

© Коллектив авторов, 2009

Р. М. Халилов, А. У. Маматханов, Л. Д. Котенко

## ТЕХНОЛОГИЯ ВЫДЕЛЕНИЯ ЭСТРОГЕННОГО ПРЕПАРАТА ФЕРУЛЕН ИЗ КОРНЕЙ ФЕРУЛЫ ТОНКОРАССЕЧЕННОЙ

Институт химии растительных веществ им. акад. С. Ю. Юнусова АН РУз, Ташкент, Узбекистан, E-mail: dr.khalilov@rambler.ru

Проведены исследования по выделению суммы сложных эфиров (ферулен) из корней ферулы тонкорассеченной. Установлены оптимальные условия режима экстракции суммы сложных эфиров и их очистки. На основании полученных данных разработана технологическая схема выделения ферулена. Разработана методика количественного определения ферулена.

**Ключевые слова:** ферулен, *F. tenuisecta* Eug. Kogov, количественное определение.

Флора Средней Азии богата дикорастущими лекарственными растениями. К их числу относится и *F. tenuisecta* Eug. Kogov. — ферула тонкорассеченная — источник сырья для промышленного получения препаратов ферулен, тефэстрол и паноферол [1, 2].

Ранее был разработан препарат Тефэстрол, представляющий собой природную смесь сложных эфиров сесквитерпеновых спиртов, основными компонентами которой являются ферутинин и тенуферидин, получаемый из корней ферулы тонкорассеченной (*Ferula tenuisecta* Kogov — семейства сельдерейных — Ариасеae) и применяемый в качестве лекарственного средства [3 – 6].

В результате фармакологических исследований Тефэстрол предложен для лечения гипофункции яичников, аменореи (первичная, вторичная), олигоменореи, при синдроме Шершевского — Тернера, дисфункционального маточного кровотечения, целью гемостаза, при бесплодии, обусловленном ановуляцией, после операции рассечения внутриматочной синехии у больных с маточной формой аменореи, при климактерическом синдроме в период пременопаузы или менопау-

зы, при дисгенезии гонад и задержке полового развития [7, 8].

Корни ферулы тонкорассеченной, кроме ферутинина и тенуферидина содержат такие сложные эфиры как ферутин, теферин и фертидин, сопоставимые по эстрогенной активности. Создание препарата, содержащего все эти сложные эфиры, приведет к увеличению выхода конечного продукта, не уступающего по фармакологической активности тефэстролу [9].

С этой целью мы разработали технологию препарата Ферулен, представляющего собой сумму сложных эфиров: ферутинина, ферутина, теферина, фертидина и тенуферидина.

Также разработана методика количественного определения ферулена. Количественное определение ферулена проведено методом неводного титрования. Титрование проводили в среде диметилформамида, титрант — метилат натрия (0,1 моль/л), определение эквивалентной точки — визуальное, индикатор — тимоловый синий; переход окраски индикатора — от желтой в синюю.

С помощью хроматографии в тонком слое на пластинках Силуфол УФ-254 в системе гексан — этилацетат — 95 % спирт, 30:10:0,5, определен качественный состав препарата, основными компонентами которого являются ферутинин, ферутин, теферин, фертидин и

Таблица 1

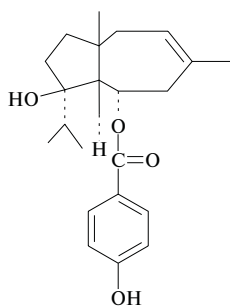
### Выбор экстрагента

Растворитель	Выход экстрактивных веществ к массе сырья, %	Выход сложных эфиров	
		% к массе сырья	% от содержания в сырье
Метанол	24,70 ± 1,30	4,28 ± 0,18	85,60 ± 3,77
Этанол 95 %	24,50 ± 1,50	4,19 ± 0,15	83,90 ± 3,82
90 %	22,90 ± 1,10	3,92 ± 0,17	78,32 ± 3,77
80 %	20,10 ± 1,00	3,61 ± 0,14	72,22 ± 2,86
70 %	18,80 ± 1,00	3,26 ± 0,16	65,31 ± 3,59
60 %	17,60 ± 0,80	3,03 ± 0,17	60,54 ± 2,84
Ацетон	23,80 ± 1,30	4,14 ± 0,21	82,87 ± 3,92
Ацетон — вода, 1:1	15,70 ± 0,80	3,43 ± 0,15	68,65 ± 3,32

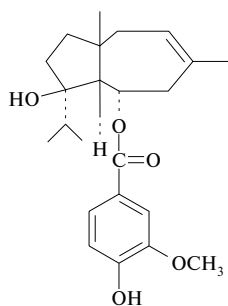
Таблица 2

### Влияние степени измельченности на выход сложных эфиров

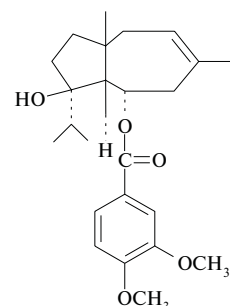
Степень измельчения, мм	Выход экстрактивных веществ к массе сырья, %	Выход сложных эфиров	
		% к массе сырья	% от содержания в сырье
0 – 2	20,10 ± 0,20	4,15 ± 0,21	83,10 ± 4,30
2 – 4	24,60 ± 1,00	4,23 ± 0,19	84,60 ± 5,30
4 – 6	24,40 ± 1,20	4,24 ± 0,18	84,80 ± 4,90
6 – 8	20,30 ± 1,10	4,11 ± 0,23	82,30 ± 3,90
Не измельченное	18,90 ± 0,70	3,77 ± 0,18	75,40 ± 3,70



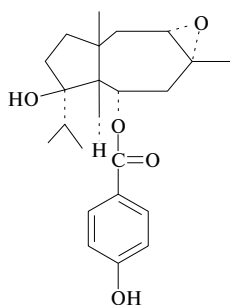
Ферутинин  $C_{22}H_{30}O_4$



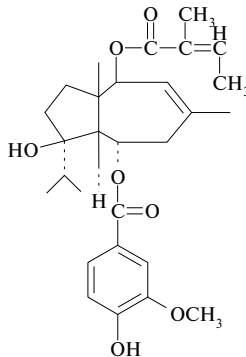
Теферин  $C_{23}H_{32}O_5$



Ферутин  $C_{23}H_{32}O_5$



Тенуферидин  $C_{22}H_{30}O_5$



Фертидин  $C_{27}H_{36}O_4$

тенуферидин. Вещества идентифицированы по свидетельствам — чистым химическим соединениям.

Для разработки метода получения ферулена из ферулы тонкорассеченной изучали влияние экстрагирующей способности различных органических растворителей и их водных растворов.

Помимо сложных эфиров, в экстракте содержатся сопутствующие вещества, представляющие собой органические кислоты, нейтральные соединения и др.

Принцип очистки ферулена от сопутствующих веществ основан на извлечении их из этилацетатного раствора водными растворами  $Na_2CO_3$  и  $K_2CO_3$ . При этом образуются водорастворимые калиевые и натриевые соли органических кислот.

Оставшиеся после обработки в этилацетатном растворе сложные эфиры, имеющие фенольные гидроксилы, при обработке раствором едкого кали образуют водорастворимые феноляты и извлекаются щелочным

раствором, а сопутствующие вещества нейтрального характера остаются в этилацетатном растворе.

#### Экспериментальная часть

Опыты проводили в одинаковых условиях трехкратной экстракцией образцов корней ферулы тонкорассеченной массой по 200 г исследуемыми растворителями. Продолжительность экстракции — 8 ч при каждом контакте фаз (табл. 1).

Выявлено, что метанол и этанол примерно одинаково извлекают сумму сложных эфиров и по извлекающей способности превосходят остальные экстрагенты.

При изучении влияния степени измельченности на выход сложных эфиров из растительного сырья установили, что для экстракции суммы сложных эфиров частицы сырья должны быть размером 2–6 мм (табл. 2).

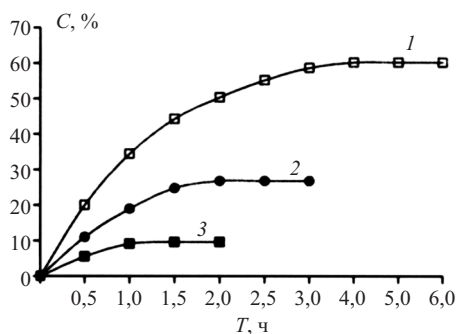


Рис. 1. Кинетика экстракции сложных эфиров из сырья: 1 — первый контакт фаз, 2 — второй контакт фаз, 3 — третий контакт фаз.

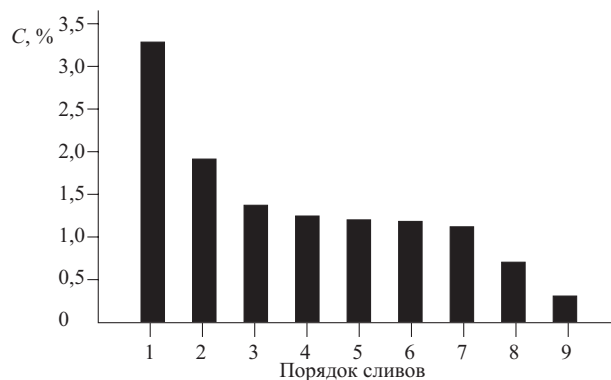


Рис. 2. Динамика извлечения сопутствующих веществ 5% раствором  $K_2CO_3$ .

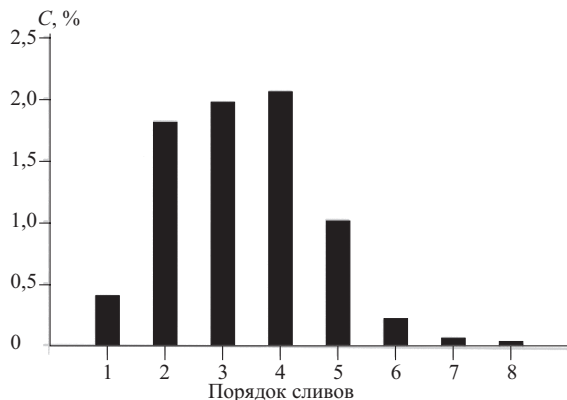


Рис. 3. Кинетика извлечения ферулена из этилацетатного раствора.

Для отработки рационального режима извлечения суммы сложных эфиров из сырья, исследовали кинетику экстракции суммы сложных эфиров из корней ферулы тонкорассеченной (рис. 1). Установлено, что продолжительность настаивания при первом контакте фаз составляет 4 ч, при втором — 2 ч и при третьем — 1 ч. За 3 слива степень извлечения достигла 95 % сложных эфиров от содержания их в сырье.

В результате экспериментов выявлено, что для удаления сопутствующих веществ кислого характера из

этилацетатного раствора могут использоваться 5 % растворы  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  или  $\text{K}_2\text{CO}_3$ , (табл. 3).

Проведенные эксперименты по изучению динамики извлечения сопутствующих веществ из этилацетатного раствора показали, что 9-кратная обработка 5 % раствором  $\text{K}_2\text{CO}_3$  достаточна для удаления сопутствующих веществ (рис. 2).

Установлено, что 1–3 % раствор едкого кали достаточно хорошо извлекает сложные эфиры из очищенного этилацетатного раствора (табл. 4).

Для исчерпывающего извлечения сложных эфиров из этилацетатного раствора достаточна 6–7-кратная экстракция 1 % раствором едкого кали (рис. 3).

Исследования показали, что для получения продукта с чистотой не менее 85 % целесообразно проводить хроматографическую очистку на силикагеле. Также отмечено, что при очистке технического ферулена на силикагеле оптимальным элюентом является этилацетат — гексан, 1:3, или этилацетат — бензин, 1:3.

Методом математического планирования эксперимента плана латинский квадрат  $3 \times 3$  установили оптимальные условия очистки технического ферулена, заключающиеся в следующем: соотношение высоты сорбционного слоя к диаметру колонки — 8:1, соотношение суммы к сорбенту — 1:10 и скорость элюирования — 1 л/ч (диаметр колонки 4,5 см, длина 90 см).

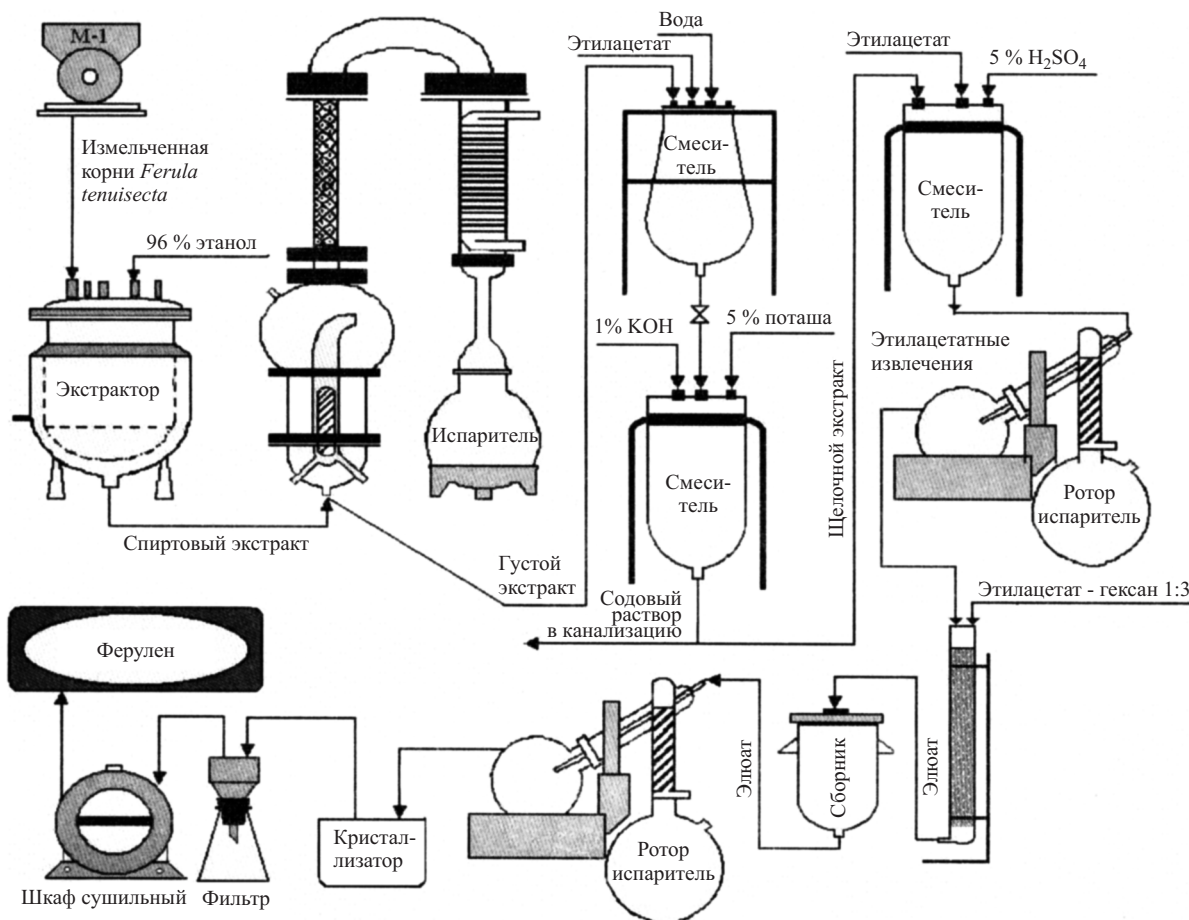


Рис. 4. Технологическая схема выделения субстанции ферулена из корней *Ferula tenuisecta*.

Таблица 3  
Подбор растворителя для извлечения сопутствующих веществ

Водные растворы, %	Извлечено суммы сложных эфиров из этилацетатного раствора, % от массы сырья	Извлечено сопутствующих веществ из этилацетатного раствора, % от массы сырья
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>		
1	0,41 ± 0,02	5,48 ± 0,20
2	0,70 ± 0,04	6,51 ± 0,28
5	0,81 ± 0,04	6,50 ± 0,40
10	0,92 ± 0,02	7,07 ± 0,32
15	0,79 ± 0,04	6,90 ± 0,34
K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>		
1	0,49 ± 0,03	6,81 ± 0,33
2	0,88 ± 0,04	7,19 ± 0,31
5	1,02 ± 0,04	7,80 ± 0,43
10	0,93 ± 0,03	7,92 ± 0,41
15	1,10 ± 0,06	7,80 ± 0,37

На основе полученных результатов предложен промышленный способ получения ферулена из корней ферулы тонкорассеченной.

**Описание технологической схемы получения ферулена.** Воздушно-сухие корни ферулы тонкорассеченной измельчают до частиц сырья размером 2 – 6 мм. Измельченное сырье загружают в экстрактор и заливают 96 % этанолом до образования зеркального слоя. Экстракцию суммы сложных эфиров проводят в течение 6 ч. Первый этанольный экстракт сливают и отфильтровывают. В экстрактор заливают новую порцию 96 % этилового спирта и проводят вторую и третью экстракции аналогично первой.

Объединенный экстракт суммы сложных эфиров подают в вакуум-циркуляционный аппарат для упарки растворителя. Сгущенный спиртовой экстракт сливают из выпарного аппарата в смеситель, разбавляют водой в соотношении 1:1 и экстрагируют этилацетатом.

Этилацетатное извлечение сливают в смеситель и обрабатывают 5 % раствором поташа. Очищенную сумму сложных эфиров подают в реактор и экстрагируют 1 % раствором КОН.

Таблица 4  
Подбор концентрации КОН для извлечения сложных эфиров

Водные растворы КОН, %	Извлечено суммы сложных эфиров из этилацетатного раствора, % от массы сырья	Извлечено сопутствующих веществ из этилацетатного раствора, % от массы сырья
0,5	6,68 ± 0,05	4,98 ± 0,18
1	6,89 ± 0,31	5,31 ± 0,30
3	7,00 ± 0,35	5,07 ± 0,23
5	7,01 ± 0,36	5,20 ± 0,21

Щелочной экстракт сливают в смеситель и подкисляют серной кислотой. Из кислого раствора сумму сложных эфиров извлекают этилацетатом. Этилацетатный раствор упаривают в вакуум-выпарном аппарате. Кубовый остаток перемешивают с силикагелем и загружают в колонку с силикагелем. Элюируют смесь этилацетат — гексан, 1:3. Элюат объединяют в сборник и порциями подают в ротационный испаритель, где упаривают до густой массы и кристаллизуют. Кристаллы отделяют и сушат в сушильном шкафу при 70 – 80 °С (рис. 4).

## ЛИТЕРАТУРА

1. А. Г. Куркумов, Х. Г. Ахмедходжаева, *Эстрогенные лекарственные препараты из растений рода ферул*, Ибн-Сино, Ташкент (1994).
2. С. К. Черепанов, *Сосудистые растения СССР*, Наука, Ленинград (1981).
3. А. У. Маматханов, *Автореф. дис. ... канд. тех. наук*, Ташкент (1984).
4. А. И. Саидходжаев, Г. К. Никонов, *Химия природ. соедин.*, № 1, 28 – 30 (1973).
5. А. И. Саидходжаев, Г. К. Никонов, *Химия природ. соедин.*, № 4, 529 – 563 (1972).
6. А. И. Саидходжаев, *Химия природ. соедин.*, № 1, 70 (1978).
7. В. М. Потапов, Г. К. Никонов, *Известия*, № 2, 68 – 69 (1980).
8. *Способ получения средств, обладающих эстрогенной активностью*, А. У. Маматханов, Х. С. Ахмедходжаева, Л. Д. Котенко и др., Патент Узбекистана № 5588 (1999).
9. *Способ получения эстрогенного препарата*, А. У. Маматханов, Х. С. Ахмедходжаева и др., Патент Узбекистана (1999).

Поступила 06.05.08

## TECHNOLOGY OF ISOLATION OF ESTROGEN PREPARATION FERULEN FROM *FERULA TENUISECTA* ROOTS

R. M. Khalilov, A. U. Mamatkhanov, and L. D. Kotenko

Yunusov Institute of Chemistry of Plant Substances, Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, Tashkent, 100170 Uzbekistan;  
\*e-mail: dr.khalilov@rambler.ru

The possibility of isolating the sum of esters (ferulen) from *Ferula tenuisecta* roots has been studied. Optimum conditions for the extraction of ferulen are established. On this basis, a technological scheme of ferulen isolation is developed. Methods for the quantitative determination of ferulen are proposed.

**Key words:** ferulen, *F. tenuisecta* Eug. Korov, quantitative determination.