

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДОВ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ ДЛЯ АНАЛИЗА ФЛАВОНОИДОВ (ОБЗОР)

Д.И. ПИСАРЕВ
О.О. НОВИКОВ
Н.А. ПИСАРЕВА
Г.В. ВАСИЛЬЕВ
Е.Ю. ТИМОШЕНКО

В работе обобщён опыт зарубежных исследователей по использованию различных вариантов метода масс-спектрометрии в анализе флавоноидов.

Ключевые слова: масс-спектрометрия, флавоноиды, жидкостная хроматография

*Белгородский государственный
национальный
исследовательский университет,
308015, г. Белгород,
ул. Победы, 85,
e-mail: pisarev@bsu.edu.ru*

Большинство флавоноидных гликозидов являются полярными, нелетучими, часто термически лабильными, поэтому масс-спектрометрия при ионизации электронным ударом (EI) и химической ионизацией (CI) - требующих присутствия образца в газовой фазе для ионизации оказались малопригодными для анализа флавоноидов [27].

Десорбционная химическая ионизация (DCI/MS) использовалась для анализа флавоноидов [3].

Используя метод плазменной ионизации (PI/MS), впервые была обнаружена способность масс-спектрометрии в определении молекулярных масс для термолabile соединений, в том числе флавоноидов, однако его применение в последние годы ограничено анализом антоцианов, включая дезоксиантоцианидины [1].

Метод полевой десорбции, впервые использованный для прямого анализа полярных гликозидов флавоноидов, предоставляет данные только об их молекулярной массе и мало информации о структуре [9].

Несмотря на то, что MALDI/TOF/MS создавался для анализа крупных молекул, он показал себя мощным инструментом для характеристики как мономерных флавоноидов, так и высокомолекулярных проантоцианидинов.

В ряде работ гликозиды флавонолов идентифицировали с помощью MALDI/TOF/MS в образцах пищевых продуктов. В качестве лучшей матрицы был выбран 2,4,6-тригидроксиацетофенон. В режиме положительной ионизации наблюдались ионные формы флавоноловых гликозидов, в том числе $[M+H]^+$, $[M + Na]^+$, $[M + K]^+$, и $[M + H + Na + K]^+$, с дальнейшей фрагментацией. Отрицательный режим для всех флавоноловых гликозидов получен в $[M - H]^-$ образования ионов, без выраженной фрагментации. Режим образования положительных ионов оказался более информативен для определения отдельных структур флавоноловых гликозидов, чем в режиме отрицательных. Флавоноловые гликозиды показали сходные интенсивности в режиме положительной ионизации, а гликозиды кемпферола имели гораздо меньшую интенсивность, чем гликозиды кверцетина в негативном режиме образования ионов [10].

Также MALDI/TOF/MS оказался очень полезным инструментом для идентификации изофлавонов в соевых продуктах. При сравнении нескольких матриц 2',4',6'-тригидроксиацетофенон и 2,5-диоксибензойная кислота оказались наиболее подходящими. Изофлавоны ионизировались преимущественно в протонированной форме с очень небольшим количеством аддуктов натрия или калия. Фрагментация происходила только из-за потери остатков сахарной части. Таким образом, были идентифицированы даидзин и генистеин. Время анализа составило 2 минуты [31].

Те же авторы использовали настоящий метод для идентификации гликозидов флавонолов в желтых луковицах лука и зелёном чае. В качестве оптимальной матрицы выбран 2',4',6'-тригидроксиацетофенон, поскольку он оказался эффективным для неочищенных образцов экстрактов и способствовал ионизации флавонолов в положительном и отрицательном режимах.

Экспресс-идентификацию и количественную оценку *MALDI/TOF/MS* использовали для гликозидов флавонолов в семенах миндаля. Были определены четыре флавоноловых гликозида: изорамнетина рутинозид и глюкозид, кемпферола рутинозид и глюкозид. Для количественного определения каждого из четырех гликозидов флавонолов была разработана методика *MALDI/TOF/MS* с использованием рутина в качестве внутреннего стандарта. Результаты анализа были подтверждены ВЭЖХ [13].

Эти же авторы, используя вышеуказанный подход, исследовали оболочки семян 16 сортов миндаля на наличие флавоноловых гликозидов. Во всех сортах миндаля изорамнетина рутинозид был самым распространенным флавоноловым гликозидом [12].

MALDI/TOF/MS оказался пригодным для идентификации флавоноидов в экстрактах черники узколистной, брусники и ежевики. Добавление поверхностно-активного вещества привело к подавлению ионов обеих матриц: альфа-циано-4-гидроксикоричной кислоты (*HCCA*) и 2',4',6'- тригидроксиацетофенона (*TAP*). Было отмечено, что *HCCA* привела к большой фрагментации сахарного компонента гликозидов, в то время как *TAP* произвел больше неповреждённых молекул гликозида, что улучшает характеристику флавоноидов в образцах ягод. Флавоноиды были охарактеризованы и количественно с помощью ВЭЖХ, детекцию осуществляли электро-спрейной ионизацией и УФ-детектированием. Хотя использование *MALDI/TOF/MS* не привело к идентификации флавоноидов, она позволила определить гликозиды антоцианов. Потребовалось всего несколько минут, что значительно сокращает время анализа, чем в традиционных *LC/MS* методах. Использование *MALDI/TOF/MS* с *TAP* матрицей обеспечивает быстрый качественный скрининг антоцианов.

Фенольные соединения неочищенного метанольного экстракта сухих цветков розы китайской идентифицировали одновременного хромато-масс-спектрометрически и *MALDI/TOF/MS*. Определено в общей сложности 36 известных и неизвестных фенольных компонентов, в их числе гидролизуемые дубильные вещества, флавонолы (кверцетин, кемпферол), антоцианы (моно- и дигликозиды цианидина, дигликозиды пелларгонидина), галлотаннины (моно-, ди- и тригаллоилглюкопиранозиды), эллаготаннины [21].

Сравнительным анализом ВЭЖХ и *MALDI/TOF/MS* изучены антоцианы черники. С помощью ВЭЖХ удалось отличить изомеры антоцианов, в то время как *MALDI/TOF/MS* оказался более быстрым в точной идентификации и количественном определении антоцианов с различными массами. Для анализа методом *MALDI/TOF/MS* потребовалось 4 минуты. На основании полученных результатов установлено, что *MALDI/TOF/MS* анализ может служить альтернативой ВЭЖХ для анализа антоцианов в плодах [30].

В работе [4], показано, что флавоноиды сами могут выступать в качестве матричных агентов при *MALDI/TOF/MS* анализе.

MALDI/TOF/MS был использован для характеристики полигаллоильных полифлаван-золов в экстрактах семян винограда. Массы соответствующих полифлаван-3-олов наблюдались в рефлекторном и линейном режимах положительных ионов. Результаты показывают, что *MALDI/TOF/MS* может определить сложные смеси олигомерных полифлаван-золов [22].

В работе [29] изучены антоцианы в вине и соках. Было установлено, что хорошей матрицей для анализа антоцианов является 2,4,6-тригидроксиацетофенон.

MALDI/TOF/MS был применён для мониторинга низкомолекулярных соединений в образцах вин. Определено восемь фенолокислот (4-кумаровая, 4-гидроксибензойная, кофейная, феруловая, галловая, протокатеховая, сиреневая, ванилиновая), чувствительность составила от 0,12-0,87 пикомоль, а также *транс-*

резвератрол (чувствительность 0,02 пикомоль). Результаты, полученные на *MALDI/TOF/MS*, подтверждены ВЭЖХ [20].

Весьма трудным объектом качественного и количественного анализа являются проантоцианидины из-за их структурного разнообразия и сложности. Масс-спектрометрия позволила успешно охарактеризовать проантоцианидины. *MALDI/TOF/MS* очень хорошо подходит для анализа гетерогенных проантоцианидинов [19].

Тандемной масс-спектрометрией возможно дифференцировать изомеры С-гликозидов флавоноидов. Различия между 6-С и 8-С флавоноидными гликозидами особенно наблюдались в спектрах продуктов их ионной фрагментации ($[M + H - 120]^+$) [8].

Хромато-масс-спектрометрия с термоспрейной ионизацией показала успешные результаты для анализа флаванов (катехины), О-гликозидов флавонолов, флавоно С-гликозидов, а также кофеина, теобромона, теогаллина из чая. Все соединения обнаруживались в виде молекулярных ионов $[M+H]^+$, помимо протонированных форм встречались аддукты с натрием, калием, аммонием. Катехингаллаты и флавоноловые гликозиды фрагментировались, причём фрагментация зависела от температуры. Гликозидная связь является лабильной и, следовательно, флавоноловые гликозиды имеют протонированный агликон как базовый пик. Эфирные связи в катехингаллате более стабильны, их фрагментация ограничена. Результаты исследований подтвердили, что термоспрейная масс-спектрометрия является хорошим аналитическим инструментом для выявления полифенолов [16].

Метод ионизации термоспрея (*TSP/MS*), например, включает анализ смесей полярных гликозидов флавоноидов и позволил обнаружить мономерные флаван-3-олы и димерные проантоцианидины [7].

Однако применение этого метода имеет некоторые ограничения, связанные с термической устойчивостью флавоноидов. Это связано с высокой температурой в источнике *TSP/MS* ионов, которые необходимы для эффективной ионизации анализируемых молекул. *TSP/MS* используется для характеристики катехинов и флавоноидов [28].

ESI/MS и *APCI/MS* в настоящее время наиболее распространенные методы, используемые для анализа полярных и энергонезависимых флавоноидов (от антоцианов до конденсированных дубильных веществ), в основном из-за легкости, с которой они могут ионизировать полярные и нелетучие соединения.

Техника позволяет обнаружить молекулярный ион либо как протонированной молекулы, $[M-H]^+$, или как депротонированной молекулы, $[M-H]^-$, и вызывает лишь умеренную фрагментацию молекул. Этот метод обеспечивает структурную информацию для высоко полимеризованных соединений и интерпретацию фрагментации профилей, и от уровня заряда образуются ионы, которые могут быть либо однозарядными или полизарядными. Описано использование *ESI/MS* в сочетании с *CID* и тандемной *MS/MS* для структурной характеристики антоцианидинов и антоцианов. Этот метод также использовался в изучении фрагментации флавоновых тригликозидов, кемпферол-3-О-робинозид-7-О-рамнозида и для высокого массового разрешения исследования гликозидов изофлавонов, генистеин-7-О-глюкозида.

Из-за кислой природы флавоноиды обычно дают более высокое содержание иона при депротонировании в отрицательном режиме *ESI/MS*, чем через протонирование в положительном режиме. Дифференциация между О-гликозидами, С-гликозидами, и О, С-дигликозидами была достигнута путем изучения закономерностей фрагментации положительных ионов первого порядка спектров [10].

Двумерная жидкостная хроматография с электроспрейной ионизацией использована для анализа гликозидов флавонолов, присутствующих в листьях *Maytenus ilicifolia*, растения, используемого в традиционной бразильской медицине. Так как оно содержит много гликозидов флавонолов, в том числе изомеров, одномерная жидкостная хроматография не дала полного разделения и идентификации. Таким образом, используя гель-хроматографию в первом и обращенно-фазную хроматографию во втором измерении, определено большое количество гликозидов флавонолов. Таким образом, были определены моно-, ди-, три- и тетрагликозиды, содержащие кемпферол, кверцетин и мирицетин [2, 14].

Четыре гликозида флавонолов выделены из экстракта облепихи *Hipporhae rhamnoides* на *Sephadex LH-20* гель-хроматографией и препаративной ВЭЖХ. Их структуры были выяснены путем гидролиза и использованием *ESI/MS*, УФ- Н, ¹³С ЯМР-спектроскопии. 21 флавоноловый гликозиды из фракций выжимки облепихи охарактеризовали *HPLC/DAD/ESI/MS* [26].

Жидкостная хроматография в сочетании с электроотрейной масс-спектрометрией (*LC/ESI/MS*) в режиме образования положительных и отрицательных ионов была использована для идентификации флавоноидов в зернах *Vicia sinensis*. Для хроматографического разделения использовано градиентное элюирование с водой и ацетонитрилом, каждый растворитель содержал по 2% муравьиной кислоты. Пики определяли путем сравнения времен удерживания ультрафиолетовых спектров и масс-спектрометрических данных подлинных стандартов и/или литературных данных. Определенные флавоноиды включали шесть антоцианов (цианидин 3-О-галактозид, цианидин 3-О-глюкозид, дельфинидин 3-О-глюкозид, мальвидин 3-О-глюкозид, пеонидин 3-О-глюкозид и петунидин 3-О-глюкозид) и четыре флавоноловых гликозида (кемпферол 3-О-глюкозид, кверцетин, кверцетин 3-О-глюкозид, кверцетин и 3-О-6"-ацетилглюкозид) [5].

Электроспрейной ионизацией с тандемной масс-спектрометрией с использованием линейной квадрупольной ионной ловушки были исследованы флавонол-3,7-ди-О-гликозиды в виде отрицательных ионов. Результаты показывают, что поведение фрагментации флавонол-3,7-ди-О-гликозидов существенно отличается от их изомерных им моно-О-дигликозидов. Исследование отрицательных ионов *ESI/MS* в масс-спектрах флавонолов О-гликозидов позволяет их быстро охарактеризовать как флавонол-3,7-ди-О-гликозиды и дифференцировать от изомерных моно-О-дигликозидов, а также разрешает проводить их прямой анализ в нативных экстрактах из растений [24].

ВЭЖХ в сочетании с электроспрейной тандемной масс-спектрометрией (*LC/MS/MS*) в режиме отрицательных ионов использована для идентификации различных фенольных соединений в образцах какао. Был применен градиентный режим элюирования с водой и ацетонитрилом, причём каждый из растворителей содержал по 0,1% HCOOH. Анализ проводился с применением отрицательной ионизации *MS / MS* в сканирующем режиме поиска нужного иона. Депротонирование молекулы $[M-H]^{-}$ наблюдалось для всех исследованных соединений. Для коричных и ароматических кислот потери CO(2) или образование $[M-CH_3]^{-}$ в случае метоксилированных соединения не наблюдалось. Однако для флавонолов и флавоногликозидов спектры наблюдались от депротонированной молекулы $[M-H]^{-}$ из гликозида и ион $[H]^{-}$ соответствующий депротонированный агликон. Последний ион образуется при потере гликозидами рамнозы, глюкозы, галактозы или остатков арабинозы. Различные модели фрагментации были обнаружены в *MS / MS* экспериментах для флавоно-С-гликозидов, которые показали фрагментацию в сахарной части. Оптимальные *LC / MS / MS* условия применены к характеристике образцов какао, которые были подвергнуты процедуре экстракции и очистке хроматографированием на сефадексе *LH20*. Кроме соединений, описанных в литературе, таких, как катехин и эпикатехин, кверцетин, кверцетин-3-С-глюкозид и кверцетин-3-С-арабинозы, впервые в какао были определены гиперозид, нарингенин, лютеолин, апигенин и некоторых О-глюкозиды и С-глюкозиды этих соединений [17].

Хромато-масс-спектрометрия с электроспрейной ионизацией успешно реализована для идентификации гликозидов О-флавонолов и С-ксантонов кожуры манго (*Mangifera indica* L.). Среди обнаруженных четырнадцати соединений - семь О-гликозиды кверцетина, один кемпферол О-гликозид, а также четыре С-гликозида ксантонов. На основе их фрагментации последние были определены как мангиферин, изомангиферин и их соответствующие галлоильные производные. Флавоноловый глюкозид с *m/z* 477 был предварительно идентифицирован как гликозид рамнетина [23].

Отрицательная электроспрейная ионизация в тандеме с квадрупольной масс-спектрометрией использована для изучения индуцированных столкновениями диссоциаций (*CID*) О-гликозидной связи различных имеющихся в продаже гликозидов флавоноидов. В зависимости от структуры флавоновые гликозиды могут подвергнуться-

ся индуцированным столкновениям с гомолитическим и гетеролитическим расщеплением О-гликозидной связи с образованием депротонированного радикального агликона. Относительное количество фрагментов радикальных агликонов из флавонолов-3-О-гликозидов увеличивается с увеличением числа гидроксильных заместителей в кольце В в порядке - кемпферол < кверцетин < мирицетин-3-О-гликозиды. Полученный в аналогичных условиях спектр иона кемпферол-7-О-неогесперидозида показал лишь незначительное число радикальных ионов агликона, в отличие от кемпферол-3-О-рутинозида. Относительное количество фрагментов радикальных агликонов из флавонон-7-О-гликозидов также зависит от замещения в кольце В. CID из апигенин-7-О-глюкозида производится относительно больше радикалов, чем из фрагментов агликона лютеолин-7-О-глюкозида, в то время, как только фрагмент агликона был найден в диосметин-7-О-рутинозиде [15].

Ускоренной жидкостной хроматографией с диодно-матричной детекцией (DAD) и времяпролетной масс-спектрометрией (TOF/MS) установлен компонентный состав цветков *Lonicerae japonicae*. Структурно охарактеризованы четыре группы соединений: иридоидные гликозиды (λ_{max} = 240 нм), фенольные кислоты (λ_{max} = 217, 242, и 326 нм), флавоноиды (λ_{max} = 255 и 355 нм), в то время как у сапонинов поглощения не наблюдалось. При использовании электроспрейной ионизации ESI/TOF/MS отщепление единицы глюкозы (162 Da), а также последовательность потерь Н(2) О, СН(3) ОН и СО, как правило, наблюдается в иридоидных гликозидах. Сапонины характеризовались по серии одинаковых ионов агликона, фенольные кислоты характеризовались по образованию базового пика [МН-caffeoyl]⁽⁻⁾ потерей единицы кофейной кислоты (162 Da), и отмечено несколько фрагментов ионов кислоты хинной, расщепления гликозидной связи, последующие потери Н(2) О, ТО, RDA и С-кольцо фрагментации наиболее возможные пути фрагментации флавоноидов [21].

Жидкостная хроматография с отрицательной электроспрейной ионизацией ESI тандемной масс-спектрометрии (MS/MS) в качестве детектора с использованием тройного квадрупольного масс-спектрометра была применена для определения структуры ацилированных флавоноид-О-гликозидов и метоксилированных флавоноидов бархатцев. Соединения идентифицировали в режиме полного сканирования (MC) и тандемной масс-спектрометрии (MS / MS) прекурсоров ионного сканирования, сканирования продуктов ионного и нейтрального режимов сканирования. Идентифицировано 51 фенольное соединение, в том числе О-гликозиды-флавоноидов, ацилированные галловой, протокатеховой или кофейной кислотой, метоксилированные флавоноиды и гидроксикоричные кислоты [6].

ВЭЖХ с масс-детекцией электроспрейной ионизацией идентифицированы флавоноловые гликозиды из лепестков розы дамасской. На гликозиды кемпферола, а также агликон кемпферол, приходится 80% от общего объема соединений, которые были определены количественно, кемпферол с 3-О-глюкозид является преобладающим компонентом [11].

ВЭЖХ с использованием диодно-матричной лампы и электроспрейной ионизацией в положительных и отрицательных режимах регистрации ионов определен химический состав флавоноидов травы *Farsetia aegyptia Turra. (Cruciferae)*. Индуцированные столкновениями диссоциации (CID) масс-спектры были получены наноспрейной (nanoESI/MS) ионизацией, что привело к предположению о наличии ди-О-гликозидов флавонолов в экстракте. В дополнение к массе спектральных данных использованы данные ЯМР, что позволило окончательно разрешить структурные затруднения. В экстракте *Farsetia aegyptia Turra* было обнаружено три ди-О-гликозиды флавонолов, содержащие моносахаридный остаток, связанный в 3-О положении, и дисахаридный остаток, находящийся в 7-О положении. Различные типы CID спектров, т.е., низкой энергии [М+ Н]⁺, [М+Na]⁺ и [М-Н]⁻ спектры, а также спектры высокой энергии [М+Na]⁺, были оценены с точки зрения возможности для обнаружения О-связанных остатков сахаров флавонолов, ди-О-гликозидов и определения последовательности расположения сахаров в дисахаридной части. Установлено, что 3-О-гликозидный остаток легче теряется при протонировании молекулы, чем 7-О-гликозидный остаток [25].

Список литература

1. Analysis of anthocyanins and 3-deoxyanthocyanidins by plasma desorption mass spectrometry / K. V. Wood, C. Bonham, J. Hipskind [et al.] // *Phytochemistry*. - 1994. - Vol. 37, № 2. - P. 557-560.
2. Analysis of flavonol glycoside isomers from leaves of *Maytenus ilicifolia* by offline and online high performance liquid chromatography-electrospray mass spectrometry / L. M. de Souza, T. R. Cipriani, R. V. Serrato [et al.] // *J. Chromatogr. A*. - 2008. - Vol. 1207, № 1-2. - P. 101-109.
3. Antibacterial phloroglucinols and flavonoids from *Hypericum brasiliense* / L. Rocha, A. Marston, O. Potterat [et al.] // *Phytochemistry*. - 1995. - Vol. 40, № 5. - P. 1447-1452.
4. Application of flavonoids; quercetin and rutin; as new matrices for matrix-assisted laser desorption-ionization time-of-flight mass spectrometric analysis of Pt(II) and Pd(II) complexes / M. Petkovic, A. Vujacic, J. Schiller [et al.] // *Rapid. Commun. Mass. Spectrom.* - 2009. - Vol. 23, № 10. - P. 1467-1475.
5. Chang, Q. Identification of flavonoids in Hakmeitau beans (*Vigna sinensis*) by high-performance liquid chromatography-electrospray mass spectrometry (LC-ESI/MS) / Q. Chang, Y. S. Wong // *J. Agric. Food. Chem.* - 2004. - Vol. 52, № 22. - P. 6694-6699.
6. Characterization of acylated flavonoid-O-glycosides and methoxylated flavonoids from *Tagetes maxima* by liquid chromatography coupled to electrospray ionization tandem mass spectrometry / I. Parejo, O. Jauregui, F. Viladomat [et al.] // *Rapid. Commun. Mass. Spectrom.* - 2004. - Vol. 18, № 23. - P. 2801-2810.
7. Characterization of proanthocyanidins from grape seeds / B. Gabetta, N. Fuzzati, A. Griffini [et al.] // *Fitoterapia*. - 2000. - Vol. 71, № 2. - P. 162-175.
8. Evaluation of quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry and ion-trap multiple-stage mass spectrometry for the differentiation of C-glycosidic flavonoid isomers / P. Waridel, J.-L. Wolfender, K. Ndjoko [et al.] // *J. Chromatogr. A*. - 2001. - Vol. 926, № 1. - P. 29-41. - (17th Montreux Symposium on Liquid Chromatography-Mass Spectrometry, Supercritical Fluid Chromatography-Mass Spectrometry, Capillary Electrophoresis-Mass Spectrometry and Tandem Mass Spectrometry).
9. Flavonoid glycosides of the roots of *Glycyrrhiza uralensis* / T. Nakanishi, A. Inada, K. Kambayashi [et al.] // *Phytochemistry*. - 1985. - Vol. 24, № 2. - P. 339-341.
10. Flavonoids: chemistry, biochemistry, and applications / ed. by Q. M. Andersen, K. R. Markham. - Boca Raton, FL : CRC, Taylor & Francis, 2006. - 1237 p.
11. Flavonol glycosides from distilled petals of *Rosa damascena* Mill / A. Schiber, K. Mihalev, N. Berardini [et al.] // *Z. Naturforsch. C*. - 2005. - Vol. 60, № 5-6. - P. 379-384.
12. Frison, S. Variation in the flavonol glycoside composition of almond seedcoats as determined by maldi-tof mass spectrometry / S. Frison, P. Sporns // *J. Agric. Food. Chem.* - 2002. - Vol. 50, № 23. - P. 6818-6822.
13. Frison-Norrie, S. Identification and quantification of flavonol glycosides in almond seedcoats using MALDI-TOF MS / S. Frison-Norrie, P. Sporns // *J. Agric. Food Chem.* - 2002. - Vol. 50, № 10. - P. 2782-2787.
14. Heart-cutting two-dimensional (size exclusion x reversed phase) liquid chromatography-mass spectrometry analysis of flavonol glycosides from leaves of *Maytenus ilicifolia* / L. M. de Souza, T. R. Cipriani, C. F. Sant'ana [et al.] // *J. Chromatogr. A*. - 2009. - Vol. 1216, № 1. - P. 99-105.
15. Hvattum, E. Study of the collision-induced radical cleavage of flavonoid glycosides using negative electrospray ionization tandem quadrupole mass spectrometry / E. Hvattum, D. Ekeberg // *J. Mass. Spectrom.* - 2003. - Vol. 38, № 1. - P. 43-49.
16. Kiehne, A. Thermospray-LC-MS analysis of various groups of polyphenols in tea. I. Catechins, flavonol O-glycosides and flavone C-glycosides / A. Kiehne, U. H. Engelhardt // *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* - 1996. - Vol. 202, № 1. - P. 48-54.
17. Liquid chromatographic/electrospray ionization tandem mass spectrometric study of the phenolic composition of cocoa (*Theobroma cacao*) / F. Sanchez-Rabaneda, O. Jauregui, I. Casals [et al.] // *J. Mass. Spectrom.* - 2003. - Vol. 38, № 1. - P. 35-42.
18. Lopez-Lazaro, M. Distribution and biological activities of the flavonoid luteolin / M. Lopez-Lazaro // *Mini Rev. Med. Chem.* - 2009. - Vol. 9, № 1. - P. 31-59.
19. MALDI-TOF MS analysis of plant proanthocyanidins / M. Monagasa, J. E. Quintanilla-Lopez, C. Gomez-Cordovesa [et al.] // *J. Pharm. Biomed.* - 2010. - Vol. 51, № 2. - P. 358-372.
20. Matrix-less laser desorption/ionisation mass spectrometry of polyphenols in red wine / Z. Spacil, M. Shariatgorji, N. Amini [et al.] // *Rapid. Commun. Mass. Spectrom.* - 2009. - Vol. 23, № 12. - P. 1834-1840.

21. Qi, L. W. Structural characterization and identification of iridoid glycosides, saponins, phenolic acids and flavonoids in Flos Lonicerae Japonicae by a fast liquid chromatography method with diode-array detection and time-of-flight mass spectrometry / L. W. Qi, C. Y. Chen, P. Li // *Rapid. Commun. Mass. Spectrom.* - 2009. - Vol. 23, № 19. - P. 3227-3242.
22. Rizzarelli, P. Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight/time-of-flight tandem mass spectra of poly(butylene adipate) / P. Rizzarelli, C. Puglisi, G. Montaudo // *Rapid. Commun. Mass. Spectrom.* - 2006. - Vol. 20, № 11. - P. 1683-1694.
23. Schieber, A. Identification of flavonol and xanthone glycosides from mango (*Mangifera indica* L. cv. 'Tommy Atkins') peels by high-performance liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry / A. Schieber, N. Berardini, R. Carle // *J. Agric. Food Chem.* - 2003. - Vol. 51, № 17. - P. 5006-5011.
24. Structural characterization of flavonol 3,7-di-O-glycosides and determination of the glycosylation position by using negative ion electrospray ionization tandem mass spectrometry / K. Ablajan, Z. Abliz, X. Y. Shang [et al.] // *J. Mass. Spectrom.* - 2006. - Vol. 41, № 3. - P. 352-360.
25. Structural characterization of flavonol di-O-glycosides from *Farsetia aegyptia* by electrospray ionization and collision-induced dissociation mass spectrometry / A. A. Shahat, F. Cuyckens, W. Wang [et al.] // *Rapid. Commun. Mass. Spectrom.* - 2005. - Vol. 19, № 15. - P. 2172-2178.
26. Structural investigations of flavonol glycosides from sea buckthorn (*Hippophaë rhamnoides*) pomace by NMR spectroscopy and HPLC-ESI-MS(n) / D. Rosch, A. Krumbein, C. Mugge [et al.] // *J. Agric. Food Chem.* - 2004. - Vol. 52, № 13. - P. 4039-4046.
27. The systematic identification of flavonoids / by T. J. Mabry, K. R. Markham, M. B. Thomas. - Berlin, New York : Springer-Verlag, 1970. - 354 p.
28. Thermospray liquid chromatography-mass spectrometry of flavonol glycosides from medicinal plants / P. Pietta, R. M. Facino, M. Carini [et al.] // *J. Chromatogr. A.* - 1994. - Vol. 661, № 1-2. - P. 121-126. - (17th International Symposium on Column Liquid Chromatography).
29. Wang, J. Analysis of anthocyanins in red wine and fruit juice using MALDI-MS / J. Wang, P. Sporns // *J. Agric. Food Chem.* - 1999. - Vol. 47, № 5. - P. 2009-2015.
30. Wang, J. Comparison between HPLC and MALDI-TOF MS analysis of anthocyanins in highbush blueberries / J. Wang, W. Kalt, P. Sporns // *J. Agric. Food Chem.* - 2000. - Vol. 48, № 8. - P. 3330-3335.
31. Wang, J. MALDI-TOF MS Analysis of Isoflavones in Soy Products / J. Wang, P. Sporns // *J. Agric. Food Chem.* - 2000. - Vol. 48, № 12. - P. 5887-5892.

USE OF MASS SPECTROMETRY FOR THE ANALYSIS OF FLAVONOIDS

**D.I. PISAREV
O.O. NOVIKOV
N.A. PISAREVA
G.V. VASILEV
E.Y. TIMOSHENKO**

This paper summarizes the experience of foreign researchers on the use of different versions of the method of mass spectrometry in the analysis of flavonoids.

Keywords: mass spectrometry, flavonoids, liquid chromatography.

*Belgorod State National
Research University, 308015,
Belgorod, Pobeda-str., 85.*

E-mail: pisarev@bsu.edu.ru