

# Подходы к получению, очистке и стандартизации полипrenoлов

А.А. Антипина, В.Ю. Балабаньян

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,  
Российская Федерация, 119991, Москва, Ленинские горы, д. 1

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

**Антипина Анастасия Андреевна** – аспирант кафедры фармацевтической химии, фармакогнозии и организации фармацевтического дела факультета фундаментальной медицины Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова (МГУ). Тел.: +7 (926) 587-77-99. E-mail: antipina\_aa@rambler.ru. ORCID: 0000-0002-8970-3495

**Балабаньян Вадим Юрьевич** – ведущий научный сотрудник лаборатории трансляционной медицины Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова (МГУ), доктор фармацевтических наук. Тел.: +7 (916) 293-54-85. E-mail: bal.pharm@mail.ru. ORCID: 0000-0002-5744-7060

## РЕЗЮМЕ

Полипrenoлы представляют собой оригинальный класс природных соединений, уникальность химического строения которых предопределяет их многообразие биологических свойств и широкий спектр фармакологической активности. Будучи донорами олигосахаридов в процессе N-гликозилирования белков, полипrenoлы принимают непосредственное участие в синтезе гликопротеинов клеточных мембран, что способствует ускорению регенерации и обновлению клеток. За счет своего химического строения полипrenoлы ведут себя как жирорастворимые антиоксиданты, подавляя окислительный стресс. Кроме того, полипrenoлы стимулируют обменные процессы и повышают жизнеспособность клеток, повышая текучесть и проницаемость их биологических мембран. На данный момент в России зарегистрирован единственный препарат на основе полипrenoлов, представляющий собой гепатопротектор. Изучены и иные виды фармакологической активности полипrenoлов, отмечено их нейропротекторное, противовоспалительное, противоопухолевое, антибактериальное и иные виды фармакологического действия. Разработка новых лекарственных препаратов на основе полипrenoлов представляет особый научный и практический интерес.

Наиболее распространенные источники полипrenoлов – древесная зелень хвойных растений (различные виды ели, пихты, сосны) и листья гинкго двулопастного (*Ginkgo biloba* L.). Выделение полипrenoлов из лекарственного растительного сырья осуществляют посредством экстракции, основанной на различии в растворимости в двух или более органических растворителях. Известны также и иные способы получения полипrenoлов, такие как сверхкритическая углекислотная экстракция или экстракция глубокими эвтектическими растворителями. Основным методом стандартизации полипrenoлов является высокоэффективная жидкостная хроматография. Возможно проведение анализа полипrenoлов методом масс-спектрометрии с ионизацией электроспреем, масс-спектрометрией с фотоионизацией при атмосферном давлении, времяпролетной масс-спектрометрией с матрично-активированной лазерной десорбцией/ионизацией.

**Ключевые слова:** полипrenoлы, экстракция, высокоэффективная жидкостная хроматография, ионизация электроспреем, фотоионизация при атмосферном давлении, матрично-активированная лазерная десорбция/ионизация.

**Для цитирования:** Антипина А.А., Балабаньян В.Ю. Подходы к получению, очистке и стандартизации полипrenoлов. Фармация, 2021; 70 (6): 15–19. <https://doi.org/10.29296/25419218-2021-06-03>

## Approaches to producing, purifying, and standardizing polyphenols

A.A. Antipina, V.Yu. Balabanian

M.V. Lomonosov Moscow State University, 1, Leninskie Gory, Moscow 119991, Russian Federation

## INFORMATION ABOUT AUTHORS:

**Antipina Anastasiya Andreevna** – Post graduate student of the Department of Pharmaceutical Chemistry, Pharmacognosy and Organization of Pharmaceutical Business, Faculty of Fundamental Medicine of the Lomonosov Moscow State University (MSU). Tel.: +7 (926) 587-77-99. E-mail: antipina\_aa@rambler.ru. ORCID: 0000-0002-8970-3495

**Balaban'yan Vadim Yur'evich** – Leading researcher of the Translation medicine Laboratory of the Lomonosov Moscow State University (MSU), Doctor of Pharmaceutical Sciences. Tel.: +7 (916) 293-54-85. E-mail: bal.pharm@mail.ru. ORCID: 0000-0002-5744-7060

## SUMMARY

Polyphenols are an original class of natural compounds, the unique chemical structure of which determines a diversity of their biological properties and a wide spectrum of pharmacological activities. As oligosaccharide donors in the protein N-glycosylation process, polyphenols are directly involved in the synthesis of cell membrane glycoproteins, which contributes to the acceleration of cell regeneration and renewal. Due to their chemical structure, polyphenols act as fat-soluble antioxidants, by suppressing oxidative stress. In addition, polyphenols stimulate metabolic processes and increase the viability of cells, by enhancing the fluidity and permeability of their biological membranes.

At the moment, Russia has registered the only drug based on polyphenols, which is a hepatoprotector. Other types of pharmacological activity of polyphenols have been also studied; the latter were observed to have neuroprotective, anti-inflammatory, antitumor, antibacterial, and other pharmacological activities. The design of new medicines based on polyphenols is of particular scientific and practical interest.

The most common sources of polyphenols are the foliage on the coniferous trees (various species of fir, abies, and pine) and the leaves of *Ginkgo biloba*. Polyphenols are isolated from medicinal plant raw materials through extraction that is based on the solubility difference in two or more organic solvents. Other methods for obtaining polyphenols, such as supercritical carbon dioxide extraction or extraction with deep eutectic solvents, are also known. The main method for the standardization of polyphenols is high-performance liquid chromatography. Polyphenols may be analyzed using electrospray ionization mass spectrometry, atmospheric pressure photoionization mass spectrometry, and matrix-activated laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry.

**Key words:** polyphenols, extraction, high-performance liquid chromatography, electrospray ionization, atmospheric pressure photoionization, matrix-activated laser desorption/ionization.

**For reference:** Antipina A.A., Balabaniyan V.Yu. Approaches to producing, purifying, and standardizing polyphenols. *Farmatsiya*, 2021; 70 (6): 15–19. <https://doi.org/10.29296/25419218-2021-06-03>

## Введение

Полифенолы представляют собой группу изофенолоидных спиртов различной длины, состоящих из множества изофеноловых единиц, соединенных в положении «голова-хвост», обладающих гидроксильной группой на одном конце ( $\alpha$ -остаток) и атомом водорода на другом ( $\omega$ -конец), а также отличающихся пространственной конфигурацией. Гидрирование двойной связи в  $\alpha$ -остатке приводит к образованию соединений, называемых долихолами и принимающих непосредственное участие в синтезе гликопротеинов клеточных мембран, будучи донорами олигосахаридов в процессе N-гликозилирования белков, что определяет один из механизмов их фармакологического действия, заключающийся в ускорении процессов регенерации и обновления клеток [1]. При введении природных полифенолов в организм человека восполняется естественная потребность клеток в эндогенном долихофосфате, что способствует интенсификации биосинтеза гликопротеинов. Наиболее очевидным механизмом действия полифенолов и долихолов является подавление окислительного стресса, поскольку данные молекулы за счет своего химического строения ведут себя как жирорастворимые антиоксиданты [2, 3]. Также было отмечено, что полифенолы способны повышать текучесть и проницаемость биологических мембран, способствуя стимуляции обменных процессов и повышению жизнеспособности клеток [4].

Уникальность химического строения и наличие полимеров-гомологов предопределяют многообразие биологических свойств полифенолов и широкий спектр их фармакологической активности. На данный момент в России зарегистрирован единственный препарат на основе полифенолов, представляющий собой гепатопротектор, предназначенный для лечения и профилактики заболеваний печени. Кроме того, исследования

показали, что полифенолы обладают существенным потенциалом в лечении болезни Альцгеймера [5–7]. Также выявлено у полифенолов наличие нейропротекторной, противовоспалительной, противоопухолевой, антибактериальной и иных видов фармакологической активности [8–11]. Таким образом, разработка новых лекарственных препаратов на основе полифенолов представляет особый научный и практический интерес.

Основными растительными источниками полифенолов являются хвойная зелень различных видов ели (*Picea*), пихты (*Abies*), сосны (*Pinus*), а также листья гинкго двулопастного (*Ginkgo biloba* L.) [12].

Выделение полифенолов из лекарственного растительного сырья осуществляют посредством экстракции, основанной на различии в растворимости в  $\geq 2$  органических растворителях [13]. Метод включает в себя следующие этапы:

- экстракция веществ из сырья органическими растворителями (этиловым спиртом, ацетоном, н-гексаном, бензолом, хлороформом, метиленхлоридом и др.) с последующим удалением растворителей. Полифенолы лучше растворимы в неполярных растворителях, с увеличением полярности растворителя их растворимость падает.
- получение осадка, содержащего полифенолы, из растворимых в органическом растворителе веществ с учетом разницы в растворимости между двумя или более органическими растворителями. Осаждение полифенолов может быть проведено добавлением смеси органических растворителей (например, этилацетата, 1- и 2-пропанола) и охлаждением смеси при температуре от  $-30$  до  $0^\circ\text{C}$  (предпочтительнее от  $-20$  до  $-10^\circ\text{C}$ ) в течение 2 ч;
- удаление растворителей и высушивание осадка;

- обработка осадка водными растворами щелочей в среде органических растворителей, таких как метиловый, этиловый, изопропиловый спирты (последний наиболее предпочтителен). В качестве щелочи можно взять водный раствор натрия гидроксида или калия гидроксида. Для удаления примесей добавляют активированный уголь, а также фильтруют раствор через целит, диатомит, перлит, силикат кальция или магнезия;
- упаривание профильтрованного раствора и растворение остатка в смеси ацетона и ацетонитрила (1:1). Примеси выпадают в осадок.

К недостаткам данного способа следует отнести многостадийность, сложность, высокую трудозатратность, большую длительность процессов, большой расход растительного сырья, невысокую чистоту получаемого экстракта.

Известен способ получения полипrenoлов из нейтральных экстрактивных веществ древесной зелени хвойных пород, в качестве которых используют провитаминный хвойный концентрат [14]. В предлагаемом способе концентрат подвергают гидролизу спиртовым раствором щелочи, к полученной смеси добавляют воду и гексан, перемешивают, отстаивают, отгоняют растворитель от гексановой фракции, затем полученный продукт однократно обрабатывают ацетоном, нагревают и охлаждают до температуры 5°C и фильтруют для отделения воска. Из фильтрата отгоняют растворитель и из полученного продукта выделяют основную часть терпеновых соединений путем растворения его в 82–85 об.% этиловом спирте, нагревают, затем охлаждают до -5°C и декантируют спирт. Полученный продукт без восков и терпеновых соединений, содержащий концентрат полипrenoлов, вносят на хроматографическую колонку с силикагелем и последовательно экстрагируют 96% этиловым спиртом и ацетоном, охлажденным до 5°C, далее из ацетонной фракции отгоняют растворитель. При этом полипrenoлы выделяют с чистотой более 95%, а выход целевого продукта составляет 10–18% от исходного провитаминного хвойного концентрата.

Также существует метод получения полипrenoлов, в основе которого лежит сверхкритическая углекислотная экстракция, позволяющий получать стабильные экстракты с минимальным количеством примесей [15]. Преимущества данного метода перед традиционными способами получения полипrenoлов (экстракция органическими растворителями) заключаются в возможности регулирования скорости и селективности процесса

экстракции путем изменения температуры и/или давления, а также в отсутствии в экстракте остатков органических растворителей. Кроме того, бактериостатические и хемостатические свойства углекислого газа способствуют увеличению срока хранения экстрактов. Данный метод наиболее подходит для выделения полипrenoлов с короткой и средней длинами цепи. В случае длинноцепочечных полипrenoлов эффективность данного метода была ниже в сравнении с экстракцией органическими растворителями.

Разработан способ выделения полипrenoлов из листьев гинкго двулопастного (*Ginkgo biloba* L.) с помощью глубоких эвтектических растворителей [16]. Глубокие эвтектические растворители представляют собой относительно новый и малоизученный класс растворителей, обладающих значительным потенциалом в качестве экстрагентов для природных соединений и являющихся экологически чистыми альтернативами обычным летучим органическим растворителям. Кроме того, такие растворители обладают более низкой стоимостью производства и более подвержены биоразложению. Метод также включает обработку сырья в шаровой мельнице для разрушения клеточных стенок (для этой цели можно использовать энзимолит, обработку ультразвуком или микроволновым излучением), очистку от примесей омылением, хроматографическое выделение полипrenoлов из экстракта при помощи модифицированного силикагеля, насыщенного ионами серебра, молекулярную дистилляцию.

Подробно описано выделение полипrenoлов из экстракта листьев гинкго двулопастного при помощи впервые синтезированных кремневых наноматериалов, содержащих ионы серебра, один из которых продемонстрировал исключительно высокую селективность по отношению к полипrenoлам и высокую стабильность при длительном воздействии тепла и света, в то время как серебро было практически неподвижно во время элюирования растворителем. Следует отметить, что подобная высокая стабильность способствует большему извлечению полипrenoлов в сравнении с обычным силикагелем [17].

Известен метод выделения одиночных полипrenoлов (или долихолов) из смеси изопреноидных спиртов при помощи полупрепаративной обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) [18]. Хроматографирование было выполнено на аппарате Waters (Milford, MA) с двумя насосами 510 Waters. Аналитическое разделение было выполнено линейным

градиентом от 90% А (метанол-изопропанол-вода, 60:40:5 в объемном соотношении) к 60% В (гексан-изопропанол, 7:3 в объемном соотношении) в течение 25 мин со скоростью потока 1,5 мл/мин на колонке размером 60×4,6 мм, неподвижная фаза – октадецилсиликагель Hupersil (3 мкм, Knauer, Берлин, Германия). Полупрепаративное разделение было осуществлено при помощи градиентного элюирования смеси, состоящей из 90% растворителя А (метанол-изопропанол-вода, 60:40:5 в объемном соотношении) и 10% растворителя В (гексан-изопропанол, 7:3 в объемном соотношении), с начальной скоростью элюирования 1,5 мл/мин на колонке размером 100×10 мм, неподвижная фаза – октадецилсиликагель Hupersil (5 мкм, Chromtech, Стокгольм, Швеция). После 3 мин изократического элюирования скорость потока была увеличена до 6 мл/мин и градиент был инициирован следующим образом: 18 мин, 15% В; 23 мин, 16,5% В; 28 мин, 18,5% В; 33 мин, 21% В; 37 мин, 24% В; 42 мин, 28% В; 47 мин, 33% В; 57 мин, 48% В; 67 мин, 68% В и 72 мин, 88% В. Количество смеси полипренолов, введенное за 1 раз, составило 20 мг в 50 мкл смеси хлороформа и метанола 2:1 в объемном соотношении. Абсорбция элюата измерена при помощи ультрафиолетового детектора Waters с длиной волны 210 нм для аналитического пробега и 215 нм для полупрепаративного пробега. Степень очистки полипренолов, разделенных данным способом, очень высока (>95%). Возможна автоматизация процесса по причине высокой воспроизводимости значений времени удерживания, наблюдаемых в течение нескольких последовательных прогонов.

Идентификация и количественное определение полипренолов может осуществляться методом ультравысокоэффективной жидкостной хроматографии с применением диодно-матричного детектора [19]. Условия хроматографирования: колонка Agilent Extend C18 2,1×50 мм, 1,7 мкм; подвижная фаза: А (метанол) и В (изопропанол) по градиенту; скорость потока составила 0,22 мл/мин; температура колонки 40°C; длина волны детектора 210 нм.

Сверхкритическая жидкостная хроматография в комбинации с времяпролетной масс-спектрометрией с матрично-активированной лазерной десорбцией/ионизацией проявила себя как перспективный инструмент в изучении структур природных полимеров (в частности полипренолов) [20]. Анализ проводился на колонке Inertsil Ph-3 (длина 250 мм, внутренний диаметр 4,6 мм). Расход углекислого газа составил

3,0 мл/мин, а скорость потока тетрагидрофурана в качестве модификатора составляла 0,8 мл/мин. Затем скорость потока тетрагидрофурана увеличилась до 2,0 мл/мин в течение 30 мин и далее удерживалась на этом значении. Давление жидкости поддерживалось на уровне 19,6 МПа, температура колонки была постоянной и составляла 80°C.

Анализ полипренолов может осуществляться методом масс-спектрометрии с ионизацией электроспреем, однако результат не всегда оказывается достаточно точным, зачастую требуются автономные методы дериватизации, влекущие значительные временные и материальные затраты. Известен модифицированный метод масс-спектрометрии с ионизацией электроспреем [21], включающий применение иодида лития для увеличения чувствительности метода и ускорения катионизации за счет интенсивного образования частиц  $[M + Li]^+$ .

Также отмечены положительные результаты применения метода масс-спектрометрии с фотоионизацией при атмосферном давлении в отношении анализа полипренолов и долихолов. Метод позволил осуществить эффективную ионизацию полипренолов в полярных и неполярных растворителях. Масс-спектры можно получить в режимах положительных и отрицательных ионов [22].

### Заключение

Таким образом, полипренолы представляют собой оригинальный класс природных соединений, уникальность химического строения которых предопределяет их многообразие биологических свойств и широкий спектр фармакологической активности. Разработка новых лекарственных препаратов на основе полипренолов представляет особый научный и практический интерес.

Основным методом выделения полипренолов из лекарственного растительного сырья является экстракция органическими растворителями. Известны также иные способы выделения, такие как сверхкритическая углекислотная экстракция (наиболее подходит для полипренолов с короткой длиной цепи) или экстракция глубокими эвтектическими растворителями. Однако все известные методы обладают такими недостатками, как трудоемкость, многостадийность и высокая стоимость. Для стандартизации полипренолов используется высокоэффективная жидкостная хроматография. Метод масс-спектрометрии с ионизацией электроспреем обладает существенными недостатками ввиду низкой подверженности ионизации полипренолов. Он требует предварительной

дериватизации или добавления вспомогательных агентов, ускоряющих процесс ионизации, таких, как иодид лития. Возможно применение масс-спектрометрии с фотоионизацией при атмосферном давлении, времяпролетной масс-спектрометрии с матрично-активированной лазерной десорбцией/ионизацией.

#### Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

#### Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest

#### Литература/References

- Rip J.W., Rupar C.A., Ravi K., Carroll K.K. Distribution, metabolism and function of dolichol and polyprenols. *Prog Lipid Res.* 1985; 24 (4): 269–309. DOI: 10.1016/0163-7827(85)90008-6
- Yang L., Wang C.Z., Ye J.Z., Li H.T. Hepatoprotective effects of polyprenols from Ginkgo biloba L. leaves on CCl<sub>4</sub>-induced hepatotoxicity in rats. *Fitoterapia.* 2011; 82 (6): 834–40. DOI: 10.1016/j.fitote.2011.04.009
- Cavallini G., Sgarbossa A., Parentini I. et al. A Component of the Cellular Antioxidant Machinery. *Lipids.* 2016; 51 (4): 477–86. DOI: 10.1007/s11745-016-4137-x
- Ciepichal E., Jemiola-Rzeminska M., Hertel J. et al. Configuration of polyisoprenoids affects the permeability and thermotropic properties of phospholipid/polyisoprenoid model membranes. *Chem. Phys. Lipids.* 2011; 164 (4): 300–6. DOI: 10.1016/j.chemphyslip.2011.03.004
- Soultanov V., Fedotova J., Nikitina T. et al. Antidepressant-Like Effect of Ropren® in  $\beta$ -Amyloid-(25-35) Rat Model of Alzheimer's Disease with Altered Levels of Androgens. *Mol. Neurobiol.* 2017; 54 (4): 2611–21. DOI: 10.1007/s12035-016-9848-8
- Fedotova J., Soultanov V., Nikitina T. et al. Cognitive-enhancing activities of the polyprenol preparation Ropren® in gonadectomized  $\beta$ -amyloid (25-35) rat model of Alzheimer's disease. *Physiol. Behav.* 2016; 157: 55–62. DOI: 10.1016/j.physbeh.2016.01.035
- Wang C., He L., Yan M., Zheng G., Liu X. Effects of poly-prenols from pine needles of Pinus massoniana on ameliorating cognitive impairment in a d-galactose-induced mouse model. *Age (Dordr).* 2014; 36 (4): 9676. DOI: 10.1007/s11357-014-9676-6
- Шустов Е.Б., Кашуро В.А., Батоцыренова Е.Г. и др. Полипренолы как перспективные нейрофармакологические средства. *Биомедицина.* 2020; 16 (3): 125–9. DOI: 10.33647/2074-5982-16-3-125-129 [Shustov E.B., Kashuro V.A., Batocytrenova E.G. et al. Poly-prenols as promising neuropharmacological agents. *Biomeditsina.* 2020; 16 (3): 125–9. DOI: 10.33647/2074-5982-16-3-125-129 (in Russian)]
- Санин А.В., Ганшина И.В., Судьина Г.Ф. и др. Фосфорилированные полипренолы – новый класс соединений с противовоспалительной и бронхолитической активностью. *Инфекция и иммунитет.* 2011; 4: 355–60. DOI: 10.15789/2220-7619-2011-4-355-360 [Sanin A.V., Ganshina I.V., Sud'ina G.F. Phosphorilated poly-prenols – a new class of compounds with anti-inflammatory and bronchodilator activity. *Infektsiya i immunitet.* 2011; 4: 355–60. DOI: 10.15789/2220-7619-2011-4-355-360 (in Russian)]
- Sari D., Basyuni M., Hasibuan P. et al. Cytotoxic and Antiproliferative Activity of Polyisoprenoids in Seventeen Mangroves Species Against WiDr Colon Cancer Cells. *Asian. Pac. J. Cancer. Prev.* 2018; 19 (12): 3393–400. DOI: 10.31557/apjcp.2018.19.12.3393
- Tao R., Wang C., Ye J. et al. Antibacterial, cytotoxic and genotoxic activity of nitrogenated and haloid derivatives of C50–C60 and C70–C120 poly-prenol homologs. *Lipids Health Dis.* 2016; 15: 175. DOI: 10.1186/s12944-016-0345-x
- Kukina T. The Siberian flora as a source of polyisoprenoids. *Materials, Methods & Technologies.* 2017; 11: 63–75.
- Международный патент № WO2005086603A3, МПК C07C 29/86. Extraction method for poly-prenols : № PCT/KR2005/000723 : заявл. 14.03.2005 : опублик. 22.09.2005 / Kwon S.-r. [International patent №WO2005086603A3, IPC C07C 29/86. Extraction method for poly-prenols : №PCT/KR2005/000723 : appl. 14.03.2005 : publ. 22.09.2005 / Kwon S.-r.]
- Султанов В.С. Способ получения полипренолов из нейтральных экстрактивных веществ древесной зелени хвойных пород. Патент Российской Федерации № RU 2708234C1. МПК C07C 29/00 (2019.08).: № 2019107858: заявл. 19.03.2019 : опублик. 05.12.2019 / [Sultanov V.S. Method of obtaining poly-prenols from neutral extractives of coniferous greenery. Patent of Russian Federation № RU 2708234C1. IPC МПК C07C 29/00 (2019.08).: № 2019107858: appl. 19.03.2019: publ. 05.12.2019 / (in Russian)]
- Jozwiak A., Brzozowski R., Bujnowski Z. et al. Application of supercritical CO<sub>2</sub> for extraction of polyisoprenoid alcohols and their esters from plant tissues. *J. Lipid Res.* 2013; 54: 2023–8. DOI: 10.1194/jlr.D038794
- Zhang C., Li M., Qi Z. et al. The construction of a green and efficient system for the separation of poly-prenols from *Ginkgo biloba* leaves. *Process Biochemistry.* 2021; 100 (47): 252–9. DOI: 10.1016/j.procbio.2020.10.013
- Zhang C., Wang C., Tao R., Ye J. Separation of poly-prenols from Ginkgo biloba leaves by a nano silica-based adsorbent containing silver ions. *J. of Chromatography A.* 2019; 1590: 58–64. DOI: 10.1016/j.chroma.2019.01.047
- Carlson T., Skorupinska-Tudek K., Hertel J. et al. Single poly-prenol and dolichol isolation by semipreparative high-performance liquid chromatography technique. *The J. of Lipid Research.* 2000; 41: 1177–80. DOI: 10.1016/S0022-2275(20)32025-3
- Vanaga I., Gubernator J., Nakurte I. et al. Identification of Abies sibirica L. Poly-prenols and Characterisation of Poly-prenol-Containing Liposomes. *Molecules.* 2020; 25, 1801. DOI: 10.3390/molecules25081801
- Takahashi K. Polymer analysis by supercritical fluid chromatography. *J. of Bioscience and Bioengineering.* 2013; 116 (2): 133–40. DOI: 10.1016/j.jbiosc.2013.02.001
- D'Alexandri F., Tonhosolo R., Kimura E., Katzin A. Mass spectrometry analysis of polyisoprenoids alcohols and carotenoids via ESI(Li(+))-MS/MS. *Methods Mol. Biol.* 2009; 580: 109–28. DOI: 10.1007/978-1-60761-325-1\_6
- Kania M., Skorupinska-Tudek K., Swiezewska E., Danikiewicz W. Atmospheric pressure photoionization mass spectrometry as a valuable method for the identification of polyisoprenoid alcohols. *Rapid. Commun. Mass Spectrom.* 2012; 26: 1705–10. DOI: 10.1002/rcm.6280

Поступила 24 июня 2021 г.

Received 24 June 2021

Принята к публикации 01 сентября 2021 г.

Accepted 01 September 2021