

December 2018

Extraction of flavonoides from *Bidentis tripartite*

Temurbek Atahanovich Khajibaev

Institute of the Chemistry of Plant Substances, Uzbekistan, hajibaev84@mail.ru

Ravshanjon Muradjanovich Khalilov

Institute of the Chemistry of Plant Substances, Uzbekistan, hajibaev84@mail.ru

Follow this and additional works at: <https://uzjournals.edu.uz/cce>

Recommended Citation

Khajibaev, Temurbek Atahanovich and Khalilov, Ravshanjon Muradjanovich (2018) "Extraction of flavonoides from *Bidentis tripartite*," *CHEMISTRY AND CHEMICAL ENGINEERING*: Vol. 2018 : No. 3 , Article 18.

Available at: <https://uzjournals.edu.uz/cce/vol2018/iss3/18>

This Article is brought to you for free and open access by 2030 Uzbekistan Research Online. It has been accepted for inclusion in CHEMISTRY AND CHEMICAL ENGINEERING by an authorized editor of 2030 Uzbekistan Research Online. For more information, please contact sh.erkinov@edu.uz.

EXTRACTION OF FLAVONOIDS FROM *BIDENTIS TRIPARTITE*

Temurbek Atahanovich KHAJIBAEV (hajibaev84@mail.ru), Ravshanjon Muradjanovich KHALILOV (dr.khalilov@inbox.ru)
Institute of the Chemistry of Plant Substances, Uzbekistan

The possibility of the most complete extraction of flavonoids from *Bidentis tripartite* was studied, as a result: 70% ethyl alcohol was chosen as the effective solvent; it was determined that the degree of crushing of raw materials should be 2-6 mm; at a temperature of 20-30 °C the obtained extract contains a smaller of concomitant substances; for the extraction of flavonoids with a yield of more 96% of the content in raw materials it was established that the process must be carried out at least five times. For intensification of the process of extraction battery method was proposed.

Keywords: *Bidentis tripartite* L., aerial part, flavonoids, extraction.

ЭКСТРАКЦИЯ ФЛАВОНОИДОВ ИЗ ТРАВЫ *BIDENTIS TRIPARTITE*

Темурбек Атаханович ХАЖИБАЕВ (hajibaev84@mail.ru), Рашиан Мураджанович ХАЛИЛОВ (dr.khalilov@inbox.ru)
Институт химии растительных веществ, Узбекистан

Исследована возможность наиболее полного извлечения флавоноидов из травы *Bidentis tripartite* L. В результате: в качестве эффективного экстрагента выбран 70%-ный этиловый спирт; определено, что степень измельчения сырья должна быть 2-6 мм; при экстракции в температурном интервале 20-30 °C получаемый экстракт содержит меньшее количество сопутствующих веществ; для извлечения флавоноидов с выходом более 96% от содержания в сырье установлено, что экстракцию сырья необходимо проводить не менее пять раз. Для интенсификации процесса экстракции предложен батарейный способ.

Ключевые слова: *Bidentis tripartite* L., надземная часть, флавоноиды, экстракция.

BIDENTIS TRIPARTITE O'SIMLIGINI ER USTKI QISMIDAN FLAVONOIDLARNI EKSTRAKSIYASI

Temurbek Atahanovich KHAJIBAEV (hajibaev84@mail.ru), Ravshanjon Muradjanovich XALILOV (dr.khalilov@inbox.ru)
O'simlik moddalari kimyosi instituti, O'zbekiston

Bidentis tripartite L. o'simligining er ustki qismidan yuqori unum bilan flavonoidlarni ajratib olish imkoniyatlari o'rganildi, natijada: samarali ekstragent sifatida 70% etil spiriti tanlab olindi; xom ashyo maydalik darajasi 2-6 mm bo'lishi lozimligi belgilab olindi; jarayonni 20-30 °C haroratida olib borilsa, olinayotgan ekstraktda yot moddalarni miqdori kam bo'lishi aniqlandi; xom ashyoda saqlanishiga nisbatan flavonoidlarni unumi 96% dan yuqori bo'lishi uchun kamida besh marotaba ekstraksiya qilish lozimligi belgilab olindi. Ekstraksiya jarayonini jadallashtirish maqsadida batareya usulida ekstraksiya qilish taklif etildi.

Kalit so'zlar: *Bidentis tripartite* L. o'simligi, er ustki qismi, flavonoidlar, ekstraksiya.

Введение

Противоаллергические средства являются наиболее часто используемой группой препаратов в повседневной медицинской практике врачей различного профиля. В последние годы часто используют противоаллергические препараты, получаемые из растительного сырья. Например, с этой целью используются листья березы, травы фиалки, зверобоя, череды, хвоща и др., основной группой биологически активных веществ которых являются флавоноиды [1, 2]. Это объясняется тем, что флавоноиды являются менее токсичными соединениями, чем синтетические препараты, более мягко действуют на органы-мишени и не обладают тератогенностью и кумулятивностью. Поэтому одной из важнейших задач фармацевтической промышленности является внедрение в производство новых противоаллергических средств, получаемых из растительного сырья.

В этом направлении трава череды трехраздельной издавна применяется для лечения аллергических реакций. Настой травы череды, а также такие лекарственные средства, как мазь череды 20% с витамином Е на пчелином воске и крем Карталин® рекомендуются в комплексной терапии атопического дерматита, пиодермии и псориаза [3, 4]. Экспериментально установлено, что полисахариды и флавоноиды череды трехраздельной статистически значимо ($p < 0,05$)

уменьшали количество дегранулированных тучных клеток в 2-3,5 и 3-5,5 раза соответственно, что свидетельствовало об их стабилизирующем действии на тучные клетки [5].

Как ранее сообщали в результате совместных исследований Института химии растительных веществ АН РУз (ИХРВ) и Института иммунологии на основе флавоноидов травы череды трехраздельной – *Bidentis tripartite* L. (сем *Asteraceae*) создан новый противоаллергический препарат «Аллергодаф». Результаты проведенных нами исследований по стандартизации травы череды по содержанию флавоноидов отражены в публикациях [6, 7].

При производстве лекарственных средств из растительного сырья основным процессом является процесс экстрагирования. Экстракция биологически активных веществ является основным процессом технологического цикла при производстве лекарственных средств из растительного сырья [8].

Для проведения эффективного процесса экстракции необходимо знать технологические свойства сырья и физико-химические показатели выделяемых биологически активных веществ. К ним относятся содержание в сырье действующих и экстрактивных веществ, объемная и насыпная масса сырья, дисперсность и др. Содержание в сырье действующих и экстрактивных веществ позволяет выяснить количество получаемого

экстракта и оценить степень экстрагируемости сырья. Правильный выбор экстрагента является основным этапом процесса экстракции, и к нему предъявляется ряд требований. А именно, экстрагент должен быть избирательным по отношению к целевым веществам; неагрессивным к экстрагируемым веществам и аппаратуре; характеризоваться минимальной токсичностью, доступностью и дешёвизной; иметь высокую диффузионную способность; препятствовать развитию в экстракте микрофлоры; обладать относительно низкой температурой кипения и лёгкой регенерируемостью [9].

Исходя из вышеизложенного, изучение экстракции флавоноидов из травы череды трехраздельной является актуальным.

Продолжая исследования по разработке технологии получения субстанции препарата аллергодаф, нами были изучены параметры, влияющие на выход суммы флавоноидов из травы череды трехраздельной, такие как подбор селективного экстрагента, дисперсность сырья, температура и продолжительность процесса.

Экспериментальная часть и обсуждение

В используемом нами для экспериментов сырье содержание суммы флавоноидов составило 1,7% от массы сырья.

Учитывая доступность и безвредность этилового спирта, для подбора селективного экстрагента эксперименты проводили с использованием различных концентраций этилового спирта. Эксперименты проводили следующим образом: измельченное воздушно-сухое сырье по 0,5 кг загружали в 5 экстракторов объемом по 5 л и в каждый экстрактор заливали этиловый спирт различной концентрации (95, 90, 80, 70, 60 %) до образования «зеркала» над поверхностью сырья. Экстракцию проводили шестикратно при комнатной температуре, производя слив через каждые 8 ч. Объединенные экстракты из каждого экстрактора отфильтровали и анализировали на содержание суммы флавоноидов и экстрактивных веществ (рис. 1).

Диаграмма, приведенная на рис. 1, показывает, что 70% этиловый спирт превосходит по

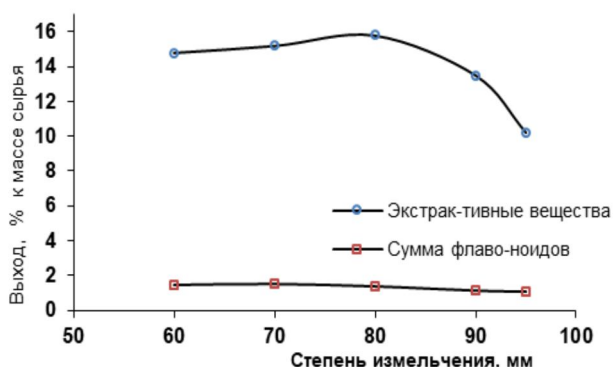


Рис. 1. Влияние концентрации этилового спирта на выход суммы флавоноидов из травы череды трехраздельной.

извлекающей способности остальные изученные концентрации этилового спирта.

Для установления оптимальной степени измельчения эксперименты проводили следующим образом: воздушно сухую траву череды трехраздельной измельчали и просеивали через сито с различными диаметрами отверстий. Из каждой партии отбирали по 0,5 кг сырья и загружали в экстракторы следующим образом: в первый экстрактор – измельченное сырье с размером частиц менее 2 мм, во второй – с размером частиц 2-6 мм, в третий – 6-10 мм, в четвертый – 10-14 мм и в пятый экстрактор загружали неизмельченное сырье. Экстракцию проводили шестикратно при комнатной температуре 70% этиловым спиртом, производя слив через каждые 8 ч. Объединенные экстракты из каждого экстрактора анализировали на выход флавоноидов и экстрактивных веществ (рис. 2).

Из рисунка 2 видно, что из измельченного сырья размером частиц менее 2 мм флавоноиды извлекаются быстрее, однако экстракт получается мутным и трудно фильтрующимся. При экстракции неизмельченного сырья процесс проходит медленно. Таким образом, для выделения суммы флавоноидов рекомендуем использовать измельченное растительное сырье – траву череды трехраздельной с размером частиц 2-6 мм.

Для изучения влияния температуры на процесс экстракции флавоноидов опыты проводили в следующих условиях. Измельченную траву череды трехраздельной с размерами частиц 2-6 мм по 0,5 кг загружали в четыре колбы, заливали по 2 л 70% этилового спирта. Экстракцию в первой колбе проводили при температуре 20±2 °С, экстракцию во второй колбе – при 30±2 °С, в третьей – при 40±2 °С, в четвертой – при 50±2 °С. Температурный режим регулировали в водяном термостате (марки ИТЖ-0-03, Россия). Экстракцию проводили шестикратно, объединенные экстракты из каждого экстрактора анализировали на выход флавоноидов и экстрактивных веществ (рис. 3).

Кривые диаграммы, представленной на рис. 3, показывают, что с повышением темпера-

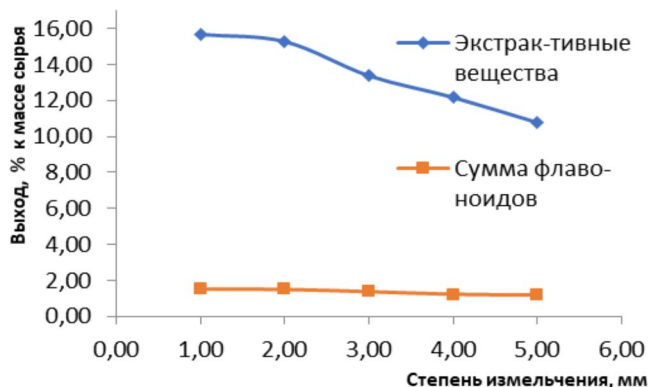


Рис. 2. Влияние степени измельчения сырья на выход суммы флавоноидов из травы череды трехраздельной.

туры процесс извлечения суммы флавоноидов интенсифицируется незначительно. Выход же экстрактивных веществ резко возрастает, это значит, что полученный экстракт содержит больше сопутствующих веществ. Очистка таких экстрактов затрудняется. Следовательно, при более низких температурных режимах происходит избирательное извлечение действующих веществ. Экстрагирование при высокой температуре требует также специальных установок для подогрева, дополнительных энергозатрат, которые отрицательно влияют на стоимость конечного продукта и здоровье работающего персонала. Исходя из этого, процесс экстракции травы череды трехраздельной целесообразно вести при температуре в интервале 20-30 °С (комнатная).

Для определения условий максимального выхода экстрактивных веществ из травы череды применяли метод математического планирования эксперимента по Боксу–Уилсону. Параметром оптимизации служил выход флавоноидов к массе сырья при первом контакте фаз. Во всех опытах количество сырья и метод выделения были идентичными. В опытах использовали по 0,5 кг воздушно-сухого сырья. Экстракцию сырья проводили при комнатной температуре.

На основе априорной информации (в данном случае результатов однофакторных экспериментов) выбрали факторы, в наибольшей степени, влияющие на экстракцию, и установили для них основные уровни и интервалы варьирования: X_1 – концентрация спирта (90 %, 80 %, 70%); X_2 – продолжительность процесса (4ч, 6ч, 8ч); X_3 – гидромодуль (1:4, 1:5, 1:6); X_4 – степень измельчения сырья (4 мм, 8 мм, 12 мм).

Установлены два уровня четырех факторов, т.е. полный факторный эксперимент типа 2^4 . Использована дробная реплика 2, реплики от полного факторного эксперимента 2^4 с применением планирования типа 2^{4-1} с генерирующими соотношениями $X_4 = X_1 X_2$.

Матрица планирования экспериментов и полученные результаты приведены в табл. 1.

Каждый из 8 опытов проводили в соответствии с составленной матрицей, используя выбранные уровни каждого фактора, закодирован-

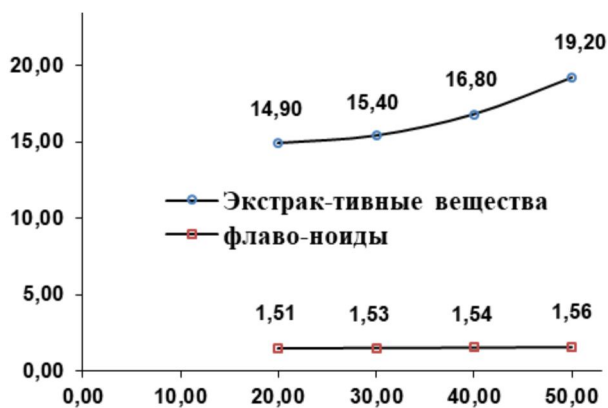


Рис. 3. Влияние температуры на процесс экстракции флавоноидов из травы череды трехраздельной.

ные в матрице знаками «+» или «-» (соответственно верхний и нижний уровни варьирования).

Результаты опытов представлены в виде уравнения регрессии:

$$Y = b_0 + b_1 X_1 + b_2 X_2 + b_3 X_3 + b_4 X_4, \quad (1)$$

где b_0, b_1, b_2, b_3, b_4 – коэффициенты регрессии неполного квадратного уравнения.

Постулируя, что изучаемый процесс при заданных интервалах варьирования переменных может быть описан линейной зависимостью и, пользуясь методом наименьших квадратов, определили коэффициенты регрессии по формуле 2:

$$b_i = \frac{\sum_{j=1}^N (X_{ij} \times Y_i)}{N} \quad (2)$$

где i – номер опыта (1, 2, ..., 8);

j – номер фактора (1, , 4);

X_{ij} – кодированное значение факторов;

N – число опытов в матрице.

Пользуясь формулой 2, рассчитали значения коэффициентов регрессии:

$$b_0 = 0,5175; b_1 = 0,1225; b_2 = 0,11625; b_3 = 0,15; b_4 = 0,17625$$

Подставляя рассчитанные значения « b » – коэффициентов в уравнение 1, получили следующее уравнение регрессии первого порядка:

$$Y = 0,5175 + 0,1225 X_1 + 0,11625 X_2 + 0,15 X_3 + 0,17625 X_4$$

Расчет однородности дисперсии проводили по критерию Кохрена и установили, что дисперсия однородна: $G_{\text{экс}} = 0,6424 \leq G_{\text{кр}} = 0,6798$ [10].

Адекватность полученной модели проверяли по критерию Фишера, и установили, что модель адекватна $F_{\text{экс}} = 3,5684 < F_{\text{таб}} = 4,5$ ($f_1 = 2, f_2 = 8$) [10].

Коэффициент регрессии значим, если его абсолютная величина больше доверительного интервала и значимыми оказались все выбранные факторы.

Таким образом, проведенными исследованиями методом математического планирования эксперимента выявлены оптимальные условия экстракции флавоноидов из сырья при первом контакте фаз, а именно экстракция 70% этиловым спиртом при комнатной температуре, времени экстракции – 6 ч и степени измельчения сырья – 70 % прохода через сито диаметром отверстий 4 мм при гидромодуле 1:6.

Для изучения динамики экстракции эксперименты проводили следующим образом: по 0,5 кг измельченного сырья загружали в семь экстракторов и экстрагировали 95% этиловым спиртом при комнатной температуре с интервалом в 1 час. По истечении времени экстракты сливали и определяли выход суммы флавоноидов при первом контакте фаз (табл. 2). Для установления фазового равновесия при втором контакте фаз по 0,5 кг измельченного сырья экстрагировали в шести экстракторах 70%-этиловым спиртом в течение 6 часов. Экстракты сливали и заливали свежие порции экстрагента. Через каждый 1 час сливали извлечение из соответствующей

Таблица 1
Матрица планирования экспериментов и их результаты

№ опыта	Код фактора					Y ₁	Y ₂	Y _{ср}
	X ₀	X ₁	X ₂	X ₃	X ₄			
1	+	-	+	-	-	0,26	0,18	0,22
2	+	-	+	+	-	0,50	0,40	0,45
3	+	-	-	-	+	0,26	0,20	0,23
4	+	-	-	+	+	0,62	0,74	0,68
5	+	+	+	-	+	0,75	0,66	0,705
6	+	+	+	+	+	1,00	1,32	1,16
7	+	+	-	-	-	0,27	0,36	0,315
8	+	+	-	+	-	0,42	0,34	0,38

шего экстрактора и определяли выход суммы флавоноидов. Таким же образом определяли фазовое равновесие при третьем, четвертом, пятом и шестом контактах фаз (табл. 2).

Из результатов, приведенных в табл. 2, видно, что при первом контакте фаз равновесие достигается через 6 часов, при втором – 5 часов, при третьем – 4 часа, при четвертом – 3 часа, пятом и шестом – 2 часа. За пять сливов степень извлечения флавоноидов составила 96,4 %, что вполне приемлемо для стадии экстракции. Исходя из этого, рекомендуем шестикратную экстракцию, при которой шестой слив используют для обогащения последующих экстракций.

При переработке большого количества сырья (более 100 т/год) использование динамических методов экстракции целесообразно, тогда как экстракцию небольших партий сырья осуществляют в статических условиях с использованием диффузоров.

Производство субстанции препарата аллергодафа планируется организовать на базе Опытного производства ИХРВ АН РУз, где для выпуска различных субстанций растительного происхождения будет налажено использование экстракторов, работающих в динамическом режиме.

В результате проведенных опытов по изучению экстракции флавоноидов из сырья различными способами (мацерации, мацерации с перемешиванием и батарейный способ) выявлено, что при проведении экстракции методом мацерации с перемешиванием сокращается время, необходимое для экстрагирования сырья, однако, гидромодуль процесса возрастает почти в 2

Таблица 2
Динамика экстракции суммы флавоноидов

Выход флавоноидов, % к массе сырья	Время настаивания, ч						
	1	2	3	4	5	6	7
Первый контакт фаз	0,32	0,51	0,65	0,75	0,82	0,87	0,87
Второй контакт фаз	0,15	0,25	0,35	0,37	0,39	0,39	
Третий контакт фаз	0,09	0,16	0,23	0,28	0,28		
Четвертый контакт фаз	0,05	0,08	0,10	0,10			
Пятый контакт фаз	0,01	0,02	0,02				
Шестой контакт фаз	0,002	0,007	0,007				

раза. Это значит, что при экстракции данным способом увеличивается расход экстрагента (70% этиловый спирт). К тому же, этиловый спирт является взрывоопасным, поэтому при внедрении метода экстракции мацерации с перемешиванием требуются специальные защитные установки. При экстракции сырья батарейным способом гидромодуль процесса и время экстракции сократились в 3 раза по сравнению с экстракцией методом настаивания. Однако выход флавоноидов существенно не менялся от выбранного способа экстракции. Принимая во внимание расход используемого экстрагента, а также время для переработки получаемого извлечения, для крупномасштабного производства субстанции препарата аллергодафа предложен батарейный способ экстракции.

Выводы

1. При изучении процесса экстракции суммы флавоноидов травы череды трехраздельной установлено, что измельченное сырье с размерами частиц 2-6 мм необходимо экстрагировать шестикратно 70% этиловым спиртом при комнатной температуре (20-30 °C), шестой слив которой используют для обогащения последующих экстракций. Причем, необходимое время настаивания при первом контакте фаз должно быть не менее 6 часов, при втором и третьем – 4 часа, при четвертом – 3 часа, пятом и шестом – 2 часа.

2. Для крупномасштабного производства субстанции препарата аллергодафа предложен батарейный способ экстракции.

REFERENCES

- Smirnova O.V., Derkach Y.U.N., Gurina N.S. Fitoimmunoterapiya allergicheskikh zabolevaniy [Phytoimmunotherapy of allergic diseases]. *Immunologiya, allergologiya, infektologiya*, 2010, no. 2, pp. 81-86.
- Sysoyeva, T. V. *Farmakognosticheskoye izucheniye LRS s protivallergicheskim deystviyem s tsel'yu sozdaniya na yego osnove lekarstvennykh preparatov. Diss. kand. farm. nauk.* [Pharmacognostic study of LRS with antiallergic action in order to create drugs on its basis. PhD diss.]. Perm', 2011. 192 p.
- Chukhno T. *Bol'shaya entsiklopediya lekarstvennykh rasteniy* [Big Encyclopedia of Medicinal Plants]. Moscow, Eksmo Publ., 2007. 1024 p.
- Dmitruk V.S. Opyt primeneniya mazi «Kartalin» pri ladonno-podoshevnoy forme psoriaza i drugikh keratodermiyakh [The experience of using ointment "Kartalin" with palmar-plantar form of psoriasis and other keratoderma]. *Byulleten' sibirskoy meditsiny*, 2011, no. 1, pp. 112-116.
- Korozhan N.V., Yanchenko V.V., Buzuk G.N. Vliyaniye flavonoidov i polisakharidov cheredy trekhrazdel'noy na stabilizatsiyu tuchnykh kletok in vitro [The influence of flavonoids and polysaccharides of a three-part sequence on the stabilization of mast cells in vitro]. *Vestnik farmatsii*, 2014, vol. 65, no. 3, pp. 100-104.
- Suyarov A.A., Dzharparov A.K., Alimova M.T. Izucheniye antiallergicheskogo i immunomoduliruyushchego svoystv ekstrakta cheredy trekhrazdel'noy [The study of the antiallergic and immunomodulating properties of the extract of a series of tripartite]. *Fiziologiya i patologiya immunnnoy sistemy. Immunofarmakogenomika*, 2012, vol. 15, no. 11, pp. 29-33.
- Kotenko L.D., Khazhibayev T.A., Suyarov A.A., Khalilov R.M., Abdullayev N.D., Sagdullayev Sh.Sh. Standartizatsiya travy cheredy trekhrazdel'noy [Standardization of the grass of a three-part series]. *Farmatsevticheskiy vestnik Uzbekistana*, 2015, no. 1, pp. 20-23.
- Promyshlennaya tekhnologiya lekarstv* [Dori vositalarining sanoat texnologiyasi]. Khar'kov, 2002, vol. 1. 916 p.
- Ponomarev V.D. *Ekstragirovaniye lekarstvennogo syr'ya* [Extraction of medicinal raw materials]. Moscow, Meditsina Publ., 1976. 202 p.
- Ruzinov L.P. *Statisticheskiye metody optimizatsii khimicheskikh protsessov* [Statistical methods for optimizing chemical processes]. Moscow, Khimiya Publ., 1972. 182 p.