

БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ ВЕЩЕСТВА РАСТЕНИЙ ЗИМНЕГО САДА БЕЛГУ: КАРОТИНОИДЫ ПЛОДОВ *MURRAYA EXOTICAL*.

**В.И. Дейнека,
М.Ю. Третьяков,
В.В. Фесенко,
Н.А. Шаркунова,
Л.А. Дейнека**

Белгородский
государственный
университет
Россия, 308015, г. Белгород,
ул. Победы, 85.
e-mail: deineka@bsu.edu.ru

В работе спектрофотометрическим и хроматографическим методами исследован экстракт плодов растения *Murraya exotica* L., выращенного в Зимнем саду Белгородского государственного университета. Обсуждаются методы оценки строения каротиноидов с привлечением спектральных и хроматографических характеристик.

Ключевые слова: *Murraya exotica* L. плоды, семи- α -каротин, спектроскопия, ВЭЖХ, относительное удерживание.

Введение

Муррайя (*Murraya*) – род растений семейства Rutaceae, включающего хорошо известные цитрусовые: лимон, мандарин, апельсин и т.д. Известно около 11 видов этого рода растений [1] произрастающих от Индии до юга Китая, Филиппин, Океании, юга Африки, из которых в зимнем саду БелГУ прекрасно акклиматизировалась *M. exotica* L. Муррайя получила свое название в честь одного из величайших ботаников XVIII века Д. Муррея. Это небольшое растение, даже у себя на родине не выше 3 метров.

Специалисты считают, что трудно назвать растение, которое бы в большей степени подходило для выращивания в наших комнатах и теплицах, чем «*дерево японских императоров*»: японцы познакомились с муррайей около 450 лет назад. Из Гималаев они привозили, что было не таким простым делом, миниатюрные деревца для своего императора и ставили их в его спальню. Известно много других названий муррайи, связанных с некоторыми ее свойствами. Она красива, не сложна в уходе, и отличается сильным запахом цветов – «*оранжевый жасмин*». Считалось, что император *должен* был вдыхать аромат ее цветков: японцы свято верили, что благодаря этому запаху он и сам станет умнее, здоровее, а самое главное – *его дети родятся умными и здоровыми*. Коричнево-красные плоды стали причиной еще одного названия – «*ложный апельсин*». С чем связано название «*атласное дерево*» трудно сказать, но точно известно, что из веток растения изготавливали зубочистки.

Листья *M. exotica* L. обладают вяжущими свойствами, порошком высушенных листьев присыпали раны. Листья и кору в народной медицине Китая и Филиппин использовали при лечении диареи и дизентерии [2]. Их применяли также при ревматизме, кашле и истерии. Листья обладают антибиотической активностью против *Micrococcus pyogenes* var. *aureus* и *Escherichia coli*. В Китае из корней готовили обезболивающие и противозачаточные препараты; имеются сведения о высокой противогрибковой активности против *Candida albicans*.

В ряде фитохимических исследований в различных частях растения *M. exotica* L. были найдены каротиноиды [3, 4], кумарины [5], алкалоиды, флавоноиды, и эссенциальные масла.



Плоды растения имеют коричнево-красную окраску благодаря накоплению каротиноидов, среди которых (по литературным данным при выращивании в привычных условиях) найдены уникальные кето-каротиноиды [3, 4].

В оранжерее Зимнего сада БелГУ с 2003 г. произрастает 3 взрослых экземпляра муррайи экзотической. Растения с раскидистой кроной достигли высоты чуть более 1 м, листья ярко-зеленые, глянцевые, овально-удлиненные, на стебле располагаются поочередно. Цветение наблюдается уже на второй год при семенном выращивании. Оно довольно продолжительно – может длиться с начала весны до поздней осени. Цветки белоснежные, очень ароматные, довольно крупные (до 2 см в диаметре), собраны в соцветия, причем в одно и то же время на растении находятся не только цветки, но также зелёные и спелые плоды, вызревание которых происходит в среднем за 4 месяца. Спелые плоды приобретают характерную коричнево-красную окраску.

Данная работа выполнена в рамках инициативной программы исследований источников каротиноидов в объектах растительного происхождения.

Экспериментальная часть

Для обращено-фазовой ВЭЖХ использовали хроматографическую систему, составленную из насоса Altex 110A, крана дозатора Rheodyne 7100 с петлей объемом 20 мкл, детектора LC/9563 Nicolet, длина волны детектирования 445 нм. Для регистрации и обработки хроматограмм использовали ПП Мультихром 1.5 (Ampersand Ltd. 2005). Хроматографические условия: колонка 250×4 мм, Диасфер-110-С18, 5 мкм; подвижные фазы системы «ацетонитрил – ацетон», скорость подачи элюента 1 мл/мин. Спектрофотометрические исследования выполняли в кварцевых кюветках с использованием спектрофотометра КФК-3-01.

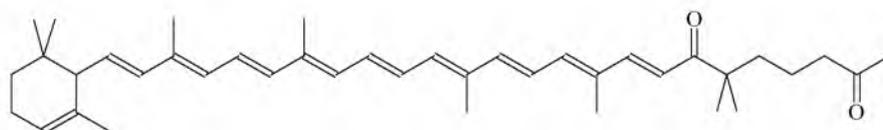
Каротиноиды экстрагировали из измельченных с кварцевым песком плодов ацетоном (трижды последовательными порциями) до обесцвечивания исходного материала.

Результаты и обсуждение

При созревании плоды постепенно меняют окраску с зеленой на коричнево-красную. Поверхность плодов матовая с множеством мелких заметно более темных пятен. Масса плодов, собранных в апреле-мае 2008 года, составила 0.52 ± 0.5 г, а для зимних плодов (февраль 2009 года) – несколько меньше – 0.31 ± 0.07 г. Плод содержит одно-два семени, масса которых достигает трети от массы плода.

То, что окраска плода связана с наличием в мякоти каротиноидов, подтверждается легкой экстракцией пигментов ацетоном: фильтрованием через бумажный фильтр отделяется практически бесцветный твердый остаток. Пигмент из ацетонового экстракта легко переводится в *n*-гексан после добавления воды, насыщенной хлоридом натрия. Спектр экстракта в видимой области представляет собой типичный спектр каротиноидов с выраженной колебательной структурой (рис. 1).

Относительно длинноволновое положение второй полосы в спектре (461.5–464 нм) указывает на увеличенную цепь сопряжения непредельных связей в основном каротиноиде муррайи, появляющегося в виде практически одного пика при исследовании экстракта методом обращено-фазовой ВЭЖХ (рис. 2). Поскольку удерживание этого соединения значительно меньше чем β -каротина и ликопина (рис. 3), то спектральные и хроматографические особенности этого вещества не противоречат появлению кето-группы в сопряжении с цепью двойных углерод-углеродных связей. Если учесть, что четко выраженная колебательная структура спектра наблюдается только при введении кето-группы в линейную цепь сопряжения (сравните со спектром астаксантина, содержащем кето-группы в цикле), то строение основного каротиноида экстракта муррайи, как семи- α -каротенона, предложенное в работах Йокояма с соавт. [3, 4], весьма вероятно.



Semi- α -carotenone (5,6-seco- α,ϵ -carotene-5,6-dione)

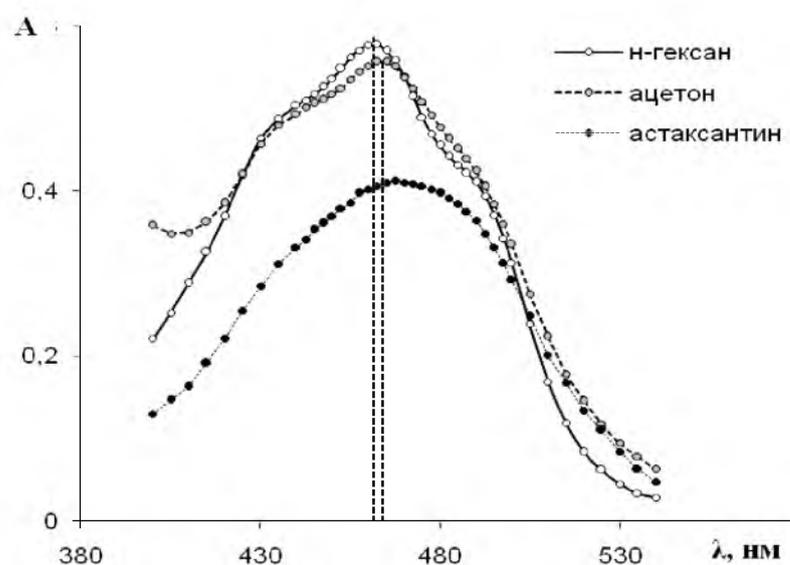


Рис. 1. Спектры экстракта плодов *Murraya exotica* L. в ацетоне и *n*-гексане на фоне спектра диэфиров астаксантина из цветков *Adonis aestivalis* L.

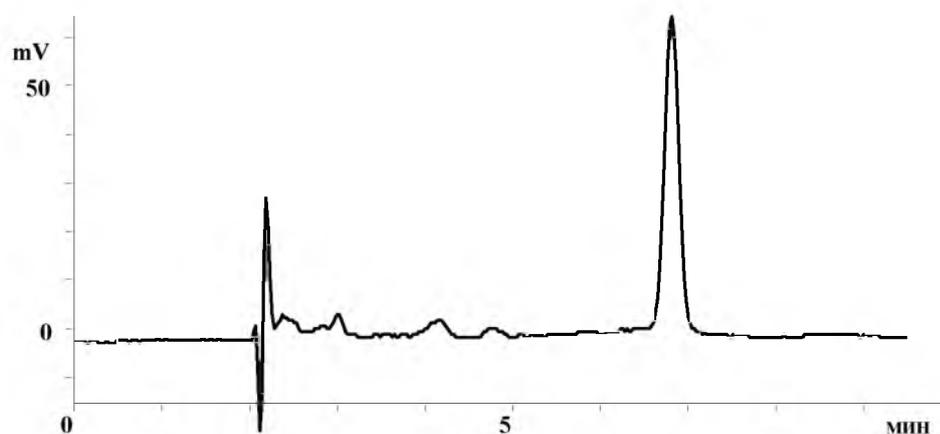


Рис. 2. Хроматограмма ацетонового экстракта плодов *Murraya exotica* L. Колонка: 250×4 мм, Reprosil-pur C18AQ, 5 мкм; элюент ацетонитрил : ацетон 7:3, 1 мл/мин. Детектор: 470 нм.

Наличие второй кето-группы может быть также предсказано хроматографическим методом. По простому инкрементному подходу удерживание вещества в условиях обращено-фазовой ВЭЖХ должно последовательно уменьшаться на равные величины (в единицах логарифма фактора удерживания) при добавлении вначале одной, а потом и другой кето-группы. И, несмотря на то, что по более строгому подходу [7] последовательные вклады не обязательно должны быть одинаковыми, сопоставление удерживания может быть с успехом применено для предварительной идентификации. Более, того по методу

анализа относительного удерживания [8] сопоставление возможно и при отсутствии требуемых стандартных веществ – с использованием подходящих литературных данных.

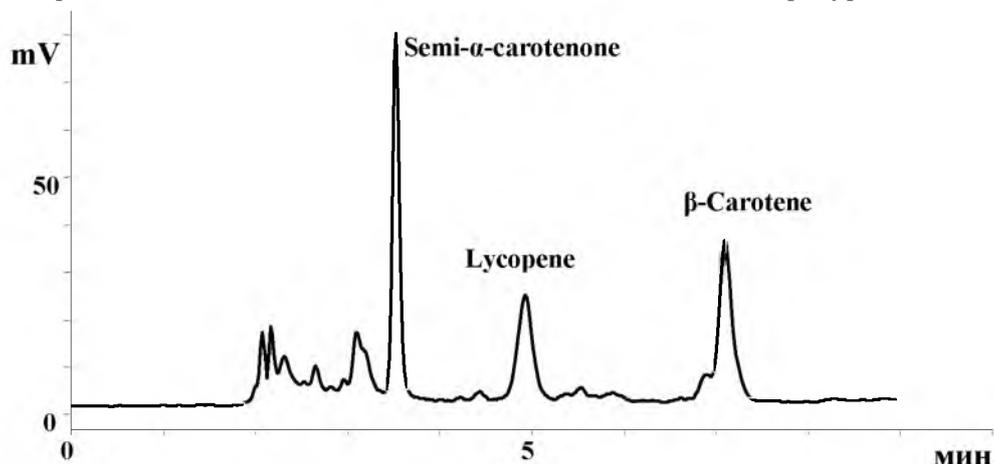


Рис. 3. Хроматограмма смеси трех каротиноидов.
Колонка: 250×4 мм, Reprosil-pur C18AQ, 5 мкм; элюент ацетонитрил : ацетон 3:7, 1 мл/мин.
Детектор: 470 нм.

Относительное удерживание пары липофильных соединений мало зависит от марки стационарной фазы [8]. В элюентах системы ацетонитрил – ацетон (с долей ацетонитрила в диапазоне 30÷60 об. %) найдена прямолинейная зависимость удерживания (в единицах логарифма фактора удерживания) семи- α -каротина из экстракта плодов муррайи и ликопина из экстракта плодов баклажана сорта «Китайский фонарик» относительно β -каротина (рис. 4), для фазы Reprosil-pur C18AQ.

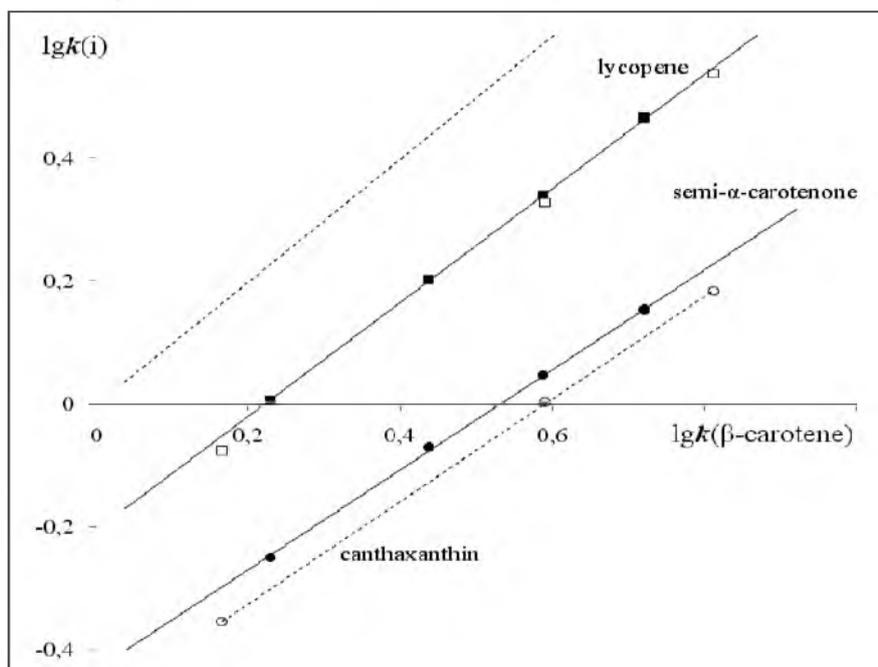
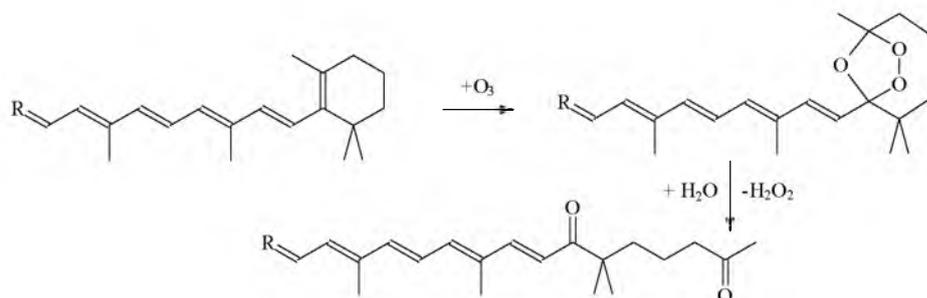


Рис. 4. Удерживание каротиноидов относительно β -каротина

Прямолинейность соответствующих зависимостей в данном случае не так важна как то, что экспериментальные точки, построенные по литературным данным [9] для пары « β -каротин – ликопин», обозначенные незаполненными квадратами находятся в непосредственной близости от прямой линии, построенной по полученным в данной работе данным для той же пары каротиноидов. Это показывает, что не только смена стационарной фазы (Zorbax ODS), но и переход к другой системе подвижной фазы (ацетонитрил+этилацетат) не приводит к большим изменениям в относительном удерживании. Тогда следует обратить внимание на то, что линии для семи- α -каротинона и кантаксантина располагаются в непосредственной близости друг от друга, свидетельствуя об одинаковом числе карбонильных групп в молекулах.

Следует отметить, что семи- α -каротинон не является продуктом метаболизма каротиноидов с неполным включением механизмов циклизации концевых фрагментов. Ациклический фрагмент с одной из сторон может быть получен только разрывом связей между атомами углерода в уже сформированном цикле, причем такой разрыв напоминает известную реакцию озонирования, широко использовавшуюся ранее для химического определения положения двойных связей в молекулах:



Наконец, наличие в семи- α -каротиноне кето-группы в сопряжении с двойными связями представляет большой интерес с точки зрения изучения влияния строения каротиноидов на их биологическую (в том числе и антиоксидантную) активность, поскольку рекордсменом по антиоксидантной активности среди каротиноидов считается астаксантин, содержащий кетогруппы с обоих концов системы сопряженных C=C-связей.

Заключение

Плоды *Murraya exotica* L. при выращивании в условиях Зимнего сада Белгородского университета накапливают кето-каротиноид, спектральные характеристики и хроматографическое поведение которого подтверждают уникальность его строения. Таким образом, это растение является доступным источником редкого вида каротиноидов для исследований биологической активности каротиноидов различного строения.

Список литературы

1. Ranade S.A., Rana T.S., Srivastava A.P., Nair K.N. Molecular differentiation in *Murraya* Koenig ex L. species in India inferred through ITS, RAPD and DAMD analysis // Curr. Sci. – 2006. – Vol. 90, №9. – P. 1253-1258.
2. Raina V.K., Verma S.C., Dhawan S., Khan M., Ramesh S., Singh S.C., Yadav A., Srivastava S.K. Essential oil composition of *Murraya exotica* from the plains of northern India // Flavour Fragr. J. – 2006. – Vol. 21. – P. 140-142.
3. Yokoyama H., Guerrero H.C. Natural occurrence of semi- α -carotenone // Phytochemistry. – 1970. – Vol. 9. – P. 231-232.
4. Yokoyama H., White M.J. Citrus carotenoids VIII. The isolation of semi- β -carotenone and β -carotenone from *Citrus* relatives // Phytochemistry. – 1968. – Vol. 7. – P. 1031-1034.
5. Negi N. et al Two New Dimeric Coumarins Isolated from *Murraya exotica* // Chem. Pharm. Bull. – 2005. – Vol. 53. – P. 1180-1182.
6. Naguib Y.M.A. Antioxidant Activities of Astaxanthin and Related Carotenoids // J. Agric. Food Chem. – 2000. – Vol. 48. – P. 1150-1154.
7. Дейнека В.И. Метиленовая селективность в условиях обращенно-фазовой хроматографии одного ряда гомологов // Сорбц. и хроматогр. процессы. – 2007. – Т. 7, вып.2. – С. 236-243.
8. Дейнека В.И. Карта хроматографического разделения и инкрементные зависимости в методе относительного анализа удерживания в ВЭЖХ // Ж. физ. химии. – 2006. – Т. 80, № 3. – С. 511-516.



9. Nells H.J.C.F., De Leenheer A.P. Isocratic nonaqueous reversed-phase liquid chromatography of carotenoids // Anal. Chem. – 1983. – Vol. 55. – P. 270-275.

BIOACTIVE SUBSTANCES OF THE BSU WINTER GARDEN: *MURRAYA EXOTICAL* FRUIT CAROTENOIDS

**V.I. Deineka,
M.Y. Tret'yakov,
V.V. Fesenko,
N.A. Sharkunova,
L.A. Deineka**

*Belgorod State University
Pobedy Str., 85, Belgorod,
308015, Russia*

e-mail: deineka@bsu.edu.ru

Extract of *Murraya exotica* fruits harvested in Winter Garden of Belgorod State University has been investigated by means of UV – visible spectroscopy and HPLC. The structure of the main carotenoid is discussed on the basis of the spectral and chromatographic properties.

Key words: *Murraya exotica* fruit, semi- α -carotene, Vis-spectroscopy, HPLC, relative retention.