

Предварительная обработка рудбекии шершавой цветков

Лукашов Р.И., Гурина Н.С.

e-mail: raman.lukashou@gmail.com

Учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Республики Беларусь

Аннотация: В работе представлены результаты оценки влияния ультразвукового воздействия на экстракцию фенольных соединений рудбекии шершавой цветков. Подобраны параметры ультразвуковой обработки рудбекии шершавой цветков (продолжительность обработки, частота ультразвуковых колебаний, толщина слоя обрабатываемого сырья и его степень измельчения). Разработанная технология ультразвуковой обработки позволяет повысить экстракцию в среднем на 20,1 %, не изменяя качественного состава основных фенольных соединений. *Ключевые слова:* рудбекии шершавой цветки, фенольные соединения, ультразвуковая обработка.

Введение. В современных условиях к лекарственным препаратам (ЛП), в т.ч. ЛП растительного происхождения, предъявляются жесткие требования по эффективности, безопасности и качеству [1]. Одним из путей повышения качества разрабатываемых ЛП растительного происхождения является повышение экстракции биологически активных веществ (БАВ) из лекарственного растительного сырья (ЛРС) и, таким образом, обогащение получаемых вытяжек целевыми БАВ [2]. Одним из путей повышения экстракции БАВ является предварительная обработка самого ЛРС [3], одним из перспективных вариантов которой является ультразвуковое воздействие на воздушно-сухое ЛРС [4].

Цель исследования – изучить влияние ультразвуковой обработки рудбекии шершавой цветков на экстракцию из них фенольных соединений (ФС).

Материалы и методы. В качестве объекта исследования использовали рудбекии шершавой цветки, заготовленные от культивируемых форм на учебно-опытном участке БГМУ в д. Новое Поле (Минский район) в 2020–2022 гг. Сырье подвергли естественной воздушно-теневой сушке при комнатной температуре и влажности.

Для оценки возможности объединения данных трех серий исследований и расчета объединенного среднего применяли критерий Кохрена, т.к. объединяемые дисперсии имели одинаковое количество степеней свободы [2]. По итогам расчета получили следующие значения при $g = 3$; $\nu = 2$: $G_{\text{табл}} = 0,8709$ и $G_{\text{эксп}} = 0,6024$. Т.к. $G_{\text{табл}} > G_{\text{эксп}}$, то

результаты, полученные на разных образцах сырья, можно объединить и рассчитать объединенное среднее.

Экстракцию проводили по методике частной фармакопейной статьи «Рудбекии шершавой цветки» из Государственной фармакопеи Республики Беларусь 07/2016:РБ0099 [5].

Количественное определение суммы ФС в пересчете на патулитрин выполняли по методике, описанной в этой же частной статье, спектрофотометрическим методом на спектрофотометре Solar PB 2201 (ЗАО «Солар», Республика Беларусь).

Качественный состав извлекаемых ФС определяли на хроматографе UltiMate3000 с флуориметрическим и диоднолучным детекторами [5].

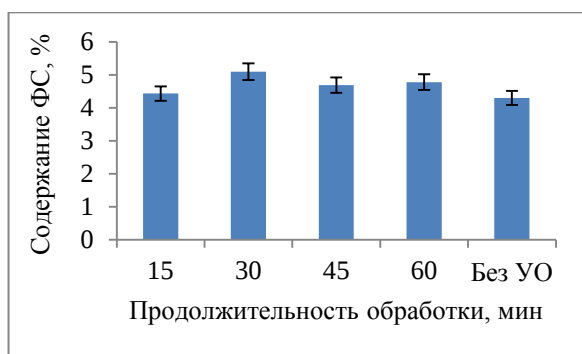
Ультразвуковую обработку воздушно-сухого сырья и экстракцию проводили в экстракторе модели НО-455.00 ПС (производитель ООО «Александра-плюс») при частоте переменного тока $50 \pm 0,05$ Гц и мощности излучателя 0,1 кВт.

Изучали влияние следующих параметров ультразвуковой обработки на выход БАВ: продолжительность обработки (15, 30, 45 и 60 мин), частоту ультразвуковых колебаний (15, 21, 25 и 31 кГц), толщину слоя обрабатываемого сырья (до 1, 1–2, 2–4 и 4–6 см) и степень измельчения (цельное, резанное, измельченное (2000)). После обработки сырье измельчали до необходимого размера частиц. Исследования выполняли поэтапно.

Затем изучали влияние продолжительности ультразвуковой экстракции в течение 15, 30, 45 и 60 мин в сравнении с экстракцией при комнатной температуре при постоянном механическом перемешивании в течение 60 мин и температурной экстракцией, описанной ранее [6].

Статистическую обработку проводили при помощи компьютерной программы Microsoft Office Excel 2015 (пакет «Анализ данных»). Каждое испытание проводили три раза ($n = 3$). Результаты представляли в виде $\bar{X} \pm \Delta_{\bar{x}}$, где $\bar{X}$ – среднее значение выборки; $\Delta_{\bar{x}}$ – полуширина доверительного интервала средней величины. Для выявления статистически значимого влияния факторов ультразвуковой обработки проводили дисперсионный анализ. Значения статистически значимо различались при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. На рисунках 1–4 представлены результаты оценки влияния на экстракцию ФС из рудбекии шершавой цветков следующих параметров ультразвуковой обработки: продолжительность обработки ультразвуком, частота ультразвуковых колебаний, толщина обрабатываемого слоя и степень измельчения сырья соответственно.



Без УО – ЛРС без ультразвуковой обработки (нативное ЛРС)
Рисунок 1 – Зависимость содержания ФС от продолжительности ультразвуковой обработки сырь

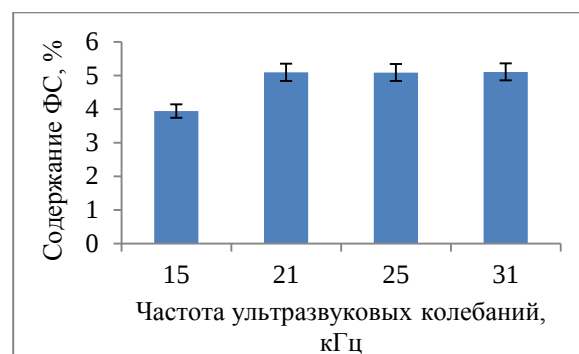


Рисунок 2 – Зависимость содержания ФС от частоты ультразвуковых колебаний при обработке сырь

Из рисунка 1 видно, что ультразвуковая обработка в течение всех изученных промежутков времени приводила к увеличению выхода ФС с максимумом на 30 мин, что на 18,4 % (отн.) ($p = 0,043$) выше, чем в сырье без предварительной обработки. Ультразвуковая обработка при остальных промежутках времени привела к увеличению экстракции от 3,4 % (отн.) ($p=0,097$) до 11,1 % (отн.) ($p = 0,067$).

С возрастанием частоты ультразвуковых колебаний от 15 кГц к 21 кГц содержание ФС возрастало на 29,0 % (отн.) ($p = 0,025$). При частоте колебаний от 21 кГц до 31 кГц содержание ФС не изменялось ($p = 0,49$) и выходило на плато, что на 18,6 % ($p = 0,040$) больше по сравнению с нативным сырьем (рисунок 2).

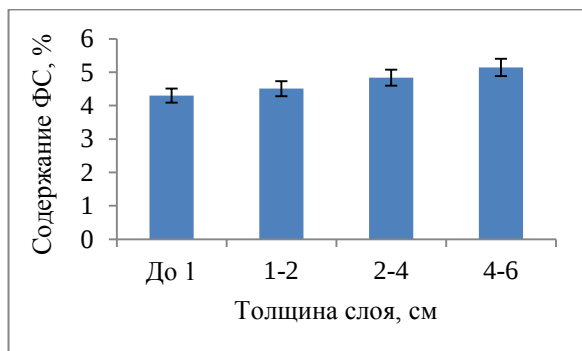


Рисунок 3 – Зависимость содержания ФС от толщины слоя обрабатываемого ультразвуком сырь

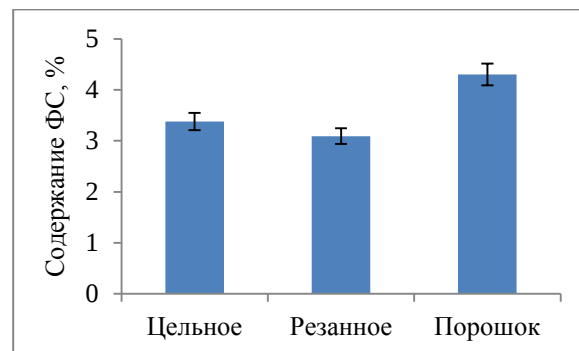


Рисунок 4 – Зависимость содержания ФС от степени измельчения сырь при ультразвуковой обработке

С увеличением толщины слоя обрабатываемого сырья повышалось содержание ФС ($r = 0,9978$) с максимумом при 4-6 см, который на 19,6 % (отн.) ($p=0,038$) больше, чем при слое толщиной до 1 см (рисунок 3).

Наибольший выход ФС приходился на порошок сырья, что на 27,2 % (отн.) ($p = 0,026$) и 39,1 % (отн.) ($p = 0,018$) больше, чем для резанного и измельченного сырья соответственно (рисунок 4).

При проведении дисперсионного анализа установили влияние продолжительности ультразвуковой обработки ($p = 0,036$), толщины слоя обрабатываемого сырья ($p = 0,018$), степени измельчения сырья ($p = 0,0028$) и частоты ультразвуковых колебаний ($p = 0,25$) на выход ФС из рудбекии шершавой цветков. Показано, что статистически значимое влияние ($p < 0,05$) оказали все изученные факторы кроме частоты колебаний.

На основе экспериментально подобранных параметров предложен следующий способ ультразвуковой обработки воздушно-сухих рудбекии шершавой цветков:

измельченные рудбекии шершавой цветки (2000) помещают в ультразвуковую установку, формируя слой 4-6 см от источника ультразвука, проводят обработку сырья в течение 30 мин при частоте ультразвуковых колебаний 21–31 кГц. После проведения обработки сырье вынимают, измельчают, взвешивают и используют для дальнейшей экстракции.

При использовании предложенного способа ультразвуковой обработки выход ФС при экстракции возрастал на 20,1 % (отн.) ($p = 0,028$) по сравнению с ЛРС, которое не прошло предварительную обработку (рисунок 5).

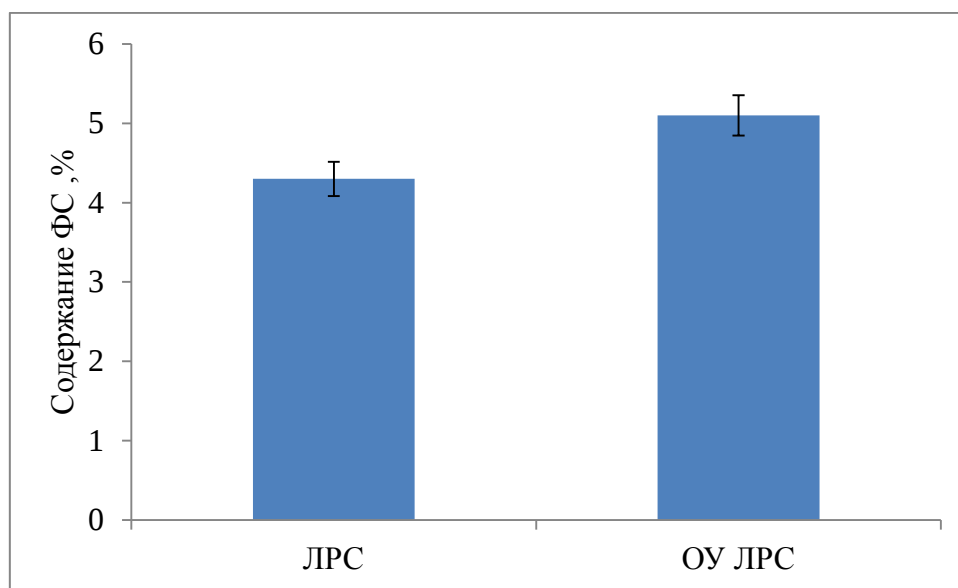


Рисунок 5 – Содержание ФС в обработанных ультразвуком рудбекии шершавой цветках (ОУ ЛРС) и нативных рудбекии шершавой цветках (ЛРС)

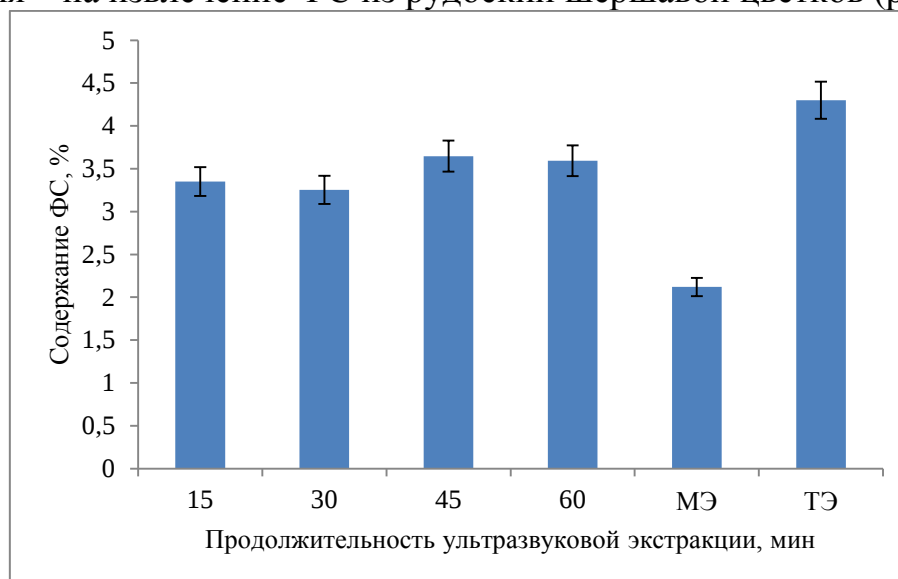
Для оценки влияния ультразвуковой обработки на качественный состав извлекаемых ФС рассчитали их относительное содержание. Результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Качественный состав ФС обработанных ультразвуком и нативных рудбекии шершавой цветков

Название ФС	Обработанное ультразвуком ЛРС, %	ЛРС, %	Значение p
Кверцетин-3-О-диглюкозид	15,0±1,88	14,8±2,06	0,31
Патулетин-3-О-галактозид	14,0±1,02	13,7±1,05	0,34
Патулитрин	24,6±2,03	26,2±2,00	0,30
Мирицетин	19,0±1,89	18,7±1,50	0,49
Кверцетагетин	10,1±1,01	8,94±1,00	0,10
Патулетин	9,80±1,41	10,0±1,23	0,29
Хлорогеновая кислота	7,50±1,04	7,66±0,561	0,45

Из таблицы 1 видно, что относительное содержание ФС в обработанных ультразвуком и нативных рудбекии шершавой цветках практически одинаково, что указывает на то, что ультразвуковая обработка не влияет на качественный состав извлекаемых ФС.

Используя ультразвуковую экстракцию, ранее были определены следующие условия извлечения суммы флавоноидов из лепестков рудбекии шершавой: концентрация этанола – 70%; соотношение жидкости и растительного материала – 20 мл к 1 г; время экстракции – 50 мин; температура экстракции – 50°C [7], поэтому приняли решение изучить влияние ультразвука в жидкой среде (60 % ацетонитрил) – ультразвуковая экстракция – на извлечение ФС из рудбекии шершавой цветков (рисунок 6).



МЭ – экстракция при механическом перемешивании при комнатной температуре; ТЭ – температурная экстракция

Рисунок 6 – Зависимость содержания ФС от продолжительности ультразвуковой экстракции

Из рисунка 6 видно, что при ультразвуковой экстракции в течение 45 и 60 мин извлекалось больше ФС, чем при 15 и 30 мин, что совпадает с данными литературы [7]. Ультразвуковая экстракция на 72,0 % (отн.) ($p = 0,0039$) эффективнее, чем экстракция при механическом перемешивании, и на 17,8 % (отн.) ($p = 0,038$) менее эффективна, чем температурная экстракция. Таким образом, ультразвуковую экстракцию можно использовать для интенсификации процесса извлечения ФС рудбекии при использовании нетемпературных методов экстракции (статические методы, методы, основанные на механическом продвижении или перемешивании экстрагента и т.п.).

Заключение. Подобраны следующие оптимальные условия ультразвуковой обработки рудбекии шершавой цветков: время обработки – 30 мин; частота ультразвуковых колебаний – 21–31 кГц; толщина обрабатываемого слоя – 4-6 см; степень измельчения сырья – (2000). Использование разработанной технологии обработки повышает экстракцию ФС в среднем на 20,1 %. Выявлено, что ультразвуковая экстракция повышает выход ФС по сравнению с экстракцией при механическом перемешивании и уступает температурной экстракции.

Работа выполнена в рамках задания 2.2.3 «Получить и стандартизировать экстракционные лекарственные формы с повышенным содержанием биологически активных веществ» 2021-2025 гг. в рамках государственной программы научных исследований 2 «Химические процессы, реагенты и технологии, биорегуляторы и биоорхимия» подпрограммы 2.2 «Синтез и направленное модифицирование регуляторов биопроцессов (Биорегуляторы)».

Список литературы

1. Фармакопея Евразийского экономического союза (Фармакопея Союза) : утверждена решением Коллегии Евразийской экономической комиссии от 11.07.2020 г. № 100. – М., 2021. – Т. 1, ч. 1. – 584 с.
2. Государственная фармакопея Республики Беларусь (ГФ РБ II). В 2 т. Т. 1 : Общие методы контроля качества лекарственных средств / Министерство здравоохранения Республики Беларусь, Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении; под общ. ред. А. А. Шерякова. – Изд. 2-е. – Молодечно : Победа, 2012. – 1220 с.
3. Лукашов, Р. И. Обезжиривание календулы цветков как способ повышения экстракции флавоноидов / Р. И. Лукашов // Вестник фармации. – 2022. – № 1 (95). – С. 48 – 56.
4. Лукашов, Р. И. Влияние ультразвука на экстракцию флавоноидов из календулы цветков / Р. И. Лукашов, Н. С. Гурина // БГМУ – в авангарде медицинской науки и практики : рецензируемый сборник научных трудов ;

редколлегия. : С. П. Рубникович, В. Я. Хрыщанович. – Минск: БГМУ, 2020. – вып. 10. – С. 440-445.

5. Государственная фармакопея Республики Беларусь: (ГФ РБ II). В 2 т. Т. 2: Контроль качества субстанций для фармацевтического использования и лекарственного растительного сырья / Министерство здравоохранения Республики Беларусь, Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении; под общ. ред. С. И. Марченко. – Изд. 2-е. – Молодечно : Победа, 2016. – 1368 с.

6. Лукашов, Р. И. Количественное определение флавоноидов и гидроксикоричных кислот в цветках рудбекии шершавой / Р. И. Лукашов, Д. В. Моисеев // Рецепт. – 2013. – № 5. – С. 95-105.

7. Study on the extraction and antioxydation properties total flavonoids from *Rudbeckia hirta* petals [Electronic resource] / L.L. Yang. – Jilin Agricultural University, 2013. – Mode of access: <http://www.dissertationtopic.net/doc/1814218>. – Date of access: 17.08.2023.

**МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РФ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ВОРОНЕЖСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»**

**ПУТИ И ФОРМЫ СОВЕРШЕНСТВОВАНИЯ
ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО ОБРАЗОВАНИЯ. АКТУАЛЬНЫЕ
ВОПРОСЫ РАЗРАБОТКИ И ИССЛЕДОВАНИЯ НОВЫХ
ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ**

**Сборник трудов 9-ой Международной научно-методической
конференции**

«Фармобразование-2023»

г. Воронеж, 28-29 сентября 2023 г.

**Посвящается 25-летию создания фармацевтического факультета в
Воронежском государственном университете**

**Издательский дом
Воронежского государственного университета
2023**