

УДК 615.322

**Н. Ю. Адамцевич, Е. В. Феськова, В. С. Болтовский**  
Белорусский государственный технологический университет

**ИЗВЛЕЧЕНИЕ ФЛАВОНОИДОВ ИЗ ВОРОБЕЙНИКА ЛЕКАРСТВЕННОГО  
(*LITHOSPERMUM OFFICINALE* L.) И ЦМИНА ПЕСЧАНОГО  
(*HELICHRYSUM ARENARIUM* L.)**

В данной работе выполнен сравнительный анализ содержания изокверцитрина и кемпферол-3-β-D-глюкопиранозида в экстрактах, полученных из разных частей лекарственных растений и различными методами. Объектами исследований являлись воробейник лекарственный (*Lithospermum officinale* L.) и цмин песчаный (*Helichrysum arenarium* L.). Установлено, что изокверцитрин содержится преимущественно в листьях воробейника лекарственного (*Lithospermum officinale* L.), а кемпферол-3-β-D-глюкопиранозид – в соцветиях цмина песчаного (*Helichrysum arenarium* L.). Проведен сравнительный анализ извлечения флавоноидов из лекарственных растений методами двукратной ремацерации; традиционной экстракции при повышенной температуре; трехкратной дробной экстракции с последовательной сменой концентрации экстрагента; экстракции под действием микроволнового излучения (СВЧ-энергии). Установлено, что максимальный выход изокверцитрина из воробейника лекарственного (*Lithospermum officinale* L.) и кемпферол-3-β-D-глюкопиранозида из цмина песчаного (*Helichrysum arenarium* L.) достигается методом трехкратной дробной экстракции с последовательной сменой концентрации экстрагента и составляет 12,12 и 4,30 мг/г соответственно. Применение микроволнового излучения позволяет существенно сократить продолжительность процесса экстрагирования целевых компонентов при достижении сопоставимого с традиционной экстракцией выхода флавоноидов.

**Ключевые слова:** воробейник лекарственный (*Lithospermum officinale* L.), цмин песчаный (*Helichrysum arenarium* L.), флавоноиды, изокверцитрин, кемпферол-3-β-D-глюкопиранозид, экстракция.

**N. Yu. Adamtsevich, A. Feskova, V. S. Boltovskiy**  
Belarusian State Technological University

**EXTRACTION OF FLAVONOIDS FROM LITTLEWALE  
(*LITHOSPERMUM OFFICINALE* L.) AND EVERLASTING  
(*HELICHRYSUM ARENARIUM* L.)**

In this work, a comparative analysis of the content of isoquercitrin and kempferol-3-β-D-glucopyranoside in the extracts obtained from different parts of medicinal plants and using various methods was carried out. The objects of research were the littlewale (*Lithospermum officinale* L.) and everlasting (*Helichrysum arenarium* L.). It has been established that the isoquercitrin is contained mainly in the leaves of the littlewale (*Lithospermum officinale* L.), kempferol-3-β-D-glucopyranoside – in inflorescences of everlasting (*Helichrysum arenarium* L.). A comparative analysis of the extraction of flavonoids from medicinal plants by the methods of 2-fold remaceration; the traditional extraction at elevated temperature; 3-fold fractional extraction with a sequential change in the concentration of extractant; the extraction under the influence of microwave radiation (microwave energy) was performed. It was found that the maximum yield of isoquercitrin from the littlewale (*Lithospermum officinale* L.) and kempferol-3-β-D-glucopyranoside from everlasting (*Helichrysum arenarium* L.) is achieved by the method of 3-fold fractional extraction with a successive change in the concentration of the extractant and is 12.12 and 4.30 mg/g respectively. The use of microwave radiation can significantly reduce the duration of the extraction process of the target components while achieving a yield of flavonoids comparable to traditional extraction.

**Key words:** littlewale (*Lithospermum officinale* L.), everlasting (*Helichrysum arenarium* L.), flavonoids, isoquercitrin, kempferol-3-β-D-glucopyranoside, extraction.

**Введение.** Флавоноиды являются одним из важных и востребованных классов биологически активных веществ (БАВ) растительного происхождения. Различные лабораторные и клинические исследования выявили у флавоноидов широкий спектр положительного терапевтического

действия (антиканцерогенное, антиоксидантное, противомикробное, нейропротекторное, иммуномодулирующее, гепатопротекторное и др.) [1–3]. Отдельный интерес представляют флавоноиды, способные стимулировать процессы регенерации поврежденных тканей организма [4]. Результаты

исследований, представленные в работах [5–7], доказывают, что кемпферол (и его гликозиды) и изокверцитрин обладают ранозаживляющим действием.

При анализе лекарственных растений, произрастающих в Республике Беларусь, в экстракте воробейника лекарственного (*Lithospermum officinale* L.) обнаружен изокверцитрин, а в экстракте цмина песчаного (*Helichrysum arenarium* L.) – кемпферол-3-β-D-глюкопиранозид [8].

С целью повышения выхода биологически активных веществ необходимо совершенствование технологии экстрагирования лекарственного растительного сырья. Для флавоноидов, как и для большинства природных соединений, не существует универсальных методов извлечения. Однако наиболее распространенным способом является экстракция растворителем (жидкостная экстракция). Данный метод экстракции подразумевает использование экстрагента, обеспечивающего диффузию целевых компонентов в экстракт. Для извлечения фенольных кислот и флавоноидов чаще всего используют водно-спиртовые растворы [9, 10]. Наиболее распространенным и простым способом, не требующим дорогостоящего оборудования, является метод мацерации (настаивания). Для повышения эффективности чаще применяют способ дробной мацерации (ремацерации). Интенсификации процесса экстракции флавоноидов из лекарственного растительного сырья и увеличения степени извлечения целевых компонентов наиболее часто достигают с помощью повышения температуры, на чем основаны многие фармакопейные методы получения экстрактов лекарственных растений [11], или одновременно температуры и давления [12]. Поскольку флавоноиды представлены в растениях в виде агликонов и гликозидов, которые могут быть растворены в различных растворителях и при разной концентрации, часто встречается способ дробной экстракции с последовательной сменой концентрации или природы экстрагента.

Перспективным и эффективным в технологическом отношении является метод ускорения экстрагирования биологически активных веществ из растительного сырья с помощью СВЧ-энергии [13, 14].

**Основная часть.** Цель данной работы заключалась в сравнительном анализе содержания изокверцитрина в экстрактах воробейника лекарственного (*Lithospermum officinale* L.) и кемпферол-3-β-D-глюкопиранозид в экстрактах цмина песчаного (*Helichrysum arenarium* L.), полученных различными методами и из разных частей растений.

Содержание изокверцитрина определяли в листьях и стеблях воробейника лекарственного

(*Lithospermum officinale* L.), кемпферол-3-β-D-глюкопиранозид – в соцветиях и стеблях цмина песчаного (*Helichrysum arenarium* L.). Экстракцию абсолютно сухого измельченного сырья проводили 50%-ным этиловым спиртом при температуре 65°C в течение 0,5 ч. Соотношение сырья : экстрагент составляло 1 : 50 [8].

Полученные экстракты анализировали методом высокоэффективной жидкостной хромато-масс-спектрометрии (ВЭЖХ-МС) с помощью хромато-масс-спектрометра (Waters, США) по методике, описанной в работе [8]. Для качественного и количественного определения флавоноидов в экстрактах лекарственных растений использовали стандартные растворы коммерческих препаратов изокверцитрина (Sigma, Германия) и кемпферол-3-β-D-глюкопиранозид (Sigma, Франция).

Результаты определения содержания изокверцитрина в воробейнике лекарственном (*Lithospermum officinale* L.) и кемпферол-3-β-D-глюкопиранозид в цмине песчаном (*Helichrysum arenarium* L.) представлены в табл. 1.

Таблица 1

**Содержание изокверцитрина  
и кемпферол-3-β-D-глюкопиранозид  
в экстрактах, полученных из разных частей  
лекарственных растений**

Содержание изокверцитрина в воробейнике лекарственном, мг/г абсолютно сухого сырья		Содержание кемпферол-3-β-D-глюкопиранозид в цмине песчаном, мг/г абсолютно сухого сырья	
Листья	Стебли	Цветы	Стебли
5,48	0,74	4,64	–

По результатам исследований установлено, что изокверцитрин содержится преимущественно в листьях воробейника лекарственного (*Lithospermum officinale* L.), а кемпферол-3-β-D-глюкопиранозид обнаружен только в соцветиях цмина песчаного (*Helichrysum arenarium* L.).

Для проведения сравнительного анализа степени извлечения изокверцитрина из листьев воробейника лекарственного и кемпферол-3-β-D-глюкопиранозид из соцветий цмина песчаного применяли следующие методы:

– двукратная ремацерация 70%-ным этиловым спиртом (продолжительность настаивания каждой порции составляла 24 ч в темном месте и при комнатной температуре);

– экстракция при повышенной температуре и атмосферном давлении 70%-ным этиловым спиртом (продолжительность процесса экстрагирования составляла 30 мин при температуре 65°C) [8];

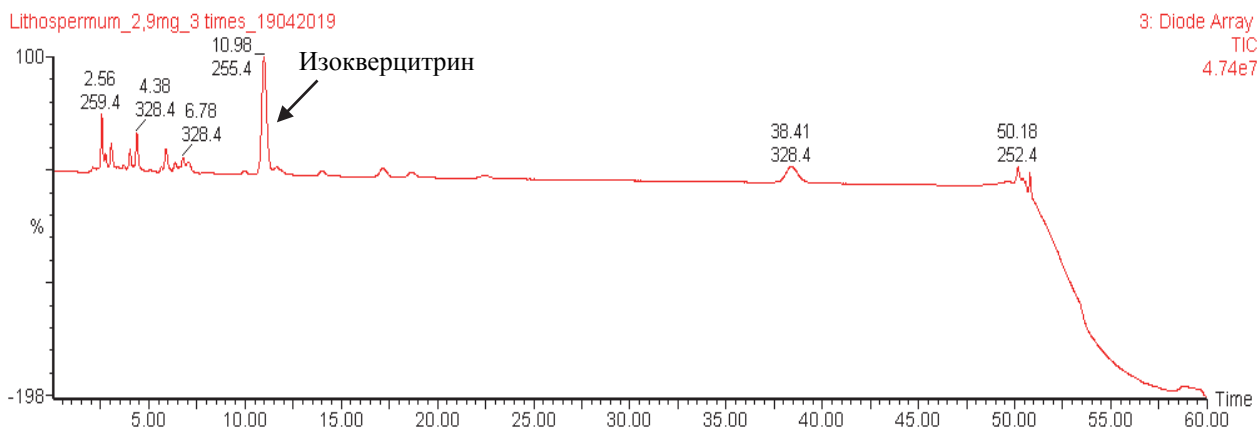
– трехкратная дробная экстракция (последовательная смена 96%-ного, 70%-ного и 40%-ного

этилового спирта, продолжительность экстрагирования каждой порцией спирта составляла 30 мин при температуре 65°C) [15];

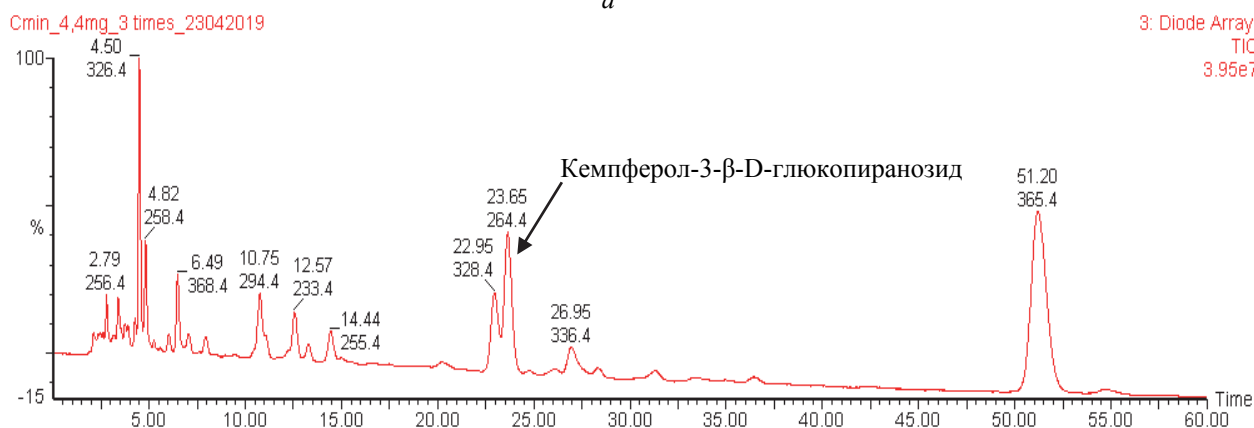
– СВЧ-экстракция 70%-ным этиловым спиртом с использованием микроволновой печи и инфракрасного термометра для дистанционного измерения температуры.

В каждом из методов применяли навеску абсолютно сухого измельченного сырья одинаковой массы, при этом соотношение сырья : экстрагент составляло 1 : 60. Все полученные извлечения анализировали методом ВЭЖХ-МС [8]. Хроматограммы данных экстрактов представлены на рисунке.

Результаты исследований приведены в табл. 2.



a



б

Хроматограммы экстрактов листьев воробейника лекарственного (*Lithospermum officinale* L.) (a) и цмина песчаного (*Helichrysum arenarium* L.) (б), полученные методом трехкратной дробной экстракции с последовательной сменой концентрации экстрагента

Таблица 2

**Содержание изокверцитрина и кемферол-3-β-D-глюкопиранозида в экстрактах, полученных различными методами**

Метод	Содержание изокверцитрина в листьях воробейника лекарственного, мг/г абсолютно сухого сырья	Содержание кемферол-3-β-D-глюкопиранозида в соцветиях цмина песчаного, мг/г абсолютно сухого сырья
Двукратная ремацерация (48 ч)	7,11	3,15
Экстракция при повышенной температуре (30 мин)	8,16	3,22
Трехкратная экстракция при повышенной температуре (1,5 ч)	<b>12,12</b>	<b>4,30</b>
Экстракция под воздействием СВЧ-энергии (20 с)	7,61	3,33

Наибольшее содержание изокверцитрина и кемпферол-3-β-D-глюкопиранозида имеют экстракты, полученные способом трехкратной дробной экстракции с последовательной сменой экстрагента.

Метод ремацерации (настаивания при комнатной температуре) является более продолжительным и менее эффективным.

Увеличение температуры способствует повышению выхода изокверцитрина и кемпферол-3-β-D-глюкопиранозида. Действие микроволнового излучения значительно сокращает продолжительность процесса экстрагирования, при этом содержание флавоноидов сопоставимо с экстракцией при традиционном нагревании теплоносителем.

**Заключение.** Результаты исследований показали, что изокверцитрин преимущественно содержится в листьях воробейника лекарственного (*Lithospermum officinale* L.), а кемпферол-3-β-D-глюкопиранозид – в цвететях цмина песчаного (*Helichrysum arenarium* L.).

Установлено, что наибольший выход изокверцитрина и кемпферол-3-β-D-глюкопиранозида достигается способом трехкратной дробной экстракции с последовательной сменой концентрации экстрагента.

Действие СВЧ-энергии способствует интенсификации процесса извлечения флавоноидов. При оптимизации параметров процесса СВЧ-экстракции возможно достижение более высокого выхода флавоноидов.

### Литература

1. Andersen O. M., Markham K. R. *Flavonoids: chemistry, biochemistry and applications*. Boca Raton: CRC Press, 2006. 1197 p.
2. Флавоноиды: биохимия, биофизика, медицина / Ю. С. Тараховский [и др.]. Пушино: Synchronbook, 2013. 310 с.
3. Panche A. N., Diwan A. D., Chandra S. R. *Flavonoids: an overview* // *Journal of Nutritional Science*. 2016. Vol. 5. P. 1–15.
4. Role of Flavonoids as Wound Healing Agent [Electronic resource] / Muhammad Shahzad Aslam [et al.] // *Intechopen.com*. URL: <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.79179> (date of access: 01.10.2019).
5. Evaluation of burn wound healing potential of aqueous extract of *Morus alba* based cream in rats / N. Bhatia [et al.] // *The Journal of Phytopharmacology*. 2014. Vol. 3 (6). P. 378–383.
6. Evaluation of wound healing activity of flavonoids from *Ipomoea Carnea* Jacq. / S. Ambiga [et al.] // *Ancient Science of Life*. 2007. Vol. 3. P. 45–51.
7. Stimulation of neuroregeneration by flavonoid glycosides [Electronic resource] // *Patents.google.com*. URL: [www.google.com/patents/US20120087980](http://www.google.com/patents/US20120087980) (date of access: 01.10.2019).
8. Условия экстракции и идентификации флавоноидов, стимулирующих регенерацию тканей / Е. В. Феськова [и др.] // *Труды БГТУ. Сер. 2, Химические технологии, биотехнологии, геоэкология*. 2019. № 1. С. 49–53.
9. Stalikas C. D. Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids // *J. Sep. Sci.* 2007. Vol. 30. P. 3268–3295.
10. Robards K. Strategies for the determination of bioactive phenols in plants, fruit and vegetables // *Journal of Chromatography A*. 2003. Vol. 1000. P. 657–691.
11. Государственная Фармакопея Республики Беларусь II. В 2 т. Т. 2. Контроль качества субстанций для фармацевтического использования и лекарственного растительного сырья / М-во здравоохранения Респ. Беларусь, РУП «Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении». 2016. 1367 с.
12. Pressurized hot water extraction (PHWE) / C. C. Teo [et al.] // *Journal of Chromatography A*. 2010. Vol. 1217. P. 2484–2494.
13. Маркин В. И., Чепрасова М. Ю., Базарнова Н. Г. Основные направления использования микроволнового излучения при переработке растительного сырья (обзор) // *Химия растительного сырья*. 2014. № 4. С. 21–42.
14. Microwave-Assisted Extraction in Natural Products Isolation / A. Delazar [et al.] // *Natural Products Isolation*. 2012. Vol. 864. P. 89–115.
15. Методы выделения и анализа флавоноидов высших растений и исследования их активности в отношении ризобактерий: учеб.-метод. пособие / С. А. Коннова [и др.]. Саратов: Изд-во Саратов. ун-та, 2015. 31 с.

### References

1. Andersen O. M., Markham K. R. *Flavonoids: chemistry, biochemistry and applications*. Boca Raton, CRC Press, 2006. 1197 p.
2. Tarakhovskiy Yu. S., Kim Yu. A., Abrasilov B. S., Muzafarov E. N. *Flavonoidy: biokhimiya, biofizika, meditsina* [Flavonoids: biochemistry, biophysics, medicine]. Pushchino, Synchronbook, 2013. 310 p.

3. Panche A. N., Diwan A. D., Chandra S. R. Flavonoids: an overview. *Journal of Nutritional Science*, 2016, vol. 5, pp. 1–15.
4. Muhammad Shahzad Aslam, Muhammad Syarhabil Ahmad, Humayun Riaz, Syed Atif Raza, Shahzad Hussain, Omer Salman Qureshi, Povydysh Maria, Zainab Hamzah, Osama Javed. Role of Flavonoids as Wound Healing Agent. Available at: <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.79179> (accessed 01.10.2019).
5. Bhatia N., Singh A., Sharma R., Singh A., Soni V., Singh G., Bajaj J., Dhawan R., Singh B. Evaluation of burn wound healing potential of aqueous extract of *Morus alba* based cream in rats. *The Journal of Phytopharmacology*, 2014, vol. 3 (6), pp. 378–383.
6. Ambiga S., Narayanan R., Durga G., Sukumar D., Madhavan S. Evaluation of wound healing activity of flavonoids from *Ipomoea Carnea* Jacq. *Ancient Science of Life*, 2007, vol. 3, pp. 45–51.
7. Stimulation of neuroregeneration by flavonoid glycosides. Available at: [www.google.com/patents/US20120087980](http://www.google.com/patents/US20120087980) (accessed 01.10.2019).
8. Feskova A., Leontiev V. N., Ignatovets O. S., Adamtsevich N. Yu., Besarab A. Yu. Extraction conditions and identification of flavonoids which stimulate tissue regeneration. *Trudy BGTU* [Proceedings of BSTU], series 2, Chemical engineering, biotechnologies, geocology, 2019, no. 1, pp. 49–53 (In Russian).
9. Stalikas C. D. Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids. *J. Sep. Sci.*, 2007, vol. 30, pp. 3268–3295.
10. Robards K. Strategies for the determination of bioactive phenols in plants, fruit and vegetables. *Journal of Chromatography A*, 2003, vol. 1000, pp. 657–691.
11. *Gosudarstvennaya Farmakopeya Respubliki Belarus' II. V 2 tomakh. Tom 2. Kontrol' kachestva substansiy dlya farmatsevticheskogo ispol'zovaniya i lekarstvennogo rastitel'nogo syr'ya* [The State Pharmacopoeia of the Republic of Belarus II. In 2 vol. Vol. 2. Quality control of substances for pharmaceutical use and medicinal plant materials]. 2016. 1367 p.
12. Teo C. C., Tan S. N., Yong J. H., Hew C. S., Ong E. S. Pressurized hot water extraction (PHWE). *Journal of Chromatography A*, 2010, vol. 1217, pp. 2484–2494.
13. Markin V. I., Cheprasova M. Yu., Bazarnova N. G. The main directions of the use of microwave radiation in the processing of plant materials (review). *Khimiya rastitel'nogo syr'ya* [Chemistry of plant materials], 2014, no. 4, pp. 21–42 (In Russian).
14. Delazar A., Nahar L., Hamedeyazdan S., Sarker S. D. Microwave-Assisted Extraction in Natural Products Isolation. *Natural Products Isolation*, 2012, vol. 864, pp. 89–115.
15. Konnova S. A., Kanevsky M. V., Aliyeva Z. O., Shuvalova E. P. *Metody vydeleniya i analiza flavonoidov vysshikh rasteniy i issledovaniya ikh aktivnosti v otnoshenii rizobakteriy* [Methods of isolation and analysis of flavonoids of higher plants and studies of their activity against rhizo-bacteria]. Saratov, Izdatel'stvo Saratovskogo universiteta Publ., 2015. 31 p.

### Информация об авторах

**Адамцевич Наталья Юрьевна** – аспирант кафедры биотехнологии. Белорусский государственный технологический университет (220006, г. Минск, ул. Свердлова, 13а, Республика Беларусь). E-mail: [natali\\_adamcevi@mail.ru](mailto:natali_adamcevi@mail.ru)

**Феськова Елена Владимировна** – кандидат технических наук, старший научный сотрудник кафедры биотехнологии. Белорусский государственный технологический университет (220006, г. Минск, ул. Свердлова, 13а, Республика Беларусь). E-mail: [lena.feskova@mail.ru](mailto:lena.feskova@mail.ru)

**Болтовский Валерий Станиславович** – доктор технических наук, доцент, профессор кафедры химической переработки древесины. Белорусский государственный технологический университет (220006, г. Минск, ул. Свердлова, 13а, Республика Беларусь). E-mail: [v-boltovsky@mail.ru](mailto:v-boltovsky@mail.ru)

### Information about the authors

**Adamtsevich Natallia Yur'yevna** – PhD student, the Department of Biotechnology. Belarusian State Technological University (13a, Sverdlova str., 220006, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: [natali\\_adamcevi@mail.ru](mailto:natali_adamcevi@mail.ru)

**Feskova Alena** – PhD (Engineering), Senior Researcher, the Department of Biotechnology. Belarusian State Technological University (13a, Sverdlova str., 220006, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: [lena.feskova@mail.ru](mailto:lena.feskova@mail.ru)

**Boltovskiy Valeriy Stanislavovich** – DSc (Engineering), Associate Professor, Professor, the Department of Chemical Processing of Wood. Belarusian State Technological University (13a, Sverdlova str., 220006, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: [v-boltovsky@mail.ru](mailto:v-boltovsky@mail.ru)

Поступила 22.10.2019