ХІМІЧНІ ТЕХНОЛОГІЇ

УДК 615:661.1:582.998:57.086.83

DOI <https://doi.org/10.32838/TNU-2663-5941/2020.6-2/09>

Федоришин О.М.

Національний університет «Львівська політехніка»

Князева К.С.

Національний університет «Львівська політехніка»

Хом'як С.В.

Національний університет «Львівська політехніка»

Петріна Р.О.

Національний університет «Львівська політехніка»

ОПТИМІЗАЦІЯ ОДЕРЖАННЯ ФЛАВОНОЇДІВ І ФЕНОЛЬНИХ СПОЛУК З ЕКСТРАКТІВ БІОМАСИ *CARLINA ACAULIS*

У статті досліджуються екстракти рослинної сировини та калусної біомаси *C. acaulis* на вміст фенольних сполук і флавоноїдів залежно від параметрів процесу екстракції. Вивчено вплив концентрації екстрагенту етанолу, співвідношення сировини до екстрагенту та способу екстракції. Проведено якісні реакції етанольних екстрактів рослинної сировини та калусної біомаси *C. acaulis* на наявність фенольних сполук і флавоноїдів, які підтверджують їх наявність в екстрактах біомаси рослини.

Одержано подрібнену рослинну сировину із ступенем подрібнення 2,0-3,0 мм. Також отримано калусну біомасу *C. acaulis* в умовах *in vitro* на живильному середовищі Мурасиге-Скуга, доповненому регуляторами росту. Отримано з рослинної сировини екстракти із 40% та 70% етанолом, із співвідношенням сировина : екстрагент 1:10 та 1:20 та отримані трьома різними способами, а саме настоюванням, в апараті Сокслета та у колбі при нагріванні та перемішуванні. За допомогою спектрофотометричного методу кількісно визначено в екстрактах наявність фенольних сполук і флавоноїдів. Найвищий вихід фенольних сполук одержано у 70%-му етанолі при співвідношенні сировина : екстрагент 1:10 при використанні методу настоювання та методу в апараті Сокслета – 1,325% та 1,326% відповідно. Найвищий вихід флавоноїдів одержано у 70% етанолі при співвідношенні сировина : екстрагент 1:10 при використанні методу настоювання (1,326%).

Також визначено вміст фенольних сполук і флавоноїдів у екстракті калусної біомаси *C. acaulis* у 70% етанолі при співвідношенні сировина : екстрагент 1:10 при використанні методу настоювання – 1,420% і 1,325% відповідно. Вміст фенольних сполук і флавоноїдів вищий у екстрактах калусної біомаси *C. acaulis*, ніж у екстрактах рослинної сировини. Тому екстракти калусної біомаси можна використовувати як альтернативне джерело фенольних сполук і флавоноїдів при створенні фармацевтичних препаратів, косметичних і гігієнічних засобів із ранозагоювальними, протизапальними та протівірусними властивостями.

Ключові слова: *Carlina acaulis*, метод культури тканин, рослинна біомаса, калусна біомаса, *in vitro*, екстракція, флавоноїди, фенольні сполуки.

Постановка проблеми. Лікарські рослини, як і препарати на їх основі, набувають все більшої популярності. Вторинні метаболіти, які у відповідних кількостях містяться в рослинах, дають їм можливість доповнювати або навіть замінювати хімічно синтезовані речовини.

C. acaulis належить до роду *Carlina* родини Айстрових (*Asteraceae*), який налічує близько 30 видів

рослин, що ростуть у Європі та Азії [1]. До рідкісних видів роду *Carlina* належать *Carlina onopordifolia*, *Carlina cirsioides*, *Carlina acaulis*. До Червоної книги України внесено 2 види – *Carlina cirsioides* Klokov, *Carlina onopordifolia* Besser ex Szafer.

C. acaulis – багаторічна рослина, яка росте на гірських луках у субальпійському та альпійському поясах Карпат, зустрічається в Південній

і Центральній Європі. Наприкінці XIX століття використання лікарської рослини припинилося. Нині інформації про фітохімію та фармакологічну активність цієї рослини є не досить. Є дані про наявність таких рослинних метаболітів як ефірні олії, фенольні кислоти, тритерпени, інουλін та жирні кислоти. Однак це стосується тільки зелених частин рослини. Використання рослини залишається не досить вивченим, оскільки результати досліджень *in vitro* є дуже обмеженими [1].

Фенольні сполуки та флавоноїди є вторинними метаболітами рослин і мають підтверджену високу біологічну активність. Фенольні сполуки беруть участь у процесах росту, розмноження рослин, вироблення стійкості до патогенів, зумовлюють пігментацію листків, стебел, квіток, плодів. Флавоноїди – найчисленніша і найбільш вивчена група рослинних фенолів, вони малотоксичні, виявляють широкий спектр фізіологічної дії на організм людини: беруть участь в окисно-відновних процесах, реакціях імунітету, зумовлюють протизапальну, сенсibilізуючу, протипухлинну дії.

Пошук рослин із високим вмістом фенольних сполук і флавоноїдів та оптимізація процесу екстракції дозволить розширити базу рослинних препаратів із ранозагоювальними, протизапальними та противірусними властивостями.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Аналіз літературних джерел свідчить про бактеріостатичну, бактерицидну, антиоксидантну, протизапальну та протигрибкову дію *C. acaulis* [1–3]. Коріння *C. acaulis* застосовували в медицині з давніх часів, про що свідчать праці Теофраста, Галена, Плінія Старшого та Діоскорида. Рослину *C. acaulis* використовують у народній медицині: відвар з коріння п'ють при простудних захворюваннях, хворобах сечових шляхів і нирок, при болях у шлунку і запаленні легень. Ним лікують ниркові набряки, застосовують як потогінний, сечогінний і протиглислий засіб, для лікування порушень кровообігу, від кишкових паразитів, виразок і отруєнь від укусів змій [1; 2]. Оцтові відвари застосовуються для лікування ран і шкірних розладів [3].

Є повідомлення про використання як зелених частин, так і коріння рослини для відбілювання, що важливо для косметичних цілей завдяки високому рівню хлорогенової кислоти (1,9%) та похідних коричневої кислоти у листі. Також проводилися дослідження щодо цитотоксичності з використанням трьох ліній злоякісної меланоми людини, що продемонструвало цитотоксичну дію екстрактів листя *C. acaulis*, яке індукувало апоптоз клітин меланоми [4].

Оскільки *C. acaulis* має лікарські властивості, цікавою є ідентифікація вторинних метаболітів. Фітохімічний склад *C. acaulis* досліджено не досить. Основний полісахарид – інουλін, який міститься в корінні (приблизно 20%), ефірна олія з різким запахом (вміст у корінні 1-2%). В олії найбільший вміст карлін-оксиду [1–3]. Ідентифіковано й такі сполуки: гептан, бензальдегід, куркумен, слідові кількості лупеолу. Визначено наявність фенольних сполук і пентациклічних тритерпенів у наземних частинах рослини [2].

Ефірна олія коренів *C. acaulis*, яка здебільшого складається із карлін-оксиду, входить як компонент до харчової добавки BELFRIT. Тому були проведені дослідження її на інсектиційну активність проти домашньої мухи, які показали певну гостру токсичність [5]. Також ефірна олія пропонується як інсектицид проти комах-шкідників *Prostephanus truncatus* і *Trogoderma granarium* [6].

Карлін-оксид також був отриманий екстракцією коренів *C. acaulis* в апараті Деринга. Оцінювали його цитотоксичність *in vitro* з використанням ліній людських клітин шкірного покриття та шляхом проведення *in vivo* тесту на рибах данію. Отримані результати показали токсичний вплив карлін-оксиду на клітини культур і живі організми. Автори пропонують виключити з терапевтичного використання екстракти на основі коренів *C. acaulis* через високу токсичність карлін-оксиду [7]. Перспективним є використання ефірних олій із карлін-оксидом в якості пестицидів у вигляді наноемульсії для поліпшення їх стабільності та ефективності. Проведені дослідження показали токсичну дію отриманих наноструктур щодо личинок європейської виноградної молі, яка є шкідником виноградної лози [8].

Трава *C. acaulis* є джерелом хлорогенових кислот, однак коріння не досліджувалося на вміст цих сполук. Зелені частини рослини багаті пентациклічними тритерпенами: урсолова кислота, олеанолова кислота, α -амірин, β -амірин, ацетат лупеолу та β -амірину ацетат. Насіння рослини містить жирні кислота, наприклад лінолеву, пальмітинову, стеаринову, олеїнову кислоти [1]. Ідентифіковано апігенін, лутеолін та їхні глікозиди, які є потужними антиоксидантами [2].

У літературі описано метод отримання екстрактів *C. acaulis* на водяній бані зі зворотним холодильником. Коріння та траву *C. acaulis* сушили при кімнатній температурі, подрібнювали у порошок та двічі екстрагували 70%-им метанолом (співвідношення сировина : розчинник 1:10, мас/об) протягом 30 хвилин. Екстракти фільтрували і випаровували

при пониженому тиску. Вихід екстрактів (вихід розчинних речовин): 21,3% для коріння та 20,0% для трави *C. acaulis* [2]. Фенольні сполуки у досліджуваних зразках були ідентифіковані методом ВЕРХ при 280 нм: хлорогенова кислота, апігенін, апігенін 7-О-глюкозид, вітексин, орієнтин, гомоорієнтин і шафтозид [2]. Для дослідження екстрактів методом ТШХ 20 мл кожного метанольного екстракту наносили на пластини із силікагелем, як елюент використовували суміш етилацетату:мурашиної кислоти:льодяної оцтової кислоти:води у співвідношенні 100:11:11:26, як проявник – поліетиленгліколь (NP/PEG) [2].

У деяких країнах, наприклад Франції та Польщі, цей вид знаходиться під охороною [1], тому доцільним є його культивування в умовах *in vitro* з метою збереження популяції. В Україні нині наявно небагато інформації в літературі про культивування *C. acaulis* в умовах *in vitro*, є доступні дослідження, проведені на нашій кафедрі технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології НУ «Львівська політехніка» [9; 10].

Рослину було введено у культуру *in vitro* та досліджено вплив фітогормонів на ріст калусної біомаси, підібрані оптимальні умови для культивування [9; 10]. Одержаний етанольний екстракт біомаси досліджено на вміст вторинних метаболітів, а саме дубильних речовин, сапонінів, флавоноїдів, полісахаридів, кумаринів, антраценпохідних і виявлено антимікробну активність екстракту щодо стандартних штамів мікроорганізмів *B. licheniformis*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* та клінічного штаму *E. coli* [11].

Також було створено схему стерилізації насіння, отримано калусну біомасу *C. acaulis* та визначено найкращу життєву здатність і швидкість росту при зміні типу експланту, підібрано живильне середовище, яке дозволяє отримувати максимальний приріст біомаси. Визначено вміст флавоноїдів і дубильних речовин, проведено порівняльну характеристику екстрактів із калусної біомаси та рослини з природи на вміст біологічно активних речовин. Проведено визначення антиоксидантної активності екстрактів методом з використанням ДФПГ і отримано позитивні результати, які вказують на те, що екстракти виявляють антиоксидантну активність [12].

Було проведено мікроклональне розмноження та досліджено калусогенез у деяких рослин роду *Carlina*. Підібрано умови та розроблено схеми вкорінення отриманих мікроклінів *in vitro* [13]. Було проведено дослідження по впливу срібла як токсичного металу в різних концентраціях на ріст стебла і кореня *Carlina acaulis*. Досліджено

зміни в кількості вторинних метаболітів, зокрема карлін-оксиду, фенольних сполук і тритерпенової кислоти при різних рівнях Ag (I) стресу [14].

Постановка завдання. В основу роботи покладено визначення оптимальних параметрів процесу екстракції біомаси рослинної сировини та калусної біомаси *C. acaulis*, які забезпечать максимальний вихід фенольних сполук і флавоноїдів.

Виклад основного матеріалу дослідження. Для експерименту використано *C. acaulis*, зібрану в природних місцях зростання (Сколівський район, Львівська область) у липні-серпні 2019 року, та калусну біомасу *C. acaulis*, одержану в умовах *in vitro* на живильному середовищі Мурасиге-Скуга, доповненому регуляторами росту [9; 10].

Відомо, що на процес екстракції впливає багато чинників, але даних щодо впливу екстракції на вміст флавоноїдів і фенольних сполук у екстрактах *C. acaulis* є не досить, вони не є систематизованими. Тому вивчено вплив таких технологічних чинників як спосіб екстракції, співвідношення сировина : екстрагент і концентрація екстрагента.

Спочатку брали рослинну сировину, подрібнювали і просіювали її крізь сито з розміром отворів 3,0 мм. З літератури відомо, що найоптимальшим ступенем подрібнення сировини є 2,0-3,0 мм, оскільки частинки з меншим ступенем подрібнення можуть закупорювати фільтри на етапі фільтрації екстрактів на виробництві. Для наступних дослідів брали по 10,0 г/5,0 г наважки і додавали 70% і 40%-ий розчини етанолу, настоювали їх 7 діб. Ці розчини паралельно екстрагували у колбах на магнітній мішалці протягом 1 год. при нагріванні до 40°C зі зворотнім холодильником і в апараті Сокслета. Отримані екстракти фільтрували через паперовий складчастий фільтр у мірну колбу, стандартизували та визначали вміст фенольних сполук і флавоноїдів (табл. 1).

Для оптимізації екстракції як екстрагенти було взято 70% і 40%-ий розчини етанолу. Екстракцію було проведено методом настоювання, використовуючи співвідношення 1:10 і 1:20. З усіма отриманими екстрактами проведено якісні кольорові реакції, які дали позитивні результати на наявність фенольних сполук і флавоноїдів.

Кількісні визначення вмісту фенольних сполук і флавоноїдів було проведено за модифікованими методиками на спектрофотометрі UNILab 108UV. Статистичну обробку результатів проводили, використовуючи t- критерій Стюдента. Вміст фенольних сполук у досліджуваних екстрактах визначали спектрофотометрично з використанням реагенту Фоліна-Чекольтеу та виражали у % (табл. 1).

До 2 мл екстракту додавали 1 мл реагенту Фоліна-Чекольтеу, 10 мл води, перемішували, доводили до 25 мл розчином натрію карбонату і перемішували. Паралельно готували розчин зі стандартним зразком галоїдної кислоти. Розчини витримували 30 хв і вимірювали оптичну густину на спектрофотометрі за довжини хвилі 760 нм у кюветі з товщиною шару 10,0 мм. Загальний фенольний вміст у досліджуваних екстрактах становив від 0,203% до 1,326%. Отримані результати вмісту флавоноїдів у досліджуваних екстрактах, визначених за допомогою спектрофотометричного методу, подано в табл. 1.

Вміст суми флавоноїдів у досліджуваних екстрактах визначали спектрофотометрично з хлоридом алюмінію у перерахунок на рутин при довжині хвилі 430 нм. До 1 мл екстракту додавали 5,0 мл 70%-го етанолу, 5,0 мл 5%-го розчину алюміній хлориду в етанолі, 2,0 мл 5%-ої оцтової кислоти в етанолі, доводили до 25 мл етанолом і перемішували. Паралельно готували розчин зі стандартним зразком рутину. Розчини витримували 30 хв і вимірювали оптичну густину на спектрофотометрі за довжини хвилі 760 нм у кюветі з товщиною шару 10,0 мм. Загальний вміст флавоноїдів у досліджуваних екстрактах становив від 0,180% до 0,852%.

Отримані результати вмісту флавоноїдів у досліджуваних екстрактах, визначених за допомогою спектрофотометричного методу, подано в табл. 1.

Результати досліджень залежності вмісту фенольних сполук у екстрактах з різним співвідношенням сировина : екстрагент показують, що найкращі результати отримано при використанні співвідношення 1:10. При екстракції методом

настоювання та в апараті Сокслета близькі значення – 1,325%; 1,326%. При використанні співвідношення 1:20 спостерігаємо нижчі показники в усіх досліджуваних екстрактах. Пропонується й надалі використовувати для вилучення фенольних сполук співвідношення сировина : екстрагент 1:10.

Аналіз результатів досліджень залежності вмісту фенольних сполук в екстрактах із різною концентрацією екстрагенту показує, що найкращий вихід фенольних сполук відбувається при використанні 70%-го етанолу для будь-якого із використаних способів екстракції. Найвищі показники виходу фенольних сполук при використанні 70%-го етанолу – 1,326% при екстракції в апараті Сокслета, а найнижчі – 0,954% при екстракції в колбі з нагріванням і перемішуванням.

Результати досліджень залежності вмісту фенольних сполук від способу екстракції показують, що це несуттєво впливає на їх вихід, але найоптимальнішими є метод настоювання і метод в апараті Сокслета. Менші результати були отримані після проведення екстракції у колбі при перемішуванні та нагріванні.

Результати досліджень залежності вмісту флавоноїдів у досліджуваних екстрактах *C. acaulis* є дуже схожими з результатами по вмісту фенольних сполук. При екстракції з використанням співвідношення сировина : екстрагент 1:20 із таблиці видно, що у всіх досліджуваних екстрактах менші значення. При використанні співвідношення 1:10 найвищі показники (0,852%) були отримані при використанні методу настоювання та 70%-го етанолу. Пропонується й надалі використовувати саме такі умови екстракції.

Таблиця 1

Загальний вміст фенолів і флавоноїдів в екстрактах рослинної сировини *C. acaulis*, $\bar{x} \pm \Delta x$ (n=3)

Спосіб екстракції	Екстрагент	Співвідношення сировина: екстрагент	Вміст вторинних метаболітів, %	
			сума фенольних сполук	сума флавоноїдів
Настоювання	40% етанол	1:10	0,826±0,088	0,736±0,021
		1:20	0,623±0,052	0,612±0,035
	70% етанол	1:10	1,325±0,045	0,852±0,010
		1:20	1,284±0,024	0,420±0,018
В апараті Сокслета	40% етанол	1:10	0,918±0,021	0,382±0,012
		1:20	0,858±0,064	0,374±0,026
	70% етанол	1:10	1,326±0,035	0,724±0,061
		1:20	1,281±0,057	0,430±0,092
У колбі при перемішуванні	40% етанол	1:10	0,564±0,064	0,135±0,024
		1:20	0,203±0,043	0,128±0,013
	70% етанол	1:10	0,954±0,092	0,329±0,006
		1:20	0,765±0,078	0,180±0,052

Загальний вміст фенолів і флавоноїдів в екстрактах калусної біомаси *C. acaulis*, $\bar{x} \pm \Delta x$ (n=3)

Спосіб екстракції	Екстрагент	Співвідношення сировина : екстрагент	Вміст вторинних метаболітів, %	
			сума фенольних сполук	сума флавоноїдів
Настоювання	70% етанол	1:10	1,420±0,015	0,893±0,008

Результати досліджень залежності вмісту флавоноїдів у екстрактах із різною концентрацією екстрагенту показують, що найкращий вихід флавоноїдів відбувається при використанні 70%-го етанолу для будь-якого із використаних способів екстракції. Результати досліджень залежності вмісту флавоноїдів від способу екстракції показують, що найоптимальнішим є використання методу настоювання. Результат складає 0,852% при використанні 70% етанолу та співвідношенні сировина : екстрагент 1:10. Результати при використанні апарату Сокслета також високі і складають 0,724%. Менші результати було отримано після проведення екстракції у колбі при перемішуванні та нагріванні (0,329%). Надалі пропонується використовувати метод настоювання, який є менш затратним та економічно вигіднішим, ніж використання апарату Сокслета, тому що він не потребує використання додаткових матеріалів, посуду та електроенергії.

Визначивши оптимальні параметри екстракції для вилучення загальних фенольних сполук і флавоноїдів, було проведено екстракцію калусної біомаси *C. acaulis* методом настоювання протягом 7 діб із 70%-им етанолом при співвідношенні 1:10. Результати визначення фенольних сполук і флавоноїдів в отриманому екстракті наведені у табл. 2.

Результати вмісту фенольних сполук і флавоноїдів у екстрактах калусної біомаси *C. acaulis* свідчать, що досліджені екстракти мають високий вміст фенольних сполук і флавоноїдів, які навіть перевищують їхню кількість у рослинах із при-

роди. Фенольних сполук виявлено 1,420% порівняно з екстрактами із рослини з природи при тих же умовах екстракції – 1,325%. Флавоноїдів у екстрактах калусної біомаси виявлено 0,893% порівняно із флавоноїдами у екстрактах із природної сировини – 0,852%. Тому екстракти калусної біомаси *C. acaulis* можна використовувати як сировину для подальших досліджень зі створення препаратів із ранозагоювальними, протизапальними та противірусними властивостями, якими володіють фенольні сполуки та флавоноїди.

Висновки. Для досягнення найбільшого виходу фенольних сполук і флавоноїдів із рослинної сировини *C. acaulis* оптимальним екстрагентом є 70%-ий етанол, співвідношення сировина : екстрагент 1:10 і використання методу настоювання. Також можна використовувати апарат Сокслета, але це збільшить витрати та ресурси. Вміст вторинних метаболітів підтверджено за допомогою спектрофотометричних досліджень.

Використання як сировини калусної біомаси *C. acaulis* підтверджує наявність фенольних сполук і флавоноїдів у екстрактах біомаси. Використання біомаси, одержаної в умовах *in vitro*, може бути альтернативним джерелом при розробці оптимальних умов одержання максимального виходу фенольних сполук і флавоноїдів при створенні фармацевтичних препаратів, косметичних і гігієнічних засобів, оскільки вміст фенольних сполук і флавоноїдів є таким самим, а у деяких випадках він навіть перевищує кількість, ніж у природній сировині.

Список літератури:

1. Strzemiński M., Wójciak-Kosior M., Sowa I., Załuski D., Verpoorte R. Historical and traditional medical applications of *Carlina acaulis* L. A critical ethnopharmacological review. *Journal of Ethnopharmacology*. 2019. V. 239. 111842. doi.org/10.1016/j.jep.2019.111842.
2. Dordevic S., Tadic V., Petrovic S., Kukic-Markovic J., Dobric S., Milenkovic M., Hadzifejzovic N. Bioactivity assays on *Carlina acaulis* and *C. acanthifolia* root and herb extracts. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*. 2012. V. 7. № 3. P. 1213–1222.
3. Link P., Roth K., Sporer F., Wink M. *Carlina acaulis* exhibits antioxidant activity and counteracts. A toxicity in *Caenorhabditis elegans*. *Molecules and Cells*. 2016. V. 21(7). P. 1–10. doi.org/10.3390/molecules21070871.
4. Strzemiński M., Wojnicki K., Sowa I., Wojas-Krawczyk K., Krawczyk P., Kocjan R., Such J., Latalski M., Wnorowski A., Wójciak-Kosior M. In Vitro Antiproliferative Activity of Extracts of *Carlina acaulis* subsp. *caulescens* and *Carlina acanthifolia* subsp. *utzka*. *Front. Pharmacol.* 2017. V. 8. P. 371. doi: 10.3389/fphar.2017.00371.
5. Pavela R., Maggi F., Petrelli R., Cappellacci L., Buccioni M., Palmieri A., Canale A., Benelli G. Outstanding insecticidal activity and sublethal effects of *Carlina acaulis* root essential oil on the housefly, *Musca domestica*,

with insights on its toxicity on human cells. *Food and Chemical Toxicology*. 2020. doi: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2019.111037>.

6. Kavallieratos N.G., Boukouvala M.C., Ntalli N., Skourti A. et al. Effectiveness of eight essential oils against two key stored-product beetles, *Prostephanus truncatus* (Horn) and *Trogoderma granarium* Everts. *Food and Chemical Toxicology*. 2020. V. 139. 111255. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2020.111255>.

7. Wnorowski A., Wnorowska S., Wojas-Krawczyk K., Grenda A. Toxicity of Carlina Oxide – A Natural Polyacetylene from the *Carlina acaulis* Roots – In Vitro and in Vivo Study. *Toxins*. 2020. 12. 239. doi: 10.3390/toxins12040239.

8. Benelli G., Pavoni L., Zeni V., Ricciardi R., Cosci F. et al. Developing a Highly Stable Carlina acaulis Essential Oil Nanoemulsion for Managing Lobesia botrana. *Nanomaterials*. 2020. V. 10. 1867. doi: 10.3390/nano10091867.

9. Петріна Р., Конечна Р., Побігушка О., Матвійків С. Введення в культуру *in vitro* відкасника безстеблевого. Вісник Національного університету «Львівська політехніка». Серія: Хімія, технологія речовин та їх застосування. 2013. № 761. С. 169–172.

10. Петріна Р.О., Конечна Р.Т., Федорова О.В., Побігушка О.Р., Матвійків С.О., Новіков В.П. Одержання культури тканин відкасника безстеблевого (*Carlina acaulis*) – джерела біологічно активних сполук. *Актуальні проблеми синтезу і створення нових біологічно-активних сполук і фармацевтичних препаратів* : матеріали доповідей і збірник наукових статей (Львів, 23-25 квітня 2013 року). Львів : Видавництво Львівської політехніки, 2013. С. 63–64.

11. Конечна Р., Петріна Р., Новіков В., Конечний Ю., Шикла Р., Корнійчук О. Дослідження екстрактів калусної біомаси *Carlina acaulis*. *Український фармацевтичний журнал*. 2015. Т. 4 (39). С. 57–61.

12. Konechna R., Khropot O., Petrina R., Kurka M., Gubriy Z., Novikov V. Research of antioxidant properties of extracts of the plants and the callus biomass. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 2017. V. 10(7). P. 182–185.

13. Кравець Н., Тулайдан Н., Мосула М., Дробик Н. Мікроклональне розмноження та калюсогенез деяких видів роду *Carlina* L. *Фактори експериментальної еволюції організмів*. 2018. Т. 22. С. 274–281.

14. Dresler S., Hawrylak-Nowak B., Strzemski M. et al. Metabolic Changes Induced by Silver Ions in *Carlina acaulis*. *Plants*. 2019. V. 8. 517. doi: 10.3390/plants8110517.

Fedoryshyn O.M., Kniazieva K.S., Khomyak S.V., Petrina R.O.

OPTIMIZATION OF OBTAINING OF FLAVONOIDS AND PHENOLIC COMPOUNDS FROM EXTRACTS OF BIOMASS CARLINA ACAULIS

Content of phenolic compounds and flavonoids in extracts of plant raw materials and callus biomass of C. acaulis depending on the parameters of the extract process was investigate in article. The influence of ethanol extractant concentration, raw material: extractant ratio and extraction methods was studied. Qualitative reactions of ethanolic extracts of plant raw materials and callus biomass of C. acaulis for present of phenolic compounds and flavonoids were carried out, which confirm their presence in plant biomass extracts.

The crushed plant of raw materials with a degree of crushing of 2,0-3,0 mm was obtained. Callus biomass of C. acaulis was also obtained in vitro on Murasige-Skuga living medium supplemented with growth regulator. Raw extracts of plant with 40% and 70% ethanol content, with the ratio of raw material : extractant 1:10 and 1:20 and with three different ways: infusion, in Soxhlet extractor and in the flask with heating and stirring were obtained. Quantification of phenolic compounds and flavonoids in the extracts by the spectrophotometric method were performed. The highest yield of phenolic compounds in 70% ethanol with a ratio of raw materials: extractant 1:10 when using the method of infusion and the method in Soxhlet extractor was 1,325% and 1,326%, respectively.

The highest yield of flavonoids in 70% ethanol with a ratio of raw materials : extractant 1:10 when using the method of infusion was 1,326%. The content of phenolic compounds and flavonoids in extracts of callus biomass of C. acaulis in 70% of ethanols with a ratio of raw material : extractant 1:10 using the infusion method was 1,420% and 1,325% respectively. The content of phenolic compounds and flavonoids is higher in callus biomass of C. acaulis than in extracts of plant raw materials. That's why extracts of callus biomass can be used as an alternative source of phenolic compounds and flavonoids when was creating of pharmaceuticals, cosmetics and hygienic products with healing of wounds, antiinflammatory and antiviral properties.

Key words: *Carlina acaulis, method tissue culture, plant biomass, callus biomass, in vitro, extraction, flavonoids, phenolic compounds.*