Protunkevych O. O., Prysiazhniuk K. O., Rakipov I. M. ADVANTAGES OF CIRCULATION EXTRACTION FOR ISOLATION OF FLAVONOIDS FROM *FLORES SOPHORAE JAPONICAE*. Актуальні проблеми транспортної медицини / Actual problems of transport medicine / 2019;3(57):108-118. ISSN 1818-9385
DOI http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.3465426
http://aptm.org.ua

УДК 66.048.5: 577.164.3: 661.12

ADVANTAGES OF CIRCULATION EXTRACTION FOR ISOLATION OF FLAVONOIDS FROM *FLORES SOPHORAE JAPONICAE*

Protunkevych O. O., Prysiazhniuk K. O., Rakipov I. M.

Odessa National Polytechnic University
Odessa, Shevchenko ave., 1, 65044
E-mail: o.o.protunkevych@opu.ua

Summary

Phyto-preparations based on extracts from plant raw materials have an important place in modern pharmacy. Medicinal plant Japanese pagoda tree (*Sophora japonica*), family *Fabaceae*, contains a rutin, which is a bioactive compound with pronounced antioxidant activity. Rutin drugs have capillary strengthening, anti-inflammatory and anti-edema effects. The raw material base expansion for rutin production is a priority of modern research in the pharmacognosy. It is of interest in-depth study of flavonoids content in *Sophora japonica* various organs and modern methods optimization of rutin extraction from raw materials. The study aim: circulation extraction optimal conditions determination for a flavonoids complex from *Flores Sophorae japonicae*, optimal concentration determination of ethyl alcohol for rutin isolation, determination of conditions for flavonoids recrystallization, and also the target product qualitative analysis. Dry *Flores Sophorae japonicae* crushed to 3-5 mm particles were used for the studies. The rutin was isolated by circulation extraction in a Soxhlet apparatus. 50 %, 70 % and 96 % ethyl alcohol were used to determine the optimum concentration of the extractant. The dynamics of the rutin release at different concentrations of the extractant were investigated. In the experimental extracts, the quantitative content of flavonoids (in terms of rutin) was evaluated by spectrophotometry by the level of aluminum chloride complexation. The extracts were concentrated on a rotary evaporator for crystallization of rutin. The flavonoid precipitates were released from the impurities by recrystallization and subjected to qualitative analysis by TLC, differential spectrophotometry, and mass spectroscopy. Ethanol 70 % exhibited the best flavonoid extraction properties, for complete

raw material depletion, the circulation extraction duration was 2 hours 30 minutes. A solvent system of 96 % ethanol-water was used for recrystallization, in the purified flavonoid precipitate the proportion of impurities was about 4 %. In the qualitative analysis, the presence of rutin and quercetin in the experimental sediments was confirmed by TLC, differential spectrophotometry and mass spectrometry. The circulating extraction method is promising to obtain the rutin of *Flores Sophorae japonicae*, it allows to achieve complete depletion of raw materials and the extractant significant savings.

Keywords: japanese pagoda tree flowers, rutin, quercetin, circulating extraction.

ПРЕИМУЩЕСТВА ЦИРКУЛЯЦИОННОЙ ЭКСТРАКЦИИ ДЛЯ ВЫДЕЛЕНИИ ФЛАВОНОИДОВ ИЗ *FLORES SOPHORAE JAPONICAE*

Протункевич О. О., Присяжнюк К. А., Ракипов И. М.

Одесский национальный политехнический университет

Одесса, проспект Шевченко, 1, 65044

E-mail: o.o.protunkevych@opu.ua

Резюме

Фитопрепараты на основе экстрактов из растительного сырья занимают важное место в современной фармации. Лекарственное растение софора японская (*Sophora japonica*), род. бобовые (*Fabaceae*) содержит рутин — биоактивное вещество с выраженной антиоксидантной активностью. Препараты на основе рутина проявляют капиляроукрепляющее, противовоспалительное действие. Расширение сырьевой базы для получения рутина является приоритетной задачей современных исследований в фармакогнозии. Представляет интерес углубленное исследование содержания флавоноидов в различных органов *Sophora japonica* и оптимизация современных методов экстракции рутина из сырья. Цель исследования: определение оптимальных условий циркуляционной экстракции комплекса флавоноидов из *Flores Sophorae japonicae*, выбор концентрации этилового спирта для выделения рутина, подбор растворителя для перекристаллизации флавоноидов и качественный анализ целевого продукта. Для исследований использовали сухие *Flores Sophorae japonicae* измельченные до частиц 3-5 мм. Рутин выделяли методом циркуляционной экстракции в аппарате Сокслета. Для установления оптимальной концентрации экстрагента для экстракции применяли 50 %, 70 % и 96 % этиловый спирт. Исследовали динамику выхода рутина при различных концентрациях экстрагента. В

полученных экстрактах методом спектрофотометрии по степени комплексообразования с алюминия хлоридом оценивали количественное содержание флавоноидов (в пересчете на рутин). Для кристаллизации рутина экстракты концентрировали на роторном испарителе. Осадки флавоноидов освобождали от сопутствующих примесей перекристаллизацией и подвергали качественному анализу методами ТСХ, дифференциальной спектрофотометрии и масс-спектроскопии. 70 % этанол проявил наилучшую способность выделять флавоноиды, для полного истощения сырья продолжительность циркуляционной экстракции составляла 2 часа 30 минут. Для перекристаллизации применяли систему растворителей: 96 % этанол-вода, в очищенном целевом продукте доля примесей составляла около 4 %. При качественном анализе наличие в исследуемых образцах рутина и кверцетина подтверждено методами ТСХ, дифференциальной спектрофотометрии и масс-спектрометрии. Метод циркуляционной экстракции является перспективным для получения рутина из *Flores Sophorae japonicae*, так как позволяет достичь полного истощения сырья при значительной экономии экстрагента.

Ключевые слова: *Flores Sophorae japonicae*, рутин, кверцетин, циркуляционная экстракция

ПЕРЕВАГИ ЦІРКУЛЯЦІЙНОЇ ЕКСТРАКЦІЇ ДЛЯ ВИДІЛЕННЯ ФЛАВОНОЇДІВ З *FLORES SOPHORAE JAPONICAE*

Протункевич О. О., Присяжнюк К. О., Ракіпов І. М.

Одеський національний політехнічний університет

Одеса, проспект Шевченко, 1, 65044

E-mail: o.o.protunkevych@opu.ua

Резюме

Фітопрепарати на основі екстрактів з рослинної сировини займають важливе місце в сучасній фармації. Лікарська рослина софора японська (*Sophora japonica),* род. бобові (*Fabaceae*) містить рутин — біоактивну сполуку з вираженою антиоксидантною активністю. Препарати на основі рутину проявляють капілярозміцнюючий, протизапальний протинабряковий ефекти. Розширення сировинної бази для одержання рутину є пріоритетною задачею сучасних досліджень в фармакогнозії, представляє інтерес поглиблене дослідження вмісту флавоноїдів в різних органів *Sophora japonica* та оптимізація сучасних методів екстракції рутину з сировини. Мета дослідження: встановлення оптимальних умов

циркуляційної екстракції комплексу флавоноїдів з *Flores Sophorae japonicae,* встановлення оптимальної концентрації етилового спирту для виділення рутину, визначення умов для перекристалізації флавоноїдів, якісний аналіз цільового продукту. Для досліджень використовували сухі *Flores Sophorae japonicae* подрібнені до частинок 3-5 мм. Рутин виділяли методом циркуляційної екстракції в апараті Сокслета. Для встановлення оптимальної концентрації екстрагента для екстракції застосовували 50 %, 70 % та 96 % етиловий спирт. Досліджували динаміку виходу рутину при різних концентраціях екстрагенту. В дослідних екстрактах методом спектрофотометрії по ступеню комплексоутворення з алюмінію хлоридом оцінювали кількісний вміст флавоноїдів (у перерахунку на рутин). Для кристалізації рутину екстракти концентрували на роторному випаровнику. Осади флавоноїдів звільняли від супутніх домішок перекристалізацією і піддавали якісному аналізу методами ТШХ, диференціальної спектрофотометрії і мас-спектроскопії. 70 % етанол проявив найкращі властивості виділяти флавоноїди, для повного виснаження сировини тривалість циркуляційної екстракції складала 2 години 30 хвилин. Для перекристалізації застосовували система розчинників 96 % етанол-вода, у очищеному осаді флавоноїдів доля домішок складала близько 4 %. При якісному аналізі наявність у дослідних осадах рутину і кверцетину підтверджено методами ТШХ, диференціальної спектрофотометрії та мас-спектрометрії. Метод циркуляційної екстракції є перспективним для одержання рутину з *Flores Sophorae japonicae,* він дозволяє досягнути повного виснаження сировини та значній економії екстрагента.

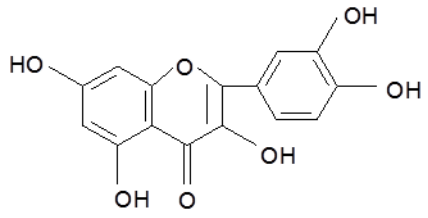
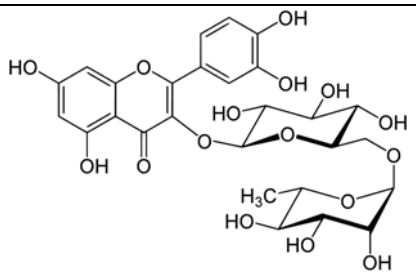
Ключові слова: *Flores Sophorae japonicae*, рутин, кверцетин, циркуляційна екстракція

Актуальність

Лікарські засоби на основі екстрактів з рослинної сировини займають значну долю на фармацевтичному ринку і користаються великим попитом у населення. Софора японська (*Sophora japonica L.*) перспективна лікарська рослина, яка містить цінні біоактивні сполуки з групи флавоноїдів — кверцетин, рутин, кемпферол. Традиційно, джерелом промислового одержання флавоноїдів є бутони (*Alabastrae)* та плоди (*Fructus*) софори японської, вони відрізняються високим вмістом рутину, який може досягати до 30 %. Також, рутин наявний квітках та листках рослини. Рутин є потужним антиоксидантом, фітопрепарати на основі рутину і кверцетину в комплексі з аскорбіновою кислотою посилюють синтез сполучної тканини. Вони широко застосовуються в медицині в якості капілярозміцнюючих, протизапальних, протинабрякових, спазмолітичних і радіопротекторних засобів, не мають токсичного і кумулятивного ефекту. Для розширення сировинної бази отримання рутину

доцільно поглиблене дослідження хімічного складу різних органів *Sophora japonica*, розробка та оптимізація сучасних методів екстракції рутину з сировини.

Найбільш важливі флавоноїди *Sophora japonica* — рутин та кверцетин. Кверцетин (*3,5,7,3',4'-пентаоксіфлавон*) — жовті кристали с т. пл. 316°С, спектр поглинання $\lambda_{макс.}$ 375 ± 1 нм. Він не розчиняється у холодній воді, погано розчинний в гарячій воді (0,35 г в 100 мл), розчинний у етиловому спирті (0,345 г в 100 мл), оцтовій кислоті (4,35 г в 100 мл), розчинах лугів, бутанолі, бутилацетаті.

 кверцетин	 рутин

Рутин (*3-рамноглікозид — 3,5,7,3',4'-пентаоксіфлавон*) — глікозид кверцетину, мало розчинний в холодній воді (0,013 %), краще — в гарячій (0,5 г в 100 мл при 100°С), розчинний у нижчих спиртах [1].

Вміст флавоноїдів не однаковий у різних органах рослини, найвищій вміст рутину знайдено у бутонах (*Alabastrae)* та плодах (*Fructus*) — до 30 %. Встановлено, що спиртовий екстракт з *Flores Sophorae japonicae* містить сумарну концентрацію рутину і кверцетину в 2,5 рази більше, ніж в спиртових екстрактах з листків. Для флавоноїдів немає універсальних способів виділення, вони залежать від виду та особливостей сировини. З *Alabastrae Sophorae japonicae* рутин виділяють специфічним методом дробової трьохкратної мацерації киплячою водою, з *Fructus Sophorae japonicae* — розчинами нижчих спиртів (метанолу та етанолу) [2].

Безумовний інтерес, як джерело флавоноїдів, представляють *Flores Sophorae japonicae*, в них міститься до 20 % рутину, а збір опалих квіток, на відміну від плодів та бутонів, не потребує складних засобів механізації.

Для виділення рутину з *Flores Sophorae japonicae* зазвичай застосовують дробову мацерацію киплячою водою, 70 % етанолом при нагріванні або шляхом настоювання протягом кількох діб при t = 18–20°С [1].

У теперішній час для екстракції флавоноїдів з *Fructus Sophorae japonicae* широко розвивають та вдосконалюють динамічні методи екстракції. Так, запропонований метод виділення рутину ультразвуковою екстракційною системою. При дослідженні впливу безперервного діапазону частот 20-92 кГц на вихід рутина показано, що його найбільш

високий рівень виходу спостерігався при ультразвукової частоті 60 кГц. Потенційне використання ультразвуку для одержання рутину є перспективним для фармацевтичних технологій [3].

Ще одним ефективним сучасним методом можна вважати мікрохвильову екстракцію, яка дозволила одержувати з *Fructus Sophorae japonicae* групу флавоноїдів, а саме: рутин, кверцетин, кемпферол та ін. В якості екстрагенту найвищі властивості виявив 100 % метанол у співвідношенні сировина: екстрагент — 1: 50; мікрохвильова потужність складала 287 Вт при тривалості вилучення 80 с. Методом ВЕРХ було підтверджено присутність досліджуваних флавоноїдів у виділеному комплексі [4].

Застосовує уваги екстракція рутину з *Flores Sophorae japonicae* використання сумішшю насиченої вапняної води, бури та сульфіту натрію (вагове співвідношення 1000: 6: 1,5). Подрібнену сировину спочатку промивали киплячою водою, а потім здійснювали екстракцію флавоноїдів методом протитечійної перколяції з подальшою каскадною фільтрацією, Чистота рутину після кристалізації становила 97,5 % [5].

Циркуляційна екстракція у апараті Сокслета займає належне місце серед класичних лабораторних методів екстракції. Вона відрізняється досить високою ефективністю та низьким розходом екстрагента. Перевагою циркуляційної екстракції є постійний контакт чистого екстрагента з рослинною сировиною, що забезпечує різницю концентрації біоактивних сполук в сировині та екстрагенті і позволяє досягти високого виходу цільового продукту. В літературі є дані про виділення флавоноїдів за допомогою апарата Сокслета: для виготовлення поліекстракту сухого проводили послідовну вичерпну екстракцію розчинниками різної полярності. Сировиною служив збір чотирьох лікарських рослин: *Bergenia crassifolia* L., *Matricaria chamomilla* L., *Achillea millefolium* L., *Mentha piperita* L. Одержаний сухий екстракт містив поліфеноли (9,77 ± 0,09 %, у перерахунку на танін), флавоноїди (3,38 ± 0,01 %, у перерахунку на лютеолін), антоціани (1,35 ± 0,01, у перерахунку на ціанідин) [6].

Існує приклад застосування даного виду екстракції з різних видів звіробою. Циркуляційну екстракцію здійснювали сумішшю етанолу і ацетону протягом 4 годин. Екстракт оцінювали за вмістом флавоноїдів та хлорогенової кислоти, їх вихід складав 34,6 % та 10,2 % відповідно [7].

Таким чином, застосування циркуляційної екстракції для одержання рутину з *Flores Sophorae japonicae*, представляє безумовний інтерес в плані розробки та оптимізації лабораторних методів екстрагування біоактивних сполук.

Мета дослідження — встановлення оптимальних умов циркуляційної екстракції комплексу флавоноїдів з *Flores Sophorae japonicae.* Потрібно було експериментальним

шляхом обрати концентрацію екстрагенту, яка забезпечує найбільш повне виділення рутину з сировини, встановити умови для перекристалізації флавоноїдів для очищення від супутніх речовин, здійснити якісний аналіз цільового продукту.

Матеріали і методи дослідження

Flores Sophorae japonicae були заготовлені у фазі цвітіння в Одеській області. Зібрані квітки висушували протягом 14 діб до гігроскопічної вологості близько 10 %. Для екстракції використовували сировину подрібнену до частинок розміром 3-5 мм.

Для встановлення оптимальної концентрації етилового спирту для вичерпного виділення флавоноїдів з сировини використовували водно-спиртові розчини з концентраціями 50 %, 70 % та 96 %. Дослідні наважки сухої сировини замочували у екстрагентах відповідних концентрацій і залишали на 3 години при кімнатній температурі. По закінченні набрякання сировину віджимали, поміщали у апарат Сокслета та проводили екстракцію при нагріванні на водяній бані протягом 3 годин (t = 80°C), інтенсивність екстракції складала приблизно 5–6 зливів у годину. Протягом всього процесу екстракції кожні 30 хвилин здійснювали відбір контрольних фракцій, в яких визначали кількісний вміст флавоноїдів (у перерахунку на рутин). За результатами кількісного аналізу судили про екстрагуючи властивості різних концентрацій етанолу та залежність вивільнення флавоноїдів з сировини.

Одержаний екстракт фільтрували під вакуумом і концентрували на роторному випаровнику до ¼ від початкового об’єму. Упарений водно-спиртовий екстракт залишали для кристалізації флавоноїдів при температурі 0 — +4°C протягом доби. Кристали флавоноїдів відокремлювали фільтруванням під вакуумом і піддавали аналізу для встановлення якісного складу та наявності супутніх домішок [8].

Наявність флавоноїдів в екстрактах була підтверджена якісними кольоровими реакціями: ціанідиновою, реакцію з хлорним залізом та лугом. Якісний аналіз здійснювали методом тонкошарової хроматографії на пластинках *«Silyfol»*. Хроматографію проводили висхідним способом у системі розчинників: бутанол: крижана оцтова кислота: вода (6: 1: 2). Плями флавоноїдів детектували 10 %-м розчином алюмінію хлориду в УФ світлі. Кількісний вміст флавоноїдів у екстрактах визначали методом спектрофотометрії по ступеню комплексоутворення з алюмінію хлоридом при довжині хвилі 408 нм. Вимірювали абсолютні спектри поглинання одержаних речовин у діапазоні 200–400 нм з шагом у 5 нм [9].

Так як дослідні осади представляли суміш флавоноїдів, методом кількісної диференціальної спектрофотометрії двокомпонентних систем визначали долю рутину і кверцетину. Абсолютний етиловий спирт для дослідження одержували шляхом зневоднення 96 % етанолу при нагріванні з окисом кальцію або безводною сірчанокислою міддю. Якість

абсолютного спирту перевірялась за оптичної густиною, яка не повинна перевищувати 0,01 в області від 320 нм до 350 нм [10].

Результати досліджень та їх обговорення

В якості екстрагенту для виділення флавоноїдів з рослинної сировини добре зарекомендували себе водні розчини етилового спирту. Був проведений порівняльний аналіз властивостей 96 %, 70 % та 50 % етилового спирту екстрагувати рутин і кверцетин з *Flores Sophorae japonicae*. Максимальний вихід флавоноїдів спостерігався при використанні 70 % етилового спирту, 96 % етанол також проявив близькі екстрагуючи властивості. При зниженні концентрації етанолу вміст флавоноїдів у екстрактах знижувався, що пов'язано невеликими полярними властивостями рутину. Протягом процесу циркуляційної екстракції досліджувалась динаміка вивільнення флавоноїдів з сировини. Найбільш активно рутин виходив у екстрагент протягом першої години екстракції при всіх концентраціях етанолу. Після першої години спостерігалась зниження інтенсивності екстракції. знижувалась. Повне виснаження сировини для 50 %, 70 % та 96 % етанолу після 2 години 30 хвилин від початку циркуляційної екстракції спостерігалось встановлення рівноважних концентрацій флавоноїдів у сировині та екстрагенті процес екстракції уповільнювався (рис.1).

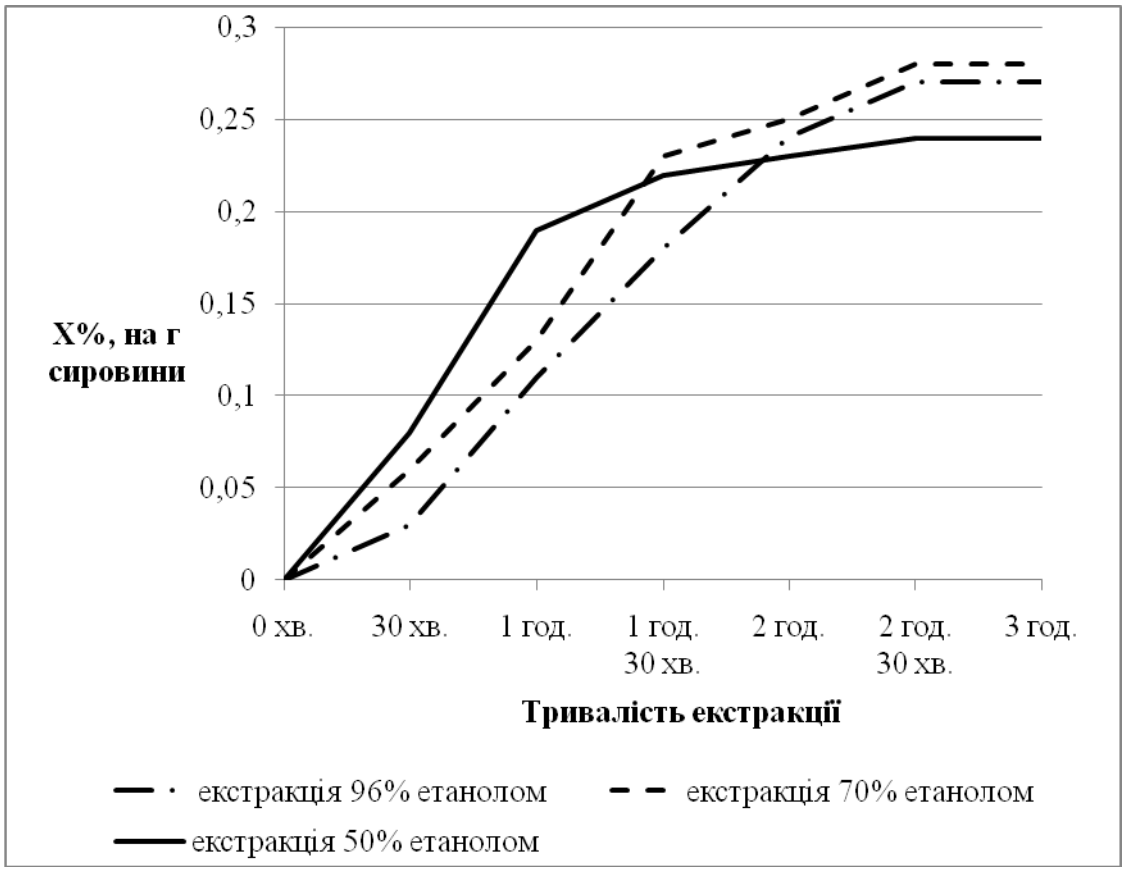


Рис. 1 Кінетика екстрагування флавоноїдів в залежності від концентрації етанолу

Після проведення кількісного аналізу водно-спиртові екстракти концентрували до ¼ від початкового об'єму. Сконцентровані екстракти поміщали на холод для кристалізації. Протягом доби в екстрактах спостерігалося випадання осадів флавоноїдів. Осади виділяли фільтруванням, висушували при кімнатній температурі (20°С) та гравіметричним методом визначали їх масу.

Виявилося, що зі зниженням концентрації етилового спирту у екстрагенті маси осадів збільшувалися, а саме: осад, виділений 96 % етиловим спиртом склав 4,9 % від наважки сировини; осад, виділений 70 % етиловим спиртом — 8,9 %, а осад, виділений 50 % етиловим спиртом — 9,7 %. Збільшення маси осаду зі зниженням концентрації свідчить про наявність в ньому домішок супутніх екстрактивних речовин (рис. 2).

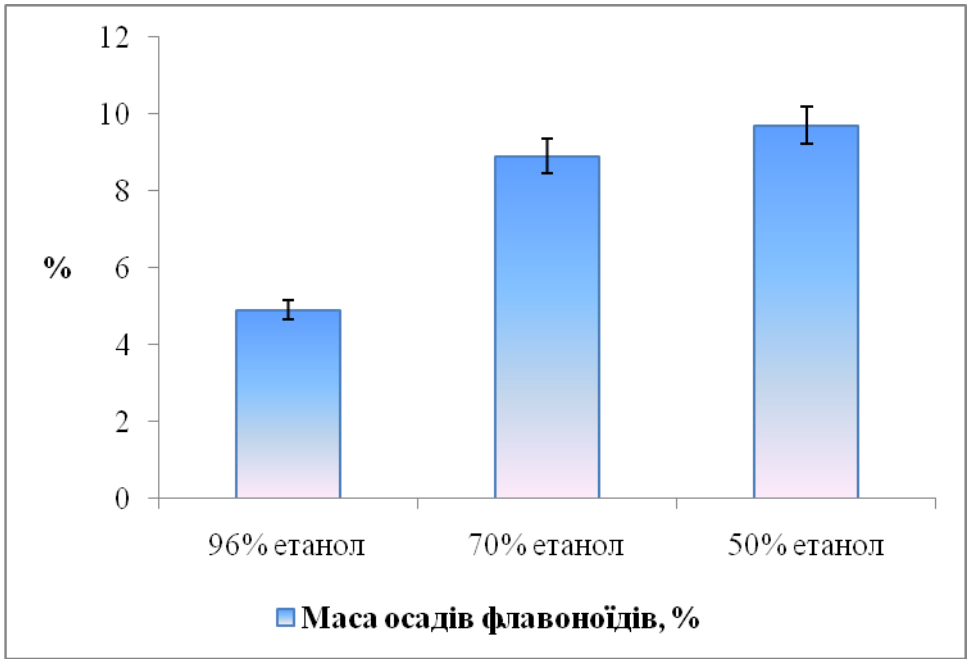


Рис. 2 Залежність маси осадів флавоноїдів від концентрації екстрагенту

З отриманими осадами були проведені якісні реакції на рутин і кверцетин. Всі реакції дали позитивний результат і підтвердили наявність флавоноїдів.

Для дослідних осадів спектрофотометричним методом визначали спектри поглинання. На спектрі поглинання осаду, виділеного з 96 % етанолом, спостерігалися два піки: один при довжині хвилі λ = 362 нм, що відповідає максимуму поглинання рутину, другий при λ = 375 підтвердив присутність кверцетину (рис. 3).

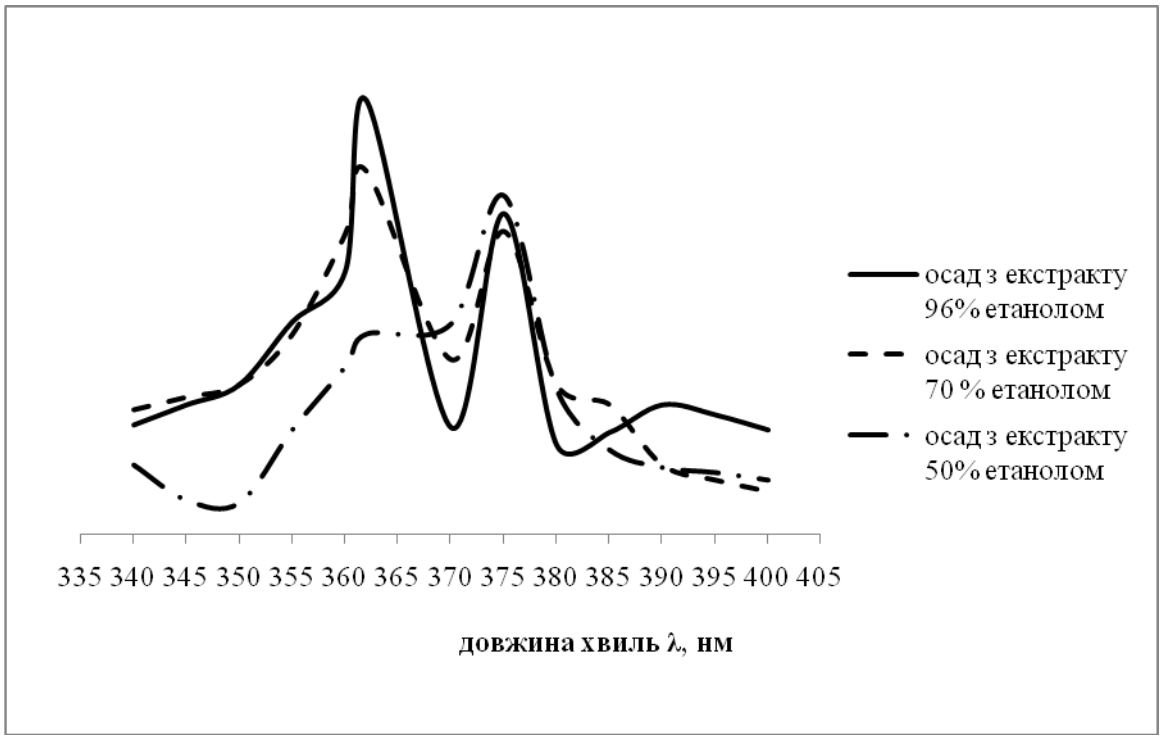


Рис. 3 Спектри поглинання осадів, виділених з дослідних екстрактів

В осаді, отриманому з 70 % етанолом були виявлені аналогічні піки, осад з 50 % водно-спиртового витягу відзначений одним піком при λ = 375 нм, що відповідає кверцетину (рис. 3).

Зниження концентрації етилового спирту впливає на здатність екстрагенту вилучати з сировини кверцетин: чим менше концентрація спирту в екстрагенті тим більше спостерігається кверцетину в осаді. Зі спектрів поглинання видно, що рутин краще екстрагується 70 % етиловим спиртом, а кверцетин 50 %.

Осади були проаналізовані методом тонкошарової хроматографії, встановлена наявність рутину *Rf* = 0,76 та кверцетину *Rf* = 0,50. Дані приведені в таблиці1.

Таблиця 1

Результати якісного аналізу дослідних осадів методом ТШХ

Дослідні осади	*Rf*	Ідентифіковані флавоноїди
Осад, отриманий при екстракції 96 % етанолом	0,50	Рутин
	0,76	Кверцетин
Осад, отриманий при екстракції 70 % етанолом	0,49	Рутин
	0,77	Кверцетин
Осад, отриманий при екстракції 50 % етанолом	0,51	Рутин
	0,77	Кверцетин
ДСЗ рутину	0,5	Рутин
ДСЗ кверцетину	0,76	Кверцетин

У розчинах осадів у абсолютному етиловому спирті методом фотометрії визначали долі рутину і кверцетину, а також вміст супутніх домішок. Найбільшу присутність домішок виявлено у осаді, екстрагованому 50 % етанолом; зі зниженням концентрації етанолу у екстрагенті спостерігався зріст забруднення осадів водорозчинними домішками (табл. 2).

Таблиця 2

Вміст окремих флавоноїдів та домішок у осадах

Дослідні осади	Співвідношення флавоноїдів та домішок, %		
	Рутин	Кверцетин	Домішки
Осад, екстрагований 96 % етанолом	80,4 ± 3,62	2 ± 0,14	17,6 ± 0,72
Осад, екстрагований 70 % етанолом	62,7 ± 26,9	5,1 ± 0,22	32,2 ± 1,12
Осад, екстрагований 50 % етанолом	52,7 ± 26,3	11,2 ± 0,43	36,1 ± 1,35

Для позбавлення від домішок осади піддавали однократної перекристалізації з суміші розчинників: етиловий спирт-вода. Ступень очищення оцінювали за кількісним вмістом флавоноїдів та домішок. Після перекристалізації кількість домішок в осадах значно знижувалась і складала близько 4 ± 0,068.

Перекристалізовані осади аналізували методом мас-спектроскопії. Були зареєстровані мас-спектри перекристалізованого осаду та стандартних зразків рутину і кверцетину. Мас-спектр дослідного осаду містив пік 60, що відповідає масі глюкози и пік 302, характерний для іону кверцетину. Електронний удар викликає розпад молекули рутину на фрагменти глікону (моносахаридні залишки) та аглікон кверцетин (рис.4).

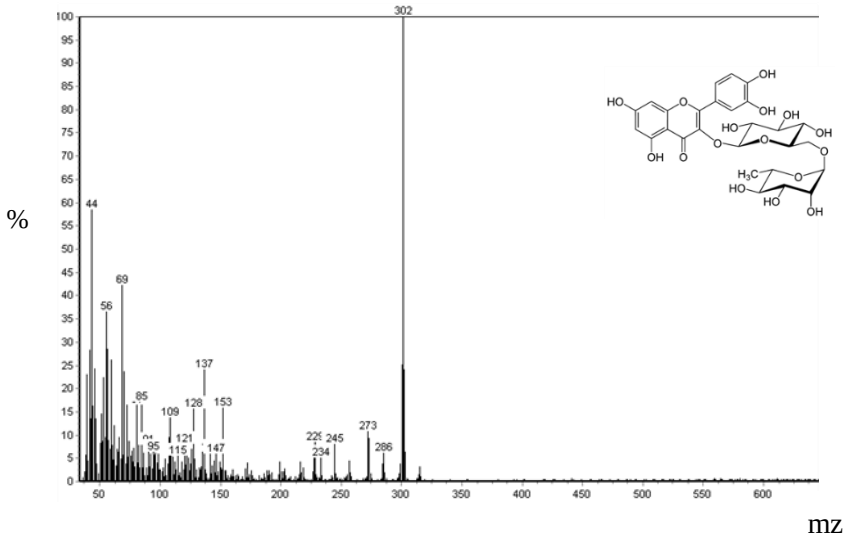


Рис. 4 Мас-спектр перекристалізованого осаду, одержаного 96 % етанолом

Висновки

Метод циркуляційної екстракції є перспективним для одержання рутину з *Flores Sophorae japonicae,* дозволяє досягнути повного виснаження сировини та економії екстрагента. Оптимальна концентрація етилового спирту для екстракції флавоноїдів становить 70 %. Перекристалізацію цільового продукту для позбавлення від супутніх речовин, доцільно проводити сумішшю розчинників 96 % етанол-вода, така система сприяє осадженню кристалів флавоноїдів. Комплекс флавоноїдів, екстрагований з сировини, містить переважно рутин і невелику долю кверцетину.

Література

1. Саламаха В.В. Розробка методів виділення рутину і кверцетину із квіток софори японської / В.В. Саламаха, О.О. Протункевич, К.О. Присяжнюк // Праці Одеського національного політехнічного університету. — 2012. — № 1 (38). — С. 286–290.
2. Горькова И. В., Павловская Н. Е., Даниленко А. Н. Экстракты гречихи посевной и софоры японской как сырьевые источники биологически активных веществ / И. В. Горькова, Н. Е. Павловская, А.Н. Даниленко // Пищевая промышленность. — 2016. — № 2. — С. 30–32.
3. Liao J. New method to enhance the extraction yield of rutin from Sophora japonica using a novel ultrasonic extraction system by determining optimum ultrasonic frequency / Liao J., Qu B., Liu D., & Zheng N. // Ultrason Sonochem. — 2015. — №27. — P.110–116.
4. Jin-Liang Liu Optimization of Microwave-Assisted Extraction Conditions for Five Major Bioactive Compounds from Flos Sophorae Immaturus (Cultivars of Sophora japonica L.) Using Response Surface Methodology / Jin-Liang Liu, Long-Yun Li, Guang-Hua He.// Molecules. — 2016. — № 21 (3). — P. 296.
5. Patent China, №104098636A, Method for extracting rutin from Japanese pagoda tree flowers, Priority date: 11.08.2014, Publication date: 15.10.2014.
6. Лубсандоржиева П.Б. Получение экстракта сухого из 4-компонентного сбора и содержание в нем биологически активных веществ / П.Б. Лубсандоржиева, Т.А. Ажунова, К.Ц. Цыбанов // Химия растительного сырья. — 2008. — №1. — С. 107–110.
7. Sagratini, G. Phytochemical and antioxidant analysis of eight *Hypericum* tax from Central Italy / G. Sagratini, [et al.] // Fitoterapia. — 2008. — V. 79. — P. 210.
8. Гулько Т. С., Протункевич О.О. Влияние условий экстракции на выделение суммы флавоноидов из цветков софоры японской. Международное научное издание: сборник научных трудов SWorld. — 2013. — Т. 48. — С. 23–24.

9. Ладыгина Е.Я. Химический анализ лекарственных растений: учебное пособие для фармац. вузов / Е.Я. Ладыгина, Л.Н. Сафронич, Отряшенкова В.Э.; под ред. Н.И. Гринкевича, Л.Н. Сафронич. — Москва: Высш. шк., 1983. –176 с.

10. Государственная фармакопея СССР. 10-е изд. Москва: Медицина, 1968. — С. 599–600.

References

1 Salamakha V.V., Protunkevich O.O., Prysiazhniuk K.O. 2012, "Rozrobka metodiv vydilennia rutynu i kvertsetynu iz kvitok sofory yaponskoi" [Development of methods for extracting rutin and quercetin from Japanese pagoda tree flowers], Pratsi Odesk. politekhn. univers., No 1 (38), pp. 286–290. (in Ukrainian)

2 Gorkova I.V., Pavlovskaia N.E. Danilenko, A.N. 2016. "Ekstrakty grechikhi posevnoy i sofory yaponskoy kak syrevye istochniki biologicheski aktivnykh veshchestv" [Extracts of buckwheat and Japanese sophora as raw material sources of biologically active substances], Food industry, No 2, PP. 30–32. (In Russian)

3 Liao J, Qu B, Liu D, & Zheng N. 2015, "New method to enhance the extraction yield of rutin from Sophora japonica using a novel ultrasonic extraction system by determining optimum ultrasonic frequency". Ultrason Sonochem, No 27, PP. 110–116.

4 Jin-Liang, Liu, Long-Yun, Li, & Guang-Hua, He. 2016, "Optimization of Microwave-Assisted Extraction Conditions for Five Major Bioactive Compounds from Flos Sophorae Immaturus (Cultivars of Sophora japonica L.) Using Response Surface Methodology", Molecules, No 21 (3), P. 296.

5 Patent China №104098636A, "Method for extracting rutin from Japanese pagoda tree flowers", Priority date: 11.08.2014, Publication date: 15.10.2014.

6 Lubsandorzhieva P.B., Azhunova T.A., Tsybanov K.Ts. 2008, "Poluchenie ekstrakta sukhogo iz 4-komponentnogo sbora i soderzhanie v nem biologicheski aktivnykh veshchestv" [Obtaining dry extract from a 4-component collection and the content of biologically active substances], Khimia rastitelnogo syria, No 1, PP. 107-110. (In Russian)

7 Sagratini G. et alt. 2008, Phytochemical and antioxidant analysis of eight Hypericum tax from Central Italy, Fitoterapia, V. 79. P. 210.

8 Hulko, T.S., & Protunkevych, O.O. 2013, "Vliyanie usloviy ekstraktsii na vydelenie summy flavonoidov iz tsvetkov sofory yaponskoi" [Effect of extraction conditions on a dedicated sum of flavonoids from the flowers of sophora japonica], International periodic scientific journal SWorld, V. 48, PP. 23–24. (In Russian)

9 Ladygina Ye. Ya., Safronich L.N., Otriashenkova V.E., & alt. 1983, Khimicheskiy analiz lekarstvennykh rasteniy: uchebnoe posobie dlya farmats. vuzov [Chemical analysis of medicinal plants: a textbook for pharmaceutical universities] in Grinkevich N.I. and Safronich L.N. (ed.), Vyssh. shkola, Moscow, USSR. (In Russian)

10 The State Pharmacopoeia of the USSR. 10th edition. 1968, Moscow: Meditsina. (In Russian)