

РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ СУХОГО ЭКСТРАКТА ИЗ СБОРА РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ МЕТОДОМ ВОДНОЙ ЭКСТРАКЦИИ

Чехани Н.Р.¹, Павлова Л.А.², Павлов В.М.²

¹Лаборатория биологически активных соединений НИИ фармации ГБОУ ВПО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России, 119991, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 1, chehaninino@mail.ru

²ГБОУ ВПО Российский государственный исследовательский университет им. Н.И. Пирогова Минздрава России, l-a-pavlova@yandex.ru

Разработана технология получения сухого экстракта из сбора растительного сырья, состоящего из листьев смородины черной, листьев малины обыкновенной, травы кипрея узколистного и травы таволги вязолистной (СМИЛ) методом водной экстракции с постепенным повышением температуры и медленным охлаждением в условиях термостатирования. Рассмотрены несколько модификаций данной методики и выбрана оптимальная, позволяющая максимально истощить сырье, обогатить вытяжку комплексом биологически активных соединений и обеспечить тем самым ресурсосбережение. Изучены технологические характеристики сухого водного экстракта из сбора СМИЛ, с целью дальнейшего его использования в качестве исходного сырья для получения готовых лекарственных форм.

Ключевые слова: водная экстракция, сухие экстракты, листья смородины черной, листья малины обыкновенной, трава кипрея узколистного, трава таволги вязолистной.

DEVELOPMENT OF TECHNOLOGY OF GRANULATION OF DRY EXTRACTS FROM THE COMBINATION OF PLANT MATERIAL

Chekhani N.R.¹, Pavlova L.A.², Pavlov V.M.²

¹First Moscow State Medical University named after I.M.Sechenov, Institute of Pharmacy, Laboratory of Bioactive Compounds, 8, Trubetskaya st., Moscow, 119991, Russia, chehaninino@mail.ru

²The Russian National Research Medical University named after N.I.Pirogov, department of organization of pharmaceutical activities, l-a-pavlova@yandex.ru

The technology of dry extract from combination of plant material, consisting of leaves of black currant, raspberry leaves, herb of fireweed, herb of meadowsweet (SMIL) by aqueous extraction with a gradual increase in temperature and slow cooling in a temperature controlled was developed. We were considered several modifications of this method and has been chosen the best. Which allows maximal deplete plant material and enrich the extract by complex of biologically active compounds and thereby ensure resource conservation. Technological characteristics of dry aqueous extract of SMIL were studied in order to further its use as a feedstock for the production of finished dosage forms.

Keywords: water extraction, dry extracts, leaves of black currant, raspberry leaves, herb of fireweed, herb of meadowsweet.

В последние годы в подходах к созданию новых препаратов из растительного сырья, наметились тенденции к разработке ресурсосберегающих технологий, что обеспечивается применением различных экстрагентов, схем и режимов экстракции, использованием аппаратуры, позволяющей в значительной степени увеличить выход экстрактивных и действующих веществ [1].

Разработка и внедрение в практику ресурсосберегающего способа экстракции (за счет максимального истощения сырья), а также получение стабильных препаратов на основе экстрактов растений, является актуальной задачей.

Цель исследования - разработка технологии получения сухого экстракта из сбора растительного сырья, состоящего из равных частей (по массе) листьев смородины черной,

листьев малины обыкновенной, травы кипрея узколистного (иван-чай), травы таволги вязолистной (лабазник), далее СМИЛ, методом водной экстракции.

Материал и методы исследования

Объектами исследования служили: 1) растительное сырье, приобретенное в ООО "Беловодье", Россия. Образцы представляли собой измельченное высушенное сырье: листья малины обыкновенной (ТУ 9198-015-57345339-05, сертификат: № РОСС RU АЮ65.Н01516); листья смородины черной (ТУ 9198-001-79413863-06, сертификат: № РОСС RU АЮ85.В30422); трава таволги (лабазник вязолистный) (ТУ 9198-008-57345339-02, сертификат: № РОСС RU.АЮ65.Н01522); трава кипрея узколистного (Иван-чай) (ТУ 9198-015-57345339-05, сертификат: № РОСС RU АЮ65.Н01516); 2) сухой водный экстракт, полученный из сбора СМИЛ.

Технология получения водного экстракта из сбора СМИЛ

В настоящее время существует большое количество разнообразных схем экстракции, призванных увеличить выход действующих веществ, обеспечить максимальное истощение сырья и обогащение вытяжки целевыми биологически активными веществами (БАВ). Среди них выделяется схема экстрагирования сырья водой очищенной, предложенная Саргиным Б.В. и соавт., реализованная на примерах сырья, богатого аскорбиновой кислотой (плоды калины обыкновенной, *Viburnum opulus*), водорастворимыми фенольными соединениями (листья березы плакучей, *Betula pendula Roth*) [2].

За основу собственных исследований была взята схема, предложенная Саргиным Б.В. и соавт., с некоторыми модификациями. В варианте, предложенном Саргиным Б.В., указаны общие условия первичного и последующего нагревания экстрагируемого растительного сырья в достаточно широком диапазоне температур и времени нагревания. Не конкретизированы условия охлаждения – приводится только временной интервал, однако, не указана конечная температура экстрагируемой смеси.

В связи с этим, изучены несколько вариантов экстрагирования сырья по предложенной технологии с применением различных температурных режимов и временных экспозиций, приведенных в таблице 1.

На стадии № 3 процесса экстракции (первоначальное нагревание смеси) были подобраны условия постепенного повышения температуры от 20°C до 40°C на 1°C и 5°C в различные промежутки времени. Далее на стадиях № 4, 6 (настаивание сырья при постоянной температуре) была оценена возможность экстрагирования сырья путем выдержки экстрагируемой смеси при постоянной температуре, а также возможность сокращения времени экстрагирования за счет исключения данной стадии.

На стадии № 5 процесса экстракции оценивалась возможность постепенного повышения температуры экстрагируемой смеси от 40°C до 90°C в течение 8 часов как на 1°C через каждые 10 мин, так и в интервале 3°C каждые 30 мин. В дальнейшем, на стадии №7, конкретизировались условия охлаждения смеси.

Таким образом, рассмотрены три варианта получения водных извлечений: 1-ый по схеме, описанной в патенте РФ 2473356, 2,3-ий – по модифицированной методике. Кроме того, при выполнении первого варианта, охлаждение проводили, не вынимая экстракционную емкость из термостата, а только выключив его.

Во всех трех случаях использовали сбор СМИЛ в сухо-воздушном состоянии, предварительно измельченный, смешанный и просеянный от пыли; первую стадию для всех трех схем экстракции оставляли неизменной.

В соответствии со схемой 1, сбор СМИЛ помещали в керамический сосуд, предварительно выдержанный в печи-термостате при температуре 20°C в течение 1 часа; заливали рассчитанным объемом воды очищенной (20°C) с учетом коэффициента поглощения сырья; осуществляли нагревание сырья с постепенным повышением температуры от 20°C до 40°C в течение 2 часов и выдерживали при температуре 40°C в течение часа. По истечении обозначенного времени, осуществляли последующее нагревание с постепенным повышением температуры до 90°C в течение 6 часов и выдерживали при температуре 90°C в течение часа; далее охлаждали сосуд с растительным сырьем в течение 6 часов, не вынимая из термостата.

В соответствии со схемой 2 экстрагирования, сбор растительного сырья СМИЛ помещали в керамический сосуд, заливали рассчитанным объемом воды очищенной (20°C) с учетом коэффициента поглощения сырья; осуществляли нагревание сырья с постепенным повышением температуры от 20°C до 40°C в течение 2 часов (на 1°C, через каждые 6 мин) и выдерживали при температуре 40°C в течение часа; по истечении обозначенного времени, осуществляли последующее нагревание с постепенным повышением температуры до 90°C в течение 8 часов (на 1°C, через каждые 10 мин) и выдерживали при температуре 90°C в течение часа; охлаждали сосуд с растительным сырьем в течение 10 часов с постепенным снижением температуры от 90 °C до 20 °C в (на 1 °C каждые 9 минут).

В соответствии со схемой 3 экстракции сбор СМИЛ заливали рассчитанным объемом воды очищенной (20°C) с учетом коэффициента поглощения сырья; осуществляли нагревание сырья с постепенным повышением температуры от 20°C до 40°C в течение 2 часов (на 5 °C, каждые 30 минут); выдержку не осуществляли, а продолжали последующее нагревание с повышением температуры до 90°C в течение 8 часов (на 3°C, через каждые 30

мин); выдержку на данной стадии также не осуществляли. Экстрагируемую смесь извлекали из термостата и охлаждали при комнатной температуре.

В качестве сравнения использовали настой сбора СМИЛ, изготовленного по технологии, рекомендуемой ГФ XI изд.: навеску сбора СМИЛ заливали водой очищенной комнатной температуры в соотношении 1:10. Настаивали на кипящей водяной бане в течение 15 мин, периодически перемешивая, и охлаждали при комнатной температуре в течение 45 мин. Настой отфильтровывали, сырье отжимали. В случае необходимости доводили объем настоя до требуемого.

Сравнительную оценку полноты извлечения БАВ проводили по содержанию экстрактивных веществ, полифенольных соединений в пересчете на рутин, органических кислот в пересчете на хлорогеновую кислоту, дубильных веществ в пересчете на галловую кислоту после каждого этапа выдержки при заданной температуре, в готовых продуктах (водные экстракты), полученных по схемам 1, 2, 3, а также в водном извлечении, приготовленном по правилам изготовления настоев и отваров из не сильнодействующего растительного сырья. Результаты проведенного исследования представлены в таблицах 2 и 3.

Результаты и их обсуждение

Результаты, представленные в таблице 2, свидетельствуют о целесообразности применения приема постепенного повышения температуры и медленного охлаждения, поскольку в данном случае в экстрактах увеличивается содержание целевой группы БАВ. Данные, представленные в таблице 3, свидетельствуют о том, что содержание экстрактивных веществ в водном экстракте, полученном по схеме 2, выше такового в экстрактах, полученных по схеме 1 и 3 в 1,1 раз, и в 1,9 раз соответственно и выше содержания экстрактивных веществ в настое в 2,8 раз. Вместе с тем, содержание полифенольных соединений в пересчете на рутин (%) в экстракте, полученном по схеме 2, превышало содержание таковых в экстрактах, полученных по схеме 1, 3 и в водном извлечении из сбора СМИЛ (настой) в 1,1 раза, в 1,5 раза и в 2,3 раза соответственно.

Таблица 1

Подбор оптимальной схемы экстрагирования сырья

№ стадий п/п	Режим	Схема 1 (n=5)	Схема 2 (n=5)	Схема 3 (n=5)
1	Растительное сырье помещали в керамический сосуд	Сосуд предварительно выдержанный в печи-термостате при температуре 20°C в течение 1 часа		
2.	Заливали рассчитанным объемом экстрагента, с учетом коэффициента поглощения сырья			
3.	Нагревание сырья	Повышение температуры экстрагируемой смеси от 20°C до 40°C в течение 2 часов	Повышение температуры экстрагируемой смеси от 20°C до 40°C в течение 2 часов (на 1 °С, каждые 6 минут в автоматическом режиме)	Повышение температуры экстрагируемой смеси от 20°C до 40°C в течение 2 часов (на 5 °С, каждые 30 минут в автоматическом режиме)
4	Настаивание сырья при постоянной температуре	Выдерживали при температуре 40°C в течение часа		Отсутствует
5	Последующее нагревание	С постепенным повышением температуры до 90°C в течение 2-6 часов	С постепенным повышением температуры до 90°C в течение 8 часов (на 1°C, через каждые 10 мин)	С постепенным повышением температуры до 90°C в течение 8 часов (на 3°C, через каждые 30 мин)
6	Настаивание сырья при постоянной температуре	Выдерживали при температуре 90°C в течение часа		Без выдержки
7.	Охлаждение	В течение 6 часов	Постепенное охлаждение от 90 °С до 20 °С в течение 10,5 часов (на 1 °С каждые 9 минут)	По окончании времени экстракции керамический сосуд извлекали из термостата и охлаждали при комнатной температуре

Таблица 2

Сравнительная оценка содержания экстрактивных веществ и ведущих групп БАВ в водных извлечениях из сбора СМИЛ после выдержки при 40°C и 90°C (схемы 1, 2) и без выдержки (схема 3), ($M \pm m$)

Исследуемый показатель	Водный экстракт Схема 1 (n=5)	Водный экстракт Схема 2 (n=5)	Водный экстракт Схема 3 (n=5)
После выдержки при температуре 40°C			
Содержание экстрактивных веществ, %	12,2±0,4	12,6±0,4	6,7±0,04
Содержание полифенольных соединений в пересчете на рутин, %	0,71±0,02	0,75±0,02	0,51±0,03
Содержание органических кислот в пересчете на хлорогеновую кислоту, %	3,52±0,03	3,81±0,03	2,17±0,04
Содержание дубильных веществ в пересчете на галловую кислоту, %	4,32±0,04	4,47±0,03	3,98±0,02
После выдержки при температуре 90°C			
Содержание экстрактивных веществ, %	19,4±0,3	21,6±0,4	10,3±0,05
Содержание полифенольных соединений в пересчете на рутин, %	1,53±0,03	1,72±0,02	0,91±0,03
Содержание органических кислот в пересчете на хлорогеновую кислоту, %	6,68±0,04	7,01±0,05	5,43±0,04
Содержание дубильных веществ в пересчете на галловую кислоту, %	11,02±0,04	11,97±0,03	7,16±0,03

Таблица 3

Сравнительная оценка содержания экстрактивных веществ и ведущих групп БАВ в готовом экстракте и настое из сбора СМИЛ, ($M \pm m$)

Исследуемый показатель	Водный экстракт Схема 1 (n=5)	Водный экстракт Схема 2 (n=5)	Водный экстракт Схема 3 (n=5)	Настой (n=5)
Содержание экстрактивных веществ, %	26,4±0,3	28,6±0,4*** ^Δ	14,9±0,03	10,2±0,05
Содержание полифенольных соединений в пересчете на рутин, %	1,81±0,02	2,03±0,02* ^Δ	1,4±0,01	0,9±0,02
Содержание органических кислот в пересчете на хлорогеновую кислоту, %	8,04±0,01	9,95±0,02*** ^Δ	7,14±0,03	5,93±0,02
Содержание дубильных веществ в пересчете на галловую кислоту, %	13,07±0,02	14,01±0,02*** ^Δ	9,86±0,03	6,15±0,03

Примечание: * - достоверное различие с настоем ($p < 0,05$); ** - достоверное различие с водным экстрактом, полученным по схеме 3 ($p < 0,05$); Δ - достоверное различие с водным экстрактом, полученным по схеме 1 ($p < 0,05$)

Содержание органических кислот в пересчете на хлорогеновую кислоту в экстракте, полученном по схеме 2, оказалось выше, чем в экстрактах, полученных по схемам 1, 3, и в настое в 1,2 раза, в 1,4 раза и в 1,7 раз соответственно. При этом количество дубильных веществ в пересчете на эллаговую в экстракте, полученном по схеме 2, составило $14,01 \pm 0,02$, что выше, чем в экстрактах, полученных по схеме 1, 3, и уровня дубильных веществ в настое в 1,1 раза, в 1,4 раза и в 2,3 раза соответственно. Таким образом, установлено, что применение схемы 2 экстракции с постепенным повышением температуры экстрагируемой смеси и медленным охлаждением позволяет полнее истощить сырье и обеспечить тем самым ресурсосбережение.

Результаты определения количественного содержания ведущих групп биологически активных соединений свидетельствуют о том, что схема 1, хотя и позволяет несколько сократить время экстрагирования растительного сырья и получить вытяжки с достаточно высоким содержанием БАВ, все же уступает экстрактам, полученным по схеме 2.

Получение водных экстрактов по схеме 2 путем длительного (в течение суток) настаивания в термостате с постепенным увеличением температуры от 20°C до 90°C и медленным охлаждением в течение 10-11 часов (в условиях термостатирования) обеспечивает повышение выхода биологически активных веществ за счет постепенного и более полного растворения внутриклеточного содержимого, что повышает эффективность использования растительного сырья и обеспечивает ресурсосбережение. Что касается модифицированной схемы 3 экстрагирования растительного сырья, то она позволяет оптимизировать процесс экстракции с точки зрения временных затрат (весь процесс длится около 10 часов), но не обеспечивает в должной мере выход целевой группы БАВ.

На основании результатов исследования по подбору оптимальной схемы экстрагирования была выбрана технология получения суммарного водного экстракта из сбора растительного сырья СМИЛ по схеме 2. Данная схема экстракции, с постепенным повышением температуры и медленным охлаждением в условиях термостатирования, обеспечивает щадящее воздействие на термолабильные вещества и обеспечивает повышенный выход комплекса БАВ [3].

Отделение водного экстракта от сырья проводили с помощью стандартного нутч-фильтра. Вытяжку отстаивали при температуре 8°C в течение суток и повторно фильтровали через нутч-фильтр. Полученное извлечение упаривали на вакуум-выпарном аппарате ВУСНІ (Германия), высушивали в сублимационной сушилке Heto Dry Winner и исследовали его органолептические и технологические характеристики (табл. 4).

Сухой экстракт из сбора СМИЛ представляет собой мелкокристаллический порошок с характерным запахом, светло-коричневого цвета. Экстракт имеют низкую сыпучесть: водный – $5,6 \pm 0,08$ г/с и большой угол естественного откоса – $43,3 \pm 0,02^\circ$.

Таблица 4

Органолептические и технологические свойства сухих экстрактов из сбора СМИЛ

№ п/п	Оцениваемые показатели	Водный экстракт из сбора СМИЛ
1.	Цвет	светло-коричневый
2.	Запах	характерный
3.	Внешний вид	мелкокристаллический порошок
4.	Влажность, %	$4,80 \pm 0,02$
5.	Насыпная плотность, г/см ³	$0,66 \pm 0,04$
6.	Насыпная плотность после утряски, г/см ³	$0,84 \pm 0,03$
7.	Сыпучесть, г/с	$5,6 \pm 0,08$
8.	Угол естественного откоса, °	$43,3 \pm 0,02$

Выводы:

1. Результаты проведенных исследований свидетельствуют о целесообразности выбранной схемы экстракции и возможности использования ее в качестве одного из ресурсосберегающих методов, позволяющих максимально извлекать целевые группы БАВ.
2. Проведенные исследования по изучению технологических свойств сухого экстракта из сбора СМИЛ, позволяют сделать заключение о том, что он не обладает удовлетворительными технологическими характеристиками. Об этом свидетельствует угол естественного откоса, низкая сыпучесть экстракта, высокая влажность. Все это обуславливает необходимость использования эффективных вспомогательных веществ, улучшающих сыпучесть, снижающих гигроскопичность, а также необходимость введения в технологическую схему стадии гранулирования [4, 5].

Список литературы

1. Пат. 2261103 Рос. Федерация. Способ получения настойки эхинацеи пурпурной *Echinacea purpurea* L. (Варианты) / И.Ю. Макаров – 2004126776/15; заявл. 07.09.2004; Опубл. 27.09.2005.
2. Пат. 2473356 Рос. Федерация. Способ получения водных экстрактов из растительного сырья с повышенным содержанием извлекаемых активных веществ / Саргин Б. В., Бобков Г.В., Павлов С.А. – 2011149734/15; заявл. 07.12.2011; Опубл. 27.01.2013.
3. Чехани Н.Р., Павлова Л.А., Козин С.В. СМИЛ – новый безопасный и эффективный гепатопротекторный препарат растительного происхождения // «Сеченовский вестник. – 2014. - № 2 (16). – С. 117.

4. Moisture-activated dry granulation – Part I: a guide to excipient and equipment selection and formulation development / I. Ullah [et al.] // Pharmaceutical technology. – 2009. – Vol. 33. - № 11. – P. 62-70.

5. Moisture-activated dry granulation – Part II: the effects of formulation ingredients and manufacturing-process variables on granulation quality attributes / I. Ullah [et al.] // Pharmaceutical technology. – 2009. – Vol. 33. - № 12. – P. 42-51.

Рецензенты:

Рудакова И.П., д.х.н., профессор, г.н.с. лаборатории анализа и технологии отдела разработки лекарственных средств НИИ фармации ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России, г. Москва.

Пятигорская Н.В., д.фарм.н., доцент, профессор кафедры промышленной фармации фармацевтического факультета ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России, г. Москва.