, США). Градиентное элюирование с использованием 0,1% муравьиной кислоты (А) и ацетонитрила (Б). Время анализа 9 минут. Скорость потока элюента составляла 0,5 мл/мин, объем введённого образца - 5 мкл. Запись УФ-спектра в области 210-500 нм, регистрация в отрицательном режиме ионизации [4]. Обработку данных проводили с использованием DataAnalysis 4.0.

Идентификацию фенольных соединений проводили в соответствии с анализом УФ- и масс-спектров соединений и сравнивая полученные результаты с данными опубликованными в литературе [1, 2, 3].

**Результаты и их обсуждение.** В результате проведенного анализа в экстракте из листьев *S. chinensis* обнаружены 20 соединений (рисунок 1). На основании УФ-спектров было выявлено, что 7 соединений относились к фенольным кислотам, а 8 к флавоноидам.

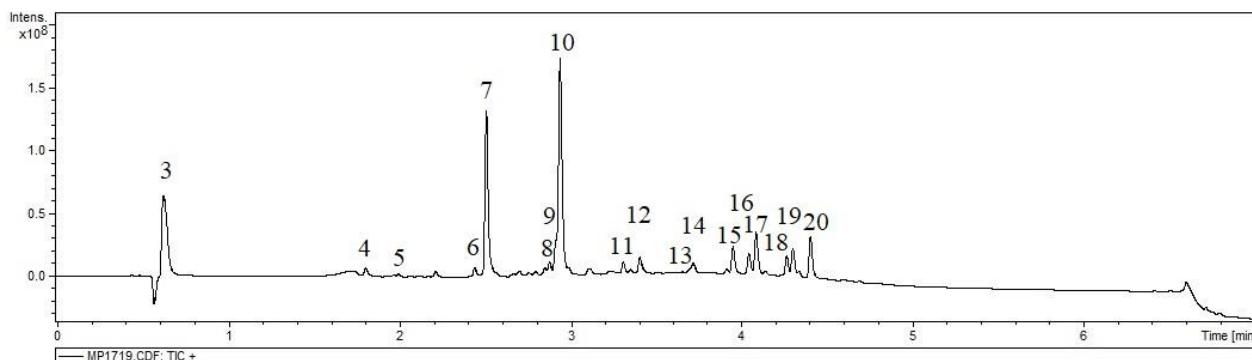


Рисунок 1 – УЭЖХ-УФ (280 нм) профиль фенольных соединений экстракта листьев *S. chinensis*. Обозначения: 3 – шикимовая кислота; 4 – дезоксигексозид хинной кислоты (изомер 1); 5 – дезоксигексозид хинной кислоты (изомер 2); 6 – кофеоилхинная кислота (изомер 1); 7 – кофеоилхинная кислота (изомер 2); 8 – кумароилхинная кислота (изомер 1); 9 – катехин; 10 – кофеоилхинная кислота (изомер 3); 11 – кофеоилхинная кислота (изомер 4); 12 – кумароилхинная кислота (изомер 2); 13 – 4'-О-метил-эпикатехин 3'-О-глюкуронид; 14 – кумароилхинная кислота (изомер 3); 15 – рутин; 16 – кверцетин-глюкозид (изомер 1); 17 –

кверцетин-глюкозид (изомер 2); 18 – кемпферол-О-гексозид-О-рамнозид; 19 – кемпферол-глюкозид (изомер 1); 20 – кемпферол-глюкозид (изомер 2)

Соединение **1** имело депротонированный ион  $[M-H]^-$   $m/z$  341 и его димер, а также фрагмент  $m/z$  179 и было идентифицировано как сахароза. Соединение **2** имело основной ион  $m/z$  191 Да и идентифицировано, как хинная кислота. Сахароза и хинная кислота имеют короткую волну поглощения УФ-спектра, в результате чего сигналы при хроматографическом анализе не регистрируются.

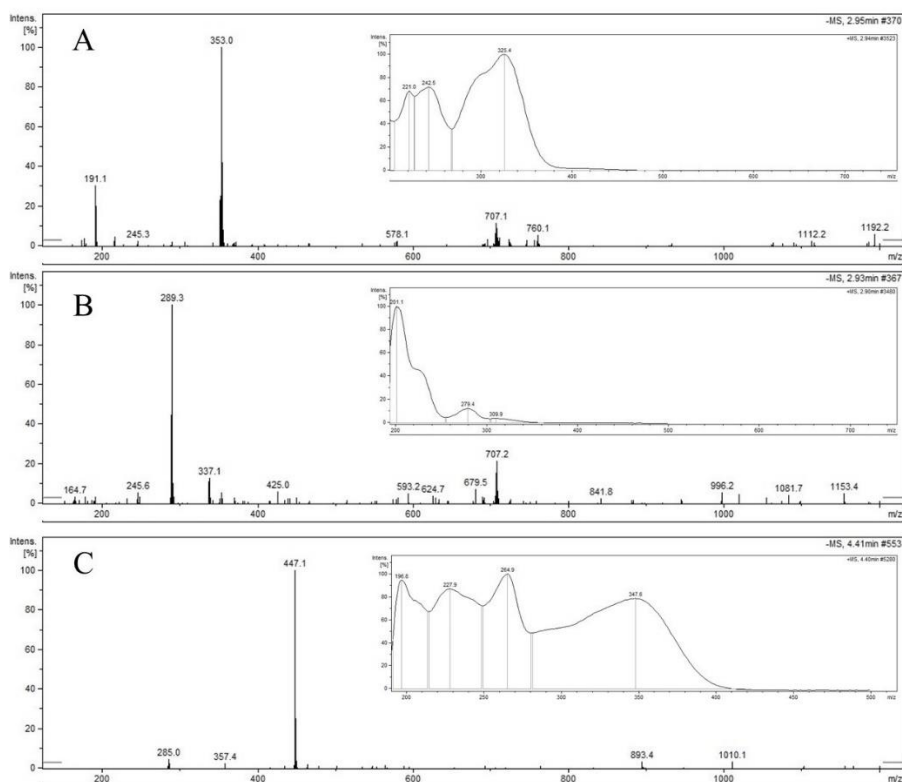
Соединение **3** имело основной ион  $m/z$  173 Да и УФ-спектр с максимумом поглощения в области 231 нм. Данное соединение идентифицировано как шикимовая кислота. На основании анализа УФ-спектра и масс-спектров ( $m/z$  371  $[M-H]^-$  и 743  $[2M-H]^-$ , и характерного фрагмента  $m/z$  191 [Хинная кислота-Н] $^-$ ) соединения **4** и **5** идентифицированы как изомеры дезоксигексозида хинной кислоты.

Соединения **6**, **7**, **10** и **11** имели УФ-спектр, характерный для кофейной кислоты (243; 300 пл; 325 нм). В масс-спектре присутствовали депротонированный ион  $m/z$  353  $[M-H]^-$  и его димер  $m/z$  707  $[2M-H]^-$ , а также характерный фрагмент  $m/z$  191 [Хинная кислота-Н] $^-$ . Все четыре соединения идентифицированы как изомеры кофеилхинной кислоты (рисунок 2А).

УФ-спектры соединений **8**, **12** и **14** имели максимум поглощения при 311 нм, что соответствует кумароилхинной кислоте. Анализ масс-спектров данных соединений показал наличие депротонированного иона  $m/z$  337  $[M-H]^-$  и характерных фрагментов  $m/z$  675  $[2M-H]^-$ ,  $m/z$  191 [Хинная кислота-Н] $^-$ .

В результате анализа показано, что основные флавоноидные группы обнаруженных гликозидов состояли из кверцетина и кемпферола, а также одного агликона флавоноидов – катехина. На основании характерного для флаван-3-олов УФ-спектра с двумя максимумами поглощения в области 227 и 279 нм, а также депротонированного иона  $[M-H]^-$   $m/z$  289 и характерных фрагментов  $m/z$  245  $[M-H-CO_2]^-$ ,  $m/z$  579  $[2M-H]^-$  соединение **9** было идентифицировано как катехин (рисунок 2В).

Соединение **13** имело УФ-спектр, характерный для флаван-3-олов с двумя максимумами поглощения в области 228 и 274 нм. Анализ масс-спектра показал наличие основного иона  $m/z$  479 Да и было идентифицировано как 4'-О-метил-эпикатехин 3'-О-глюкуронид. Соединения **15**, **16** и **17** имели УФ-спектр с двумя максимумами поглощения в области 251-255 и 353-354 нм, что характерно для производных кверцетина. В масс-спектре у всех трех соединений обнаружен одинаковый  $m/z$  фрагмент (301 Да), соответствующий агликону [Кверцетин-Н] $^-$ , что также позволяет отнести данные соединения к производным кверцетина. Соединение **15** идентифицировано как рутин, на основании иона  $[M-H]^-$   $m/z$  609 Да. При изучении масс-спектра соединений **16** и **17** были обнаружены ионы  $m/z$  463 и 927 Да, которые соответствуют ионам кверцетин-глюкозида  $[M-H]^-$  и  $[2M-H]^-$  соответственно. Соединения **18**, **19** и **20** имели УФ-спектры, характерные для флавоноидов с максимумами поглощения при 265 и 348 нм. При изучении масс-спектров этих соединений установлено наличие фрагмента  $m/z$  285 Да, соответствующего  $m/z$  агликона [Кемпферол-Н] $^-$ .



**Рисунок 2 – Примеры МС и УФ-спектров соединений ацетонового экстракта из листьев *S. chinensis*: А – кофеилхинная кислота, В – катехин, С – кемпферол глюкозид.**

На основании  $[M-H]^-$   $m/z$  593 Да соединение **18** было идентифицировано как кемпферол-О-гексозид-О-рамнозид. Изучение масс-спектра флавоноидов **19** и **20** показало, что основным является ион  $m/z$  447 Да и характерный фрагмент  $m/z$  895  $[2M-H]^-$ . В результате анализа оба соединения идентифицированы как изомеры кемпферол-глюкозида (рисунок 2С).

Исследования показали, что в изучаемом экстракте обнаружены 4 изомера кофеилхинной кислоты. Кофеилхинные кислоты играют важную роль в устойчивости растений, защищая их от стрессовых факторов. Хлорогеновая кислота также является одним из регуляторов ростовых процессов. Полученные нами результаты согласуются с данными опубликованными ранее [1, 2, 3].

**Заключение.** Изучен состав фенольных соединений методом УЭЖХ-ДД-МС в водно-ацетоновом экстракте из листьев *S. chinensis*, произрастающих в условиях Московской области. Обнаружено 20 соединений, среди которых выявлены семь фенольных кислот и восемь флавоноидов. Наиболее интенсивные пики наблюдались у двух изомеров кофеилхинной кислоты. Проведенное исследование показывает, что листья *S. chinensis* могут служить источником биологически активных фенольных соединений.

### Библиографический список

1. Mocan A., Schafberg M., Crişan G., Rohn S. Determination of lignans and phenolic components of *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill. using HPLC-ESI-ToF-MS and HPLC-online TEAC: Contribution of individual components to overall antioxidant activity and comparison with traditional antioxidant assays // Journal of Functional Foods. – 2016. – Vol. 24. – Pp. 579-594. DOI: 10.1016/j.jff.2016.05.007.

2. Szopa A., Klimek-Szczykutowicz M., Kokotkiewicz A., Dziurka M., Luczkiewicz M., Ekiert H. Phenolic acid and flavonoid production in agar, agitated and bioreactor-grown microshoot cultures of *Schisandra chinensis* cv. Sadova №1 – a valuable medicinal plant // Journal of biotechnology. – 2019. – Vol. 305. – Pp. 61-70. DOI: 10.1016/j.jbiotec.2019.08.021.
3. Tvrda E., Michalko J., Árvay J., Vukovic N.L., Ivanišová E., Ďuračka M., Kačániová M. Characterization of the Omija (*Schisandra chinensis*) extract and its effects on the bovine sperm vitality and oxidative profile during *in vitro* storage // Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. – 2020. – Vol. 2020. – Article ID 7123780. DOI: 10.1155/2020/7123780.
4. Engström M. T., Palijarvi M., Salminen J. P. Rapid fingerprint analysis of plant extracts for ellagitannins, gallic acid, and quinic acid derivatives and quercetin-, kaempferol- and myricetin-based flavonol glycosides by UPLC-QqQ-MS/MS // Journal of agricultural and food chemistry. – 2015. – Vol. 63. – Pp. 4068-4079. DOI: 10.1021/acs.jafc.5b00595.
5. Растениеводство и луговое хозяйство : сборник статей Всероссийской научной конференции с международным участием, Москва, 18–19 октября 2020 года. – Москва: ЭЙПиСиПублишинг, 2020. – 838 с. – ISBN 978-5-6042131-8-6. – DOI 10.26897/978-5-6042131-8-6. – EDN RSQCUH.
6. Вклад студентов в развитие аграрной науки : Сборник статей студенческой научно-практической конференции, Москва, 31 октября 2018 года. – Москва: Российский государственный аграрный университет - МСХА им. К.А. Тимирязева, 2018. – 134 с. – ISBN 978-5-9675-1702-0. – EDN YTLELB.
7. Вклад студентов в развитие аграрной науки : Сборник статей студенческой научно-практической конференции, Москва, 30 октября 2019 года. – Москва: Редакция журнала "Механизация и электрификация сельского хозяйства", 2019. – 170 с. – EDN WFMJGQ.