

## ЭКСТРАГИРОВАНИЕ ЛИПОФИЛЬНЫХ БАВ ИЗ ТРАВЫ ЗВЕРБОЯ ВОДНО-МАСЛЯНЫМИ ЭМУЛЬСИЯМИ

Санкт-Петербургская Государственная химико-фармацевтическая академия

Природные комплексы БАВ растительного происхождения широко используются в составах различных лекарственных и косметических средств. В технологическом плане способы введения БАВ в препараты предполагают вначале извлечение БАВ, а затем введение их в составы в определенных количествах [1, 2].

В траве звербоя продырявленного содержится многокомпонентный комплекс липофильных и полярных БАВ: производные хлорофилла, каротиноиды, флавоноиды, конденсированные антраценпроизводные, дубильные вещества полифенольной природы [1, 3].

Для извлечения из сырья липофильных и гидрофильных БАВ в качестве экстрагентов обычно используются различные органические растворители, масла, вода, спирт [4].

Ранее был разработан и описан новый метод получения природных комплексов БАВ — экстракция растительного сырья двухфазной системой экстрагентов [5 – 7]. Процесс двухфазной экстракции позволяет в одной технологической операции извлекать из растительного сырья липофильные и гидрофильные БАВ; в этом случае расширяется компонентный состав, возрастает концентрация липофильных БАВ в масляной фазе.

Известно также что при проведении экстракции в присутствии ПАВ возрастает концентрация эфирных масел в извлечениях. Установлено, что влияние ПАВ на степень и скорость извлечения эфирных масел свя-

зано со снижением поверхностного натяжения воды, обуславливающим облегчение процесса пропитки, смачивания и набухания [8].

Целью настоящей работы является исследование закономерностей процесса экстракции одновременно масляной и водной фазами в присутствии ПАВ, изучение влияния природы ПАВ, вводимых в комплексный экстрагент.

### Экспериментальная часть

В качестве примера сухого растительного сырья была выбрана трава звербоя продырявленного (ГФ XI, ст. 52), так как, во-первых, она содержит как липофильные (производные хлорофилла, каротиноиды), так и гидрофильные (флавоноиды, антраценпроизводные) БАВ; во-вторых, для удобства сравнения изучаемого процесса эмульсионной экстракции с двухфазной экстракцией, которая в значительной степени исследована на примере травы звербоя.

В качестве компонентов эмульсии использовали: масло вазелиновое, масло оливковое, ланолин, моностеарат глицерина (МГД), спирты высшие фракции  $C_{16} - C_{20}$ , твин-80, оксиэтилированные высшие спирты (препарат ОС-20), пропиленгликоль-1,2 и воду очищенную.

Качественное определение производных хлорофилла и каротиноидов в масляной фазе, а также антраценпроизводных и флавоноидов в водной фазе проводили методом тонкослойной хроматографии на пластинках "Silufol UV 254".

Содержание жирорастворимых производных хлорофилла в масляной фазе определяли спектрофотометрически. УФ-спектры записывали на регистрирующем спектрофотометре СФ-56; оптическую плотность измеряли дополнительно на спектрофотометре СФ-46.

**Проведение экстракции.** В колбу вместимостью 50 мл помещали навеску травы звербоя, ингредиенты экстракционной системы в соответствии с планом опыта (табл. 1 и 2). Перемешивали содержимое на водяной бане при температуре 75 – 80 °С в течение 1,5 ч. Затем смесь охлаждали до ~ 40 °С, фильтровали и отжимали через капроновое сито № 69.

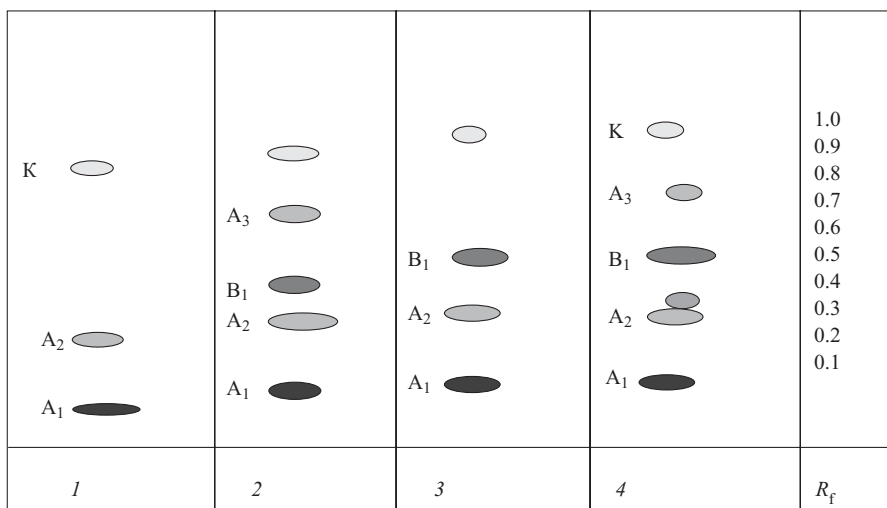
В случаях, когда фазы легко разделяются, фильтрат переносили в делительную воронку, фазы разделяли, помещали во флаконы с герметичными пробками и далее использовали для анализа. Если образуется устойчивая эмульсия, ее анализировали по нижеприведенным методикам.

**Количественное определение суммы производных хлорофилла в масляных извлечениях.** В случаях легкого отделения масляной фазы от водной (экст-

Таблица 1

Сравнительное изучение процесса экстракции травы звербоя липофильными и гидрофильными экстрагентами в присутствии ПАВ

Вариант опыта	1	2	3	4	
СРС (трава и цветки звербоя), г	1,0	1,0	1,0	1,0	
Масло (оливковое или вазелиновое), г	10	10	10	10	
Ланолин, г	...	...	1	1	
Твин 80, г	...	...	2	2	
Моноглицериды дист. (МГД), г	...	...	1,5	1,5	
Высшие спирты $C_{16} - C_{20}$ , г	...	...	1,5	1,5	
Пропиленгликоль-1,2 (ПГ), г	...	7	...	7	
Вода, мл	...	23	...	23	
Общий объем экстрагентов	10	40	16	46	
<b>Результаты</b>					
Концентрация ПХ в масляной фазе, мг%	Оливковое	2,06	3,84	2,86	4,92
	Вазелиновое	1,7	3,11	2,43	4,0
Стандартная ошибка воспроизводимости, мг%		0,10	0,15	0,13	0,21
Концентрация ПХ в эмульсии, мг%,	Оливковое	–	–	–	1,71
	Вазелиновое	–	–	–	1,4



**Рис. 1.** ТС хроматограмма масляных извлечений для опытов из табл. 1. Система растворителей — петролейный эфир:ацетон (7:3): 1) экстракция оливковым маслом; 2) двухфазная экстракция; 3) экстракция маслом с ПАВ; 4) экстракция эмульсией. А<sub>1</sub>, А<sub>2</sub>, А<sub>3</sub> — производные хлорофилла; В<sub>1</sub> — антраценпроизводные (агликоны); К — каротиноиды.

ракция только маслом, экстракция двухфазной системой экстрагентов без ПАВ) определение суммы ПХ проводили следующим образом: масляный раствор фильтровали, затем разводили хлороформом и определяли оптическую плотность при длине волны максимума в области 666 – 670 нм.

$$X = \frac{DP1000}{755},$$

где  $X$  — концентрация ПХ, мг % (мг/100г);  $D$  — оптическая плотность;  $P$  — кратность разведения масляного раствора хлороформом; 755 — удельный показатель поглощения хлорофилла при 668 нм [6]; 1000 — пересчет концентрации из % в мг %.

**Количественное определение суммы производных хлорофилла в эмульсии.** 5,0 г (точная навеска)

Таблица 2  
**Влияние рода ПАВ на извлечение липофильных производных хлорофилла в процессе эмульсионной экстракции травы зверобоя с применением оливкового и вазелинового масел**

Вариант опыта	1	2	3	4
Трава зверобоя, г	1,0	1,0	1,0	1,0
Масло (оливковое или вазелиновое), г	10	10	10	10
Ланолин, г	1	...	...	...
Твин 80, г	...	3	...	...
ОС-20 (оксиэтилированные спирты C <sub>16</sub> – C <sub>20</sub> ), г	...	...	1	5
Моноглицериды дист. (МГД), г	2	...	5	1
Пропиленгликоль 1,2 (ПГ), г	7	7	7	7
Вода, мл	23	23	23	23
Общий объем экстрагентов	43	43	46	46
<b>Результат</b>				
Концентрация ПХ в Оливковое масляной фазе, мг%, Вазелиновое	10,5	1,85	4,62	4,00
Станд. ошибка воспр., мг%	0,42	0,20	0,28	0,26
Концентрация ПХ в Оливковое эмульсии, мг%, Вазелиновое	3,17	–	1,60	1,40

эмульсии помещали в стакан вместимостью 25 мл, приливали 5,0 мл хлороформа, перемешивали на магнитной мешалке 10 мин и разделяли в делительной воронке; время разделения фаз составляет 10 – 20 мин. Нижняя фаза — масляно-хлороформенная; верхняя фаза — водная. Нижнюю фазу фильтровали через бумажный фильтр, разводили хлороформом, записывали УФ-спектр фильтрата и измеряли оптическую плотность при длине волны максимума в области 666 – 670 нм. В качестве раствора сравнения использовали аналогично приготовленный раствор из эмульсии, но без растительного сырья. На спектре должен быть максимум поглощения при длине волны  $668 \pm 2$  нм.

$$x_1 = \frac{DP \cdot 1000}{755},$$

где  $x_1$  — концентрация ПХ в нижней (масляно-хлороформенной) фазе, мг % (мг/100г);  $D$  — оптическая плотность;  $P$  — кратность разведения нижней фазы хлороформом; 755 — удельный показатель поглощения хлорофилла [6]; 1000 — пересчет концентрации из % в мг %.

Концентрацию ПХ в эмульсии  $X_{эм}$  вычисляли по формуле

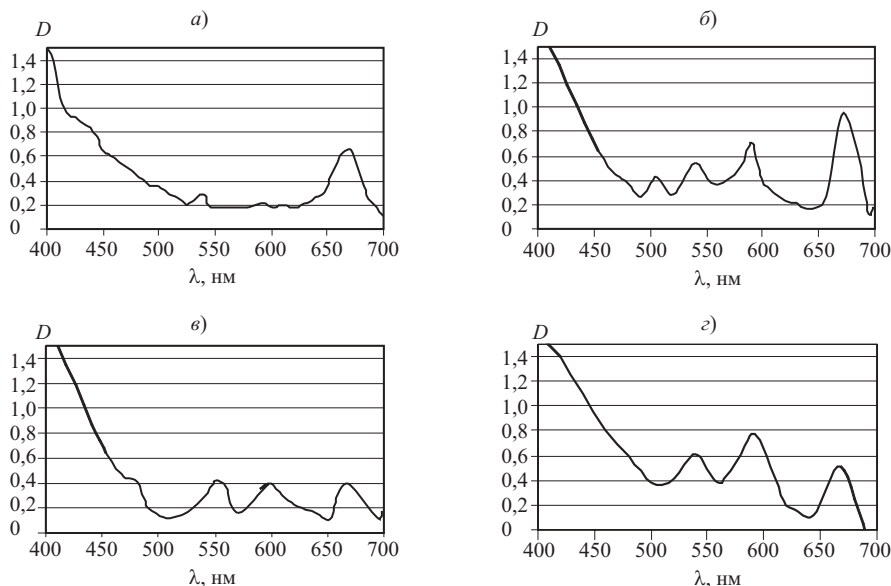
$$X_{эм} = \frac{x_1 V_{м+хл}}{V_{эм}},$$

где  $V_{м+хл}$  — объем нижней (масляно-хлороформенной) фазы, мл;  $V_{эм}$  — объем эмульсии в опыте (5 мл).

Концентрацию ПХ в масляной фазе эмульсии  $X_M$  вычисляли по формуле:

$$X_M = X_{эм} \frac{V_{эм}}{V_M},$$

где  $V_M$  — объем масляной фазы эмульсии.



**Рис. 2.** УФ-спектры масляной фазы для опытов из табл. 1. *а*) экстракция маслом, разведение ( $P$ ) хлороформом  $P = 3$ ; *б*) двухфазная экстракция,  $P = 3$ ; *в*) экстракция маслом с ПАВ,  $P = 8$ ; *з*) экстракция эмульсией, разведение  $P = 8$ .

Величины  $V_{m+кл}$  и  $V_m$  определяли как расчетным (по сумме липофильных не смешивающихся с водой компонентов), так и экспериментально, по соотношению объемов фаз. Оба способа дают практически одинаковые результаты.

### Результаты и их обсуждение

Представляло интерес исследовать в сравнительном аспекте экстракцию сухого растительного сырья (СРС) липофильными и гидрофильными экстрагентами, а также их комбинациями. Исследовали композиции с оливковым и вазелиновым маслами; в качестве полярной фазы использовали смесь воды с пропиленгликолем-1,2, чтобы не включать в состав эмульсии летучий компонент (спирт этиловый). Ранее было показано, что качественный и количественный составы полярной фазы при двухфазной экстракции и экстракции только полярным экстрагентом того же состава практически не различаются [6]. В то же время содержание липофильных БАВ в масляной фазе при двухфазной экстракции резко возрастает по сравнению с экстракцией только маслом.

В табл. 1 представлены составы экстрагентов и результаты экстракции травы зверобоя только маслом (1), двухфазной разделяющейся системой экстрагентов (2), смесью масла с ПАВ (3) и неразделяющейся эмульсией, стабилизированной ПАВ 1-го и 2-го рода (4). Методом ТСХ установлено, что масляный экстракт содержит ряд липофильных компонентов, в том числе производных хлорофилла, каротиноидов, причем увеличение числа экстрагируемых компонентов и их количества наблюдается в последовательности (1) < (3) < (2) < (4) (рис. 1).

Из рис. 2 видно, что при экстракции только маслом в масляное извлечение переходят производные хлорофилла (опыт 1). При введении в масло комплекса ПАВ

1-го и 2-го рода (опыт 3) в экстракте появляются также антраценпроизводные (по-видимому, агликоны гиперицина и псевдогиперицина). Содержание антраценпроизводных в масляной фазе возрастает с введением в систему водной фазы и ПАВ (опыты 2 и 4). Концентрация липофильных ПХ в масляной фазе возрастает от экстракции только маслом (1) к двухфазной экстракции (2) и далее к экстракции эмульсией (4). Следует также отметить, что полнота экстрагирования маслом с добавками ПАВ (3) выше, чем только маслом (1). Установленные закономерности наблюдаются при использовании в качестве масляного компонента как оливкового, так и вазелинового масел, хотя в целом экстрактивная способность вазелинового масла несколько ниже, чем оливкового.

Поскольку при экстракции эмульсией извлекаются как липофильные, так и гидрофильные БАВ, то эмульсионные экстракты лекарственных растений могут использоваться в качестве добавок, или даже основ лекарственных и косметических композиций, которые содержат комплекс БАВ, наиболее близкий к природному.

Как показано выше, экстракция травы зверобоя эмульсией, стабилизированной смесью ПАВ 1-го и 2-го рода, увеличивает содержание в эмульсии липофильных БАВ. Представляло интерес установить влияние рода ПАВ на степень экстракции.

В следующей серии экспериментов (табл. 2) испытывались композиции с различными ПАВ и оливковым или вазелиновым маслами: ПАВ только 2-го (в/м) рода (1), ПАВ только 1-го (м/в) рода (2), сочетания ПАВ 1-го и 2-го рода в разных соотношениях (3, 4).

Установлено, что наибольшей экстрактивной способностью по отношению к липофильным БАВ обладают эмульсии, стабилизированные ПАВ 2-го (в/м) рода — вариант 2. Введение в систему ПАВ только 1-го рода резко снижает степень экстракции ПХ в масля-

ную фазу (3), примерно в 5 раз по сравнению с применением ПАВ 2-го рода. Сочетания ПАВ 1-го и 2-го рода проявляют промежуточную экстрактивную способность.

Таким образом, на примере травы зверобоя проведено исследование экстракции сухого растительного сырья водно-масляными эмульсиями. Установлено, что степень извлечения липофильных БАВ (производных хлорофилла) возрастает в ряду экстрагентов: только масло → смесь масла с ПАВ 1-го и 2-го рода → водно-масляная эмульсия.

Исследовано влияние рода ПАВ на экстрактивность липофильных БАВ. Установлено, что степень извлечения липофильных БАВ зависит от рода ПАВ в эмульсии. По сравнению с базовой двухфазной системой ПАВ 2-го рода (ГЛБ ниже 10) повышают, а ПАВ 1-го рода (ГЛБ выше 10) понижают степень извлечения липофильных БАВ.

Сочетания ПАВ 1-го и 2-го рода позволяют в широких пределах варьировать степень извлечения липофильных БАВ. В проведенном эксперименте концентрация ПХ в масляной фазе меняется от 1,85 (оливко-

вое масло с твином 80) до 10,5 (оливковое масло с МГД и ланолином) мг%.

Оливковое масло в процессе эмульсионной экстракции проявляет более высокую экстрактивную способность по отношению к производным хлорофилла, чем вазелиновое.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Д. А. Муравьева, *Фармакогнозия*, Москва (1978), сс. 457 – 458.
2. В. П. Георгиевский, Н. Ф. Комиссаренко, С. Е. Дмитрук, *Биологически активные вещества лекарственных растений*, Наука, СОРАН Новосибирск (1990).
3. Е. Ю. Маковецкая, *Хим.-фарм. журн.*, **34**(2), 55 (2000).
4. *Настойки, экстракты, эликсиры и их стандартизация*, В. Л. Багирова, В. А. Северцев (ред.), СпецЛит, Санкт-Петербург (2001).
5. В. А. Вайнштейн, В. А. Мельникова, С. М. Сапожкова, В. В. Иванова, *Бюл. изобрет.*, № 31 (1999).
6. В. А. Мельникова, В. А. Вайнштейн, А. Н. Шиков, И. Е. Каухова, *Хим.-фарм. журн.*, **33**(12), 27 – 30 (1999).
7. В. В. Фомин, В. А. Вайнштейн, И. Е. Каухова, Ю. А. Лимаренко, Патент РФ № 2142812, *Бюл. изобрет.*, № 35 (1999).
8. Р. С. Искандров, С. Н. Аминов, Х. Т. Авезов, *Химия природ. соедин.*, № 5, 648 – 652 (1998).

Поступила 22.05.03