

© Коллектив авторов, 2014

О. В. Елькина, Н. И. Шрамм, Е. И. Молохова, В. М. Петриченко

ОПТИМИЗАЦИЯ ПРОЦЕССА ЭКСТРАКЦИИ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ ИЗ ТРАВЫ ЛЬНЯНКИ ОБЫКНОВЕННОЙ

Пермская государственная фармацевтическая академия, г. Пермь

Данные, полученные в результате оптимизации процесса экстракции биологически активных веществ из травы льнянки обыкновенной, свидетельствуют о том, что наиболее полный выход действующих веществ из сырья наблюдается при использовании метода вакуум-фильтрационного экстрагирования. Процесс протекает при следующих условиях: температура нагревания — 42 °С, время настаивания — 40 мин, соотношение твердой и жидкой фаз — 1:10. Выход флавоноидов в извлечение в данных условиях составляет 96,7 % от общего содержания в сырье; иридоидов — 93,8 %. Выбранные параметры могут быть признаны оптимальными и рекомендованы в качестве параметров технологического процесса для дальнейшего получения экстракционных препаратов и внедрения их в медицинскую практику.

Ключевые слова: льнянка обыкновенная; технология получения; ацетилпектолинарин; вакуум-фильтрационная экстракция.

Льнянка обыкновенная — *Linaria vulgaris* Mill. (сем. *Scrophulariaceae*) — многолетнее травянистое растение, широко распространенное на территории России. По литературным данным в траве льнянки обыкновенной содержится комплекс разнообразных биологически активных веществ, среди которых преобладают флавоноиды группы флавона: агликоны, моно- и бигликозиды [1]. Доминирующим компонентом из группы флавоноидов является ацетилпектолинарин. Его содержание в различных органах *L. vulgaris* находится в пределах 0,1 – 12,5 % [2]. Помимо флавоноидов содержатся иридоидные гликозиды С₉-типа [3], аминокислоты [4].

Фармакологическими исследованиями установлено, что экстракционные формы из травы и органов льнянки обыкновенной перспективны для внедрения в медицинскую практику. Они оказывают диуретическое [5] и антикоагулянтное [6] действие. Экстракты усиливают экскрецию натрия, что позволяет отнести их к салуретикам и рекомендовать к применению при гипертонической болезни. Усиление экскреции ионов калия позволяет рекомендовать экстракты к применению при гиперкалиемии [5]. Экстракты не оказывают токсического действия в дозе 5000 мг/кг и относятся к веществам малоопасным [7].

В настоящее время льнянка обыкновенная широко применяется в народной медицине. Для проведения комплекса более детальных фармакологических испытаний и последующего составления нормативной документации и рекомендации использования льнянки обыкновенной в медицинской практике необходимой является разработка технологии экстракта травы данного растения с последующей оценкой качества готового продукта.

Исследования, проведенные с целью получения экстрактов из травы растения, указали на нецелесообразность использования методов мацерации и репер-

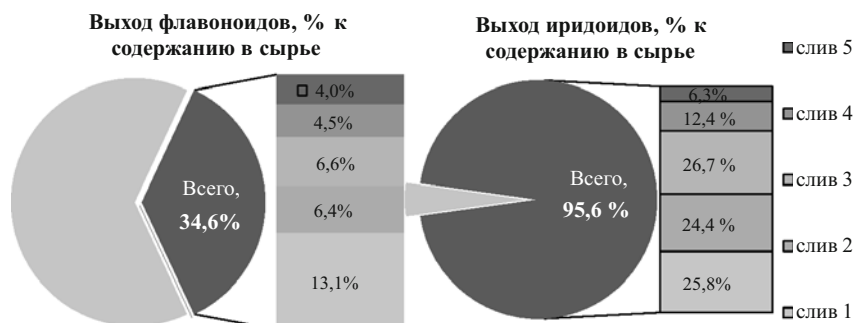
коляции [8]. Применение данных методов невозможно вследствие образующегося гелеобразного осадка, обусловленного плохой растворимостью фенольных соединений. Для облегчения выхода биологически активных веществ и повышения производства готового продукта был применен метод вакуум-фильтрационного экстрагирования.

Целью данной работы является оптимизация процесса экстракции биологически активного комплекса надземной части льнянки обыкновенной.

Экспериментальная часть

Объектом исследования служили образцы надземной части льнянки обыкновенной, собранные в питомнике лекарственных растений Пермской государственной фармацевтической академии, в окрестностях г. Перми в фазу цветения. Сушку сырья осуществляли воздушно-теневым способом.

В лабораторных условиях смоделирован процесс вакуум-фильтрационного экстрагирования. Траву льнянки обыкновенной, измельченную и просеянную через сито с диаметром отверстий 2 мм, равномерно загружали в вакуум-фильтрационный экстрактор. Оптимальным экстрагентом, позволяющим извлечь максимальное количество биологически активных веществ флавоноидной и иридоидной природы, является 60 % спирт этиловый [9]. Экстрагент пропускали сквозь сырье, постоянно сохраняя «зеркало», и осуществляли сбор извлечения. Самотеком получали первые 2 слива экстракта, а затем экстрагирование вели с подключением вакуума для преодоления гидросопротивления набухающего сырья и предотвращения закупоривания кранов образующимся гелем. С одной загрузки сырья массой 10,0 г получали в равных условиях 5 отдельных сливов по 20,0 мл. Эффективность экстракции оценивали по выходу биологически активных ве-



Динамика вакуум-фильтрационного экстрагирования травы л. обыкновенной по выходу флавоноидов и иридоидов.

ществ: сумме флавоноидов в пересчете на ацетилпектолинарин и содержанию иридоидов в пересчете на аукубин.

Количественное содержание флавоноидов определяли методом прямой спектрофотометрии по методике, разработанной нами [9]: навеску сухого экстракта около 0,2 г (точная навеска) помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяли в спирте этиловом 60 % и доводили до метки (раствор А), 10 мл раствора А помещали в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводили до метки спиртом этиловым 60 % (раствор Б). Измеряли оптическую плотность полученного раствора на спектрофотометре “Спектр — 2000” при длине волны 332 нм в кювете с толщиной поглощающего слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения использовали 60 % спирт этиловый. Содержание суммы флавоноидов в жидком экстракте вычисляли в пересчете на ацетилпектолинарин по формуле:

$$X(\%) = \frac{A \cdot 50 \cdot 100 \cdot 100\%}{379 \cdot m \cdot V \cdot (100 - W)}$$

где A — оптическая плотность исследуемого раствора; 50 — объем раствора Б, мл; 100 — объем раствора А, мл; 379 — удельный показатель поглощения ацетилпектолинарина при длине волны 332 нм; m — масса экстракта, г; V — объем раствора А, взятый для разбавления, мл; W — потеря в массе при высушивании, %.

Количественное содержание иридоидов определяли методом, который был предложен Г. Грегором и П. Симхеном [10]. Предварительно методика адаптирована нами для сухого экстракта травы льнянки обыкновенной.

В предварительном эксперименте подтверждена перспективность использования вакуума, т.к. удалось предотвратить закупоривание кранов образующимся

гелем. Анализируя выход БАВ (рисунок), установлено, что количественное содержание флавоноидов и иридоидов в процентах от общего содержания в сырье в первых 2 сливах составляет 19,5 и 50,2 % соответственно. После подключения вакуума извлекается еще 15,1 % фенольных соединений и 49,8 % иридоидов. Общая эффективность экстракции данным методом по содержанию флавоноидов составляет 34,6 %, по содержанию иридоидных соединений — 95,6 %. Таким образом, применение вакуум-фильтрационной экстракции для получения извлечений из травы льнянки обыкновенной возможно при исследовании ряда факторов, повышающих выход флавоноидов.

С целью выявления влияния технологических факторов на процесс экстрагирования использовали метод полного факторного эксперимента 2^3 с равномерным дублированием опытов, позволяющий выявить наиболее значимые факторы при минимальном количестве экспериментов. Получение экстракта проводили методом ремацерации с делением экстрагента на части при нагревании и с подключением вакуума на стадии слива. Применялась модель реактора с паровой рубашкой с подключением вакуумного насоса. В качестве критерия оптимизации использовали количественное содержание флавоноидов и иридоидов. Уровни изученных факторов представлены в табл. 1. При планировании эксперимента учитывали не только влияние каждого фактора на выход биологически активных веществ, но и их взаимодействие (табл. 2).

При оптимизации технологии сухого экстракта льнянки обыкновенной по флавоноидам были получены следующие результаты статистического анализа: критерий Кохрена — $G_{\text{экс}} = 0,293$; $G_{\text{табл}} = 0,516$; дисперсия параметра оптимизации $S^2(y) = 0,015$; дисперсия ошибки коэффициента $S^2(b_i) = 0,0061$.

С учетом расширенной матрицы планирования проведен расчет коэффициентов уравнения регрессии процесса экстрагирования флавоноидов:

$$y = 12,12 + 0,265x_1 + 1,06x_2 - 0,225x_1x_2 + 0,155x_1x_3 - 0,155x_1x_2x_3.$$

Из уравнения регрессии следует, что положительные знаки коэффициентов регрессии при линейных членах x_1 , x_2 указывают на увеличение выхода флавоноидов при повышении температуры нагревания и увеличении соотношения твердой и жидкой фаз. Адекватность модели проверялась с помощью коэффици-

Таблица 1
Планирование эксперимента. Уровни факторов

Фактор	Нижний уровень	Средний уровень	Верхний уровень	Интервал варьирования
X_1 (температура нагревания, °С)	42	62	82	20
X_2 (соотношение твердой и жидкой фаз)	1:6	1:8	1:10	2
X_3 (время настаивания, мин)	40	60	80	20

Влияние ряда факторов на содержание флавоноидов и иридоидов

Номер опыта	x_0	x_1	x_2	x_3	x_1x_2	x_1x_3	x_2x_3	$x_1x_2x_3$	Количественное содержание, %	
									флавоноидов	иридоидов
1	+	+	+	+	+	+	+	+	13,20	0,263
2	+	+	+	-	+	-	-	-	13,24	0,260
3	+	+	-	+	-	+	-	-	11,90	0,317
4	+	+	-	-	-	-	+	+	11,20	0,240
5	+	-	+	+	-	-	+	-	13,12	0,243
6	+	-	+	-	-	+	-	+	13,16	0,267
7	+	-	-	+	+	-	-	+	10,30	0,230
8	+	-	-	-	+	+	+	-	10,84	0,210

ента Фишера $F_{\text{расч.}} = 0,82$, $F_{0,05;5;16}^{\text{табл.}} = 3,29$. Сравнение этих величин ($F_{\text{расч.}} < F_{\text{табл.}}$) позволяет сделать вывод, что полученная модель адекватна исследуемой зависимости.

При оптимизации технологии сухого экстракта льнянки обыкновенной по иридоидам получены следующие результаты статистического анализа: критерий Кохрена — $G_{\text{экс}} = 0,249$; $G_{\text{табл.}} = 0,516$; дисперсия параметра оптимизации $S^2(y) = 0,00032$; дисперсия ошибки коэффициента $S^2(b_i) = 0,000013$; критерий Стьюдента = 2,12. На основании статистического анализа установили, что незначимые коэффициенты — b_{123} , b_2 — их из модели можно исключить. В результате получено следующее уравнение регрессии:

$$y = 0,254 + 0,016x_1 + 0,009x_3 - 0,013x_{12} + 0,010x_{13} - 0,015x_{23}.$$

Адекватность модели проверялась через коэффициент Фишера $F_{\text{расч.}} = 32,5$, $F_{0,05;15;32}^{\text{табл.}} = 3,29$. Сравнение этих величин ($F_{\text{расч.}} > F_{\text{табл.}}$) позволяет сделать вывод, что полученная модель неадекватна. Ее применение для прогнозирования выхода иридоидов при изменении значений выбранных условий невозможно.

Результаты и их обсуждение

Полученные данные свидетельствуют о том, что наиболее полный выход действующих веществ из сырья наблюдается при использовании метода вакуум-фильтрационного экстрагирования при следующих условиях: температура нагревания — 42 °С, время настаивания — 40 мин, соотношение твердой и жидкой фаз — 1:10. Выход флавоноидов в извлечение в данных условиях составляет 96,7 % от общего содержания в сырье; иридоидов — 93,8 %. Выбранные пара-

метры могут быть признаны оптимальными и рекомендованы в качестве параметров технологического процесса.

Таким образом, на основании проведенных исследований предложен рациональный метод получения сухого экстракта л. обыкновенной, обеспечивающий наибольший выход действующих веществ.

Работа выполнена при поддержке губернатора Пермского края и Министерства образования Пермского края.

ЛИТЕРАТУРА

1. Л. П. Смирнова, *Автореф. дис. канд. фармацевт. наук*, Москва (1976).
2. Л. С. Демидова, Б. А. Кривут, *Хим.-фарм. журн.* **11**(11), 95–98 (1977); *Pharm. Chem. J.*, **11**(11), 1529–1632 (1977).
3. А. В. Дьоготь, В. И. Литвиненко, Н. О. Черних и др., *Фармац. журн.*, **27**(1), 66 (1972).
4. А. Г. Томилов, В. М. Петриченко, *Сб. статей по материалам международной 62-ой итоговой научной студ. конф. им. Н. И. Пирогова*, Томск (2003), сс. 213–214.
5. О. В. Щербакова, Б. Я. Сыропятов, В. М. Петриченко, *Вестн. уральской мед. академ. науки*, тематический вып. по фармации, **2–3/1**(37), 52 (2011).
6. О. В. Щербакова, В. М. Петриченко, Б. Я. Сыропятов, *Вестн. Воронежского гос. универ. Серия Химия. Биология. Фармация*, № 2, 240–242 (2011).
7. О. В. Щербакова, С. А. Калинина, В. М. Петриченко и др., *Вестн. Пермской гос. фармацевт. академии*, Пермь (2010), № 7, сс. 227–229.
8. О. В. Щербакова, Ю. С. Ветошкина, Н. И. Шрамм, В. М. Петриченко, *Вестн. Пермской гос. фармацевт. академии*, Пермь (2011), № 8, сс. 226–228.
9. О. В. Щербакова, В. М. Петриченко, Л. А. Чекрышкина, *Растит. ресурсы*, **47**(11), 141–145 (2011).
10. G. Gröger, P. Simchen, *Pharmazie*, **6**(22), 315 (1967).

Поступила 01.07.13

OPTIMIZATION OF THE PROCESS OF EXTRACTION OF BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES FROM YELLOW TOADFLAX (*LINARIA VULGARIS*) HERBS

O. V. El'kina, N. I. Shramm, E. I. Molokhova, and V. M. Petrichenko

Perm State Pharmaceutical Academy, Perm, 614990 Russia

Data, obtained as a result of optimization of the process of extraction of biologically active substances from the herbs of yellow toadflax (*Linaria vulgaris*) indicate that the most complete yield of active substances from the raw material is observed when using the vacuum filtration method of extraction. The optimum process takes place under the following conditions: heating temperature, 42°C; infusion time, 40 min; volume ratio of the solid and liquid phases, 1 : 10. The yield of flavonoids in the extract obtained under these conditions is 96.7% of the total flavonoid content in the raw material and the yield of irido-ids is 93.8%. The selected parameters can be adopted as optimum and recommended as the working parameters for the obtaining of extraction products and their use in medical practice.

Keywords: yellow toadflax herbs; extract production technology; acetylpectolinarin; vacuum-filtration extraction