

БІОЛОГІЧНІ НАУКИ

УДК 573.4:631.577(045)

ОСОБЛИВОСТІ ЕКСТРАГУВАННЯ ВІНКАМІНУ ІЗ ТРАВИ БАРВІНКУ МАЛОГО *VINCA MINOR L.*

Барановський М.М., Літвін І.А.
Національний авіаційний університет

У статті проаналізовано фактори, які впливають на екстрагування індольного алкалоїду вінкаміну. Досліджено вплив екстрагенту, ступеню подрібнення сировини та рН на кількісний вихід даної біологічно активної речовини. Встановлено, що найбільш оптимальними параметрами екстрагування вінкаміну із трави барвінку малого *Vinca minor L.* є 70% етанол, розмір частинок сировини 3 мм та значення рН 3,0. Найменшу кількість вінкаміну було екстраговано із використанням 96% етанолу як екстрагенту, сировини із розміром частинок 5 мм та при рН 4,5.

Ключові слова: порушення мозкового кровообігу, вінкамін, алкалоїди, барвінок малий, екстракт, мацерація.

Постановка проблеми. Порушення мозково-го кровообігу займають одне з провідних положень серед причин смертності. За останні 10 років кількість пацієнтів з цереброваскулярною патологією в Україні зросла вдвічі і перевищила 8200 чоловік на 100 тис. населення. Крім того, якщо раніше подібні зміни з боку судин, які беруть участь у кровопостачанні мозку, зустрічалися головним чином у людей похилого віку, то сьогодні інсульт у людини молодше 40 років – уже не рідкість [1].

Основними напрямками медикаментозної терапії та профілактики недостатності мозкового кровообігу є застосування судиннорозширюючих засобів, препаратів, які перешкоджають склеюванню (агрегації) тромбоцитів та згорненню крові, а також психостимуляторів та ноотропів. У якості судиннорозширюючих засобів застосовують ліки з різними механізмами дії – блокатори кальцієвих каналів, спазмолітики та інші засоби, проте їх основним недоліком вважається відсутність необхідної вибіркової дії. Розширюючи разом із судинами головного мозку (церебральними) й інші периферичні судини, вони викликають зниження артеріального тиску, а внаслідок цього кровопостачання мозку може, навпаки, знизитись.

Крім того, застосування сучасних препаратів для лікування даної групи захворювань супроводжується великою кількістю побічних ефектів та появою алергічних реакцій. Спостерігається тенденція, що чим ефективніший лікарський засіб, тим більша імовірність того, що він має серйозні побічні реакції для організму. У цьому плані лікарські засоби рослинного походження мають значну перевагу. Настоянка із трави барвінку малого *Vinca minor L.* має значний потенціал застосування для профілактики та лікування порушень кровообігу мозку, внаслідок значного вмісту в цій рослині вінкаміну, який має селективний вазорегулюючий ефект на судини мозку та здатність покращувати метаболізм у тканинах головного мозку. Тому існує необхідність у дослідженні особливостей процесу екстракції, які впливають на вихід цієї цінної з терапевтичної точки зору біологічно активної речовини.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Барвінок малий *Vinca minor L.* – це вічнозелена трав'яниста рослина, яка належить до сімейства барвінкових. Утворюючи суцільні зарості, його можна часто зустріти в букових, дубових лісах та біля доріг. Барвінок малий поширений в багатьох країнах світу, зокрема, в Росії, Україні, Білорусії, Молдові та на Кавказі.

На сьогоднішній день *V. minor L.* знаходить своє застосування як в традиційній (вінкатон («Гедеон Ріхтер», Угорщина), вінкапан (Болгарія), вінканор (Україна)), так і в народній медицині. З кожним роком дослідники відкривають нові лікувальні властивості цієї рослини, що дає змогу виробляти все більш ефективні препарати. Фармакологічна цінність барвінку малого *Vinca minor L.* зумовлена високим вмістом у надземній частині рослини терпенових індольних алкалоїдів, серед яких переважає вінкамін. Вміст суми алкалоїдів у сировині *V. minor L.* становить 0,45-0,85%, при цьому вміст вінкаміну складає 0,02-0,1% у перерахунку на суху масу [2]. Оскільки концентрація даного алкалоїду в рослині є невеликою, сучасні методи направлені на удосконалення процесу екстракції та очистки.

У літературі описано декілька способів екстрагування та очистки вінкаміну із рослинної сировини. Наприклад, екстракція за допомогою водно-спиртових розчинів із наступним підлогуванням екстракту та виділенням алкалоїдів органічним розчинником. Цей процес ґрунтується на послідовній екстракції типу рідина-рідина з метою очищення та виділення кислотних та основних форм алкалоїдів із суміші [3]. Основи, розчин аміаку, основні карбонати та бікарбонати розкладають солі алкалоїдів з виділенням вільних основ. У вигляді вільних основ алкалоїди добре розчиняються у багатьох органічних сполуках – хлороформі, ефірі, дихлорметані тощо [4]. У формі солей алкалоїди добре розчиняються у воді, при цьому в органічних розчинниках вони практично нерозчинні [5].

Згідно з іншими способами в якості екстрагенту використовують спирт, такий як етанол [6] або метанол [7], з наступною очисткою екс-

тракту шляхом поступової обробки водними розчинами кислот, після чого розчинами основ та органічних розчинників.

Також можливим способом є безпосереднє екстрагування підлужованими органічними розчинниками, наприклад, дихлоретаном [8] або хлороформом [9], з наступним випарюванням органічного розчинника досуха. Багаторазове застосування стадій розділення у вищеписаних способах забезпечує одержання продукту з більш високим виходом.

Виділення не вирішених раніше частин загальної проблеми. У міру підвищення ступеню подрібнення сировини буде збільшуватись загальна поверхня частинок та молекулярна (внутрішня) дифузія, внаслідок збільшення кількості розірваних клітин сировини, при цьому екстрагент буде вільно проникати в клітину та збільшуватиметься контакт сировини з розчинником. Одразу ж після збільшення молекулярної дифузії повинна збільшитись і зовнішня (конвективна) дифузія, тобто дифузія від поверхні частинок сировини в екстрагент, а отже збільшиться і кількість проекстрагованих речовин. В цілому, в результаті може підвищитись сам процес масообміну. Для дослідження цієї закономірності рослинний матеріал подрібнювали до 1 мм, 3 мм та 5 мм.

Суміші води з етанолом мають високу ефективність для вилучення найрізноманітніших рослинних компонентів. Тим не менш, важливим критерієм є вибір правильної концентрації етанолу для того, щоб максимізувати якість рідких препаратів. Таким чином, для дослідження використовували 44%, 70% та 96% розчин етанолу.

Враховуючи той факт, що екстракти можна в деякій мірі очистити шляхом обробки кислотними розчинами, у даній роботі досліджували вплив різних значень рН (1,5, 3, 4,5), досягнених шляхом використання оцтової кислоти, на кількісний вихід вінкаміну.

Дослідження саме такої сукупності незалежних факторів досі ще не проводилось, тому метою даної роботи було дослідження особливостей екстрагування вінкаміну із трави барвінку малого *Vinca minor L.*, зокрема, впливу екстрагенту, ступеню подрібнення сировини та рН на ефективність екстрагування вінкаміну.

Виклад основного матеріалу. Як матеріал для дослідження використовували надземну частину рослини. Матеріал збирали у період цвітіння в м. Ладижин Вінницької області та висушували на повітрі впродовж двох місяців.

Одержання екстрактів. До наважки сировини вагою 1 г додавали 10 мл екстрагенту та тричі екстрагували при кімнатній температурі методом мацерації, щоразу фільтруючи суспензію після спливу 24 годин. Об'єднані екстракти центрифугували при 10000 g 30 хвилин, супернатант упарювали на водяній бані при температурі не перевищуючій 50°C, далі розчиняли в 50% розчині етилового спирту та використовували для подальшої очистки.

Очистка екстрактів. Одержані екстракти обробляли оцтовою кислотою до рН 1,5, 3 та 4,5, внаслідок чого переводили алкалоїди у полярний стан. Крім того оцтова кислота забезпечувала зв'язування молекул хлорофілу та його осадження. Екстракти витримували ще протягом

15 годин, а потім центрифугували. Осад відкидали, а отриманий супернатант промивали гексаном (3×20 мл), завдяки чому видаляли супутні неполярні сполуки. Екстракти після очистки гексаном охолоджували до 10°C та обробляли 3% розчином аміаку до рН 8. Потім алкалоїди в формі вільних основ екстрагували хлороформом (3×20 мл). Хлороформні витяжки промивали водою та випарювали на водяній бані при температурі 40°C. Одержаний сухий залишок розчиняли в 5 мл 50% етанолу та використовували для кількісного визначення вінкаміну.

Кількісне визначення. Кількість екстрагованого із рослинного матеріалу вінкаміну визначали спектрофотометричним способом. Даний метод ґрунтується на утворенні у середовищі азотної кислоти жовтого комплексу вісмуту з тіосечовиною. Утворений комплекс підкоряється закону Бугера-Ламберта-Бера у діапазоні концентрацій 0,06-50 мкг/мл з максимальним значенням довжини хвилі λ_{\max} при 435 нм.

Для побудови калібрувальної кривої до розчинів вісмуту нітрату з різними концентраціями у кількості 1 мл додавали 5 мл 3% розчину тіосечовини, в результаті чого утворювався комплекс, який мав жовте забарвлення. Оптичну густину вимірювали проти дистильованої води і за одержаними даними будували калібрувальну криву ($y = 0,2396x + 0,0881$; $R^2 = 0,9826$), яка зображена на рис. 1.

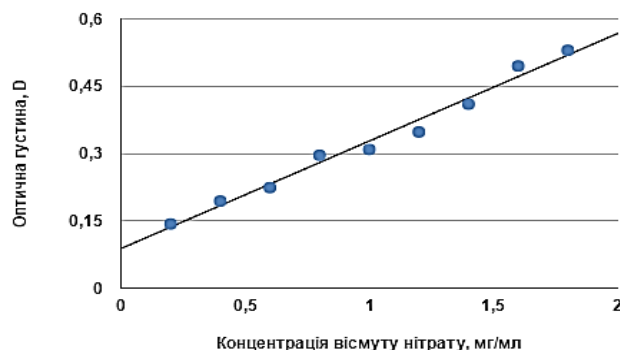


Рис. 1. Калібрувальний графік стандартних розчинів вісмуту нітрату

Для аналізу брали 5 мл екстракту і додавали 2 мл реактиву Драгендорфа для осадження алкалоїдів. Утворений осад відцентрифугували. Центрифугат перевіряли на повноту осадження шляхом додавання невеликої кількості реактиву Драгендорфа. Після центрифугування з осаду обережно декантували супернатант. Осад додатково промивали етиловим спиртом. Фільтрат відкидали, а залишок обробляли 2 мл розчину дисульфиду натрію, внаслідок чого утворювався осад бурого кольору, який потім відцентрифугували. Твердий залишок розчиняли у 2 мл концентрованої азотної кислоти і утворений розчин доводили до 10 мл дистильованою водою. Із цього розчину у суху пробірку відбирали 1 мл і додавали 5 мл 3% розчину тіосечовини. Поглинання вимірювали при 435 нм проти розчину, що містив лише азотну кислоту та тіосечовину. Кількість вісмуту, який знаходився у розчині, розраховували шляхом перемноження значень поглинання зі стандартним коефіцієнтом, враховуючи відповідний ступінь розведення. Стандартний коефіціє-

ент одержували зі стандартної кривої (коефіцієнт = концентрація/поглинання).

Результати дослідження показані на рис. 2 і 3.

Висновки і пропозиції. Проведені дослідження свідчать про те, що максимальний вихід вінкаміну можна одержати при використанні

сировини у розмірі 3 мм, 70% розчину етанолу як екстрагенту та при підкисленні екстрактів до рН 3,0. Враховуючи, що інтенсифікація процесу екстракції вінкаміну із трави барвінку малого *V. minor L.* має місце, доцільним є проведення його оптимізації.

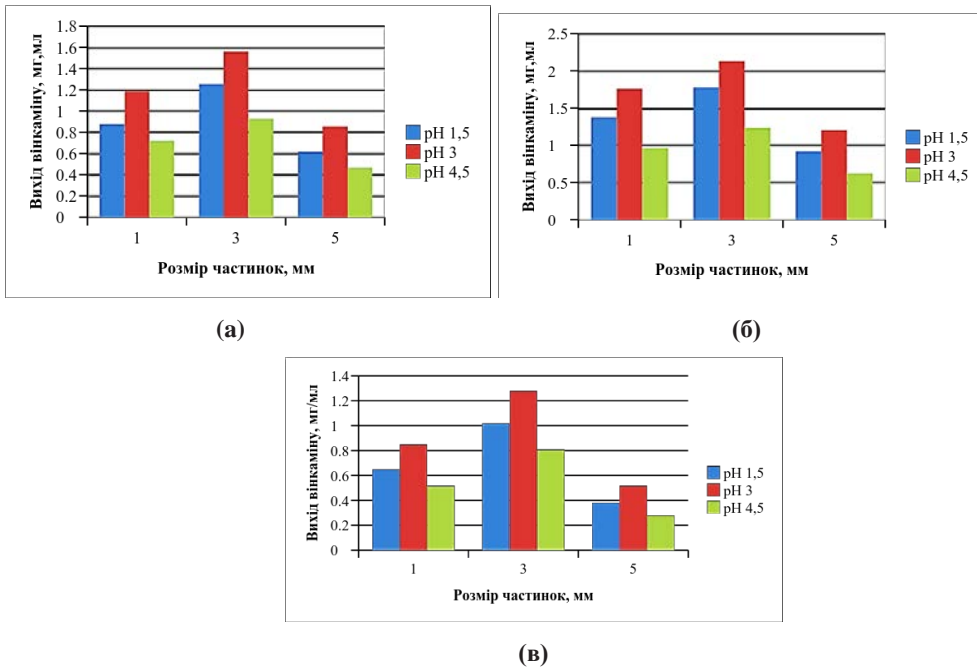


Рис. 2. Залежність виходу вінкаміну від ступеню подрібнення, екстрагуванні при різних значеннях рН та використанні як екстрагенту (а) 44% розчину етанолу, (б) 70% розчину етанолу та (в) 96% розчину етанолу

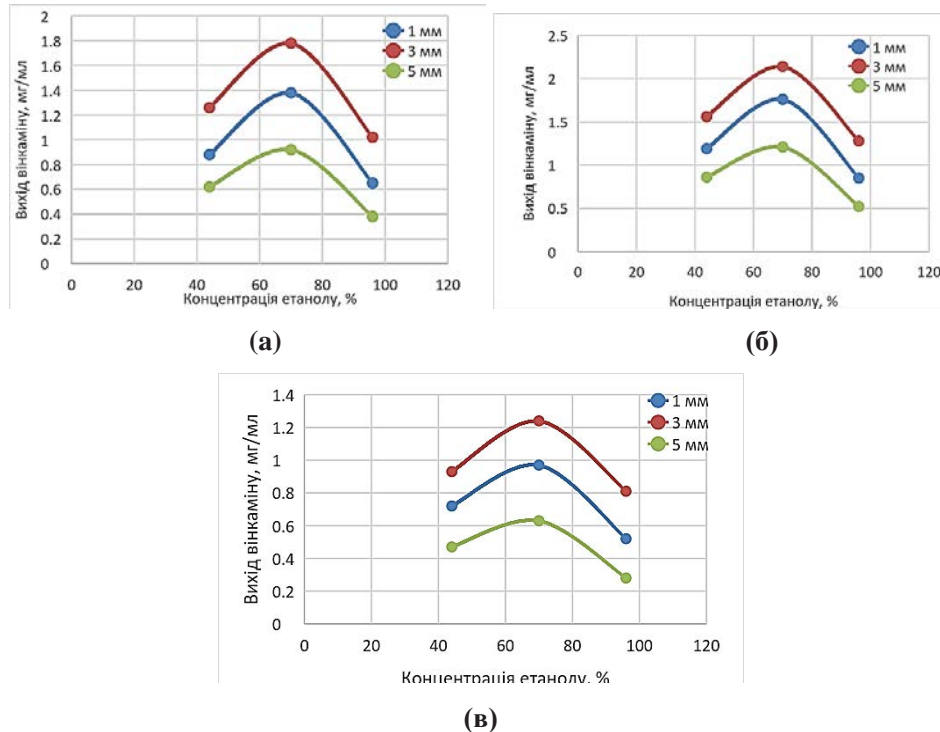


Рис. 3. Графіки залежності виходу вінкаміну від екстрагенту при підкисленні екстрактів до (а) рН 1,5, (б) рН 3,0 та (в) рН 4,5

Список літератури:

1. Міщенко Т.С. Епідеміологія неврологічних захворювань в Україні // НейроNews. – 2008. – № 3. – С. 76-78.
2. Деревья и кустарники СССР: дикорастущие, культивируемые и перспективные для интродукции. Ч. 5 / [сост. З.Т. Артюшенко, Ю.Д. Гусев; ред. С.Я. Соколов]. – М.: Издательство Академии Наук СССР, 1980. – 380 с.
3. Laurence M. Experimental organic chemistry: Principles and Practice / M. Laurence, C. Moody – Blackwell Scientific Publications, 1989. – P. 118.
4. Ciesielski M., Popilek S., Kuczynski J., Jusiak L. Sposob wyodrebniania mieszaniny alkaloidow z surowcow roslinnych. Polish Patent No 136380 (Cl. A61K31/33).
5. Мироненко А.В. Методы определения алкалоидов / А.В. Мироненко – Мн.: Навука і тэхніка, 1966. – 179 с.
6. Manske R.F. The alkaloids chemistry and physiology, Volume VIII / R.F. Manske – NY.: Academic Press, 1965. – P. 673.
7. Методы биохимического исследования растений / А.И. Ермаков [и др.]. – М. – 1952. – 520 с.
8. Кочерга С.И., Ларионов Н.Г., Ахназарова С.А., Пращурович Л.И., Белоусова Л.М., Кривут Б.А. Авт. свид. 623847; Бюлл. изобр., 1978, 34, 92.
9. Скакун Н.Н., Казаринов Н.А., Георгиевский В.П. // Химия природных соединений. – 1984. – № 2. – С. 255.

Барановский М.Н., Литвин И.А.

Национальный авиационный университет

ОСОБЕННОСТИ ЭКСТРАГИРОВАНИЯ ВИНКАМИНА ИЗ ТРАВЫ БАРВИНКА МАЛОГО *VINCA MINOR L.*

Аннотация

В статье проанализированы факторы, влияющие на экстрагирования индольного алкалоида винкамина. Исследовано влияние экстрагента, размера частиц сырья и pH на количественный выход данного биологически активного вещества. Установлено, что наиболее оптимальными параметрами экстрагирования винкамина из травы барвинка малого *Vinca minor L.* является 70% этанол, размер частиц 3 мм и значение pH 3,0. Наименьшее количество винкамина было экстрагировано с использованием 96% этанола как экстрагента, сырья с размером частиц 5 мм и при pH 4,5.

Ключевые слова: нарушения мозгового кровообращения, винкамин, алкалоиды, барвинок малый, экстракт, мацерация.

Baranovsky M.M., Litvin I.A.

National Aviation University

FEATURES OF VINCAMINE EXTRACTION FROM THE GRASS OF LESSER PERIWINKLE *VINCA MINOR L.*

Summary

In the article the factors affecting on extraction of indole alkaloid vincamine was analyzed. The influence of extragent, particle size of raw material and pH on quantitative yield of this biologically active substance was investigated. It was found that the most optimal parameters of vincamine extraction from the herb of lesser periwinkle *Vinca minor L.* are 70% ethanol, 3 mm particle size and pH value 3.0. The lowest amount of vincamine was extracted using 96% ethanol as extragent, raw material with 5 mm particle size and at pH 4.5.

Keywords: cerebral blood circulation disorders, vincamine, alkaloids, lesser periwinkle, extract, maceration.