

УДК 615.322

Студ. Д.В. Севко; асп. Н.Ю. Адамцевич  
Науч. рук. доц. О.С. Игнатовец, ст. науч. сотр. Е.В. Феськова  
(кафедра биотехнологии, БГТУ)

### ПОДБОР УСЛОВИЙ ЭКСТРАКЦИИ ФИСЕТИНА

**Введение.** В последнее время большое внимание уделяется использованию натуральных веществ, содержащихся в овощах, фруктах, лекарственных растениях, в качестве профилактических и терапевтических средств. Одной из наиболее изученных групп биологически активных веществ растительного происхождения являются флавоноиды. Отдельный интерес представляют флавоноиды, способные стимулировать процессы регенерации поврежденных тканей организма. Известно, что в стимуляции регенерации нервной ткани принимают участие флавоноиды фисетин, кемпферол (и его гликозиды) и изокверцитрин [1].

Фисетин (3,3',4',7-тетрагидроксифлавоон) ( $C_{15}H_{10}O_6$ ) присутствует во многих растениях, придавая им окраску желтого или красновато-желтого цвета [2]. Он содержится в овощах (томат, лук, огурец), фруктах (яблоко, хурма, персик), деревьях из родов Гледичия, Скумпия и из семейства Вересковые. Наибольшая концентрация фисетина была обнаружена в ягодах клубники (160 мкг/г) [3].

Обнаружено, что данный флавоноид обладает высокой антиоксидантной способностью, антиканцерогенными свойствами в отношении нескольких видов рака, проявляет противовоспалительное и антиаллергическое действия [2, 3].

Целью данной работы являлось выделение фисетина из растительного сырья, а также его идентификация с помощью метода тонкослойной хроматографии (ТСХ). В качестве объектов исследования использовали плоды хурмы, лука, яблок; ягоды клубники и лесной земляники; цветки душицы и календулы.

**Экспериментальная часть.** Для экстракции фисетина использовали цветки душицы и календулы, высушенные при комнатной температуре в защищенном от света месте, и лиофилизированные плоды хурмы, лука, яблок, ягоды клубники и лесной земляники. Нами были отработаны различные методики выделения фисетина из растительно-го сырья, описанные ниже.

Пробоподготовка первой методики заключалась в следующем: высушенное сырье измельчали, экстракцию проводили 80%-ным метанолом равными порциями каждые 24 часа (общее соотношение экстрагент : сырье составляло 10:1) в течение 3 суток в темном месте при

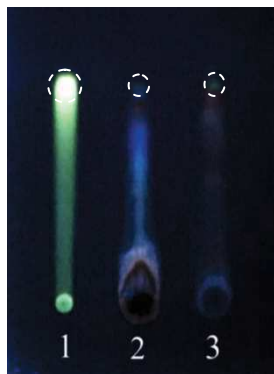
комнатной температуре. По завершению процесса экстракции экстракт фильтровали и упаривали на роторном испарителе при температуре 40°C. К упаренному остатку добавляли 50 мл дистиллированной воды и выдерживали в холодильнике двое суток, после чего проводили жидкостно-жидкостную экстракцию с использованием 50 мл хлороформа. Смесь хорошо встряхивали, разделяли водную и органическую фазы на делительной воронке и упаривали их на вакуумном роторном испарителе [4].

Вторая методика экстракции заключалась в предварительном проведении щелочного гидролиза: к одному объему высушенной и измельченной фракции сырья приливали 7 объемов 0,3 М гидроксида натрия. Гидролиз проводили в течение 48 ч при температуре 40°C и постоянном перемешивании. По окончании гидролиза суспензию нейтрализовали 0,3 М раствором серной кислоты до pH 3÷4. Далее экстракцию осуществляли смесью растворителей этанол/1,4-диоксан в объемном соотношении 1:1. К одному объему гидролизата приливали два объема смеси. Экстракцию проводили в течение 20 ч при комнатной температуре и постоянном перемешивании. По окончании процесса экстракции смесь фильтровали и упаривали при 40°C на роторном испарителе [5].

По третьей разработанной нами методике, к высушенному, измельченному сырью приливали раствор 2%-ной соляной кислоты в соотношении 1:40 и кипятили с обратным холодильником в течение 3 ч. Затем гидролизат охлаждали и упаривали на роторном испарителе при температуре 50°C.

Пробоподготовка четвертой методики заключалась в методе ремацерации: высушенное сырье измельчали и фисетин экстрагировали 50%-ным этиловым спиртом в соотношении 1:10 при температуре 30°C в течение 24 ч, после чего экстракт фильтровали и к осадку приливали новую порцию экстрагента и повторяли процесс экстракции. Затем экстракт фильтровали, смешивали с первой частью вытяжки и упаривали на роторном испарителе при температуре 40°C.

Анализ полученных экстрактов проводили методом ТСХ на пластинках TLC Silica gel 60 (MERCK, Германия) с использованием в качестве элюента изопропилового спирта. Идентификацию проводили по фактору удерживания ( $R_f$ ). В качестве образца сравнения использовали стандартный раствор коммерческого препарата фисетина (Thermo Fisher, Германия).



1 – стандартный образец фисетина;  
2 – экстракт клубники, полученный  
методом 3; 3 – экстракт клубники,  
полученный методом 4

**Рисунок – Хроматограмма стандарта  
фисетина и экстрактов клубники  
в УФ-свете (365нм)**

### Обсуждение результатов.

Практически для всех полученных экстрактов было характерно наличие большого числа компонентов. Но выявить фисетин удалось только в экстрактах клубники (рисунок).

$R_f$  раствора стандарта фисетина составляет 0,62. Слабовыраженные пятна с таким же  $R_f$  присутствуют и на хроматограмме экстрактов клубники, полученных методами 3 и 4.

Таким образом, в ходе работы были проанализированы

несколько образцов овощей, фруктов, ягод и лекарственных трав. Фисетин удалось обнаружить только в экстрактах клубники, полученных методами кислотного гидролиза и ремацерации.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Stimulation of neuroregeneration by flavonoid glycosides [Electronic resource]. – Mode of access: [www.google.com/patents/US20120087980](http://www.google.com/patents/US20120087980). – Date of access: 21.02.2018.
2. Тараховский, Ю.С. Флавоноиды: биохимия, биофизика, медицина / Ю.С. Тараховский; Ю.А. Ким, Б.С. Абрашилов, Е.Н. Музафаров. – Пушкино: Synchrobook, 2013. – 310 с.
3. Khan, N. Fisetin: A Dietary Antioxidant for Health Promotion / N. Khan, D.N. Syed, N. Ahmad, H. Mukhtar // Mary Ann Liebert. – 2013. – Vol. 19 (2). – P. 151–162.
4. Surnis, S. A. Extraction, Isolation and Quantification of Bioactive Compound (Fisetin) and its Product Formulation / S. A. Surnis, P. S. Patil, R. H. Jadhav // International Journal of Engineering and Technical Research. – 2016. – Vol. 5 (8). – P. 56–58.
5. Биологически активные добавки на основе секоиизолярицирезинола диглюкозида из семян льна масличного / Е. В. Феськова [и др.] // Труды БГТУ. Сер. IV, Химия и технология орган. в-в. – 2008. – Вып. XVI. – С. 181–183.