

ДЕВЯСИЛ ВЫСОКИЙ – ПЕРСПЕКТИВНЫЙ ИСТОЧНИК ИНУЛИНА

Дьякова Н.А., Бобина Е.А.

*Воронежский государственный университет,
кафедра фармацевтической химии и фармацевтической технологии, г. Воронеж*

Ключевые слова: водорастворимые полисахариды, инулин, ультразвуковая ванна, корни девясила высокого.

Резюме: варьируя показателями процесса, удалось подобрать оптимальные условия экстрагирования водорастворимых полисахаридов корней девясила высокого в условиях обработки ультразвуком: измельченность сырья 0,5 - 1,0 мм, температура – 80 °С, кратность извлечения – 3, длительность экстракций – 15 мин, частота ультразвука - 35 кГц, соотношение сырья и экстрагента 1 г на 15 мл.

Resume: by varying the process parameters, it was possible to select optimal extraction conditions of water-soluble polysaccharides of high-grade roots under ultrasound treatment conditions: raw material grinding 0.5 - 1.0 mm, temperature - 80 °C, extraction multiplicity - 3, extraction duration - 15 min, ultrasound frequency - 35 kHz, ratio of raw material to extractor 1 g per 15 ml.

Актуальность. Девясил высокий (*Inula helenium* L.) — вид многолетних растений рода Девясил (*Inula*) семейства Астровые (*Asteraceae*), произрастает повсеместно в Европе, Азии и Африке. Корни девясила высокого отличаются богатым химическим составом и содержат водорастворимые полисахариды (ВРПС), основу которых составляет инулин (до 44%), а также эфирное масло, горькие вещества, сапонины, смолы, камеди, алкалоиды, органические кислоты, микро- и макроэлементы. Корни девясила высокого обладают отхаркивающим, противовоспалительным действием, антисептическим, желчегонным, спазмолитическим действиями, улучшают аппетит. Благодаря широкому спектру фармакологической активности корни девясила высокого широко используются как лекарственное растительное сырье в виде отвара, а также входят в состав сборов и сиропов [1,2,8,9]. Таким образом, в фармацевтической практике используются водные извлечения из корней девясила высокого, а фармакологический эффект обусловлен водорастворимыми соединениями, основу которых составляют ВРПС.

Существует способ получения ВРПС из корней девясила высокого, включающий подготовку сырья, его механическую чистку, промывание корней, корневищ, стеблей, их измельчение и перемешивание. Перемешанные и измельченные кусочки сырья дважды экстрагируют горячей водой при температуре 75°С в течение 2-3 суток при постоянном перемешивании. Полученный экстракт обрабатывают 96%-ным этиловым спиртом в соотношении 1:1 по объему с последующим осаждением ВРПС при температуре минус 16°С. Недостатком данного способа является длительность процесса (более 3 суток), низкий выход ВРПС (25,7%).

Одним из перспективных физических методов воздействия на вещества с целью интенсификации технологических процессов является метод, основанный на использовании механических колебаний ультразвукового диапазона. Установлено, например, что ультразвуком частотой 19-44 кГц можно извлекать биологически активные вещества, в частности водорастворимые полисахариды, из растений с сокращением

процесса экстракции на 1 - 2 порядка [3,4]. При этом имеет место не только значительное ускорение процесса извлечения из растений полезных веществ, но и увеличение по сравнению с другими методами экстрагирования выхода основного продукта [5,6,7].

Цель: разработка экспрессной методики выделения и количественного определения водорастворимых полисахаридов из корней девясила высокого.

Задачи: 1. Определение оптимальной температуры экстракции при экстрагировании корней девясила высокого в условиях ультразвуковой ванны; 2. Подбор оптимальной длительности экстракции при экстрагировании корней девясила высокого в условиях ультразвуковой ванны; 3. Определение оптимальной кратности экстракции при экстрагировании корней девясила высокого в условиях ультразвуковой ванны; 4. Подбор оптимальной измельченности корней девясила высокого для максимального выхода продукта при экстрагировании сырья в условиях ультразвуковой обработки; 5. Подбор оптимального соотношения сырья и экстрагента для выделения водорастворимых полисахаридов из корней девясила высокого в условиях ультразвуковой обработки; 6. Определение оптимальной частоты ультразвука при экстрагировании корней девясила высокого.

Материал и методы. Для интенсификации процесса извлечения ВРПС применяли ультразвуковую ванну «Град 40-35», взвешивание проводили на аналитических весах «A&D GH-202», высушивание до постоянной массы – в сухожаровом шкафу «Витязь ГП-40». В качестве экстрагента использовали воду очищенную, остальные параметры процесса подбирались экспериментально. При разработке и валидации методики использовали сырье, приобретенное в одной из аптек города Воронежа (производитель ООО «Фитофарм», серия 170618).

Результаты и их обсуждение. Изначально были определены оптимальные условия извлечения из корней девясила высокого ВРПС с использованием ультразвуковой ванны. Варьировали измельченностью сырья, температурным режимом экстрагирования, кратностью и длительностью экстрагирования, соотношением сырья и экстрагента, а также частотой ультразвука. Все определения проводили в трех повторностях. Результаты эксперимента приведены в таблицах 1,2,3. Каждое определение проводили троекратно. Полученные данные статистически обрабатывали с помощью программы «Microsoft Excel» при доверительной вероятности 95%.

Таблица 1 - Результаты количественного определения ВРПС (% в пересчете на абсолютно сухое сырье в корнях девясила высокого при варьировании измельченностью сырья и температурой ультразвуковой ванны (при трехкратной экстракции по 15 минут с частотой ультразвука 35 кГц, соотношении сырья и экстрагента 1 г на 15 мл)

| Измельченность сырья, мм | 0,2-0,5 | 0,5-1,0 | 1,0-2,0 |
|--------------------------|------------|------------|------------|
| Температура, °С | | | |
| 60 | 16,32±0,40 | 15,19±0,34 | 12,25±0,50 |
| 70 | 22,42±0,26 | 24,90±0,37 | 18,28±0,42 |
| 80 | 26,12±0,25 | 31,36±0,44 | 25,99±0,39 |

Таблица 2 - Результаты количественного определения ВРПС (% в пересчете на абсолютно сухое сырье) в корнях девясила высокого при варьировании кратностью и длительностью экстрагирования (при измельченности сырья 0,5-1,0 мм, температуре ультразвуковой ванны 80 °С с частотой ультразвука 35 кГц, соотношении сырья и экстрагента 1 г на 15 мл)

| Длительность экстракций, мин. | Кратность экстракции | 1 | 2 | 3 |
|-------------------------------|----------------------|------------|------------|------------|
| 10 | | 11,34±0,40 | 18,47±0,40 | 24,68±0,34 |
| 15 | | 15,78±0,51 | 20,80±0,52 | 31,57±0,36 |
| 20 | | 16,80±0,32 | 22,97±0,60 | 28,96±0,40 |

Таблица 3 - Результаты количественных определений ВРПС (% в пересчете на абсолютно сухое сырье) в корнях девясила высокого при варьировании соотношением сырья и экстрагента и частотой ультразвука (при трехкратной экстракции по 15 минут, измельченности сырья 0,5-1,0 мм, температуре 80 °С)

| Соотношение сырья и экстрагента (г:мл) | Частота ультразвука, кГц | 15 | 25 | 35 |
|--|--------------------------|------------|------------|------------|
| 1:10 | | 14,68±0,30 | 21,86±0,43 | 23,49±0,30 |
| 1:15 | | 15,86±0,45 | 26,37±0,30 | 31,57±0,36 |
| 1:20 | | 16,90±0,37 | 24,30±0,52 | 27,96±0,46 |

При анализе данных таблиц 1-3, отмечено, что увеличение времени экстракции при трехкратном извлечении в условиях ультразвуковой ванны приводит, очевидно, к деструкции водорастворимых полисахаридов. Использование ультразвука с частотой выше 40 кГц также приводит к деструкции биологически активных веществ и в технологии фитопрепаратов не применяется [7]. Оптимальные условия экстрагирования ВРПС из корней девясила высокого в условиях ультразвуковой ванны таковы: измельченность сырья 0,5-1,0 мм, температура – 80 °С, кратность извлечения – 3, длительность экстракций – 15 минут, частота ультразвука - 35 кГц, соотношение сырья и экстрагента 1 г на 15 мл.

Комплекс проведенных экспериментальных работ дает возможность предложить следующую методику выделения и последующего количественного гравиметрического определения ВРПС в корнях девясила высокого. Аналитическую пробу сырья измельчают до частиц размера 0,5-1,0 мм. Около 1 г (точная навеска) измельченного сырья помещают в колбу вместимостью 50 мл, прибавляют 15 мл воды очищенной, нагретой до температуры кипения, помещают в ультразвуковую ванну с частотой 35 КГц при температуре 80°С, экстрагируют 15 мин. Экстракцию повторяют ещё 2 раза, прибавляя по 15 мл воды. Водные извлечения объединяют и фильтруют в мерную колбу вместимостью 50 мл через 3 слоя марли с подложенным тампоном ваты, вложенных в стеклянную воронку диаметром 5 см и предварительно промытой водой очищенной. Фильтр промывают водой и доводят объём раствора до метки (раствор А). 12,5 мл раствора А помещают в коническую колбу на 50 мл, прибавляют 37,5 мл 95% этилового спирта, перемешивают, охлаждают в морозильной камере при температуре -18°С в течение 30 мин. Затем содержимое колбы фильтруют через предварительно высушенный и взвешенный беззольный бумажный фильтр, проложенный в

стеклянный фильтр ПОР 16 с диаметром 40 мм, под вакуумом при остаточном давлении 0,4-0,8 атм. Осадок на фильтре последовательно промывают 15 мл раствора 95% этилового спирта в воде очищенной (3:1), 10 мл смеси этилацетата и 95% этилового спирта (1:1). Фильтр с осадком высушивают сначала на воздухе, затем при температуре 100-105 °С до постоянной массы.

Содержание ВРПС в пересчёте на абсолютно сухое сырьё вычисляют по стандартной формуле:

$$X = \frac{(m_2 - m_1) * 4 * 100 * 100}{m * (100 - W)}, \quad (1)$$

где m_1 - масса высушенного фильтра, г;

m_2 – масса высушенного фильтра с осадком, г;

m — навеска сырья, г;

W — потеря в массе сырья при высушивании, %.

Предлагаемый способ позволяет интенсифицировать процесс получения ВРПС из корней девясила высокого и снизить время, расходуемое на него до 4-5 часов, а также увеличить выход продукта до $31,57 \pm 0,36$ % в пересчете на абсолютно сухое сырьё.

Статистическая обработка результатов выделения и количественного определения ВРПС корней девясила высокого по разработанной методике приведена в таблице 4 (где N – число повторностей, f – число степеней свободы, X – среднее значение определяемой величины, S^2 - дисперсия, S – стандартное отклонение, S_x – стандартное отклонение средней величины, P – доверительная вероятность, $t(P,f)$ – критерий Стьюдента, Δx – полуширина доверительного интервала величины, ε – относительная ошибка среднего результата) [12]. Таким образом, относительная ошибка предлагаемой методики при доверительной вероятности 95 % составляет 1,42 %.

Таблица 4 - Статистическая обработка результатов выделения и количественного определения ВРПС корней девясила высокого

| N | f | X | S^2 | S | S_x | $P, \%$ | $t_{(P,f)}$ | Δx | $\varepsilon, \%$ |
|-----|-----|-------|--------|--------|--------|---------|-------------|------------|-------------------|
| 10 | 9 | 31,61 | 0,0393 | 0,1982 | 0,0626 | 95 | 2,2622 | 0,44 | 1,42 |

Выводы: 1. Разработана экспрессная методика выделения и количественного определения ВРПС из корней девясила высокого, которая может быть использована при контроле качества данного вида сырья и промышленном получении из него ВРПС, в частности, инулина. 2. Подобраны оптимальные условия экстрагирования ВРПС из корней девясила высокого в условиях ультразвуковой ванны: измельченность сырья 0,5 – 1,0 мм, температура – 80 °С, кратность извлечения – 3, длительность экстракций – 15 мин, частота ультразвука - 35 кГц, соотношение сырья и экстрагента 1 г на 15 мл. 3. Предлагаемая методика позволяет интенсифицировать процесс получения ВРПС из корней девясила высокого и снизить время, расходуемое на него до 4-5 часов, а также увеличить выход продукта до 31,6 % в пересчете на абсолютно сухое сырьё.

Литература

1. Баньковский, В.В. Применение вакуумного технологического процесса для выделения секвитерпеновых лактонов из девясила высокого / В.В. Баньковский, Д.М. Попов, Д.В. Баньковский // Фармация. - 2010. - № 8. - С. 36-37.
2. Государственная фармакопея Российской Федерации. Издание XIV. Том 4. — М.: ФЭМБ, 2018. — 6012-6019 с.
3. Дьякова, Н.А. Изучение динамики изменения содержания инулина в корнях лопуха большого (*Arctium lappa* L.) и одуванчика лекарственного (*Taraxacum officinale* Webb.) в процессе вегетации / Н.А. Дьякова, А.И. Сливкин, С.П. Гапонов, И.Ю. Михайловская // Вестник ВГУ. Серия: Химия, Биология, Фармация. - 2016. - № 4. - С. 133-136
4. Дьякова, Н.А. Особенности накопления водорастворимых полисахаридов корнями одуванчика лекарственного / Н.А. Дьякова, А.А. Мындра, А.И. Сливкин, С.П. Гапонов // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. - 2018. - № 2. - С. 292-297.
5. Дьякова, Н.А. Оценка эффективности и безопасности лекарственного растительного сырья подорожника большого, собранного в Центральном Черноземье / Н.А. Дьякова, А.И. Сливкин, С.П. Гапонов // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. - 2018. - № 1. - С. 172-179.
6. Дьякова, Н.А. Разработка и валидация экспресс-методики выделения и количественного определения водорастворимых полисахаридов корней одуванчика лекарственного (*Taraxacum officinale* Wigg.) / Н.А. Дьякова, А.И. Сливкин, И.А. Самылина, С.П. Гапонов, А.А. Мындра, Т.Г. Шушунова // Химико-фармацевтический журнал. - 2018. - Т. 52. - № 4. - С. 40-43.
7. Дьякова, Н.А. Разработка и валидация экспресс-методики выделения и количественного определения водорастворимых полисахаридов листьев лопуха большого (*Arctium lappa* L.) / Н.А. Дьякова // Химия растительного сырья. - 2018. - № 4. - С. 81-87.
8. Захаренко, В.Г. Девясил высокий - лекарственное и декоративное растение / В.Г. Захарова // Бюллетень Государственного Никитского ботанического сада. - 2006. - № 93. - С. 17-20.
9. Корж, А.П. Водорастворимые полисахариды подземной части *Inula helenium* (Asteraceae) / А.П. Корж, А.М. Гурьев, М.В. Белоусов, М.С. Юсубов, М.Л. Белянин, А.Н. Байков // Растительные ресурсы. - 2011. - Т. 47. - № 3. - С. 88-92.
10. Куркин, В.А. Фармакогнозия. СамГМУ, Самара. 2004. С 414-417.