

Состав И Содержание Флавоноидов В Плодах *Rosa corymbifera* L.

Э.Н. Новрузов*, Л.А. Мустафаева, А.М. Зейналова

Институт ботаники НАН Азербайджана, Бадамдарское шоссе, 40, Баку AZ 1073, Азербайджан;

*E-mail: eldar_novruzov@yahoo.co.uk

Хромато-спектрофотометрическим методом исследованы состав и содержание флавоноидов в зрелых плодах *R. corymbifera* L., произрастающей в Кубинском районе Азербайджана. В составе флавоноидов установлены кверцетин, кемпферол, два производных кверцетина – гиперин, рутин и одно производное кемпферола – кемпферол-3-галактозид. Установлено, что содержание флавоноидов в частях плода распределяется неравномерно и зависит от местопроизрастания растений. Наибольшее количество флавоноидов накапливается в плодах растений, произрастающих в среднем горном поясе. Все данные о качественном составе и содержании флавоноидов в плодах *R. corymbifera* L. получены впервые. Результаты о количественном содержании и качественном составе флавоноидов плодов дают возможность использовать их для получения пищевой добавки.

Ключевые слова: Хромато-спектрофотометрия, флавоноиды, *R. corymbifera* L.

ВВЕДЕНИЕ

Флавоноиды относятся к фенольным производным, молекула которых состоит из двух фенольных остатков, соединенных трехуглеродным алифатическим звеном, состоящим из C₆-C₃-C₆ углеводных единиц.

Большинство этих соединений относятся к фенолбензо-γ-пирану (I), (флаван), или фенолбензопирану (II) (флаван) (рис.1)

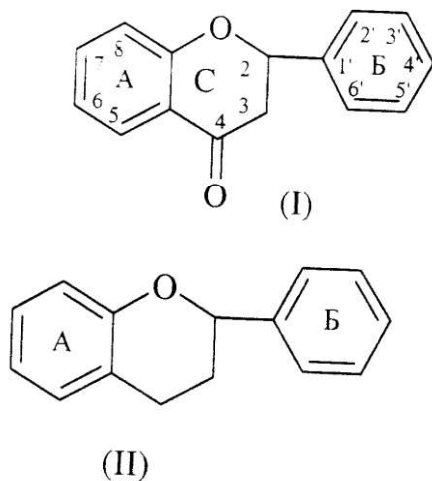


Рис. 1. Общая схема строения молекул флавоноидов.

Большинство встречающихся в природе флавоноидных соединений содержат флороглюциновое (кольцо А) и пирокатеховое (кольцо В) кольца. В настоящее время известно более 3000 флавоноидов (Harborne, Williams, 2000; Williams, Crauner, 2004) интерес к этой группе соединений объясняется широким спектром их биологического действия, широким распростра-

нением в растениях и незначительной токсичностью или ее полным отсутствием.

Флавоноиды обладают высокой капилляропротекторной активностью, т.е. способностью уменьшать хрупкость и проницаемость стенок капилляров (Р витаминная активность). Практические применения нашли кверцетин, рутин, (из софоры японской, гречихи), чайные катехины, плоды аронии черноплодной, плоды шиповника, противовоспалительной и противоязвенной активностью обладают препараты ликвитрон, флакарбин (из солодки), калефлон (из календула); гипооцотемической (понижение уровня азотистых веществ в крови)– леспеплан (из леспедецы), антисклеротической - кверцетин, генистеин, лютеолин, кемпферол (снижают концентрацию холестерина и β-липопротеидов в крови), спазмалитической (лютеолин, кверцетин, кемпферол, рутин, изорамнетин и др.), желчегонной – фламин, холосас, флакумин, флавоноиды бессмертника, шиповника и скумпия, сердечно сосудистой – кверцетин, рутин, лейкоантоцианы, мирицетин и др. увеличивают амплитуду сердечных сокращений и минутный объем сердца, некоторые флавоноиды – гиперозид, кверцетин, кемпферол, флакрозид оказывают сосудорасширяющее действие, в том числе и на коронарные сосуды (Машковский, 2007).

Для флавоноидов характерны также антиоксидантная, антирадиантная, антиканцерогенная, антимикробная, антибактериальная, антисклеротическая иммуномодулирующая и другие активности. В связи с этим актуальным является поиск новых растительных источников получения флавоноидов. В последнее десятилетие

тие особый интерес вызывают антиоксидантное действие флавоноидов, их способность окупировать свободные радикалы, являющиеся причиной возникновения у человека многих тяжелых патологий, и выводить их из организма (Луценко и др. 2006).

В настоящее время с поиском новых лекарственных растений проводится углубленное изучение сырья, традиционно применяемого в медицине. Шиповник издавна известен как лекарственное, пищевое и витаминное растение, широко распространенное в Евразии. В химическом составе установлено высокое количество аскорбиновой кислоты, каротиноидов, витаминов группы В, токоферолов, флавоноидов, углеводов, аминокислот, органических кислот, пектиновых веществ, микро- и макроэлементов (Матасова и др., 1997, Demir et al., 2001; Chen et. al, 2001; Yashodharm et. al, 2003; Бекетов, 2005; Ugglä et. al, 2005; Ercisli, 2007).

Известно, что в плодах видов рода *Rosa* содержится целый комплекс биологически активных веществ (БАВ) флавоноидной природы (гиперозид, кверцетин, рутин, астрагалин, кемпферол-3-арабинозид, кемпферол-3-рамноглюкозид (Клышев и др. 1978, Sina et. al 2017, Kostik et. al, 2015). Флора Азербайджана богата видами *Rosa* L. Здесь произрастают около 50 видов представителей данного рода (Флора Азербайджана, 1954). Среди них *Rosa corymbifera* широко распространена по всему Азербайджану и имеет большие запасы сырья. Химический состав плодов шиповника, произрастающих на территории Азербайджана, в том числе *Rosa corymbifera* изучены недостаточно. Состав и содержание флавоноидов вообще не исследовано. Учитывая широкое распространение, большие эксплуатационные запасы плодов *R. corymbifera*, а также подбор сырья для разработки пищевой добавки с высокой биологической активностью исследовали содержание и состав флавоноидов в их плодах.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом исследования служили плоды *R. corymbifera*, собранные в Кубинском районе Азербайджана в различных местопроизрастаниях растения (сел. Узун-меше в окраине леса, 870 м н.ур.м., с. Сусай юго-восточный склон горы среди кустарников, 1430 м., с. Тенгеалты, левый берег реки Велвеличай, среди кустарников, 1100 м высоте) в фазе технической зрелости в октябре 2017 года. Для количественного определения флавоноидов в сырье использовали методику,

основанную на способности образовывать окрашенный комплекс со спиртовым раствором алюминия хлорида, который вызывает bathochromный сдвиг длинноволновой полосы поглощения. При этом даёт основной максимум поглощения при длине волны 410 ± 2 нм. Такой максимум поглощения при длине волны 412 нм даёт рутин со спиртовым раствором алюминия хлорида, который использовался нами в качестве стандартного образца. Использование в качестве контроля испытуемого раствора без реактива позволяет исключить влияние окрашенных и других сопутствующих веществ на результаты определения (Бубенчикова и др., 2002).

Свежесобранные плоды (2 кг) гомогенизировали тканевым измельчителем при 300 об/мин. При этом семена не измельчаются. Экстрагирование флавоноидов проводили 95°C этиловым спиртом в соотношении 1:10 (3 раза) методом мацерации с последующим нагреванием при температуре $60-70^\circ\text{C}$. Экстракты отфильтровали, объединяли и освобождали от спирта под вакуумом до водного остатка и добавили воду в соотношении 1:1. Водный остаток оставляли 24 часа в холодильнике (при 5°C) и полученный осадок отделяли центрифугированием при 5000 об/мин. Полученный прозрачный коричнево-красный надосадок обрабатывали хлороформом, эфиром, этилацетатом и н-бутиловым спиртом. Качественный состав флавоноидов полученных фракции исследовали методами двумерной хроматографии на бумаге Filtrak (FN 16-Германия) в следующих системах растворителей: I – н-бутанол–уксусная кислота–вода (4:1:2), II – уксусная кислота–вода (15:85), III – 2%-ная уксусная кислота, IV – этилацетат–бутанол–вода (9:2:2) (для гликозидов), V – уксусная кислота–хлороформ (2:3) (для агликонов), VI – н-бутанол–ацетон–вода (2:7:1), VII – н-бутанол– пиридин– вода (4:2:2) и систем I (для сахаров). Хроматограмму просматривали в видимом и УФ свете до и после воздействия парами аммиака и 5% раствором алюминия хлорида (Marbry et.al, 1970), сахара проявляли анилин фталатом. Индивидуальные флавоноиды получали путем колоночное хроматография на полиамидной сорбенте «Wolem» и силикагеле марки КСК 100 (160 мкм).

Идентичность и строение флавоноидов установили по результатам полных кислотных, ферментативных гидролизом, щелочных деструкций и УФ – спектров, ионизирующими и комплексообразующими реактивами. УФ – спектры снимали в спектрофотометре Spekol-1500.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ

Результаты двумерной хроматографии на бумаге в системах I и II первичного спиртового экстракта показывают, что плоды *R. corymbifera* содержат 9 соединений фенольной природы, из которых 5 дают характерную реакцию на флавоноиды (Бандюкова, Шинкаренко, 1972). Судя по величине и плотности пятен основными соединениями являются вещества, представленные пятнами 2,4,5, которые в УФ свете флуоресцируют темными коричневыми, 1 и 3, желтыми свечением, а при действии парами аммиака флуоресцирует различными оттенками желтого цвета. Изучение качественного состава флавоноидов эфирной, этилацетатной и бутанольной фракций двумерной бумажной хроматографией в эфирной фракции обнаружено 2 вещества. Методом колоночной хроматографии на силикагеле из эфирной фракции выделили 2, этилацетатной 3, бутанольной 2 индивидуальных веществ и назвали их веществами А и Б. Из этилацетатной фракции методом колоночной хроматографии на полиамиде получили 3 индивидуальных соединений, которые назвали веществами В, Г, Д.

Выделенные вещества кристаллизовали в метаноле и при бумажной хроматографии в различных системах дали не измененные Rf пятна, что свидетельствует об их индивидуальности. На основании пробы по Брианту (Bryant, 1950) вещества А и Б отнесли к агликонам, а вещества В, Г, Д к гликозидам.

Вещество А – желтые игольчатые кристаллы, легко растворимые в этаноле, метаноле, ацетоне, слабо в эфире, не растворимы в хлороформе, гексане и воде, Rf -0,33 и 0,39 (в системах I и V). УФ спектр (λ_{\max} в метаноле) 258, 300, 370; +CH₃COONa: 273, 375; +CH₃COONa+H₃BO₄: 260, 385; +AlCl₃: 270, 420; +CH₃COONa+HCl: 265, 430. Результаты УФ спектров при добавлении ионизирующих и комплексообразующих реагентов указывают на наличие свободных гидроксильных групп в положениях C₃, C₅, C₇, C_{3'}, C_{4'}. При щелочной деструкции образуют флуороглюцин и пирокатеховую кислоты. Все это свидетельствует о идентичности вещества А с 3,5,7,3',4'-пентагидроксифлавоноим (кверцетин).

Вещество Б – светло-желтые кристаллы легко растворимые в этаноле, метаноле, слабо эфиры, не растворимы гексане, хлороформе. Rf – 0,38 и 0,46 (в системах I и II). УФ спектр (λ_{\max} в этаноле) 265, 368; +CH₃COONa: 275, 380; +CH₃COONa+H₃BO₄: 265, 365; +AlCl₃: 275, 423; тоже+HCl: 268, 415. На основании данных хроматографии, Уф спектров с ионизирующими и

комплексообразующими реагентами и сравнение их с литературными данными (Mabry et al., 1970) вещество Б идентифицировано как 3,5,7,4'-тетроксифлавоин (кемпферол).

Вещество В – желтый аморфный порошок, с Rf – 0,33 и 0,75 (в системах I и V). В УФ-спектре имеет (λ_{\max} в этаноле) 265, 362; +CH₃COONa: 275, 375; +CH₃COONa+H₃BO₄: 265, 360; +AlCl₃: 270, 415; +CH₃COONa+HCl: 265, 396. При кислотном гидролизе образует агликон с выходом 64%, что свидетельствует о его моногликозидной природе. По данным хроматографии, УФ спектров и сравнение с веществом А агликон является кемпферолом. Методом бумажной хроматографии в гидролизате после нейтрализации анионитом обнаружено вещество идентичное с D-глюкозой. На основании данных хроматографии, УФ-спектров, результатов кислотного гидролиза вещество В идентифицировано как 5,7,4'-триокси-3-О-β-D-глюкопиранозид.

Вещество Г – ярко-желтые кристаллы, хорошо растворимые в этаноле, метаноле, воде, слабо в ацетоне. Rf значение 0,61 и 0,20 (в системах I и II). УФ спектре (λ_{\max} nm в этаноле): 259, 300, 361; +CH₃COONa: 270, 370; +CH₃COONa+H₃BO₄: 290, 380; +C₂H₅ONa: 280, 410; +AlCl₃: 280, 420; AlCl₃+HCl: 265, 400. Батохромный сдвиг от хлористого алюминия и ацетата натрия указывает на то, что вещество имеет свободные гидроксильные группы в C₅ и C₇ положениях, смешения от ацетата натрия борной кислотой показывает на наличие свободных ОН группы в C_{3'} и C_{4'} положениях. Следовательно, исследуемое вещество имеет замещенную гидроксильную группу в C₃ положении.

При кислотном гидролизе образует агликон (64%), который указывает на монозидную природу гликозида. По данным хроматографии и УФ спектров ионизирующими и комплексообразующими реагентами агликон идентифицирован как кверцетин. При ферментативном гидролизе вещество Б распадается на агликон и D-галактозу, что указывает на β-конфигурацию гликозидной связи.

На основании данных хроматографии, кислотных, ферментативных гидролизом, УФ спектров и сравнение их с литературными (Mabry et al., 1970) и аутентичными образцами вещество Г идентифицировано как 5,7,3',4'-тетраоксифлавоин-3-О-β-D-галактопиранозид (гиперин).

Вещество Д – желтый аморфный порошок, Rf – 0,37 и 0,54 (в системах I и II), УФ спектре α_{\max} nm в метаноле: 258, 300, 356; +CH₃COONa: 271, 385; +CH₃COONa+H₃BO₄: 263, 378; +AlCl₃: 278, 303 пл, 420; AlCl₃+HCl: 271, 299 пл, 400. Спектральные данные указывают на наличие

свободных ОН групп в положениях 5, 7, 3', 4'. При кислотном гидролизе выход агликона (46,8%), который указывает на биозидную природу гликозида. По данным хроматографии, УФ-спектров, сравнением их с аутентичными образцами и литературными данными агликон вещества Д идентифицирован как 3, 5, 7, 3', 4'-пентаоксифлавоон кверцетин. В сахарной части гидролизата обнаружен сахар, идентичный D-глюкозе. На основании хроматографии, УФ-спектров, сравнением их с аутентичными образцами и литературными данными вещество Д идентифицировано как кверцетин-3-рутинозид (рутин) (Mabry et al., 1970, Markhan, 1986, Георгиевский и др., 1988).

Изучение содержания флавоноидов плодов *R. corymbifera* показало, что они не равномерно распределены по частям плода и зависят от местопроизрастания растений. Содержание флавоноидов зависит от места произрастания и высоты местности. Так, плоды растений, произрастающие на окраине леса на высоте 870 м. н.ур.м. содержат 0,72%, среди кустарников 1430 н.ур.м. 0,66%, в открытой местности 1100 н.ур.м. 0,47% флавоноидов. Наибольшее количество флавоноидов накапливаются в плодах растений, произрастающих на среднем горном поясе (1437 м). Около 80% от общего содержания флавоноидов находятся в плодовой мякоти, остальные в семенах. Флавоноиды в плодах шиповника согласно нормативной документации должны достигать 0,44%. Это указывает на то, что плоды *R. corymbifera* соответствуют нормативным стандартам и можно использовать в медицинской практике.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Хромато-спектрофотометрическим методом исследован состав и содержание флавоноидов в зрелых плодах *R. corymbifera* L., произрастающей в Кубинском районе Азербайджана. В составе флавоноидов установлены кверцетин, кемпферол, два производных кверцетина – гиперин, рутин и одно производное кемпферола – кемпферол-3-галактозид. Установлено, что содержание флавоноидов в частях плода распределяется неравномерно и зависит от местопроизрастания растений. Наибольшее количество флавоноидов накапливаются в плодах растений, произрастающих на среднем горном поясе. Все данные о качественном составе и содержании флавоноидов в плодах *R. corymbifera* L. установлены впервые. Результаты о количественном содержании и качественном составе флавоноидов плодов дают возможность использовать их для получения пищевой добавки.

БЛАГОДАРНОСТЬ

Данная работа выполнена при финансовой поддержке Фонда Развития Науки при Президенте Азербайджанской Республики – Грант № EIF-KETPL-2-2015-1(25)-56/42/3

ЛИТЕРАТУРА

- Бандюкова В.А., Шикаренко А.Л. Бандюкова В.А., Шикаренко А.Л.** (1972) Методические рекомендации: Качественный анализ флавоноидов в растительного материала при помощи хроматографии на бумаге. Пятигорск: 23 с.
- Бекетов Е.В., Абрамов А.А., Нестерова О.В., Кондрашев С.В.** (2005) Идентификация и количественная оценка флавоноидов в плодах черемухи обыкновенной. *Вест. Московск. Унив., сер. 2*, **46(№4)**: 259-262.
- Бубенчикова В.И., Дроздова И.Л.** (2002) Разработка показателей качества листьев земляники лесной. *Фармация*, **№6**: 16-18.
- Георгиевский В.П., Рыбаченко А.И., Казаков А.Л.** (1988) Физико-химические и аналитические характеристики флавоноидных соединений. Ростов: 131 с.
- Клышев Л.К., Бандюкова В.А., Алюкина Л.С.** (1978) Флавоноиды растений. Алма-Ата: 220 с.
- Луценко С.В., Фельдман И.Б., Быков В.А.** (2006) Растительные флаволигнины. Биологическая активность и терапевтический потенциал. М.: 236 с.
- Матасова С.Н., Рыжова Г.Л., Дычко К.А.** (1997) Химический состав сухого водного экстракта из широта шиповника. *Хим. Раст. Сырья*, **№2**: 28-31.
- Машковский М.Д.** (2007) Лекарственные средства. М.: 2007, 1200 с.
- Флора Азербайджана** (1955) Баку, **5**: 144-176.
- Bryant E.F.** (1950) A note of the differentiation between flavonoid glycosides and their aglycones. *J. Am. Chem. Soc.*, **39**: 480-491.
- Chen F.Z., Penk S.L., Ding L.S., He Y.H., Wang M.K.** (2001) Chemical constituents from fruits of *Rose davidii*. *Acta Bot. Sin.*, **43**: 101-104.
- Demir F., Özcan M.** (2001) Chemical and technological properties of Rose (*Rose canina* L.) fruits grown wild in Turkey. *J. Food Eng.*, **47(4)**: 333-336.
- Ercisli S.** (2007) Chemical composition of fruits in some rose (*Rosa* spp.) species. *Food Chemistry*, **104(4)**: 1379-1384.
- Harborne J.B., Williams C.A.** (2000) Advances in Flavonoid Research since 1992. *Phytochemistry*, **55**: 481-504

- Kostik V., Baner B.Jn.** (2015) Bioactive compounds of *Rosa canina* L., biotypes from spontaneous Flora of Republic of Macedonia. 2nd Inter. Conf. on Natural Products of Utilization and Safety. Bulgaria: Plovdiv, <http://eprints.ugd.edu.mk> (14025)
- Mabry T.J., Markham K.R., Thomas M.B.** (1970) The systematic identification of flavonoids. Berlin, Heidelberg, New-York: Springer-Verlag, 354 c.
- Markham K.R., Geirger H.H.** (1994) Nuclear magnetic resonance spectroscopy of flavonoid and their glycosides. In: *Hexaduterodimethyl in Sulfoxide (The Flavonoids Advances in Research Science)*. Ed. J.Harborne. Chapman and Hall: 441 p.
- Sina C., Lon T., Violeta N.** (2017) Phenolic acids and flavonoids profiles of extracts from edible wild fruits and their antioxidant properties. *J. Jour. of Food Preperities*, **20 (12)**: 3124-3134.
- Uggla M., Custavsson K., Olsson Me., Nybon H.** (2005) Changes in colour and sugar content in rose hips (*Rosa dumalis* L. and *R. rubiginosa* L.) during ripening. *J. Hort. Sci. Biotec.*, **80**: 204-208.
- Williams C.A., Grayer R.J.** (2004) Anthocyanins and other flavonoids. *Nat. Prod. Rep.*, **21**: 539-573.
- Yashodharam K., Philips J.C., Marsel J., Mahammad A., Satyajit D.S.** (2003) Bioactive flavonoid glycosides from the seeds of *Rosa canina*. *Pharmaceutical Biology*, **41(4)**: 237-242.

***Rosa corymbifera* L. Meyvələrində Flavonoidlərin Miqdarı Və Keyfiyyət Tərkibi**

E.N. Novruzov, L.Ə. Mustafayeva, A.M. Zeynalova

AMEA-nın Botanika İnstitutu

Xromato-spektroskopik metodla Azərbaycanın Quba rayonunda yayılmış *R. corymbifera* L. növünün meyvələrində flavonoidlərin miqdarı və keyfiyyət tərkibi tədqiq edilmişdir. Flavonoidlərin tərkibində kversetin, kempferol, kversetin törəmələri olan hiperin, rutin və kempferol törəməsi olan kempferol-3-qalaktozid müəyyən edilmişdir. Müəyyən edilmişdir ki, flavonoidlərin miqdarı meyvənin müxtəlif hissələrində bərabər paylanmır və bitkinin bitdiyi şəraitdən asılıdır. Orta dağ qurşağından toplanmış meyvələrdə flavonoidin miqdarı artıq olur. Flavonoidlərin miqdarı və keyfiyyət tərkibinə aid alınmış nəticələr *R. corymbifera* növü üçün ilk dəfə müəyyən edilmişdir. Meyvələrdə flavonoidlərinin keyfiyyət və kəmiyyət tərkibinə dair alınmış nəticələr onları qida əlavəsinin alınmasında istifadə etmək üçün imkan verir.

Açar sözlər: *Xromato-spektroskopiya, flavonoidlər, R. corymbifera* L.

Content and Composition of Flavonoids in fruit of *Rosa corymbifera* L.

E.N. Novruzov, L.A. Mustafayeva, A.M. Zeynalova

Institute of Botany, Azerbaijan National Academy of Sciences

The composition and content of flavonoids in ripe fruit of *R. corymbifera* L. grown in the Guba region of Azerbaijan were studied using chromatographo-spectrophotometric method. Flavonoids contain quercetin, kaempferol, two derivatives of quercetin - hyperin, rutin and one kaempferol derivative - kaempferol-3-galactoside. It was established that flavonoids are distributed unevenly in fruit parts and their content depends on the growing place of the plant. The largest number of flavonoids accumulate in the fruits of plants growing in the middle mountain belt. All data on the qualitative composition and content of flavonoids in fruit of *R. corymbifera* L. have been obtained for the first time. The results on the quantitative content and qualitative composition of fruit flavonoids allow using them for the preparation of a food additive.

Keywords: *Chromato-spectrophotometry, flavonoids, R. corymbifera* L.