



INTERNATIONAL MEDICAL FORUM  
EXHIBITION/CONFERENCES/SEMINARS

# HEALTHCARE OF BELARUS

12-15.03.2019  
MINSK, BELARUS

## Влияние предварительной подготовки лекарственного растительного сырья на экстракцию биологически активных веществ

Лукашов Роман Игоревич, доцент  
кафедры фармацевтической химии





# Экстракты (Extracta)



продукты жидкой (жидкие экстракты и настойки), мягкой (густые экстракты) или твердой (сухие экстракты) консистенции, получаемые из ЛРС или животного материала, которые обычно используются в высушенном виде.

Экстракты изготавливают соответствующими методами, используя **спирт** или **другой** подходящий растворитель.

Материал, который подвергается экстрагированию, может быть **ПРЕДВАРИТЕЛЬНО ОБРАБОТАН** путем, например, измельчения, обезжиривания или инактивации ферментов. *После экстракции ненужные вещества, если необходимо, могут быть удалены (ГФ РБ, т. 1).*

В настоящее время производители экстракционных ЛС на территории СНГ используют практически только **ИЗМЕЛЬЧЕНИЕ** как способ предварительной обработки ЛРС.



# Актуальность

В мире (особенно в США и Японии) при получении качественных, эффективных и безопасных ЛС из ЛРС используют не только нативное сырье, но и ЛРС после проведения предварительной обработки (обезжиривание и др.).

Предварительная обработка, как правило, используется для улучшения последующей экстракции целевой группы БАВ и получения вытяжек, обогащенных действующими веществами и обедненных балластными веществами.

**Цель работы** изучить влияние **обезжиривания** и **термической обработки** календулы цветков как стадий предварительной подготовки ЛРС на **последующую экстракцию флавоноидов** при получении настоек и сухих экстрактов.



# Задачи исследования

1. Установить влияние предварительного обезжиривания и термической обработки календулы цветков на последующую экстракцию из них флавоноидов.
2. Подобрать условия предварительного обезжиривания (обезжиривающий агент, продолжительность и кратность обезжиривания, соотношение обезжиривающего агента и ЛРС), способствующие максимальному выходу флавоноидов из ЛРС при последующей экстракции.
3. Выявить влияние температуры и продолжительности термической обработки календулы цветков на последующую экстракцию из них флавоноидов.
4. Провести сравнение содержания флавоноидов в настойках и сухих экстрактах, полученных из календулы цветков при моновариантах их предварительной обработки и их комбинации.

# Объект исследования

Календулы цветки промышленных серий. Согласно ГФ РБ, т. 2 их стандартизируют по **сумме флавоноидов**, которые обуславливают **противовоспалительное** и **ранозаживляющее** (за счет усиления ангиогенеза) действие.



ЛФ на основе календулы в Республике Беларусь:

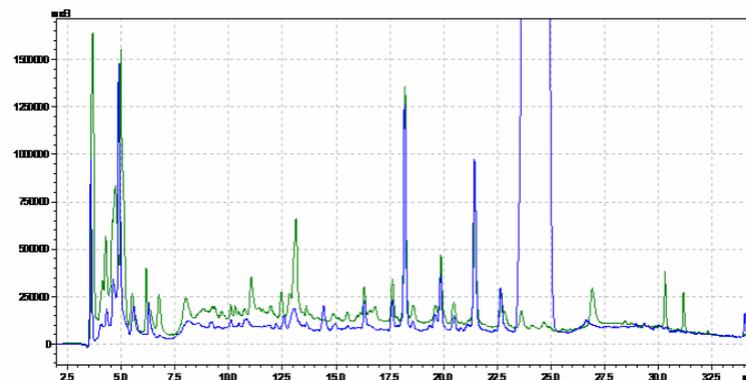
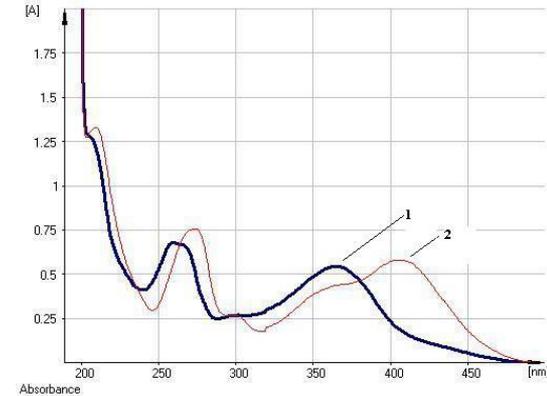
- ❖ Мазь для наружного применения «Календула».
- ❖ Календулы настойка 1 : 10 (не менее 65% этанола).
- ❖ Ноготков (календулы) цветки - измельченное сырье.
- ❖ Календула П - таблетки.



# Материалы и методы исследования

В работе использованы **высокоэффективная жидкостная хроматография** и **спектрофотометрический** метод, основанный на измерении оптической плотности раствора, содержащего окрашенный продукт реакции флавоноидов с алюминия хлоридом при длине волны около 410 нм.

Пересчет суммарного содержания флавоноидов производили на **рутин**.



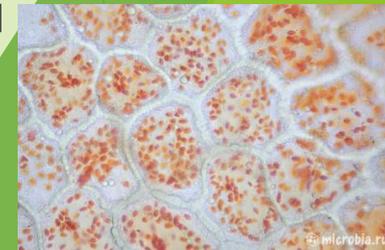
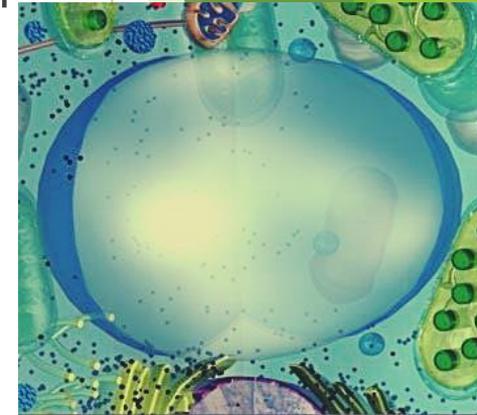
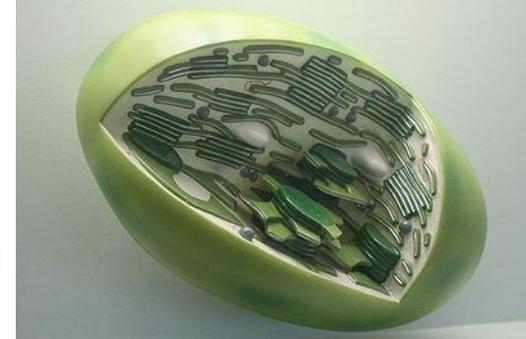
# Обезжиривание

Ряд БАВ (например, флавоноиды) накапливаются в клеточных **органеллах, окруженных мембраной**: хлоропласты (агликоны) и вакуоли (гликозиды). При измельчении зачастую не удается достичь такого размера частиц, при котором эти органеллы будут повреждены и, соответственно, смогут высвободить при последующей экстракции свое содержимое.

Учитывая дифильную природу клеточных и субклеточных мембран, эффективным способом их дестабилизации и порации может являться обезжиривание ЛРС.

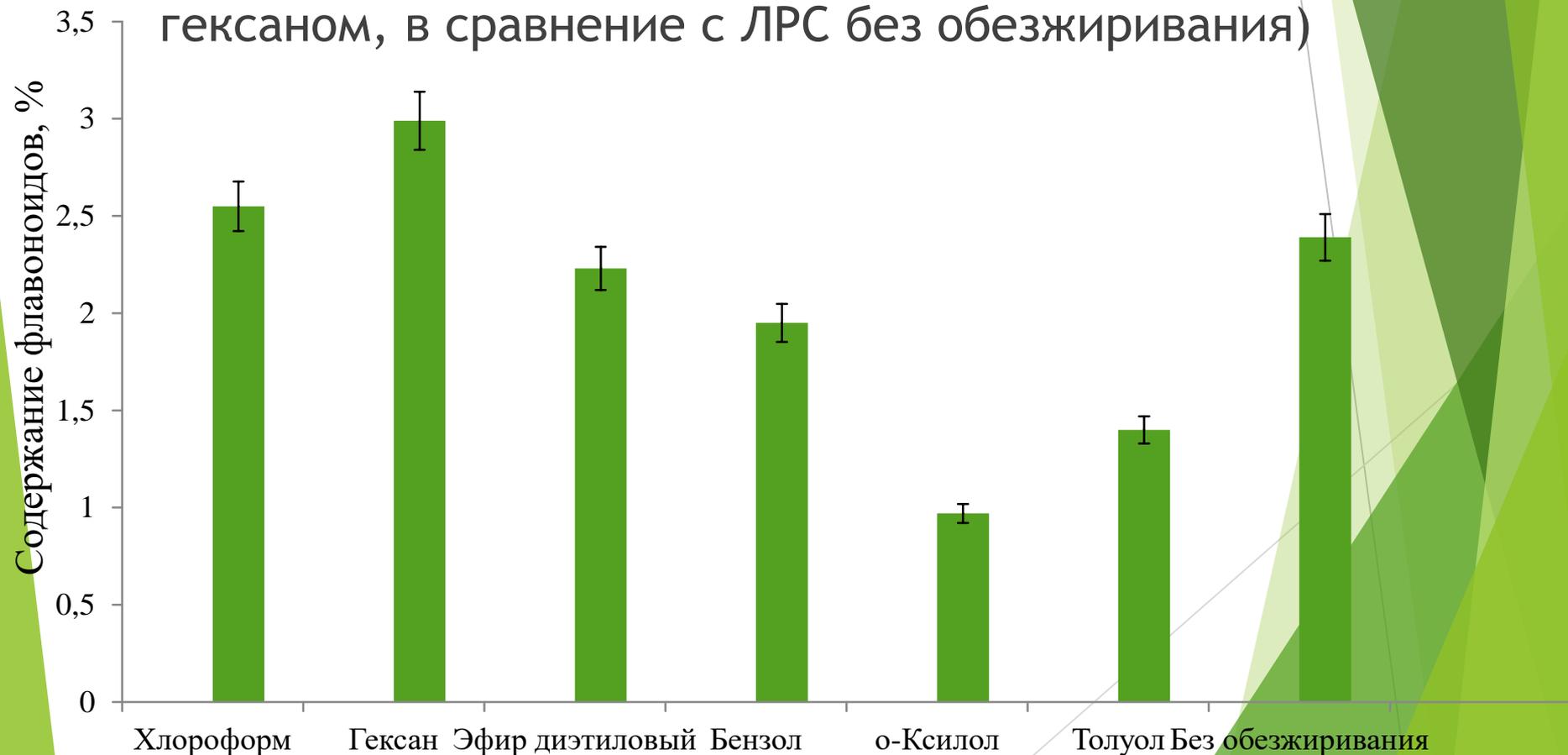
**ОБЕЗЖИРИВАНИЕ** - добавление к ЛРС неполярного экстрагента с целью удаления липофильных веществ и разрушения дифильных клеточных и субклеточных структур (например, мембран) с последующей его отгонкой.

Полярные ФС (в т.ч. флавоноиды) при обезжиривании извлекаться обезжиривающим агентом практически не будут.



# Подбор обезжиривающего агента

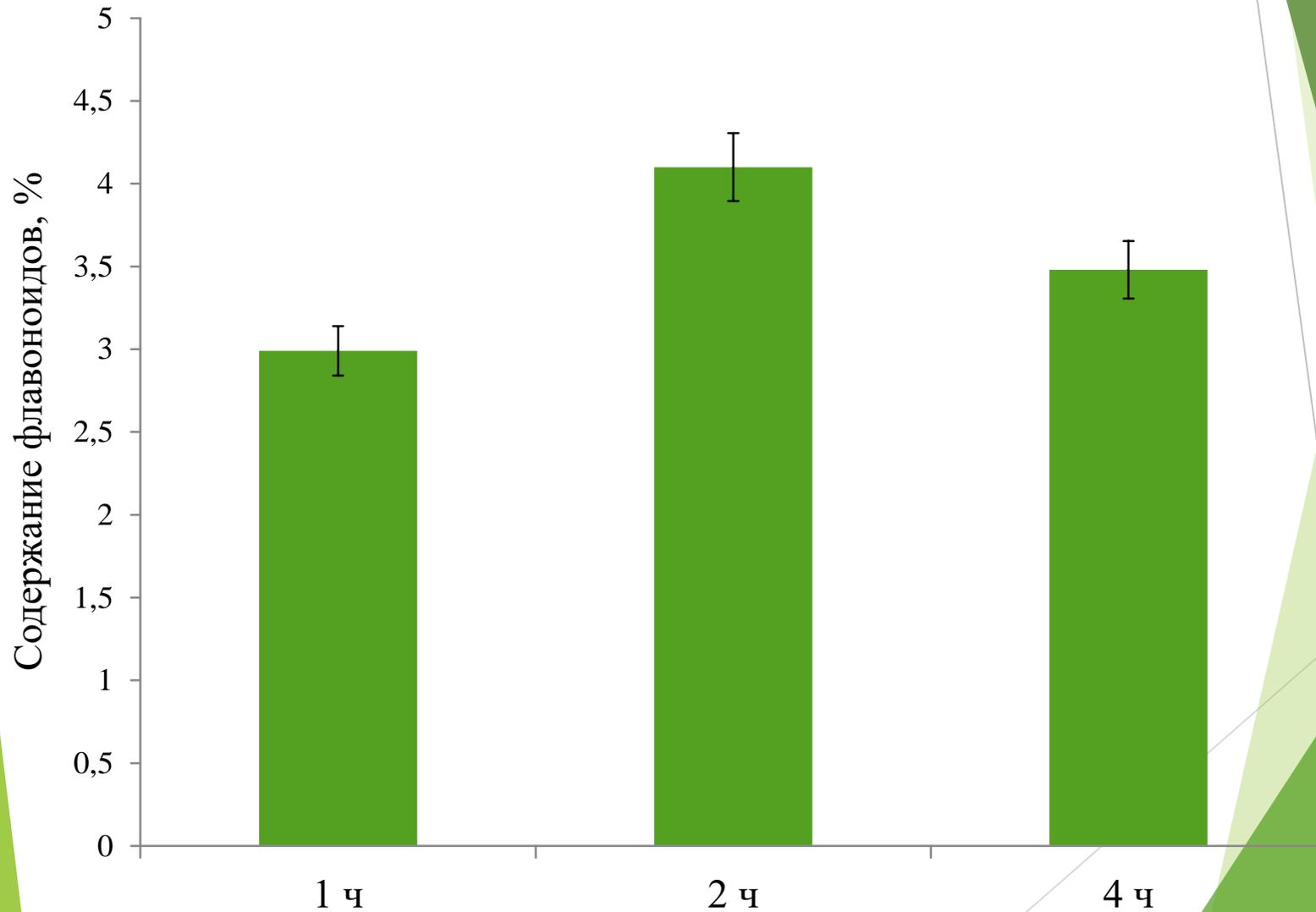
$p = 0,000695 < 0,05$  (в 1,25 раза больше содержание флавоноидов при экстракции из ЛРС, обезжиренного гексаном, в сравнение с ЛРС без обезжиривания)



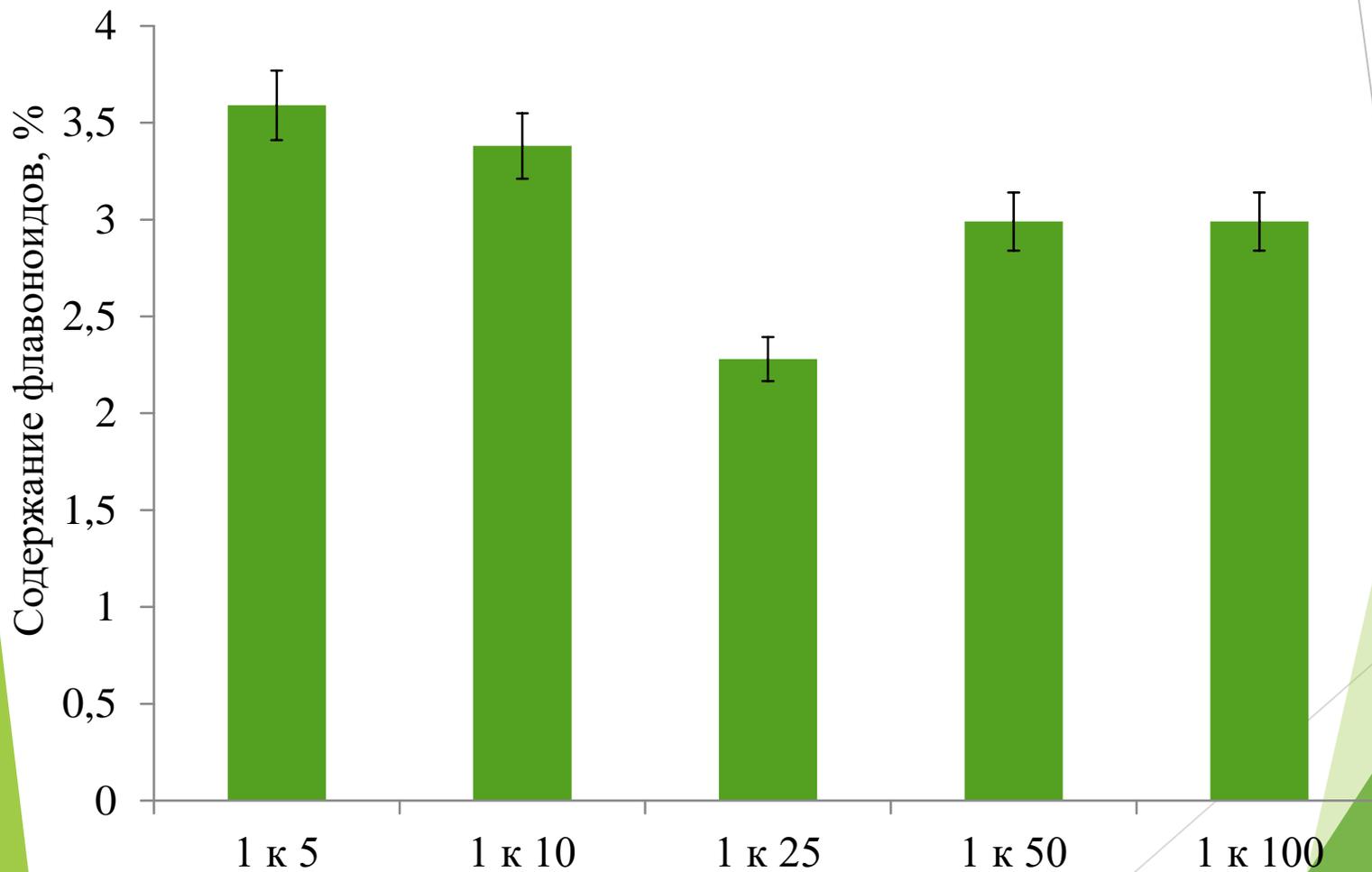
# Влияние природы обезжиривающего агента на последующую экстракцию флавоноидов

Исследуемый параметр	Диэлектрическая постоянная	Вязкость	Относительная плотность	Температура кипения
Уровень значимости (p)	0,12	$6,8 \cdot 10^{-4}$	$7,0 \cdot 10^{-3}$	$4,3 \cdot 10^{-4}$

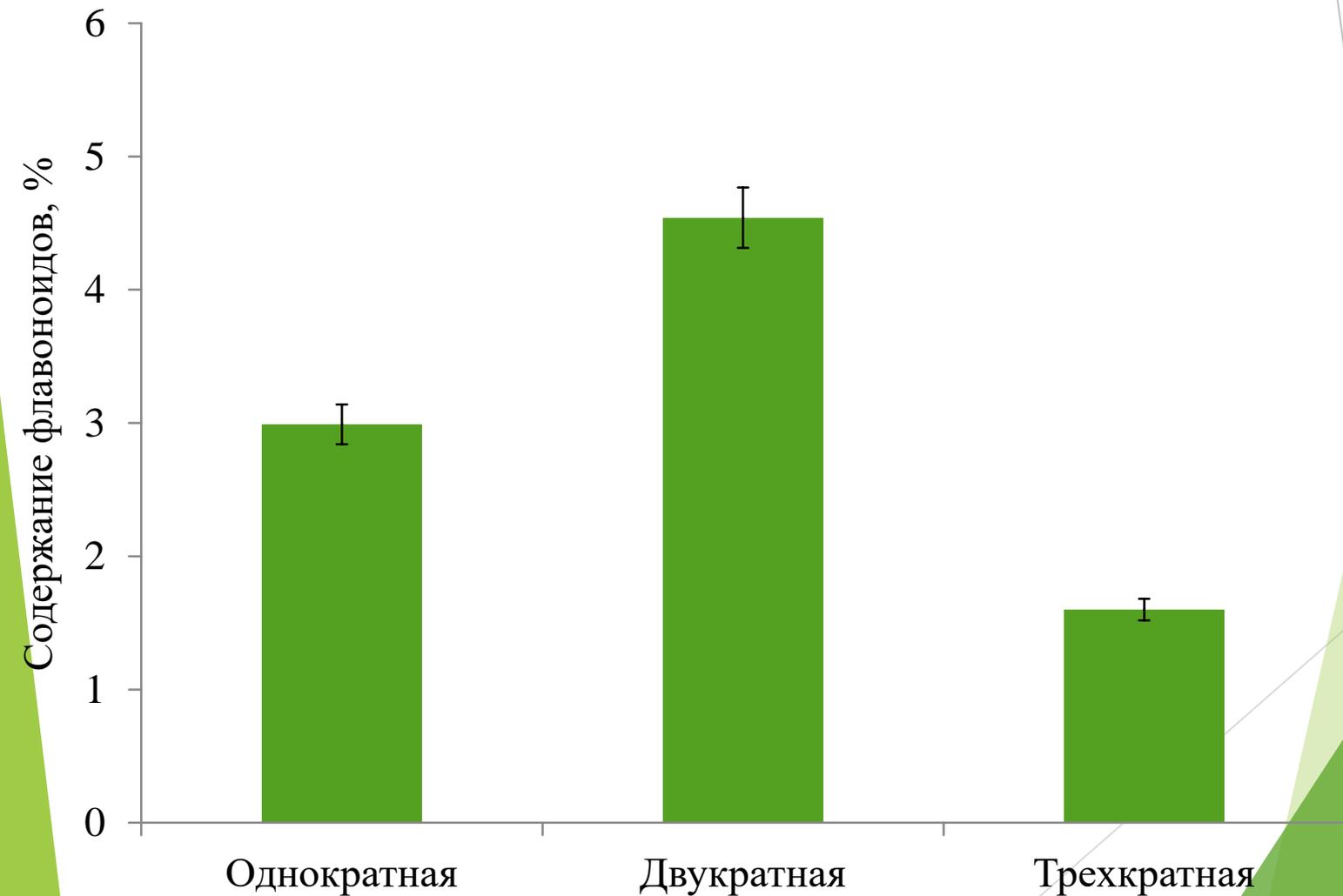
# Подбор времени обезжиривания



# Оценка влияния соотношения ЛРС и обезжиривающего агента



# Оценка влияния кратности обезжиривания



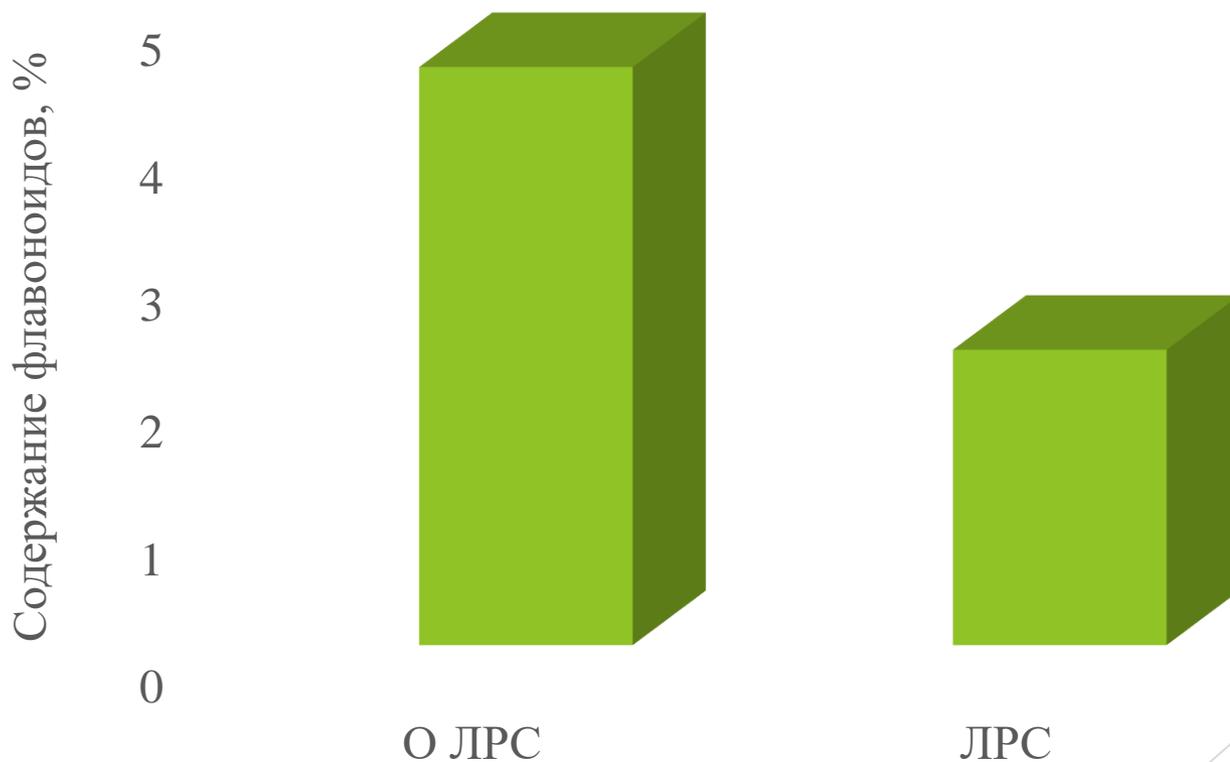
# Проведение обезжиривания

Отвешивают 100 г календулы цветков, помещают в аппарат типа Сокслета или в плотно закрывающуюся или укупоренную емкость, добавляют 500 мл гексана, плотно укупоривают и помещают на магнитную мешалку. Процесс проводят при комнатной температуре в течение 2 ч. Затем полученную вытяжку сливают, сырье оставляют на одни сутки в открытой емкости и затем продувают для удаления остатков экстрагента током воздуха. Затем снова прибавляют 500 мл гексана, проводят процесс 2 ч, вытяжку сливают, сырье сушат одни сутки и продувают током воздуха. Полученное обезжиренное ЛРС используют для последующей экстракции.

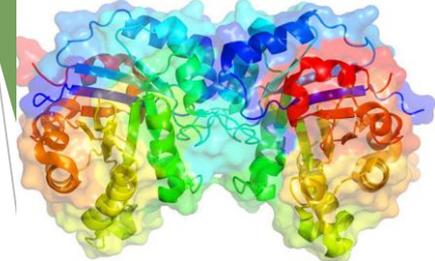


# Итог обезжиривания

Предварительное обезжиривание календулы цветков позволяет в **ДВА РАЗА** повысить последующую экстракцию флавоноидов.

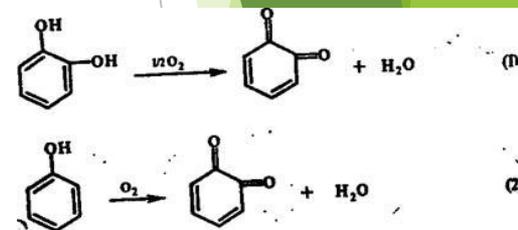


# Термическая обработка



Ферменты, содержащиеся в ЛРС при естественной сушке, инактивируются не полностью, и способны влиять на процессы последующей экстракции БАВ из ЛРС (особенно при невысоких температурах и в водных средах) и разрушать их.

Ряд публикаций сообщает, что растительная *фенолок시다за* (фермент, вызывающий окисление фенольных соединений (в т.ч. флавоноидов)) сохраняет 15-20% своей активности при нагревании до 80-100°C и может окислять флавоноиды при температурной экстракции.



Одним из способов инактивации ферментов может являться их термическая инактивация - нагревание до высоких температур, сопровождающееся полным подавлением активности ферментов.

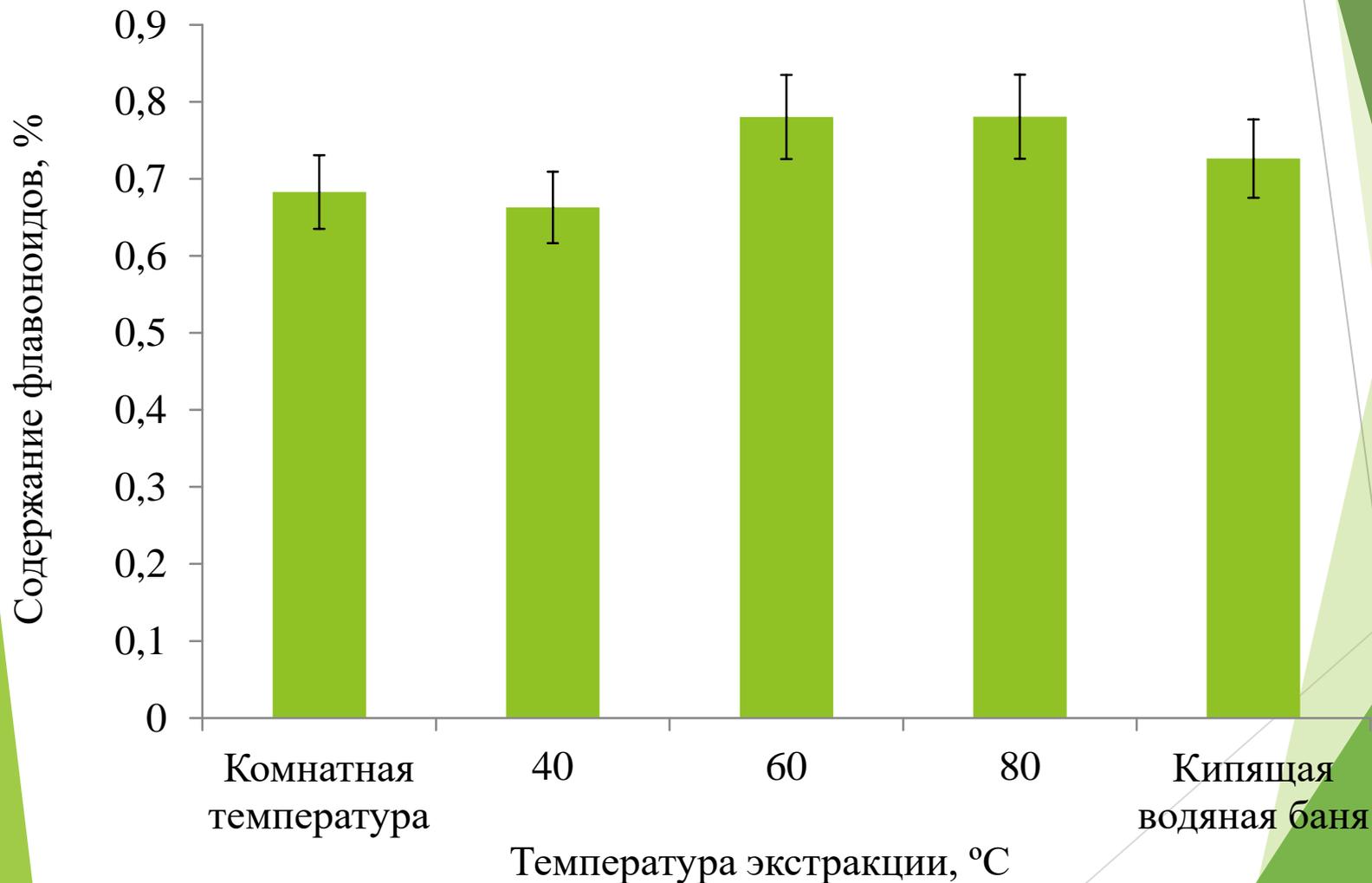


# Термическая активация ЛРС

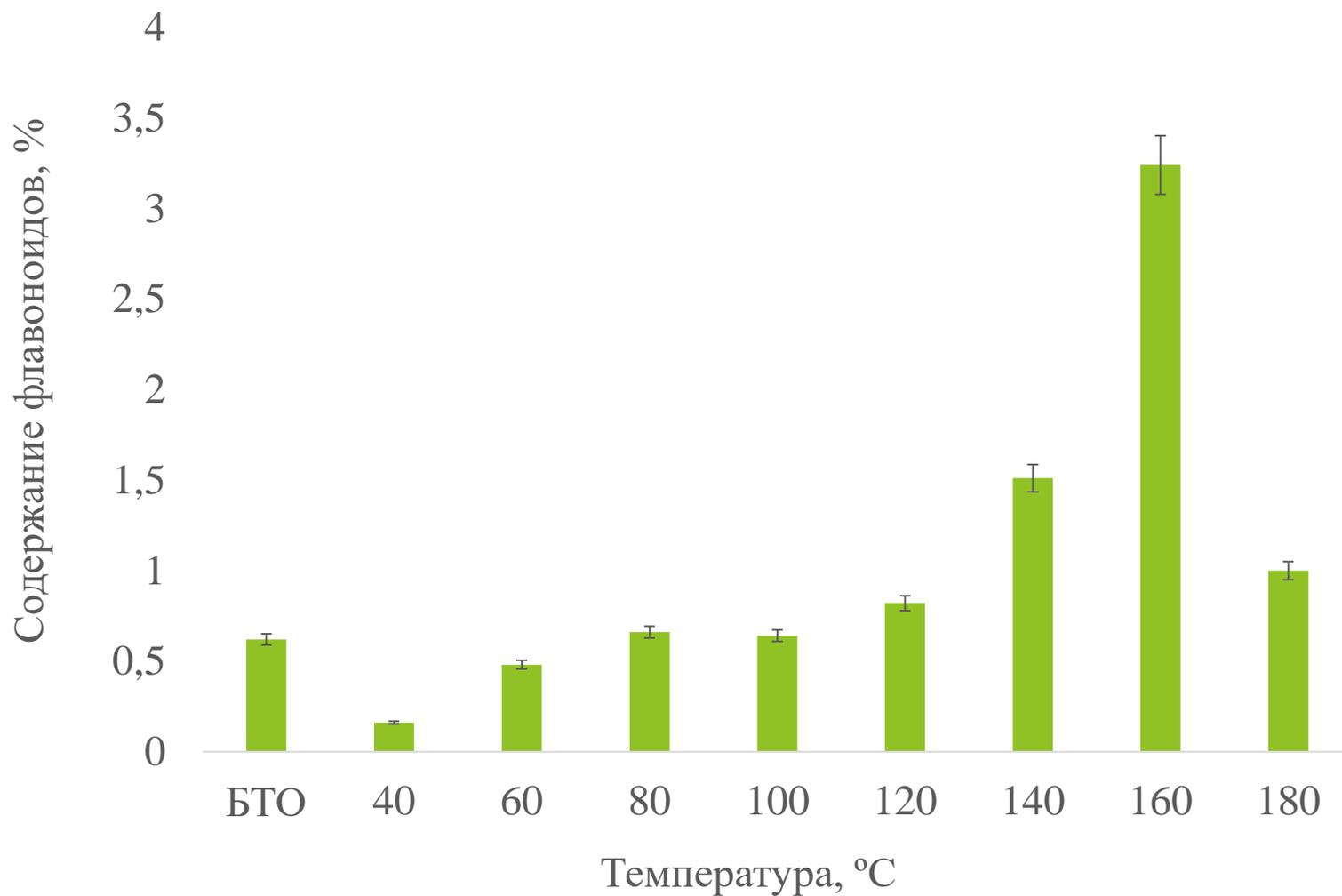
это процесс воздействия высоких температур на высушенное ЛРС в течение определенного промежутка времени, сопровождающийся инактивацией ферментов, потерей влаги и разрушением структуры растительного материала, что, в совокупности, приводит к последующему увеличению экстракции БАВ из ЛРС.



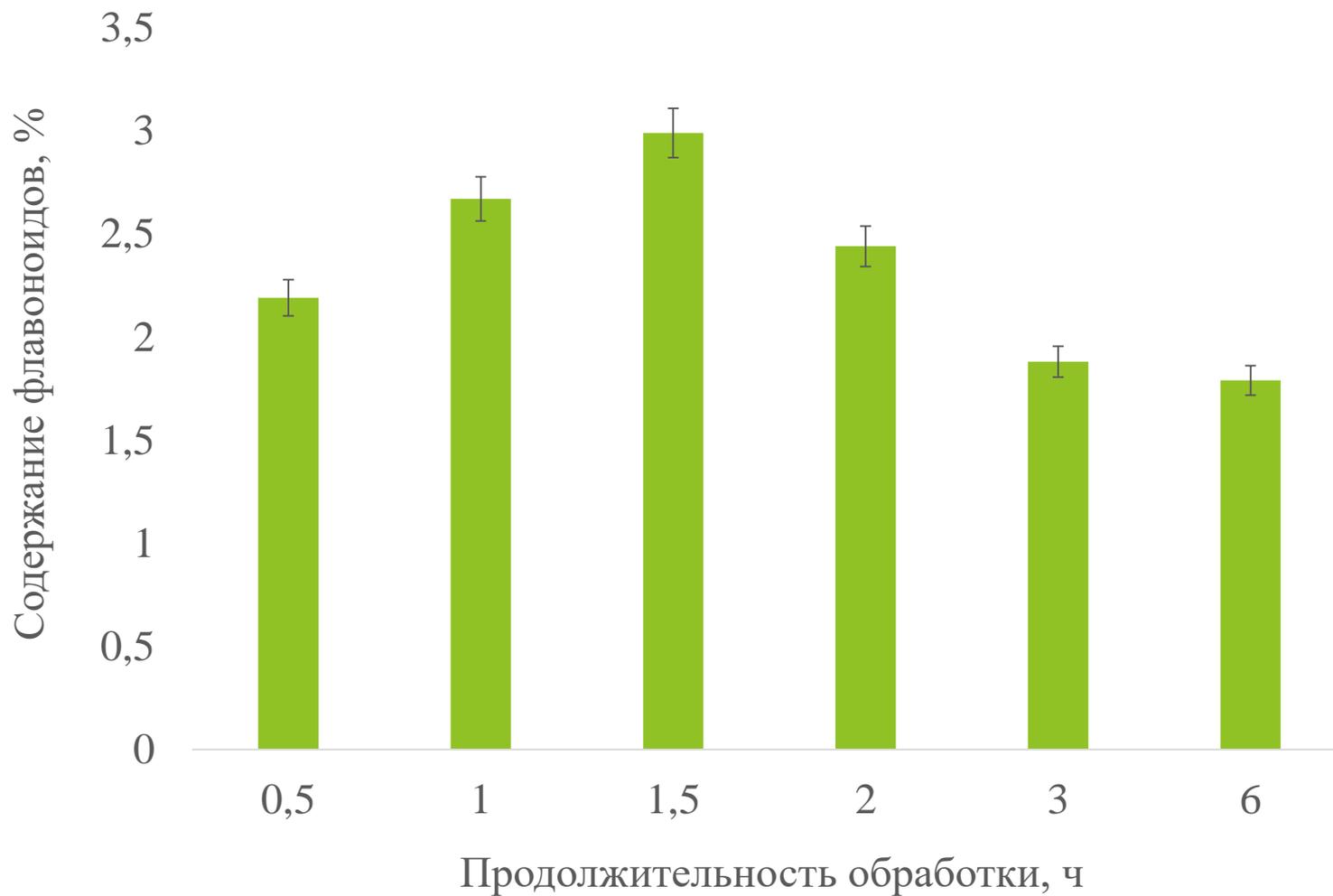
# Обоснование необходимости термообработки ЛРС



# Влияние температуры термообработки

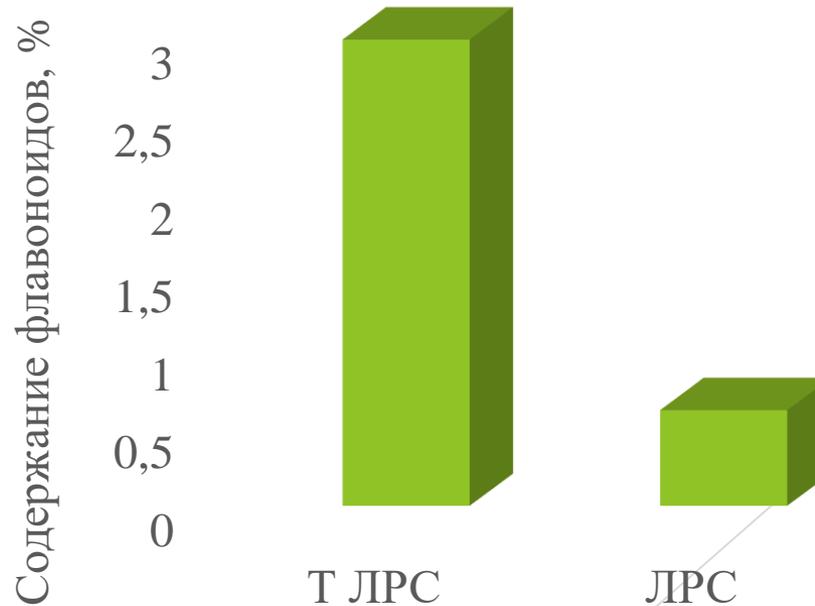


# Влияние продолжительности термообработки

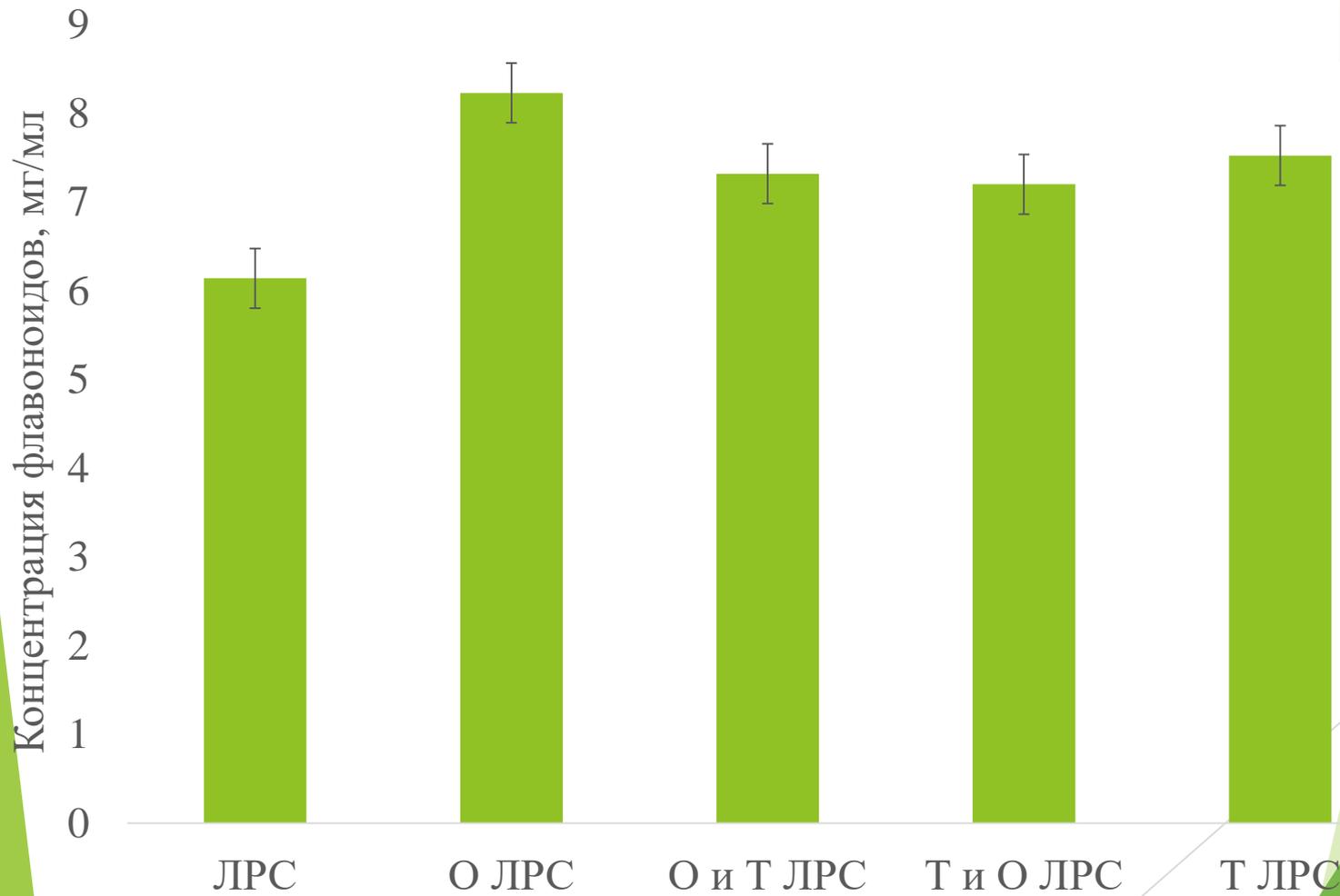


# Параметры термической активации

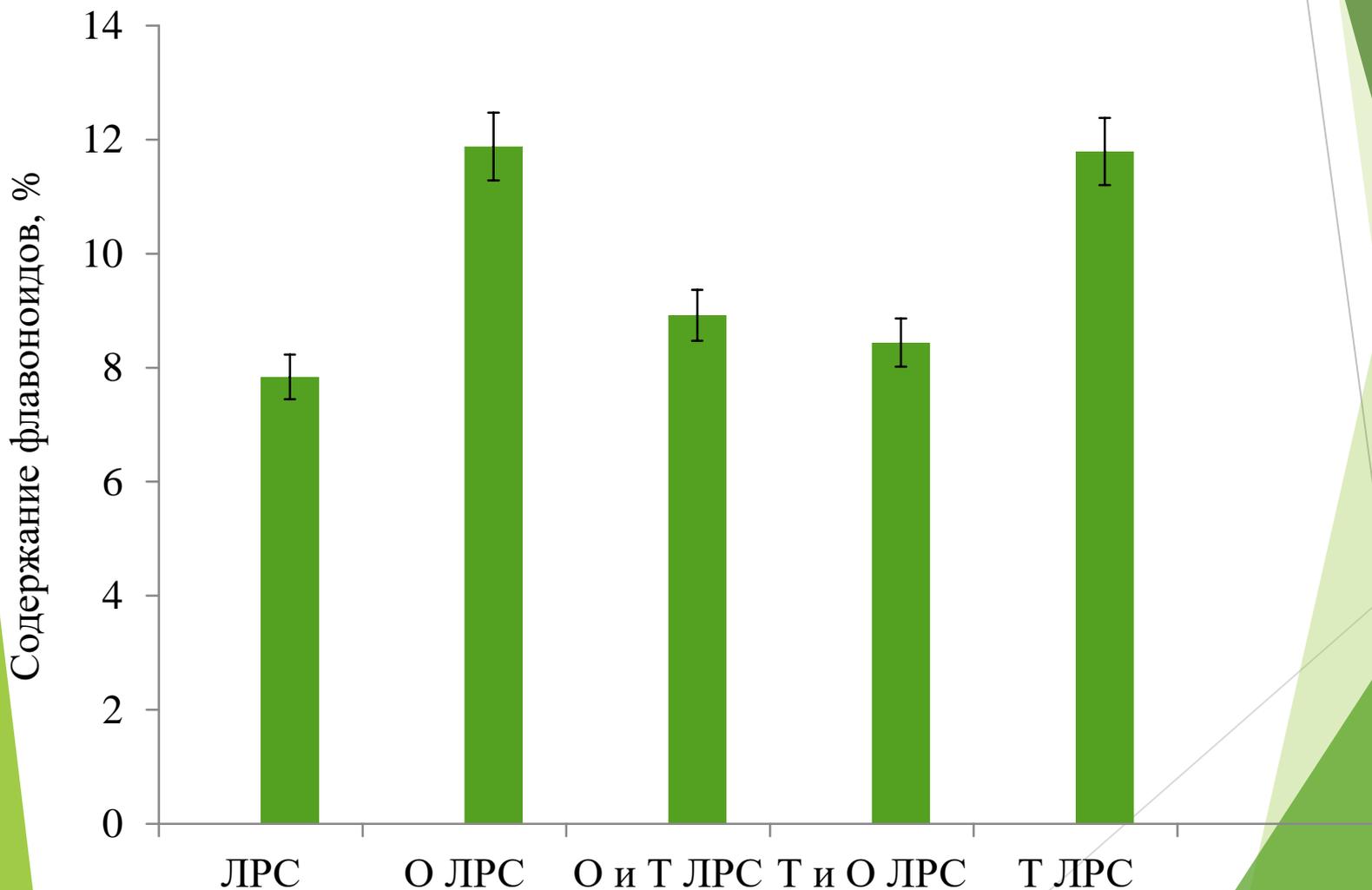
Календулы цветки раскладывают тонким слоем в сушильном шкафу и нагревают до 160°C в течение 1,5 ч. Охлаждают ЛРС до комнатной температуры и проводят последующую экстракцию из него флавоноидов. Термическая активация ЛРС позволяет практически в **ПЯТЬ РАЗ** повысить последующую экстракцию флавоноидов.



# Получение настоек из предварительно обработанного ЛРС



# Получение сухих экстрактов из предварительно обработанного ЛРС



# Заключение

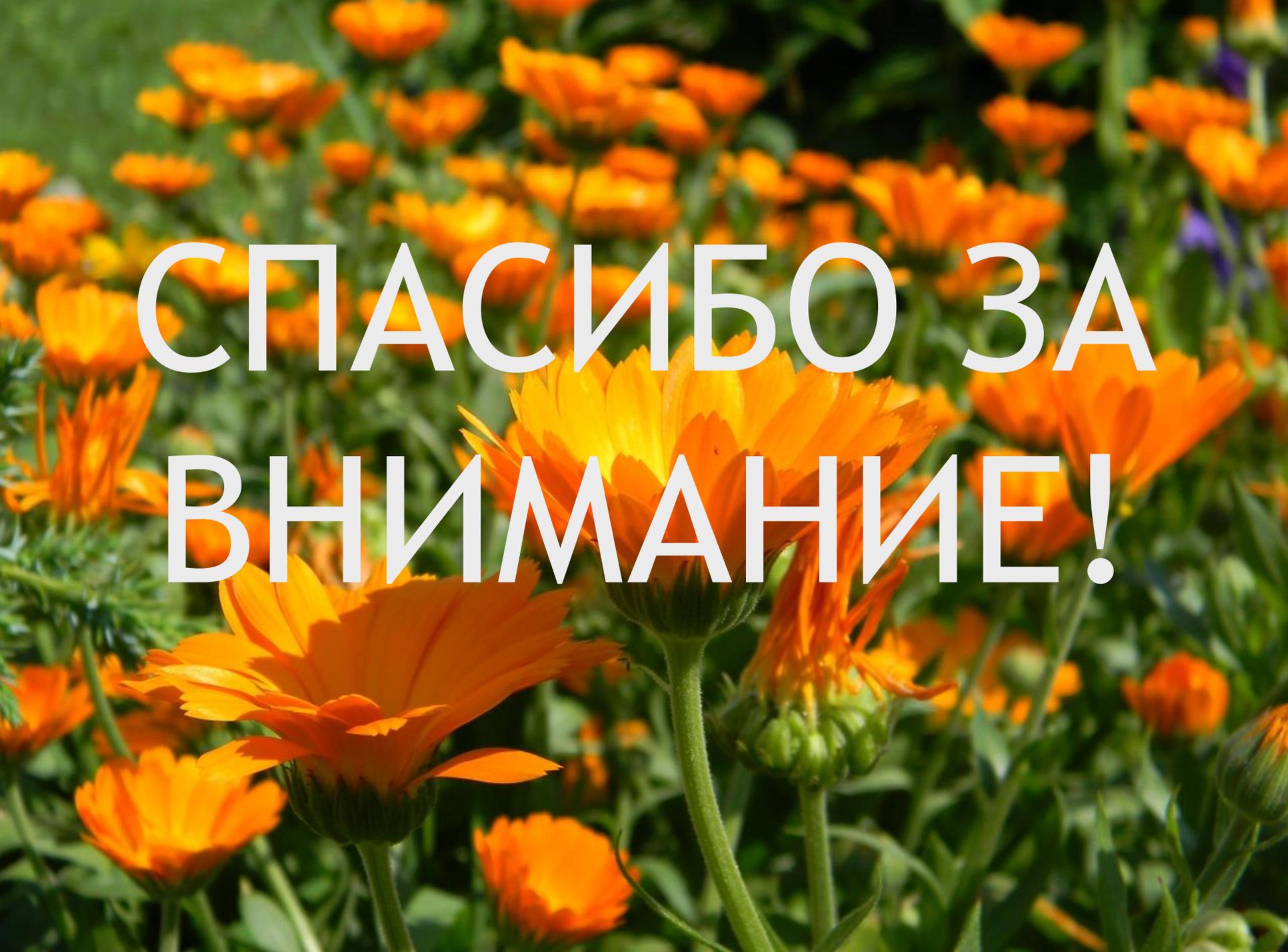
❖ Выявлено положительное влияние **стадии предварительной обработки** календулы цветков (**обезжиривание, термическая активация**) на последующие процессы экстракции флавоноидов, в т.ч. при получении ЛФ.

❖ Экспериментально подобраны **условия проведения обезжиривания** календулы цветков: обезжиривающий агент - гексан; продолжительность обезжиривания - 2 ч; соотношение ЛРС и обезжиривающего агента - 1 к 5 и кратность проведения процесса - двукратное.

❖ Разработаны **оптимальные условия термической активации** данного ЛРС (температура - 160° и продолжительность нагревания - 1,5 ч) и показана необходимость ее проведения.

❖ Установлена эффективность моновариантов предварительной обработки ЛРС по сравнению с ее комбинациями при получении настоек и сухих экстрактов.





СПАСИБО ЗА  
ВНИМАНИЕ!