

Развој на одржлива ензимски потпомогната технологија за екстракција на катехини од *Camellia sinensis* L

Круме Богевски¹, Викторија Максимова¹

¹ Факултет за медицински науки, Универзитет „Гоце Делчев“, Штип, С. Македонија

email: krume.153976@student.ugd.edu.mk



Втор Симпозиум со Меѓународно Учество, „Фармацевтот како алка помеѓу традиционалната и иновативната терапија“

Вовед

Фокусот на фармакогностичките истражувања сè повеќе се насочува кон идентификација и изолација на природни соединенија со потенцијал за превенција и третман на хронични болести, вклучувајќи го и процесот на клеточно стареење. Еден од најистражуваниите природни полифеноли со мултифункционален биолошки потенцијал е епигалокатехин галат (EGCG), кој е доминантна катехинска компонента во листовите од растението *Camellia sinensis* (L.) Kuntze - зелен чај (Carasso et al., 2025).

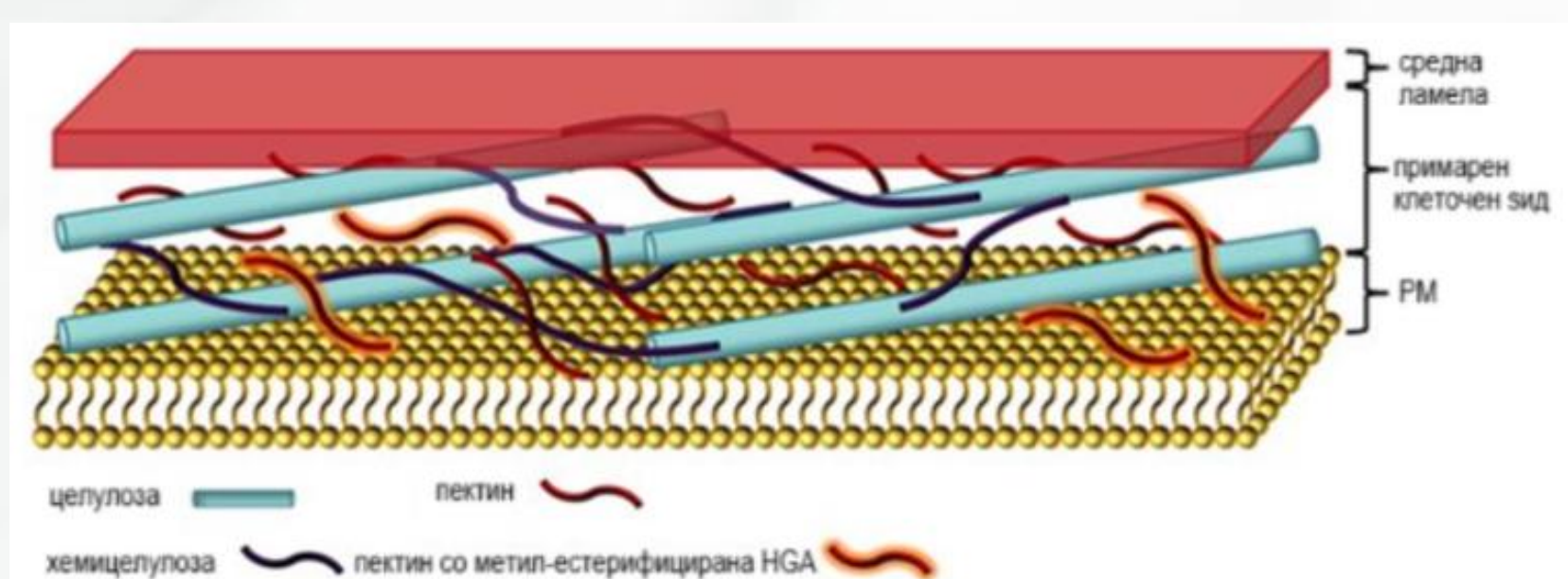
EGCG е познат по својата антиоксидативна, антивоспалителна и антиканцерогена активност (Mokga et al., 2022), но сè поголемо внимание добива и неговиот капацитет за модулација на клеточни сигнални патеки, меѓу кои особено се издвојува активацијата на транскрипцискиот фактор nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (NRF2) (Jiang et al., 2012;29, Sriram et al. 2009). NRF2 игра клучна улога во одржување на редокс хомеостаза, заштита од оксидативен стрес и инхибиција на процеси поврзани со клеточно стареење (сенесценција). Неговата активација претставува една од можните интервенции во инхибиција на стареењето (Schmidlin et al. 2019), што го прави EGCG интересен кандидат за развој на хербални лекови, суплементи и нутрацевтици.

Важност на специфична екстракција на епигалокатехин галат од зелен чај

Овозможува изолација на поединечни соединенија, што овозможува проучување на нивните специфични биолошки активности и механизми на дејство. Со прочистување на катехините од сложени мешавини, може да ги разјасниме нивните фармаколошки својства и да го анализираме нивниот терапевтски потенцијал во различни модели на болести.

Овозможува предвидлива концентрација во полупроизводите и крајните фармацевтски производи. Без разлика на биолошкиот извор, содржината на катехини директно влијае врз нутритивната вредност и здравствените тврдења за производите. Со користење на валидирани методи за екстракцијата, ќе биде полесно да се исполнат регулаторните барања и очекувањата на пациентите од дејството на катехините.

Влијание на пектиназата врз разградбата на клеточниот ѕид и зголемувањето на приносот на епигалокатехин галат (EGCG)



Слика 1. Градбата на клеточниот ѕид кај растителна клетка. Тој е составен од мрежа на микрофибрили од целулоза, хемицелулозни полисахариди и хетерополисахаридот пектин

Очекуваното влијание на употребата на пектиназа е значително зголемување на приносот на EGCG преку следниве механизми:

- Зголемена деградација на клеточната структура, што овозможува поголема достапност на EGCG за растворувачот;
- Намалување на потребата од високи температури или продолжено време на екстракција, со што се минимизира ризикот од термичка деградација на EGCG;
- Подобрување на селективноста, бидејќи ензимската активност овозможува насочено ослободување на интраклеточни катехини со минимално ко-екстрахирање на несакани соединенија.



Слика 2: Зелен чај, *Camellia sinensis* L (извор: Spruce)



Слика 3: Комерцијално достапен зелен чај (Алкалоид АД Скопје)

Материјали и методи

Материјал и реагенси: Како материјал за екстракција се користеше комерцијален зелен чај (Алкалоид АД Скопје), со различните медиуми. Пектиназата (Browin) беше додавана во различни концентрации за процена на ензимската улога во екстракцијата на EGCG.



Слика 4: Уситнување на материјалот, разделување врз основа на големина на честичици и одмерување на растителниот материјал (Bogevski & Maksimova, 2025)

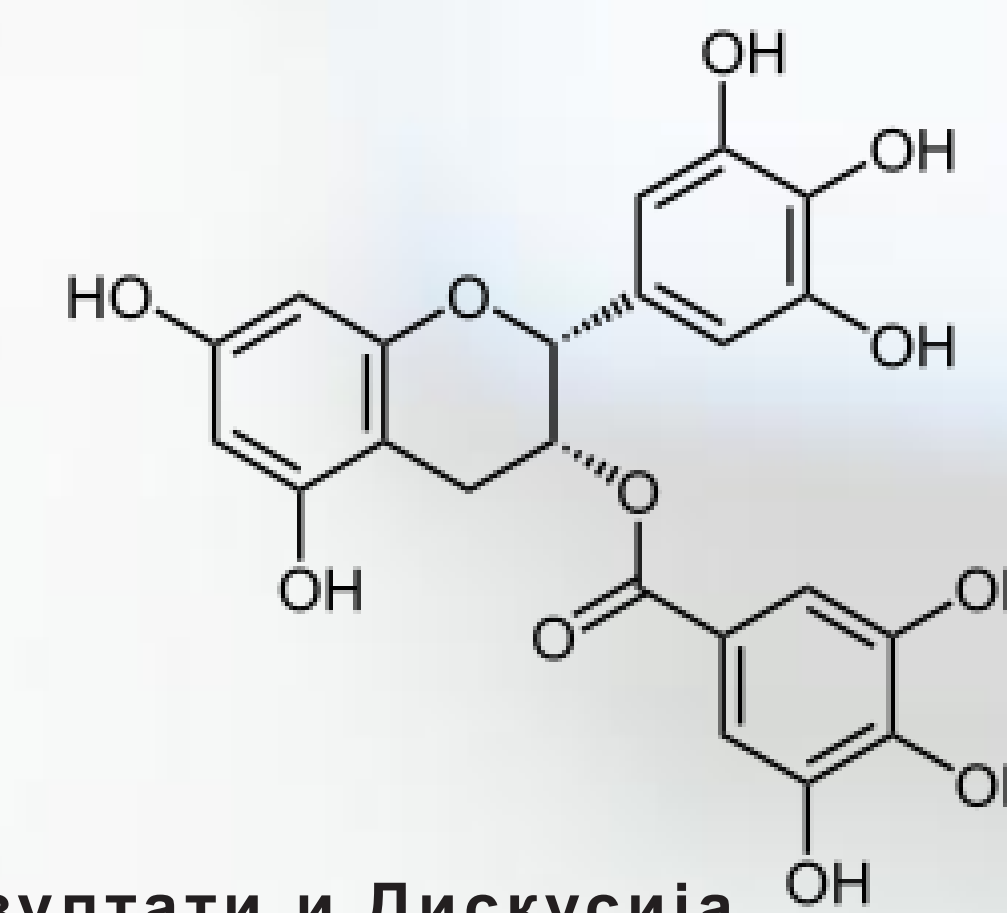
Подготовка на материјал: Растителниот материјал беше уситнет и просеан низ лабораториски сита (2,00 mm; 1,18 mm; 63 µm). За екстракција беше употребена само фракцијата од 1,18 mm.

Методи на екстракција: Експериментите беа изведени со различни медиуми (H₂O, етанол/вода, етанол 96%, глицерол 30%, ацетатен и фосфатен пуфер). Финалниот сет на експерименти: 0,50 g материјал + 30 mL фосфатен пуфер, со додадена пектиназа (0, 100, 200, 300 µL). Екстракцијата се изведе во водена бања на 45 °C, 25 минути.

Анализа: По центрифугирање и филтрација добиените екстракти беа анализирани со UV/VIS спектрофотометар (200–500 nm) за определување на принос на EGCG.



Слика 5 : Центрифугирање, филтрирање и собирање на екстрактите



Слика 6: Хемиска структура на Епигалокатехин Галат (извор: MedChemExpress)

Резултати и Дискусија

Највисок принос без ензим е добиен во воден медиум (A_{max} = 0.898, λ = 272 nm). Етанол 70:30 покажа слична ефикасност, додека апсолутен етанол и 50:50 мешавина беа значително помалку ефективни.

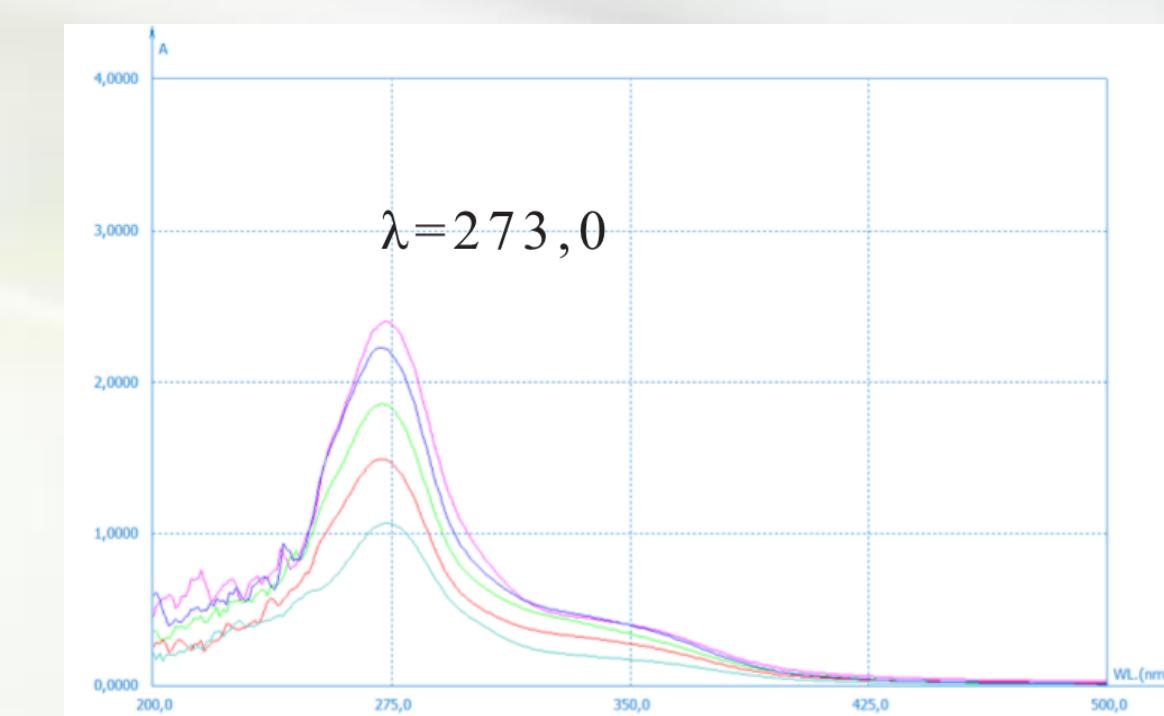


График 1: UV/VIS спектар на екстракти од *Camellia sinensis* L., со примена на пектиназа во различни екстракциони медиуми и различно време за екстракција. Екстракт во глицерол 30%, 20 мин, розова крива. Екстракт во фосфатен пуфер pH=6, 30 мин, сина крива. Екстракт во дестилирана вода 20 мин, зелена крива. Екстракт во фосфатен пуфер pH=6 20 мин, црвена крива. Екстракт во етанол 30% 20 мин, светло сина крива.

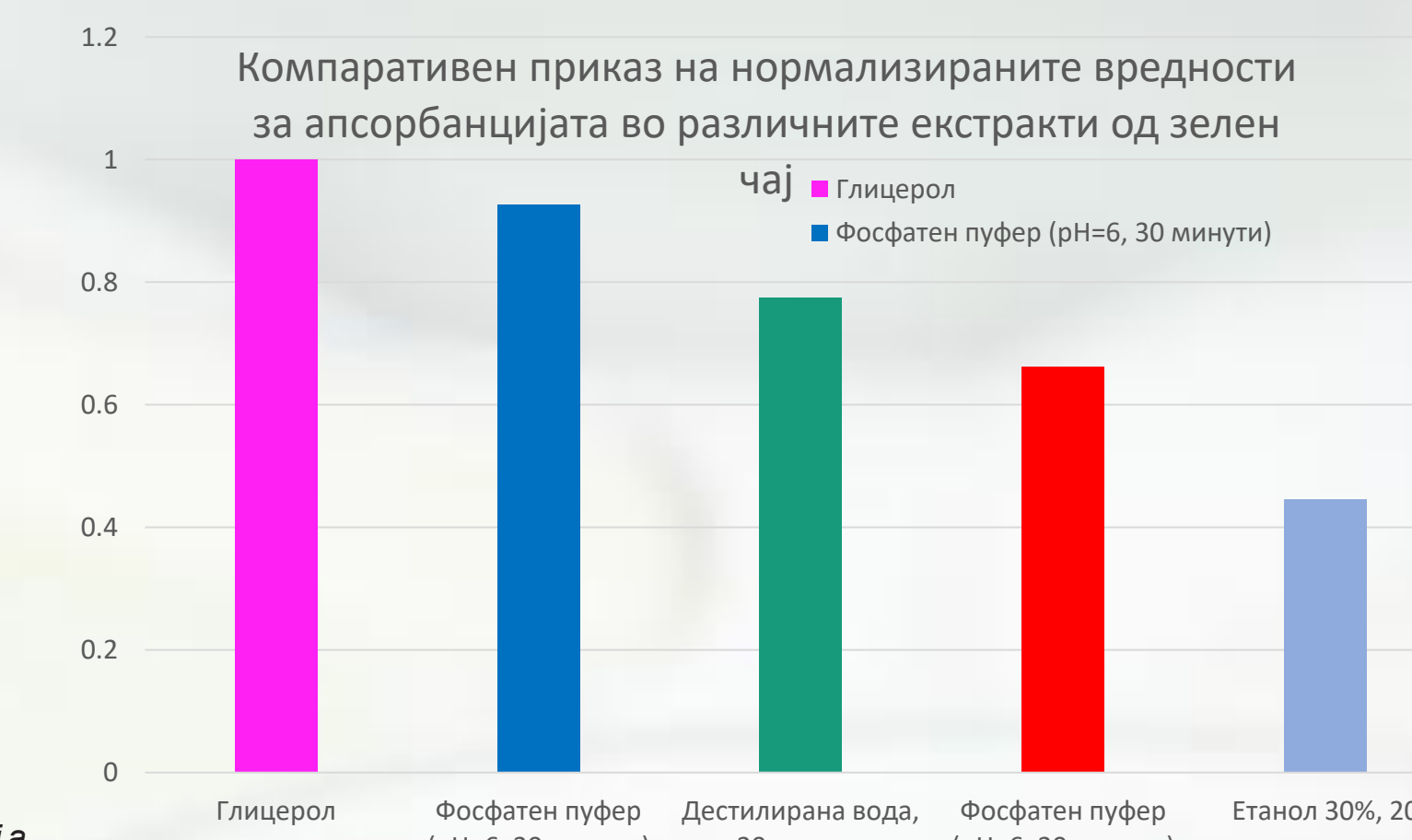


График 2: Компаративен столбест приказ на нормализираните вредности од спектрофотометриска анализа на екстракти добиени од *Camellia sinensis* (L.) со употреба на пектолитички ензими во различни екстракциони медиуми и различно време на екстракција

Ацетатниот пуфер (pH=4.8) доведе до деградација на катехините и беше исклучен од натамошни испитувања. Глицеролот (30%) во комбинација со ниска концентрација на пектиназа даде поволен, но не оптимален резултат.

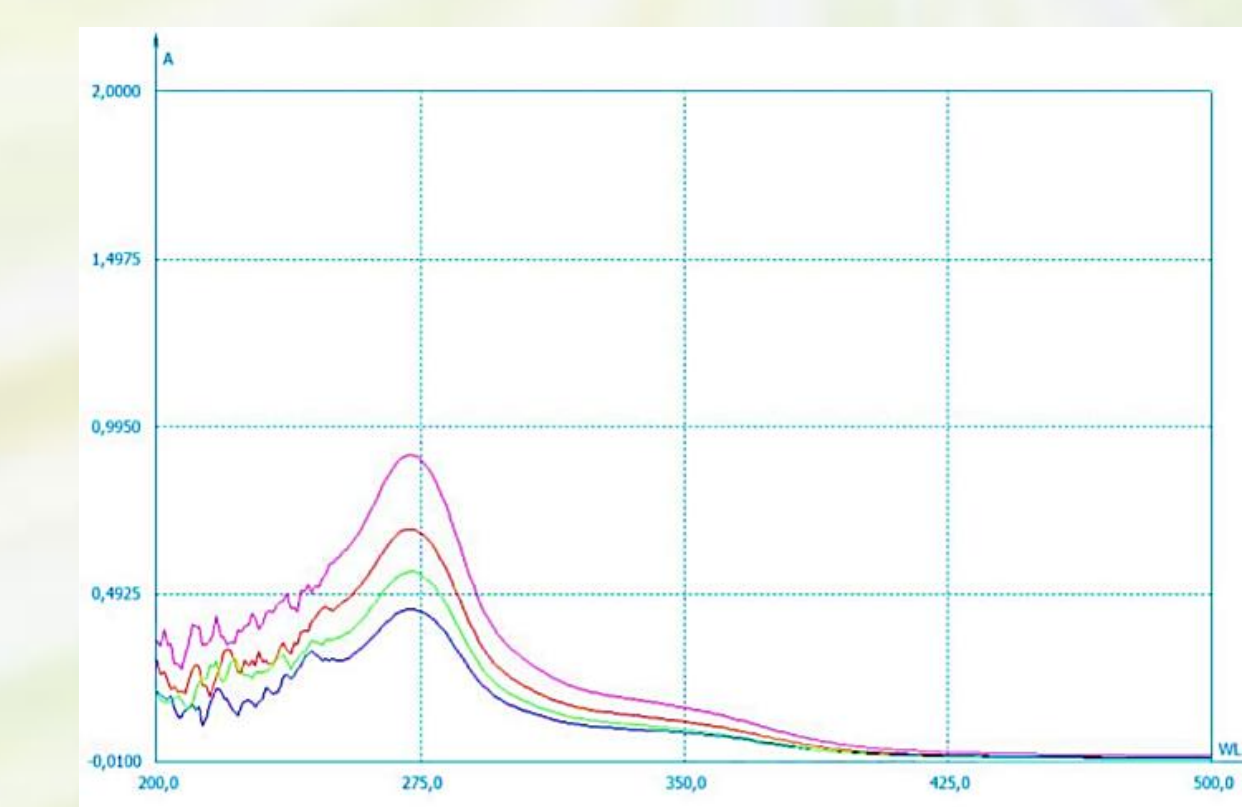


График 3. UV/VIS спектар на добиениот екстракт и дозно зависна ефикасност на екстракцијата од концентрацијата на пектиназа. Екстракт на EGCG (300 µL пектиназа), λ=272 nm, A_{max}=0.910 - виолетова крива. Екстракт на EGCG (200 µL пектиназа), λ=272 nm, A_{max}=0.688 - црвена крива. Екстракт на EGCG (100 µL пектиназа), λ=272 nm, A_{max}=0.560 - зелена крива. Екстракт на EGCG (0 µL пектиназа), λ=272 nm, A_{max}=0.448 - сина крива.

Заклучок

Фосфатниот пуфер овозможи најстабилни услови за EGCG и покажа јасна корелација помеѓу количината на пектиназа и приносот. При 300 µL пектиназа добиена е највисока апсорпција (A_{max} = 0.910, λ = 272 nm), што е 83% повеќе од контролата (без ензим).