

## ОПТИМИЗАЦИЯ ПРОЦЕССА ЭКСТРАГИРОВАНИЯ ФЛАВОНОИДОВ ИЗ ТРАВЫ МЕЛКОЛЕПЕСТНИКА КАНАДСКОГО

*А. В. Яницкая, И. Ю. Митрофанова, Ю. В. Хейлик*

*Волгоградский государственный медицинский университет,  
кафедра фармакогнозии и ботаники*

Изучено влияние технологических факторов на процесс извлечения флавоноидов из травы мелколепестника канадского. В результате проведенных экспериментов подобраны условия процесса, обеспечивающие максимальный выход флавоноидной фракции из травы мелколепестника канадского ( $1,91 \pm 0,003$  %): степень измельчения сырья — 1 мм, время кипячения — 30 мин, экстрагент — 70%-й спирт этиловый, соотношение сырья и экстрагента — 1:60, однократная экстракция.

*Ключевые слова:* мелколепестник канадский, флавоноиды, рутин, спектрофотометрия.

## UPDATING THE EXTRACTION OF FLAVONOIDS FROM CONYZA CANADENSIS HERB

*A. V. Yanitskaya, I. Yu. Mitrofanova, J. V. Heylik*

We studied the influence of technological factors on the extraction of flavonoids from *Conyza canadensis* herb. Through experimenting we determined the conditions which ensure the maximum flavonoid fractional yield from *Conyza canadensis* herb ( $1,91 \pm 0,003$  %): grinding size — 1 mm, boiling time — 30 minutes, extractant — 70% ethyl alcohol, ratio of raw material and extractive solvent — 1:60, single extraction.

*Key words:* *Conyza canadensis*, flavonoids, rutin, spectrophotometry.

Мелколепестник канадский (*Conyza canadensis* (L.) Crong. (семейство Астровые — *Asteraceae*) — однолетнее травянистое растение с прямостоячим округлым не разветвленным и густо облиственным стеблем высотой до 1 м. Листья линейно-ланцетные. Нижние листья черешковые пильчато-зубчатые, не густо покрытые с обеих сторон крупными жесткими вверх загнутыми волосками. По направлению к верхушке растения листья постепенно становятся меньше, на них исчезают зубцы, а волоски опушения остаются только на краях листьев. Верхние листья сидячие [5]. Соцветие узкометельчатое, образованное мелкими многочисленными корзинками. Цветоложе почти плоское. Краевые цветки пестичные, язычковые, многочисленные, расположены в несколько рядов. Внутренние цветки бледно-желтые обоеполые трубчатые цилиндрические, опушенные в верхней части короткими волосками. Плод — семянка с хохолком [6].

Родина мелколепестника канадского — восточные районы Северной Америки. В России мелколепестник канадский широко распространен на всей Европейской части, на Кавказе, в Западной и Восточной Сибири, на Дальнем Востоке. Растет по берегам рек и озер, полям, сорным местам, на песчаной почве, в садах и на огородах как сорное растение [5].

Известно, что в траве указанного растения содержатся различные химические компоненты, такие как флавоноиды, фенольные соединения, дубильные вещества, фенольные кислоты, кумарины, сапонины, витамины, органические кислоты и другие компоненты [8]. Они и обуславливают его разнообразную биологическую активность. Однако терапевтическую ценность сырья мелколепестника канадского и препаратов на его основе детермини-

рует комплекс фенольных соединений, среди которых первостепенную роль играют флавоноиды [6, 10].

Растение обладает противовоспалительным, вяжущим и кровоостанавливающим действием. В Америке препараты мелколепестника канадского используются главным образом как средство от диареи. В немецкой народной медицине водный настой травы мелколепестника и спиртовую настойку в виде капель употребляют как кровоостанавливающее средство при легочных, кишечных, носовых, зубных, геморроидальных, родовых и менструальных кровотечениях [8]. На Украине на его основе выпускаются препараты эрикан и канизан, которые назначают при энтерите, колите, энтероколите и других заболеваниях желудочно-кишечного тракта, сопровождающихся поносами [4]. В корейской медицине из корней мелколепестника канадского готовят отвар, настойку, обладающие анальгезирующим, жаропонижающим, диуретическим действиями и применяющиеся при радикулитах, артритах, подагре, невралгиях. Масло мелколепестника, дистиллированное из листьев, используется в некоторых штатах США как диуретик, тонизирующее и вяжущее средство [8].

Однако в России трава мелколепестника канадского не является официальным лекарственным растением и источником лекарственного сырья, что делает его приоритетным для фармакогностического изучения и включения в число официальных лекарственных растений.

Наиболее удобным способом получения биологически активных соединений, в том числе и флавоноидов, из лекарственного растительного сырья является экстракция. В процессе экстракции лекарственного растительного сырья следует учитывать, что данный технологический процесс подвержен воздействию боль-

шого количества разнообразных факторов, которые связаны различными закономерностями [7]. В настоящее время данных о характере влияния условий экстракции на процесс извлечения флавоноидов из растительного сырья недостаточно, сведения по этому вопросу часто отрывочны и противоречивы.

## ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Выявление оптимальных значений технологических факторов, обеспечивающих максимальный выход флавоноидной фракции из травы мелколепестника канадского.

## МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Объектом исследования выступала трава мелколепестника канадского, заготовленная в фазу полного цветения (июнь-июль 2013 г.) от дикорастущих популяций в Городищенском районе Волгоградской области. Все использованные в работе реактивы имели степень чистоты ч.д.а.

В основу количественного определения флавоноидов в сырье положен метод дифференциальной спектрофотометрии, основанный на способности флавоноидов образовывать окрашенные хелатные комплексы со спиртовым раствором алюминия хлорида в среде кислоты хлороводородной разведенной [2, 3].

Для изучения зависимости содержания флавоноидов и полноты их экстракции из сырья получали спиртовые извлечения при следующих различных значениях следующих факторов: степень измельчения, время экстрагирования, кратность экстракции, концентрация экстрагента, соотношение сырье:экстрагент.

Спиртовые извлечения получали методом мацерации по следующей методике: 1,0 г травы, измельченной до размера частиц 1 мм, помещали в колбу со шлифом вместимостью 150 мл, прибавляли 90 мл 70%-го этанола, колбу присоединяли к обратному холодильнику и нагревали на водяной бане в течение 30 мин. Затем колбу охлаждали под струей воды до комнатной температуры и содержимое колбы профильтровывали через бумажный фильтр в мерную колбу вместимостью 100 мл. Объем фильтрата доводили до метки 96%-м спиртом [2, 3]. При этом в каждой серии опытов меняли значения только одного из факторов, оставляя неизменными значения других.

Полученное спиртовое извлечение (5 мл) помещали в колбу на 25 мл, прибавляли 5 мл 5%-го спиртового раствора алюминия хлорида и 2—3 капли разведенной кислоты хлороводородной. Объем смеси доводили до метки 96%-м спиртом этиловым. Время прохождения реакции комплексообразования в защищенном от света месте 45 мин [2, 9]. Для приготовления раствора сравнения в колбу вместимостью 25 мл помещали 5 мл спиртового извлечения, 2—3 капли разведенной кислоты хлороводородной и доводили объем до метки 96%-м этанолом.

Количественное содержание суммы флавоноидов определяли в пересчете на рутин, если максимум по-

глощения спиртовых извлечений был близок к спектральным характеристикам указанного флавоноидов и располагался в области 408—420 нм. С целью определения содержания суммы флавоноидов использовали удельный показатель поглощения комплекса раствора ГСО рутин с алюминия хлоридом, который согласно литературным данным, составляет 191,0 [2]. На этом основании в формулу расчета включено теоретическое значение  $E_{1\%1\text{см}}^{1\%} = 191$ .

В некоторых из проведенных опытов максимум поглощения спиртовых извлечений располагался в области 421—435 нм и был близок к спектральным характеристикам другого флавоноидов — кверцетина. В таких случаях в расчетах использовали удельный показатель поглощения комплекса раствора ГСО кверцетина с алюминия хлоридом, равный 778 [2].

Регистрацию ультрафиолетовых спектров и измерение оптической плотности продуктов взаимодействия спиртовых извлечений из сырья мелколепестника канадского с 5%-м спиртовым раствором алюминия хлорида в среде кислоты хлороводородной разведенной проводили с помощью двухлучевого спектрофотометра UV1800 («Shimadzu», Япония) в кювете с толщиной поглощающего слоя 10 мм. Диапазон сканирования находился в пределах 200—800 нм, ширина щели — не более 1,1 нм, режим «поглощение», скорость сканирования — медленная.

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин (или кверцетин) вели по формуле:

$$E = \frac{A_x \cdot W_1 \cdot W_2}{E_{1\%1\text{см}} \cdot m \cdot V_a}$$

где  $A_x$  — оптическая плотность исследуемого раствора;

$W_1, W_2$  — разведения, мл;

$E_{1\%1\text{см}}$  — ГСО рутин с алюминия хлоридом при  $\lambda_{\text{max}} = 410$  нм (191);

(в случае пересчета на кверцетин при  $\lambda_{\text{max}} = 430$  нм (778));

$m$  — масса навески исследуемого сырья, г;

$V_a$  — объем аликвоты, мл.

Статистическая обработка результатов химического эксперимента проводилась согласно ОФС 42-0111-09 «Статистическая обработка результатов химического эксперимента» и включала проверку однородности выборки, с последующим вычислением базовых статистических показателей, характеризующих вариационные ряды, с использованием пакета программ Statistica 6.0 (StatSoft, США) и Excel 2000 (MS Office 2000, США).

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Проверку однородности выборки и идентификацию вариант, отягощенных грубыми ошибками, осуществляли исходя из размаха варьирования. Рассчитанные значения контрольного критерия (Q) не превышали

соответствующие табличные ( $Q_{\text{табл}} = 95\%$ ) с доверительной вероятностью  $P = 95\%$ . Следовательно, ни одна из вариантов не отягощена грубой ошибкой, то есть выборка считалась однородной и статистические ха-

рактеристики методики, соответственно, были признаны достоверными.

Результаты проведенного исследования представлены в табл.

### Зависимость полноты извлечения суммы флавоноидов из травы мелколепестника канадского от условий экстракции

Параметры экстракции	Значение параметра	Содержание суммы флавоноидов ( $X_{\text{ср}}$ ), %	Метрологические характеристики
Размер частиц сырья, мм	$\leq 1$	$1,250 \pm 0,001$	$S = 0,001$ $S^2 = 0,00001$ $\varepsilon, \% (\text{ср.}) = 0,089$
	$\leq 2$	$1,020 \pm 0,003$	$S = 0,003$ $S^2 = 0,00001$ $\varepsilon, \% (\text{ср.}) = 0,315$
	$\leq 3$	$0,982 \pm 0,001$	$S = 0,001$ $S^2 = 0,00001$ $\varepsilon, \% (\text{ср.}) = 0,144$
	$\leq 5$	$0,938 \pm 0,002$	$S = 0,002$ $S^2 = 0,00005$ $\varepsilon, \% (\text{ср.}) = 0,261$
Время экстракции, мин	15	$0,998 \pm 0,003$	$S = 0,001$ $S^2 = 0,00001$ $\varepsilon, \% (\text{ср.}) = 0,322$
	30	$1,25 \pm 0,001$	$S = 0,001$ $S^2 = 0,00001$ $\varepsilon, \% (\text{ср.}) = 0,089$
	45*	$0,430 \pm 0,001$	$S = 0,001$ $S^2 = 0,00001$ $\varepsilon, \% (\text{ср.}) = 0,235$
	60*	$0,496 \pm 0,002$	$S = 0,005$ $S^2 = 0,00001$ $\varepsilon, \% (\text{ср.}) = 0,113$
	90*	$0,626 \pm 0,001$	$S = 0,003$ $S^2 = 0,00001$ $\varepsilon, \% (\text{ср.}) = 0,441$
Кратность экстракции	1	$1,250 \pm 0,001$	$S = 0,001$ $S^2 = 0,00001$ $\varepsilon, \% (\text{ср.}) = 0,089$
	2	$0,724 \pm 0,001$	$S = 0,003$ $S^2 = 0,00001$ $\varepsilon, \% (\text{ср.}) = 0,438$
	3	$1,107 \pm 0,003$	$S = 0,002$ $S^2 = 0,00001$ $\varepsilon, \% (\text{ср.}) = 0,157$
Концентрация экстрагента (спирта этилового), %	40	$0,662 \pm 0,001$	$S = 0,005$ $S^2 = 0,00002$ $\varepsilon, \% (\text{ср.}) = 0,885$
	50	$0,789 \pm 0,002$	$S = 0,002$ $S^2 = 0,00001$ $\varepsilon, \% (\text{ср.}) = 0,311$
	60	$0,980 \pm 0,002$	$S = 0,002$ $S^2 = 0,00001$ $\varepsilon, \% (\text{ср.}) = 0,231$
	70	$1,250 \pm 0,001$	$S = 0,001$ $S^2 = 0,00001$ $\varepsilon, \% (\text{ср.}) = 0,089$

Параметры экстракции	Значение параметра	Содержание суммы флавоноидов ( $X_{cp}$ ), %	Метрологические характеристики
	80	$1,053 \pm 0,001$	$S = 0,002$ $S^2 = 0,00001$ $\varepsilon, \% (cp.) = 0,196$
	95	$1,010 \pm 0,002$	$S = 0,001$ $S^2 = 0,00001$ $\varepsilon, \% (cp.) = 0,167$
Экстракция с последовательной сменой этанола 96%-й, 70%-й и 40%-й концентрации		$0,808 \pm 0,001$	$S = 0,002$ $S^2 = 0,0004$ $\varepsilon, \% (cp.) = 0,256$
Соотношение сырья и экстрагента (модуль экстракции)	*1:30	$0,180 \pm 0,001$	$S = 0,003$ $S^2 = 0,00002$ $\varepsilon, \% (cp.) = 0,092$
	*1:40	$0,270 \pm 0,001$	$S = 0,001$ $S^2 = 0,0001$ $\varepsilon, \% (cp.) = 0,338$
	1:50	$1,237 \pm 0,001$	$S = 0,002$ $S^2 = 0,00001$ $\varepsilon, \% (cp.) = 0,13$
	1:60	$1,910 \pm 0,003$	$S = 0,005$ $S^2 = 0,00001$ $\varepsilon, \% (cp.) = 0,289$
	1:100	$1,250 \pm 0,001$	$S = 0,001$ $S^2 = 0,00001$ $\varepsilon, \% (cp.) = 0,089$

\*Пересчет суммы флавоноидов на кверцетин.

В качестве оптимального экстрагента, наиболее полно извлекающего флавоноидную фракцию, был выбран 70%-й спирт этиловый. Экстракция с последовательной сменой этанола не дала высокого выхода флавоноидов и поэтому была признана нецелесообразной.

С увеличением степени измельчения сырья выход флавоноидов увеличивается. Так, максимальный выход данной группы соединений ( $1,25 \pm 0,001$ ) % отмечался при измельчении сырья до размеров частиц 1 мм, которое и было принято как оптимальное.

Установлено, что с увеличением времени экстракции выход флавоноидов увеличивается, достигая максимального значения ( $1,25 \pm 0,001$ ) % (время кипячения 30 мин). Дальнейшее нагревание сопровождается гидролизом рутина с образованием кверцетина и соотношение рутин:кверцетин уменьшается, при этом наблюдается смещение максимума поглощения от 415 до 424 нм с небольшим изменением оптической плотности извлечений, характеризующихся более высоким содержанием кверцетина [максимум — ( $0,626 \pm 0,001$ ) %, время кипячения 90 мин].

Изучение влияния на качество извлечений модуля экстракции показало, что с уменьшением соотношения сырье:экстрагент увеличивается выход флавоноидов, достигая своего максимума при значении 1:60 — ( $1,91 \pm 0,003$ ) %. При соотношении 1:100 наблюдается более низкий выход флавоноидной фракции

( $1,25 \pm 0,001$ ) %. Было замечено, что при уменьшении модуля экстракции в извлечение переходит преимущественно кверцетин. Однако его содержание в экстракте незначительно, что не позволит использовать полученные извлечения в практических целях. Поэтому как оптимальное нами было выбрано соотношение сырье:экстрагент 1:60, при котором в извлечение переходит, в основном, рутин.

Также было выявлено, что однократная экстракция характеризуется более высоким выходом флавоноидов ( $1,25 \pm 0,001$ ) % по сравнению с двух- и трехкратной, поэтому наиболее экономически и технологически целесообразно проводить экстрагирование исследуемого сырья в режиме однократной экстракции.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Государственная фармакопея СССР. — Вып. 2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье / МЗ СССР. — 11-е изд. — М.: Медицина, 1990. — 400 с.
2. Лесовая Ж. С., Писарев Д. И., Новиков О. О. // Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: Медицина и фармация. — 2010. — № 12/2. — С. 150—154.
3. Минина С. А. Химия и технология фитопрепаратов: учебное пособие для вузов / С. А. Минина, И. Е. Каухова — М.: ГЭОТАР-МЕД, 2004. — 548 с.
4. Обеспечение фармацевтического рынка Украины новыми препаратами для лечения заболеваний желу-

дочно-кишечного тракта / Н. Ф. Маслова и др. // Провизор. — 1998. — № 18. — С. 45—48.

5. Растительные ресурсы СССР: цветковые растения, их химический состав, использование; Семейство Asteraceae (Compositae). — СПб.: Наука, 1993. — 352 с.

6. Рыбаченко А. И. // Фармаком. — 2001. — № 1. — С. 29—32.

7. Федосеева Л. М. // Химия растительного сырья. — 2000. — № 1. — С. 117—119.

8. Флора Европейской части СССР: Asteraceae (Compositae) / Сост. Н. Н. Цвелев — СПб.: Наука, 1994. — Т. 7. — 317 с.

9. Яницкая А. В., Митрофанова И. Ю. // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. — 2013. — № 3. — С. 47—50.

10. Tzakou O., Vagias C., Gani A., Yannitsaros A. // Flavour and Fragrance Journal. — 2005. — Vol. 20. — № 4. — P. 425—428.

## Контактная информация

**Митрофанова Ирина Юрьевна** — старший преподаватель кафедры фармакогнозии и ботаники, Волгоградский государственный медицинский университет, e-mail: I.U.Mitrofanova@yandex.ru

УДК 616.718-089.23

## ОТНОШЕНИЕ ВРАЧЕЙ ТРАВМАТОЛОГОВ-ОРТОПЕДОВ К ПРОБЛЕМАМ ПАЦИЕНТОВ С ЭСТЕТИЧЕСКИМИ ДЕФОРМАЦИЯМИ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ

*М. А. Чернявский, О. Г. Тетерин, Д. А. Маланин*

*Волгоградский государственный медицинский университет,  
кафедра травматологии, ортопедии и ВПХ с курсом травматологии и ортопедии ФУВ*

В результате проведенного в Волгограде медико-социологического исследования установлено, что большинство травматологов-ортопедов расценивают эстетические деформации нижних конечностей как болезнь, основной частью которой являются психосоциальные реакции пациента, и одно лишь оперативное улучшение формы ног является недостаточным условием для реабилитации данной категории пациентов.

*Ключевые слова:* коррекция малых деформаций голеней, ортопедическая косметология, эстетическая ортопедия, отношение врачей.

## ATTITUDE OF ORTHOPAEDISTS TO THE CONCERNS OF PATIENTS WITH AESTHETIC DEFORMITY OF THE LOWER EXTREMITIES

*M. A. Chernyavsky, O. G. Teterin, D. A. Malanin*

A medico- sociological study carried out at the Volgograd State Medical University established that most orthopaedists regard aesthetic deformity of the lower extremities as a condition in which patients present with psychosocial problems. Thus, mere surgical correction of the shape of the legs is not sufficient to rehabilitate such patients.

*Key words:* correction of minor shin deformity, orthopaedic cosmetology, aesthetic orthopedics, physicians' attitudes.

Важнейшей социально одобряемой формой телесной практики в последние десятилетия становится эстетическая хирургия [2, 3, 4, 9]. В частности, наблюдается рост числа пациентов, желающих улучшить форму ног. Наиболее распространенным дефектом у них является варусная деформация голеней (ВДГ) [1, 8]. Косметические недостатки данных пациентов трудно считать патологией в узко «ортопедическом» смысле этого слова и квалифицировать их как заболевание [1, 6]. Однако наличие даже легкой кривизны ног для многих лиц является причиной стойкого социально-психологического дискомфорта. Социальная приемлемость индивидуума в наше время в меньшей мере зависит от его социальных корней, чем от способности отвечать концепции современного имиджа. Эстетическое хирургическое вмешательство позволяет пациенту принять то, каким он себя пред-

ставляет в своих мыслях и хочет, чтобы таковым его представляли и окружающие [7, 9]. Основным критерием, по которому оценивают результаты косметической операции, является субъективное мнение пациента: доволен он или нет. Это приводит к повышению ответственности врача за информированность больного и комплексные результаты проведенного вмешательства. Существенно возрастает роль личного контакта между пациентом и хирургом. На результаты данного взаимодействия существенное влияние может оказать отношение специалиста, оказывающего медицинскую помощь, к проблемам своих пациентов.

## ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Изучить отношение врачей травматологов-ортопедов к проблемам пациентов с эстетическими деформациями нижних конечностей.