

CHEMICAL SCIENCES

ОПТИМИЗАЦИЯ УЛЬТРАЗВУКОВОЙ ЭКСТРАКЦИИ СЕСКВИТЕРПЕНОВЫХ ЛАКТОНОВ ИЗ КОРНЕЙ *INULA GRANDIS*

Махкамова З.М.

бакалавр, Филиал Российского химико-технологического
Университета в г. Ташкенте

Дусматова Д.Э.

PhD, Институт химии растительных веществ АН РУз

Мухаматханова Р.Ф.

PhD, Институт химии растительных веществ АН РУз,

Маматханова М.А.

доктор технических наук, Институт химии
растительных веществ АН РУз

Халилов Р.М.

доктор технических наук, Институт химии
растительных веществ АН РУз

Маматханов А.У.

доктор технических наук, профессор, Институт химии
растительных веществ АН РУз

Шамьянов И.Д.

старший научный сотрудник, Институт химии
растительных веществ АН РУз

Kewu Zeng

Государственная ключевая лаборатория природных и биомиметических препаратов, Факультет
фармацевтических наук, Пекинский университет,
Пекин, Китай

OPTIMIZATION OF ULTRASONIC EXTRACTION OF SESQUITERPENE LACTONES FROM THE ROOTS OF *INULA GRANDIS*

Makhkamova Z.

bachelor, Branch of the Russian University of Chemical Technology
in Tashkent city

Dusmatova D.

PhD, Institute of Chemistry of Plant Substances,

Mukhamatkhanova R.

PhD, Institute of Chemistry of Plant Substances,

Mamatkhanova M.

Doctor of Technical Sciences, Institute of Chemistry of Plant Substances,

Khalilov R.

Doctor of Technical Sciences, Institute of Chemistry of Plant Substances,

Mamatkhanov A.

Doctor of Technical Sciences, Professor, Institute of Chemistry of Plant Substances

Sham'yanov I.

Senior Researcher, Institute of Chemistry of Plant Substances

Kewu Zeng

State Key Laboratory of Natural and Biomimetic Drugs,
School of Pharmaceutical Sciences, Peking University,
Beijing, China

АННОТАЦИЯ

Методом математического планирования эксперимента по Боксу–Уилсону изучены факторы, влияющие на процесс экстракции сесквитерпеновых лактонов из корней *Inula grandis* под воздействием ультразвука. Установлены следующие режимы экстракции: мощность ультразвука: 150 Вт; ультразвуковая частота: 40 кГц; температура экстракции – 50 °С; концентрация этилового спирта – 95%; продолжительность процесса – 20 мин; степень измельчения сырья – 7 мм. При этом, выход сесквитерпеновых лактонов составляет более 70% от содержания в сырье при однократном контакте фаз.

ABSTRACT

The factors influencing the process of extraction of sesquiterpene lactones from the roots of *Inula grandis* under the influence of ultrasound were studied using the Box-Wilson mathematical experimental design method. The following extraction modes were set: ultrasound power: 150 W; ultrasound frequency: 40 kHz; extraction

temperature – 50 °C; ethyl alcohol concentration – 95%; process duration – 20 min; raw material grinding degree – 7 mm. Moreover, the yield of sesquiterpene lactones is more than 70% of the content in the raw material during a single phase contact.

Ключевые слова: *Inula grandis*, девясил большой, сесквитерпеновые лактоны, ультразвуковая экстракция, метод математического планирования эксперимента.

Keywords: *Inula grandis*, sesquiterpene lactones, ultrasonic extraction, the method of mathematical planning of the experiment.

Введение

Inula grandis Schrenk. (девясил большой или крупнолистный – синоним *Inula macrophylla* Kar. et Kir.) семейства *Asteraceae* – один из распространенных видов девясила в Средней Азии. *I. grandis* произрастает на Угамском, Чаткальском, Пскемском, Ферганском, Кураминском, Туркестанском, Гиссарском, Зарафшанском и Нурагинском хребтах на мелкоземистых и мелкоземисто-щебнистых степных склонах от предгорий до среднего пояса гор [1].

В народной медицине этот вид растения используется для лечения туберкулеза, бруцеллеза, заболеваний желудочно-кишечного тракта и в качестве антигельминтного средства. Отвар корней вызывает снижение сахара в крови [2].

I. grandis содержит сесквитерпеновые лактоны (СЛ), а также углеводы, коричная кислота, дубильные вещества, полифенолы, эфирное масло и жирные кислоты. В гексановой фракции идентифицированы тимил изобутират, кессан и ряд сесквитерпенов. Основными компонентами корней являются сесквитерпеновые лактоны игалан – 42,19% и алантолактон – 52,43% [3-7].

Экстракт корней *I. grandis* входит в антигельминтную композицию под названием «Гельминтабс» [8]. Для экстракции СЛ в статических условиях предложена четырехкратная экстракция 80%-ным этиловым спиртом корней *I. grandis* с размерами частиц не более 7 мм при температуре 60°C [9].

Эксперименты продолжали по интенсификации процесса экстракции СЛ из корней *I. grandis*.

Цель исследования – оптимизация процесса экстракции СЛ из корней *I. grandis* под воздействием ультразвука.

Экспериментальная часть

Полноту извлечения СЛ на стадии экстракции контролировали методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) в различных системах, а также методом ИК-спектроскопии по наличию или отсутствию характерной полосы поглощения карбонила γ -лактонного цикла в области 1780-1740 см⁻¹.

В основе метода лежит пропорциональная зависимость между концентрацией определяемых компонентов в растительных экстрактах и интегральной интенсивностью их полос поглощения. Аналитические полосы поглощения СЛ установлены экспериментально [10, 11].

С целью проведения эффективной и оптимальной экстракции были исследованы параметры, влияющие на выход из корней *Inula grandis* СЛ с со-

держанием лактонов в сырье 2,0 %, такие как измельченность сырья, подбор селективного экстрагента, температура процесса.

Для оценки степени влияния этих факторов на процесс экстракции, а также подбора условий максимального выхода СЛ из корней *Inula grandis* был применен метод математического планирования эксперимента по Боксу–Уилсону [12, 13].

Обсуждение результатов

В технологических исследованиях важно получить максимальное количество информации, минимально используя классические эксперименты, расходующие материалы, энергию и время. Возможность увеличить эффективность научных исследований дает оптимизация экспериментальных исследований на всех стадиях технологического процесса. В последнее время для повышения эффективности исследований при оптимизации и прогнозировании химико-технологических процессов применяется математическое планирование по методам, таким как по Боксу–Уилсону, Боксу–Бенкену, латинских квадратов 3х3 или 4х4 и др. [12, 13, 14-16].

Учитывая выше изложенное, были проведены многофакторные эксперименты и проведена оценка степени влияния факторов на ультразвуковую экстракцию, а также определены условия максимального выхода СЛ из корней девясила большого при применении метода математического планирования эксперимента по Боксу–Уилсону.

При проведении экспериментов использовали ультразвуковую баню GT SONIC-D6, объем б/л, с функциями нагрева и дегазации и с цифровым микропроцессорным контроллером, имеющую следующую характеристику рабочего режима: мощность ультразвука: 150 Вт; ультразвуковая частота: 40 кГц; регулируемая настройка температуры нагрева от 0 до 80°C; регулируемая настройка таймера от 1 до 99 мин.

Выход СЛ от содержания в сырье при первом контакте фаз служил в этих исследованиях параметром оптимизации. Количество сырья и метод выделения были идентичными во всех опытах. В опытах использовали по 1,0 кг воздушно-сухого сырья в статических условиях.

На основе априорной информации выбрали следующие факторы:

- X₁ – температура экстракции
- X₂ – концентрация этилового спирта
- X₃ – продолжительность процесса
- X₄ – степень измельчения сырья

Интервалы варьирования основных уровней факторов приведены в таблице 1.

Таблица 1

Основные факторы и интервалы варьирования					
Факторы	Уровень факторов				Единица измерения
	Верхний	Средний	Нижний	Интервал	
X ₁	50	40	30	10	°C
X ₂	95	85	75	10	%
X ₃	20	15	10	5	мин
X ₄	7	10	13	3	мм

Выявлены два уровня этих четырех факторов, т.е. полный факторный эксперимент типа 2⁴. Нами была использована дробная реплика 2, реплики от полного факторного эксперимента 2⁴ с применением планирования типа 2⁴⁻¹ с генерирующими соотношениями X₄=X₁·X₂.

В таблице 2 приведены основы матрицы планирования, по которым проводили эксперименты.

В соответствии с составленной матрицей каждый из 8 опытов проводили, используя выбранные уровни каждого фактора, обозначая в матрице знаками «+» или «-» верхний и нижний уровни варьирования, соответственно. Результаты экспериментов приведены в таблице 2.

Таблица 2

Матрица планирования экспериментов и их результаты							
№	Код фактора					Результаты	
	X ₀	X ₁	X ₂	X ₃	X ₄	Y ₁	Y ₂
1	+	+	+	+	+	71,2	70,6
2	+	+	-	+	-	58,4	57,6
3	+	-	+	+	-	58,1	57,9
4	+	-	-	+	+	51,1	52,3
5	+	+	+	-	+	68,5	65,1
6	+	+	-	-	-	49,3	51,7
7	+	-	+	-	-	53,2	50,8
8	+	-	-	-	+	50,9	49,7

Полученные результаты стали основой расчета значения коэффициентов регрессии на основании формулы (1):

$$b_i = \frac{\sum_{i=1}^N (X_i \cdot Y_i)}{N}; \quad (1)$$

где: *i* – номер опыта; *j* – номер фактора; X_{ij} – кодированное значение факторов; N – число опытов в матрице.

$$b_0 = 57,27; b_1 = 4,27; b_2 = 4,65; b_3 = 2,37; b_4 = 2,65$$

Затем результаты опытов были получены в

виде уравнения регрессии (2):

$$Y = b_0 + b_1 X_1 + \dots + b_j X_j; \quad (2)$$

где: *b*₀, *b*₁, *b*₂, *b*₃, ... *b*_{*j*} – коэффициенты регрессии неполного квадратного уравнения.

Таким образом, на основании (2) получили следующее уравнение регрессии: $Y = 57,27 + 4,27 X_1 + 4,65 X_2 + 2,37 X_3 + 2,65 X_4$

Для оценки правильности проведенных экспериментов и адекватности полученной модели была проведена статистическая обработка полученных данных, которые представлены в таблице 3.

Таблица 3

Статистический анализ						
Y _{ср}	ΔY _i	ΔY _i ²	S _i ²	Y _{рас}	ΔY _i '	(ΔY _i ') ²
70,9	0,3	0,09	0,18	71,225	-0,33	0,106
58,0	0,4	0,16	0,32	56,625	1,37	1,891
58,0	0,1	0,01	0,02	57,375	0,62	0,391
51,7	-0,6	0,36	0,72	53,375	-1,68	2,806
66,8	1,7	2,89	5,78	66,475	0,32	0,106
50,5	-1,2	1,44	2,88	51,875	-1,38	1,891
52,0	1,2	1,44	2,88	52,625	-0,63	0,391
50,3	0,6	0,36	0,72	48,625	1,67	2,806

Расчет однородности дисперсии проводили по критерию Кохрена (3):

$$G_{\text{экс}} = \frac{S_{\text{max}}^2}{\sum_{i=1}^N S_i^2} \leq G_{\text{кр}}; \quad (3)$$

Дисперсия однородна, если полученный результат будет соответствовать условиям формулы 2. По результатам расчета критерий Кохрена имеет значение $G_{\text{экс}}=0,4281$

$G_{\text{кр}}$ приведена в таблице [17]: $G_{\text{кр}}=0,6798$

Таким образом, расчеты показали, что в данном случае дисперсия однородна.

Адекватность модели проверяли по критерию Фишера по формуле 4:

$$F_{\text{экс}} < F_{\text{таб}}; \quad (4)$$

Модель адекватна, если полученный результат соответствует условиям формулы 4.

Для этого, в начале был найден экспериментальный коэффициент Фишера, затем были проведены расчеты, приведенные в таблице 4.

Как видно из результатов таблицы 4, полученная модель адекватна.

Таблица 4

Результаты расчета коэффициента Фишера

Наименование значения	Формулы	Порядок формулы	Вычисленные значения
Дисперсия адекватности полученной модели	$S_{ад}^2 = \frac{n \sum (Y_{cp} - Y_{pac})^2}{N - q}$	5	6,9233
Дисперсия воспроизводимости (для двух повторных опытов)	$S_y^2 = \frac{\sum_{i=1}^N S_i^2}{N}$	6	1,6875
Коэффициент Фишера экспериментальный	$F_{экс} = \frac{S_{ад}^2}{S_y^2}$	7	4,1027
$F_{таб}$ (для $f_1=2$, $f_2=8$) [17]-			4,5

Значимости коэффициентов регрессии определяли по критерию Стьюдента (8).

$$b_i > \Delta b_i. \quad (8)$$

Если абсолютная величина (b_i) коэффициента больше доверительного интервала (Δb_i), то коэффициент считается значимым.

Чтобы найти доверительный интервал, были проведены расчеты, приведенные в таблице 5.

Исходя из данных таблицы 5, значимыми ока-

зались все рассмотренные факторы. Следует отметить, что при этом уравнение регрессии осталось неизменным.

В результате математического планирования выявлен количественный вклад факторов, которые располагаются в следующем порядке: $X_2 > X_1 > X_4 > X_3$.

Выход СЛ В опыте №1 составил 70,9% от содержания лактонов в растительном сырье, что достаточно приемлемо при первом контакте фаз.

Таблица 5

Результаты расчетов проверки значимости коэффициентов регрессии

Наименование значения	Формула	Порядковый номер формулы	Вычисленные значения
Дисперсия коэффициентов регрессии	$S_{bi}^2 = \frac{S_y^2}{N}$	9	0,2109
Квадратичная ошибка коэффициента регрессии	$S_{bi} = \pm \sqrt{S_{bi}^2}$	10	0,4592
Доверительный интервал варьирования	$\Delta b_i = t S_{bi}$	11	1,4614
t – табличное значение критерия Стьюдента при числе степеней свободы [17]			3,182

Таким образом, оптимизация процесса экстракции СЛ из корней *I. grandis* под воздействием ультразвука позволила достичь выхода СЛ более 70% при первом контакте фаз. Результаты интенсификации процесса также привели к снижению температуры процесса и возможности использования в качестве экстрагента 95% этилового спирта, что в свою очередь способствовало получению более очищенного от сопутствующих веществ продукта.

Выводы

Установлены следующие оптимальные условия ультразвуковой экстракции СЛ из корней *I. grandis*:

температура экстракции – 50 °С;
концентрация этилового спирта – 95%;
продолжительность процесса – 20 мин;
степень измельчения сырья – 7 мм.

Данная работа выполнена в рамках базовой бюджетной тематики Института химии растительных веществ им. акад. С. Юнусова АН РУз.

Литература

- Дусчанова Г.М., Дусматова Д.Э., Маматханова М.А., Мухаматханова Р. Ф., Шамьянов И.Д., Атомическое строение корня *Inula grandis* Schrenk. (сем. Asteraceae), произрастающего в условиях Узбекистана // Вестник Хорезмской академии Маъмуна – Хива: Хорезмская академия Маъмуна, 2020. - №9. – С. 42-45.
- Бутко А.Ю. Фармакотерапевтические аспекты применения растительного сырья девясила высокого и девясила британского в официальной и народной медицине // Научные ведомости, Серия Медицина; Фармация – Белгород, Россия, 2013. – № 11 (154). – Вып. 22. – С. 272-277.
- Юсуфзода А.Д., Раджабов С.И., Мусозода

С.М. Физико-химическое исследование лактонов подземной части *Inula macrophylla* L. // Вестник Таджикского национального университета; Серия естественных наук. – Душанбе: ТНУ, 2020. – №4. – С. 294-302.

4. Dusmatova D.E., Terent'eva E.O., Bobakulov Kh.M., Mukhamatkhanova R.F., Tsai E. A., Tashkhodzhaev B., Sham'yanov I. D., Azimova Sh. S., Abdullaev N. D. Nonpolar Constituents of *Inula grandis* Roots. Cytotoxic Activity of Igalan // Chemistry of Natural Compounds – Tashkent, Uzbekistan, 2019. V. 55, N 3. – P. 571-574. DOI: 10.1007/s10600-019-02747-y

5. Круглая А.А., Бахтиева М.Р., Тетерина К.В. Представители рода *Inula*, как перспективные источники новых лекарственных средств // Материалы IX Международной студенческой электронной научной конференции «Студенческий научный форум» – Россия: Научно-издательский центр "Академия Естествознания, 2017. Источник: <https://scienceforum.ru/2017/article/2017040346>.

6. Боймуродов Дж.С. Изменение содержания полифенолов у *Inula macrophylla* L., произрастающей на южном склоне Гиссарского хребта в зависимости от фазы развития растений // Известия академии наук республики Таджикистан, отделение биологических и медицинских наук – Душанбе, 2018. – №1. – С. 38-41.

7. Дусматова Д.Э. Терпеноиды растений *Inula britannica*, *Inula grandis* и *Tanacetopsis karataviensis* // Диссертация на соискание учёной степени доктора философии (PhD) по химическим наукам. – Ташкент, 2021. – С. 139.

8. Маматханова М.А., Исламова Ж.И., Халилов Р.М., Маматханов А.У., Шамьянов И.Д., Муталова Д.К. Разработка технологии производства и сравнительная оценка антигельминтного действия сухих экстрактов на основе сесквитерпеновых лактонов *Inula grandis*, *Artemisia annua*, *Tanacetum pseudoachillea* и их композиции под названием «Гельминтабс» // Sciences of Europe - Прага, 2024. – № 144. – P. 49–56.

9. Дусматова Д.Э., Маматханова М.А., Ботиров Р.А., Хажибаев Т.А., Мухаматханова Р.Ф., Шамьянов И.Д., Халилов Р.М. Изучение процесса экстракции сесквитерпеновых лактонов из корней *Inula grandis* // Universum: Химия и биология: электрон. научн. журн. - Россия, 2019. – № 3, № 57. – С. 34-39.

10. Sülsen V.P., Martino V.S. Sesquiterpene Lactones Advances in their Chemistry and Biological Aspects - USA, Springer Cham., 2018. – 371 с.

11. Ana M. L. Seca, Diana C. G. A. Pinto, Artur M. S. Silva. Metabolomic Profile of the Genus *Inula* // Chemistry & Biodiversity –Wiley Blackwell, United States, 2015. – Vol. 12, No 6. – P. 859-906.

12. Бабин А.В., Ракипов Д.Ф. Организация и математическое планирование эксперимента - Екатеринбург, Россия, 2014. – С. 85-94.

13. Hajibaev T.A., Khalilov R.M. The Process Optimization of Furostanol Saponins Extraction from the Aerial Part of *Tribulus Terrestris* // International Journal of Scientific Research in Chemical Sciences – India, 2023. – Vol.10, No 6. – P. 1-7.

14. Анисимов П.Н. Об использовании методики планирования эксперимента в соответствии с трехуровневыми планами Бокса-Бенкена // Вестник магистратуры - Йошкар-Ола, Россия, 2017. - №2-2 (65). С. 32-36.

15. Маматханов А.У., Хажибаев Т.А., Халилов Р.М. Технология получения суммы иридоидов из отходов переработки надземной части *Ajuga turkestanica* // Химия растительного сырья – Барнаул, Россия, 2023. - №3. - С. 293–302.

16. Jalilov U.M, Kambarov K.D, Fayzullaeva N.S, Bekchanov K.K, Karieva E.S. Optimization of composition and development of technology for capsules of dry extract of *Cichorium intybus* L. // International Journal of Pharmaceutical Research – Tenali, India, 2019. -Vol. 11, No 4. - P. 619-624.

17. Рузинов Л.П. Статистические методы оптимизации химических процессов – Москва: Химия, 1972. – С. 182-200.