

ЭКСТРАКТЫ КОЖУРЫ ТЕМНО-СИНИХ ПЛОДОВ СЛИВ: ИДЕНТИФИКАЦИЯ НЕКОТОРЫХ ПРИРОДНЫХ АНТОЦИАНОВ И 3-КОФЕОИЛХИННОЙ КИСЛОТЫ

Я.Ю. Саласина¹, В.И. Дейнека¹, В.Ф. Селеменев², Т.В. Елисеева², В.А. Яловец¹, Д.Н. Блинов¹

¹ФГБОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет»

²ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет»

Поступила в редакцию 20.03.2025 г.

Аннотация. Методом обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии были определены составы набора антоцианов слив, доступных на рынке Белгорода. Установлено, что наборы антоцианов в кожуре плодов двух растений, считающихся прародителями сливы домашней (*Prunus domestica*) – алычи (*P. cerasifera*) красной окраски и терна красной окраски (*P. spinosa*), различаются. В работе использовали хроматографическую колонку 150×4,6 мм SymmetryTMC18, 3,5 мкм, а в качестве подвижных фаз были выбраны смеси ацетонитрила с водой, но подкисленные не обычно используемой муравьиной кислотой при содержании 10 об. %, а 2 об. % ортофосфорной кислотой. Разделение осуществляли при температуре термостата колонок 40 °C. Спектры поглощения антоцианов и кофеоилхинных кислот были записаны в кювете диодно-матричного детектора. Принципиальное отличие антоцианов алычи состоит в биосинтезе характеристического для плодов растений подсемейства яблоневые (Maloideae) цианидин-3-галактозида. В экстракте кожуры плодов терна найдены 3-рутинозиды (основные компоненты) и 3-глюкозиды цианидина и пеонидина. При этом в кожуре плодов слив темно-синей окраски наследуется биосинтез тех же антоцианов, что и в плодах терна, а 3-галактозид цианидина встречается только у некоторых сортов в качестве примеси к основным антоцианам. В кожуре плодов слив красной окраски производные пеонидина практически отсутствуют. Использованный в работе способ ВЭЖХ определения антоцианов удобен также и при определении кофеоилхинных кислот. Так, в плодах алычи обнаружены 3-кофеоилхинная кислота (основная), с примерно вдвое меньшей концентрацией 5-кофеоилхинная кислота и с еще с меньшей концентрацией 4-кофеоилхинная кислота. В плодах терна основной оказалась 5-кофеоилхинная кислота и только небольшие пики 3-кофеоил- и 4-кофеоилхинных кислот. При этом сливы темно-синей окраски наследуют свойства алычи (3-кофеоилхинная кислота является доминирующим компонентом среди исследованных образцов указанного типа). Это позволяет использовать экстракти кожуры плодов сливы домашней в качестве образцов сравнения при идентификации указанных веществ в растительных экстрактах.

Ключевые слова: обращенно-фазовая ВЭЖХ, кожура сливы домашней, 3-рутинозиды, 3-глюкозиды, производные пеонидина, производные цианидина, 3-кофеоилхинная кислота.

Возникшая в последнее время проблема стандартных веществ, производство которых большей частью было организовано в Западных странах, является серьезным вызовом для аналитической химии биологически активных соединений в России. Поэтому интерес представляют способы решения данной проблемы. Одним из вариантов решения на качественном уровне может быть приготовление экстрактов растений, видовой состав которых был определен ранее набором соот-

ветствующих способов, при условии, что он слабо зависит от сорта и условий выращивания. Так, при определении антоцианов в качестве своеобразных «стандартных» наборов антоцианов могут быть использованы легко доступные в течение круглого года плоды черной смородины [1] или винограда [2]. Кроме того, в работе [3] отмечалось, что существует путаница в названии кофеоилхинных кислот вследствие двух направлений нумерации атомов углерода в циклогексановом кольце хинной кислоты несмотря на то, что существуют четкие рекомендации ИЮПАК по номенклатуре этих соединений [4]. В этом отношении желатель-

© Саласина Я.Ю., Дейнека В.И., Селеменев В.Ф., Елисеева Т.В., Яловец В.А., Блинов Д.Н., 2025

но иметь надежные растительные источники как 3-кофеоилхинной (неохлорогеновой), так и 5-кофеоилхинной (просто хлорогеновой) кислот.

Плоды сливы домашней (*Prunus domestica*, European plum) относятся к числу популярных фруктов во всем мире. Основные десять производителей плодов сливы на мировом рынке это: Чили (26,81%), Испания (13,35%), Гонконг (12,70%), ЮАР (8,48%), Китай (6,03%), США 5,33%), Италия (5,01%), Нидерланды (4,61%), Молдова (3,79%), Турция (2,68%) (<https://www.tridge.com/intelligences/plum>). Значимость сливы для здоровья человека объясняется высокой антиоксидантной активностью благодаря биосинтезу фенольных соединений, среди которых хлорогеновые кислоты и (для окрашенных в цвета от красного до темно-синего) антоцианы [5].

При анализе фенольных соединений пяти сортов сливы домашней (США, Калифорния, [6]) было установлено, что антоцианы синтезируются практически полностью в кожуре плодов. При этом в кожуре плодов четырех сортов с различной интенсивностью окраски накопление антоцианов варьируется от 129 до 1614 мг на 1 кг. Цианидин-3-глюкозид (Cy3Glu) идентифицируется как основной компонент (от 61 до 95 %); уровень накопления цианидин-3-рутинозида (Cy3Rut) составляет от 3,8 до 35 %. В трех сортах обнаружено небольшое количество антоциана, предположительно являющегося цианидин-3-ацетилглюкозидом (Cy3AcGlu) (от 0,6 до 6,3 %), и в одном из сортов – 1,5 % цианидин-3-галактозида (Cy3Gala). Отмечается также, что гликозиды кверцетина обнаруживаются в кожуре, но различие в уровне их накопления не столь велико, как в случае антоцианов (от 186 до 352 мг на 1 кг). В мякоти плодов содержится большое количество флаван-3-олов в виде димерных и тримерных процианидинов, хотя их концентрация в кожуре в несколько раз выше, чем в мякоти. Характеристической особенностью исследованных сортов является накопление 3-кофеоилхинной кислоты (3CQA) при том, что концентрация 5-кофеоилхинной кислоты (5CQA) оказывается существенно меньше (более чем на порядок). Концентрация этих кислот также примерно в 2,5 раза выше в кожуре, чем в мякоти (в одном из сортов – в 8 раз выше).

В другой работе [7] исследовали 11 сортов сливы домашней в другом штате (США, Нью Йорк) после лиофилизации и размалывания продукта в порошок. Из исследованных сортов окрашенными (с суммарным уровнем накопления антоцианов от

18 до 43 мг на 100 г) были плоды девяти сортов. При этом антоциановый состав существенно отличался от найденного в работе [6]. Основным оказался Cy3Rut (от 55 до 77 % от суммы антоцианов); доля Cy3Glu составила от 8,8 до 31,5 %, и появился пеонидин-3-рутинозид (Pn3Rut) – от 6,2 до 28 % в различных образцах, что превышает содержание Cy3Glu в некоторых из них. В двух сортах был обнаружен пеонидин-3-глюкозид (2,6 и 4,1 %) и в одном сорте 10,1 % Cy3Gala. При этом, во всех образцах основным производным кверцетина оказался рутин (от 2,8 до 6,7 мг на 100 г), среди фенольных кислот основной оказалась 3CQA (от 18,1 до 215,4 мг на 100 г), а концентрация 5CQA обычно была на порядок меньше.

При анализе плодов шести сортов слив, выращенных в Норвегии [8], фенольные соединения экстрагировали из плодов подкисленным трифторуксусной кислотой (0,5 %) метанолом. В экстрактах всех шести сортов концентрация Cy3Rut (от 0,29 до 6,38 мг на 100 г) была примерно вдвое больше, чем концентрация Cy3Glu. Заметно меньшей (в четырех сортах) была концентрация Pn3Rut (от 0 до 0,16 мг на 100 г). В еще меньших количествах (в трех сортах) был обнаружен пеонидин-3-глюкозид (Pn3Glu) (от 0 до 0,05 мг на 100 г). В одном из сортов концентрация Pn3Glu оказалась больше, чем концентрация Pn3Rut. При этом в плодах, выращенных в различные годы, соотношение между четырьмя антоциановыми компонентами заметно изменялось. Например, для сорта Avalon соотношение концентраций в ряду Gy3Glu:Cy3Rut:Pn3Glu:Pn3Rut изменялось от 0,50:1,15:0,02:0,05 до 0,60:0,71:0,02:0,05; для сорта Excalibur, в котором производные пеонидина не обнаруживались, соотношение концентраций в ряду Gy3Glu:Cy3Rut изменялось от 0,15:0,29 до 0,28:0,23. Таким образом, соотношение между концентрациями глюкозидов и рутинозидов может изменяться. Следовательно, активность рамнозилтрансферазы, отвечающей за степень превращения глюкозидов в рутинозиды, может зависеть от условий выращивания одного и того же сорта. Среди фенольных кислот основной является также 3CQA, но в работе кроме остальных изомеров этой кислоты обнаружено небольшое количество *пара*-кумароильных производных. Хотя между уровнем накопления этих кислот и антоцианов нет корреляции, наибольшую концентрацию кислот нашли для сорта с самой большой суммарной концентрацией антоцианов (173 и 10,73 мг на 100 г, соответственно). Существенно больший уровень накопления

фенольных кислот по сравнению с антоцианами во всех исследованных сортах сливы отвечает за рост антиоксидантных свойств экстрактов.

О происхождении сливы домашней нет единого мнения, но можно найти информацию [9] о том, что она могла быть получена в результате скрещивания терна и алычи около двух тысяч лет назад. В этом отношении можно оценить применимость такой гипотезы по наследованию синтеза антоцианов и фенольных кислот в плодах растений, что и стало одной из задач настоящего исследования.

Цель настоящей работы – оценка возможности использования сливы как доступного источника 3-рутинозидов и 3-глюкозид цианидина и пеонидина, а также 3-кофеоилхинной кислоты.

МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

Образцы плодов растений приобретали на рынке Белгорода, образец терна – местного выращивания. От плодов отделяли кожуру и экстрагировали антоцианы и фенольные кислоты настаиванием кожуры в 0,1 М водном растворе соляной кислоты, оставляя смесь на ночь при комнатной температуре. Через 24 часа экстракт отделяли от смеси фильтрованием через бумажный фильтр. Перед хроматографированием образцы очищали методом твердофазной экстракции на патронах ДИАПАК C18 (БиоХимМак СТ, Москва).

Хроматографические исследования выполняли на приборе Agilent Infinity 1260, с автоматическим дозатором проб и диодно-матричным детектором, позволяющим записывать электронные спектры поглощения разделенных веществ непосредственно в кювете детектора. В работе использовали хроматографическую колонку 150×4,6 мм SymmetryTMC18, 3,5 мкм. Подвижными фазами были выбраны смеси ацетонитрила с водой, подкисленные 2 об. % ортофосфорной кислоты. Разделение осуществляли при температуре термостата колонок 40°C. Спектры поглощения антоцианов и кофеоилхинных кислот были записаны в кювете диодно-матричного детектора.

Подкисление подвижной фазы необходимо было, прежде всего, для детектирования антоцианов, которые могут находиться в растворах в ряде форм, из которых только окрашенная в красный цвет с различными (зависящими от строения антоциана) оттенками flavилиевая форма (I, рис. 1) детектируется на фоне сопутствующих неокрашенных экстрактивных веществ. Известно [10], что антоцианы в этой форме на 100% находятся только при pH менее 1. Но в таких условиях обыч-

ные обращенные стационарные фазы не устойчивы, поэтому реально используют стационарные фазы с pH около 1,5, при которых flavилиевая форма сохраняется более, чем на 95%, превращаясь при дальнейшем росте pH в неокрашенную форму псевдооснования [10] (или полукетальную форму II, рис. 1). Предложенное в работе подкисление ортофосфорной кислотой обеспечивает pH даже меньше, чем 1,5, но тест показывает, что при работе в течение 6 ч изменения в удерживающейся способности стационарной фазы не превышают 1 %. В принципе, возможен и процесс отщепления протона с образованием хиноидных структур (III и IV, рис. 1), но этот процесс начинается при pH около 4.

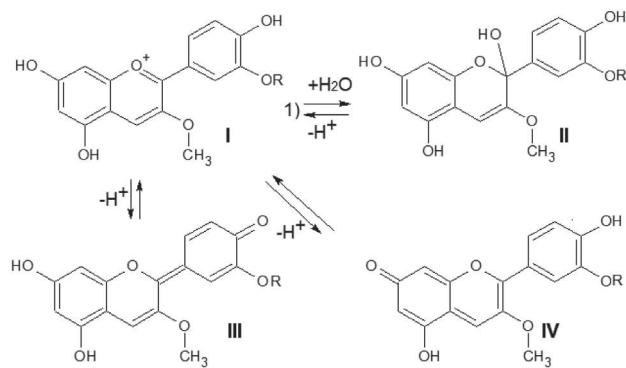


Рис. 1. Четыре формы антоцианов: I – flavилиевая; II – псевдооснование; две незаряженные хиноидные формы – III и IV. 1) – реакция гидратации

Кислотность подвижной фазы принципиально важна при разделении веществ, способных к ионизации, не только вследствие изменения параметров электронных спектров поглощения [11-14]; при этом изменяется и гидрофобность, а с ней и удерживание ионизируемых соединений. Разумеется, pH имеет значение и для удерживания кофеоилхинных кислот.

Диаграмма распределения форм хлорогеновых кислот (на примере 5-кофеоилхинной) была рассчитана с использованием значений $pK_{a(i)}$ функциональных групп в молекуле в программе MarvinSketch [14] и приведена на рис. 2. Компьютерная программа превосходно предсказывает константу ионизации карбоксильной группы, совпадающую с экспериментальными данными, полученными в работе [15]. Следовательно, при избранном pH диссоциация хлорогеновых кислот полностью подавлена, обеспечивая наибольшее удерживание в условиях обращенно-фазовой хроматографии.

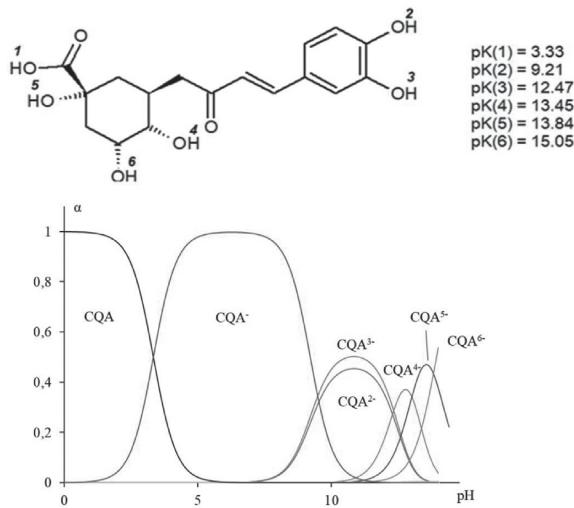


Рис. 2. Диаграмма распределения форм 5-кофеолхиновой кислоты (CQA) в зависимости от pH

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

На рис. 3 представлены хроматограммы экстрактов одного из образцов алычи и одного (местного) образца терна. Различия в антоциановом составе исследованных экстрактов очевидны. В единственном представителе плодов косточковых – алыче (*Prunus cerasifera*) кроме характеристических для всех косточковых Cy3Glu и Cy3Rut [9] обнаруживается характеристический для плодов семечковых [16] цианидин-3-галактозид (Cy3Gala). В плодах терна (*Prunus spinosa*) кроме 3-глюкозида и 3-рутинозида цианидина синтезируются аналогичные производные пеонидина (Pn3Glu и Pn3Rut), что свидетельствует о появлении фермента, отвечающего за перенос метильной группы (метилтрансферазы). Впрочем, Pn3Glu синтезируется в малых количествах, поэтому для некоторых сортов сливы он не указывается вообще.

Хроматограммы антоцианов кожуры образцов слив, приобретенных на рынке Белгорода, приведены на рис. 4. Полученные результаты в целом согласуются с литературными данными, что хорошо для использования кожуры плодов слив в качестве источников своеобразных стандартов антоцианов. Однако в ходе исследований было установлено, что при красной окраске плодов антоцианы кожуры включают только пару Cy3Glu и Cy3Rut. Но в экстрактах кожуры плодов с темно-синей окраской всегда наблюдается пара Cy3Rut и Pn3Rut при обычно меньшем содержании 3-глюкозидов. Цианидин-3-галактозид за исключением одного образца сливы (из Краснодара), в котором доля Cy3Gala составила около 16 %, если и обнаруживается, то только в следовых количествах,

следовательно, этот признак алычи гибриду редко передается.

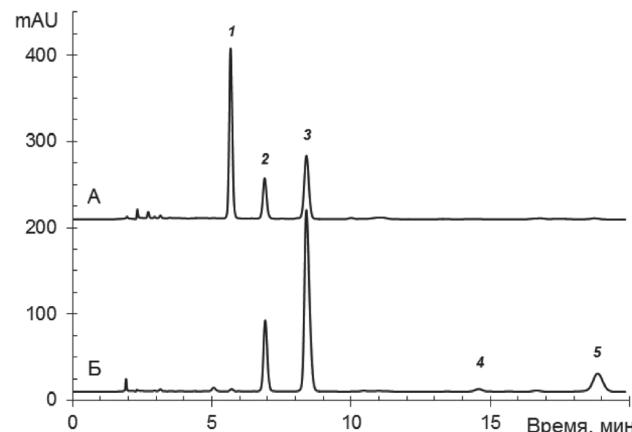


Рис. 3. Разделение антоцианов плодов алычи (А) и терна (Б). Колонка: 150×4,6 мм SymmetryTMC18, 3,5 μ m, подвижная фаза 11 об. % CH_3CN , 2 об. % H_3PO_4 в воде, 0,8 мл/мин, 40°C; λ_{det} 515 нм. Вещества: 1 – цианидин-3-галактозид, 2 – цианидин-3-глюкозид, 3 – цианидин-3-рутинозид; 4 – пеонидин-3-глюкозид, 5 – пеонидин-3-рутинозид.

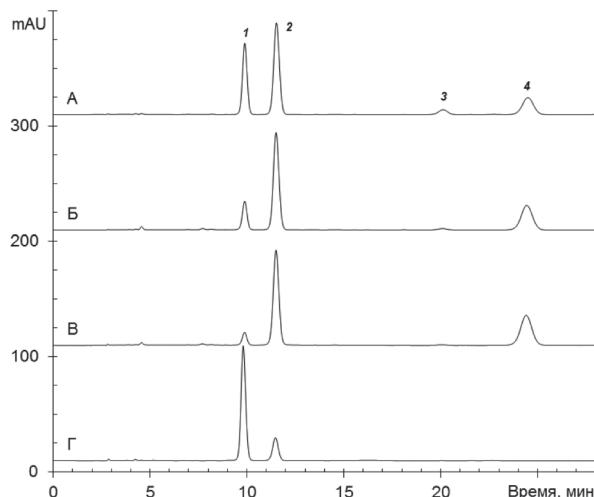


Рис. 4. Разделение антоцианов кожуры плодов слив синего цвета (А-Б) и красного цвета (Г). Колонка: 150×4,6 мм SymmetryTMC18, 3,5 μ m, подвижная фаза 10 об. % CH_3CN , 2 об. % H_3PO_4 в воде, 0,8 мл/мин, 40°C; λ_{det} 515 нм. Вещества: 1 – цианидин-3-глюкозид, 2 – цианидин-3-рутинозид; 3 – пеонидин-3-глюкозид, 4 – пеонидин-3-рутинозид.

Следует отметить, что электронные спектры однотипных гликозидов цианидина и пеонидина практически неразличимы в условиях проведенных экспериментов (рис. 5), хотя в знаменитой, часто цитируемой статье Харборна [17] при записи спектров в метаноле спектры этих соединений

различались. Отметим, что аналитически важная полоса поглощения около 515 нм обнаруженных в сливах антоцианов обусловлена в основном $n \rightarrow \pi^*$, что вытекает из квантово-химических расчетов [18]. При этом благодаря сольватохромным эффектам эта полоса поглощения 3-рутинозидов батохромно смещена на $\sim 1,5$ нм относительно полосы 3-глюкозидов, что является важной аналитической чертой изменения строения антоцианов.

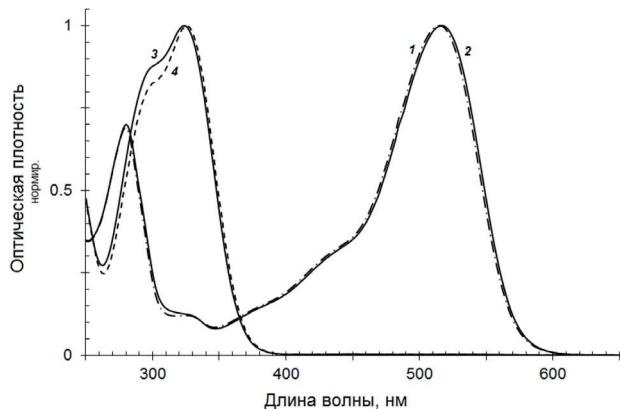


Рис. 5. Нормированные спектры поглощения: 1 – цианидин-3-глюкозида; 2 – цианидин-3-рутинозида; 3 – 3-кофеоилхинная кислота; 4 – 5-кофеоилхинная кислота. Растворитель: 10 об. % CH_3CN , 2 об. % H_3PO_4 в воде.

Таким образом, по окраске можно выбрать плоды сливы для приготовления экстрактов, содержащих 3-рутинозиды и в меньшем количестве 3-глюкозиды цианидина и пеонидина. Кроме того, по данным наших многолетних исследований, лепестки темно-красных цветков пиона, популярного садового растения, являются прекрасным источником пеонидин-3,5-дигликозида [19], а пеонидин-3-галактозид и пеонидин-3-арабинозид с небольшим количеством 3-глюкозида и аналогичных гликозидов цианидина содержатся в плодах клюквы [20-21]. Важно также и то, что эти растительные источники не являются экзотическими в России, поэтому легкодоступны для исследователей.

На рис. 6 представлены хроматограммы образцов экстрактов кожуры алычи и терна, записанные при длине волны 325 нм, которая характеризует $\pi \rightarrow \pi^*$ переходы в ароматической системе или $n \rightarrow \pi$ в $\text{C}=\text{O}$ [22], что используется для детектирования хлорогеновых кислот. Это важно, поскольку у хлорогеновых кислот (производных кофейной кислоты) имеется две гидроксильные группы в орто-положении друг к другу, что обе-

спечивает высокую антиоксидантную активность этим соединениям [23]. Кроме того, одновременное определение антоцианов и хлорогеновых кислот было эффективно использовано для хемосистематики по плодам аронии [24].

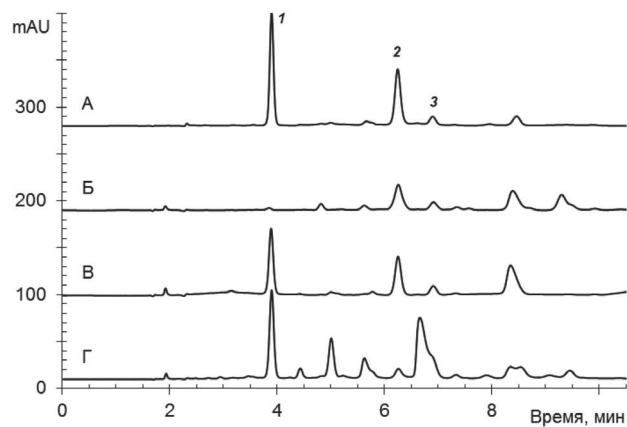


Рис. 6. Разделение хлорогеновых кислот экстрактов кожуры алычи (А) и терна (Б) и двух сортов сливы темно-синей окраски (В и Г). Колонка: 150×4,6 мм SymmetryTMC18, 3,5 μm , подвижная фаза 11 об. % CH_3CN , 2 об. % H_3PO_4 в воде, 0,8 мл/мин, 40°C; λ_{det} 325 нм. Вещества: 1 – 3-кофеоилхинная кислота; 2 – 5-кофеоилхинная кислота; 3 – 4-кофеоилхинная кислота.

По представленным данным в кожуре плодов алычи синтезируется характеристическая для плодов растений подсемейства *Prunoideae* 3-кофеоилхинная кислота [25-27]. В сопоставимых количествах обнаружена также характерная для плодов растений *Maloideae* того же семейства *Rosaceae* 5-кофеоилхинная кислота. В кожуре терна 3-кофеоилхинная кислота присутствует в небольшом (по соотношению площадей пиков антоцианов и соответствующих кислот) количестве, уступая по уровню накопления 5-кофеоилхинной кислоте. В экстракте кожуры сливы с темно-синей (но не с красной) окраской 3-кофеоилхинная кислота является доминирующей кислотой, причем это относится не только к экстрактам кожуры, но и к экстрактам мякоти плодов. При идентификации этой кислоты нужно использовать электронный спектр поглощения, мало отличающийся от спектра 5-кофеоилхинной кислоты, наряду с тем, что ее удерживание существенно (примерно в полтора раза) ниже, чем 5-кофеоилхинной кислоты.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Кожура сливы темно-синего цвета вне зависимости от сорта и места произрастания растений

является источником 3-рутинозидов и 3-глюкозидов пеонидина и цианидина, а также 3-кофеоилхинной кислоты. Это позволяет использовать экстракты таких доступных растительных источников для идентификации указанных соединений в сложных смесях на качественном уровне.

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования РФ в рамках государственного задания ВУЗам в сфере научной деятельности на 2023-2025 годы, проект FZGU-2023-0009.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Дейнека Л.А. ВЭЖХ в контроле антоцианового состава плодов черной смородины / Л.А. Дейнека, Е.И. Шапошник, Д.А. Гостищев, В.И. Дейнека, В.Н. Сорокопудов, В.Ф. Селеменев // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2009. – Т. 9. Вып. 4. – С. 529-536.
2. Ходаков И.В. Применение винограда Каберне-совиньон для определения идентификационных характеристик 3-О-глюкозидов антоцианидинов при анализе состава антоцианов в пасте ягод черники / И.В. Ходаков // Химия растительного сырья. – 2014. – №2. – С.147-154.
3. Дейнека В.И. Селективность разделения изомерных хлорогеновых кислот в условиях обращенно-фазовой ВЭЖХ / В.И. Дейнека, Е.Ю. Олейниц, И.П. Блинова, Л.А. Дейнека // Журнал аналитической химии. – 2019. – Т. 74. № 8. – С. 588-594.
4. Kremr D. Unremitting problems with chlorogenic acid nomenclature: a review / D. Kremr, T. Bajer, P. Bajerova, S. Surmova, K. Ventura // Química Nova. – 2016. – Vol. 39. – P. 530-533.
5. Igwe E.O. Systematic Review on the Health Effects of Plums (*Prunus domestica* and *Prunus salicina*) / E.O. Igwe, K.E. Charlton // Phytother. Res. – 2016. – Vol. 30. – P. 701-731.
6. Tomás-Barberán F.A. HPLC-DAD-ESIMS Analysis of Phenolic Compounds in Nectarines, Peaches, and Plums / F.A. Tomás-Barberán, M.I. Gil, P. Cremin, A.L. Waterhouse, B. Hess-Pierce, A.A. Kader // J. Agric. Food Chem. – 2001. – Vol. 49. – P. 4748-4760.
7. Kim D.-O. Quantification of Polyphenolics and Their Antioxidant Capacity in Fresh Plums / D.-O. Kim, O.K. Chun, Y.J. Kim, H.-Y. Moon, C.Y. Lee // J. Agric. Food Chem. – 2003. – Vol. 51. – P. 6509-6515.
8. Slimestad R. Analysis of Phenolic Compounds in Six Norwegian Plum Cultivars (*Prunus domestica* L.) / R. Slimestad, E. Vangdal, C. Brede // J. Agric. Food Chem. – 2009. – Vol. 57. – P. 11370-11375.
9. Fotirić Akšić M. Breakthrough Analysis of Chemical Composition and Applied Chemometrics of European Plum Cultivars Grown in Norway / M. Fotirić Akšić, Ž. Tešć, M. Kalaba, I. Ćirić, L. Pezo, B. Lončar, U. Gašić, B. Dojčinović, T. Tosti, M.O. Meland // Horticulturae. – 2023. – Vol. 9. – 477 p.
10. Mattioli R. Anthocyanins: A Comprehensive Review of Their Chemical Properties and Health Effects on Cardiovascular and Neurodegenerative Diseases / R. Mattioli, A. Franciosi, L. Mosca, P. Silva // Molecules. – 2020. – Vol. 5. – 3809.
11. Беккер Ю. Спектроскопия / Ю. Беккер: Пер. с нем. Р.А. Казанцевой, под ред. А. А. Пупышева, М. В. Поляковой. – Москва: Техносфера, 2009. – 528 с.
12. Казицына Л. А. Применение УФ-, ИК-, ЯМР- и масс-спектроскопии в органической химии. Учебн. пособие для студентов химических специальностей университетов / Л. А. Казицына, Н. Б. Куплетская. – Москва: Издательство Московского университета, 1979. – 236 с.
13. Каррер П. Курс органической химии / П. Каррер. - Ленинград: Химическая литература, 1962. 1216 с.
14. Селеменев В. Ф. Витамины как объекты пищевой химии и фармакологии / В. Ф. Селеменев, Л. В. Рудакова, О. Б. Рудаков, Н. А. Белanova, Н. В. Мироненко. – Воронеж: Изд.-полиграф. центр «Научная книга», 2022. – 212 с.
15. Блинова И.П. Одновременное определение хлорогеновых кислот и кофеина в кофе методом обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии / И.П. Блинова, Е.Ю. Олейниц, Я.Ю. Саласина, В.И. Дейнека, Ань Ву Тхи Нгок, Ань Нгуен Ван // Изв. вузов. Химия и хим. технология. – 2023. – Т. 66. – Вып. 2. – С. 45-52. DOI: 10.6060/ivkkt.20236602.6711.
16. Дейнека В.И. Анализ компонентного состава антоцианов плодов и жирных кислот масел семян некоторых видов семейства Rosaceae методом высокоэффективной жидкостной хроматографии / В.И. Дейнека, А.М. Григорьев, Л.А. Дейнека, А.М. Ермаков, А.А. Сиротин, В.М. Староверов // Растворительные ресурсы. – 2005. – Вып. 1. – С. 91-98.
17. Harborne J.B. Spectral Methods of Characterizing Anthocyanins / J.B. Harborne // Biochem. J. – 1958. – Vol. 70. – P. 22-28.
18. Freitas A.A. A Computational Study of Substituted Flavylium Salts and their Quinonoidal Conjugate Bases: S0 →S1 Electronic Transition, Absolute pKa and Reduction Potential Calculations by DFT and Semiempirical Methods / A.A. Freitas, K. Shimizu, L.G. Dias, F.H. Quin // J. Braz. Chem. Soc. – 2007. – Vol. 18. – No. 8. – P. 1537-1546.

19. Чулков А.Н. Исследование антоциановых комплексов цветков пионов / А.Н. Чулков, Дейнека В.И., М.Ю. Третьяков, Л.А. Дейнека, О.В. Нецветаева // Научные ведомости БелГУ. Серия Естественные науки. – 2011. – № 21 (116). – Выпуск 17. – С. 85-90.
20. Дейнека В.И. Управление селективностью разделения и определение антоцианов плодов растений семейства Vaccinium с применением элюентов состава ацетонитрил-муравьиная кислота-вода / В.И. Дейнека, Е.Ю. Олейниц, Я.Ю. Кульченко, И.П. Блинова, Л.А. Дейнека // Журнал аналитической химии. – 2020. – Т. 75. № 11. – С. 1021-1029.
21. Andersen Ø.M. Anthocyanins in Fruits of Vaccinium oxycoccus L. (Small Cranberry) / Ø.M. Andersen // J. Food Sci. – 2006. – Vol. 54. – P.383-384.
22. Navarra G. Simultaneous Determination of Caffeine and Chlorogenic Acids in Green Coffee by UV/Vis Spectroscopy / G. Navarra, M. Moschetti, V. Guerrasi, M.R. Mangione, V. Militello, M. Leone // J. Chem. – 2017. - Vol. 2017. – Article ID 6435086.
23. Farhoosh R. Structure–antioxidant activity relationships of o-hydroxyl, o-methoxy, and alkyl ester derivatives of p-hydroxybenzoic acid / R. Farhoosh, S. Johnny, M. Asnaashari, N. Molaahmadibahraseman, A. Sharif // Food Chem. – 2016. – Vol. 194. – P. 128-134.
24. Дейнека В.И. Определение антоцианов и хлорогеновых кислот в плодах растений рода арония: опыт хемосистематики / В.И. Дейнека, М.Ю. Третьяков, Е.Ю. Олейниц, А.А. Павлов, Л.А. Дейнека, И.П. Блинова, Л.А. Манохина // Химия растительного сырья. – 2019. – №2. – С. 161-167.
25. Vinholes J. Stone Fruits as a Source of Bioactive Compounds / J. Vinholes, D.P. Gelain, M. Vizzotto / In «Natural Bioactive Compounds from Fruits and Vegetables». Ed. L.R. da Silva and B. Silva. Bentham Science Publishers: Sharjah, UAE. – 2016. – P. 110-142.
26. Chen F.-F. Development of a green two-dimensional HPLC-DAD/ESI-MS method for the determination of anthocyanins from Prunus cerasifera var. atropurpurea leaf and improvement of their stability in energy drinks / F.-F. Chen, J. Sang, Y. Zhang, J. Sang // Int. J. Food Sci. Technol. – 2018. –Vol. 53. – P. 1494-1502.
27. Ternjak T. Morphological Evaluation and Phenolic Content of Wild Prunus cerasifera Ehrh. Fruits from Slovenia / T. Ternjak, J. Kristl, M. Šiško, K. Horvat, V. Sem // Horticulturae. – 2024. – Vol. 10. – P. 1057.

Белгородский государственный национальный исследовательский университет

Саласина Ярослава Юрьевна, кандидат химических наук, доцент кафедры общей химии института фармации, химии и биологии

E-mail: salasina@bsuedu.ru

Дейнека Виктор Иванович, д.х.н., профессор кафедры общей химии института фармации, химии и биологии

E-mail: deineka@bsuedu.ru

Яловец Вера Александровна, студентка 4-го курса института фармации, химии и биологии

E-mail: 1492828@bsuedu.ru

Блинов Дмитрий Николаевич, аспирант института фармации, химии и биологии

E-mail: 1466805@bsuedu.ru

Воронежский государственный университет

Селеменев Владимир Федорович, д.х.н., профессор, профессор кафедры аналитической химии

E-mail: common@chem.vsu.ru

Belgorod State National Research University

Salasina Yaroslava Yu., PhD, Associate Professor of General Chemistry Department of Institute of Pharmacy, Chemistry and Biology

E-mail: salasina@bsuedu.ru

Deineka Viktor I., PhD., DSci, Full Professor of General Chemistry Department of Institute of Pharmacy, Chemistry and Biology

E-mail: deineka@bsuedu.ru

Yalovetz Vera A., student of Institute of Farmacy, Chemistry and Biology

E-mail: 1492828@bsuedu.ru

Blinov Dmitrij N. Postgraduate Student of Institute of Pharmacy, Chemistry and Biology

E-mail: 1466805@bsuedu.ru

Voronezh State University

Sel'men'ev Vladimir F., PhD., DSci, Full Professor of Analytical Chemistry Department,

E-mail: common@chem.vsu.ru

EXTRACTS OF DARK BLUE PLUMS PEEL: IDENTIFICATION OF SOME NATURAL ANTHOCYANINS AND 3-CAFFEOYLQUINIC ACID

Ya.Yu. Salasina¹, V.I. Deineka¹, V.F. Selemenev², T.V. Eliseeva², V.A. Yalovets¹, D.N. Blinov¹

¹Belgorod State National Research University

²Voronezh State University

Abstract. The compositions of anthocyanins in plums available on the Belgorod market were determined using reversed-phase high-performance liquid chromatography. It was found that the sets of anthocyanins in the peel of fruits of two plants considered to be the ancestors of the European plum (*Prunus domestica*) – red cherry plum (*P. cerasifera*) and red sloe (*P. spinosa*) differ. A chromatographic column 150×4,6 mm Symmetry^{TMC}18, 3,5 μm was used in the work, and mixtures of acetonitrile with water were chosen as mobile phases, but acidified not with the commonly used formic acid at a content of 10 vol. %, but with 2 vol. % orthophosphoric acid. Separation was carried out at a column thermostat temperature of 40 °C. The absorption spectra of anthocyanins and caffeoquinic acids were recorded in a diode-matrix detector cuvette. The fundamental difference of cherry plum anthocyanins is the biosynthesis of cyanidin-3-galactoside, which is characteristic of the fruits of the apple subfamily (*Maloideae*). 3-rutinosides (the main components) and 3-glucosides of cyanidin and peonidin were found in the extract of the peel of blackthorn fruits. In this case, the peel of dark blue plums inherits the biosynthesis of the same anthocyanins as in sloe fruits, and 3-galactoside of cyanidin is found only in some varieties as an admixture to the main anthocyanins. In the peel of red plums, peonidin derivatives are practically absent. The HPLC method for determining anthocyanins used in the work is also convenient for determining caffeoquinic acids. Thus, 3-caffeoquinic acid (the main one) was found in cherry plum fruits, with approximately half the concentration of 5-caffeoquinic acid, and with an even lower concentration of 4-caffeoquinic acid. In sloe fruits, 5-caffeoquinic acid turned out to be the main one, and only small peaks of 3-caffeoquinic and 4-caffeoquinic acids were detected. At the same time, dark blue plums inherit the properties of cherry plum (3-caffeoquinic acid is the dominant component among the studied samples of this type). This allows using extracts of the peel of fruits of European plum as reference samples in identifying the indicated substances in plant extracts.

Keywords: reversed-phase HPLC, peel of European plum, 3-rutinosides, 3-glucosides, peonidin derivatives, cyanidin derivatives, 3-caffeoquinic acid.

REFERENCES

1. Deineka L.A. VEZhKh v kontrole antotsianovogo sostava plodov chernoi smorodiny / L.A. Deineka, E.I. Shaposhnik, D.A. Gostishchev, V.I. Deineka, V.N. Sorokopudov, V.F. Selemenev // Sorbtionnye i khromatograficheskie protsessy. – 2009. – T. 9. No. 4. – P. 529-53.
2. Khodakov I.V. Primenenie vinograda Kaberne-sovin'on dlya opredeleniya identifikatsionnykh kharakteristik 3-O-glyukozidov antotsianidinov pri analize sostava antotsianov v paste yagod cherniki / I.V. Khodakov // Khimiya rastitel'nogo syr'ya. – 2014. – №2. – P. 147-154.
3. Deineka V.I. Selektivnost' razdeleniya izomernykh khlorogenovykh kislot v usloviyah obrashchenno-fazovoi VEZhKh / V.I. Deineka, E.Yu. Oleinits, I.P. Blinova, L.A. Deineka // Zhurnal analiticheskoi khimii. – 2019. – T. 74. № 8. – P. 588-594.
4. Kreml D. Unremitting problems with chlorogenic acid nomenclature:a review / D. Kreml, T. Bajer, P. Bajerova, S. Suranova, K. Ventura // Química Nova. – 2016. – Vol. 39. – P. 530-533.
5. Igwe E.O. Systematic Review on the Health Effects of Plums (*Prunus domestica* and *Prunus salicina*) / E.O. Igwe, K.E. Charlton // Phytother. Res. – 2016. – Vol. 30. – P. 701-731.
6. Tomás-Barberán F.A. HPLC-DAD-ESIMS Analysis of Phenolic Compounds in Nectarines, Peaches, and Plums / F.A. Tomás-Barberán, M.I. Gil, P. Cremin, A.L. Waterhouse, B. Hess-Pierce, A.A. Kader // J. Agric. Food Chem. – 2001. – Vol. 49. – P. 4748-4760.
7. Kim D.-O. Quantification of Polyphenolics and Their Antioxidant Capacity in Fresh Plums / D.-O. Kim, O.K. Chun, Y.J. Kim, H.-Y. Moon, C.Y. Lee // J. Agric. Food Chem. – 2003. – Vol. 51. – P. 6509-6515.

8. Slimestad R. Analysis of Phenolic Compounds in Six Norwegian Plum Cultivars (*Prunus domestica* L.) / R. Slimestad, E. Vangdal, C. Brede // *J. Agric. Food Chem.* – 2009. – Vol. 57. – P. 11370-11375
9. Fotirić Akšić M. Breakthrough Analysis of Chemical Composition and Applied Chemometrics of European Plum Cultivars Grown in Norway / M. Fotirić Akšić, Ž. Tešć, M. Kalaba, I. Ćirić, L. Pezo, B. Lončar, U. Gašić, B. Dojčinović, T. Tosti, M.O. Meland // *Horticulturae*. – 2023. – Vol. 9. – 477 p. 10.
- Mattioli R. Anthocyanins: A Comprehensive Review of Their Chemical Properties and Health Effects on Cardiovascular and Neurodegenerative Diseases / R. Mattioli, A. Franciosi, L. Mosca, P. Silva // *Molecules*. – 2020. – Vol. 5. – 3809.
- Bekker Yu. Spektroskopiya / Yu. Bekker: Per. s nem. R.A. Kazantsevoi, pod red. A. A. Pupysheva, M. V. Polyakovoi. – Moskva: Tekhnosfera, 2009. – 528 p.
- Kazitsyna L.A. Primenenie UF-, IK-, YaMR- i mass-spektroskopii v organicheskoi khimii. Uchebn. posobie dlya studentov khimicheskikh spetsial'nostei universitetov / L. A. Kazitsyna, N. B. Kupletskaya. – Moskva: Izdatel'stvo Moskovskogo universiteta, 1979. – 236 p.
- Karrer P. Kurs organicheskoi khimii / P Karrer. Leningrad: Khimicheskaya literatura, 1962. – 1216 p.
- Selemenev V. F. Vitaminy kak ob"ekty pishchevoi khimii i farmakologii / V. F. Selemenev, L. V. Rudakova, O. B. Rudakov, N. A. Belanova, N. V. Mironenko. – Voronezh: Izd.-poligraf. tsentr «Nauchnaya kniga», 2022. – 212 p.
- Blinova I.P. Simultaneous determination of chlorogenic acids and caffeine by reversed-phase HPLC / I.P. Blinova, E.Yu. Oleinits, Ya.Yu. Salasina, V.I. Deineka, Anh Vu Thi Ngoc, Anh Nguyen Van // *ChemChemTech* [Izv. Vyssh. Uchebn. Zaved. Khim. Khim. Tekhnol.]. 2023. - Vol. 66. No. 2. P. 45-52.
- Deineka V.I. Analiz komponentnogo sostava antotsianov plodov i zhirnykh kislot masel semyan nekotorykh vidov semeistva Rosaceae metodom vysokoeffektivnoi zhidkostnoi khromatografii / V.I. Deineka, A.M. Grigor'ev, L.A. Deineka, A.M. Ermakov, A.A. Sirotin, V.M. Staroverov // *Rastitel'nye resursy*. – 2005. – Vyp. 1. – P. 91-98.
- Harborne J.B. Spectral Methods of Characterizing Anthocyanins / J.B. Harborne // *Biochem. J.* – 1958. – Vol. 70. – P. 22-28.
- Freitas A.A. A Computational Study of Substituted Flavylium Salts and their Quinonoidal Conjugate Bases: S0 →S1 Electronic Transition, Absolute pKa and Reduction Potential Calculations by DFT and Semiempirical Methods / A.A. Freitas, K. Shimizu, L.G. Dias, F.H. Quin // *J. Braz. Chem. Soc.* – 2007. – Vol. 18. – No. 8. – P. 1537-1546.
- Chulkov A.N. Study of anthocyanin complexes of peony flowers / A.N. Chulkov, V.I. Dejneka, M.Yu. Tret'yakov, L.A. Dejneka, O.V. Necvetaeva // *Nauchnye vedomosti BelGU. Seriya Estestvennye nauki*. 2011, No. 21 (116), Iss. 17, S. 85-90.
- Deineka V.I. Control of the Selectivity of the Separation of Dicaffeoylquinic Acids in Reversed-Phase Chromatography / V.I. Deineka, E.Yu. Oleinits, A.N. Chulkov, L.A. Deineka // *Journal of Analytical Chemistry*, 2022, Vol. 77, No. 6, pp. 759–765.
- Andersen Ø.M. Anthocyanins in Fruits of *Vaccinium oxycoccus* L. (Small Cranberry) / Ø.M. Andersen // *J. Food Sci.* – 2006. – Vol. 54. – P.383-384.
- Navarra G. Simultaneous Determination of Caffeine and Chlorogenic Acids in Green Coffee by UV/Vis Spectroscopy / G. Navarra, M. Moschetti, V. Guerrasi, M.R. Mangione, V. Militello, M. Leone // *J. Chem.* – 2017. - Vol. 2017. – Article ID 6435086.
- Farhoosh R. Structure–antioxidant activity relationships of o-hydroxyl, o-methoxy, and alkyl ester derivatives of p-hydroxybenzoic acid / R. Farhoosh, S. Johnny, M. Asnaashari, N. Molaahmadibrahaseeman, A. Sharif // *Food Chem.* – 2016. – Vol. 194. – P. 128-134.
- Deineka V.I. Opredelenie antotsianov i khlorogenovykh kislot v plodakh rastenii roda aroniya: opyt khemosistematiiki / V.I. Deineka, M.Yu. Tret'yakov, E.Yu. Oleinits, A.A. Pavlov, L.A. Deineka, I.P. Blinova, L.A. Manokhina // *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*. – 2019. – №2. – S. 161-167.
- Vinholes J. Stone Fruits as a Source of Bioactive Compounds / J. Vinholes, D.P. Gelain, M. Vizzotto / In «Natural Bioactive Compounds from Fruits and Vegetables». Ed. L.R. da Silva and B. Silva. Bentham Science Publishers: Sharjah, UAE. – 2016. – P. 110-142.
- Chen F.-F. Development of a green two-dimensional HPLC-DAD/ESI-MS method for the determination of anthocyanins from *Prunus cerasifera* var. *atropurpurea* leaf and improvement of their stability in energy drinks / F.-F. Chen, J. Sang, Y. Zhang, J. Sang // *Int. J. Food Sci. Technol.* – 2018. – Vol. 53. – P. 1494-1502.
- Ternjak T. Morphological Evaluation and Phenolic Content of Wild *Prunus cerasifera* Ehrh. Fruits from Slovenia / T. Ternjak, J. Kristl, M. Šiško, K. Horvat, V. Sem // *Horticulturae*. – 2024. – Vol. 10. – P. 1057. doi.org/10.3390/horticulturae10101057.