

## ОПТИМИЗАЦИЯ ЭКСТРАКЦИИ ФЛАВОНОИДОВ ТЫСЯЧЕЛИСТНИКА ТРАВЫ

Карчевская К.И., Лукашов Р.И.

*Белорусский государственный медицинский университет,  
кафедра организации фармации, г. Минск*

**Ключевые слова:** экстракция, тысячелистник, флавоноиды, спектрофотометрия.

**Резюме:** в статье представлены результаты определения оптимального соотношения массы лекарственного растительного сырья (ЛРС) и объема экстрагента, а также оптимальной степени измельчения ЛРС с использованием в качестве экстрагентов для получения извлечений 80% метанола и смеси растворителей (пропанол-2, диметилсульфоксид, вода)

**Resume:** the article presents the results of determining the optimal ratio of medicinal plant raw materials and extractant, as well as the optimal degree of plant raw materials grinding using 80% methanol and a mixture of solvents (propanol-2, dimethyl sulfoxide, water) as extractants to obtain extracts.

**Актуальность.** *Achillea millefolium* – представитель семейства сложноцветных, широко распространенное на территории Республики Беларусь растение с богатым составом биологически активных веществ и широким спектром фармакологической активности, которая в большой степени обусловлена наличием флавоноидов, среди которых доминирующими являются 7-О-гликозиды апигенина и лютеолина [1].

Результаты, полученные в ходе настоящего исследования, могут помочь в последующей разработке наружных лекарственных форм, новых лекарственных средств, а также в разработке методики стандартизации тысячелистника травы по флавоноидам. На сегодняшний момент ГФ РБ предлагает стандартизировать тысячелистника траву по содержанию эфирного масла [2]. Однако ряд фармакологических эффектов обусловлен флавоноидами, содержащимися в данном сырье.

**Цель:** оптимизация экстракции флавоноидов из тысячелистника травы.

**Задачи:** 1. Подобрать оптимальное соотношение лекарственного растительного сырья и экстрагента для экстракции наибольшего количества флавоноидов; 2. Подобрать оптимальную степень измельчения сырья для извлечения максимального количества флавоноидов.

**Материал и методы.** Объектом исследования служила тысячелистника трава, заготовленная в сентябре и октябре 2019 года и высушенная воздушно-теневым способом. В качестве экстрагентов использовали 80% метанол и смесь растворителей (пропанол-2 – 20%; диметилсульфоксид (ДМСО) – 30%; вода – 50%).

Подбор соотношения ЛРС и экстрагента. В ходе работы исследованы следующие соотношения ЛРС:экстрагент: 1:5, 1:10, 1:25, 1:50, 1:100. Использовали тысячелистника траву, предварительно измельченную и просеянную через сито с размером отверстий 1400 мкм. Для работы взяли фракцию, прошедшую через сито. С целью экстракции использовали навески ЛРС массой 0,15 г, 0,15 г, 0,14 г, 0,10 г и 0,050 г, к ним добавляли вышеупомянутые экстрагенты в объеме 0,75 мл, 1,50 мл, 3,50 мл, 5,00 мл и 5,00 мл соответственно.

Подбор степени измельчения. Для извлечения флавоноидов взвешивали точные навески тысячелистника травы массой около 0,1 г. Использовали фракции сырья со следующими степенями измельчения: ЛРС, не прошедшее через сито с размером отверстий 2000 мкм; ЛРС, прошедшее через сито с размером отверстий 2000 мкм, но не прошедшее через сито 1400 мкм; ЛРС, прошедшее через сито с размером отверстий 1400 мкм, но не прошедшее через 355 мкм; ЛРС, прошедшее через сито с размером отверстий 355 мкм, но не прошедшее через 180 мкм; ЛРС прошедшее через сито с размером отверстий 180 мкм. К навескам добавляли выше представленные экстрагенты в объеме 5,00 мл.

Экстракцию проводили на водяной бане в плотно закупоренных флаконах с завинчивающейся крышкой в течение 60 мин при 80°C, если в качестве экстрагента выступал 80% метанол, и при 100°C, если экстрагентом являлась вышеупомянутая смесь растворителей. После экстракции проводили фильтрацию полученного извлечения, полученный фильтрат использовали для дальнейшей работы.

Содержание флавоноидов определяли спектрофотометрически в пересчете на лютеолин-7-О-глюкозид.

Флавоноиды в составе полученных извлечений вступали в реакцию комплексообразования с алюминия хлоридом. Реакцию проводили по следующей методике: к 100 мкл полученного извлечения добавляли 400 мкл 2% водного раствора алюминия хлорида, 50,0 мкл кислоты уксусной и полученную смесь доводили водой очищенной до 5,00 мл. Таким образом, получали испытуемый раствор. Компенсационный раствор: к 100 мкл извлечения добавляли 50,0 мкл кислоты уксусной и доводили водой очищенной до 5,00 мл. Время реакции 30 мин. Определяли оптическую плотность испытуемого раствора против компенсационного раствора при длине волны 400 нм.

Строили градуировочный график для лютеолина-7-О-глюкозида в концентрациях: от 0,1 до 1 мг/мл.

Содержание суммы флавоноидов (X, %) в пересчете на лютеолин-7-О-глюкозид рассчитывали по формуле 1.1 при объеме экстрагента 5,00 мл:

$$X, \% = \left( \frac{A+0,0174}{0,3474} \right) \times 0,5/m \quad (1.1)$$

Содержание суммы флавоноидов (X, %) в пересчете на лютеолин-7-О-глюкозид при объеме экстрагента 3,50 мл рассчитывали по формуле 1.2:

$$X, \% = \left( \frac{A+0,0174}{0,3474} \right) \times 0,35/m \quad (1.2)$$

где А – оптическая плотность испытуемого раствора;

m – масса навески измельченного сырья, г.

Полученные экспериментальные данные обрабатывали при помощи программы Microsoft Excel 2016.

Выбор растворителей, их объемных долей, температуры экстракции и времени экстракции проведен ранее [3].

**Результаты и их обсуждение.** В таблице 1 представлена зависимость содержания флавоноидов (%) от соотношения ЛРС:экстрагент. Стоит отметить, что при использовании соотношения 1:5 и 1:10 не представилось возможным выделить свободное жидкое извлечение из ЛРС в связи с полным поглощением экстрагента сырьем.

Табл.1. Зависимость содержания флавоноидов (%) от соотношения ЛРС:экстрагент

Соотношение ЛРС:экстрагент	Содержание флавоноидов, %	
	Метанол (80%)	Пропанол-2 (20%), ДМСО (30%), Вода (50%)
1:5	-	-
1:10	-	-
1:25	2,52	2,18
1:50	2,39	2,13
<b>1:100</b>	<b>3,09</b>	<b>2,49</b>

Исходя из выше представленных результатов видно, что содержание флавоноидов при соотношении ЛРС:экстрагент равном 1:25 и 1:50 находится приблизительно на одном уровне. Максимальный процент извлечения флавоноидов наблюдается при увеличении объема экстрагента до соотношения ЛРС:экстрагент 1:100. Такая динамика наблюдается при использовании в качестве экстрагентов как метанола (80%), так и смеси растворителей.

В таблице 2 представлена зависимость содержания флавоноидов (%) от степени измельчения ЛРС.

Табл.2. Зависимость содержания флавоноидов (%) от степени измельчения ЛРС

Степень измельчения ЛРС, мкм	Содержание флавоноидов, %	
	Метанол (80%)	Пропанол-2 (20%), ДМСО (30%), Вода (50%)
>2000	0,97	0,80
<2000	1,34	1,48
<1400	1,74	1,68
<355	2,67	2,28
<b>&lt;180</b>	<b>3,40</b>	<b>2,57</b>

По результатам, представленным в таблице 2, можно сказать, что с увеличением степени измельчения, интенсивность десорбции флавоноидов из ЛРС увеличивается. Максимальное процентное содержание флавоноидов в обоих случаях наблюдается при использовании для получения извлечений фракции сырья, прошедшей через сито с размером отверстий 180 мкм.

**Выводы:** 1. Оптимальным соотношением ЛРС:экстрагент для извлечения максимального количества флавоноидов является 1:100 при использовании в качестве экстрагента как метанола с объемной долей 80%, так и смеси растворителей (пропанол-2 – 20%; ДМСО – 30%; вода – 50%); 2. Для извлечения наибольшего количества флавоноидов оптимально использовать фракцию измельченного сырья, прошедшего через сито с размером отверстий 180 мкм.

#### Литература

1. Benetis, R. Variability of phenolic compounds in flowers of *Achillea millefolium* wild populations in Lithuania / R. Benetis // *Medicina (Kaunas)*. – 2008. – Vol. 44, №10. – P. 775-781.
2. Государственная фармакопея Республики Беларусь: в 2 т. / М-во здравоохран. Респ. Беларусь, УП «Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении»; под общ. ред. С. И. Марченко. – 2-е

изд. – Молодечно: Тип. «Победа», 2016. – Т. 2. Контроль качества субстанций для фармацевтического использования и лекарственного растительного сырья. – 1368 с.

3. Карчевская, К.И. Экстракция флавоноидов из тысячелистника травы / К.И. Карчевская // Материалы 74-й Научно-практической конференции студентов и молодых ученых «Актуальные проблемы современной медицины и фармации - 2020» с международным участием, Минск, 15-17 апреля 2020 г. Минск, 2020. – С. 1168-1172.

Репозиторий БГМУ