

## ИЗУЧЕНИЕ СОСТАВА ПОЛИФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ ШИШКОЯГОД МОЖЖЕВЕЛЬНИКА ДЛИННОХВОЙНОГО

Писарев Д.И.<sup>1</sup>, Новиков О.О.<sup>1</sup>, Жилиякова Е.Т.<sup>1</sup>, Индина И.В.<sup>1</sup>, Захаров О.В.<sup>1</sup>,  
Казакова В.С.<sup>1</sup>, Придачина Д.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГАОУ ВПО Белгородский государственный национальный исследовательский университет, Белгород, Россия (308015, Белгород, ул. Победы, 85), e-mail: [Pisarev@bsu.edu.ru](mailto:Pisarev@bsu.edu.ru)

Статья посвящена изучению полифенольных соединений можжевельника длиннохвойного. Можжевельник длиннохвойный – представитель флоры Кавказа, по своим фармакологическим свойствам близок к фармакопейному виду – можжевельнику обыкновенному. Известно, что терапевтическое действие можжевельников определяется не только эфирными маслами, но и полифенолами. В этой связи изучен состав полифенольных соединений можжевельника длиннохвойного. Для этого использовали высокоэффективную жидкостную хроматографию и масс-спектрометрию в варианте MALDI/TOF/MS. Хроматографирование осуществляли в градиентном режиме элюирования. Масс-спектрометрию проводили в режиме образования положительных ионов. В результате проведённых исследований установлено, что состав полифенольных соединений плодов можжевельника длиннохвойного представлен только флавоноидами. Показано, что среди флавоноидов оказались гликозиды четырёх агликонов, а именно апигенина, лютеолина, кверцетина и скутелляреина. Кроме того, в плодах обнаружены бифлавоноиды, содержание которых оказалось около 61,0% по отношению к другим флавоноидам.

Ключевые слова: можжевельник длиннохвойный, полифенольные соединения, флавоноиды, ОФ ВЭЖХ, масс-спектрометрия.

## STUDY OF THE COMPOSITION OF POLYPHENOLIC COMPOUNDS FRUIT JUNIPERUS OBLONGA

Pisarev D.I.<sup>1</sup>, Novikov O.O.<sup>1</sup>, Zhilyakova E.T.<sup>1</sup>, Indina I.V.<sup>1</sup>, Zakharov O.V.<sup>1</sup>,  
Kazakova V.S.<sup>1</sup>, Pridachina D.V.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>FGAOU VPO Belgorod State National Research Uni-versity, Belgorod, Russia (308015, Belgorod, st., 85), e-mail: [Pisarev@bsu.edu.ru](mailto:Pisarev@bsu.edu.ru)

The article is devoted to the study of polyphenolic compounds juniperusoblonga. Juniperusoblonga - representative of the flora of the Caucasus, according to their pharmacological properties similar to Pharmacopeial mind - common juniper. It is known that the therapeutic effect is determined not only juniper essential oils, but also polyphenols. In this context, the composition of polyphenolic compounds studied juniperusoblonga. For this purpose, high performance liquid chromatography and mass spectrometry in the embodiment MALDI / TOF / MS. Chromatography was performed in a gradient elution mode. Mass spectrometry was performed in the mode of formation of positive ions. The studies found that the composition of polyphenolic compounds Juniperusoblonga represented only by flavonoids. It is shown that, among flavonoids glycosides were four aglycones, namely, apigenin, luteolin, quercetin and skutellyareina. Furthermore, fruit biflavonoidy detected, the contents of which was about 61.0% relative to the other flavonoids.

Keywords: Juniperusoblonga, polyphenolic compounds, flavonoids, RP-HPLC and mass spectrometry.

В настоящее время в отечественной научной медицине практическое применение находит можжевельник обыкновенный – *Juniperuscommunis*L., его плоды (шишкоягоды) включены в ГФ XI изд. в качестве диуретического средства. Использование плодов других видов можжевельников не предусмотрено документацией [1].

Наиболее важной в практическом отношении группой биологически активных веществ большинства представителей рода *Juniperus*L. является эфирное масло. Однако фармакологическое действие можжевельников проявляется не только за счёт эфирных масел, но и комплекса полифенолов. Среди флавоноидных структур, свойственных для этого рода, ха-

рактально присутствие 6-гидроксифлавонов, а также бифлавонов [3, 4].

В качестве объекта исследования нами выбран можжевельник длиннохвойный - *Juniperus oblonga* Vieb. *J. oblonga* Vieb. – представитель секции *Oxycedrus*. На Кавказе данный представитель используется подобно *J. communis* L. [5]. В официальной медицине настоящий объект не применяется по причине недостаточной химической и фармакологической изученности. Шишкоягоды его употребляются при болезнях почек, мочевого пузыря, дизурии и почечнокаменной болезни. Плоды проявляют сильное мочегонное действие, а также используются как противогинготное средство [2].

Ранее нами изучен состав полифенолов плодов *J. oblonga* Vieb. классическими методами анализа. Использование современных методов для анализа полифенолов данного объекта не применялось. Поэтому целью настоящего исследования является химическое изучение полифенолов шишкоягод *J. oblonga* Vieb.

Хроматографические исследования полифенолов проводили на хроматографическом приборе «Agilent Technologies 1200 Infinity». Детекцию осуществляли с помощью диодно-матричного детектора серии Agilent 1200 (диапазон длин волн от 190 до 950 нм, кювета с длиной оптического пути 10 мм; объемом 13 мкл), шаг сканирования - 2 нм.

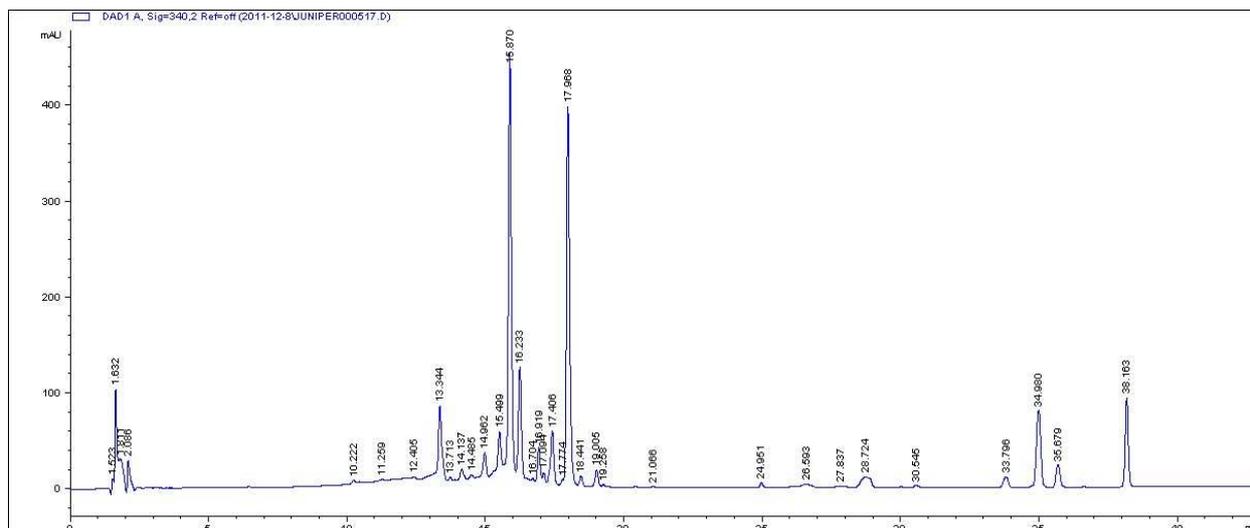
Сумму полифенолов подвергали хроматографическому разделению в следующих условиях: подвижная фаза: 0,5%-ный водный раствор кислоты уксусной (А) – ацетонитрил (Б) в градиентном режиме элюирования; колонка: *Ascentis express* C<sub>18</sub> 2,7 μm × 100 мм × 4,6 мм; скорость подвижной фазы – 0,5 мл/мин; температура колонки +35 °С; объем вводимой пробы 1 μл. Детектирование осуществляли: для флавонов и флавонолов 360 нм, оксикоричных кислот 325 нм.

Состав подвижной фазы программировали в условиях, указанных в таблице 1.

**Таблица 1 - Условия градиентного элюирования полифенолов плодов *J. oblonga* Vieb.**

Время, мин	А,%	Б,%
0	90	10
10	80	20
20	70	30
30	50	50
40	10	90

Хроматографический анализ полифенолов плодов *J. oblonga* Vieb. методом ОФ ВЭЖХ показал присутствие исключительно только флавоноидов (рисунок 1).



**Рисунок 1 - Хроматограмма разделения флавоноидов *J. oblonga* Vieb.**

Критерии пригодности хроматографической системы, рассчитанные по результатам хроматографирования, представлены в таблице 2.

**Таблица 2 - Показатели пригодности хроматографической системы для определения полифенолов *J. oblonga* Vieb.**

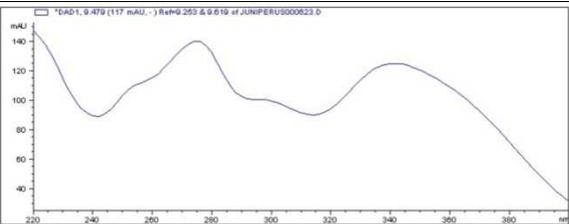
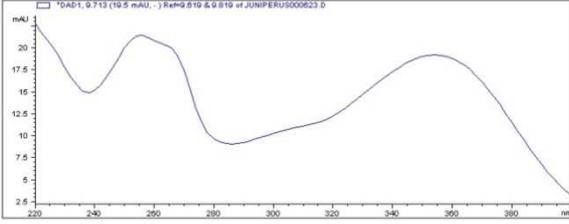
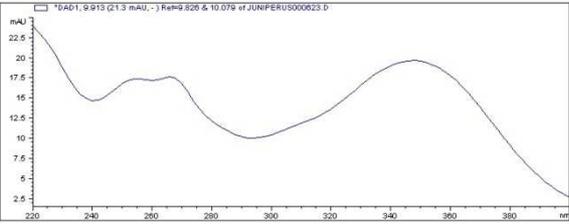
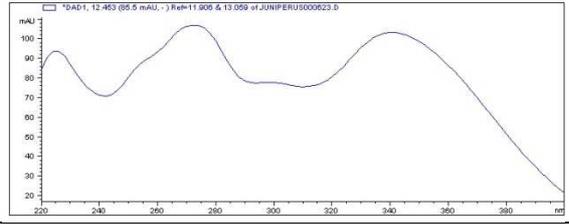
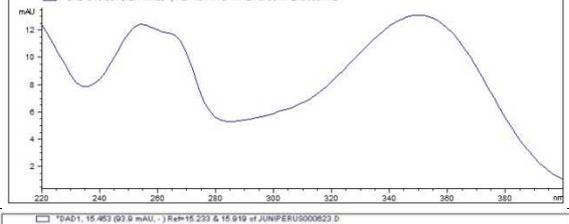
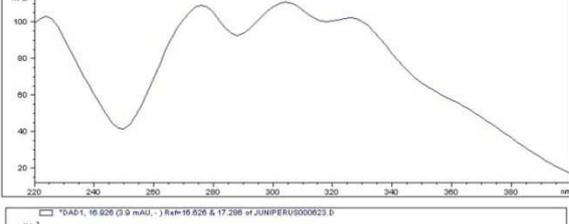
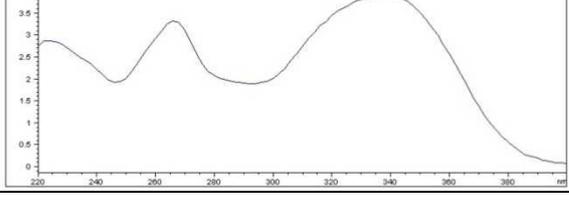
$t_R$	S	N	НЕТР	$R_s$	$T_f$	$W_b$
13,344	796	137776	1,08	5,6	1,128	0,1438
15,87	3095	339795	0,44	3,3	0,833	0,1089
16,233	803	323851	0,46	3,2	0,941	0,1141
17,968	3063	375425	0,4	2,04	0,727	0,1173

$t_R$  - абсолютное время удерживания, S - площадь пика, N - число теоретических тарелок, НЕТР - высота, эквивалентная теоретической тарелке,  $R_s$  - коэффициент разделения пиков,  $T_f$  - коэффициент асимметрии,  $W_b$  - ширина пика на базовой линии

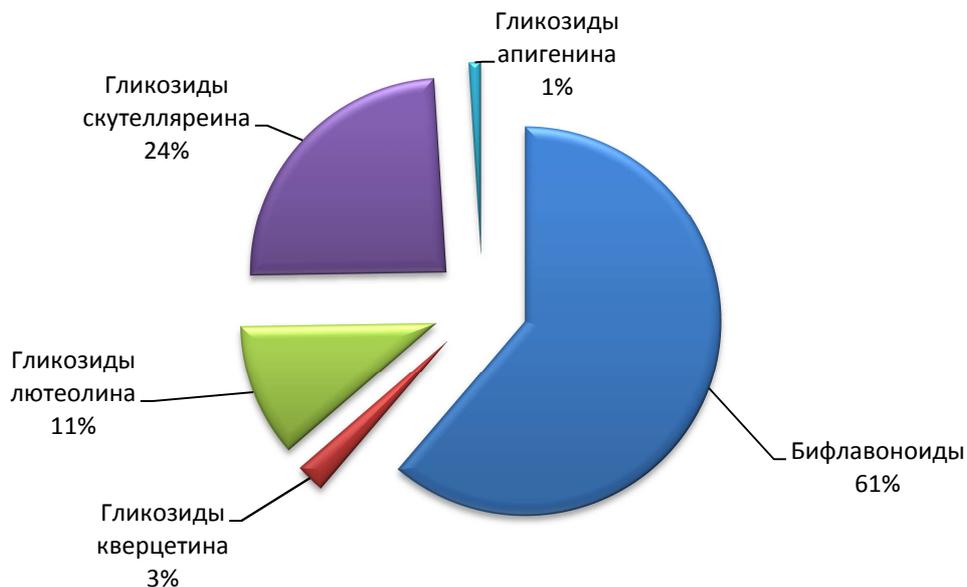
Данные таблицы 2 свидетельствуют, что данная хроматографическая система подходит для анализа полифенолов *J. oblonga* Vieb., поскольку все критерии пригодности ( $N > 5000$ ,  $R_s > 1,5$ ,  $T_f < 2$ ) лежат в пределах допустимых значений.

Компонентный состав полифенольного комплекса плодов *J. oblonga* Vieb. по результатам диодно-матричного детектирования представлен в таблице 3.

**Таблица 3 - Компонентный состав полифенолов плодов *J. oblonga* Vieb.**

Время удерживания, мин	УФ-спектр	Содержание в сумме, %	Идентифицированный компонент
9,479		15,8	Бифлавоноид
9,71		2,4	Кверцетин-3-глюкозид
9,91		3,1	Лютеолин-6-С-глюкозид
12,45		40,7	Бифлавоноид
14,09		8,0	Лютеолин-7-глюкозид
15,45		21,4	Скутелляреин-8-О-глюкозид
16,92		1,0	Апигенин-7-глюкозид

Результаты анализа таблицы 3 свидетельствуют, что полифенолы плодов *J. oblonga* Vieb. представлены исключительно флавоноидами. Их процентное распределение представлено на рисунке 2.

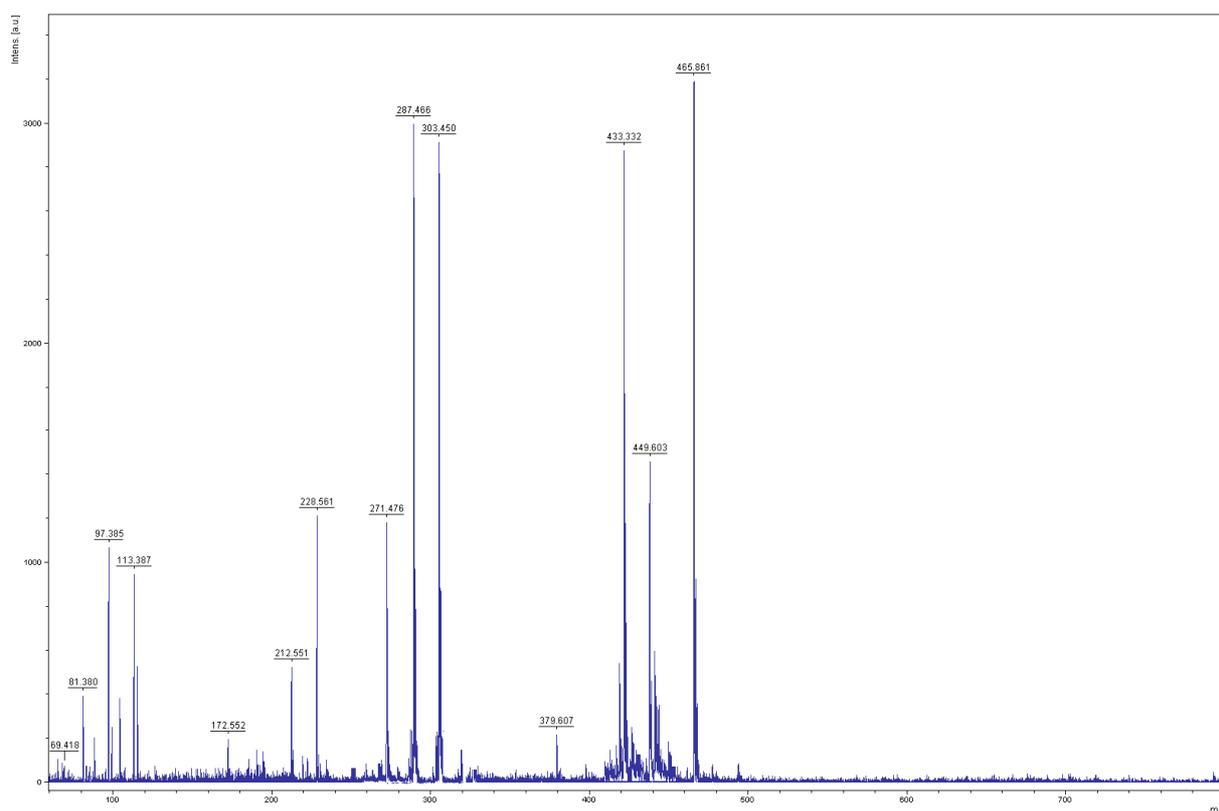


**Рисунок 2 - Процентное распределение флавоноидов *J. oblonga* Vieb.**

На представленной диаграмме видно, что преобладающими группами флавоноидов являются бифлавоноиды (61,0%) и гликозиды скутелляреина (24,0%).

Масс-спектры полифенолов фиксировали на приборе «AutoflexII» «MALDITOF/TOF» фирмы BrukerDaltonicsGmbH производства Германии. В качестве матрицы использовали  $\alpha$ -цианокоричную кислоту, регистрацию спектров вели с помощью программы «FlexControl», обработку данных осуществляли в программе «FlexAnalis», в отражённом режиме при положительной полярности (*ReflexPositive*).

В масс-спектре полифенольного комплекса плодов *J. oblonga* Vieb наблюдаются интенсивные пики молекулярных ионов гликозидов флавоноидов с  $m/z = 435, 449$  и  $465$ , фрагментирующиеся с образованием агликонов, имеющих пики молекулярных ионов с  $m/z = 271, 287$  и  $303$ , принадлежащие апигенину, лютеолину и скутелляреину (рисунок 3).



**Рисунок 3 - Масс-спектр суммы полифенолов *J. oblonga* Vieb.**

В ходе проведённых экспериментов изучен химический состав плодов *J. oblonga* Vieb. Установлено, что полифенольный состав представлен исключительно флавоноидами, а именно гликозидами апигенина, лютеолина, кверцетина, скутелляреина и бифлавоноидами. Основная масса флавоноидов приходится на бифлавоноиды (61,0%) и скутелляреин (24,0%).

### Список литературы

1. Государственная фармакопея СССР: Вып. 2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырьё. / МЗ СССР. – 11-е изд., доп. – М.: Медицина, 1991. – 397 с.
2. Дикорастущие полезные растения России / Отв. ред. А.Л. Буданцев, Е.Е. Лесиовская. – СПб.: Изд-во СПХФА, 2001. – 663 с.
3. Исследование полифенольных соединений шишкоягод можжевельника обыкновенного (*Juniperus communis* L.) / Алтымышев А.А. [и др.] // Изв. АН КиргССР. – 1986. - №3. – С. 28 – 29.
4. Клюев Н.А. Использование масс-спектрометрии в структурном анализе компонентов эфирных масел / Н.А. Клюев, В.А. Замуреев, Н.С. Евтушенко // Фармация. – 1987. - №5. – С. 69 – 75.
5. Писарев Д.И. Состав эфирных масел хвои и плодов можжевельника длиннохвойного / Д.И. Писарев, О.Н. Денисенко // Фармация. – 2005. - №1. – С. 12 – 14.

**Рецензенты:**

Шомаров В.К., д.фарм.н., профессор кафедры фармацевтической, токсикологической и аналитической химии Курского государственного медицинского университета, г.Курск.

Будко Е.В., д.фарм.н., профессор кафедры фармацевтической, токсикологической и аналитической химии Курского государственного медицинского университета, г.Курск.