

ВЫДЕЛЕНИЕ И ИДЕНТИФИКАЦИЯ ФЛАВОНОИДОВ ИЗ ПУПАВКИ БЛАГОРОДНОЙ (*CHAMAEMELUM NOBILE* (L.) ALL)

Введение. Флавоноиды – самая распространенная группа биологически активных соединений. Им присуща высокая биологическая активность, обусловленная присутствием в молекуле фенольных гидроксиллов и карбонильных групп, которые, подвергаясь различным биохимическим изменениям, принимают участие в ряде физиологических процессов. Флавоноиды оказывают мочегонное, антимикробное, противовоспалительное, противоопухолевое, капилляроукрепляющее действие [1].

Цель работы – выделение и идентификация флавоноидов из цветочной массы пупавки благородной; изучение антимикробного действия экстрактов исследуемого растения.

Объекты и методы исследования. Объектом исследования являлись высушенные цветки пупавки благородной ($w = 9,52\%$).

Определение оптимальных значений параметров процесса экстракции флавоноидов описано в работе [2]. Определение суммарного содержания флавоноидов в извлечениях проводили спектрофотометрическим методом, основанном на реакции комплексообразования флавоноидов с хлоридом алюминия [2]. С учетом полученных значений выхода флавоноидов в зависимости от различных параметров процесса экстракции и с целью определения оптимальных применяли статистический метод планирования эксперимента с использованием ортогонального композиционного плана второго порядка. В каждой точке плана проводили по три параллельных опыта. Результаты представлены в виде среднего значения выборки \pm стандартное отклонение. Для статистической обработки полученных результатов использовали программу Microsoft Office Excel 2016. Антимикробную активность экстрактов исследовали методом диффузии БАВ в агаризованную питательную среду. В качестве тест-микроорганизмов использовали *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* и дрожжеподобные грибы – *Candida albicans* из коллекции микроорганизмов кафедры биотехнологии Белорусского государственного технологического университета. Навески сухих экстрактов растворяли в 50 % этиловом спирте для приготовления образцов с концентрациями 5; 10; 25; 50 мг/мл. В засеянных чашках Петри методом Коха суточными культурами микроорганизмов стерильным пробочным сверлом делали лунки диаметром 8 мм. В лунки вносили раствор экстракта пупавки благородной по 50 мкл соответствующей

концентрации. В качестве контроля использовали 50 %-ный этиловый спирт. Эксперимент выполняли в трехкратной повторности. Результаты представлены как среднее значение \pm полуширина доверительного интервала при $P = 95 \%$.

Результаты и их обсуждение. Изучено влияние концентрации этилового спирта, температуры, времени экстракции и соотношения объема сырья к массе экстрагента на выход флавоноидов из цветков пупавки благородной. Оптимальные параметры для проведения экстракции - температура $60 \text{ }^\circ\text{C}$ в течение 40 минут, используя 50 %-ный этиловый спирт в качестве экстрагента при соотношении 1 : 50 массы сырья к объему экстрагента. Для достижения наилучшей эффективности процесса экстракции, был использован статистический метод планирования эксперимента с применением ортогонального композиционного плана второго порядка. Каждая точка плана была исследована путем проведения трех параллельных опытов [2]. Используя статистическую обработку данных, было получено уравнение регрессии в кодированном виде, которое описывает связь между температурой (X_1) и продолжительностью (X_2) процесса экстракции и выходом флавоноидов из цветочной массы пупавки благородной:

$$Y = 2,366 + 0,153X_1 + 0,198X_2 + 0,046X_1X_2 - 0,235X_1^2 - 0,038X_2^2$$

Для проверки значимости коэффициентов уравнения регрессии, оценки его адекватности и воспроизводимости опытов использовались критерии Кохрена, Стьюдента и Фишера [2]. Из полученных данных сделан вывод, что при температуре в диапазоне $61\text{--}68 \text{ }^\circ\text{C}$ и при продолжительности экстракции не менее 48 минут, поверхность отклика достигает максимума, что соответствует наибольшему выходу флавоноидов из цветочной массы пупавки благородной ($>2,6 \%$ от массы абсолютно сухого сырья). Дальнейшее повышение температуры свыше 68°C нецелесообразно из-за отрицательного влияния на целевые компоненты.

Экспериментально состав фенольных соединений в образце водно-спиртового экстракта пупавки определяли методами тонкослойной (ТСХ) и высокоэффективной жидкостной (ВЭЖХ) хроматографии. По совпадению окраски и величины R_f со стандартными образцами в экстрактах цветочной массы пупавки благородной методом ТСХ были идентифицированы геспиридин, кверцитин, феруловая кислота. Экспериментально методом ВЭЖХ в образце водно-спиртового экстракта пупавки благородной были идентифицированы такие флавоноиды, как малонилированный апигенин О-глюкозид, апигенин, кверцетрин, кверцетин 3-О-глюкозид, лютеолин-7-О-глюкозид, космосин (апигенин 7-О-глюкозид), лютеолин и феруловая кислота.

Согласно литературным данным [3] известно, что флавоноиды синтезируются растениями в ответ на микробную инфекцию, таким образом, неудивительно, что некоторые исследования *in vitro* установили высокую антимикробную активность данных соединений по отношению к широкому спектру микроорганизмов. Было показано, что несколько флавоноидов, включая апигенин, галангин, флавоновые и флавоноловые гликозиды, изофлавоны, флаваноны и халконы, обладают мощной антибактериальной активностью. Исходя из полученных экспериментально результатов, экстракт из цветочной массы пупавки благородной проявляет антимикробную активность только по отношению к грамположительным бактериям (*B. subtilis*, *S. aureus*) при концентрации более 25 мг/мл. По отношению к грамотрицательным бактериям (*E. coli*, *P. aeruginosa*) и дрожжеподобным грибам (*C. albicans*) антимикробного действия экстрактов не выявлено.

Заключение. В результате проведенных исследований определены оптимальные параметры процесса экстракции флавоноидов из цветочной массы пупавки благородной: в качестве экстрагента целесообразно использовать 50 %-ный этиловый спирт, отношение массы сырья к объему экстрагента должно составлять 1 : 50, температура процесса – 60–65 °С и продолжительность – не менее 50 минут. Выполнена оценка антимикробной активности экстрактов из цветочной массы пупавки благородной. Согласно полученным результатам, исследуемые экстракты обладают антимикробным действием по отношению к грамположительным бактериям (*B. subtilis*, *S. aureus*), при этом в качестве антимикробного средства целесообразно использование водно-спиртового экстракта при концентрации от 25 мг/мл.

ЛИТЕРАТУРА

1. Свойства флавоноидов и их функции в метаболизме растительной клетки: Сб. научн. трудов / Под ред. Т.В. Букина. - Пушино, 1986. - 127 с.
2. Климович, А. А. Определение оптимальных параметров экстракции флавоноидов из цветочной массы пупавки благородной (*Chamaemelum nobile* (L.) All.) / А.А. Климович, Н.Ю. Адамцевич, О.С. Игнатовец // Вестник фармации. Витебский государственный медицинский университет. – 2023. – Т. 101, №3. – С. 30–38.
3. Shashank, K. Chemistry and Biological Activities of Flavonoids (review) / K. Shashank, K.P. Abhay // Hindawi Publishing Corporation The Scientific World Journal. – 2013. – Vol. 2013. – P. 1–17.