

© Коллектив авторов, 2016

В. И. Шейченко, О. П. Шейченко, В. В. Ануфриева, О. Н. Толкачев,
К. М. Дюмаев, Т. А. Сокольская

ИЗУЧЕНИЕ СОСТАВА ФЕНОЛЬНОГО КОМПОНЕНТА МЕТАБОЛОМА РАСТЕНИЙ МЕТОДОМ ЯМР

ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений (ВИЛАР) Москва, Россия, e-mail: vilarnii@mail.ru

С целью определения возможности идентификации и количественных измерений полифенольных соединений (флавоноиды, танины и др.) в экстрактах растений проведен анализ ^1H ЯМР спектров растворов фенольных соединений в диметилсульфоксиде (ДМСО). Исследована зависимость химических сдвигов протонов гидроксильных групп полифенолов от природы и положения заместителей в ароматическом кольце.

Ключевые слова: полифенольные соединения; ЯМР спектры; ДМСО; химические сдвиги и ширина сигналов гидроксильных групп.

Фенольные соединения (ФС) — вторичные метаболиты — весьма распространены в растениях. В настоящее время известно около 9 тыс. фенольных соединений, из которых более половины флавоноиды [1]. На фенольные соединения приходится до 2–3 % массы органического вещества растений, а в некоторых случаях до 10 % и более. Например, в листьях облепихи крушиновидной (*Hippophae rhamnoides* L.) содержание гидролизуемых танинов достигает 20 %.

ФС обнаружены в грибах, мхах, лишайниках, водорослях, папоротниках и хвощах, а также у высших растений (в листьях, плодах, подземных органах). Их биосинтез протекает в растительных объектах, в то время как животные потребляют их в готовом виде.

Соединения этого класса обладают высокой биологической активностью. В растениях ФС играют важную роль в процессах дыхания, фотосинтеза, гликолиза, фосфорилирования, являются регуляторами роста, развития и репродукции растений, выполняют структурную, опорную и защитную функцию, повышают устойчивость растений к грибковым заболеваниям, обладают антибиотическим и противовирусным действием. Фенольный состав специфичен для каждого растения и может быть использован в качестве маркеров компонентов метаболома.

В ГНУ ВИЛАР на основе фенольных соединений разработан ряд препаратов (алпизарин, гипорамин, флакозид, силимар и др.).

В анализе полифенольных соединений применяют прямую, а также разностная спектрофотометрия с использованием AlCl_3 в качестве сдвигового реагента [2, 3]. Способность фенольных гидроксильных групп (ФГ) образовывать комплексы с металлами используется и в структурных исследованиях [4].

В настоящей работе рассмотрены возможности ЯМР-спектроскопии в анализе фенольного компонента растений. ЯМР-спектроскопия широко использует-

ся в изучении строения и идентификации биологически активных веществ, а также, являясь фармакопейным методом [5], при составлении нормативной документации. В анализе смеси веществ возможности метода ЯМР осложнены наличием в спектрах обычно большого количества сигналов и связанных с этим трудностями отнесения сигналов отдельным веществам. С использованием двумерной ЯМР-спектроскопии разрабатывались методы метаболомного анализа, в которых использовалась область спектра 0–8,5 м.д., в которой дают сигналы вещества, относящиеся к различным классам соединений [6, 7].

Для компонентного анализа фенольных соединений особый интерес представляет область сигналов 8–14 м.д. растворов субстанций в диметилсульфоксиде (ДМСО), в которой дают сигналы ФГ. Сигналы представляют собой однопротонные синглеты, количество которых равно числу ФГ в молекуле. Отношение интегральных интенсивностей однопротонных единиц ФГ равно отношению количества веществ в субстанции, что позволяет в количественных измерениях использовать 1 стандартное вещество и не строить калибровочные графики для каждого компонента субстанции.

Наблюдать сигналы ФГ обычно удается в растворителях, обладающих протоакцепторными свойствами, из которых наиболее часто используются 2 — ДМСО и, реже, гексаметиленфосфортриамид (ГМФА).

Первые публикации по исследованию растворов в ДМСО фенолсодержащих соединений методом ЯМР относятся к концу 60 — началу 70 гг. XX века [8]. Однако в последующие годы число работ, в которых сигналы фенольных гидроксильных групп использовались в структурных исследованиях и в количественных измерениях веществ, было весьма ограничено. В [9] говорится о “забытом диапазоне” ЯМР-спектров (область ФГ в ДМСО). В сравнительно недавних работах [10, 11] ме-

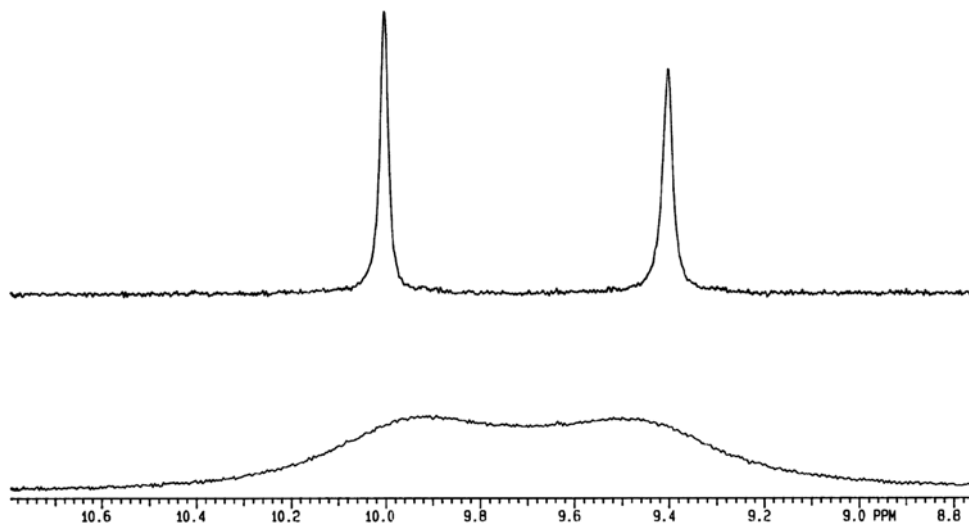


Рис. 1. Фрагменты ^1H ЯМР-спектров растворов в ДМСО CO лутеолин-7-О-глюкозида до деионизации (внизу), после деионизации (вверху).

тодом ЯМР исследовалась область сигналов ФГ в экстрактах растений.

Главной проблемой, с которой приходится сталкиваться при анализе спектров фенольных соединений, является большая ширина сигналов ФГ, которая может достигать сотен герц. Уширение и связанное с этим сильное перекрывание сигналов ФГ обусловлено бы-

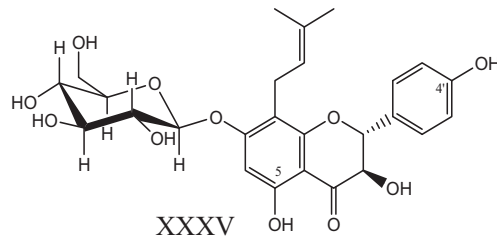
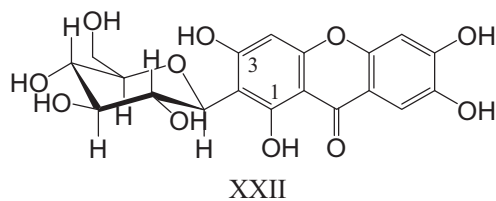
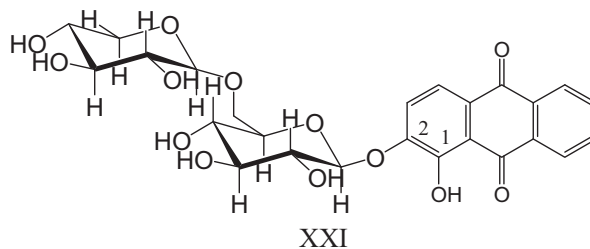
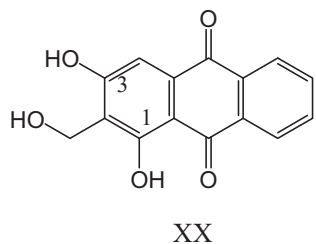
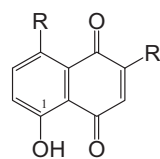
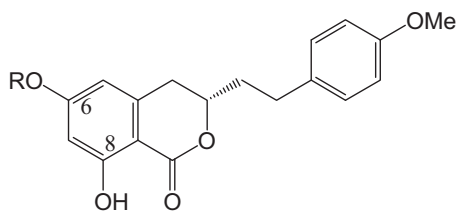
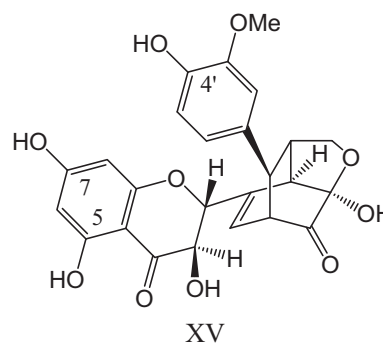
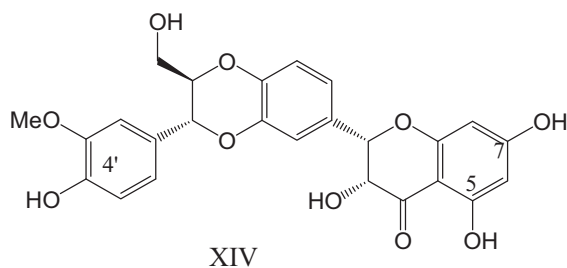
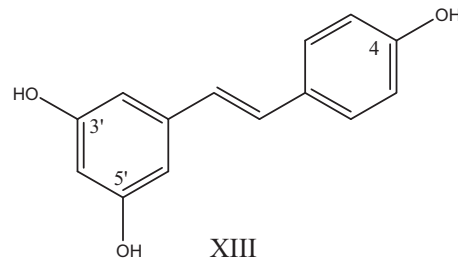
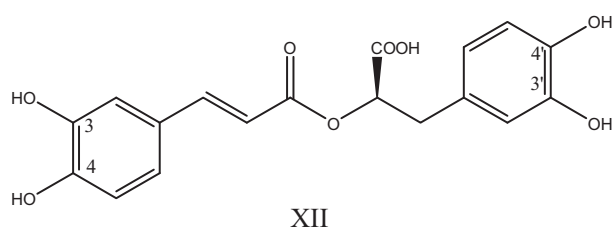
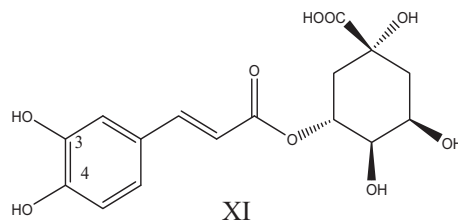
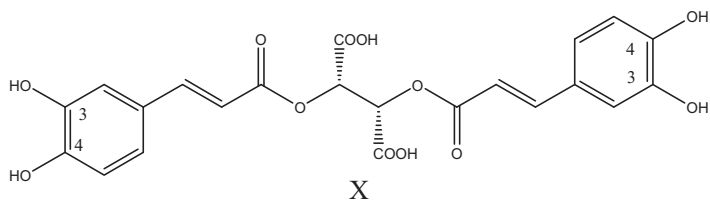
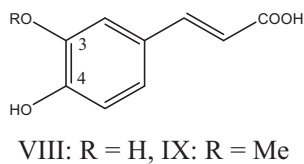
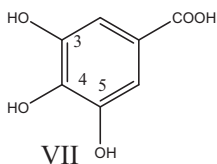
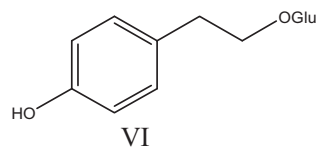
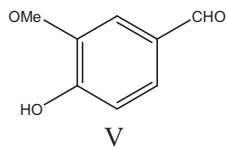
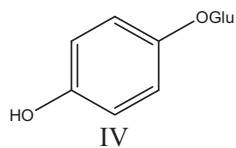
стрым протонным обменом между различными протонами ФГ с различными химическими сдвигами. ДМСО, являясь прототфильным растворителем, образует водородные связи с фенольными гидроксильными группами, замедляя скорость протонного обмена.

ДМСО — весьма гигроскопичный растворитель; протоны воды образуют водородные связи с атомами

Таблица 1

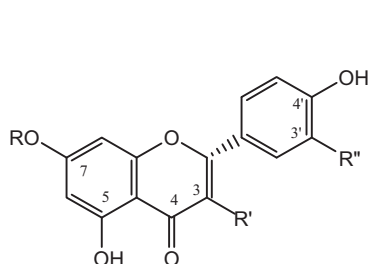
Химические сдвиги фенольных гидроксильных групп растворов веществ растительного происхождения в ДМСО (2,50 м.д.)

Соединение	Название	Формула	М.м.	3	4	3'	4'	Другие
Фенолы								
I	Фенол	$\text{C}_6\text{H}_6\text{O}$	94,04		9,33			
II	Резорцин	$\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_2$	110,04		9,15			
III	Гидрохинон	$\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_2$	110,04		8,64			
IV	Арбутин	$\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{O}_7$	272,09		9,01			
V	Ванилин	$\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_3$	152,15		10,26			
VI	Салидрозид	$\text{C}_{14}\text{H}_{30}\text{O}_7$	300,30		9,17			
Кислоты и стильбен								
VII	Галловая	$\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5$	170,12	8,83	9,19 – 2H			
VIII	Кофейная	$\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_4$	180,04	9,15	9,55			
IX	Феруловая	$\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{O}_4$	194,06	9,18	9,56			
X	Цикориевая	$\text{C}_{22}\text{H}_{18}\text{O}_{12}$	474,37	9,19	9,72			
XI	Хлорогеновая	$\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{O}_9$	354,10	9,17	9,61			
XII	Розмариновая	$\text{C}_{18}\text{H}_{10}\text{O}_8$	360,31	9,18	9,66	8,81	8,76	
XIII	t-Ресвератрол	$\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{O}_3$	228,2		9,16	9,53 – 2H		
Флаволигнаны								
XIV	Силибин	$\text{C}_{25}\text{H}_{22}\text{O}_{10}$	482,44	11,89	10,90	9,15		
XV	Силидианин	$\text{C}_{28}\text{H}_{22}\text{O}_{10}$	482,4	11,81	10,90	8,78		
Изокумарины								
XVI	АgrimонOLID	$\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{O}_5$	318,33	10,63	11,08			
XVII	АgrimонOLID-6-О-глюкозид	$\text{C}_{24}\text{H}_{28}\text{O}_{10}$	476,47		11,10			
Хиноны, ксантон								
XVIII	Юглон	$\text{C}_{10}\text{H}_6\text{O}_3$	174,15	11,78	2	3	7	8
XIX	Шиконин	$\text{C}_{16}\text{H}_{26}\text{O}_5$	288,3	12,32	12,41			
XX	Луцидин	$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_5$	270,24	13,06				
XXI	Руберитровая кислота	$\text{C}_{28}\text{H}_{26}\text{O}_{13}$	534,47	12,67				
XXII	Мангиферин	$\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{O}_{11}$	422,54	13,76		9,82	10,71	10,62



Характеристики флавоноидов, катехинов

Соединение	Название	Формула	М.м.	3	5	7	3'	4'	3'',4'''
XXIII	Лютеолин	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	286,24	–	12,98	10,84	9,41	9,93	
XXIV	Цинарозид	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	448,38	–	12,99	–	9,40	10,00	
XXV	Апигенин	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	270,24	–	12,97	10,84	–	10,36	
XXVI	Тилианин	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₀	446,4		12,92	–	–	–	
XXVII	Кемпферол	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	286,23	9,39	12,48	10,78	–	10,10	
XXVIII	Кверцетин	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	302,23	9,32	12,50	10,79	9,38	9,60	
XXIX	Рутин	C ₂₇ H ₃₈ O ₁₆	610,52	9,70	12,60	10,84	9,18	9,68	
XXX	Гиперозид	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	464,38	–	12,65	10,90	9,19	9,78	
XXXI	Галангин	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	270,24	9,70	12,40	10,93	–	–	
XXXII	Таксифолин	C ₁₅ H ₁₂ O ₇	304,25	5,71	11,87	10,78	8,93	8,98	
XXXIII	Нарингенин	C ₁₅ H ₁₂ O ₅	272,26	–	12,15	10,79	–	9,59	
XXXIV	Нарингин	C ₂₅ H ₃₂ O ₁₄	580,53	–	12,06	–	–	9,62	
XXXV	Фелламурин	C ₂₆ H ₃₀ O ₁₁	518,51		11,84	–	–	9,57	
XXXVI	D-Катехин	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	290,3		8,94	8,87	9,18	8,82	
XXXVII	(-)-Эпи-галло-катехин	C ₁₅ H ₁₄ O ₇	306,4		9,09	8,89	8,69 (2H)	7,94	
XXXVIII	(-)-Эпи-галло-катехингаллат	C ₂₂ H ₁₈ O ₁₁	458,4		9,28	8,91	8,71 (2H)	8,03	9,04 9,20 – 2H



XXXIII – XXXI

XXXIII: R = R' = H, R'' = OH,

XXIV: R' = H, R'' = OH, R = Glu

XXV: R = R' = R'' = H

XXVI: R' = R'' = H, R = OGlu, 4'-OMe

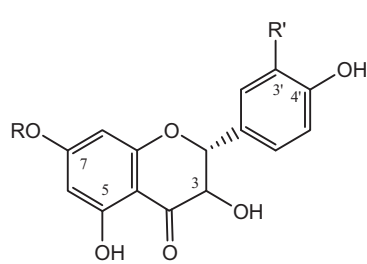
XXVII: R = R'' = H, R' = OH

XXVIII: R = H, R' = R'' = OH,

XXIX: R = H, R'' = OH, R' = O = Rut

XXX: R = H, R'' = OH, R' = O-Gal

XXXI: R = R'' = H, R' = OH, 4'-дезоксид,

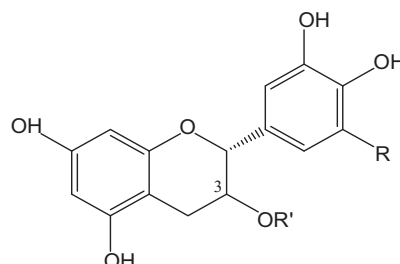


XXXII – XXXIV

XXXII: R = H, R' = OH,

XXXIII: R = R' = H,

XXXIV: R = Glu, R' = H



XXXVI – XXXVIII

XXXVI: (3S) R = R' = H,

XXXVII: (3R) R = OH, R' = H,

XXXVIII: (3R) R = OH, R' = Galloyl

кислорода ДМСО, замещая его связь с ФГ. Молярная масса воды намного меньше молярной массы фенолов и имеет 2 атома водорода, участвующих в образовании водородных связей. Поэтому даже небольшое количество воды в ДМСО может привести к существенному увеличению ширины сигналов ФГ.

Понизить скорость протонного обмена можно уменьшением концентрации веществ в растворе, поскольку скорость бимолекулярной реакции пропорциональна произведению концентраций взаимодействующих веществ (закон действующих масс). Ширина сигнала менее 10 Гц может быть достигнута при концентрации веществ, измеряемых в ммоль или долями ммоль веществ. Влияние различных факторов на ширину и положение сигналов растворов веществ в ДМСО рассмотрено в работе [12].

Субстанции, получаемые из растений водной или водно-спиртовой экстракцией, в значительных количествах содержат соли минеральных и органических кислот. Аналитический показатель “сульфатная зола”, характеризующий количество металлов в сухих экстрактах, нередко превосходит 10 %. Ионы металлов через взаимодействие с ДМСО, образование комплексов или фенолятов (ионизация — деионизация) способствуют увеличению скорости протонного обмена и уширению сигналов ФГ.

О большом вкладе ионов металлов в уширение сигналов ФГ говорит тот факт, что даже для образцов стандартов, получаемых из растений, деионизация приводит к существенному сужению сигналов ФГ [13]. Иллюстрацией этому является приведенный на рис. 1 фрагмент спектра стандартного образца (СО) лютеолин-7-О-глюкозида (сигналы протонов гидро-

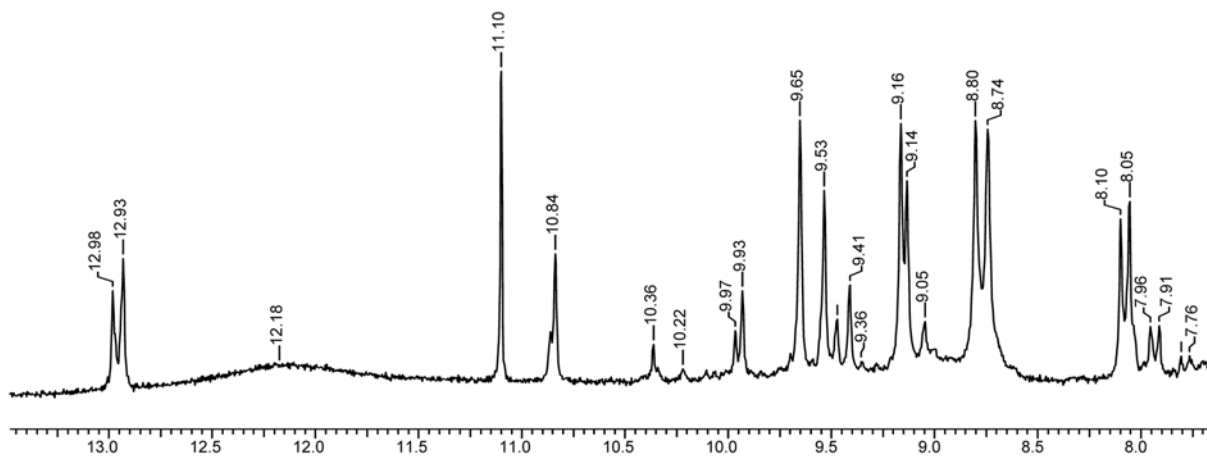


Рис. 2. Фрагмент ^1H ЯМР спектра раствора в ДМСО фракции экстракта змеголовника (фаза бутонизации).

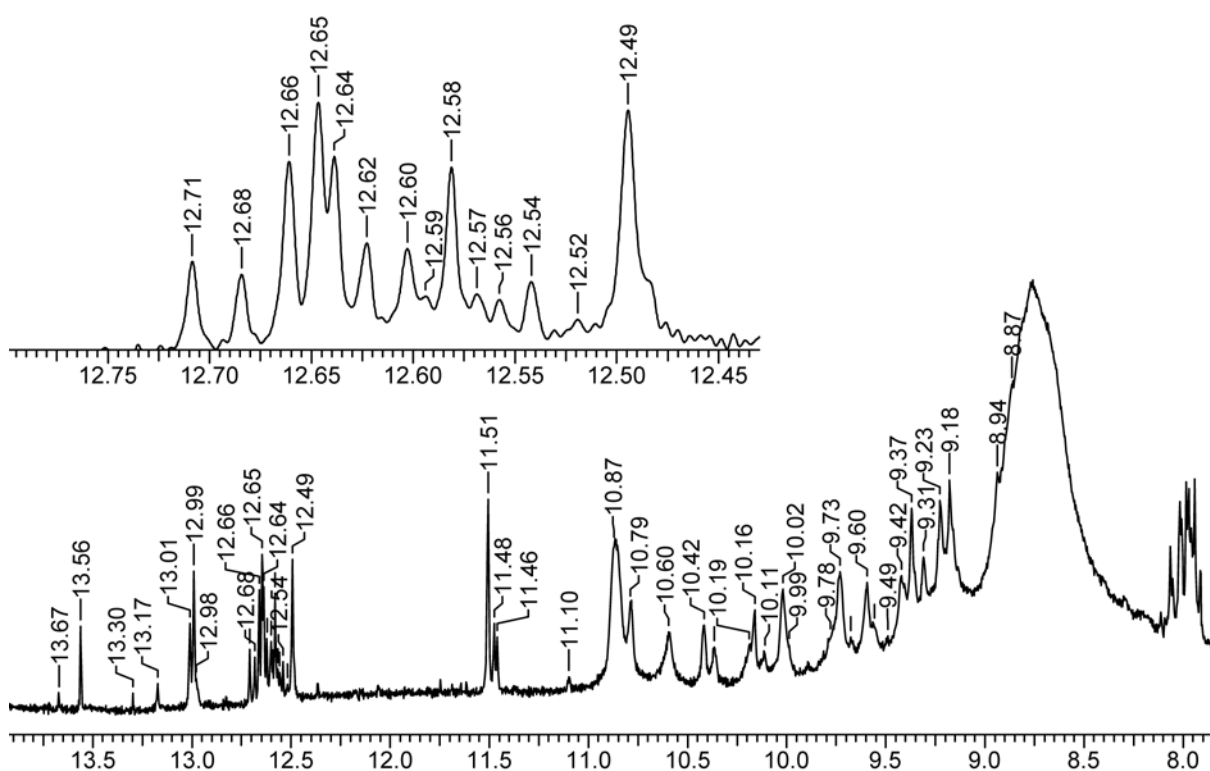


Рис. 3. ^1H ЯМР фенольной области спектра раствора в ДМСО фракции экстракта рypешка.

ксилов в положениях 3' и 4'), полученные до и после деионизации.

Для уменьшения ширины сигналов в экстрактах нами перед растворением субстанций в ДМСО проводилась деионизация водно-спиртовых растворов субстанций катионитом КУ-2-8. В результате было достигнуто уменьшение ширины сигналов от приблизительно 100 Гц до нескольких герц. Однако при обработке растворов катионитом происходит уменьшение показателя рН. При рН среды существенно меньше 6 (в субстанции много солей) сужение сигналов происходит в меньшей степени, поскольку кислотные протоны увеличивают скорость протонного обмена.

Дальнейшее уменьшение ширины сигналов ФГ достигалось математической обработкой спектров (аподизация сигнала свободной индукции).

В табл. 1 приведены химические сдвиги (ХС) в ДМСО (ХС ДМСО — 2,50 м.д.) протонов гидроксильных фенольных соединений различных классов: простые фенолы (I – VI), фенолкарбоновые кислоты (VII – XII), *транс*-ресвератрол (XIII), флаволигнаны (XIV – XV), изокумарины (XVI – XVII), нафтохиноны (XVIII – XIX), антрахиноны (XX – XXI), ксантон (XXII). В табл. 2 приведены ХС флавоноидов (XXIII – XXXV) и катехинов (XXXVI – XXXVIII). Соединения этих классов имеют одинаковую нумерацию атомов колец. Относительное положение сигналов ФГ

хорошо согласуется с моделью альтернирования зарядов (МАЗ) в молекулах ароматических соединений, согласно которой влияние заместителя на *орто*- и *пара*-положения существенно больше, чем на *мета*-положение.

ХС фенола (C₆H₅OH) — 9,33 м.д. Электронодонорные группы в ароматическом ядре уменьшают эту величину (экранирование), а электроноакцепторные, например, карбонил, их увеличивают (дезэкранирование). Значение ХС в гидрохиноне (1,4-дигидроксibenзол, *пара*-замещение) на 0,7 м.д. меньше, чем у фенола. В согласии с МАЗ сигнал ФГ в резорцине (гидроксил в *мета*-положении) смещается в сильное поле существенно меньше (на 0,1 м.д.), чем в гидрохиноне. Электроноакцепторная формильная группа в ванилине (2-метокси-4-формилфенол) и карбоксильная группа в *пара*-гидроксibenзойной кислоте оказывают большой дезэкранирующий эффект на ФГ (ХС больше, чем в феноле на 1 м.д.). Алкильный заместитель в *пара*-положении (салидрозид, C₆H₄(OH)CH₂CH₂OGlu) экранирует ФГ в меньшей степени, чем О-глюкозил (арбутин, гидрохинон-моноглюкозид). Эти данные использованы нами при отнесении сигналов ФГ.

В ДМСО химические сдвиги протонов ФГ, не образующих хелатные связи, находятся в области 8 – 10,9 м.д., а образующие хелатные связи — в области 11 – 14 м.д. Наибольшее значение ХС ОН-группы, не образующей хелатную связь с карбонильной группой, наблюдается в флавоноидах для 7-ОН группы (около 10,9 м.д.). Уменьшение электронной плотности 7-ОН группы обусловлено акцепторным влиянием карбонильной группы в флавоноидах. Наименьшее значение химического сдвига в флавоноидах — около 9 м.д.

Как показано в [14], диапазон ХС ФГ, не образующих водородную связь с гидроксильной группой, может быть увеличен более чем в 2 раза (8 – 13 м.д.), если использовать в качестве растворителя ГМФА. Этот растворитель обладает еще более выраженными, чем ДМСО акцепторными свойствами.

Гидроксильные группы, образующие хелатную связь с карбонильной группой (5-ОН в флавоноидах, 2-ОН в антрахинонах и ксантонах и др.), имеют значение ХС больше 11,0 м.д. Наименьшее значение (11,10 м.д.) имеет 6-ОН группа в изокумаринах агримонолиде и его 6-О-глюкозиде.

Наибольшее значение хелатообразующей с карбонилем ФГ имеет место в соединениях, в которых рядом с ОН группой находится заместитель в sp³ гибридизации (мангиферин; 13,76 м.д.).

Анализ приведенных в табл. 2 данных показывает, что сигналы 5-ОН группы в различных подклассах флавоноидов находятся в неперекрывающихся областях спектра. Во флавонах 5-ОН группа дает сигнал около 13 м.д., в флавонолах — в области 12,4 – 12,7 м.д., в флаванонах и флаванололах 5-ОН сигнал находится в области около 12 м.д.

Различия в химических сдвигах 3 подклассов флавоноидов можно объяснить электронодонорным эф-

фектом гидроксила в положении 3 в флавонолах и нарушением сопряжения π-системы в флаванонах и флаванололах. Большой диапазон в ХС для флавонолов, чем для флавонов, можно объяснить наличием заместителей в положении 3 в флавонолах, в отличие от флавонов.

Существенные различия в ХС сигналов позволяют непосредственно по спектру растворов экстрактов в ДМСО определять принадлежность флавоноидов к подклассам.

Карбоксильная группа в фенолкарбоновых кислотах проявляется в виде характерного широкого сигнала в области около 12 м.д.

Кроме того, в области 8 – 11 м.д. также имеется информация о положении гидроксильных групп в соответствующих фенольных кольцах, которая может быть использована при идентификации соединений. В частности около 8 м.д. дают двухпротонные сигналы (положения 1' и 6') производные апигенина, кемпферола, акацетина.

Метоксильная группа в производных акацетина хорошо проявляется в виде синглета при 3,8 м.д. Интенсивные кросс-пики (7,5/6,3 м.д.) в двухмерных спектрах Н, Н COSY указывают на наличие в субстанции кофейной кислоты и ее производных. В катехинах и таннинах хорошо проявляются двухпротонные синглеты (6,4 м.д. — галлоильный фрагмент, 6,8 м.д. — ароматический фрагмент галловой кислоты).

На рис. 1 приведен спектр ¹Н ЯМР фракции экстракта из наземной части змееголовника (*Dracocephalum moldavica* L.) с добавкой 6-О-глюкозида агримонолида (11,10 м.д.). Интенсивные сигналы в сильном поле относятся к розмариновой (8,74; 8,80; 9,18 и 9,66 м.д.), кофейной (9,14 и 9,53 м.д.) кислотам, флавоноидам флавонам 7-О-глюкозиду акацетина тилианину (12,93 м.д.), лютеолину (сигналы при 12,98 и 9,93 м.д.), цинарозиду (12,98 и 9,97 м.д.). Интенсивный дублет (2H) при 8,7 м.д. (J = 8,8 Гц) также принадлежит 7-О-глюкозиду акацетина (сигналы протонов в 2' и 6' положениях).

Следует заметить, что розмариновая кислота среди фенольных соединений в большом количестве содержится также в зюзнике [15], мелиссе [16] и розмарине. Все эти растения относятся к семейству яснотковых (губоцветных) и, по-видимому, розмариновая кислота может быть маркером для растений этого семейства.

В [17] изучался химический состав корейской мяты (*Agastache rugosa*), принадлежащей к семейству яснотковых. Предложен путь биосинтеза веществ растения, в котором исходное соединение фенилаланин в результате ферментативных реакций дает 2 конечных продукта — розмариновую кислоту и тилианин.

На рис. 2 приведен фрагмент ЯМР-спектра раствора в ДМСО фракции водно-спиртового экстракта репешка (*Agrimonia eupatorica* L.). В спектре проявляются сигналы более 20 соединений. При этом нет большого различия в интенсивностях этих сигналов. Большинство из сигналов относятся к флавонолам, 3 — к флавонам. Раздельно проявляются сигналы 14 ве-

ществ флавонолов. В [18] из *Agrimonia eupatorica* L. идентифицированы 10 флавоноидов: 3 флавонона (апигенин 7-О-β-D-глюкуронид, лютеолин 7-О-β-D-глюкуронид, лютеолин 7-О-β-D-глюкопиранозид цинарозид) и 7 — флавонолов (2"-ацетилтилирозид, кемпферол 3-О-β-D-(2"-О-ацетил)глюкопиранозид, тилирозид, астраголин, рутин, кверцитрин).

Сигналы со значениями ХС 13,17 м.д. и большими не относятся к флавоноидам и относятся, вероятнее всего, к ксантонам или антрахинонам. При этом в соединениях, к которым относятся сигналы с ХС 13,56 и 13,67 м.д. рядом с ОН группой, находится заместитель с атомом углерода в sp³ гибридизации (СН₂, СН₃ группы).

Экспериментальная часть

Спектры ¹Н ЯМР получены на ЯМР-спектрометре GEMINI-200. Отсчет ХС проводился относительно сигнала ДМСО (2,50 м.д.). Время одного накопления (параметр АТ) — 1 с. Количество накоплений (NT) — 1000 – 4000.

Деионизацию проводили обработкой водно-спиртовых (С₂Н₅ОН – Н₂О) растворов субстанций катионитом КУ-2-8 и после фильтрования и выпаривания растворяли в ДМСО. Концентрация раствора — около 0,5 %.

ЛИТЕРАТУРА

1. М. Н. Запретов, *Фенольные соединения и их роль в жизни растений*, Наука, Москва (1996).
2. V. I. Sheichenko, T. S. Semenova, O. N. Tolkachev, O. P. Sheichenko, *A Resource for health and environment in 21st Century, Proceedings of International Workshop on Seabuckthorn*,

- February 18 – 21, 2001, V. Singh, P. S. Khosla (eds.), Part III, Biochemistry, India International Centre, New Delhi (2001), p. 157 – 161.
3. В. А. Куркин, *Фармакогнозия*, СамГМУ, Самара (2004), с. 737.
4. N. J. Mabry, K. R. Markham, M. B. Thomas, *The Systematic Identification of Flavonoids*, Springer-Verlag, Berlin — Heidelberg — New York (1970), с. 35.
5. Государственная фармакопея, XII, Москва (2010), с. 73.
6. N. J. Mabry, K. R. Markham, M. B. Thomas, *The Systematic Identification of Flavonoids*, Springer — Verlag, Berlin — Heidelberg — New York (1970), с. 254.
7. Kashif Ali, Federica Maltese, Reinhard Toepfer, et al., *J. Biomol. NMR*, **49**(3 – 4), 255 – 266 (2011).
8. В. И. Шейченко, О. А. Бочарова, О. П. Шейченко и др., *Заводская лаборатория. Диагностика материалов*, **72**(8), 15 – 23 (2006).
9. P. Charisiadis, V. Exarchou, A. N. Troganis, I. P. Gerotheranassis, *Chem. Commun.*, **46**, 3589 – 3591 (2010).
10. A. A. Nerantzaki, C. G. Tsiafolis, P. Charisiadis, et al., *Anal. Chim. Acta*, **688**(1), 54 – 60 (2011).
11. M. Anastasiadi, A. Zira, P. Magiatis, et al., *J. Agric Food Chem.*, Accepted October 12 (2009), А-Н. ¹Н NMR — based metabonomics for the classifications of Greek wines according to variety, region, and vintage. Comparison with HPLC data.
12. Pantelis Charisiadis, Vassiliki G. Konotogianni, Constantinos G. Tsiafoulis, et al., *Molecules*, **19**, 13643 – 13682 (2014).
13. А. М. Савватеев, *Дис. ... канд. фарм. наук*, Москва (2007).
14. Г. А. Калабин, Л. В. Каницкая, Д. Ф. Кушнарв, *Количественная спектроскопия ЯМР природного органического сырья и продуктов его переработки*, Химия, Москва (2000).
15. И. А. Кирьянова, Н. А. Шелухина, Л. Н. Зайко и др., *Вопр. биол., мед. и фарм. химии*, № 1, 144 – 121 (2012).
16. В. А. Куркин, *Фармакогнозия*, СамГМУ, Самара (2004), с. 311.
17. Pham Anh Tuan, Woo Tae Park, Hui Xu, et al., *J. Agric. Food Chem.*, **60**(23), 5945 – 5951 (2012).
18. K. Y. Lee, L. H. Hwang, E. J. Jeong, et al., *Biotechnol. Biochem.*, **74**(8), 1704 – 1706 (2010).

Поступила 19.01.15

NMR STUDY OF THE PHENOLIC COMPONENT COMPOSITION OF PLANT METABOLOMES

V. I. Sheichenko*, O. P. Sheichenko, V. V. Anufrieva, O. N. Tolkachev, K. M. Dyumaev, and T. A. Sokol'skaya

Scientific Center for Biomedical Technologies, State Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants (VILAR), Moscow, 117216, Russia;

* e-mail: vilamii@mail.ru.

Dimethylsulfoxide (DMSO) extracts of medicinal plants have been studied by ¹H NMR spectroscopy in order to assess the possibility of using this method for the identification and quantitative determination of polyphenolic compounds (flavonoids, tannins, etc.) in raw material samples. Dependence of the chemical shifts and widths of NMR signals from protons in polyphenol hydroxyl groups on the nature and position of substituents in the aromatic nucleus has been studied.

Keywords: polyphenols; NMR spectra; DMSO; chemical shifts; hydroxy groups; signals width.