

Рекомендована д.ф.н., професором В.М.Ковальовим

УДК 615.322 : 615.451.16 : 547.56

## ДОСЛІДЖЕННЯ ПРОЦЕСУ ЕКСТРАКЦІЇ ФЕНОЛЬНИХ РЕЧОВИН ІЗ СУЦВІТЬ TILIA CORDATA

С.В.Бреусова, В.Г.Дем'яненко, Д.В.Дем'яненко

Національний фармацевтичний університет

Досліджено вплив різних факторів на процес екстракції фенольних речовин зі шроту, одержаного після обробки суцвіть липи серцеподібної зрідженим хладоном-22. З використанням методу математичного планування експерименту обґрунтовані оптимальні технологічні параметри на стадії виділення фенольного комплексу. Встановлено, що вихід екстрактивних речовин значною мірою залежить від концентрації етанолу і кратності витяжок, а на повноту екстракції суми флавоноїдів найбільший вплив чинять концентрація етанолу і співвідношення сировини до екстрагенту. При виділенні основних БАР фенольного комплексу оптимальними параметрами є: екстрагент — 60% етанол, кратність екстракції 2-4 рази по 60-80 хв, співвідношення сировина / екстрагент 1:15 — 1:20.

У теперішній час лікарські препарати рослинного походження займають значне місце на вітчизняному і зарубіжному фармацевтичних ринках, складаючи в деяких фармакологічних групах до 50% від всієї номенклатури препаратів. При цьому спостерігається постійна тенденція до збільшення попиту і зростання виробництва фітопрепаратів, що пов'язано з їх низькою токсичністю, незначною частотою побічних ефектів і, відповідно, можливістю тривалого вживання при лікуванні хронічних захворювань. Отже, однією з пріоритетних задач сучасної фітохімії є впровадження у фармацевтичне виробництво нових видів рослинної сировини, які зараз використовуються в народній (нетрадиційній) медицині, та удосконалення існуючих технологій екстракції біологічно активних речовин (БАР) [2, 4].

Проведений нами аналіз літературних і патентних даних вказує на можливість застосування суцвіть липи як джерела різних лікарських субстанцій для промислового випуску препаратів із широким спектром фармакологічної активності. Це обумовлено, з одного боку, різноманітністю хімічного складу сировини, а з іншого боку, багатотою сировинною базою на території України, країн СНД і Європи [1, 4, 10].

Як відомо, основною групою діючих речовин у суцвіттах липи є фенольні сполуки (флавоноїди, оксикоричні кислоти, кумарини). Дані БАР характеризуються досить високою і різноманітною активністю та в більшості випадків низькою токсичністю [1, 9, 10]. Так, у роботах [6, 10] було показано, що деякі флавоноїди липи мають здатність до взаємодії з бензодіазепіновими рецепторами. Таким чином, наявність цих субстанцій пояснює седативний ефект галенових препаратів липи. Крім того, вони стимулюють проліферацію лімфоцитів і тому можуть застосовуватися для виробництва імуностимулюючих засобів [6].

Автори [9] вказують на високу гепатопротекторну дію спиртових екстрактів з суцвіть липи на моделі гепатиту, індукованого галактозаміно-ліпополісахаридом. Фармакологічна активність виявлялася вже при дозі екстракту 25 мг/кг. Було встановлено, що відповідальним за даний ефект є флавоноїд тилірозид, специфічний для липи. У літературі є дані про значні антиоксидантні властивості екстрактів, які також пояснюються наявністю відносно великої кількості фенольних сполук [11].

Крім того, гідрофільні (переважно водно-спиртові) екстракти, одержані з суцвіть липи, мають також цукрознижуючу, знеболювальну, жарознижуючу, жовчогінну та противиразкову активність. Завдяки цьому ця рослинна сировина набула великої популярності в амбулаторних пацієнтів, які страждають на гастроентерологічні захворювання. Так, наприклад, дослідження [7], проведені в Іспанії, показали, що суцвіття липи посідають друге місце у рейтингу споживання лікарських рослин хворими цієї групи.

В Україні на теперішній час не освоєна промислово переробка зазначеної сировини з метою отримання субстанцій (сумарних або очищених) і препаратів на їх основі з різноспрямованою фармакологічною активністю.

Враховуючи вищевикладене, метою нашої роботи було дослідження процесу екстракції фенольних речовин із суцвіть липи серцеподібної та обґрунтування оптимальних технологічних параметрів на стадії одержання фенольного комплексу.

Таблиця 1

Змінні фактори, що досліджуються в експерименті

Рівень фактора	Фактори			
	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>	X <sub>4</sub>
	A <sub>i</sub> — час екстрагування, хв	B <sub>y</sub> — тип екстрагенту	C <sub>k</sub> — співвідношення сировини та екстрагенту	D <sub>i</sub> — кратність витяжок, рази
1	20	20% етанол	1:5	1
2	40	40% етанол	1:10	2
3	60	60% етанол	1:15	3
4	80	80% етанол	1:20	4

Відомо, що ефективність процесу екстракції залежить від великої кількості факторів, обумовлених характеристиками екстрагенту, технологічними властивостями сировини і гідродинамічними умовами екстрагування [5]. Отже, оптимізація режиму екстракції вимагає постановки значної кількості дослідів. Для вирішення цих питань велику допомогу надають методи математичного планування експерименту [3].

#### Експериментальна частина

У запропонованих дослідженнях як вихідний матеріал для екстрагування фенольних речовин (далі — сировина) нами був застосований шрот, одержаний після екстракції суцвіть липи зрідженим дифторохлорметаном (хладоном-22).

Планування експерименту здійснювалося методом греко-латинського квадрату 4Ф4. Постійними факторами були: наважка сировини, завантаженої в екстрактор (20 г); температура екстракції

(+20°C); гідродинамічні умови (швидкість обертання мішалки 60 об/хв) та ступінь подрібненості сировини (фракція з розміром часток 1,0-2,0 мм).

Під час проведення оптимізації досліджували вплив наступних змінних факторів на вихід БАР: час екстрагування (20-80 хв), кратність витяжок (1-4 рази), концентрацію етанолу (20-80%), співвідношення сировини до екстрагенту (1:5 — 1:20) (табл. 1).

Двофакторний дисперсійний аналіз одержаних результатів проводили за допомогою відповідних модулів комп'ютерної програми Microsoft Excel.

Вміст екстрактивних речовин у сировині та в екстрактах визначали за методикою ДФ11, с. 295. Кількісне визначення флавоноїдів у сировині та в екстрактах проводили за методикою [8].

#### Результати та їх обговорення

Експериментальні дані по виходу екстрактивних речовин та фенольних сполук (у вигляді суми

Таблиця 2

Вихід екстрактивних речовин у залежності від умов екстракції

Фактори та їх рівні	Взято спирту, мл (всього)	Кількість злилого екстракту, мл	Кількість екстракту, взятого для аналізу, мл	Кількість сухого залишку, г	Вихід екстрактивних речовин, %
A3B1C2D2	240	92	20	0,3644	21,86
A1B1C4D1	400	268	25	0,2285	18,28
A2B1C3D3	472	210	25	0,2912	27,49
<b>A4B1C1D4</b>	345	212	20	0,3741	<b>32,27</b>
A3B2C1D1	100	22	10	0,3754	18,77
A1B2C3D2	490	364	25	0,2413	23,65
A2B2C4D4	1208	1022	30	0,1384	27,86
A4B2C2D3	378	256	50	0,6992	26,43
A1B3C1D3	146	62	20	0,3406	12,43
A2B3C2D1	200	122	25	0,2852	11,41
A3B3C3D4	882	754	50	0,3018	26,62
A4B3C4D2	706	608	50	0,3280	23,16
A1B4C2D4	538	516	30	0,1796	16,10
A2B4C1D2	128	52	20	0,3011	9,64
A3B4C4D3	1018	900	50	0,1858	18,91
A4B4C3D1	300	212	25	0,1813	10,88

Таблиця 3

Повнота витяжки суми флавоноїдів у залежності від умов екстракції

Фактори та їх рівні	Наважка сухого залишку, взятого для аналізу, г	Оптична густина	Кількість флавоноїдів у сухому залишку, %	Вихід флавоноїдів відносно наважки сировини, %	Повнота витяжки суми флавоноїдів, %
A3B1C2D2	0,3644	0,2451	0,519	0,1135	23,75
A1B1C4D1	0,2285	0,2747	0,928	0,1697	35,49
A2B1C3D3	0,2912	0,1724	0,457	0,1256	26,28
A4B1C1D4	0,3741	0,1339	0,276	0,0892	18,65
A3B2C1D1	0,3754	0,5147	1,058	0,1987	41,56
A1B2C3D2	0,2413	0,3441	1,101	0,2603	54,46
A2B2C4D4	0,1384	0,2016	1,125	0,3133	65,55
A4B2C2D3	0,3004	0,492	1,264	0,3342	69,91
A1B3C1D3	0,3406	0,6947	1,575	0,1958	40,95
A2B3C2D1	0,2852	0,5788	1,567	0,1787	37,39
<b>A3B3C3D4</b>	0,3018	0,6831	1,747	0,4651	<b>97,31</b>
<b>A4B3C4D2</b>	0,3280	0,6897	1,623	0,3759	<b>78,64</b>
A1B4C2D4	0,1796	0,3772	1,621	0,2611	54,63
A2B4C1D2	0,1811	0,7994	3,408	0,3283	68,69
A3B4C4D3	0,1858	0,3984	1,655	0,3131	65,50
A4B4C3D1	0,181322	0,612	2,606	0,2835	59,31

флавоноїдів) в залежності від умов екстракції наведені в табл. 2 та 3 відповідно.

Як видно з табл. 2, найбільший вихід екстрактивних речовин досягається при 4-кратному екстрагуванні 20% спиртом протягом 80 хв кожний раз, навіть якщо співвідношення сировина / екстрагент було мінімальним (1:5). Однак достатньо високі виходи (26-27%) спостерігалися також при екстракції 40% і навіть 60% спиртом, але при високих співвідношеннях сировини до екстрагенту. Це можна пояснити доброю розчинністю екстрактивних речовин, які являють собою переважно гідрофільні сполуки, у розведених спиртах. При підвищенні міцності спирту їх розчинність значно погіршується, тому потрібна більша кількість екстрагенту.

На основі результатів, наведених у табл. 3, можна зробити висновок, що оптимальними умовами екстракції біологічно активних речовин із суцвіть липи серцеподібної слід вважати A4C4D2B3 та A3C3D4B3. Тобто екстрагування суми флавоноїдів доцільно проводити 60% етанолом 2 рази по 80 хв при співвідношенні сировина/екстрагент 1:20 або 4 рази по 60 хв при співвідношенні 1:15. Враховуючи дуже високу ефективність екстракції БАР в першому випадку, даному режиму слід віддати перевагу, незважаючи на додаткові витрати часу (загальна тривалість процесу складає 240 хв) і спирту (в 1,3 рази більше). Однак, на менш потужних виробництвах з економічної точки хору більш доцільно проводити процес за режимом A4B3C4D2.

При проведенні дисперсійного аналізу одержаних даних було встановлено, що вихід екстрактивних речовин значно залежить від концентрації етанолу та кратності екстрагування. Це пояснюється розчинністю цих речовин переважно у воді та розведених спиртах, а також швидким насиченням ними екстракту, що потребує багатократної зміни розчинника.

Найбільший вплив на вихід суми флавоноїдів з *Tilia cordata* чинить концентрація етанолу та співвідношення сировини до екстрагенту. Тривалість та кратність екстрагування виявилися найменш значущими факторами. Все це можна пояснити тим, що флавоноїди, по-перше, розчинні переважно у спирті середньої міцності, а по-друге, їх розчинність взагалі є досить низькою, що викликає необхідність збільшувати кількість екстрагенту.

#### ВИСНОВКИ

1. За допомогою методу математичного планування експерименту було досліджено вплив різних факторів на ефективність екстракції. Встановлено, що вихід екстрактивних речовин значно залежить від концентрації етанолу та кратності екстрагування, а на ефективність екстрагування суми флавоноїдів найбільший вплив чинить концентрація етанолу та співвідношення сировини до екстрагенту.

2. Оптимальними параметрами при виділенні основних БАР фенольного комплексу з сировини слід вважати: екстрагент — 60% етанол, кратність екстракції 2-4 рази по 60-80 хв, співвідношення сировина / екстрагент 1:15 — 1:20.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Болотова В.Ц. *Фитохимическое и фармакологическое изучение листьев липы сердцевидной и препаратов на их основе: Автореф. дис ... канд. фармац. наук.* — С.Пб., 2002. — 27 с.
2. Ветров П.П., Носовская Т.Д., Гарная С.В. и др. // *Фармаком.* — 2001. — №1. — С. 15-17.
3. Лисенков А.Н. *Математические методы планирования многофакторных медико-биологических экспериментов.* — М.: Медицина, 1979. — 344 с.
4. Лушина В.І. // *Фітотерапія в Україні.* — 2001. — №3. — С. 30-33.
5. Попова Т.П., Лутвиненко В.І. // *Фармац. журн.* — 1995. — №5. — С. 98-100.
6. Anesini C., Werner S., Borda E. // *Fitoterapia.* — 1999. — Vol. 70, №4. — P. 361-367.
7. Devesa Jorda F., Pellicer Bataller J., Ferrando Ginestar J. et al. // *Gastroenterol. Hepatol.* — 2004. — Vol. 27, №4. — P. 244-249.
8. Jurisic Grubestic R., Vukovic J., Kremer D., Vladimir-Knezevic S. // *Acta Chim. Slov.* — 2007. — Vol. 54. — P. 397-406.
9. Matsuda H., Ninomiya K., Shimoda H., Yoshikawa M. // *Bioorg. Med. Chem.* — 2002. — Vol. 10. — P. 707-712.
10. Viola H., Wolfman C., Levi de Stein M. et al. // *J. Ethnopharmacol.* — 1994. — Vol. 44, №1. — P. 47-53.
11. Yildirim A., Mavi A., Oktay M. // *J. Agric. Food. Chem.* — 2000. — Vol. 48, №10. — P.5030-5034.

---

УДК 615.322 : 615.451.16 : 547.56

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОЦЕССА ЭКСТРАКЦИИ ФЕНОЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ ИЗ СОЦВЕТИЙ *TILIA CORDATA*

С.В.Бреусова, В.Г.Демьяненко, Д.В.Демьяненко

Исследовано влияние различных факторов на процесс экстракции фенольных веществ из шрота, полученного после обработки соцветий липы сердцевидной сжиженным хладон-22. С использованием метода математического планирования эксперимента обоснованы оптимальные технологические параметры на стадии выделения фенольного комплекса. Установлено, что выход экстрактивных веществ значительно зависит от концентрации этанола и кратности извлечений, а на полноту извлечения суммы флавоноидов наибольшее влияние оказывает концентрация этанола и соотношение сырья к экстрагенту. При выделении основных БАВ фенольного комплекса оптимальными параметрами являются: экстрагент — 60% этанол, кратность экстракции 2-4 раза по 60-80 мин, соотношение сырье / экстрагент 1:15 — 1:20.

---

UDC 615.322 : 615.451.16 : 547.56

THE STUDY OF EXTRACTION PROCESS OF PHENOLIC COMPOUNDS FROM *TILIA CORDATA* INFLORESCENCES

S.V.Breusova, V.G.Demyanenko, D.V.Demyanenko

The influence of different factors on the process of extraction of phenolic compounds from linden inflorescences previously processed with condensed freon-22 has been studied. Using the mathematical method of the experimental planning, the optimal technological parameters on the stage of the phenolic complex extraction have been stipulated. It has been found that the yield of extractants depends considerably on the ethanol concentration and the number of extraction steps, and the recovery of the flavonoid sum is greatly influenced by the concentration of ethanol and raw material / extragent ratio. While isolating biologically active substances of the phenolic complex the optimal parameters are: extragent is 60% ethanol, the number of extraction steps — 2-4 per 60-80 minutes each, raw material / extragent ratio is 1:15 — 1:20.