

ЕҢБЕК ҚЫЗЫЛ ТУ ОРДЕНДІ
«Ә. Б. БЕКТҰРОВ АТЫНДАҒЫ
ХИМИЯ ҒЫЛЫМДАРЫ ИНСТИТУТЫ»
АКЦИОНЕРЛІК ҚОҒАМЫ

ҚАЗАҚСТАННЫҢ ХИМИЯ ЖУРНАЛЫ

ХИМИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ КАЗАХСТАНА

CHEMICAL JOURNAL of KAZAKHSTAN

АКЦИОНЕРНОЕ ОБЩЕСТВО
ОРДЕНА ТРУДОВОГО КРАСНОГО ЗНАМЕНИ
«ИНСТИТУТ ХИМИЧЕСКИХ НАУК
им. А. Б. БЕКТУРОВА»

3 (71)

ИЮЛЬ – СЕНТЯБРЬ 2020 г.
ИЗДАЕТСЯ С ОКТЯБРЯ 2003 ГОДА
ВЫХОДИТ 4 РАЗА В ГОД

АЛМАТЫ
2020

В. Д. НАЗАРОВА, Н. С. САЛИКОВА, А. У. БЕКТЕМИСОВА

Северо-Казахстанский государственный университет им. М. Козыбаева,
Петропавловск, Республика Казахстан

ВЫДЕЛЕНИЕ И ИДЕНТИФИКАЦИЯ ФЛАВОНОИДОВ ИЗ РАСТЕНИЯ *Linosyris villosa*

Аннотация. Исследование посвящено актуальной теме – выделению и идентификации биологически активных веществ флавоноидной структуры в растительном сырье Казахстана, с целью дальнейшего применения растений в фитохимии и в медицине. Наличие биологически активных веществ в различных растениях установлено и издавна применяется для лечения различных заболеваний. Список флавоноидов растительного происхождения постоянно расширяется и уточняется их биологическая активность. Объектом исследования являлось растение *Linosyris villosa*, произрастающее в Северном Казахстане и собранное в фазу цветения. Изучение качественного и количественного состава биологически активных веществ растения *Linosyris villosa*, произрастающего в Северном Казахстане осуществляется впервые. В исследовании применяли методы двумерной и одномерной бумажной хроматографии, адсорбционной хроматографии на колонках, газовой хроматографии, ИК-спектроскопии.

Получили экстракты из растения (гексановый, этанольный и водно-спиртовой) и изучили на присутствие флавоноидов с помощью качественных реакций. В полученных экстрактах определили количество экстрактивных веществ. Установили, что 70%-ый спирт является наилучшим экстрагентом веществ из растения *Linosyris villosa*. На оксиде алюминия отделили агликоны от всех присутствующих в экстракте веществ. В составе агликонов выявили кемпферол, кверцетин, мирицетин.

Ключевые слова: растение *Linosyris villosa*, флавоноиды, бумажная хроматография, разделение на сорбентах, качественный и количественный анализ, кемпферол, кверцетин, мирицетин, экстрактивные вещества.

Актуальность. Перспективными в настоящее время являются исследования по поиску и применению местного растительного сырья в медицине, фармакологии, косметологии, а также в качестве источника биомассы для корма сельскохозяйственных животных. Растительные материалы, пригодные для таких целей должны быть безопасными и обладать определенной биологической активностью. Исследования биологически активных компонентов растительного материала показывают, что из вторичных метаболитов растений, повсеместно встречаются в фотосинтезирующих клетках – биофлавоноиды. Флавоноиды могут быть использованы в качестве уникального компонента в борьбе с различными заболеваниями человека.

Список растительных флавоноидов постоянно расширяется, так в [1, 2] количество изученных растительных флавоноидов насчитывают около 6000. Nayat M., Abbas M., Munir F. в работе [3] пишут о регистрации 6500 разновидностей флавоноидов.

Механизмы действия флавоноидов все еще уточняются. Спектр их биологической активности постоянно пополняется новыми данными. Однако имеются сведения, что ответственность за различные фармакологические действия флавоноидов несет их полифенольная структура, то есть наличие в их структуре гидроксильных групп, благодаря которым существует возможность связывания свободных радикалов или хелатирования ионов металлов.

Известно, что некоторые флавонолы и флавоны, содержащие кратные связи, могут действовать в качестве преимущественных ингибиторов циклооксигеназы [4]. Эти данные были подтверждены для флавонолов, флавонов, флаванонов и изофлавонов. Это открытие привело к разработке селективных ингибиторов циклооксигеназ, которые представляют собой класс соединений с хорошей противовоспалительной активностью и уменьшенными желудочно-кишечными побочными эффектами [5].

Флавоноиды являются наиболее широко распространенными природными вторичными метаболитами, которые обладают широким спектром мощных физиологических активностей [6-10]. Установлено, что флавоноиды проявляют противовирусную, антигепатотоксическую, терапевтическую, антибактериальную и другие активности [11-14].

Флавоноиды обеспечивают защиту организма человека от многих заболеваний, таких как рак, сердечно-сосудистые и респираторные заболевания, артрит и раннее старение. Флавоноиды оказывают благоприятные биохимические и антиоксидантные эффекты, связанные с различными заболеваниями, такими, как болезнь Альцгеймера, атеросклероз [15, 16].

Учеными ведутся работы по выделению флавоноидов в новом растительном сырье и изучению их биологической активности. Химический состав и биологическая активность растения *Linosyris villosa*, произрастающего на территории Северного Казахстана, изучается впервые.

Объектом исследования являлось растение *Linosyris villosa*, произрастающее в Северном Казахстане и собранное в фазу цветения. Влажность сырья – 8,10%, зольность сырья – 4,45%.

Цель исследования – выделение, установление строения и изучение биологической активности флавоноидов присутствующих в экстрактах растения *Linosyris villosa*.

Методы исследования: двумерная и одномерная бумажная хроматография, адсорбционная хроматография на колонках, газовая хроматография, ИК-спектроскопия. Экстракцию биологически активных веществ из растения вели в аппарате Сокслета с применением различных растворителей. В процессе выполнения эксперимента для разделения флавоноидов, содержащихся в экстрактах растения *Linosyris villosa*, применяли адсорбенты: оксид алюминия и полиамид (капрон).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Предварительная экстракция растения Linosyris villosa гексаном. Методом мацерации получили гексановый экстракт, который исследовали.

методом двумерной бумажной хроматографии в системе БУВ в соотношении (4:1:5) (I) и 2% уксусной кислоте (II). На хроматограмме обнаружили одно вытянутое пятно, которое в системе (I) имело $R_f = 0,89$, а в системе (II) $R_f = 0,00$. В УФ-свете пятно флюоресцировало желтым цветом, а в парах аммиака приобретало ярко желтую окраску.

*Получение спиртового экстракта из растения *Linosyris villosa*.* Сырье, после обработки гексаном, экстрагировали 96%-ым этанолом в аппарате Сокслета (при температуре 30°C). Получили экстракт желтоватого цвета, который исследовали методом двумерной бумажной хроматографии в системе (I) и (II). На хроматограмме обнаружили 6 пятен: пятно 1 флюоресцировало в УФ свете желто-зеленым цветом; пятно 2 – желтым; пятно 4 и 5 – коричневым; пятно 3 – фиолетовым; пятно 6 не флюоресцировало. Затем хроматограмму выдерживали в парах аммиака. Пятна 1, 2, 4, 5, 6 приобретали желтую окраску, а пятно 3 не проявлялось.

Одновременно провели экстракцию цветов растения спиртом в течение 7 часов методом мацерации. Спиртовый экстракт так же изучили методом двумерной бумажной хроматографии в системе (I) и (II). На хроматограмме так же обнаружили 6 пятен. При сравнении хроматограмм спиртовых экстрактов установили, что пятна спиртового экстракта предварительно не обработанного гексаном, были более вытянуты, менее четки, что свидетельствовало о наличии в экстракте различной природы липидов, смол, жиров, которые не позволяли четко проявиться пятнам на хроматограмме, поэтому в дальнейшем вели дробную экстракцию сырья.

*Получение водно-спиртового экстракта из растения *Linosyris villosa*.* Цветы растения *Linosyris villosa* (после гексана и спирта) экстрагировали 70%-ым этанолом. Водно-спиртовый экстракт упаривали досуха, получили коричневый осадок, который растворяли в спирте и исследовали методом двумерной бумажной хроматографии в системе (I) и (II). На хроматограмме обнаружили пять пятен. Результаты хроматографии приведены в таблице 1.

Таблица 1 – Результаты хроматографии водно-спиртового экстракта

Номера пятен	Системы растворителей, значения R_f	
	БУВ (4 : 1 : 5) (I)	2%-ая уксусная кислота (II)
1	0,52	0,00
2	0,85	0,00
3	0,70	0,22
5	0,27	0,25
6	0,54	0,55

Согласно цели исследования, полученные экстракты (гексановый, этанольный и водно-спиртовый) изучили на присутствие флавоноидов с помощью качественных реакций (таблица 2).

Таблица 2 – Качественное исследование экстрактов

Экстракт	Окраска при применении реактива:				
	NH ₃ (пары)	AlCl ₃ 1%-ый спирт. р-р	Pb(CH ₃ COO) ₂ 1%-ый водн. р-р	нингидрин 1%-ый спиртовый раствор	ЖАК 1%-ый водный раствор
Гексановый	желтая	желтая	желтая	–	–
96%-ый этанол	желтая	желтая	желтая	фиолетовая	зеленая
70%-ый этанол	желтая	желтая	желтая	фиолетовая	зеленая

Анализируя результаты, представленные в таблице 2, сделали вывод, что флавоноиды содержатся во всех экстрактах, полученных из растения *Linosyris villosa*.

В полученных растворах (гексан, этанол, водный спирт) определили количество экстрактивных веществ (таблица 3).

Таблица 3 – Количество экстрактивных веществ в зависимости от растворителя

Органы растения	Содержание экстрактивных веществ в растворах (%)		
	гексан	96%-ый этанол	70%-ый спирт
Растение в целом	3,79	10,10	16,88

Полученные экспериментальные данные свидетельствуют, что 70%-ый спирт является наилучшим экстрагентом веществ из растения *Linosyris villosa*.

Разделение веществ на колонке с оксидом алюминия привело к формированию четырех фракций, которые исследовали методом двумерной бумажной хроматографии в системах (I) и (II).

Разделение веществ на колонке с полисорбтом привело к формированию 4-х фракций, которые также исследовали методом двумерной бумажной хроматографии в системах (I) и (II). Установили, что разделения веществ на полисорбе не произошло.

Разделение веществ водно-спиртового экстракта вели на колонке с капроном. Водно-спиртовой экстракт упаривали досуха, растворяли в 96%-ом спирте и наносили на колонку с капроном. Элюирование вели водой, спиртом и водным спиртом. Собрали 4 фракции: фракция 1 – водный элюат; фракция 2 – спиртовой элюат; фракции 3, 4 – водно-спиртовой элюат. Полученные фракции также исследовали методом двумерной бумажной хроматографии в системах (I) и (II).

Анализируя результаты двумерной бумажной хроматографии, полученные на оксиде алюминия, полисорбе и капроне, пришли к заключению, что наилучшие результаты разделения веществ водно-спиртового экстракта из растения *Linosyris villosa* достигнуты на оксиде алюминия и капроне.

Следовательно, в дальнейшем для разделения веществ флавоноидной природы в качестве адсорбента использовали оксид алюминия и капрон.

Исследование водно-спиртового экстракта. Водно-спиртовой экстракт темно-желтого цвета, полученный из растения *Linosyris villosa*, упаривали досуха. Получили зеленоватый осадок, который последовательно обрабатывали следующими растворителями: хлороформом, бензолом, этилацетатом, ацетоном, этанолом, эфиром, бутанолом (схема).

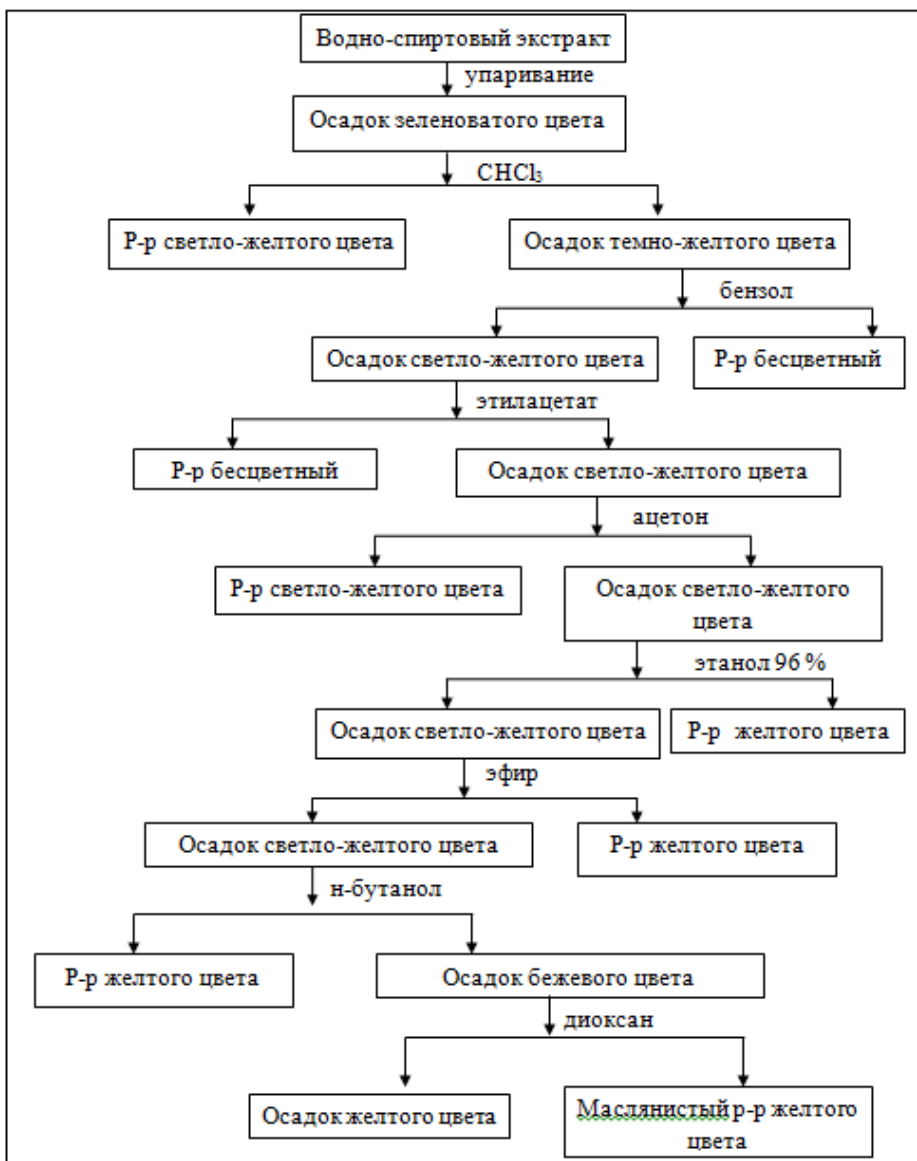


Схема дробной экстракции водно-спиртового экстракта из растения *Linosyris villosa*

Осадок темно-желтого цвета обрабатывали бензолом. Получили бесцветный экстракт, который так же исследовали в системах (I) и (II). На хроматограмме не обнаружили никаких веществ.

Оставшийся после обработки бензолом осадок светло-желтого цвета многократно обрабатывали этилацетатом. Этилацетатный экстракт исследовали методом двумерной бумажной хроматографии в системах (I) и (II). На хроматограмме не обнаружили никаких веществ.

Осадок светло-желтого цвета обработали ацетоном, получили экстракт желтого цвета, который так же исследовали методом двумерной бумажной хроматографии в системах (I) и (II), на хроматограмме обнаружили 5 пятен.

Светло-желтый осадок, после обработки хлороформом, бензолом, этилацетатом и ацетоном, обработали 96%-ым этиловым спиртом. Получили светло-желтый раствор, который исследовали методом двумерной бумажной хроматографии в системах (I) и (II), на хроматограмме обнаружили 4 пятна.

Оставшийся светло-желтый осадок, обработали диэтиловым эфиром. Получили раствор желтого цвета, который исследовали методом двумерной бумажной хроматографии в системах (I) и (II), на хроматограмме обнаружили 3 пятна.

Осадок светло-желтого цвета многократно обработали н-бутанолом. Получили раствор светло-желтого цвета и осадок бежевого цвета. В бутанольном экстракте обнаружили три вещества, в количественном отношении их содержание было незначительным, поэтому в дальнейшем с данным экстрактом не работали.

Экстракты эфирный и бутанольный по качественному составу были идентичны.

Осадок, после обработки хлороформом, бензолом, этилацетатом, ацетоном, спиртом, эфиром и н-бутанолом, экстрагировали диоксаном. Получили маслянистую жидкость светло-желтого цвета, которую исследовали методом двумерной бумажной хроматографии в системах (I) и (II). Хроматограмму выдерживали в парах аммиака. Пятно 1 проявлялось ярко-желтым цветом, а пятно 2 слабо желтым. Предполагаем, что пятно 3 представляет собой смесь веществ, гликозидов флавоноидной природы и эфирного масла, а пятно 1 представляет собой смесь агликонов флавоноидной природы.

Исследование осадка. Оставшийся осадок так же исследовали методом двумерной бумажной хроматографии в системах I и II. На хроматограмме обнаружили 4 пятна.

Разделение флавоноидов осадка осуществили на оксиде алюминия и полиамиде (капрон). Получили 2 фракции, изучили методом двумерной бумажной хроматографии в системах растворителей (I) и (II). На хроматограмме идентифицировали хлорофилл и агликоны флавоноидной природы. Для разделения хлорофилла и агликона фракцию 1 упаривали досуха, многократно обрабатывали горячей дистиллированной водой ($t = 85^{\circ}\text{C}$), наблюдали появление вязкой массы, которую отфильтровывали, сушили на воздухе, растворяли в спирте и хроматографировали в системах (I) и (II).

Полученное пятно красновато-оранжевого цвета соответствовало хлорофиллу.

Водный фильтрат желтого цвета упаривали досуха, получили осадок желто-зеленого цвета, который исследовали методом двумерной бумажной хроматографии в системах (I) и (II). Полученное пятно соответствовало агликону – кемпферолу, который в растении *Linomyris villosa* нами был идентифицирован ранее [17, 18].

Следовательно, на оксиде алюминия можно отделить агликоны от всех присутствующих в экстракте веществ.

Колонку, заполненную капроном, элюировали сначала водой до отрицательной реакции с α -нафтолом, а затем спиртом. Собрали 2 фракции и изучили методом двумерной бумажной хроматографии в системах растворителей (I) и (II). На хроматограмме фракции 1 в УФ-свете наблюдали одно пятно, которое имело $R_f = 0,60$ в системе (I) и $R_f = 0,30$ в системе (II). Пятно 1 в УФ-свете флюоресцировало синеватым цветом. Предположили, что это вещество является фенолокислотой.

На двумерной хроматограмме фракции 2 наблюдали одно вытянутое пятно в системе (I) $R_f = 0,80$, а в системе (II) $R_f = 0,00$. По положению на хроматограмме вещество отнесли к агликону флавоноидной природы. Сравнение агликона с метчиком кверцетина показало, что они идентичны, поэтому дальнейшее исследования не проводили. Кверцетин в растении *Linomyris villosa* нами был изучен ранее [19, 20].

Для разделения агликонов и гликозидов флавоноидной природы на капроне использовали колонку $h = 30$ см, $d = 1,0$ см, которую на $2/3$ заполняли капроном. В колонку вносили спиртовой раствор осадка.

Элюирование колонки водой вели до отрицательной реакции с α -нафтолом. Затем колонку промывали 96%-ым этанолом. Собрали 4 фракции по 5 мл. Каждую фракцию изучили методом двумерной бумажной хроматографии. Во фракции 4 присутствовал агликон, который представлял интерес для дальнейшего исследования. Фракцию наносили на колонку с оксидом алюминия, элюировали абсолютным спиртом. Элюат упаривали досуха и многократно кристаллизовали из 80%-го этанола.

Получили кристаллы желтоватого цвета с температурой плавления равной 318-320°C. Вещество исследовали методом двумерной бумажной хроматографии в системах (I) и (II). Получили одно пятно с $R_f = 0,50$ в системе (I) и $R_f = 0,00$ в системе (II). Для полученного агликона сняли ИК-спектр в таблетках КВг.

В ИК-спектре присутствовали полосы поглощения в области 1650 см^{-1} , соответствующие колебаниям карбонильной групп (C=O); и в области 3450 см^{-1} соответствующие гидроксильным группам (-OH); в области $2850, 2940\text{ см}^{-1}$, соответствующее колебаниям (C-H) ароматического цикла; в области $1480, 1520, 1610\text{ см}^{-1}$, соответствующие колебания (C=C) ароматического кольца. Полученное вещество изучили методом одномерной бумажной хроматографии в системе (I) в сравнении с метчиком – мирицетин (пред-

варительно многократно перекристализованный). Вещества оказались идентичными.

Таким образом, на основании температуры плавления, качественных реакций, сравнения с метчиком – мирицетином, литературных данных и ИК-спектроскопии, полученный агликон идентифицировали как мирицетин.

Известна биологическая активность кверцетина, флавоноидное ядро которого способно к гликозилированию, также как и другие подобные флавоноидные гликозиды (кемпферол, рутин, катехин, эпикатехин, мирицетин, антоцинидины и лютеолин) [21-23]. Установлено, что агликоны флавоноидной природы кверцетин, мирицетин способны к ингибированию фермента ацетилхолинэстеразы [24, 25], защищающих липопротеины низкой плотности от окислительной модификации [26], и проявляют противовоспалительные свойства [27].

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Dixon R., Pasinetti G. Flavonoids and isoflavonoids: from plant biology to agriculture and neuroscience // *Plant Physiol.* – 2010. – № 154. – P. 453-457.
- [2] Kumar S., Pandey A. Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview // *Scientific World Journal.* – 2013. – P. 162-750.
- [3] Hayat M., Abbas M., Munir F. Potential of plant flavonoids in pharmaceuticals and nutraceuticals // *J. Biomol. Biochem.* – 2017. – № 1(1). – P. 12-17.
- [4] Kujubu D., Fletcher B., Varnum B. TIS10, a phorbol ester tumor promoter-inducible mRNA from Swiss 3T3 cells, encodes a novel prostaglandin synthase/cyclooxygenase homologue // *J. Biol. Chem.* – 1991. № 266. – P. 12866-12872.
- [5] Wu C., Wu S., Chung W. Antiplatelet effect and selective binding to cyclooxygenase (COX) by molecular docking analysis of flavonoids and lignans // *Int. J. Mol. Sci.* – 2007. – № 8. – P. 830-841.
- [6] Borevitz J.O., Xia Y., Blount J., Dixon R.A., Lamb C. Activation tagging identifies a conserved MYB regulator of phenylpropanoid biosynthesis // *Plant Cell.* – 2000. – № 12. – P. 2383-2394.
- [7] Falcone Ferreyra M.L., Casas M.I., Questa J., Herrera L., Deblasio S., Wang J., Jackson D., Grotewold E., Casati P. Evolution and expression of tandem duplicated maize flavonol synthase genes // *Front. Plant Sci.* – 2012. – № 3: 101. doi: 10.3389/fpls.2012.00101.
- [8] Ferreyra M.L.F., Rius S.P., Emiliani J., Pourcel L., Feller A., Morohashi K., Casati P., Grotewold E. Cloning and characterization of a UV-B-inducible maize flavonol synthase // *Plant. J.* – 2010. – № 62. – P. 77-91.
- [9] Feild T.S., Lee D.W., Holbrook N.M. Why leaves turn red in autumn. The role of anthocyanins in senescing leaves of red-osier dogwood // *Plant Physiol.* – 2001. – № 127. – P. 566-574.
- [10] Bovy A.G., De Vos R., Kemper M., Schijen E., Pertejo M.A., Muir S.R., Collins G., Robinson S., Verhoeyen M., Hughes S. High flavonol tomatoes resulting from the heterologous expression of the maize transcription factor genes Lc and C1 // *Plant Cell.* 2002. № 14. P. 2509-2526.
- [11] Feller A., Machemer K., Braun E.L., Grotewold E. Evolutionary and comparative analysis of MYB and bHLH plant transcription factors // *Plant J.* – 2011. – № 66. – P. 94-116.
- [12] Bowles D., Isayenkova J., Lim E.K., Poppenberger B. Glycosyltransferases: managers of small molecules // *Curr. Opin. Plant. Biol.* – 2005. – № 8. – P. 254-263.
- [13] Ferrer J., Austin M., Stewart C.J., Noel J. Structure and function of enzymes involved in the biosynthesis of phenylpropanoids // *Plant Physiol. Biochem.* – 2008. – № 46. – P. 356-370.
- [14] Bogs J., Jaffe F.W., Takos A.M., Walker A.R., Robinson S.P. The grapevine transcription factor VvMYBPA1 regulates proanthocyanidin synthesis during fruit development // *Plant Physiol.* – 2007. – № 143. – P. 1347-1361.
- [15] Burak M., Imen Y. Flavonoids and their antioxidant properties // *Turkiye Klin. Tip. Bil. Derg.* – 1999. – № 19. – P. 296-304.

- [16] Ovando C., Hernandez D., Hernandez E. Chemical studies of anthocyanins: a review // *Food. Chem.* – 2009. – № 113. – P. 859-871.
- [17] Назарова В.Д., Бакумова Е.В. Флавоноиды растения *Linosyris villosa* // *Химический журнал Казахстана.* – 2008. – № 2. – P. 348-353.
- [18] Назарова В.Д., Бектемисова А.У., Аханькова Е.В. Полифенолы растения *Linosyris villosa* и их биологическая активность // *Материалы X Международного симпозиума «Фенольные соединения: фундаментальные и прикладные аспекты».* – Москва, 2018. – С. 487-491.
- [19] Аханькова Е.В., Назарова В.Д., Музычкина Р.А. Выделение кверцетина из растения *Linosyris villosa* // *Материалы VII международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы науки и образования в области естественных и сельскохозяйственных наук», посвященной 90-летию академика Ташенова К.* – Петропавловск, 2019. – Т. 1. – С. 132-136.
- [20] Назарова В.Д., Аханькова Е.В., Бектемисова А.У. Extraction of quercetin from *Linosyris villosa* // *Химический журнал Казахстана.* – 2018. – № 2. – С. 158-164.
- [21] Star A.E. Frond exudate flavonoids as allelopathic agents in *Pityrogramma* // *Bull. Torrey Botanical Club.* – 1980. – № 107. – P. 146-153.
- [22] Cooper-Driver G. The role of flavonoids and related compounds in fern systematics // *Bull. Torrey Botanical Club.* – 1980. – № 107. – P. 116-127.
- [23] Kong C.H., Zhao H., Xu X.H., Wang P., Gu Y. Activity and allelopathy of soil of flavone O-glycosides from rice // *J. Agric. Food Chem.* – 2007. – № 55. – P. 6007-6012.
- [24] Khan M.T., Orhan I., Enol S.S. Cholinesterase inhibitory activities of some flavonoid derivatives and chosen xanthone and their molecular docking studies // *Chem. Biol. Interact.* – 2009. – № 181. – P. 383-389.
- [25] Smith R., DeWitt D., Garavito R. Cyclooxygenases: structural, cellular and molecular biology // *Ann. Rev. Biochem.* – 2000. – № 69. – P. 145-182.
- [26] Fuhrman B., Lavy A., Aviram M. Consumption of red wine with meals reduces the susceptibility of human plasma and low-density lipoproteins to lipid peroxidation // *Am. Soc. Nutr.* – 1995. – № 61. – P. 549-554.
- [27] Nishida R. Oviposition stimulant of a Zeryntine swallowtail butterfly, *Luehdorfia japonica* // *Phytochemistry.* – 1994. – № 36. – P. 873-877.

REFERENCES

- [1] Dixon R., Pasinetti G. Flavonoids and isoflavonoids: from plant biology to agriculture and neuroscience // *Plant Physiol.* 2010. № 154. P. 453-457.
- [2] Kumar S., Pandey A. Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview // *Scientific World Journal.* 2013. P. 162-750.
- [3] Hayat M., Abbas M., Munir F. Potential of plant flavonoids in pharmaceuticals and nutraceuticals // *J. Biomol. Biochem.* 2017. № 1(1). P. 12-17.
- [4] Kujubu D., Fletcher B., Varnum B. TIS10, a phorbol ester tumor promoter-inducible mRNA from Swiss 3T3 cells, encodes a novel prostaglandin synthase/cyclooxygenase homologue // *J. Biol. Chem.* 1991. № 266. P. 12866-12872.
- [5] Wu C., Wu S., Chung W. Antiplatelet effect and selective binding to cyclooxygenase (COX) by molecular docking analysis of flavonoids and lignans // *Int. J. Mol. Sci.* 2007. № 8. P. 830-841.
- [6] Borevitz J.O., Xia Y., Blount J., Dixon R.A., Lamb C. Activation tagging identifies a conserved MYB regulator of phenylpropanoid biosynthesis // *Plant Cell.* 2000. № 12. P. 2383-2394.
- [7] Falcone Ferreyra M.L., Casas M.I., Questa J., Herrera L., Deblasio S., Wang J., Jackson D., Grotewold E., Casati P. Evolution and expression of tandem duplicated maize flavonol synthase genes // *Front. Plant Sci.* 2012. № 3: 101. doi: 10.3389/fpls.2012.00101.
- [8] Ferreyra M.L.F., Rius S.P., Emiliani J., Pourcel L., Feller A., Morohashi K., Casati P., Grotewold E. Cloning and characterization of a UV-B-inducible maize flavonol synthase // *Plant. J.* 2010. № 62. P. 77-91.
- [9] Feild T.S., Lee D.W., Holbrook N.M. Why leaves turn red in autumn. The role of anthocyanins in senescing leaves of red-osier dogwood // *Plant Physiol.* 2001. № 127. P. 566-574.

- [10] Bovy A.G., De Vos R., Kemper M., Schijen E., Pertejo M.A., Muir S.R., Collins G., Robinson S., Verhoeven M., Hughes S. High flavonol tomatoes resulting from the heterologous expression of the maize transcription factor genes Lc and C1 // *Plant Cell*. 2002. № 14. P. 2509-2526.
- [11] Feller A., Machemer K., Braun E.L., Grotewold E. Evolutionary and comparative analysis of MYB and bHLH plant transcription factors // *Plant J*. 2011. № 66. P. 94-116.
- [12] Bowles D., Isayenkova J., Lim E.K., Poppenberger B. Glycosyltransferases: managers of small molecules // *Curr. Opin. Plant. Biol.* 2005. № 8. P. 254-263.
- [13] Ferrer J., Austin M., Stewart C.J., Noel J. Structure and function of enzymes involved in the biosynthesis of phenylpropanoids // *Plant Physiol. Biochem.* 2008. № 46. P. 356-370.
- [14] Bogs J., Jaffe F.W., Takos A.M., Walker A.R., Robinson S.P. The grapevine transcription factor VvMYBPA1 regulates proanthocyanidin synthesis during fruit development // *Plant Physiol.* 2007. № 143. P. 1347-1361.
- [15] Burak M., Imen Y. Flavonoids and their antioxidant properties // *Turkiye Klin. Tip. Bil. Derg.* 1999. № 19. P. 296-304.
- [16] Ovando C., Hernandez D., Hernandez E. Chemical studies of anthocyanins: a review // *Food. Chem.* 2009. № 113. P. 859-871
- [17] Nazarova V.D., Bakumova E.V. Flavonoidy rasteniya *Linomyrs villosa* // *Khimicheskiy zhurnal Kazakhstana*. 2008. № 2. P. 348-353.
- [18] Nazarova V.D., Bektemisova A.U., Akhankova E.V. Polifenoly rasteniya *Linomyrs villosa* i ikh biologicheskaya aktivnost // *Materialy X Mezhdunarodnogo simpoziuma «Fenolnyye soyedineniya: fundamentalnyye i prikladnyye aspekty»*. Moskva, 2018. P. 487-491.
- [19] Akhankova E.V., Nazarova V.D., Muzychkina R.A. Vydeleniye kvartetina iz rasteniya *Linomyrs villosa* // *Materialy VII mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii «Aktualnyye problemy nauki i obrazovaniya v oblasti estestvennykh i selskokhozyaystvennykh nauk»*. posvyashchennoy 90-letiyu akademika Tashenova K. Petropavlovsk. 2019. Vol.1. P. 132-136.
- [20] Nazarova V.D., Akhankova E.V., Bektemisova A.U. Extraction of quercetin from *Linomyrs villosa* // *Khimicheskiy zhurnal Kazakhstana*. 2018. № 2. P. 158-164.
- [21] Star A.E. Frond exudate flavonoids as allelopathic agents in *Pityrogramma* // *Bull. Torrey Botanical Club*. 1980. № 107. P. 146-153.
- [22] Cooper-Driver G. The role of flavonoids and related compounds in fern systematics // *Bull. Torrey Botanical Club*. 1980. № 107. P. 116-127.
- [23] Kong C.H., Zhao H., Xu X.H., Wang P., Gu Y. Activity and allelopathy of soil of flavone O-glycosides from rice // *J. Agric. Food Chem.* 2007. № 55. P. 6007-6012.
- [24] Khan M.T., Orhan I., Enol S.S. Cholinesterase inhibitory activities of some flavonoid derivatives and chosen xanthone and their molecular docking studies // *Chem. Biol. Interact.* 2009. № 181. P. 383-389.
- [25] Smith R., DeWitt D., Garavito R. Cyclooxygenases: structural, cellular and molecular biology // *Ann. Rev. Biochem.* 2000. № 69. P. 145-182.
- [26] Fuhrman B., Lavy A., Aviram M. Consumption of red wine with meals reduces the susceptibility of human plasma and low-density lipoproteins to lipid peroxidation // *Am. Soc. Nutr.* 1995. № 61. P. 549-554.
- [27] Nishida R. Oviposition stimulant of a Zeryntine swallowtail butterfly, *Luehdorfia japonica* // *Phytochemistry*. 1994. № 36. P. 873-877.

Резюме

В. Д. Назарова, Н. С. Саликова, А. Э. Бектемисова

LINOSYRIS VILLOSA ӨСІМДІГІНЕН ФЛАВОНОИДТАРДЫ БӨЛІП АЛУ ЖӘНЕ ИДЕНТИФИКАЦИЯЛАУ

Зерттеу өзекті тақырыпқа – Қазақстанның өсімдіктекті шикізатындағы флавоноидты құрылымды биологиялық белсенді заттарды, оларды ары қарай фитохимияда

және медицинада қолдану мақсатында, бөліп алуға және идентификациялауға арналған. Өртүрлі өсімдіктерде биологиялық белсенді заттардың болатыны анықталған және бұрыннан бері әртүрлі аурулардан емдеу үшін қолданылады. Өсімдік текті флавоноидтардың тізімі үнемі кеңейуде және олардың биологиялық белсенділігі анықталуда. Зерттеу нысаны Солтүстік Қазақстанда өсетін және гүлдену фазасында жиналып алынған *Linomyrsin villosa* өсімдігі болды. Солтүстік Қазақстанда өсетін *Linomyrsin villosa* өсімдігінің биологиялық белсенді заттарының сапалық және мөлшерлік құрамын зерттеу алғаш жүзеге асырылып отыр. Зерттеуде екі- және бірөлшемді қағаз хроматографиясы, колонкалардағы адсорбциялық хроматография, газды хроматография, ИҚ-спектроскопия әдістері қолданылды.

Өсімдіктен сығындылар (гександы, этанолды және сулы-спиртті) алынып, сапалық реакциялардың көмегімен флавоноидтардың бар екендігіне зерттелді. Алынған сығындыларда экстрактивті заттардың мөлшері анықталды. 70%-ды спирт *Linomyrsin villosa* өсімдігіндегі заттар үшін ең жақсы экстрагент екені белгілі болды. Алюминий оксидінде агликондарды сығындыда болатын барлық заттардан бөліп алдық. Агликондар құрамында кемпферол, кверцетин, мирицетин айқындалды.

Түйін сөздер: *Linomyrsin villosa* өсімдігі, флавоноидтар, қағаз хроматографиясы, сорбенттерде бөлу, сапалық және мөлшерлік талдау, кемпферол, кверцетин, мирицетин, экстрактивті заттар.

Summary

V. Nazarova, N. Salikova, A. Bektemissova

ISOLATION AND IDENTIFICATION OF FLAVONOIDS FROM LINOMYRSIN VILLOSA PLANT

The study is devoted to an urgent topic - the isolation and identification of biologically active substances of the flavonoid structure in plant materials of Kazakhstan with the aim of further use of plants in medicine and pharmacology. The presence of biologically active substances in various plants has been established and has long been used to treat various diseases. The list of flavonoids of plant origin is constantly expanding and their biological activity is being studied. The object of the study was the plant *Linomyrsin villosa*, growing and harvested in northern Kazakhstan in the flowering phase. The study of the qualitative and quantitative composition of biologically active substances of the *Linomyrsin Villosa* plant growing in Northern Kazakhstan is carried out for the first time. The study applied the methods of two-dimensional and one-dimensional paper chromatography, column adsorption chromatography, gas chromatography, and IR spectroscopy.

Plant extracts (hexane, ethanol, and water-alcohol) were obtained and studied for the presence of flavonoids using qualitative reactions. The amount of extractives was determined in the obtained extracts. Found that 70% alcohol is the best extractant of biologically active substances from the *Linomyrsin villosa* plant. Aglycones from all substances present in the extract were separated by alumina separation. As part of the aglycons, kempferol, quercetin, and myricetin were detected.

Keywords: *Linomyrsin Villosa* plant, Flavonoids, Paper Chromatography, Sorbent Separation, Qualitative and Quantitative Analysis, Kempferol, Quercetin, Myricetin, Extractive substances.