



АНТОЦИАНЫ ПЛОДОВ НЕКОТОРЫХ ВИДОВ РОДА БУЗИНА

Д.А. ГОСТИЦЕВ
В.И. ДЕЙНЕКА
В.Н. СОРОКОПУДОВ
Л.В. ВОЛОЩЕНКО
Л.С. ШИРИНА
С.М. РЫБИЦКИЙ

Белгородский государственный
национальный исследовательский
университет

e-mail: deineka@bsu.edu.ru

Методами ВЭЖХ и спектрофотометрии исследованы антоциановые комплексы плодов нескольких видов бузины красной и черной окраски из коллекции Ботанического сада БелГУ: *S. coreana* (Nakai) Kom. et Aliss – бузины корейской, *S. sibirica* Nakai – бузины сибирской, *S. racemosa* L. – бузины кистистой, а также *S. nigrum* L. и *S. canadensis* L. Установлена идентичность антоциановых комплексов для всех исследованных образцов, кроме бузины черной. Если в бузине черной основные антоцианы – 3-глюкозид и 3-софорозид цианидина, то в остальных видах преобладают ацилированные камаровыми кислотами 3-самбуиозид-5-глюкозид цианидина. Показано, что различие в окраске плодов обусловлено различием в уровне накопления антоцианов, причем существуют оптимальные сроки сбора плодов. Обсуждаются некоторые вопросы хемосистематики.

Ключевые слова: плоды видов бузины, антоцианы, накопление, ВЭЖХ, хемосистематика.

Введение. Рода жимолость, бузина и калина в отечественной (а также порой и в иностранной) литературе включают в семейство жимолостные (Caprifoliaceae) [1]. Однако на основании генетических исследований [2] в настоящее время бузину (как и калину) относят к семейству адоксовые (Adoxaceae)

Бузина черная (*Sambucus nigra* L.) считается лекарственным растением [3]; ее плоды (как и плоды бузины канадской, *S. canadensis*) относят к наиболее богатым растительным источникам антоцианов [4 – 6]; несколько уступают им в этом отношении плоды жимолости синей [6]. Красная окраска других видов бузины свидетельствует о меньшем уровне накопления этих важнейших природных биологически активных соединений. Это относится, в частности, к бузине красной (обыкновенной или кистистой, *S. racemosa*), относимой и к лекарственным, и к съедобным [7, 8], и к ядовитым [9] растениям.

Особое внимание антоцианам в последнее время уделяется благодаря их ярко выраженным антиоксидантным свойствам, которые обеспечивают высокую биологическую активность [10]. Но если исследованиям антоцианов плодов бузины черной и бузины канадской посвящено значительное количество работ, то данные по антоцианам других видов этого рода весьма ограничены [5].

Цель настоящей работы – изучение накопления антоцианов в плодах некоторых видов бузины из коллекции Ботанического сада НИУ.

Материалы и методы исследования. Экстракты получали настаиванием плодов в 0.1 М водном растворе HCl при разминании плодов до сравнения окраски остатка с окраской раствора, что обеспечивало более чем 98%-ное извлечение антоцианов. Перед ВЭЖХ все образцы очищали твердофазной сорбцией на патронах C18: патроны вначале активировали, пропуская около 5 мл ацетона, затем кондиционировали пропуская 10-15 мл 0.1 М раствора HCl в воде; экстракт сорбировали на патроне и элюировали смесью 40% ацетонитрила и 20 % муравьиной кислоты в воде; наконец, элюат разбавляли примерно в три раза водой.

Спектры экстрактов записывали с использованием спектрофотометра СФ-56 в кварцевых или стеклянных кюветах относительно водно-спиртовой смеси. Перед измерением оптической плотности растворы разбавляли в необходимое число раз и фильтровали через бумажный фильтр. Содержание антоцианов приводили в пересчете на цианидин-3-глюкозид, используя литературное значение коэффициента молярного погашения, $\varepsilon = 26900 \text{ л}/(\text{моль}\cdot\text{см})$ [8].

Для ВЭЖХ использовали комплект оборудования фирмы Agilent 1200 Infinity с диодно-матричным детектором. Колонка: 250×4.6 мм Symmetry C18, 5 мкм; термостатирование при 40°C. Подвижная фаза: 14 - 12 об.% ацетонитрила и 10 об.% муравьиной кислоты в воде, скорость подачи – 1 мл/мин.

Результаты исследования и их обсуждение. По единственному доступному нам литературному источнику [5], в котором исследовали антоцианы плодов трех видов бузины с красными плодами (*S. sachalinensis*, *S. sibirica* и нескольких разновидностей *S. racemosa*), комплексом необходимых и достаточных методов определены три производные цианидина: 3-О-(2"-О-ксилозилглюкозид)-5-О-глюкозид (**I**) и эти же вещества, ацилированные в положении 6" *цис*- (**II**) и *транс*-(**III**) *пара*-кумаровыми кислотами. Исследования, выполненные в настоящей работе, показали, что красная окраска плодов трех видов бузины из коллекции Ботанического сада БелГУ (*S. coreana* (Nakai) Kom. et Aliss - бузины корейской, *S. sibirica* Nakai – бузины сибирской, *S. racemosa* L. – бузины кистистой (**B'** – *S. racemosavar. latifolia*) обусловлена 3,5-дигликозидами и ацилированными соединениями. Это согласуется с результатами цитированной выше работы, впрочем, кроме этих соединений обнаруживаются, хотя и в заметно меньших количествах, 3-глюкозид цианидина (**IV**) и другие ацилированные производные (**VI** и **VII**), но цианидин-3-самбубиозид (**V**), характерный для бузины черной, практически отсутствует, рис.1.

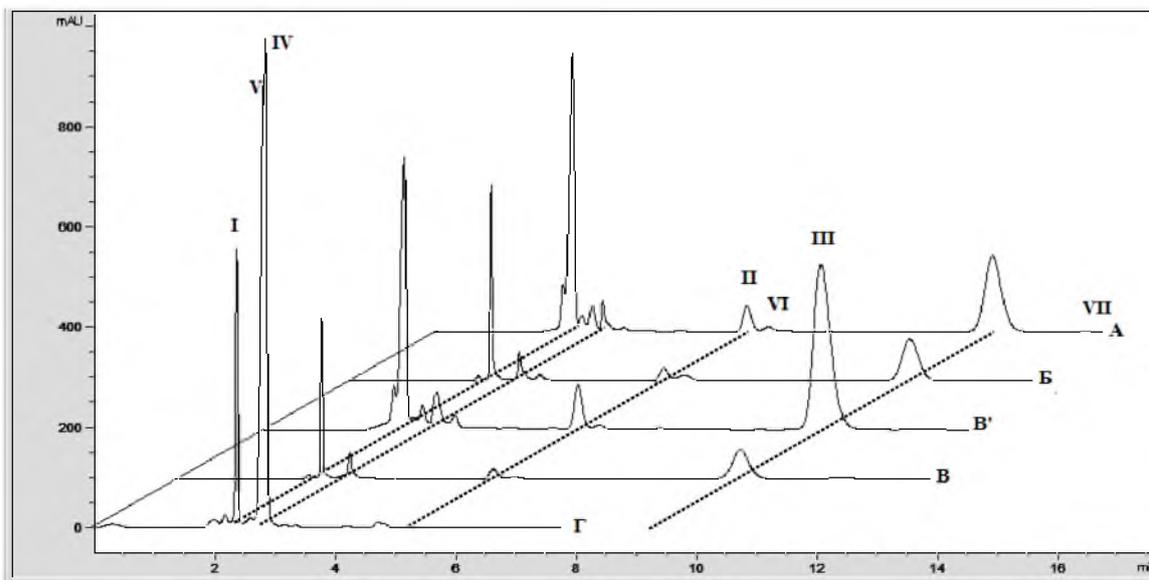


Рис.1. Разделение антоцианов плодов нескольких видов бузины Антоцианы плодов А – бузины корейской, Б – бузины сибирской, В – бузины кистистой и Г – бузины черной. Колонка: 4.6×250 мм Symmetry C18, 5 мкм; элюент – 14 об.% ацетонитрила, 10 об.% HCOOH в воде, 1 мл/мин. Детектор: 515 нм.

Использованный в работе прибор позволяет записывать непосредственно в кювете детектора спектры пиков, которые являются весьма характеристичными. Так, простейший из антоцианов – цианидин-3-глюкозид (**IV**) имеет максимум поглощения при 517.25 нм; добавление ксилозильного радикала в структуру глюкозидного (переход к цианидин-3-самбубиозиду, **V**), батохромно смещает максимум на 1 нм. Но дальнейшее добавление глюкозидного радикала в положение 5 (**I**) приводит, наоборот, к гипсохромному сдвигу максимума до 515 нм, к заметному сужению полосы и к характеристическому снижению абсорбции в диапазоне 400 - 450 нм. Ацилирование *пара*-кумаровыми кислотами сильно смещает максимум абсорбции до 525 (**II**) и до 523 (**III**) нм. Этот эффект напоминает изменения, наблюдающиеся при добавлении в раствор антоцианов органических растворителей, и поэтому соответствует внутримолекулярной копигментации.

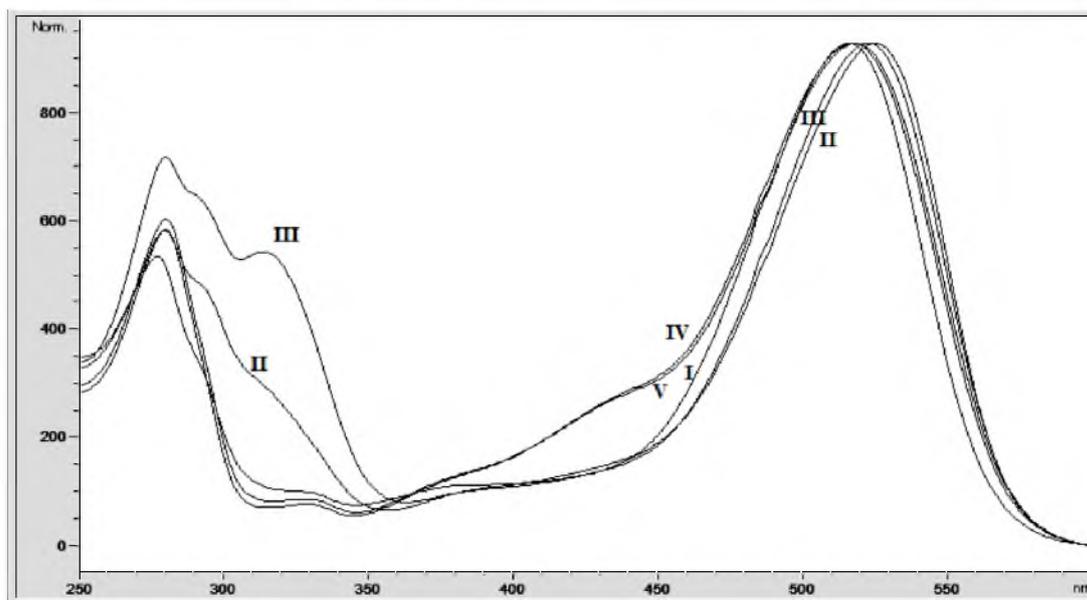


Рис.2. Спектры компонентов антоцианового комплекса плодов различных видов бузины
Нумерация антоцианов – как на рис.1.

Относительная доля каждого из обнаруженных пиков в комплексах представлена в табл.1; она была рассчитана методом нормировки по площадям пиков на хроматограмме.

Таблица 1

Характеристика антоциановых комплексов плодов трех видов бузины

№*	Антоциан	Моль %, по площадям пиков			
		<i>S. racemosa</i>	<i>S. racemosa</i> f. <i>latifolia</i>	<i>S. sibirica</i>	<i>S. coreana</i>
I	Cy-3-Sam-5-Glu	34.5	29.5	32.8	45.6
II	Cy-3-Z-CumSam-5-Glu	7.1	7.4	7.5	6.6
III	Cy-3-E-CumSam-5-Glu	41.9	55.5	45	40.1
IV	Cy-3-Glu	11.5	6.2	9	4.6
Суммарное накопление, г на 100 г свежих плодов					
В пересчете на Cy-3-Glu		0.053 ± 0.085	0.045 ± 0.078	0.056 ± 0.078	

Из представленных данных следует, что плоды исследованных видов бузины не относятся к богатым источникам антоцианов, но они могут представлять интерес для выделения этих важнейших природных колорантов при комплексной переработке сырья. Действительно, на трехмерной хроматограмме экстрактов обнаруживается большое количество сопутствующих экстрактивных соединений фенольной природы (область с синей окраской, отсутствующих при записи хроматограммы при 515 нм), рис.3.

По антоциановому составу плоды бузины канадской (с практически черной окраской) являются абсолютными аналогами плодов исследованных видов бузины с красной окраской плодов. Единственное различие – в количественном уровне накопления антоцианов. А вот бузина обыкновенная, в плодах которой накапливаются в основном антоцианы (IV) и (V), несколько выпадает из этого ряда. В плодах этого вида бузины очевидно снижена активность ксилосил-трансферазы, превращающей 3-глюкозид в 3-самбубиозид; снижена также и активность глюкозил-5-трансферазы и ферментов, катализирующих ацилирование гликозидов цианидина.

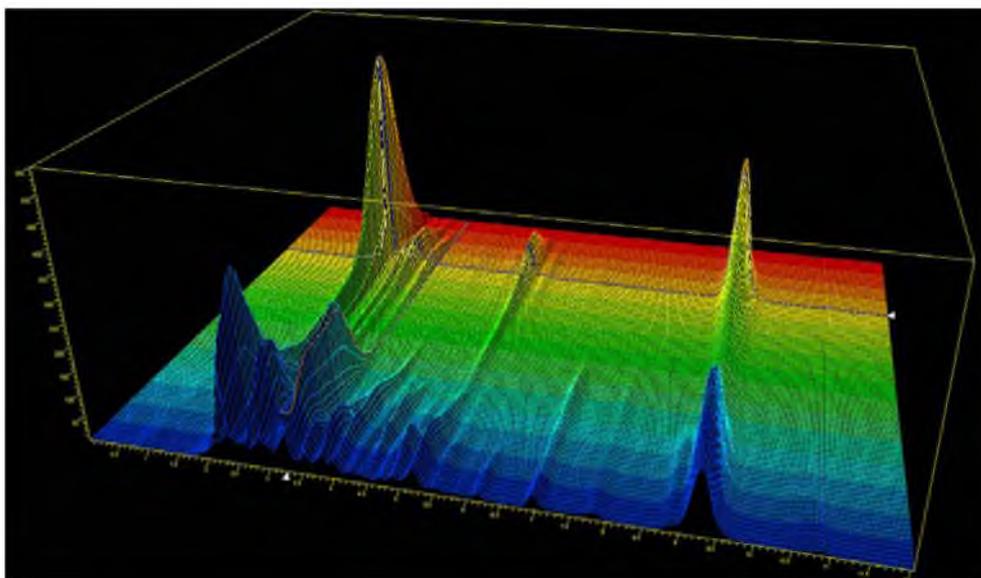


Рис.3. 3D-хроматограмма экстракта плодов *S. racemosa f. latifolia*

По поводу количественного уровня накопления антоцианов можно отметить то, что разброс в концентрации антоцианов в плодах, определяемой по массе свежих плодов, может зависеть как от степени созревания плодов, так и от их влажности, определяемой внешними (погодными) условиями. Например, для плодов бузины черной и бузины канадской существуют оптимальные сроки съема плодов, табл.2.

Таблица 2

Сумма антоцианов в свежих плодах двух видов бузины

№	Дата съема плодов	Концентрация антоцианов в плодах, г на 100 свежих плодов		
		<i>S. canadensis</i> форма		<i>S. nigrum</i>
		рассеченностная	обыкновенная	
1	31.07.2006	0.280 0.053	0.456 0.085	0.263 0.078
2	07.08.2006	0.616 0.070	1.092 0.100	0.689 0.56
3	14.08.2006	0.623 0.013	1.250 0.229	1.076 0.125
4	17.08.2006	0.707 0.031	1.483 0.187	1.240 0.264
5	29.08.2006	-	1.871 0.890	1.565 0.180
6	08.09.2006	-	-	0.748 0.180

Очевидно, что к концу августа рост концентрации антоцианов связан с постепенным усыханием плодов. Но при этом следует помнить, что не во всех плодах высыхание приводит к росту фактической концентрации антоцианов [11]. Разрушение антоцианов может быть связано не только с окислением кислородом воздуха при отмирании клеток плодов, но и за счет включения собственных (ферментативных) механизмов их уничтожения. Так, хорошо известно быстрое разложение антоцианов цветков цикория под действием собственной ферментативной системы [12]. А по нашим наблюдениям в плодах калины гордовины (*Viburnum lantana*L.) антоцианы в первоначально красных плодах исчезают при достижении плодами черной окраски (т.е. при созревании): незрелые (красные и твердые) плоды в жаркую погоду буквально за несколько часов становятся черными и мягкими.

Используя результаты исследования антоцианов плодов 19 растений родов бузина, жимолость и калина, авторы работы [5] пришли к заключению о том, что не существует химических оснований для выделения бузины и калины из семейства *Caprifoliaceae*. Строго говоря, выводы авторов не совсем обоснованы хотя бы потому, что авторы не предложили критериев для такой дифференциации, тем более, что в плодах некоторых (двух из семи исследованных) видов жимолости (и только в жимо-

лости) были обнаружены производные дельфинидина. Более того, не совсем понятно, почему в представленных данных, например, для жимолости *Lonicera maximowiczii* var. *sachalinensis* антоциановый комплекс включает пеларгонидин-3-глюкозид и цианидин-3-рутинозид. Дело в том, что, как следует из анализа большого числа данных, если в растительном материале присутствует фермент рамнозил-трансфераза, то она должна превращать все 3-глюкозиды в рутинозиды вне зависимости от строения кольца В антоцианов. Возможно, что эти антоцианы локализованы в различных клетках плодов, но такой анализ в цитированной работе не был представлен. Тоже касается данных об антоциановом комплексе *L. maackii*, в котором соседствуют дельфинидин-3-глюкозид и продукт более глубокого метаболизма аналогичного цианидинового производного – цианидин-3-самбубиозид-5-глюкозид. Поэтому существует необходимость анализа антоцианового комплекса видов жимолости (отличных от жимолости синей, накапливающей в основном цианидин-3-глюкозид – наиболее распространенный в растительном мире и поэтому наименее информативный в целях хемосистематики антоциан) из коллекции ботанического сада БелГУ.

В предварительных исследованиях, выполненных в текущем году, было установлено, что антоцианы плодов *Lonicera caucasica* и плодов *Lonicera alpigena* образованы, в основном цианидин-3-глюкозидом с минорными добавками цианидин-3,5-дигликозида, цианидин-3-рутинозида (определенных по совпадению времен удерживания и по спектральным параметрам) и некоторых неидентифицированных соединений, рис.4. Но основные исследования предполагается выполнить в следующем году.

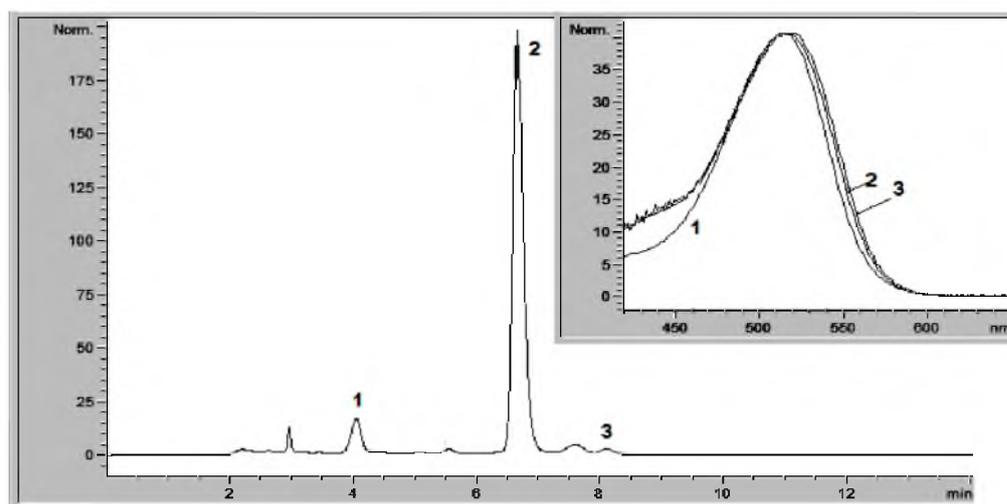


Рис.4. Антоцианы плодов *Lonicera caucasica*

Выводы. Таким образом, содержание антоцианов в плодах бузины черной и канадской в значительной степени зависит от сроков сбора и плоды видов бузины с красной окраской могут представлять интерес для получения природных колорантов при комплексной переработке сырья.

Работа выполнена в рамках реализации федеральной целевой программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009 – 2013 гг., государственный контракт № П508, государственный контракт № П425.

Список литературы

1. Гладкова, В.Н. Семейство жимолостные (Caprifoliaceae) / Жизнь растений в шести томах. Подред. А.Л. Тахтаджана. Т.5, М.: Просвещение, 1981. – С. 375.
2. Phylogeny and phylogenetic taxonomy of Dipsacales, with special reference to Sinadoxa and Tetradoxa (Adoxaceae) / M.J. Donoghue [et al.] // Harvard Papers in Botany. – 2001. – V.6. – P. 459–479.
3. Мазнев, Н.И. Энциклопедия лекарственных растений. 3-е изд., испр. и доп. / Н.И. Мазнев – М.: Мартин, 2004. – С. 108-110.
4. Lee, J. Anthocyanins and other polyphenolics in American elderberry (*Sambucus Canadensis*) and European elderberry (*S. nigra*) cultivars / J. Lee, C.E. Finn // J. Sci. Food Agric. – 2007. – V.87. – P. 2665-2675.

5. Jordheim, M. Anthocyanins in Caprifoliaceae / M. Jordheim, N.H. Giske, Ø.M. Andersen // Biochem. System. Ecol. – 2007. – V.35. – P. 153-159.
6. Anthocyanins from fruits of some plants of the Caprifoliaceae family / V.I. Deineka [et al.] // Chem. Nat. Comp. – 2005. - V.41. – P. 162-164.
7. Exploring the use of red elderberry (*Sambucus racemosa*) fruit on the southern Northwest Coast of North America / R.J. Losey [et al.] // J. Archaeol. Sci. – 2003. – V.30. – P. 695-707.
8. Antiviral screening of British Columbian medicinal plants / A.R. McCutcheon [et al.] // J. Ethnopharmacol. – 1995. – V.49. – P. 101-110.
9. Frohne, D. Poisonous plants. Second Ed., Manson Publishing Ltd, 2004./ D. Frohne, H.J. Pfänder – P. 126.
10. Mazza, G. Anthocyanins and heart health / G. Mazza // Ann. Ist. SuperSanità. – 2007. - V.43. – P. 369-374.
11. Антоцианы плодов растений: опыт экстракции и сушки / В.И. Дейнека [и др.] // Хранение и переработка сельхозсырья. - 2006. - №4. - С. 28-31.
12. Proctor, J.T.A. An anthocyanin-decolorizing system in florets of *Cichorium intybus* / J.T.A. Proctor, L.L. Creasy // Phytochem. – 1969. – V.8. – P. 1401-1403.

FRUIT ANTHOCYANINS OF SOME SAMBUCUS GENUS VARIETIES

D.A. GOSTYSHCHEV
V.I. DEINEKA
V.N. SOROKOPUDOV
L.V. VOLOSHCHENKO
T.JU. PRISADA
S.M. RYBITSKY

*Belgorod National
 Research University*

e-mail: deineka@bsu.edu.ru

By means of HPLC and spectrophotometry the red and black fruit anthocyanins complexes of some *Sambucus* genus varieties of BSU Botanical garden accumulation were investigated: *S. coreana* (Nakai) Kom. et Aliss, *S. sibirica* Nakai, *S. racemosa* L. As well as *S. nigrum* L. and *S. canadensis* L. The qualitative identity of the complexes of all samples under investigation but *S. nigrum* has been established. The latter has cyanidin-3-glucoside and cyanin-3-sambubioside as the main components while the former was composed by cyanidin-3-sambubioside-5-glucoside and its coumaric acids acylation products. The color difference was due to levels of anthocyanin accumulation being dependent upon fruit harvesting time. Some chemotaxonomy problems are discussed.

Key words: fruits, *Sambucus* genus, varieties, anthocyanins, HPLC, chemosystematics.