



УДК 615:665.527.92

## ВЛИЯНИЕ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ ЭКСТРАГИРОВАНИЯ ФЛАВОНОИДОВ ИЗ ТРАВЫ ДЕВЯСИЛА БРИТАНСКОГО (*INULA BRITANNICA* L.)

**И.Ю. МИТРОФАНОВА****А.В. ЯНИЦКАЯ****В.В. ГУКАСОВА***Волгоградский государственный  
медицинский университет**e-mail: i.u.mitrofanova@yandex.ru*

В статье представлены результаты изучения влияния различных технологических факторов на эффективность экстрагирования флавоноидов из травы девясила британского (*Inula britannica* L.), произрастающего в Волгоградской области.

На основании проведенных исследований, подобраны оптимальные условия извлечения флавоноидов из сырья девясила британского с применением в качестве экстрагента спирта этилового 70%: степень измельчения 1 мм; соотношение сырьё – экстрагент 1:200, трёхкратная экстракция по 15 минут. Разработан режим экстрагирования, обеспечивающий максимальный выход максимальной фракции биологически активных соединений (1,64% ± 0,009% (в пересчете на рутин) из травы девясила британского.

Ключевые слова: девясил британский, флавоноиды, экстракция.

Не теряет своей актуальности вопрос о расширении сырьевой базы для производства лекарственных средств. Перспективным источником растительного сырья, на основе которого возможно получение отечественных конкурентоспособных эффективных лекарственных препаратов, являются виды рода *Девясил* – *Inula* L.

В настоящее время в Государственный реестр лекарственных средств Российской Федерации включено лекарственное растительное сырьё (корневища и корни) только 1 вида – *девясила* высокого (*Inula helenium* L.) Тогда как, близкие по систематическому положению и морфологическим признакам к официальному виду *девясила*, на протяжении длительного времени успешно применяемые в народной медицине для лечения различных заболеваний, до сих пор не используются в медицинской практике.

Проведёнными ранее исследованиями установлено, разнообразие химического состава травы *девясила* британского (*Inula britannica* L.) [14], одного из широко распространенных и являющегося ценозообразующим растением на территории Волгоградской области. Наличие в составе *девясила* британского флавоноидов и гидроксикоричных кислот позволяют прогнозировать антиоксидантную [20], гепатопротекторную, противовоспалительную активности его сырья. Однако в нашей стране из-за отсутствия соответствующих нормативных документов *девясил* британский не является официальным растением и не используется в достаточной мере, что делает его приоритетным для фармакогностического изучения и включения в число официальных лекарственных растений. В связи этим представляется актуальной оптимизация процесса экстрагирования сырья *девясила* британского, обеспечивающая максимальный выход данной фракции.

Поэтому целью исследований являлась разработка оптимального режима экстрагирования, обеспечивающего максимальный выход флавоноидов из травы *девясила* британского, произрастающего на территории Волгоградской области.

**Материалы и методы.** Объектом исследования служило воздушно-сухое сырьё (трава) *девясила* британского, собранное в фазу полного цветения от дикорастущих популяций на территории Волгоградской области в июле-августе 2012 г. Сырьё для исследования было заготовлено в естественных местах произрастания растительных объектов в различных районах Волгоградской области.

Ранее проведенными исследованиями нами установлено, что максимальное извлечение экстрактивных веществ наблюдалось при использовании спирта этилового в концентрации 70% (41,86±0,35%) [13].

Современные способы переработки и использования лекарственного растительного сырья основываются на извлечении ценных компонентов, их переходе в нейтральный носитель. Основными факторами, влияющими на скорость и полноту экстракции биологически активных веществ из растительного сырья, являются тип экстрагента, температура, степень измельчения сырья, модуль и кратность экстракции, а также продолжительность экстрагирования.

Для оптимизации процесса экстрагирования флавоноидной фракции применяли метод математического планирования эксперимента – метод крутого восхождения по Боксу-Уилсону



[1, 12]. Для изучения зависимости содержания флавоноидов и полноты их экстракции из сырья получали спиртовые извлечения при следующих значениях факторов в различных комбинациях: модуль экстракции 1:10 и 1:200, степень измельчения частиц 1 мм и 5 мм, время настаивания 15 мин и 90 мин в режиме однократной и трехкратной экстракции [3, 4, 5, 6, 9, 11, 12, 15, 16, 17, 18]. В зависимости от комбинаций значений факторов была составлена матрица дробного факторного эксперимента, в соответствии с которой реализовались опыты.

Оценку эффективности экстракции проводили по содержанию экстрактивных веществ и флавоноидов (табл. 2). Содержание экстрактивных веществ определяли в соответствии со статьей ГФ XI [7].

В качестве метода количественного определения флавоноидов в сырье девясила британского выбран метод дифференциальной спектрофотометрии, основанный на способности флавоноидов образовывать окрашенные хелатные комплексы со спиртовым раствором алюминия хлорида в среде кислоты хлористоводородной разведённой. При этом максимум поглощения первой полосы по сравнению с исходным флавоноидом смещается на 35 – 50 нм к видимой области (батохромный сдвиг) [2].

Содержание флавоноидов в извлечениях из травы девясила британского определяли по следующей методике, предложенной Лесовой Ж.С. с соавт. [9, 10]: точную навеску 0,5 г (при модуле экстракции 1:200) и 5,0 г (при модуле экстракции 1:10), измельченную до размера частиц 1 и 5 мм, помещали в колбу вместимостью 250 мл, прибавляли 90 мл 70% спирта этилового. Колбу соединяли с обратным холодильником. Содержимое нагревали на водяной бане в течение 30 минут. Затем колбу охлаждали в прохладном месте до комнатной температуры. Содержимое колбы фильтровали через двойной беззольный фильтр (ФБ-I по ГОСТ 12026-76) в мерный цилиндр вместимостью 100 мл. Объем фильтрата доводили 96% спиртом этиловым до метки. При трехкратной экстракции количество экстрагента делили на три равные части по 30 мл соответственно и эксперимент проводили выше изложенным способом. Далее 5 мл полученного спиртового извлечения из травы девясила британского помещали в мерный цилиндр на 25 мл, добавляли 2 капли кислоты хлористоводородной разведённой и 5 мл 5% спиртового раствора алюминия хлорида безводного. Объем раствора доводили 96% спиртом этиловым до метки. Полученный раствор ставили на 45 минут в защищенное от света место для протекания реакции комплексообразования.

Для приготовления раствора сравнения в мерный цилиндр на 25 мл помещали 5 мл полученного спиртового извлечения, прибавляли 2 капли кислоты хлористоводородной разведённой и доводили 96% спиртом этиловым до метки [10].

Определение процентного содержания суммы флавоноидов проводили в пересчете на тот флавоноид, к спектральным характеристикам которого был близок максимум поглощения полученного спиртового извлечения. У спиртовых извлечений из исследуемых образцов при модуле экстракции 1:200 максимум поглощения после взаимодействия с 1% спиртовым раствором алюминия хлорида в присутствии разбавленной кислоты хлористоводородной находился в области длин волн 408-420 нм, то есть близко к спектральным характеристикам рутина (максимум поглощения ГСО рутина 412 нм), поэтому при пересчете содержания суммы флавоноидов

использовали его удельный показатель поглощения ( $A_{1\%}^{1\text{cm}} = 191$ , при длине волны 410 нм) [5]. При модуле экстракции 1:10 максимум поглощения после взаимодействия с 1% спиртовым раствором алюминия хлорида в присутствии разбавленной кислоты хлористоводородной отмечался сдвиг в длинноволновую область 430-435 нм, что соответствует спектральным характеристикам кверцетина (максимум поглощения ГСО кверцетина 435 нм), поэтому удельный показатель поглощения раствора ГСО кверцетина с алюминия хлоридом ( $A_{1\%}^{1\text{cm}} = 778$ , при длине волны 430 нм) соответственно.

Концентрации флавоноидов и содержание экстрактивных веществ в извлечениях, полученных при различных значениях условиях экстракции заносились в матрицу планирования эксперимента (табл. 1).

На основе полученных значений были составлены уравнения регрессии, в которых коэффициенты ( $B_i$ ) отражают степень влияния каждого фактора на выход экстрактивных веществ и флавоноидов. Уравнения регрессии подвергались анализу на статистическую значимость и адекватность реальному процессу [1].

На следующем этапе исследования осуществляли определение значений факторов, обеспечивающих максимальный выход флавоноидов и экстрактивных веществ, путем крутого восхождения. По полученному уравнению регрессии была рассчитана серия мысленных опытов (табл. 2 и 3). Из всех полученных значений выбирались эксперименты, которые показывали максимальные значения параметров оптимизации, и подвергались эмпирической проверке [1].



**Результаты и их обсуждение.** Особое значение на извлечение действующих веществ из растительного материала оказывает степень его измельчения. Известно, что чем больше измельченность, тем полнее протекает диффузия, что обусловлено увеличением поверхности соприкосновения фаз [12]. В результате проведенных нами экспериментов установлено, что максимальный выход флавоноидов отмечался при измельчении сырья до размеров частиц в пределах 1 мм (табл. 1), которое для получения спиртовых извлечений из травы девясила британского предложено считать оптимальным.

Изучение влияния на качество извлечений соотношения сырья и экстрагента показало, что с уменьшением модуля экстракции увеличивается максимальный выход как всей суммы веществ, так и действующей группы БАС (флавоноидов), с которой в большей мере связывают действие сырья девясила британского, наблюдался при соотношении 1:200 (табл. 1). Поэтому данный модуль экстракции был выбран нами как оптимальный.

Было выявлено, что с увеличением времени настаивания выход экстрактивных веществ и флавоноидов уменьшается (табл. 1). В тоже время выход флавоноидов при времени настаивания 15 мин (содержание флавоноидов (в пересчете на рутин) составило  $1,64 \pm 0,02\%$ ) был незначительно меньше по сравнению с настаиванием в течение 90 минут (содержание флавоноидов (в пересчете на рутин) составило  $1,83 \pm 0,3\%$ ). Поскольку длительная экстракция приводит к загрязнению вытяжек сопутствующими веществами, снижающими скорость диффузии основной группы веществ [2], а одним из требований к процессу экстрагирования при масштабировании является экономическая рентабельность, то предпочтение было отдано последней комбинации как технологически и экономически более целесообразной. Поэтому, оптимальное время настаивания для травы девясила британского составляет не более 15 минут.

Таблица 1

**Матрица планирования и результаты определения выхода экстрактивных веществ травы девясила британского**

№ П/П	X <sub>1</sub> измельченность	X <sub>2</sub> модуль экстракции	X <sub>3</sub> время настаивания	X <sub>4</sub> кратность	X <sub>0</sub>	Выход экстрактивных веществ, %				Выход флавоноидов, %			
						Y <sub>1</sub>	Y <sub>2</sub>	Y <sub>3</sub>	Y <sub>ср</sub>	Y <sub>1</sub>	Y <sub>2</sub>	Y <sub>3</sub>	Y <sub>ср</sub>
1	1	1	-1	-1	+	17,29 00	21,370 0	24,8 600	21,17 33	0,15 24	0,14 74	0,14 85	0,14 94
2	-1	-1	-1	-1	+	26,1 637	26,163 7	26,16 37	26,1 637	1,62 39	1,55 06	1,54 19	1,57 21
3	1	-1	-1	1	+	26,1 637	26,163 7	26,16 37	26,1 637	1,62 42	1,63 98	1,64 63	1,63 68
4	-1	1	-1	1	+	23,5 474	23,547 4	23,54 74	23,5 474	0,16 27	0,16 23	0,16 16	0,16 22
5	1	1	1	1	+	22,2 392	22,675 2	22,45 28	22,4 557	0,14 55	0,14 64	0,14 58	0,14 59
6	-1	-1	1	1	+	26,1 637	26,163 7	26,16 37	26,1 637	1,96 34	1,66 66	1,86 39	1,83 13
7	1	-1	1	-1	+	17,44 25	21,803 100	18,45 89	19,2 348	1,20 21	1,38 64	1,26 91	1,28 59
8	-1	1	1	-1	+	22,6 752	21,798 4	21,96 58	22,1 465	0,00 00	0,00 00	0,00 00	0,00 00

**Коэффициенты регрессии**

B <sub>10</sub>	B <sub>11</sub>	B <sub>12</sub>	B <sub>13</sub>	B <sub>14</sub>
23,3811	-1,124208333	-1,050375	-0,880925	1,201525
	B <sub>11</sub> λ <sub>11</sub>	B <sub>12</sub> λ <sub>12</sub>	B <sub>13</sub> λ <sub>13</sub>	B <sub>14</sub> λ <sub>14</sub>
	-2,2484	-0,0551	-33,0347	1,2015
B <sub>20</sub>	B <sub>21</sub>	B <sub>22</sub>	B <sub>23</sub>	B <sub>24</sub>
0,8480	-0,043458333	-0,733566667	-0,032183333	0,0960917
	B <sub>21</sub> λ <sub>21</sub>	B <sub>22</sub> λ <sub>22</sub>	B <sub>23</sub> λ <sub>23</sub>	B <sub>24</sub> λ <sub>24</sub>
	-0,0869	-0,0385	-1,2069	0,0961



Таблица 2

**Расчет и реализация кругого восхождения**

№ опыта	X <sub>1</sub> измельченность		X <sub>2</sub> ЛРС: экстрагент		X <sub>3</sub> время настаивания		X <sub>4</sub> кратность		Выход экстракт. в-в, %
	натур.з нач.	кодов. знач.	натур.з нач.	кодов. знач.	натур.з нач.	кодов. знач.	натур. знач.	кодов. знач.	
Мысленные опыты									
1	1	-1,0000	0,005	-0,8095	15	-1,0000	3	1,0000	27,4381
2	1	-1,0000	0,010	-0,7143	15	-1,0000	3	1,0000	27,3380
3	1	-1,0000	0,005	-0,8095	30	-0,6000	3	1,0000	27,0857
4	1	-1,0000	0,005	-0,8095	45	-0,2000	3	1,0000	26,7333
5	1	-1,0000	0,005	-0,8095	90	1,0000	3	1,0000	25,6762
Реализованные опыты									
1	1	-1,0000	0,005	-0,8095	15	-1,0000	3	1,0000	26,1637
2	1	-1,0000	0,010	-0,7143	15	-1,0000	3	1,0000	26,1637
3	1	-1,0000	0,005	-0,8095	30	-0,6000	3	1,0000	26,1637
4	1	-1,0000	0,005	-0,8095	45	-0,2000	3	1,0000	26,1637
5	1	-1,0000	0,005	-0,8095	90	1,0000	3	1,0000	26,1637

Таблица 3

**Расчет и реализация кругого восхождения**

№ опыта	X <sub>1</sub> измельченность		X <sub>2</sub> ЛРС: экстрагент		X <sub>3</sub> время настаивания		X <sub>4</sub> кратность		Выход флавоноидов, %
	натур.з нач.	кодов. знач.	натур.з нач.	кодов. знач.	натур.з нач.	кодов. знач.	натур.з нач.	кодов. знач.	
Мысленные опыты									
1	1	-1,0000	0,005	-0,8095	15	-1,0000	1	-1,0000	1,4213
2	1	-1,0000	0,005	-0,8095	15	-1,0000	3	1,0000	1,6135
3	1	-1,0000	0,005	-0,8095	30	-0,6000	3	1,0000	1,6006
4	1	-1,0000	0,010	-0,7143	15	-1,0000	3	1,0000	1,5437
5	3	0,0000	0,005	-0,8095	15	-1,0000	3	1,0000	1,5701
Реализованные опыты									
1	1	-1,0000	0,005	-0,8095	15	-1,0000	1	-1,0000	1,3131
2	1	-1,0000	0,005	-0,8095	15	-1,0000	3	1,0000	1,6391
3	1	-1,0000	0,005	-0,8095	30	-0,6000	3	1,0000	1,406
4	1	-1,0000	0,010	-0,7143	15	-1,0000	3	1,0000	1,2525
5	3	0,0000	0,005	-0,8095	15	-1,0000	3	1,0000	1,2764

Экспериментальные данные свидетельствуют, что однократная экстракция не позволяет полностью истощить сырье и отличается более низким выходом флавоноидов и экстрактивных веществ по сравнению с трехкратной (табл. 1), которая обеспечивает максимальное значение обоих параметров оптимизации. Таким образом, представляется целесообразным использование трехкратной экстракции.

Наиболее значимое влияние на выход флавоноидов травы девясила британского оказывает время настаивания, в меньшей степени на процесс экстрагирования влияют – кратность



экстракции и степень измельчения сырья, и незначительное влияние – модуль экстракции ( $B_{23} \lambda_{23} > B_{24} \lambda_{24} > B_{21} \lambda_{21} > B_{22} \lambda_{22}$ ).

В результате реализации мысленных опытов показано, что максимальный выход флавоноидов при экстрагировании травы девясила британского наблюдается при комбинации факторов:

- степень измельчения 1 мм;
- модуль экстракции 1:200;
- время настаивания 15 минут;
- трехкратная экстракция.

**Выводы.** В результате исследований установлено, что ведущим фактором, влияющим как на выход экстрактивных веществ, так и на выход флавоноидов является время настаивания. В меньшей степени оказывают влияние степень измельчения сырья и кратность экстракции, незначительно влияет модуль экстракции.

Таким образом, подобраны оптимальные условия извлечения флавоноидов из сырья девясила британского с применением в качестве экстрагента спирта этилового 70%: степень измельчения 1 мм; соотношение сырьё – экстрагент 1:200, трёхкратная экстракция по 15 минут, которые положены в основу разработки технологической схемы получения сухого экстракта из травы девясила британского.

### Литература

1. Адлер Ю.П. Планирование эксперимента при поиске оптимальных условий / Ю.П. Адлер, Е.В. Маркова, Ю.В. Грановский – изд. второе, перераб. и доп. – М.: Наука, 1976. – 280 с.
2. Беликов В. Г. Фармацевтическая химия. В 2 ч: Учеб. пособие / В.Г. Беликов – 4 изд., перераб. и доп., М.: МЕДпресс-информ, 2007. – 624 с.
3. Блинова О.А. Теоретические и экспериментальные аспекты создания лекарственных средств на основе сырья природного происхождения: автореф. дис. д-ра. фарм. наук: 15.00.01 / О.А. Блинова. – Пермь, 2009. – 44 с.
4. Бубенчиков Р.А. Фармакогностическое изучение растений рода фиалка и спектр их фармакологической активности: автореф. дис. д-р. фарм. наук: 14.04.02 / Р.А. Бубенчиков. – Пятигорск, 2011. – 48 с.
5. Буланкин Д.Г. Исследование по стандартизации и разработке лекарственных средств на основе листьев гинкго двулопастного (*Ginkgo biloba* L.): автореф. дис. ...канд. фарм. наук: 14.04.02 / Д.Г. Буланкин. – Самара, 2011. – 23 с.
6. Высочина Г.И. Флавоноиды Мари белой (*Chenopodium album* L.), произрастающей в Сибири / Г.И. Высочина, Т.М. Шалдаева, О.В. Коцуний, Е.П. Храмова // Химия растительного сырья. – 2009. – № 4. – С. 107-112.
7. Государственная фармакопея СССР: Общие методы анализа / МЗ СССР. – 11-е изд., доп. – М. Медицина, 1987. – Вып. 1. – С. 336.
8. Евдокимова О.В. Разработка и валидация методики количественного определения суммы флавоноидов в траве тысячелистника / О.В. Евдокимова // Вестник ВГУ, Серия: Химия. Биология. Фармация, 2007. – №2. – С. 155-160.
9. Лесовая Ж.С. Разработка методики количественного определения флавоноидов в траве манжетки обыкновенной / Ж.С. Лесовая, Д.И. Писарев, О.О. Новиков, Т.А. Романова // Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: Медицина и фармация. – 2010. – № 12/2. – С. 145-149.
10. Лесовая Ж.С. Разработка методики стандартизации травы ренешка обыкновенного по флавоноидам / Ж.С. Лесовая, Д.И. Писарев, О.О. Новиков // Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: Медицина и фармация. – 2010. – № 12/2. С. 150–154.
11. Мелентьева А.Н. Технология и фармакологические эффекты экстракта солянки холмовой (лохеина – Н): автореф. дис. канд. фарм. наук: 15.00.02, 14.00.25 / А.Н. Мелентьева. – Тюмень, 2007. – 23 с.
12. Минина С.А. Химия и технология фитопрепаратов: учебное пособие для вузов / С.А. Минина, И.Е. Каухова – М.: ГЭОТАР-МЕД, 2004 – 548 с.
13. Митрофанова И.Ю. Исследование по выбору оптимального экстрагента для извлечения биологически активных веществ травы девясила британского / И.Ю. Митрофанова, Д.М. Талалай // Открытая научно-практическая конференция молодых ученых и студентов с международным участием «Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины» (70; Волгоград; 2012): Материалы. – Волгоград, 2012. – С. 515-516.
14. Митрофанова И.Ю. Фитохимический анализ сырья девясила британского, произрастающего в Волгоградской области / И.Ю. Митрофанова // IV Международный молодежный медицинский конгресс «Санкт-Петербургские научные чтения 2011» (Санкт-Петербург; 2011 г): Материалы. – СПб, 2011. – С. 369.
15. Онегин С.В. Фармакогностическое изучение вереска обыкновенного (*Calluna vulgaris* (L.) Hull.): автореф. дис. канд. фарм. наук. Пермь, 2008.



16. Правдивцева О.Е. Новые подходы к созданию и стандартизации лекарственных средств на основе видов рода *Nuregicum* L.: автореф. дис. ...д-ра. фарм. наук: 14.04.02 / О.Е. Правдивцева. – Самара – 2011. – 50 с.
17. Пупыкина К.А. Исследования по разработке и стандартизации лекарственных растительных средств для профилактики и комплексного лечения заболеваний органов пищеварения: автореф. дис. ... д-ра. фарм. наук: 15.00.02 / К.А. Пупыкина. – Москва, 2008. – 51 с.
18. Чуешов В.И. Промышленная технология лекарств: учебник в 2-х т. Том 2 / В.И. Чуешов, М.Ю. Чернов, Л.М. Хохлова и др.; под ред. проф. В.И. Чуешова.– Х: МТК-Книга; Издательство НФАУ, 2002. – 716 с.
19. Шарова О.В. Флавоноиды цветков календулы лекарственной / О.В. Шарова, В.А. Куркин // Химия растительного сырья. – 2007. – №1. – с. 65-68.
20. Zhao Y.M. Chemical constituents of plants from the genus *Inula*. / Y.M. Zhao, M.L. Zhang, Q.W. Shi, H. Kiyota // J. Chem. Biod. 2006. – № 3. – p. 371-384.

## THE DIFFERENT TECHNOLOGICAL FACTORS' INFLUENCE ON THE EXTRACTION EFFICIENCY OF THE FLAVONOIDS FROM *INULA BRITANNICA* HERB

**I.YU. MITROFANOVA**  
**A.V. YANITSKAYA**  
**V.V. GUKASOVA**

*Volgograd State  
Medical University*

*e-mail: i.u.mitrofanova@yandex.ru*

The article presents the research results of the different technological factors effects on the extraction efficiency of on flavonoids from *Inula britannica* herb, growing in the Volgograd region. As a result the optimal extraction conditions were chosen. They included 70% ethyl alcohol, fineness factor 1 mm; plant raw materials to extracting medium ratio 1:200, three stage extraction during 15 minutes. So, it was developed the technology of raw materials extraction, providing the maximum output of this fraction of biologically active compounds (1,64 % ± 0,009 % (in ruti terms) from *Inula britannica* herb.

Key words: *Inula britannica* L., flavonoids, extraction.