

ФАРМАКОГНОЗИЯ И БОТАНИКА

УДК 615.32:615.01

DOI: <https://doi.org/10.52540/2074-9457.2023.1.43>

Н. В. Лапова

ПОЛУЧЕНИЕ ФРАКЦИИ ФЛАВОНОИДОВ ИЗ ПИЖМЫ ЦВЕТКОВ И ОЦЕНКА ЕЕ АНТИРАДИКАЛЬНЫХ СВОЙСТВ

Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет,
г. Витебск, Республики Беларусь

Особенностями очистки флавоноидов от других групп биологически активных веществ, обусловленными их физико-химическими свойствами, являются многоэтапность, длительность процесса (до нескольких суток), значительный расход органических растворителей и/или использование специфического дорогостоящего оборудования. Альтернативой используемым в настоящее время методам является новый, достаточно быстрый и доступный метод с использованием отгонки, описанный впервые для флавоноидов череды травы.

Полученная новым методом фракция флавоноидов пижмы цветков представляла собой водный раствор светло-желтого цвета без выраженного запаха. Содержание в нем флавоноидов составило $31,3 \pm 2,0$ мкг/г в пересчете на лютеолин-О-7-глюкозид.

В полученной фракции пижмы цветков методом тонкослойной хроматографии идентифицирован лютеолин-О-7-глюкозид, при этом другие флавоноиды, содержащиеся в исходном экстракте пижмы цветков, во фракции не обнаружены.

Антирадикальная активность полученной фракции флавоноидов пижмы цветков в дозе 10 мг составила $6,7 \pm 0,5\%$ и значимо не отличалась ($F_{\text{расчет}} = 1,0$, $F_{\text{критич}} = 19,0$) от таковой для исходного экстракта.

Таким образом, установлена возможность использования отгонки для получения фракции флавоноидов пижмы цветков. Полученная фракция флавоноидов пижмы цветков представляет интерес для дальнейших фармакологических исследований и использования в разработке новых лекарственных препаратов.

Ключевые слова: пижмы цветки, флавоноиды, фракция, компонентный состав, антирадикальная активность, лютеолин-О-7-глюкозид.

ВВЕДЕНИЕ

Флавоноиды – группа биологически активных веществ (БАВ) лекарственных растений, активно применяемая для разработки новых лекарственных средств. Флавоноиды различной структуры обладают антиоксидантным, противовоспалительным, противоотечным, кардиопротекторным, нейропротекторным, ангиопротекторным, противоопухолевым и другими фармакологическими свойствами [1].

В лекарственном растительном сырье (ЛРС) флавоноиды встречаются вместе с полисахаридами, эфирными маслами, сапонинами, гидроксикоричными кислотами и другими классами БАВ, присутствие которых может снижать фармакологическую активность и увеличивать число нежелательных реакций, таких как аллергические реакции, раздражающее действие на желудочно-кишечный тракт и др. Поэтому в ме-

дицине чаще используют либо отдельные флавоноиды (кверцетин, рутин, диосмин), либо их максимально очищенные фракции (силимарин, флавоноиды сои).

Сложность очистки флавоноидов от других групп БАВ обусловлена их физико-химическими свойствами, часто близкими с другими компонентами ЛРС. Поэтому для получения максимально очищенных флавоноидов, как правило, используют многоэтапные и длительные процессы, занимающие от нескольких суток до нескольких недель. Кроме того, процесс очистки часто требует значительного расхода органических растворителей и/или использования специфического дорогостоящего оборудования [2]. Поэтому поиск методов получения экстрактов с высоким содержанием флавоноидов и малым количеством других БАВ и методов их очистки от сопутствующих соединений продолжается.

Альтернативой используемым в насто-

ящее время методам является предложенная ранее быстрая и доступная методика с использованием отгонки для выделения фракции флавоноидов из череды травы [3]. Однако возможность ее использования для других видов ЛРС, а также факторы, влияющие на получение фракций, не изучены.

Главным компонентом череды травы является лютеолин-О-7-глюкозид [4]. Лютеолин-О-7-глюкозид обеспечивает противоаллергическую, гипогликемическую, противомикробную, противоопухолевую, ДНК-защитную активность череды травы [5–7]. Кроме того, описаны антиоксидантная, противовоспалительная, нейропротекторная, кардиопротекторная, гепатопротекторная активность лютеолин-О-7-глюкозида и его агликона – лютеолина [7, 8], что делает данные биологически активные вещества перспективными для разработки лекарственных средств.

Доступным ЛРС, содержащим в значительных количествах лютеолин и лютеолин-О-7-глюкозид не менее, чем в череды траве, являются пижмы цветки [9]. Поэтому данный вид ЛРС был выбран как объект для изучения возможности использовать методику для выделения фракции флавоноидов, описанную для череды травы.

Цель данной работы – получить фракцию флавоноидов из пижмы цветков новым методом и оценить ее антирадикальную активность по сравнению с исходным экстрактом.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования являлись пижмы цветки 2021 года заготовки, предоставленные кафедрой фармакогнозии с курсом ФПК и ПК ВГМУ.

Фракцию флавоноидов из ЛРС получали следующим образом [3]. К навеске пижмы цветков 5,0 г (точная навеска) с размером частиц, проходящих сквозь сито 1 мм, добавляли 50 мл этанола 70% (об/об), экстрагировали на водяной бане с обратным холодильником в течение 30 минут. Экстракт охлаждали до комнатной температуры и фильтровали через бумажный фильтр, доводили при необходимости этанола 70% (об/об) до 50 мл. К 40 мл полученного экстракта добавляли 60 мл хлороформа и, не разделяя двухфазную систему, отгоняли фракцию флавоноидов. Оставшийся исходный экс-

тракт использовали для сравнительных исследований.

В исходном экстракте и полученной фракции определяли содержание флавоноидов в пересчете на лютеолин-О-7-глюкозид, используя методику [10], так как методика, изложенная в частной статье «Пижмы цветки» не может быть в данном случае применена, так как требует использования дополнительных растворителей, которые могут негативно влиять на получение фракции флавоноидов предлагаемым методом.

Компонентный состав фракции изучали методом тонкослойной хроматографии [11]. Для обработки хроматограмм использовали раствор аминоэтилового эфира дифенилборной кислоты. Хроматограммы просматривали в ультрафиолетовом свете. В качестве стандарта использовали лютеолин-О-7-глюкозид. Для идентификации БАВ учитывали величины удерживания, флуоресценцию пятен в ультрафиолетовом свете.

Антирадикальную активность определяли с использованием долгоживущих радикалов 1,1-дифенилгидрозила [12]. Измеряли оптическую плотность 0,025% раствора 1,1-дифенилгидрозила дважды: до и после прибавления к 2 мл раствора радикалов 10 мг исходного экстракта или полученной фракции флавоноидов пижмы цветков. Антирадикальную активность рассчитывали по формуле:

$$\text{Антирадикальная активность} = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100\%,$$

где A_0 – оптическая плотность исходного 0,025% раствора 1,1-дифенилгидрозила;

A_1 – оптическая плотность 0,025% раствора 1,1-дифенилгидрозила после добавления 10 мг исходного экстракта или полученной фракции.

Статистическую обработку проводили, используя параметрическую статистику в программе Microsoft Excel. Полученные данные приводили в виде $\bar{x}_{\text{ср}} \pm \Delta x$, где $\bar{x}_{\text{ср}}$ – среднее значение трех параллельных измерений, Δx – полуширина доверительного интервала. Для сравнения результатов использовали F-критерий, как рекомендовано Государственной фармакопеей Республики Беларусь.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На первом этапе исследований изучено содержание суммы флавоноидов в получаемом при использовании этанола 70% (об/об) экстракте пижмы цветков. Экстракт представлял собой водно-спиртовое извлечение темно-желтого цвета со специфическим запахом. Содержание суммы флавоноидов, определенное используемой методикой в исходном экстракте пижмы цветков, составляло $19,3 \pm 3,4$ мг/г.

Далее, используя новый метод, описанный для череды травы, получена фрак-

ция флавоноидов пижмы цветков. Объем фракции составлял $3,4 \pm 0,5$ мл.

Исследуемая фракция флавоноидов представляла собой водный раствор светло-желтого цвета без выраженного запаха. Содержание в ней флавоноидов составило $31,3 \pm 2,0$ мкг/г, или $0,16 \pm 0,02\%$ от содержания флавоноидов в исходном экстракте.

Компонентный состав исходного экстракта и полученной фракции флавоноидов пижмы цветков изучены методом тонкослойной хроматографии. Установлено, что в исходном водно-спиртовом экстракте данным методом обнаружено 5 веществ (таблица 1).

Таблица 1. – Положение и флуоресценция пятен веществ на хроматограмме исходного экстракта, фракции флавоноидов пижмы цветков и лютеолин-О-7-глюкозида (при просматривании снизу вверх)

№ вещества	Флуоресценция вещества на хроматограмме	Rf ± ΔRf веществ в зонах хроматораммы		
		исходного экстракта	фракции	стандарта лютеолин-О-7-глюкозида
1	оранжевый	$1,10 \pm 0,25$	не обнаружен	не обнаружен
2	оранжевый	$4,23 \pm 0,14$	$4,27 \pm 0,14$	$4,23 \pm 0,14$
3	желтый	$5,23 \pm 0,14$	не обнаружен	не обнаружен
4	желто-зеленый	$6,90 \pm 0,25$	не обнаружен	не обнаружен
5	желтый	$10,23 \pm 0,14$	не обнаружен	не обнаружен

Сравнением величин удерживания, окраски пятен в исходном экстракте пижмы цветков идентифицировано вещество 2, соответствующее лютеолин-О-7-глюкозиду, имеющему в данных условиях оранжевую флуоресценцию и величину удерживания $R_f = 0,38$.

На хроматограмме фракции флавоноидов пижмы цветков обнаруживалась только одна флуоресцирующая зона, соответствующая лютеолин-О-7-глюкозиду. Зоны других флавоноидов, отмеченные

на хроматограмме исходного экстракта, на хроматограмме полученной фракции не обнаружены.

Учитывая, что ряд фармакологических эффектов флавоноидов связывают с их антиоксидантной и антирадикальной активностью, для предварительной оценки фармакологической активности полученной фракции флавоноидов пижмы цветков проведено изучение ее антирадикальной активности в сравнении с исходным экстрактом (рисунок 1).

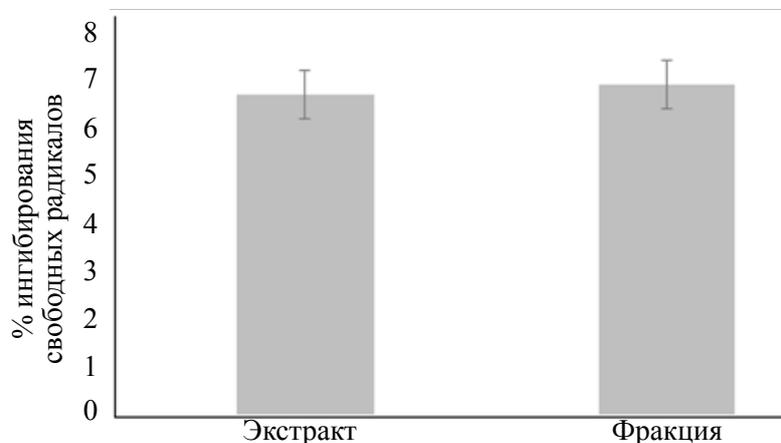


Рисунок 1. – Антирадикальная активность 10 мг исходного экстракта и 10 мг полученной фракции пижмы цветков

Установлено, что антирадикальная активность исходного экстракта и полученной фракции флавоноидов пижмы цветов составляют соответственно $6,9 \pm 0,5\%$ и $6,7 \pm 0,5\%$. Таким образом, по выраженности антирадикальной активности исходный экстракт и полученная фракция флавоноидов значимо не отличаются ($F_{\text{расчет}} = 1,0$, $F_{\text{критич}} = 19,0$).

Исследования выполнены в рамках внутриуниверситетского научного стартап-гранта для молодых ученых ВГМУ-2022 (договор от 14.01.2022).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Получена фракция флавоноидов пижмы цветков новым методом, содержание флавоноидов в которой составило $31,3 \pm 2,0$ мкг/г, или $0,16 \pm 0,02\%$ от содержания флавоноидов в исходном экстракте.

Полученная фракция содержит лютеолин-О-7-глюкозид. Другие флавоноиды, содержащиеся в исходном экстракте, во фракции методом тонкослойной хроматографии не обнаружены.

Антирадикальная активность полученной фракции значимо не отличалась от таковой для исходного экстракта.

Таким образом, методика получения фракции флавоноидов, предложенная ранее для череды травы, может быть использована для получения фракции флавоноидов из пижмы цветков.

Полученные данные свидетельствуют о том, что фракция флавоноидов пижмы цветков может представлять интерес для дальнейших фармакологических исследований и использования в разработке новых лекарственных препаратов.

SUMMARY

N. V. Lapava

OBTAINING FLAVONOIDS FRACTION FROM TANACETI VULGARIS FLOWERS AND EVALUATION OF ITS ANTI-RADICAL PROPERTIES

A feature of flavonoids purification from other groups of biologically active substances due to their physical and chemical properties is a multi-stage process, duration of the process (up to several days), significant consumption of organic solvents and/or the use of specific expensive equipment. An alternative to the currently used methods is an innova-

tive, fairly fast and affordable method using distillation, first described for the flavonoids of *Bidentis herba*.

The flavonoids fraction of *Tanacetum vulgare* flowers obtained by an innovative method was an aqueous solution of light yellow color with no pronounced odor. The content of flavonoids in it made $31,3 \pm 2,0$ $\mu\text{g/g}$ in terms of the equivalent amount of luteolin-O-7-glucoside.

In the obtained fraction of *Tanacetum vulgare* flowers by the thin-layer chromatography method luteolin-O-7-glucoside was identified, while other flavonoids contained in the original extract were not found in the fraction.

Antiradical activity of the obtained fraction of *Tanacetum vulgare* flowers flavonoids at a dose of 10 mg made $6,7 \pm 0,5\%$ and did not differ significantly ($F_{\text{calculation}} = 1,0$, $F_{\text{critical}} = 19,0$) from that of the original extract.

Thus, the possibility of using distillation for obtaining flavonoids fraction of *Tanacetum vulgare* flowers has been established. The obtained flavonoids fraction of *Tanacetum vulgare* flowers is of interest for further pharmacological studies and the usage in the development of new medicines.

Keywords: *Tanacetum vulgare* flowers, flavonoids, fraction, component composition, antiradical activity, luteolin-O-7-glucoside.

ЛИТЕРАТУРА

1. Important Flavonoids and Their Role as a Therapeutic Agent / A. Ullah [et al.] // *Molecules*. – 2020. – Vol. 25, N 22.
2. Extraction of Flavonoids From Natural Sources Using Modern Techniques / J. O. Chaves [et al.] // *Frontiers in Chemistry*. – 2020. – Vol. 8.
3. Способ выделения фракции флавоноидов из травы череды : пат. ВУ 21168 / Н. В. Корожан, Г. Н. Бузук. – Оpubл. 30.06.2017.
4. Корожан, Н. В. Сравнительный анализ компонентного состава спиртовых извлечений из травы видов череды методом жидкостной хроматографии / Н. В. Корожан, Г. Н. Бузук // *Вестн. фармации*. – 2013. – № 4. – С. 49–56.
5. Корожан, Н. В. Выделение и фармакологическая активность фракций флавоноидов и халконов череды трехраздельной / Н. В. Корожан, Г. Н. Бузук // Молодая фармация – потенциал будущего: материалы V-ой Юбилейной Всерос. науч. конф. студентов и аспирантов с междунар. участием, Санкт-Петербург, 20-21 апр. 2015 г. / С.-Петерб. гос. хим.-фармацевт. акад. – Санкт-Петербург: Изд-во СПХФА, 2015. – С. 435–437.

6. Composition of biologically active compounds, biological and pharmacological activity of the three-part beggarticks (*Bidens tripartita* L.) / M. N. Rodin [et al.] // *Natural volatiles & essential oils*. – 2021. – Vol. 8, N 5. – P. 11039–11053.

7. Natural sources, biological effects, and pharmacological properties of cynaroside / A. Bouyahya [et al.] // *Biomedicine & Pharmacotherapy*. – 2023. – Vol. 161. – Art. 114337.

8. Paving Luteolin Therapeutic Potentialities and Agro-Food-Pharma Applications: Emphasis on In Vivo Pharmacological Effects and Bioavailability Traits / Y. Taheri [et al.] // *Oxidative medicine cellular longevity*. – 2021. – 20 sept.

9. The study of the qualitative and quantitative content of the amount of flavonoids and hydroxycinnamic acids in a dense extract of common tansy flowers / N. A. Herbina [et al.] // *Вісник фармації*. – 2021. – № 2. – С. 8–13.

10. Корожан, Н. В. Разработка и валидация методики количественного определения флавоноидов в череды траве / Н. В. Корожан, Г. Н. Бузук // *Рецепт*. – 2015. – № 2. – С. 54–65.

11. Ветлова, Т. А. Количественное содержание флавоноидов в траве и цветках пижмы обыкновенной / Т. А. Ветлова, Н. В. Корожан // *Студенческая медицинская наука XXI века: материалы XIII междунар. науч.-практ. конф., Витебск, 14-15 нояб. 2013 г. / редкол.: С. А. Сушков [и др.]*. – Витебск: Витебский гос. мед. ун-т, 2013. – С. 174–175.

12. Исмаилов, И. З. Изучение биологически активных веществ *Padus Grayanae Maxim* и их антиоксидантные свойства / И. З. Исмаилов // *Вестн. науки и образования*. – 2017. – № 4. – С. 105–109.

REFERENCES

1. Ullah A, Munir S, Badshah SL, Khan N, Ghani L, Poulson BG et al. Important Flavonoids and Their Role as a Therapeutic Agent. *Molecules*. 2020;25(22). doi: 10.3390/molecules25225243

2. Chaves JO, Souza MC, Silva LC, Lachos-Perez D, Torres-Mayanga PC, Machado AP et al. Extraction of Flavonoids From Natural Sources Using Modern Techniques. *Front Chem*. 2020;8. doi:10.3389/fchem.2020.507887

3. Korozhan NV, Buzuk GN. Method for isolating the flavonoid fraction from the herb string. Patent BY 21168. 2017 Iiun' 30. (In Russ.)

4. Korozhan NV, Buzuk GN. Comparative Analysis of the Component Composition of Alcohol Extracts from the Grass of Burrow Species by Liquid Chromatography. *Vestn farmatsii*. 2013;(4):49–56. (In Russ.)

5. Korozhan NV, Buzuk GN. Isolation and

pharmacological activity of fractions of flavones and chalcones of the tripartite sequence. V: *Sankt-Peterburgskaia gosudarstvennaia khimiko-farmatsevticheskaia akademiia. Molodaia farmatsiia – potentsial budushchego. Materialy V-oi Iubileinoi Vseros nauch konf studentov i aspirantov s mezhdunar uchastiem*; 2015 Apr 20-21; Sankt-Peterburg. Sankt-Peterburg, RF: Izd-vo SPKhFA; 2015. s. 435–7. (In Russ.)

6. Rodin MN, Bokov DO, Kovaleva TYu, Bobkova NV, Sergunova EV, Strelyaeva AV et al. Composition of biologically active compounds, biological and pharmacological activity of the three-part beggarticks (*Bidens tripartita* L.). *Nat Volatiles Essent Oils*. 2021;8(5):11039–53

7. Bouyahya A, Taha D, Benali T, Zengin G, El Omari N, El Hachlafi N et al. Natural sources, biological effects, and pharmacological properties of cynaroside. *Biomed Pharmacother*. 2023;161, article 114337. doi: 10.1016/j.biopha.2023.114337

8. Taheri Y, Sharifi-Rad J, Antika G, Yilmaz YB, Tumer TB, Abuhamdah S et al. Paving Luteolin Therapeutic Potentialities and Agro-Food-Pharma Applications: Emphasis on In Vivo Pharmacological Effects and Bioavailability Traits. *Oxid Med Cell Longev*. 2021 Sept 20. doi: 10.1155/2021/1987588

9. Herbina NA, Ruban OA, Gontova TM, Yaremenko MS, Yurchenko SYu. The study of the qualitative and quantitative content of the amount of flavonoids and hydroxycinnamic acids in a dense extract of common tansy flowers. *Visnik farmatsii*. 2021;(2):8–13. doi: 10.24959/nphj.21.55

10. Korozhan NV, Buzuk GN. Development and validation of a method for the quantitative determination of flavonoids in a series of grass. *Retsept*. 2015;(2):54–65. (In Russ.)

11. Vetlova TA, Korozhan NV. Quantitative content of flavonoids in the grass and flowers of tansy vulgaris. V: *Sushkov SA, Lud NG, Zan'ko SN, Glushanko VS, redaktory. Studencheskaia meditsinskaia nauka XXI veka. Materialy XIII mezhdunar nauch-prakt konf; 2013 Noiab 14-15; Vitebsk. Vitebsk, RB: Vitebskii gos med un-t; 2013. s. 174–5. (In Russ.)*

12. Ismailov IZ. The study of biologically active substances *Padus Grayanae Maxim* and their antioxidant properties. *Vestn nauki i obrazovaniia*. 2017;(4):105–9. (In Russ.)

Адрес для корреспонденции:

210009, Республика Беларусь,

г. Витебск, пр. Фрунзе, 27,

УО «Витебский государственный ордена

Дружбы народов медицинский университет»,

тел. раб.: 8 (0212) 60-14-05,

Лапова Н.В.

Поступила 16.03.2023 г.