

УДК 615.322

РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ СУХОГО ЭКСТРАКТА МОРИНДЫ ЦИТРУСОЛИСТНОЙ КОРНЕЙ

Р.К. Агбади¹, И.Е. Каухова^{1*}, В.А. Вайнштейн¹, С.А. Минина¹, М.В. Яковлева², М.А. Власенко², А.У. Кутлушина¹

Резюме. Целью исследования является разработка технологии сухого экстракта из корней моринды цитрусолистной как перспективной фитосубстанции для получения лекарственных средств. Изучено влияние факторов на процесс экстрагирования действующих веществ из корней моринды цитрусолистной. Разработаны режимы экстрагирования: время экстрагирования – 60 мин, гидромодуль – 1:30, экстрагент – 70% этиловый спирт. Разработана технология получения сухого экстракта. Предложена технологическая схема производства сухого экстракта. Установлены параметры стандартизации сухого экстракта моринды цитрусолистной корней.

Ключевые слова: корни моринды цитрусолистной, сухой экстракт, режимы экстрагирования, параметры стандартизации.

DEVELOPMENT OF TECHNOLOGICAL PROCESSES OF THE DRY EXTRACTS OF MORINDA CITRIFOLIA ROOTS

R.K. Agbadi¹, I.E. Kauhova^{1*}, V.A. Vanshtein¹, S.A. Minina¹, M.V. Yakovleva², M.A. Vlasenko², A.Y. Kutlushina¹

Abstract. The aim of this study is to develop the technology of dry extracts from the roots of *Morinda citrifolia* as a prospective phytoactive pharmaceutical ingredient (API) for obtaining medicinal products. Factors influencing the extraction process of active ingredients from the roots of *Morinda citrifolia* were investigated. The modes of extraction were formulated: extraction time of 60 minutes, the hydro-module was established to be 1:30, the extractant – 70% ethyl alcohol. The study developed a technological process of obtaining dry extracts. The technological scheme of production of dry extracts was proffered. The parameters of standardization of the dry extract of *Morinda citrifolia* roots were established.

Keywords: the roots of *Morinda citrifolia*, dry extract, extraction, standardization.

1 – ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургская государственная химико-фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 197376, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Проф. Попова, 14, лит. А

2 – ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова» МЧС России, 194044, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, 4/2

1 – Saint-Petersburg State Chemical-Pharmaceutical Academy, 14A, Prof. Popov str., Saint-Petersburg, 197376, Russia

2 – Federal State Budgetary Institute «A.M. Nikiforov Russian Centre of Emergency and Radiation Medicine» of the Ministry for Civil Defense, Emergencies and Elimination of Consequences of Natural Disasters of Russian Federation, 4/2, Ak. Lebedev str., Saint-Petersburg, 194044, Russia

* адресат для переписки:

E-mail: irina.kauhova@pharminnotech.com

Тел.: 8 (911) 917 06 55

ВВЕДЕНИЕ

С каждым годом растение моринда цитрусолистная (*Morinda Citrifolia* L.) все больше привлекает внимание специалистов в области получения и применения фитопрепаратов. Это объясняется широким спектром фармакологического действия растения. Моринда цитрусолистная, известная также как нони, обладает антибактериальным, противовирусным, противогрибковым, противоопухолевым, противоглистным, болеутоляющим, гипотензивным, противовоспалительным и иммуномодулирующим действиями [1]. Моринда цитрусолистная распространена на Таити и Гавайях, встречается также в Малайзии, Индонезии, Тайване, Индии, Африке, Австралии [2, 3].

На современном фармацевтическом рынке из сырья моринды выпускается ряд БАД к пище, в основном это сок плодов нони, а также гранулы порошка смеси листьев *Morinda citrifolia* и *Morinda*

officinalis в капсулах, гранулы измельченной смеси плодов, корней и листьев *Morinda citrifolia* в капсулах. В настоящее время плоды моринды цитрусолистной включены во Вьетнамскую Фармакопею IV издания в качестве слабительного и мочегонного средства, средства поддержания артериального давления и повышения иммунитета [4].

Ранее в результате проведенной нами сравнительной фитохимической оценки содержания основных групп биологически активных веществ в растении моринда цитрусолистная было установлено, что антрахиноны содержатся только в корнях, дубильные кислоты обнаружены в корнях и листьях, флавоноиды – во всех органах растения, причем наибольшее количество флавоноидов содержалось в корнях [4]. Таким образом, моринда цитрусолистная, в частности корни, является перспективным сырьем для получения лекарственных препаратов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования служили высушенные корни растения моринда цитрусолистная, собранные на территории Ганы.

Экстракцию сырья проводили методом мацерации следующим образом: навеску растительного сырья, измельченного до размера частиц 1,0–1,5 мм, загружали в экстрактор, заливали экстрагентом – спиртом 70%. Время экстракции и соотношение сырья и экстрагента (гидро модуль) варьировалось.

Качественный анализ флавоноидов в сухом экстракте моринды цитрусолистной корней проводили методом тонкослойной хроматографии в системе бутан-1-ол – ледяная уксусная кислота – вода (БУВ) в соотношении 4:1:2. На линию старта хроматографической пластинки марки Sorbfil ПТСХ-П-А-УФ (Россия) размером 10×10 см наносили в виде пятен спиртовый раствор сухого экстракта и растворы стандартных образцов (СО) рутина [Rutin hydrate R5143 SIGMA, ≥94% (HPLC)] и апегинина [Apigenin 1040683 United States Pharmacopeia (USP) Reference Standard]. Пластинку с нанесенными пробами высушивали на воздухе и помещали в вертикальную камеру для хроматографирования, предварительно насыщенную в течение 30 мин смесью растворителей бутан-1-ол – ледяная уксусная кислота – вода в соотношении 4:1:2, и хроматографировали восходящим потоком. После прохождения фронтом растворителя заданного участка хроматограмму вынимали из камеры и просматривали в УФ-свете до и после обработки 2% раствором алюминия хлорида в спирте этиловом 95%.

С целью количественного определения суммы флавоноидов в сухом экстракте около 0,15 г (точная навеска) экстракта помещали в мерную колбу вместимостью 50 мл, прибавляли 30 мл спирта 70%, перемешивали в течение 40 мин, доводили объем 70% спиртом до метки, перемешивали и фильтровали, отбрасывая первые 10 мл фильтрата (раствор А). Испытуемый раствор готовили следующим образом: переносили в мерную колбу вместимостью 25 мл 1 мл раствора А, добавляли 2 мл 2% спиртового раствора алюминия хлорида, доводили объем раствора спиртом этиловым до метки и перемешивали (раствор Б). Измеряли оптическую плотность раствора Б на спектрофотометре UV-mini-1240 (Shimadzu, Япония) при длине волны 415 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения использовали раствор, состоящий из 1 мл раствора А, 1 капли разведенной уксусной кислоты, и доводили спиртом до метки в колбе вместимостью 25 мл.

Параллельно проводили измерение оптической плотности раствора рабочего стандартного образца (PCO) рутина.

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин в сухом экстракте (X) рассчитывали по формуле

$$X(\%) = \frac{D \cdot m_0 \cdot 50 \cdot 25 \cdot 100 \cdot 100}{D_0 \cdot m_1 \cdot 100 \cdot 25 \cdot (100 - W)},$$

где D – оптическая плотность испытуемого раствора; D₀ – оптическая плотность раствора PCO рутина; m₀ – масса PCO рутина, г; m₁ – масса сухого экстракта, г; W – потеря в массе при высушивании сухого экстракта, %

Примечание 1. Приготовление раствора PCO рутина. 0,05 г (точная навеска) СО рутина, предварительно высушенного при температуре 130–135 °С, растворяли в 85 мл 96% этилового спирта в колбе вместимостью 100 мл при нагревании на водяной бане, охлаждали до комнатной температуры, доводили объем раствора до метки тем же спиртом и тщательно перемешивали. Переносили 10 мл раствора в мерную колбу вместимостью 25 мл и добавляли 1 мл 2% раствора алюминия хлорида в спирте 96% и 1 каплю 2% раствора уксусной кислоты, доводили объем раствора до метки тем же спиртом.

Примечание 2. Приготовление алюминия хлорида спиртового раствора 2%. 2 г алюминия хлорида гексагидрата растворяли в 40 мл спирта 96% в мерной колбе вместимостью 100 мл и доводили объем раствора тем же спиртом до метки.

Анализ элементного состава сухого экстракта проведен с помощью метода масс-спектропии с индуктивно связанной плазмой (ИСП-МС) Определение содержания химических элементов в сухом экстракте осуществляли в соответствии с методическими указаниями [6]. Для проведения исследований на приборе ICP-MS X Series II фирмы Termo Elemental (США) использовали по 3 пробы образца массой около 0,1 г (точная навеска). Представленные данные обработаны статистически и выражены как средние арифметические со стандартным отклонением (SD). Для оценки различий между экспериментальными данными использовали критерий Стьюдента. Различия считали достоверными при уровне вероятности P ≤ 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Разработка технологии экстрагирования моринды цитрусолистной корней

С целью определения оптимального режима экстракции корней моринды цитрусолистной исследовано влияние таких основных технологических факторов, как продолжительность настаивания, гидро модуль. Результаты исследования влияния гидро модуля (соотношение сырья и экстрагента 1:10, 1:20, 1:30, 1:40, 1:50) и времени экстракции (20, 30, 60, 90, 120 мин) на выход экстрактивных веществ из сырья приведены в таблице 1 и на рисунке 1. Ранее было показано, что наилучшей экстрагирующей способностью обладает 70% спиртовый экстрагент [5].

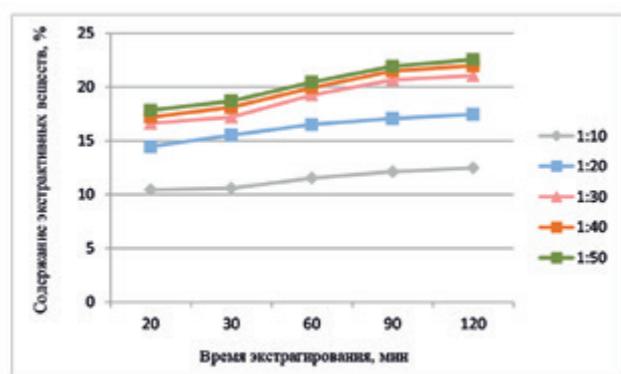


Рисунок 1. Кинетика содержания экстрактивных веществ в вытяжке в зависимости от времени и гидромодуля

Исследования показали, что количество извлеченных экстрактивных веществ прямо пропорционально времени экстрагирования. Однако после 90 мин экстракции переход их в вытяжку незначителен, не более 2,04%.

Поскольку разность концентрации является движущей силой диффузионного процесса, то гидромодуль (соотношение сырья и экстрагента) значительно влияет на выход экстрактивных веществ. Результаты свидетельствуют о том, что использование соотношения сырья к экстрагенту 1:30 обеспечивает высокий выход экстрактивных веществ, дальнейшее увеличение гидромодуля неэффективно.

Разработка технологии и стандартизация сухого экстракта моринды цитрусолистной корней

Сухой экстракт получали по следующей технологической схеме. Расчетное количество сырья, измельченного до размера частиц 1,0–1,5 мм, загружали в экстрактор, заливали экстрагентом – спиртом 70% в соотношении сырьё : экстрагент 1:30 и экстрагировали в течение 90 мин. Полученная в разработанных ус-

ловиях вытяжка из корней моринды цитрусолистной отстаивалась в течение 24 ч при температуре не выше 8 °С для удаления балластных веществ, отфильтровывалась и направлялась на стадию сгущения на роторно-плёночном испарителе до густой консистенции. Сушку экстракта проводили в вакуум-сушильном шкафу при температуре 60–65 °С при разряжении до остаточного влагосодержания в экстракте не более 5%. Сухой экстракт измельчали до размера частиц 0,5–1,0 мм

В разработанных условиях наработаны 5 серий сухого экстракта моринды цитрусолистной корней и проведена их стандартизация в соответствии с требованиями ГФ XIII [7]. Качественный анализ БАВ в сухом экстракте проводили методом ТСХ. При разделении раствора сухого экстракта методом тонкослойной хроматографии в системе бутан-1-ол – ледяная уксусная кислота – вода очищенная (4:1:2) образуются 2 пятна с $R_f=0,64$, $R_f=0,90$. В результате сравнения полученных для пятен значений R_f и их окраски с таковыми для растворов сравнения можно говорить о наличии в экстракте флавоноидов рутин и атегинина.

Методом УФ-спектрофотометрии установлено содержание в сухом экстракте суммы флавоноидов в пересчете на рутин – $12,71±0,37$.

В сухом экстракте определен элементный состав. В процессе исследований определены эссенциальные элементы (жизненно важные для человека) – К, Са, Р, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Na, Se, Zn и потенциально токсичные – Al, Ва, Cd, Pb, As (таблица 2).

Общее содержание тяжелых металлов в сухом экстракте составило 0,00417 мг/г, что удовлетворяет нормам содержания тяжелых металлов и мышьяка в лекарственных растительных препаратах в соответствии с требованиями ГФ XIII [7].

Установленные показатели качества сухого экстракта моринды цитрусолистной корней приведены в таблице 3.

Таблица 1.

Влияние гидромодуля и времени на количество экстрактивных веществ (%) в извлечении корней моринды цитрусолистной

Гидромодуль \ Время экстракции, мин	Время экстракции, мин				
	20	30	60	90	120
1:10	10,44±0,53	10,59±0,34	11,53±0,52	12,13±0,37	12,48±0,34
1:20	14,46±0,32	15,53±0,50	16,51±0,46	17,07±0,16	17,46±0,32
1:30	16,63±0,55	17,20±0,15	19,25±0,41	20,67±0,63	21,05±0,63
1:40	17,2±0,16	18,11±0,25	19,93±0,45	21,49±0,49	21,97±0,53
1:50	17,73±0,45	18,69±0,48	20,16±0,41	21,86±0,52	22,64±0,29

Таблица 2.

Результаты определения элементного состава сухого экстракта моринды цитрусолистной корней

№ п/п	Образец Элементы	Сухой экстракт	Единицы измерения	№ п/п	Образец Элементы	Сухой экстракт	Единицы измерения
1	2	3	4	1	2	3	4
1	Бериллий	0,001	мкг/г	17	Цинк	648,511	мкг/г
2	Бор	10,077	мкг/г	18	Германий	0,194	мкг/г
3	Натрий	13370,150	мкг/г	19	Мышьяк	0,408	мкг/г
4	Магний	9375,205	мкг/г	20	Селен	0,105	мкг/г
5	Алюминий	179,425	мкг/г	21	Рубидий	45,178	мкг/г
6	Кремний	436,630	мкг/г	22	Стронций	11,597	мкг/г
7	Фосфор	7274,841	мкг/г	23	Молибден	2,565	мкг/г
8	Калий	60365,826	мкг/г	25	Серебро	<0.000	мкг/г
9	Кальций	2717,996	мкг/г	26	Кадмий	0,616	мкг/г
10	Ванадий	0,355	мкг/г	27	Олово	4,602	мкг/г
11	Хром	60,329	мкг/г	28	Йод	1,357	мкг/г
12	Марганец	100,334	мкг/г	29	Цезий	2,208	мкг/г
13	Железо	296,491	мкг/г	30	Барий	0,007	мкг/г
14	Кобальт	0,284	мкг/г	31	Ртуть	0,042	мкг/г
15	Никель	3,265	мкг/г	32	Талий	45,991	мкг/г
16	Медь	0,000	мкг/г	33	Свинец	3,511	мкг/г

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изучен процесс экстрагирования суммы экстрактивных веществ из корней моринды цитрусолистной методом мацерации при разных модулях экстракции. Результаты исследований показали, что оптимальными параметрами получения извлечений из сырья являются: экстрагент – 70%-й этиловый спирт, соотно-

шение сырье : экстрагент – 1:30, продолжительность экстракции – 90 мин. Разработана технология сухого экстракта из корней моринды цитрусолистной. Установлено, что содержание суммы флавоноидов в экстракте должно быть не менее 12,00%.

Проведен анализ элементного состава сухого экстракта из корней моринды цитрусолистной. В процессе исследований были определены эссенциальные элементы (жизненно важные для человека) – К, Са, Р, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Na, Se, Zn и потенциально токсичные – Al, Ba, Cd, Pb, As. При этом общее содержание тяжелых металлов в сухом экстракте удовлетворяет требованиям ГФ XIII.

Предложены показатели качества сухого экстракта моринды цитрусолистной корней, который может являться перспективной фитосубстанцией в технологии лекарственных средств растительного происхождения.

ЛИТЕРАТУРА

1. K. Duduku, N. Rajesh, S. Rosalam. Phytochemical Constituents and Activities of *Morinda citrifolia* L. // Agricultural and Biological Sciences. 2012. P. 141–144.
2. D.R. Singh. *Morinda citrifolia* L. (Noni): A review of the scientific validation for its nutritional and therapeutic properties // Journal of Diabetes and Endocrinology. 2012. V. 3(6). P. 78–85.
3. A. Abbott. The geographic origin of the plants most commonly used for medicine by Hawaiians // J. Ethnopharmacol. 1985. V. 14. P. 213–222.
4. Vietnamese Pharmacopoeia Commission. 4rd ed. 2010.
5. I.E. Kaukhova, R.K. Agbadi, S.K. Minina, A.U. Kutlushina. Roots, herbs and fruits of *Morinda citrifolia* as perspective drug substance in the technology of phytopreparations // Фармация. 2017. Т. 66. № 4. С. 25–27.
6. Л.Г. Подунова и др. Методика определения микроэлементов в диагностируемых биосубстратах атомной спектрометрией с индуктивно связанной аргоновой плазмой. Методические рекомендации (утв. ФЦ ГСЭН 29.01.2003). – М.: ФЦГСЭН МЗ РФ, 2003. 50 с.
7. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIII изд. – М. 2015. URL: <http://www.femb.ru/feml> (дата обращения).

Таблица 3.

Спецификация показателей качества сухого экстракта моринды цитрусолистной корней

Тесты	Методы	Нормы	Эспериментальные значения
Описание	Визуально	Порошок темно-коричневого цвета со специфическим запахом	Порошок темно-коричневого цвета со специфическим запахом
Подлинность флавоноидов	ТСХ ГФ XIII	Не менее двух пятен с $R_f=0,64$ и $R_f=0,90$, соответствующих флавоноидам	Не менее двух пятен с $R_f=0,64$ и $R_f=0,90$, соответствующих флавоноидам
Количественное содержание флавоноидов, %	Спектрофотометрический ГФ XIII	Не менее 12	12,71±0,37
Потеря в массе при высушивании, %	ГФ XIII	Не более 5,0	1,81±0,47
Тяжелые металлы, %	ГФ XIII	Не более 0,01	0,00417
Упаковка	По 5 г в герметичную полимерную тару с широким горлышком на 15 мл		
Хранение	В сухом, защищенном от света месте при температуре не выше 25 °С		