

---

ISBN 978-5-87019-087-7



УДК: 633.8: 615: 547: 543

ББК: 42: 52.8: 24.2: 24.4

**Председатель редакционного совета:**

Панин В.П. к.б.н.

**Редакционный совет:**

Адамов Г.В.

Бабенко А.Н. к.б.н.

Ковалев Н.И.

Савин П.С. к.б.н.

Токарева М.Г.

**Ответственные секретари:**

Бабенко А.Н. к.б.н.

Куляк О.Ю. к.фарм.н.

**Седьмая научная конференция  
с международным участием**

**«Современные тенденции развития технологий здоровьесбережения»**

Сб. науч. трудов, М., ВИЛАР, 2019 г.

**Материалы публикуются в авторской редакции**

**© ВИЛАР, 2019-12**

**© Коллектив авторов**

УДК 615.322

**СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ МЕТОДОВ ЭКСТРАКЦИИ ФЛАВОНОИДОВ ИЗ  
ВОРОБЕЙНИКА ЛЕКАРСТВЕННОГО (*LITHOSPERMUM OFFICINALE* L.)**

**Адамцевич Н.Ю.<sup>1</sup>, Болтовский В.С. д-р. техн. наук, доцент <sup>1</sup>**

**Титок В.В. д-р биол. наук, чл.-корр. НАН Беларуси <sup>2</sup>**

<sup>1</sup> *Белорусский государственный технологический университет, Республика Беларусь, Минск.*

<sup>2</sup> *Государственное научное учреждение «Центральный ботанический сад НАН Беларуси»,  
Республика Беларусь, Минск.*

*E-mail: Natali\_adamcevi@mail.ru*

Проведено извлечение биологически активных веществ (БАВ) из воробейника лекарственного (*Lithospermum officinale* L.) различными методами и выполнен количественный анализ содержания флавоноидов в полученных экстрактах. Установлено, что наибольший выход флавоноидов достигается при 3-х кратной дробной экстракции с последовательной сменой концентрации экстрагента. Использование микроволнового излучения (СВЧ-энергии) позволяет существенно сократить продолжительность процесса экстрагирования БАВ.

**Ключевые слова:** воробейник лекарственный (*Lithospermum officinale* L.), флавоноиды, ремацерация, экстракция, спектрофотометрический анализ.

**COMPARATIVE ANALYSIS OF THE METHODS OF FLAVONOIDS EXTRACTION  
FROM LITTLEWALE (*LITHOSPERMUM OFFICINALE* L.)**

**Adamtsevich N.Yu.<sup>1</sup>, Boltovskiy V.S. Ph.D., Dr. Sci (Engineering), Associate Professor<sup>1</sup>, Titok  
V.V. Ph.D., Dr. Sci (Biology), corresponding Member of the NAS of Belarus<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>*Belarusian State Technological University, Belarus, Minsk.*

<sup>2</sup> *State Scientific Institution «Central Botanical Garden NAS of Belarus», Belarus, Minsk.*

*E-mail: Natali\_adamcevi@mail.ru*

Biologically active substances (BAS) were extracted from the littlewale (*Lithospermum officinale* L.) using various methods and a quantitative analysis of the content of flavonoids in the obtained extracts was performed. It was found that the greatest yield of flavonoids is achieved with 3-fold fractional extraction with a successive change in the concentration of extractant. The use of microwave energy can significantly reduce the duration of extraction of biologically active substances.

**Keywords:** littlewale (*Lithospermum officinale* L.), flavonoids, remaceration, extraction, spectrophotometric analysis.

**Введение.** В последнее время активно проводятся исследования по способам выделения, свойствам и применению в различных областях промышленности (пищевой, косметической, фармацевтической и др.) биологически активных веществ растительного происхождения.

Одним из наиболее распространенных, многочисленных и востребованных классов БАВ являются флавоноиды. Основой строения молекул данных соединений является трицикл флавана, в котором два бензольных ядра соединены друг с другом пропановым мостиком с кислородом, образующим гетероцикл [1–3]. Большое внимание к флавоноидам обусловлено сочетанием широкого спектра биологической активности с их доступностью. К настоящему времени определено влияние следующих фармакологических эффектов этих соединений на организм человека: капилляроукрепляющее, антигрибковое, антибактериальное, спазмолитическое, противовоспалительное, антиканцерогенное, нефропротекторное, гепатопротекторное, противовирусное, антиаллергическое, иммуномодулирующее, ранозаживляющее и др. [1, 2, 4]. Выявленные свойства флавоноидов открывают широкие возможности их использования в качестве лекарственных средств, не оказывающих серьезных побочных эффектов в отличие от синтетических аналогов. Поэтому в настоящее время значительное число исследований направлено на поиск и изучение растительного сырья, в состав которого входят флавоноиды, обладающие полезным действием, а также на усовершенствование методов выделения данных соединений.

В настоящее время известно достаточно много способов выделения БАВ из растительного сырья. Среди них есть как традиционные, используемые на большинстве производств, так и перспективные методы. В последние годы все больше внимания привлекает использование микроволнового излучения для экстрагирования, что обеспечивает интенсификацию процесса и снижает затраты электроэнергии [5].

Воробейник лекарственный (*Lithospermum officinale* L.) – это многолетнее травянистое растение семейства Бурачниковых. Его высота достигает 30–80 см [6]. Воробейник лекарственный произрастает практически во всех странах Европы. В различных частях растения содержатся органические и фенольные кислоты, флавоноиды, минеральные соли, слизистые вещества, и пигменты. В листьях обнаружен флавоноид (изокверцитрин), стимулирующий регенерацию поврежденных тканей [7].

Цель данной работы заключалась в сравнении различных методов выделения флавоноидов из воробейника лекарственного и выборе наиболее эффективного.

**Материалы и методы.** Объектом исследования являлись листья воробейника лекарственного (*Lithospermum officinale* L.) из коллекции ГНУ «Центральный ботанический сад НАН Беларуси» (сбор 19.02.2018).

В работе для выделения флавоноидов из листьев воробейника лекарственного (*Lithospermum officinale* L.) применяли следующие методы:

– 2-х кратная ремацерация 70%-м этиловым спиртом (продолжительность настаивания каждой порции составляла 24 ч в темном месте и при комнатной температуре).

– традиционная экстракция при повышенной температуре и атмосферном давлении 70%-ным этиловым спиртом (продолжительность процесса экстрагирования составляла 30 мин при температуре 65°C) [7];

– 3-х кратная дробная экстракция (последовательная смена 96%-ного, 70%-ного и 40%-ного этилового спирта, продолжительность экстрагирования каждой порции спирта составляла 30 мин при температуре 65 °C) [8];

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

В каждом из методов использовали навеску сырья одинаковой массы. Соотношение сырье : экстрагент составляло 1 : 60. Все полученные экстракты упаривали на роторном испарителе под вакуумом и температуре 35°C.

Определение общего содержания флавоноидов осуществляли спектрофотометрическим методом, основанном на реакции комплексообразования с солями металлов, проявляющей высокую специфичность в отношении флавоноидов.

Для проведения исследований готовили 10 %-ный раствор  $AlCl_3$  в этиловом спирте и 1 М раствор ацетата калия в дистиллированной воде. В качестве стандарта использовали кверцетин, который растворяли в 70 %-ном этиловом спирте. Сухие экстракты лекарственного растения растворяли в этом же растворителе.

Для построения калибровочной кривой и количественного определения общего содержания флавоноидов к 0,5 мл раствора кверцетина с концентрациями 0,12; 0,25; 0,50; 1,00 мг/мл или раствора сухого экстракта лекарственного растения с концентрацией 0,5 мг/мл приливали при интенсивном перемешивании 1,5 мл 96%-ного этилового спирта, 1 мл раствора  $AlCl_3$ , 1 мл раствора ацетата калия и 2,8 мл дистиллированной воды. Инкубировали при температуре 20°C в течение 30 мин и измеряли экстинкцию на спектрофотометре SPECORD 200 (Analytik Jena, Германия) при 410 нм против контрольной пробы, в которой раствор  $AlCl_3$  был заменен дистиллированной водой.

Выход флавоноидов от массы сухого сырья ( $G$ , мг/г) определяли по формуле:

$$G = \frac{F \cdot m_{\text{станд}}}{m_{\text{проба}} \cdot (1 - w)}, \quad (1)$$

где  $F$  – содержание флавоноидов в сухих экстрактах (мг/г сухого экстракта), которое рассчитывали по формуле:

$$F = \frac{C_F}{0,5} \cdot 1000, \quad (2)$$

где  $C_F$  – концентрация флавоноидов, рассчитанная по калибровочной кривой, мг/мл;

0,5 – концентрация раствора экстракта, мг/мл;

1000 – коэффициент перевода мг в г (масса навески экстракта);

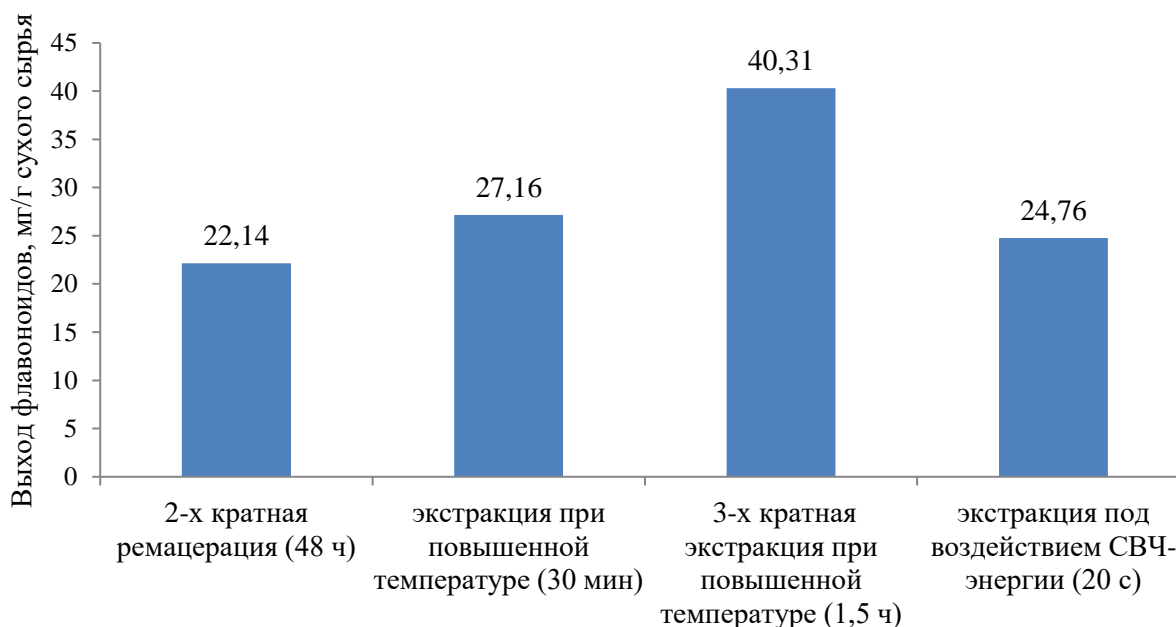
$m_{\text{экс}}$  – масса сухого экстракта, полученного после экстракции, г;

$m_{\text{сырья}}$  – масса навески сухого сырья, г;

$w$  – доля влаги в сырье.

**Результаты.** На рисунке приведены результаты определения выхода флавоноидов из воробейника лекарственного (*Lithospermum officinale* L.) при различных способах экстракции.

Из представленных данных видно, что наибольший выход флавоноидов достигается методом 3-х кратной экстракции с последовательной заменой концентрации экстрагента. Это доказывает, что экстракция с убывающей концентрацией спирта позволяет наиболее полно извлечь флавоноиды, так как большинство из них представлены в растениях в виде гликозидов и агликонов, которые могут быть растворимы в разных концентрациях спирта. При остальных методах содержание флавоноидов отличается незначительно. Экстракция с использованием СВЧ-энергии позволяет сократить время экстрагирования целевых компонентов до нескольких секунд, а метод ремацерации (настаивания) менее эффективен и наиболее длителен.



**Рисунок 1 – Выход флавоноидов из воробейника лекарственного (*Lithospermum officinale* L.) при различных способах экстракции**

**Заключение.** Проведен сравнительный анализ различных методов экстракции флавоноидов из воробейника лекарственного (*Lithospermum officinale* L.). Установлено, что наибольший выход флавоноидов достигается методом 3-х кратной дробной экстракции с последовательной сменой концентрации экстрагента, что доказывает наличие различных классов флавоноидов в листьях воробейника лекарственного. Также показано, что применение СВЧ-энергии при экстракции БАВ интенсифицирует процесс, при этом выход целевых компонентов сопоставим с экстракцией при традиционном нагревании теплоносителем. При оптимизации параметров процесса экстракции под действием СВЧ-энергии, возможно достижение более высокого выхода флавоноидов.

### Библиографический список

1. Тараховский Ю.С., Ким Ю.А., Абдрасилов Б.С., Музафаров Е.Н. Флавоноиды: биохимия, биофизика, медицина. Пушино: Synchronobook, 2013. 310 с.
2. Макаренко О.В., Левицкий А.П. Физиологические функции флавоноидов в растениях // Физиология и биохимия культурных растений. 2013. Т.45, №2. С. 100–112.
3. Корулькин Д.Ю., Абилов Ж.А., Музычкина Р.А., Толстиков Г.А. Природные флавоноиды. Монография. Новосибирск: Академическое изд-во «Тео», 2007. 232 с.
4. Brown J.E., Andersen M., Markham K. R. Flavonoids: chemistry, biochemistry and applications. Boca Raton: CRC Press, 2006. 1197 p.
5. 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.
6. Губанов И.А., Киселёва К.В., Новиков В.С., Тихомиров В.Н. Иллюстрированный определитель растений Средней России. Т.3: Покрытосемянные (двудольные: раздельнолепестные). М.: Т-во научных изданий КМК, Ин-т технологических исследований, 2004. 520 с.
7. Условия экстракции и идентификации флавоноидов, стимулирующих регенерацию тканей / Феськова Е.В, Леонтьев В.Н., Игнатовец О.С., Адамцевич Н.Ю., Бесараб А.Ю. // Труды БГТУ. 2019. Серия 2, №1. С. 49–53.
8. Методы выделения и анализа флавоноидов высших растений и исследования их активности в отношении ризобактерий: учебно-методическое пособие для студентов биологического факультета / Коннова С. А. и др. Саратов: Изд-во Саратов. ун-та. –2015. 31 с.

---

УДК 615.322: 582.462

**КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ АМИНОКИСЛОТ В ЛИСТЬЯХ ГИНГКО  
ДВУЛОПАСТНОГО (*GINKGO BILOBA* L.)**

**Ажикова А.К., кандидат биологических наук**

*ФГБОУ ВО Астраханский ГМУ Минздрава России, Астрахань.*

*e-mail: alfia-imacheva@mail.ru*

В данной статье представлены результаты определения количественного содержания аминокислот в листьях реликтового растения Гингко двулопастного (*Ginkgo biloba* L.), произрастающего на территории Краснодарского края. В ходе экспериментального исследования химического состава вегетативной надземной части установлено, что количество аминокислот в листьях Гингко двулопастного составляет 0,069 %. Определение аминокислотного состава проводили методом спектрофотометрического анализа.

**Ключевые слова:** *аминокислоты, биологически активные вещества, Гингко двулопастный (*Ginkgo biloba* L.), фитотерапия, спектрофотометрия*

**QUANTITATIVE DETERMINATION OF AMINO ACIDS IN LEAVES  
OF GINKGO BILOBA**

**Azhikova A.K., PhD (biologie)**

Associate Professor of department of biology and botany of Astrakhan State Medical

University of the Ministry of Health of Russia, Astrakhan

*e-mail: alfia-imacheva@mail.ru*

This article presents the results of determining the quantitative content of amino acids in the leaves of the relict plant *Ginkgo biloba* L., growing in the territory of the Krasnodar Territory. The experimental study of the chemical composition of the vegetative above-ground part found that the number of amino acids in the *Ginkgo biloba* leaves was 0,069 %. The amino acid composition was determined by spectrophotometric analysis.

**Keywords:** *amino acids, biologically active substances, *Ginkgo biloba* L., phytotherapy, spectrophotometry*

**Введение**

На сегодняшний день поддерживается интерес к исследованию фармакологической активности лекарственных растений. Важным условием при этом является изучение биологически активных веществ надземных и подземных органов. Количественный и качественный состав химических соединений зависит от локализации в растительном организме и эколого-географических условий [1]. Одним из значимых химиокомпонентов

являются аминокислоты, участвующие в синтезе собственных белков [2]. Являясь мономерами белков, они служат строительным материалом для формирования (развития и роста) вегетативной и генеративной части [3]. Кроме того, аминокислотам присуще активное участие в метаболизме и других биохимических процессах [4]. Образование и аккумуляция аминокислот в растениях имеют свои особенности и зависят от протеиногенеза [5]. Известно, что в растении присутствуют протеиногенные аминокислоты (лизин, валин, треонин, лейцин, изолейцин, метионин, триптофан, фенилаланин) и непротеиногенные аминокислоты, встречающиеся в растении в свободном виде. Свободные аминокислоты представляют интерес ввиду несложной детекции и уникальности их функций: транспортной (участие в транспорте азота), запасующей (насыщение ионами аммония для синтеза белков), строительной (непротеиногенные виды участвуют в образовании протеиногенных), защитной (участие в обезвреживании аммиака в орнитинном цикле).

В связи с вышеизложенным, научный интерес представляет изучение количественного состава аминокислот в растении Гинкго билоба (*Ginkgo biloba* L.).

Целью исследования явилось количественное определение аминокислот в листьях Гинкго двулопастного (*Ginkgo biloba* L.), культивируемого в Краснодарском крае.

#### **Материалы и методы**

Объектом исследования явилось воздушно-высушенное сырье листьев Гинкго двулопастного. Заготовка сырья (сбор, высушивание) осуществлялась в осенний период 2017 года на территории Краснодарского края. Потеря массы сырья при высушивании составила  $7 \pm 0,3$  %.

С помощью метода спектрофотометрического анализа оценивали реакцию взаимодействия аминокислот с раствором нингидрина. Дифференциальные спектры аминокислот по положению максимумов светопоглощения ( $568 \pm 2$  нм [6]) были близки к спектру стандартного образца глутаминовой кислоты. В результате реакции образовывалась соль енольной формы дикетогидринденкетогидринамина, имеющая фиолетовую окраску [7].

1,0 г измельченного сырья (точная навеска) сырья помещали в коническую колбу вместимостью 100 мл, прибавляли 50 мл воды очищенной. Колбу присоединяли к обратному холодильнику и нагревали двоекратно на водяной бане при температуре 100 С в течение 120 минут. После охлаждения и фильтрования через бумажный фильтр, извлечение переносили в мерную колбу на 50 мл и доводили объем экстракта водой до метки (Раствор А). Далее, 1 мл полученного извлечения помещали в мерную колбу вместимостью 50 мл, прибавляли 1 мл 0,25 % раствора натрия карбоната, 2 мл 2 % спиртового раствора нингидрина и нагревали 15 минут на кипящей водяной бане. После чего раствор охлаждали, доводили водой до метки. Параллельно в колбу на 50 мл помещали 1 мл раствора РСО глутаминовой кислоты и



проводили те же действия. Определяли оптическую плотность раствора окрашенного комплекса и стандартного раствора глутаминовой кислоты на спектрофотометре модели ПЭ-5400 В (РФ) при длине волны от 568 до 620 нм относительно воды.

Содержание суммы аминокислот в листьях Гинкго билобо в пересчёте на глутаминовую кислоту в процентах (X) вычисляли по формуле:

$$X = \frac{D_x \cdot a_{ст} \cdot 1 \cdot 50 \cdot 50 \cdot 100 \cdot 100}{D_{ст} \cdot 100 \cdot 50 \cdot a \cdot 1 \cdot (100 - B)} = \frac{D_x \cdot a_{ст} \cdot 50 \cdot 100}{D_{ст} \cdot a \cdot 1 \cdot (100 - B)}, \quad [7],$$

$D_x$  – оптическая плотность испытуемого раствора;

$D_{ст}$  – оптическая плотность раствора РСО глутаминовой кислоты;

$a_{ст}$  – навеска РСО глутаминовой кислоты, г;

$a$  – масса навески сырья, г;

$w$  – потеря в массе при высушивании сырья, %.

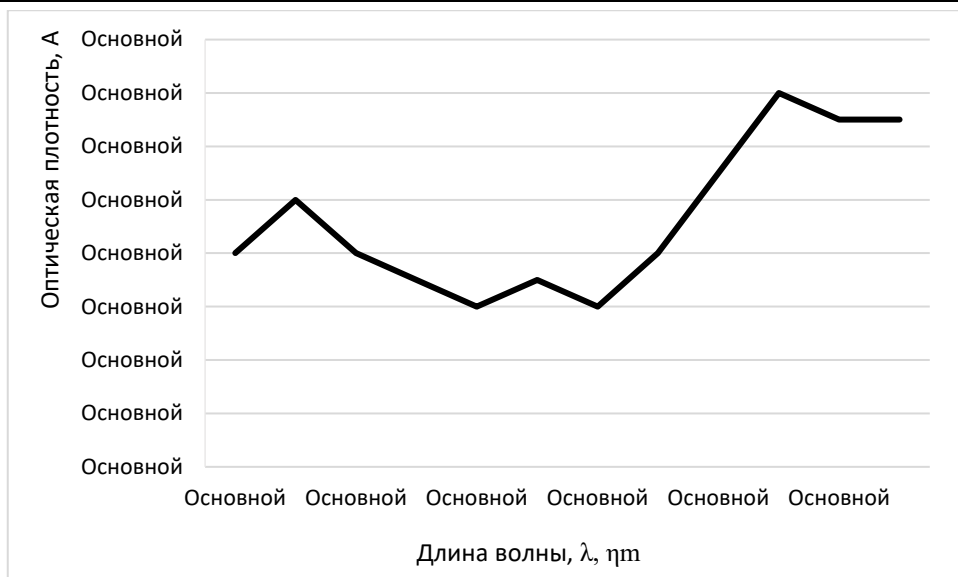
### Результаты

При исследовании листьев Гинкго двулопастного и анализе результатов серии опытов было установлено, что количественное содержание аминокислот в этих органах составило 0,069 % (Табл.1).

**Таблица 1– Результаты количественного определения аминокислот в листьях Гинкго двулопастного в пересчете на глутаминовую кислоту**

№ серии	Оптическая плотность (A)	Содержание аминокислот X, %	Метрологические характеристики
1	0,014	0,068	S=0,069 S <sub>x</sub> =0,014 S <sub>xcp</sub> =0,0057 Δx=0,011 ε=0,159
2	0,013	0,064	
3	0,014	0,068	
4	0,015	0,073	
5	0,013	0,064	
6	0,016	0,078	
X	0,014	0,069	

График зависимости интенсивности поглощения от длины волны оценен по N числу точек и показан на рисунке 1.



**Рисунок 1 – График зависимости интенсивности поглощения от длины волны**

### **Заключение**

Таким образом, обнаруженные в ходе исследования свободные аминокислоты в листьях Гинкго билоба подтверждают уникальный химический состав в верхней вегетативной части растения. Наличие аминокислот в листьях Гинкго двулопастного (*Ginkgo biloba* L.) определяет высокую физиологическую активность и терапевтическую ценность растения, что позволяет считать его перспективным источником лекарственного сырья.

### **Библиографический список**

1. Абу Захер Кхалед, Журавлев Н.С., Белостоцкая Л.И., Гомон О.Н. Антиокислительная активность суммы лейкоантоцианидинов и катехинов, выделенных из подземных органов видов рода *Rumex* L. // Фармаком. 2001. № 2. С. 77–81.
2. Вдовенко-Мартынова Н.Н., Кобыльченко Н.В., Блинова Т.И. Определение содержания аминокислот в листьях Лилии белой (*Lilium candidum* (L.)) // Современные проблемы науки и образования. 2016. № 2.
3. Сергалиева М.У., Самотруева М.А., Нурмагомедов М.Г. Обнаружение биологически активных веществ в траве Астрагала вздутого // Open innovation: сборник Международной научно - практической конференции в 2 - х частях. Пенза. 2017. С. 173 - 175.
4. Ясенявская А.Л., Цибизова А.А., Абукова А.К. Определение биологически активных веществ в листьях Калины обыкновенной (*Viburnum opulus*) // Фармацевтические науки: от теории к практике: сборник заочной научно -

- 
- 
- практической конференции с международным участием. Астрахань. 2016. С. 161 - 163.
5. Постоюк Н. А., Маркарян А. А., Даргаева Т. Д., Сокольская Т. А. Методика количественного определения суммы аминокислот в листе каштана конского обыкновенного // Новые задачи современной медицины: материалы Междунар. науч. конф. (г. Пермь, январь 2012 г.). Пермь: Меркурий, 2012. С. 139-141.
  6. Велиева Г.А., Халилова Р.Н., Зухайраева А.С. Количественное определение суммы аминокислот в листьях стевии (*stevia rebaudiana bertonii*) // Международный научный журнал «Инновационная наука» 2015. №9. С. 27-29.
  7. Духанина И.В., Айрапетова А.Ю., Лазарян Г.Д., Васильченко Ю.К. Количественное определение аминокислот в пыльце (обножке) // Химико-фармацевтический журнал. 2006. Т.14. №2. С.22-23.