

ВЛИЯНИЕ ОСТАНОВКИ ФЕРМЕНТНОЙ АКТИВНОСТИ НА СОДЕРЖАНИЕ ФЛАВОНОИДОВ В КАЛЕНДУЛЫ ЦВЕТКАХ

Р.И. Лукашов, Н.С. Гурина

Белорусский государственный медицинский университет, Минск

e-mail: r_lukashov@mail.ru

Ключевые слова: календулы цветки, флавоноиды, ферментация, предварительная обработка

Введение. Одним из новых направлений интенсификации экстракция биологически активных веществ является предварительная обработка лекарственного растительного сырья (ЛРС) [1]. К ее разновидностям относят ферментацию, ультразвуковую, термическую, холодовую обработку свежего сырья [1, 2]. Следует отметить, что при обработке растительного сырья физическими факторами или химическими агентами происходит изменение ферментной активности самого сырья, что значимо влияет на химический состав [3]. Поэтому целесообразным считаем изучение влияния возможности остановки активности одного из ключевых ферментов, участвующих в синтезе и деградации фенольных соединений, - полифенолоксидазы на содержание групп этих соединений (в частности, флавоноидов).

В качестве объекта исследования выбраны календулы цветки, проявляющие антиоксидантное, противовоспалительное, ранозаживляющее и другие фармакологические действия и стандартизируемые по сумме флавоноидов [4, 5].

Цель. Исследовать влияние температурной остановки активности полифенолоксидазы на содержание флавоноидов календулы цветков.

Материалы и методы. Объектом исследования служили календулы цветки производства ООО «НПК Биотест», ООО «Калина» и ЛРСУП «Можейково», а также заготовленные от культивируемых форм в фазу массового цветения в июле–августе 2020, 2021 и 2022 гг. в ботаническом саду БГМУ в д. Новое поле (Минский район, Республика Беларусь).

Для оценки возможности объединения результатов, полученных на нескольких сериях календулы цветков, и расчета объединенного среднего применяли критерий Кохрена, т.к. объединяемые дисперсии имели одинаковое количество степеней свободы. По итогам расчета получили следующие значения при $g = 6$; $\nu = 2$: $G_{\text{табл}} = 0,6161$ и $G_{\text{эксп}} = 0,3672$. $G_{\text{табл}} > G_{\text{эксп}}$, значит результаты, полученные на разных образцах календулы цветков, можно объединить и рассчитать объединенное среднее.

После 6 ч ферментации при 40 и 60 °С в полиэтиленовой упаковке; одних суток ферментации при комнатной температуре в полиэтиленовой упаковке; ультразвуковой обработки и холодной ферментации сырья проводили его термическую обработку при оптимальных условиях (температура в упаковке – 140 °С и продолжительность – 1,5 ч) для остановки ферментной активности. После остановки ферментной активности сырье высушивали воздушно-теньевым способом и определяли содержание флавоноидов по следующей методике: к 5,0 мл извлечения прибавляли 8,0 мл раствора 50 г/л алюминия хлорида в 70% этиловом спирте, выдерживали на водяной бане в течение 4 мин, быстро охлаждали до комнатной температуры, прибавляли 5,0 мл буферного раствора и доводили 70% этиловым спиртом до объема 25 мл. Получали таким образом испытуемый раствор.

Приготовление буферного раствора. К 10 мл 1 М раствора натрия гидроксида прибавляют 25 мл раствора 60 г/л кислоты уксусной ледяной и доводят водой до объема 100 мл.

Измерение оптической плотности испытуемого раствора производили при 409 нм с использованием компенсационного раствора соответственно. Компенсационный раствор готовили как описано выше без добавления алюминия хлорида.

Пересчет проводили методом одного стандарта на рутин (кат. № 1606503, Signa-Aldrich). Для стандартного образца рутина готовили испытуемый раствор как описано выше, добавляя

вместо 5,0 мл извлечения 5,0 мл раствора 2 г/л рутина. Компенсационный раствор готовили без добавления алюминия хлорида.

При холодной ферментации сырье замораживали на 24 ч, затем термически обрабатывали часть сырья, оставшуюся часть размораживали при комнатной температуре и выдерживали при ней 24 ч для ферментации, после чего определяли активность ферментов и после естественной сушки оценивали содержание флавоноидов.

Статистическую обработку проводили при помощи компьютерной программы Microsoft Office Excel 2016 (пакет «Анализ данных»). Каждое испытание проводили три раза ($n = 3$). Результаты представляли в виде $\bar{X} \pm \Delta_{\bar{x}}$, где \bar{X} – среднее значение выборки; $\Delta_{\bar{x}}$ – полуширина доверительного интервала средней величины. Значения статистически значимо различались при «p-value» (p) < 0,05.

Результаты. На рисунке 1 представлены результаты оценки влияния термической остановки активности полифенолоксидазы на содержание флавоноидов в календулы цветках.

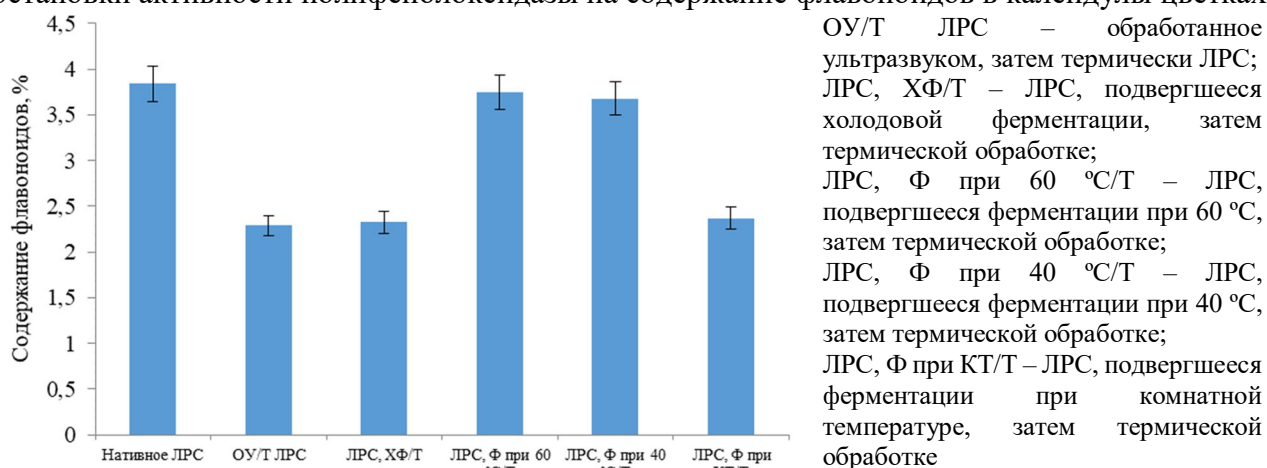


Рисунок 1. Содержание флавоноидов в нативном и предварительно обработанном сырье после термической инактивации ферментов

Содержание флавоноидов в предварительно обработанном сырье после термической инактивации ферментов ниже по сравнению с нативным сырьём на 68,7 % ($p = 0,0057$) при обработке ультразвуком; на 65,2 % ($p = 0,0044$) при холодной ферментации; на 2,4 % ($p = 0,48$) при ферментации при 60 °С; на 4,4 % ($p = 0,65$) при ферментации при 40 °С и на 62,0 % ($p = 0,0024$) при ферментации при комнатной температуре, что говорит о негативном влиянии остановки активности полифенолоксидазы на содержание флавоноидов после предварительной обработки календулы цветков.

Заключение. Термическая остановка активности полифенолоксидазы в свежих календулы цветках привела к снижению содержания флавоноидов после последующей сушки сырья.

Литература

1. Лукашов Р. И., Гурина Н. С. Влияние обезжиривания эхинацеи пурпурной травы на экстракцию гидроксикоричных кислот. Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения. *Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств*. 2024;14(2):207-216.
2. Лукашов Р. И. Обезжиривание календулы цветков как способ повышения экстракции флавоноидов. *Вестник фармации*. 2022;1(95):48–56.
3. Лукашов Р. И., Гурина Н. С. Полифенолоксидазная активность нативных и предварительно обработанных календулы цветков. *Современные технологии в медицинском образовании*. 2021:2051–2054.
4. Воскресенская М. Л., Плеханов А. Н., Мондодоев А. Г., Цыремпилов С. В. Фармакотерапевтическая эффективность календулы лекарственной. *Вестник Бурятского государственного университета. Медицина и фармация*. 2017;(1):73–78.

5. Афанасьева П. В., Куркин В. А., Куркина А. В. Оптимизация подходов к стандартизации фитопрепаратов на основе календулы лекарственной. *Известия Самарского научного центра Российской академии наук*. 2015;175(3):930–934.

Федеральное государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего образования
«Сибирский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации
(ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России)

**III Международная
научно-практическая конференция
РАЗРАБОТКА ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ -
ТРАДИЦИИ И ПЕРСПЕКТИВЫ**

г. Томск, 18–20 сентября 2024 г.

СБОРНИК МАТЕРИАЛОВ

Томск
Издательство СибГМУ
2024