

УДК 577.127.4; 542.06

ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ УЛЬТРАЗВУКОВОЙ ЭКСТРАКЦИИ ВТОРИЧНЫХ МЕТАБОЛИТОВ ИЗ ЛИСТЬЕВ *HERACLEUM SOSNOWSKYI* MANDEN. С ПОМОЩЬЮ ВОДНО-ЭТАНОЛЬНЫХ СМЕСЕЙ

© С.В. Козлова*, Н.С. Цветов

Научный центр медико-биологических исследований адаптации человека в Арктике, ФИЦ Кольский научный центр РАН, ул. Ферсмана, 14, Апатиты, 184209, Россия, s.kozlova@ksc.ru

Постоянно возрастающие потребности общества в биологически активных веществах (БАВ) растительного происхождения обуславливает поиск перспективных источников их получения. БАВ растительного происхождения обладают лечебными свойствами, что связано с их большой физиологической активностью. БАВ являются аналогами синтетических лекарственных препаратов и используются в фармакологической промышленности. Установленное во многих работах накопление БАВ у растений в экстремальных условиях оправдывает их изучение в условиях севера.

Борщевик Сосновского (*Heracleum sosnowskyi* Manden.) – крупное травянистое растение, содержит большой комплекс БАВ. Несмотря на то, что он находится в списке сорных и опасных растений, некоторые из его метаболитов все-таки могут найти применение в области разработки новых медицинских и ветеринарных препаратов против витилиго, гнездовой плешиности, облысения, псориаза, а также обладающих антимикробными и фунгицидными свойствами. При этом в настоящее время особенности метаболизма борщевика в условиях Крайнего Севера изучены недостаточно. Для накопления данных по изучению этих особенностей необходим подбор подходящих методов и параметров экстракции БАВ и оптимальных условий скрининг анализа различных групп БАВ в органах борщевика для быстрой и точной оценки их содержания.

Цель исследования – подбор оптимальных условий водно-спиртовой ультразвуковой экстракции полифенольных соединений, флавоноидов и антиоксидантной активности из листьев борщевика Сосновского, произрастающего в условиях Мурманской области.

С помощью однофакторной оптимизации найдено, что оптимальное время экстракции составило 90 мин, концентрация этанола – 80%, мощность ультразвука – 100%. С помощью алгоритма Бокса-Бенкена подобраны оптимальные условия водно-спиртовой ультразвуковой экстракции полифенольных соединений, флавоноидов, а также антиоксидантной активности из листьев борщевика Сосновского: температура – 30 °C, концентрация этанола – 80%, соотношение сырья к экстрагенту – 1 : 24, время – 90 мин, обеспечивающие максимальный выход полифенольных соединений (%), флавоноидов (%), антиоксидантную активность (%).

Ключевые слова: борщевик Сосновского, ультразвуковая экстракция, алгоритм Бокса-Бенкена, Мурманская область.

Для цитирования: Козлова С.В., Цветов Н.С. Оптимизация условий ультразвуковой экстракции вторичных метаболитов из листьев *Heracleum sosnowskyi* Manden. с помощью водно-этанольных смесей // Химия растительного сырья. 2024. №4. С. 213–223. DOI: 10.14258/jcprm.20240413600.

Введение

Борщевик Сосновского (лат. *Heracleum sosnowskyi* Manden.) – крупное травянистое растение, вид рода Борщевик (*Heracleum*) семейства Зонтичные (*Umbelliferae*) [1]. Это крайне неприхотливое растение, устойчивое к погодным условиям, обладающее высокой семенной продуктивностью и аллелопатической активностью, относится к инвазивному виду, которое угрожает биологическому многообразию [2]. Распространение борщевика на территории Российской Федерации является острой проблемой во многих регионах [3], в том числе на Кольском полуострове. Инвазия данного вида наносит значительный экологический и финансовый урон Мурманской области, изменяя ее природные ландшафты, безвозвратно трансформируя хрупкие и уязвимые экосистемы Севера.

* Автор, с которым следует вести переписку.

Вместе с тем растение обладает большой зеленой массой и содержит комплекс БАВ [4], что открывает перспективу их дальнейшего практического применения в лечебной практике лекарственных средств на основе этого вида [5]. При этом химический состав борщевика Сосновского мало изучен, по немногочисленным данным, в химическом составе растения преобладают фуранокумарины преимущественно псораленового типа и в меньшей степени – производные ангелицина [6]. Лекарственные препараты, обладающие фотосенсибилизирующими свойствами, используются для лечения витилиго, гнездовой плешиности, облысения, псориаза [7].

Бактерицидные, фунгицидные и вирулицидные свойства эфирных масел позволяют использовать их в медицине [8]. Состав летучих соединений борщевика Сосновского включает 18 компонентов, в том числе спирты, альдегиды, терпены и эфиры жирных кислот. Октилацетат, октанол, октаналь, гексил изобутират и гексил-2-метил бутират являются основными летучими компонентами. Обнаружено, что фенольные соединения в экстрактах различных органов борщевика максимальное количество накапливается в цветках и листьях растения [9].

Таким образом, развитие методов переработки борщевика Сосновского позволит раскрыть потенциал этого вида как источника сырья для химической, фармацевтической, парфюмерной, целлюлозно-бумажной, пищевой промышленности и в области сельского хозяйства [10].

В то же время остаются недостаточно изученными особенности метаболизма борщевика Сосновского в условиях Крайнего Севера, количество систематических исследований процессов экстракции БАВ из борщевика крайне ограничено.

Как известно, растения на севере испытывают комплекс неблагоприятных воздействий, в котором суммируются эффекты естественных (в частности, климатических) и антропогенных факторов [11]. Установлено, что с увеличением степени экстремальности климатических условий произрастания в тканях ряда видов растений синтезируется большее количество биологически активных веществ [12, 13]. Изменение условий среды оказывается не только на количестве тех или иных веществ, но может вызывать у них глубокие качественные сдвиги [14]. В связи с этим комплексная оценка содержания различных групп БАВ в борщевике Сосновского позволит улучшить понимание особенностей метаболизма растения в условиях Кольского полуострова.

Таким образом, для проведения работы необходим подбор наиболее подходящих методов и параметров экстракции БАВ из тканей органов борщевика Сосновского. На данный момент перспективными и современными методами экстракции БАВ из растительного сырья выступает ультразвуковая экстракция [15, 16], позволяющая сократить время процесса, количество используемого растительного материала и расход экстрагентов [17]. Традиционными экстрагентами для извлечения БАВ являются смеси этанола и воды, однако эффективность экстракции сильно зависит от состава смеси [18]. Оптимальные условия экстракции зависят от типа извлекаемых веществ и могут быть специфичными для каждого конкретного растения [19]. Для этого необходимо проводить оптимизацию методики по подбору условий водно-спиртовой ультразвуковой экстракции БАВ из листьев борщевика Сосновского, произрастающего в условиях Мурманской области.

Материалы и методы

Листья растений борщевика Сосновского были собраны на площадках Полярно-альпийского сада-института (ПАБСИ) на территории г. Апатиты Мурманской области во время цветения (06.07.2022 г.). Свежие листья высушивали, выдерживая на сложенной в несколько слоев фильтровальной бумаге в хорошо проветриваемом помещении при комнатной температуре в течение 20 дней. Конечная влажность сырья, определенная высушиванием навески растительного материала при 105 °C до постоянной массы, составляла 1.3%. Высущенный материал измельчали и пропускали через лабораторные сита с диаметром ячеек 1, 3 и 5 мм.

Подбор оптимальных условий проводился в несколько этапов: выбор оптимального времени, концентрации этанола и мощности ультразвука проводился по методу однофакторной оптимизации. Для экстракции брались навески 0.05 г листьев и смешивались с экстрагентом (50% этиловый спирт в воде) в соотношении (в/о) сырья и экстрагента 1 : 30 (1.5 мл экстрагента). Экстракция проводилась с использованием ультразвуковой ванны Вилитеk VBS-3-DP в течение от 5 до 180 мин при температуре 45 °C, поддерживаемой за счет устройства дополнительного терmostатирования. Выбор температуры, гидромодуля и диаметра частиц – по алгоритму Бокса-Бенкена с пятикратным повторением центральной точки. Для экстракции

использовались навески растительного материала 0.1–0.05 г. Комбинации параметров для алгоритма Бокса-Бенкена приведены в таблице 1.

Общее содержание полифенольных компонентов (TPC) определялось по реакции с реагентом Фолина-Чокалтеу [20] и выражено в эквивалентном содержании галловой кислоты (GAE). Общее содержание флавоноидов (TFC) – реакции комплексообразования с хлоридом алюминия [21] и выражено в эквивалентном содержании рутина (RE). Общая антиоксидантная активность (ТАС) определяется на основе фосфомolibдатного метода [22] и выражается в эквивалентном содержании аскорбиновой кислоты (ААЕ). Подробно указанные методы описаны в работе [23]. Для определения полифенолов экстракти разбавляли в 50 раз, для флавоноидов – в 50 раз, для определения антиоксидантной активности использовалась аликвота сырого экстракта объемом 25 мкл. Экстинции измерялись на фотоколориметре КФК-3-01 (ЗОМЗ, Россия).

Для оценки аппроксимации экспериментальных данных зависимости выхода полифенолов, флавоноидов и антиоксидантов от времени использовалось уравнение реакции второго порядка [23], описывающее зависимость значения соответствующего параметра экстракта (Y_t) от времени (t) через константу скорости (k , г мг^{-1} мин^{-1}) и равновесное значение параметра экстракта (Y^{eq}):

$$Y_t = \frac{kt(Y^{eq})^2}{1 + ktY^{eq}} \quad (1)$$

Это уравнение может быть линеаризовано в координатах t/Y_t от t :

$$\frac{t}{Y_t} = \frac{1}{Y^{eq}} t + \frac{1}{k(Y^{eq})^2}. \quad (2)$$

Из наклона и смещения уравнения линейной аппроксимации экспериментальных данных могут быть найдены величины Y^{eq} и k .

Все измерения проводились в трехкратной повторности. Полученные данные обрабатывались с использованием программного обеспечения MS Office Excel. Оценка достоверности проводилась с использованием теста Тьюки при $p < 0.05$. Данные по оптимизации обрабатывались в программе Design-Expert 11 Trial (Stat-Ease Inc., Minneapolis, USA) с использованием методологии аппроксимации поверхности отклика.

Таблица 1. Уровни и значения параметров оптимизации в алгоритме Бокса-Бенкена

№	T, °C	v/m	d, мм
1	45(0)	10(-1)	5(+1)
2	45(0)	30(+1)	1(-1)
3	30(-1)	30(+1)	3(0)
4	30(-1)	10(-1)	3(0)
5	45(0)	20(0)	3(0)
6	30(-1)	20(0)	1(-1)
7	45(0)	10(-1)	1(-1)
8	60(+1)	30(+1)	3(0)
9	45(0)	30(+1)	5(+1)
10	60(+1)	20(0)	1(-1)
11	30(-1)	20(0)	5(+1)
12	45(0)	20(0)	3(0)
13	45(0)	20(0)	3(0)
14	60(+1)	10(-1)	3(0)
15	60(+1)	20(0)	5(+1)
16	45(0)	20(0)	3(0)
17	45(0)	20(0)	3(0)

Результаты и обсуждение

Полученные значения кинетических параметров приведены в таблице 2, сравнение экспериментальных данных и аппроксимационной кривой – на рисунке 1. Показано, что полученные данные достаточно хорошо аппроксимируются уравнением реакции второго порядка.

В ходе проведения кинетических исследований установлено, что достаточным для экстракции можно считать время 90 мин.

Следующим этапом оптимизации условий экстракции был подбор оптимальной концентрации этанола в диапазоне от 0 до 90%. Результаты, показывающие влияние состава экстрагента на извлечение полифенольных компонентов и соединений, проявляющих антиоксидантную активность, из листьев борщевика Сосновского, представлены на рисунке 2.

Представленные на рисунке 2а данные свидетельствуют, что наибольшее извлечение содержания фенольных компонентов из экстрактов листьев борщевика Сосновского происходит водно-спиртовой смесью с содержанием 60% этанола – 3.5 ± 0.5 мг ГАЕ/г. Из рисунка 2б следует, что наибольшее извлечение содержания флавоноидов из экстрактов листьев борщевика Сосновского происходит водно-спиртовой смесью с содержанием 80%-го этанола – 5.8 ± 0.5 мг RE/г. Такая же концентрация этанола оказывается наиболее эффективной для извлечения извлечения соединений, проявляющих антиоксидантную активность. Их выход достигает 38.7 ± 1.1 мг ААЕ/г (рис. 2в). Таким образом, 80% этанол является оптимальной концентрацией для извлечения целевых компонентов в исследуемых экстрактах листьев борщевика Сосновского.

Зависимость целевых параметров от мощности ультразвука в диапазоне от 0 до 100% представлены на рисунке 3.

Из рисунка 3а следует, что максимальное количество фенольных компонентов достигается при 100% мощности ультразвукового воздействия – 3.1 ± 1.1 мг ГАЕ/г. Максимальное количество флавоноидов и антиоксидантов также наблюдается при 100% мощности, 6.2 ± 0.5 мг RE/г и 41.4 ± 1.1 мг ААЕ/г соответственно. Таким образом, результатом подбора оптимальной мощности ультразвукового воздействия на степень извлечения целевых компонентов исследуемых экстрактов листьев борщевика является мощность – 100%.

Таблица 2. Результаты определения равновесных значений параметров экстракта (Y^{eq}) и констант скорости (k) их высвобождения из листьев борщевика Сосновского

Параметр	Y^{eq} , мг/г	$k, 10^{-3} \text{ г мг}^{-1} \text{ мин}^{-1}$
TPC	57.1	10.2
TFC	41.1	29.3
TAC	36.5	6.3

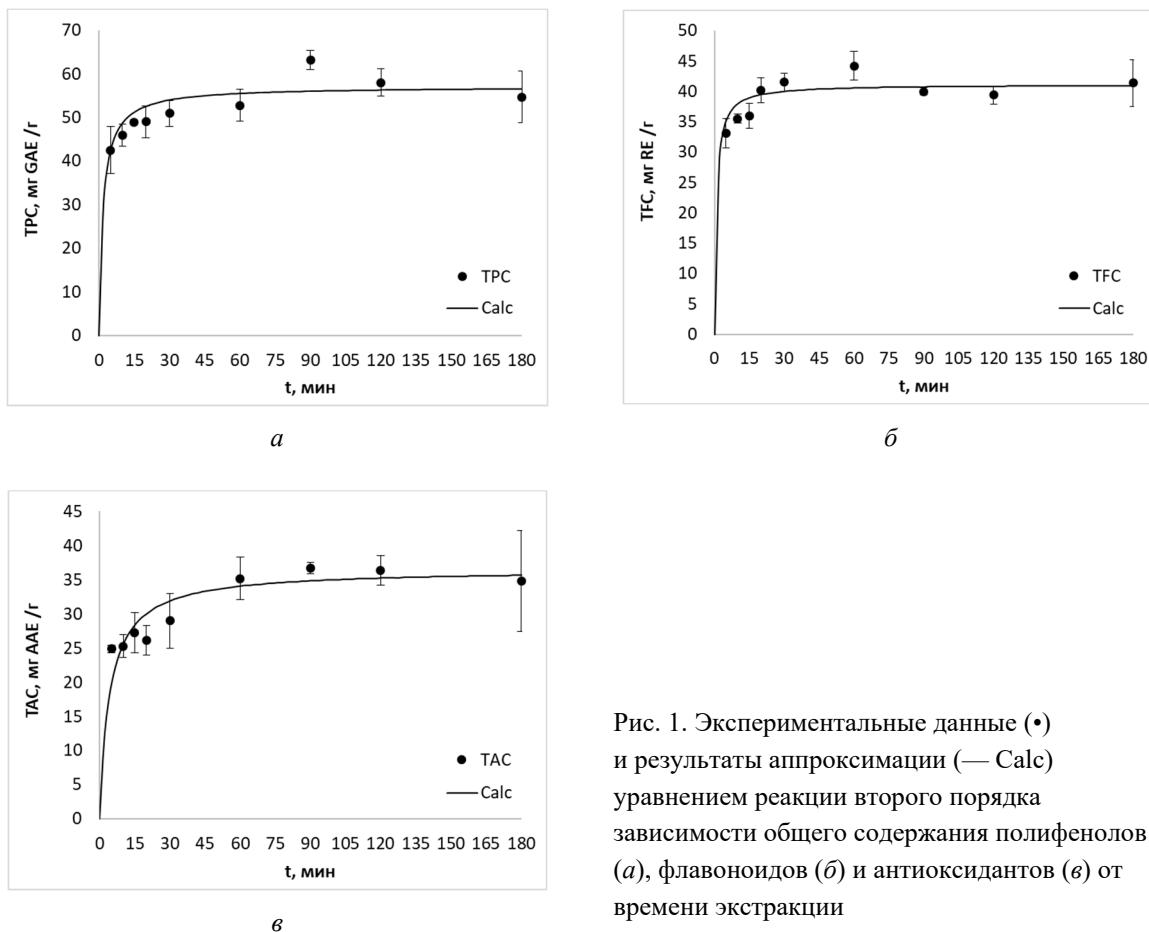


Рис. 1. Экспериментальные данные (•) и результаты аппроксимации (— Calc) уравнением реакции второго порядка зависимости общего содержания полифенолов (а), флавоноидов (б) и антиоксидантов (в) от времени экстракции

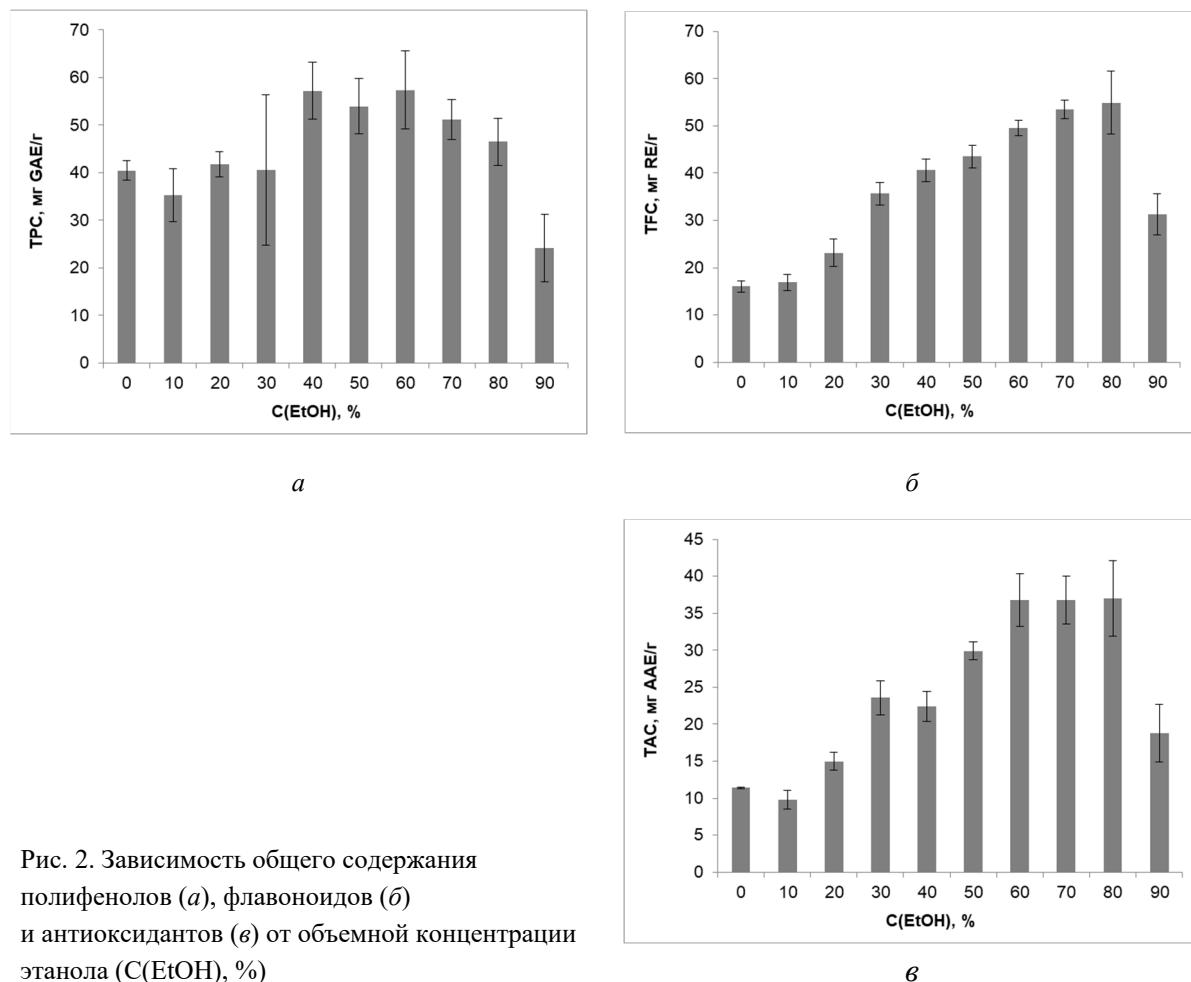


Рис. 2. Зависимость общего содержания полифенолов (α), флавоноидов (β) и антиоксидантов (γ) от объемной концентрации этанола ($C(EtOH)$, %)

Поверхности отклика для общего содержания полифенолов, флавоноидов и общей антиоксидантной активности, полученные в ходе выполнения экстракции по алгоритму Бокса-Бенкена, представлены на рисунках 4–6 и описываются уравнениями:

$$TPC = 44.70 - 18.90A + 5.95B - 5.13C + 0.52AB + 2.35AC - 4.15BC - 0.71A^2 - 4.71B^2 + 4.91C^2 + 8.83A^2B + 9.33AB^2$$

$$TFC = 52.06 - 21.77A + 6.9B - 6.41C - 0.63AB + 3.18AC - 1.40BC - 3.13A^2 - 8.96B^2 + 8.20C^2 + 8.88A^2B + 12.05AB^2$$

$$TAC = 43.0 - 14.98A + 6.30B - 1.79C - 0.43AB - 2.10BC - 2.945A^2 - 8.47B^2 + 1.73C^2 + 6.93A^2B + 8.15AB^2$$

где A – температура, $^{\circ}\text{C}$; B – жидкостный модуль (отношение объема экстрагента к массе сухого растительного материала); C – крупность растительного сырья, мм. Каждый параметр изменяется в пределах от +1 до -1.

Результаты дисперсионного анализа для уравнений, описывающих TPC , TFC и TAC , приведены в таблицах 2–4. Из величины $P\text{-value}$, которая для значимых параметров должна быть меньше 0.05, следует, что в случае TPC значимыми являются все параметры, кроме AB и A^2 . Для TFC незначимыми являются только параметры AB и BC . Для TAC – AB , BC и C^2 . Однако исключение незначимых термов из моделей ведет к уменьшению коэффициентов детерминации и снижению ошибки неадекватности подбора (*Lack of fit*) до значимых значений $P\text{-value}$. Коэффициент детерминации (R^2) для TPC составил 0.9954, для TFC – 0.9960, для TAC – 0.9895. Величины *Lack of fit* являются незначимыми для всех параметров, что показывает хороший выбор модели.

Исходя из полученных данных, были рассчитаны оптимальные условия экстракции: температура – 30 $^{\circ}\text{C}$. Жидкостный модуль – 1 : 27, диаметр частиц – 1 мм. При указанных условиях была проведена экстракция. Сравнение расчетных и экспериментальных данных приведено в таблице 5. Видно, что экспериментально полученные значения несколько ниже рассчитанных, однако это может быть связано с качеством аппроксимации, учитывающей максимизацию всех трех характеристик экстрактов (TPC , TFC и TAC).

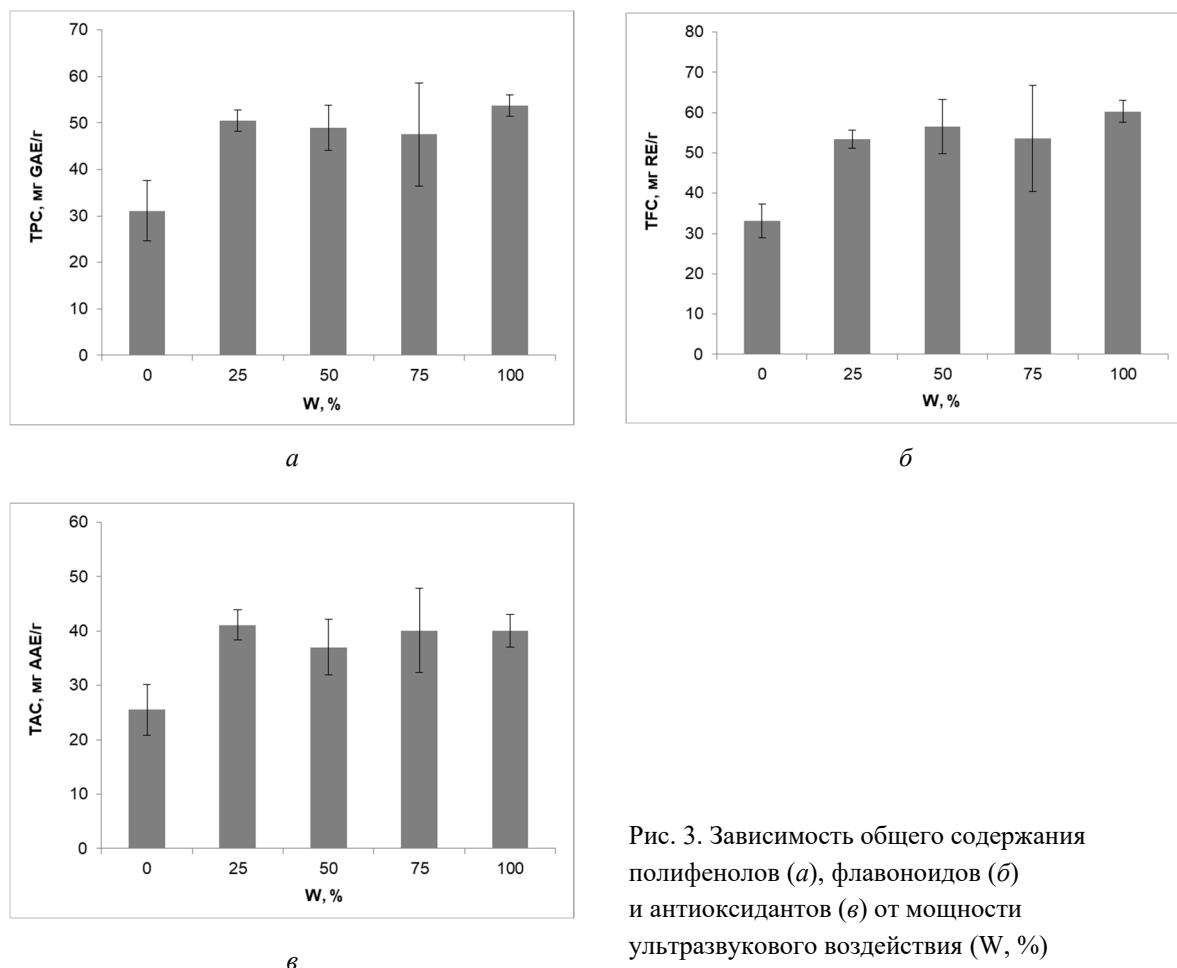


Рис. 3. Зависимость общего содержания полифенолов (*а*), флавоноидов (*б*) и антиоксидантов (*в*) от мощности ультразвукового воздействия (W, %)

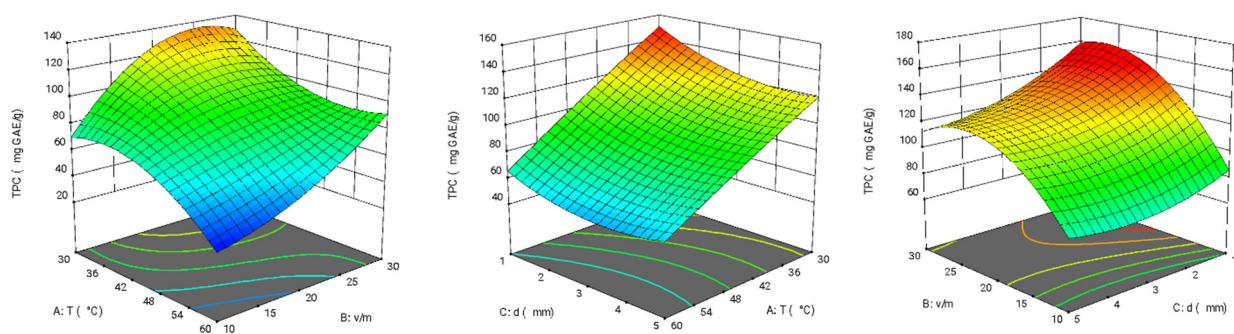


Рис. 4. Поверхность отклика общего содержания полифенолов от температуры (*A*), гидромодуля (*B*) и диаметра частиц растительного сырья (*C*)

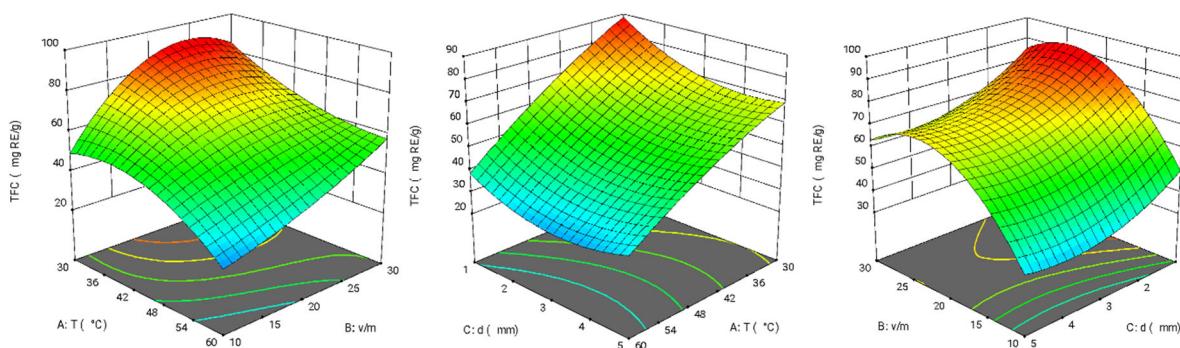


Рис. 5. Поверхность отклика общего содержания флавоноидов от температуры (*A*), гидромодуля (*B*) и диаметра частиц растительного сырья (*C*)

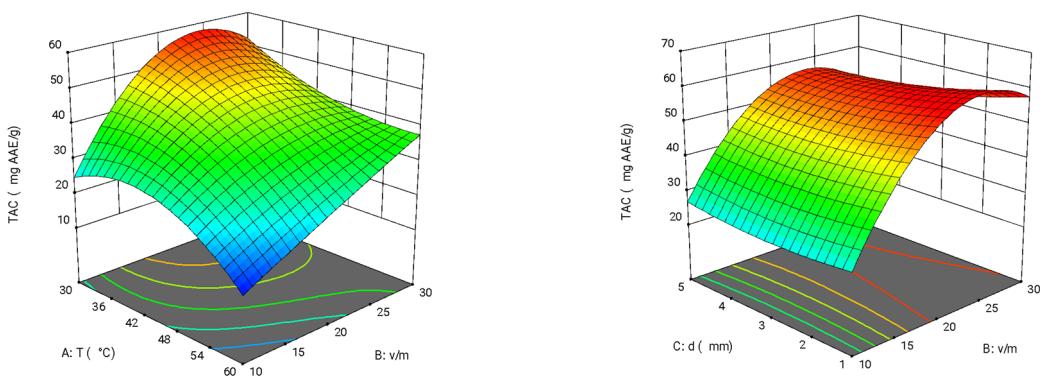


Рис. 6. Поверхность отклика общей антиоксидантной активности от температуры (*A*), гидромодуля (*B*) и диаметра частиц растительного сырья (*C*). Представлены поверхности в двух наборах координат, поскольку терм АС отсутствует в модели

Таблица 2. Результаты дисперсионного анализа для уравнения поверхности отклика общего содержания полифенолов

Источник вариации	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>
<i>Model</i>	3300.04	11	300.00	99.04	<0.0001
<i>A-T</i>	1428.84	1	1428.84	471.72	<0.0001
<i>B-v/m</i>	141.61	1	141.61	46.75	0.0010
<i>C-d</i>	210.13	1	210.13	69.37	0.0004
<i>AB</i>	1.10	1	1.10	0.36	0.5726
<i>AC</i>	22.09	1	22.09	7.29	0.0428
<i>BC</i>	68.89	1	68.89	22.74	0.0050
<i>A²</i>	2.14	1	2.14	0.7057	0.4392
<i>B²</i>	93.51	1	93.51	30.87	0.0026
<i>C²</i>	101.61	1	101.61	33.55	0.0022
<i>A²B</i>	155.76	1	155.76	51.42	0.0008
<i>AB²</i>	173.91	1	173.91	57.42	0.0006
<i>Residual</i>	15.14	5	3.03		
<i>Lack of Fit</i>	4.20	1	4.20	1.54	0.2828
<i>Pure Error</i>	10.94	4	2.74		
<i>Cor Total</i>	3315.18	16			

Таблица 3. Результаты дисперсионного анализа для уравнения поверхности отклика общего содержания флавоноидов

Источник вариации	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>
<i>Model</i>	4471.58	11	406.51	113.97	<0.0001
<i>A-T</i>	1896.60	1	1896.60	531.76	<0.0001
<i>B-v/m</i>	190.44	1	190.44	53.39	0.0008
<i>C-d</i>	328.96	1	328.96	92.23	0.0002
<i>AB</i>	1.56	1	1.56	0.4381	0.5373
<i>AC</i>	40.32	1	40.32	11.31	0.0201
<i>BC</i>	7.84	1	7.84	2.20	0.1983
<i>A²</i>	41.25	1	41.25	11.57	0.0192
<i>B²</i>	337.65	1	337.65	94.67	0.0002
<i>C²</i>	282.77	1	282.77	79.28	0.0003
<i>A²B</i>	157.53	1	157.53	44.17	0.0012
<i>AB²</i>	290.41	1	290.41	81.42	0.0003
<i>Residual</i>	17.83	5	3.57		
<i>Lack of Fit</i>	4.06	1	4.06	1.18	0.3385
<i>Pure Error</i>	13.77	4	3.44		
<i>Cor Total</i>	4489.42	16			

Таблица 4. Результаты дисперсионного анализа для уравнения поверхности отклика общей антиоксидантной активности

Источник вариации	SS	df	MS	F	P-value
<i>Model</i>	2341.31	10	234.13	56.47	<0.0001
<i>A-T</i>	897.00	1	897.00	216.36	<0.0001
<i>B-v/m</i>	158.76	1	158.76	38.29	0.0008
<i>C-d</i>	25.56	1	25.56	6.17	0.0476
<i>AB</i>	0.7225	1	0.7225	0.1743	0.6909
<i>BC</i>	17.64	1	17.64	4.25	0.0847
<i>A²</i>	36.52	1	36.52	8.81	0.0250
<i>B²</i>	302.07	1	302.07	72.86	0.0001
<i>C²</i>	12.60	1	12.60	3.04	0.1319
<i>A²B</i>	95.91	1	95.91	23.13	0.0030
<i>AB²</i>	132.85	1	132.85	32.04	0.0013
<i>Residual</i>	24.88	6	4.15		
<i>Lack of Fit</i>	18.78	2	9.39	6.17	0.0600
<i>Pure Error</i>	6.09	4	1.52		
<i>Cor Total</i>	2366.18	16			

Таблица 5. Сравнение расчетных и экспериментальных данных об общем содержании полифенолов, флавоноидов и общей антиоксидантной активности экстрактов листьев борщевика Сосновского, полученных при оптимальных условиях

TPC _{calc}	TPC _{exp}	TFC _{calc}	TFC _{exp}	TAC _{calc}	TAC _{exp}
80.6	58.3±1.4	90.0	56.9±3.2	61.2	46.7±0.6

Выходы

1. Была изучена оптимизация водно-спиртовой экстракции биологически активных веществ из листьев борщевика Сосновского (*Heracleum sosnówskyi* Manden.). С помощью однофакторной оптимизации найдено, что оптимальное время экстракции составило 90 мин, концентрация этанола – 80%, мощность ультразвука – 100%.

2. С помощью алгоритма Бокса-Бенкена подобраны оптимальные условия водно-спиртовой ультразвуковой экстракции полифенольных соединений, флавоноидов, а также антиоксидантной активности из листьев борщевика Сосновского: время экстракции – 90 мин, концентрация этанола – 80%, мощность ультразвука – 120 Вт, температура – 30 °C, соотношение массы сырья к объему экстрагента – 1 : 27, обеспечивающие максимальный выход целевых групп соединений полифенольных соединений, флавоноидов, антиоксидантную активность.

Полученные данные могут быть полезны для дальнейшего изучения особенностей метаболизма изучаемого растения в ключе накопления им полифенольных веществ, флавоноидов и веществ, проявляющих антиоксидантные свойства.

Финансирование

Работа выполнена в рамках темы НИР № FMEZ-2023-0012.

Конфликт интересов

Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Открытый доступ

Эта статья распространяется на условиях международной лицензии Creative Commons Attribution 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), которая разрешает неограниченное использование, распространение и воспроизведение на любом носителе при условии, что вы дадите соответствующие ссылки на автора(ов) и источник и предоставите ссылку на Лицензию Creative Commons и укажете, были ли внесены изменения.

Список литературы

- Сацыпрова И.Ф. Борщевики флоры СССР – новые кормовые растения: перспективы использования в народном хозяйстве. Л., 1984. 218 с.
- Лунева Н.Н. Борщевик Сосновского в России: современный статус и актуальность его скорейшего подавления // Вестник защиты растений. 2013. С. 29–43.

3. Богданов В.Л., Николаев Р.В., Шмелева И.В. Биологическое загрязнение территории экологически опасным растением борщевиком Сосновского // Фундаментальные медико-биологические науки и практическое здравоохранение: сборник научных трудов 1-й Международной телеконференции. Томск, 2010. С. 27–29.
4. Танибергенов Т.Б., Бабушкина А.Е., Васюкова Н.С. Некоторые аспекты доклинического изучения растений рода борщевик (*Heracleum L.*): обзор публикаций // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2018. Т. 21, №10. С. 104–111.
5. Андреева Л.В. Токсические и полезные вещества борщевика Сосновского // Современные тенденции в научном и кадровом обеспечении АПК: материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. Великий Новгород, 2020. С. 324–327.
6. Агеев В.П., Шляпкина В.И., Куликов О.А., Заборовский А.В., Татарина Л.А. Качественный и количественный анализ основных производных псoralена сока борщевика Сосновского // Фармацевтическая химия и фармакогностия. 2022. Т. 71, №3. С. 10–17.
7. Юрлова Л.Ю., Черняк Д.М., Кутовая О.П. Фурокумарины *Heracleum Sosnowskyi* и *Heracleum MoellenDorffii* // Тихоокеанский медицинский журнал. 2013. №2. С. 91–93.
8. Ткаченко К.Г. Род *Heracleum L.* – перспективные эфирномасличные растения // Научный и инновационный потенциал развития производства, переработки и применения эфирномасличных и лекарственных растений: материалы Международной научно-практической конференции. Симферополь, 2019. С. 88–92.
9. Ламан Н.А., Копылова Н.А., Прохоров В.Н. Борщевик Сосновского (*Heracleum Sosnowskyi Manden*) как перспективный источник биологически активных соединений // Клеточная биология и биотехнология растений. 2018. С. 41–42.
10. Kozlova S.V. Characteristics of the growth and development of seed peas under the action of secondary metabolites of Sosnowsky's hogweed leaves // International Multidisciplinary Scientific GeoConference Surveying Geology and Mining Ecology Management, SGEM. Bulgaria, 2021. Vol. 21, no. 6.1. Pp. 63–70.
11. Жиров В.К., Кислых Е.Е. Структурно-функциональные изменения растительности в условиях техногенного изменения на Крайнем Севере. М., 2007. 164 с.
12. Кершенгольц Б.М. Неспецифические биохимические механизмы адаптации организмов к экстремальным условиям среды // Наука и образование. 1996. Т. 3. С. 130–138.
13. Козлова С.В., Ингири А.А., Цветов Н.С. Содержание биологически активных веществ и антиокислительная активность тканей листьев *Heracleum Sosnowskyi* в Мурманской области // X Международная научная конференция Молодых ученых. Современные тенденции развития технологий здоровьесбережения. М., 2022. С. 167–171.
14. Гордеева Н.И. Особенности динамики метаболизма у листьев растений разных экологических групп в различных условиях освещения // Растительный мир Азиатской России. 2008. №2. С. 67–70.
15. Попова Н.В., Потороко И.Ю. Повышение эффективности экстракции биологически активных веществ из растительного сырья методом ультразвукового воздействия // Вестник ЮУРГУ. Серия: Пищевые и биотехнологии. 2018. Т. 6, №1. С. 14–22.
16. Скрыпник Л.Н., Мельничук Л.Н. Оптимизация условий ультразвуковой экстракции флаваноидов из плодов боярышника // Естественные и технические науки. 2019. №6. С. 31–34.
17. Елапов А.А., Кузнецов Н.Н., Марахова А.И. Применение ультразвука в экстракции биологически активных соединений из растительного сырья, применяемого или перспективного для применения в медицине (обзор) // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2021. Т. 10, №4. С. 96–116.
18. Фабрицкая А.А., Семенихин С.О., Городецкий В.О., Котляревская Н.И., Викторова Е.П. Современные исследования в области экстракции биологически активных веществ из растительного сырья с применением ферментов // Технология продовольственных продуктов. 2021. №17. С. 56–66.
19. Коровкина А.В., Цветов Н.С., Паукшта О.И., Шаварда А.Л., Петрашова Д.А., Жиров В.К. Определение содержания полифенольных компонентов, антиоксидантной и антирадикальной активности этанольных экстрактов растения // Химия растительного сырья. 2021. №3. С. 275–282.
20. Ainsworth E.A., Gillespie K.M. Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using folin–ciocalteu reagent // Nature protocols. 2007. Vol. 2, no. 4. Pp. 875–877.
21. Pekal A.A., Pyrzynska K. Evaluation of aluminium complexation reaction for flavonoid content // Food Anal. Methods. 2014. Pp. 1776–1782.
22. Prieto P., Pineda M., Aguilar M. Spectrophotometric Quantitation of Antioxidant Capacity through the Formation of a Phosphomolybdenum Complex: Specific Application to the Determination of Vitamin E // Anal. Biochem. 1999. Vol. 269, no. 2. Pp. 337–341.
23. Tsvetov N., Paukshta O., Fokina N., Volodina N., Samarov A. Application of Natural Deep Eutectic Solvents for Extraction of Bioactive Components from *Rhodiola rosea* (L.) // Molecules. 2023. Vol. 28, no. 2. P. 912.

Поступила в редакцию 25 сентября 2023 г.

После переработки 2 июля 2024 г.

Принята к публикации 11 октября 2024 г.

Kozlova S.V., Tsvetov N.S. OPTIMIZATION OF THE CONDITIONS OF ULTRASONIC EXTRACTION OF SECONDARY METABOLITES FROM THE LEAVES OF HERACULUM SOSNOWSKYI MANDEN. USING WATER-ETHANOL MIXTURES*

Scientific Center for Medical and Biological Research of Human Adaptation in the Arctic, Kola Science Center of the Russian Academy of Sciences, Fersmana st., 14, Apatity, 184209, Russia, s.kozlova@ksc.ru

The ever-increasing needs of society for biologically active substances (BAS) of plant origin determine the search for promising sources of their production. Biologically active substances of plant origin have medicinal properties, which is associated with their great physiological activity. BAS are analogues of synthetic drugs and are used in the pharmacological industry. The accumulation of biologically active substances in plants under extreme conditions established in many works justifies their study in northern conditions.

Sosnovsky's hogweed (*Heracleum sosnóvskii* Manden.) is a large herbaceous plant that contains a large complex of biologically active substances. Despite the fact that it is on the list of weeds and dangerous plants, some of its metabolites can still find application in the development of new medical and veterinary drugs against vitiligo, nested baldness, baldness, psoriasis, as well as having antimicrobial and fungicidal properties. At the same time, at present, the features of the metabolism of hogweed in the conditions of the Far North have not been studied enough. To accumulate data on the study of these features, it is necessary to select suitable methods and parameters for the extraction of biologically active substances and optimal conditions for screening the analysis of various groups of biologically active substances in the organs of hogweed for a quick and accurate assessment of their content.

The aim of the study was to select the optimal conditions for hydroalcoholic ultrasonic extraction of polyphenolic compounds, flavonoids and antioxidant activity from the leaves of Sosnovsky's hogweed, which grows in the conditions of the Murmansk region.

Using one-way optimization, it was found that the optimal extraction time was 90 minutes, the ethanol concentration was 80%, and the ultrasound power was 100%. Using the Box-Behnken algorithm, the optimal conditions for hydroalcoholic ultrasonic extraction of polyphenolic compounds, flavonoids, as well as antioxidant activity from the leaves of Sosnowski's hogweed were selected: temperature – 30 °C, ethanol concentration 80%, raw material to extractant ratio – 1 : 24, time – 90 min, providing the maximum yield of polyphenolic compounds (%), flavonoids (%), antioxidant activity (%). The regression equation was calculated, reflecting the dependence of the yield of polyphenols and flavonoids on the extraction factors.

Keywords: Sosnovsky's hogweed, ultrasonic extraction, Box-Behnken algorithm, Murmansk region.

For citing: Kozlova S.V., Tsvetov N.S. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2024, no. 4, pp. 213–223. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.20240413600.

References

1. Satsyperova I.F. *Borshcheviki flory SSSR – novyye kormovyye rasteniya: perspektivy ispol'zovaniya v narodnom khozyaystve*. [Hogweeds of the USSR flora – new forage plants: prospects for use in the national economy]. Leningrad, 1984, 218 p. (in Russ.).
2. Luneva N.N. *Vestnik zashchity rasteniy*, 2013, pp. 29–43. (in Russ.).
3. Bogdanov V.L., Nikolayev R.V., Shmeleva I.V. *Fundamental'nyye mediko-biologicheskiye nauki i prakticheskoye zdra-vookhraneniye: sbornik nauchnykh trudov 1-y Mezhdunarodnoy telekonferentsii*. [Fundamental medical and biological sciences and practical health care: collection of scientific papers of the 1st International teleconference]. Tomsk, 2010, pp. 27–29. (in Russ.).
4. Tanibergenov T.B., Babushkina A.Ye., Vasyukova N.S. *Voprosy biologicheskoy, meditsinskoy i farmatsevticheskoy khimii*, 2018, vol. 21, no. 10, pp. 104–111. (in Russ.).
5. Andreyeva L.V. *Sovremennyye tendentsii v nauch-nom i kadrovom obespechenii APK: materialy Vserossiyskoy nauchno-prakticheskoy konferentsii s mezdu-narodnym uchastiem*. [Modern trends in scientific and personnel support of the agro-industrial complex. Proceedings of the All-Russian scientific and practical conference with international participation]. Velikiy Novgorod, 2020, pp. 324–327. (in Russ.).
6. Ageyev V.P., Shlyapkina V.I., Kulikov O.A., Zaborovskiy A.V., Tatarina L.A. *Farmatsevticheskaya khimiya i farmakognoziya*, 2022, vol. 71, no. 3, pp. 10–17. (in Russ.).
7. Yurlova L.Yu., Chernyak D.M., Kutovaya O.P. *Tikhookeanskiy meditsinskiy zhurnal*, 2013, no. 2, pp. 91–93. (in Russ.).
8. Tkachenko K.G. *Nauchnyy i innovatsionnyy potentsial razvitiya proizvodstva, pererabotki i primeneniya esfirno-maslichnykh i lekarstvennykh rasteniy: materialy Mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii*. [Scientific and innovative potential for the development of production, processing and use of essential oil and medicinal plants. Proceedings of the International scientific and practical conference]. Simferopol', 2019, pp. 88–92. (in Russ.).
9. Laman N.A., Kopylova N.A., Prokhorov V.N. *Kletochnaya biologiya i biotekhnologiya rasteniy*, 2018, pp. 41–42. (in Russ.).
10. Kozlova S.V. *International Multidisciplinary Scientific GeoConference Surveying Geology and Mining Ecology Management, SGEM*. Bulgaria, 2021, vol. 21, no. 6.1, pp. 63–70.
11. Zhirov V.K., Kislykh Ye.Ye. *Strukturno-funktional'nyye izmeneniya rastitel'nosti v usloviyah tekhnogenного izmeneniya na Kraynem Severe*. [Structural and functional changes in vegetation under conditions of technogenic changes in the Far North]. Moscow, 2007, 164 p. (in Russ.).
12. Kershengol'ts B.M. *Nauka i obrazovaniye*, 1996, vol. 3, pp. 130–138. (in Russ.).

* Corresponding author.

13. Kozlova S.V., Ingiri A.A., Tsvetov N.S. *X Mezhdunarodnaya nauchnaya konfe-rentsiya Molodykh uchenykh. Sovremen-nye tendentsii razvitiya tekhnologiy zdorov'yesberezheniya.* [X International Scientific Conference of Young Scientists. Modern trends in the development of health-preserving technologies]. Moscow, 2022, pp. 167–171. (in Russ.).
14. Gordeyeva N.I. *Rastitel'nyy mir Aziatskoy Rossii*, 2008, no. 2, pp. 67–70. (in Russ.).
15. Popova N.V., Potoroko I.Yu. *Vestnik YuURGU. Seriya: Pishchevyye i biotekhnologii*, 2018, vol. 6, no. 1, pp. 14–22. (in Russ.).
16. Skrypnik L.N., Mel'nichuk L.N. *Yestestvennyye i tekhnicheskiye nauki*, 2019, no. 6, pp. 31–34. (in Russ.).
17. Yelapov A.A., Kuznetsov N.N., Marakhova A.I. *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv*, 2021, vol. 10, no. 4, pp. 96–116. (in Russ.).
18. Fabritskaya A.A., Semenikhin S.O., Gorodetskiy V.O., Kotlyarevskaya N.I., Viktorova Ye.P. *Tekhnologiya prodo-vol'stvennykh produktov*, 2021, no. 17, pp. 56–66. (in Russ.).
19. Korovkina A.V., Tsvetov N.S., Paukshto O.I., Shavarda A.L., Petrushova D.A., Zhirov V.K. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2021, no. 3, pp. 275–282. (in Russ.).
20. Ainsworth E.A., Gillespie K.M. *Nature protocols*, 2007, vol. 2, no. 4, pp. 875–877.
21. Pękal A.A., Pyrzynska K. *Food Anal. Methods*, 2014, pp. 1776–1782.
22. Prieto P., Pineda M., Aguilar M. *Anal. Biochem.*, 1999, vol. 269, no. 2, pp. 337–341.
23. Tsvetov N., Paukshto O., Fokina N., Volodina N., Samarov A. *Molecules*, 2023, vol. 28, no. 2, p. 912.

Received September 25, 2023

Revised July 2, 2024

Accepted October 11, 2024

Сведения об авторах

Козлова Светлана Владимировна – младший научный сотрудник лаборатории медицинских и биологических технологий, s.kozlova@ksc.ru

Цветов Никита Сергеевич – заведующий лабораторией медицинских и биологических технологий, tsvet.nik@mail.ru

Information about authors

Kozlova Svetlana Vladimirovna – Junior Researcher, Laboratory of Medical and Biological Technologies, s.kozlova@ksc.ru

Tsvetov Nikita Sergeevich – Head of the Laboratory of Medical and Biological Technologies, tsvet.nik@mail.ru