

# BADANIA ZWIĄZKÓW BIOLOGICZNIE CZYNNYCH W PESTKACH *RUBUS OCCIDENTALIS* L.



Adamczuk Natalia, Migas Piotr, Godlewska Sylwia, Krauze-Baranowska Mirosława

Katedra i Zakład Farmakognozji z Ogrodem Roślin Leczniczych, Wydział Farmaceutyczny z OML, Gdański Uniwersytet Medyczny

## WPROWADZENIE



Owoce maliny czarnej (*Rubus occidentalis* L.) są bogatym źródłem metabolitów o aktywności antyoksydacyjnej, przeciwzapalnej i przeciwnowotworowej. Surowcem odpadowym otrzymywanym przy produkcji soków z owoców, pozostają pestki maliny czarnej. Skład chemiczny pestek nie jest znany, w przeciwieństwie do pestek maliny właściwej *Rubus idaeus*, które zawierają głównie elagotanniny.

Celem badań było rozpoznanie metodami chromatograficznymi składu chemicznego pestek maliny czarnej odmiany 'Bristol'.

Ekstrakcja w aparacie Soxhleta

Ekstrakcja ciec-ciecz

Próbka do analizy

## EKSTRAKCJA MATERIAŁU ROŚLINNEGO

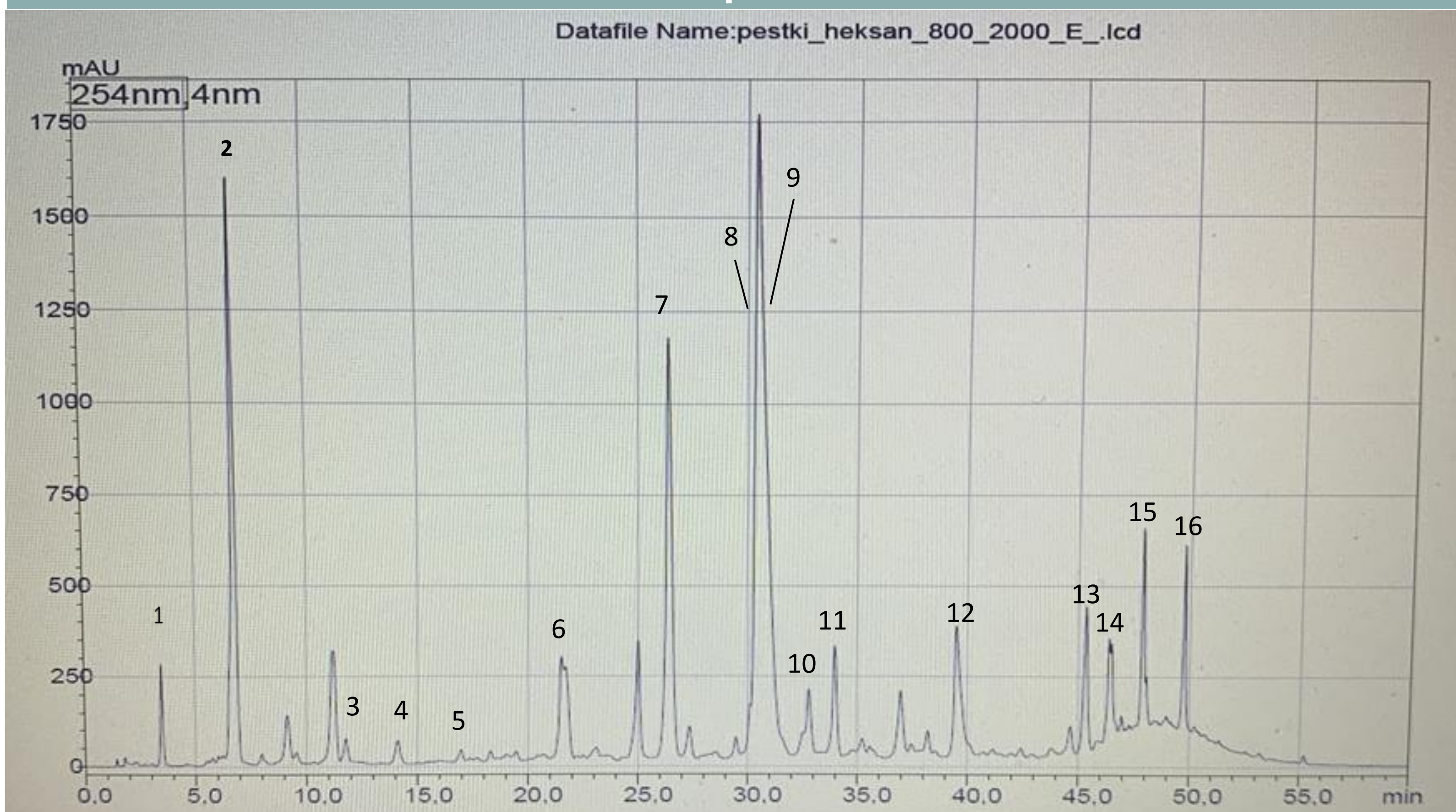
- Wstępne oczyszczanie heksanem zliofilizowanych pestek
- Ekstrakcja metanolem

- Odparowanie metanolu i rozpuszczenie pozostałości w wodzie
- Wytrąsanie frakcji wodnej z octanem etylu

- Odparowanie rozpuszczalnika
- Rozpuszczenie pozostałości metanolu (1,5ml)

## ANALIZA JAKOŚCIOWA SKŁADU CHEMICZNEGO PESTEK *RUBUS OCCIDENTALIS*

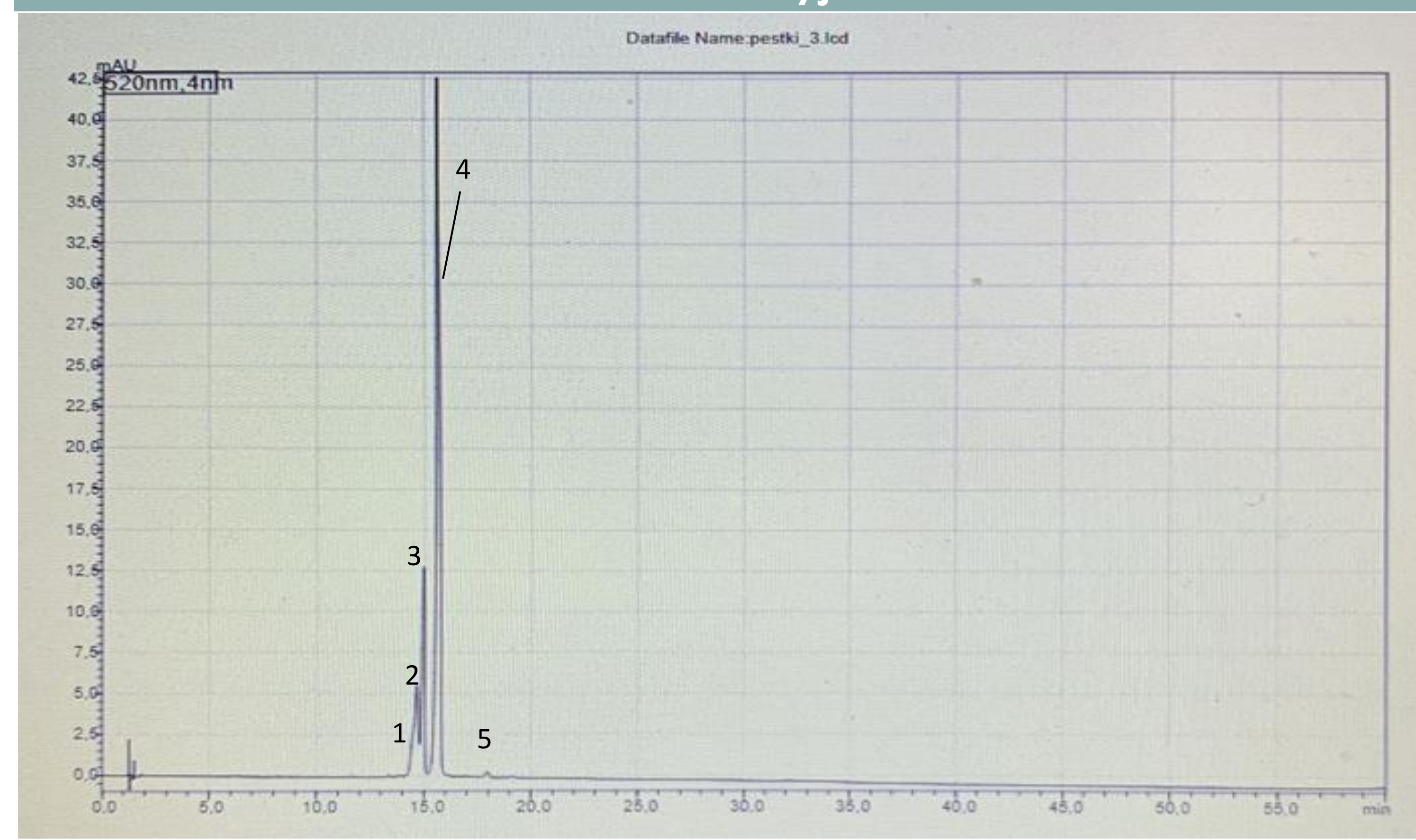
### Analiza polifenoli



Chromatogram HPLC-DAD-ESI-MS wyciągu metanolowego z pestek czarnej maliny. Kolumna Discovery HS C-18 (150x2,1x3 μm), program gradientu: 0,1 min-10% B, 42 min- 43%, 52 min- 100%B, 59 min-100% B: A- 0,1% HCOOH, B- 0,1% HCOOH:ACN (50:50 v/v),  $t_G$  -52 min, T-20°C, v-0,3 ml, objętość próbki 2 μl, UV- 254 nm

L.p.	Nazwa związku	[M+H] <sup>+</sup> /[M+H] <sup>-</sup>
1.	Kwas galusowy	171 <sup>+</sup>
2.	Kwas protokatechowy	155 <sup>+</sup>
3.	Procyjanidyna B1	579 <sup>+</sup>
4.	Katechina	291 <sup>+</sup>
5.	Procyjanidyna B2	579 <sup>+</sup>
6.	Epikatechina	291 <sup>+</sup>
7.	Sangwina H6	935, 1869 <sup>-</sup>
8.	Kwas elagowy	301 <sup>-</sup>
9.	Hiperozyd	465 <sup>+</sup>
10.	Izokwercetyna	465 <sup>+</sup>
11.	3-O-glukuronid kwercetyny	479 <sup>+</sup>
12.	3-O-glukuronid kemferolu	463 <sup>+</sup>
13.	Mirycetyna	319 <sup>+</sup>
14.	Kwercetyna	303 <sup>+</sup>
15.	Tilirozyd	595 <sup>+</sup>
16.	Kemferol	287 <sup>+</sup>

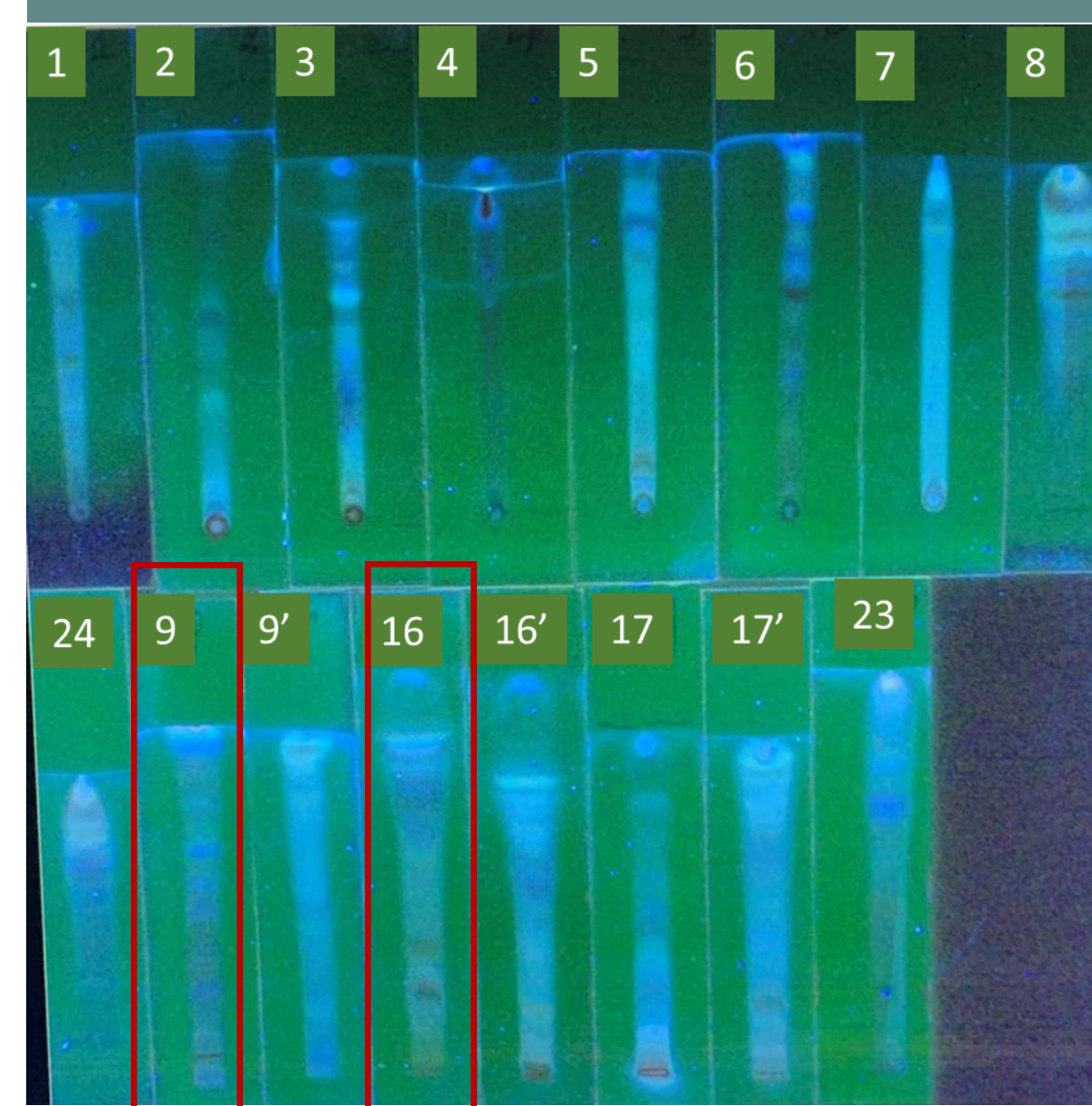
### Analiza antocyjanów



Chromatogram HPLC-DAD-ESI-MS zakwaszonego wyciągu metanolowego z pestek czarnej maliny. Kolumna Discovery HS C-18 (150x2,1x3 μm), program gradientu: 0 min-12% B, 10 min- 20%, 30 min- 43%B, 40 min-100% B: A- 0,1% HCOOH, B- 0,1% HCOOH:ACN (50:50 v/v),  $t_G$  -40 min, T-32°C, v-0,3 ml, objętość próbki 2 μl, UV- 520 nm

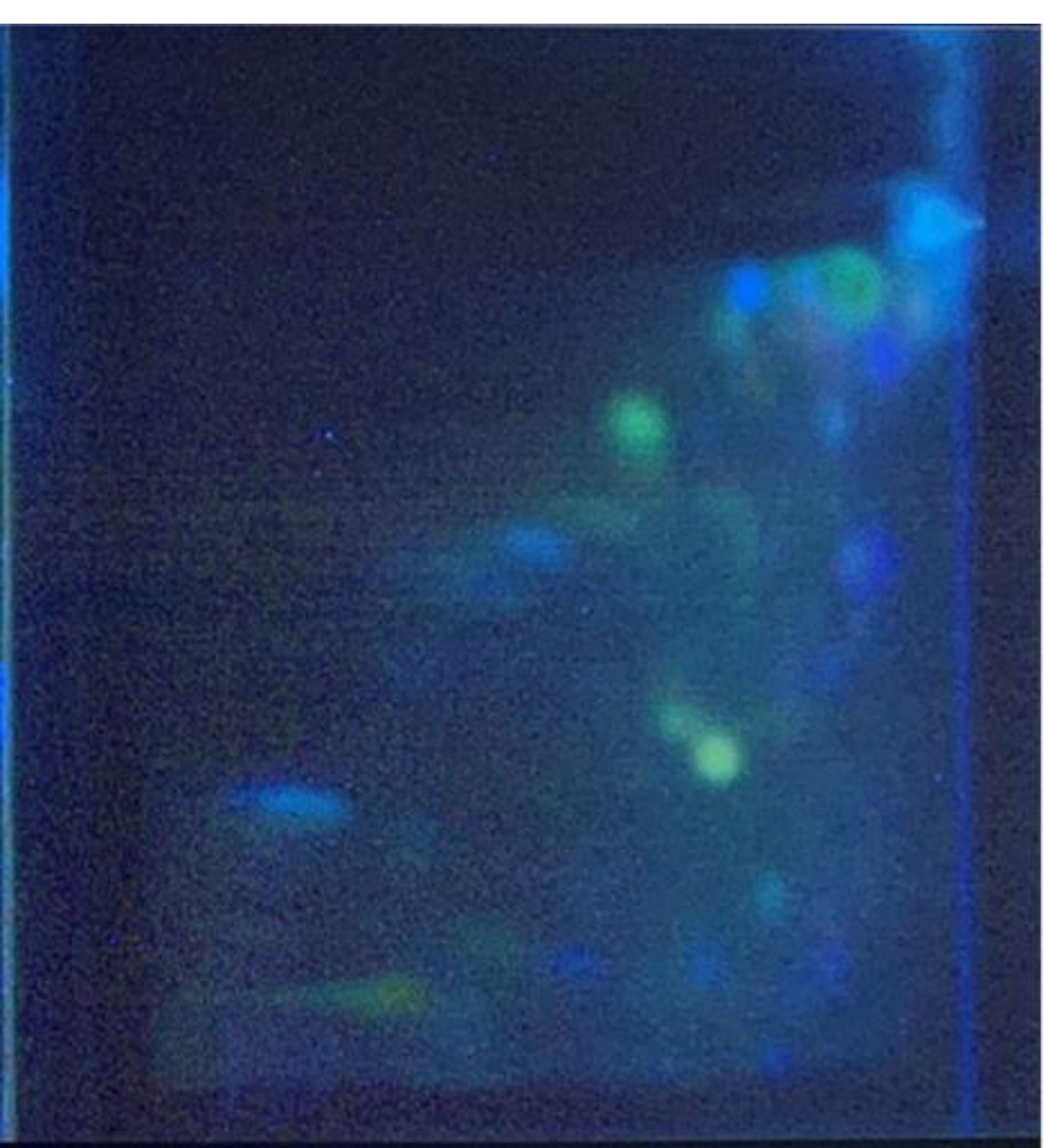
L.p.	Nazwa związku	[M+H] <sup>+</sup> /[M+H] <sup>-</sup>
1.	3-O-sambubiozyd cyjanidyny	581 <sup>+</sup>
2.	3-O-glukozyd cyjanidyny	449 <sup>+</sup>
3.	3-O-ksylozylrutynozyd cyjanidyny	727 <sup>+</sup>
4.	3-O-rutynozyd cyjanidyny	595 <sup>+</sup>
5.	3-O-rutynozyd pelargonidyny	579 <sup>+</sup>

## OPTIMALIZACJA WARUNKÓW ROZDZIELENIA POLIFENOLI



Fazy ruchome	Rozpuszczalniki	Stosunek objętościowy
1.	octan etylu : kwas mrówkowy : kwas octowy : woda	100 : 11 : 11 : 26
2.	kwas mrówkowy : kwas octowy : heksan	14 : 5 : 31
3.	kwas mrówkowy : chloroform : metanol	2,5 : 44 : 3,5
4.	octan etylu : woda : chloroform : metanol	40 : 10 : 20 : 22
5.	octan etylu : woda : chloroform : metanol	52 : 3 : 16,2 : 18,8
6.	woda : chloroform : metanol	1 : 23 : 8
7.	kwas octowy : woda : n-butanol	5 : 5 : 36
8.	octan etylu : kwas mrówkowy : woda : n-butanol	5 : 1 : 1 : 3
9.	octan etylu : woda : izopropanol	100 : 13 : 17
9'.	octan etylu : kwas mrówkowy : izopropanol	100 : 13 : 17
16.	kwas mrówkowy : chloroform : dimetyloketon	17 : 50 : 33
16'.	kwas mrówkowy : chloroform : dimetyloketon	20:63:17
17.	aceton: chloroform: octan etylu	4:5:1
17'.	aceton: chloroform: octan etylu : kwas mrówkowy	4:4:1:1
23.	octan etylu : woda : kwas octowy : kwas mrówkowy	100:26:11:11
24.	Octan etylu : metanol : woda	100:13,5:10

## ANALIZA 2D TLC ZWIĄZKÓW POLIFENOLOWYCH OBECNYCH W PESTKACH *R. OCCIDENTALIS*



Chromatogram TLC :UV - 366 nm

Chromatogram TLC : odczynnik wywołujący NPR

Chromatogram TLC : odczynnik wywołujący PEG

Chromatogram 2D TLC polifenoli z wyciągu metanolowego z pestek czarnej maliny *Rubus occidentalis*; adsorbent: żel krzemionkowy TLC Silica Gel 60 ; fazy ruchome: I kierunek: octan etylu : woda : izopropanol (100 : 13 : 17 v/v/v) , II kierunek: kwas mrówkowy : chloroform : dimetyloketon (17 : 50 : 33 v/v/v), UV - 366 nm

## PODSUMOWANIE

Przeprowadzono analizę jakościową związków biologicznie czynnych obecnych w pestkach *Rubus occidentalis*. W oparciu o otrzymane dane chromatograficzne (wartości  $R_F$ ,  $t_R$ , widma UV i ESI-MS) w badanym materiale ujawniono obecność zespołu antocyjanów – pochodnych cyjanidyny i pelargonidyny, flawonoidów – pochodnych kwercetyny i kemferolu, kwasów fenolowych – pochodnych kwasu cynamonowego i elagotannin, w tym sangwiny H-6. Przeprowadzone badania chromatograficzne w zakresie jakościowym ujawniły, że pestki maliny czarnej mogą być cennym surowcem roślinnym bogatym w związki polifenolowe.