



Р.И. Лукашов  
Н.С. Гурина  

Влияние обезжиривания эхинацеи пурпурной травы на экстракцию гидроксикоричных кислот

Учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет»,
пр-т Дзержинского, д. 83, Минск, 220083, Республика Беларусь

✉ Лукашов Роман Игоревич; r_lukashov@mail.ru

РЕЗЮМЕ

ВВЕДЕНИЕ. Разработка новых ресурсосберегающих и экономически выгодных технологий экстракции с целью получения лекарственных средств растительного происхождения является одной из актуальных задач фармацевтической технологии. Особое место среди таких лекарственных средств занимают препараты на основе эхинацеи пурпурной, действие которых направлено на стимулирование неспецифической иммунной системы.

ЦЕЛЬ. Изучение влияния обезжиривания сырья эхинацеи пурпурной травы на экстракцию гидроксикоричных кислот (ГКК) и оценка возможности использования процедуры обезжиривания в технологии получения настоек эхинацеи.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ. В качестве обезжиривающего агента по результатам предварительных экспериментов был выбран гептан. При получении настоек эхинацеи пурпурной травы дополнительно проводили термообработку сырья. Суммарное содержание ГКК определяли спектрофотометрическим методом, содержание индивидуальных кислот – методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Остаточное количество обезжиривающего агента определяли методом газовой хроматографии. Эксперимент проводили с использованием стандартных образцов ГКК.

РЕЗУЛЬТАТЫ. Предварительное обезжиривание сырья эхинацеи пурпурной травы (условия: обезжиривающий агент – гептан, продолжительность – 1 ч и кратность обезжиривания – однократное, соотношение сырье(г):гептан(мл) 1:5) повышает степень экстракционного выделения ГКК из лекарственного растительного сырья. Определены оптимальные технологические параметры получения настоек эхинацеи (объемная доля этанола – 60%, продолжительность мацерации – 7 сут. с последующим механическим перемешиванием в течение 60 мин, соотношение сырье (г) : 60% этанол (мл) – 1:10, степень измельчения сырья – частицы 500–2000 мкм, продолжительность отстаивания первичной вытяжки – 3 сут). Максимальное извлечение ГКК при получении настоек достигается при термической предобработке сырья.

ВЫВОДЫ. Разработана технология получения настойки эхинацеи пурпурной травы с предварительным обезжириванием растительного сырья, что позволило добиться увеличения извлечения ГКК в настойки. Данная технология может быть использована для промышленного получения настоек с повышенным содержанием ГКК.

Ключевые слова: лекарственные растения; обезжиривание; эхинацеи пурпурной трава; гидроксикоричные кислоты; хлорогеновая кислота; кофейная кислота; цикориевая кислота; кафтаровая кислота; настойки; хроматографическое определение; технология; экстракционные препараты; фармацевтическое производство

Для цитирования: Лукашов Р.И., Гурина Н.С. Влияние обезжиривания эхинацеи пурпурной травы на экстракцию гидроксикоричных кислот. *Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств.* 2024;14(2):207–216. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2024-14-2-207-216>

Финансирование. Работа выполнена в рамках задания 2.2.3 «Получить и стандартизировать экстракционные лекарственные формы с повышенным содержанием биологически активных веществ» в рамках государственной программы научных исследований 2 «Химические процессы, реагенты и технологии, биорегуляторы и биоорхимия» подпрограммы 2.2 «Синтез и направленное модифицирование регуляторов биопроцессов (Биорегуляторы)».

Потенциальный конфликт интересов. Авторами подана заявка на патент Республики Беларусь на изобретение «Способ предварительной обработки лекарственного растительного средства», планируется к подаче заявка на изобретение «Способ получения сухого экстракта из предварительно обработанного лекарственного растительного сырья». Н.С. Гурина является членом редколлегии журнала «Ведомости НЦЭСМП. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств» с 2024 г.

Raman I. Lukashou ,
Natalia S. Gurina 

Effect of *Echinacea purpurea* Herb Defatting on the Extraction of Hydroxycinnamic Acids

Belarusian State Medical University,
83 Dzerzhinsky Ave, Minsk 220083, Republic of Belarus

✉ Raman I. Lukashou; r_lukashov@mail.ru

ABSTRACT

INTRODUCTION. Currently the development of novel resource- and cost-effective extraction techniques for herbal medicinal products is a priority for pharmaceutical technology. A unique position among these herbal medicinal products belongs to the medicinal products of *Echinacea purpurea*, which stimulate the innate immune system.

AIM. The study aimed to investigate the effect of *E. purpurea* herb defatting on the extraction of hydroxycinnamic acids (HCAs) from the herbal drug and to evaluate the suitability of this treatment for the production of *E. purpurea* tinctures.

MATERIALS AND METHODS. On the basis of previous experimental findings, heptane was chosen as the defatting solvent. The production of *E. purpurea* tinctures included an additional step of herbal drug heating. The content of total HCAs was determined using a pharmacopoeial method, while the content of individual HCAs was determined using high-performance liquid chromatography. The residual defatting solvent was quantified by gas chromatography. The experiment used reference standards for HCAs.

RESULTS. The study showed that a single one-hour defatting treatment of the herbal drug with heptane at a 1 g to 5 mL ratio increased the yield of HCAs extracted from *E. purpurea* herb. The optimal production process for *E. purpurea* tinctures involved grinding the herbal drug to 500–2000 µm, macerating the powder with 60% ethanol (v/v) at a 1 g to 10 mL ratio for 7 days, mechanically stirring the mixture for 60 min, and settling the crude extract for 3 days. Heating the herbal drug prior to extraction resulted in the highest yield of HCAs.

CONCLUSIONS. The newly developed production technology for *E. purpurea* tinctures with a preliminary defatting step increases the HCA content in the tinctures. This technology can be used for the industrial production of tinctures high in HCAs.

Keywords: medicinal plants; defatting; *Echinacea purpurea* herb; hydroxycinnamic acids; chlorogenic acid; caffeic acid; chicoric acid; caftaric acid; tinctures; chromatographic determination; technology; extracts; extractive medicinal products; pharmaceutical production

For citation: Lukashou R.I., Gurina N.S. Effect of *Echinacea purpurea* herb defatting on the extraction of hydroxycinnamic acids. *Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. Regulatory Research and Medicine Evaluation*. 2024;14(2):207–216. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2024-14-2-207-216>

Funding. The work was carried out as part of task 2.2.3 Production and Standardisation Extracts with an Increased Content of Biologically Active Substances within the framework of state research programme 2 Chemical Processes, Reagents and Technologies, Bioregulators and Bioorganic Chemistry and sub-programme 2.2 Synthesis and Targeted Modification of Bioprocess Regulators (Bioregulators).

Disclosure. The authors have applied for an invention patent of the Republic of Belarus for their method of pretreatment for herbal medicines and are going to apply for an invention patent for their method of production of dry extracts from pretreated herbal drugs. N.S. Gurina has been a member of the Editorial Board of *Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. Regulatory Research and Medicine Evaluation* since 2024.

ВВЕДЕНИЕ

Лекарственные средства растительного происхождения широко представлены на фармацевтическом рынке, основной областью их применения является терапия заболеваний дыхательной системы, желудочно-кишечного тракта и нервной системы [1]. Особое место занимают лекарственные средства растительного происхождения, действие которых направлено на стимулирование неспецифической иммунной системы [2]. К таким лекарственным средствам относятся препараты на основе эхинацеи пурпурной [3], показаниями к применению которых являются кратковременная профилактика и лечение в составе комплексной терапии острых респираторных заболеваний при приеме внутрь и лечение небольших поверхностных раневых повреждений при наружном применении¹.

Основной группой действующих веществ эхинацеи пурпурной, по которым стандартизируют сырье, являются гидроксикоричные кислоты (ГКК) и их производные². Целесообразной представляется разработка способов повышения степени экстракции ГКК из эхинацеи пурпурной травы с целью получения в дальнейшем лекарственных форм с повышенным содержанием ГКК.

При производстве лекарственных форм, получаемых методом экстракции, рациональным способом повышения извлечения биологически активных веществ из лекарственного растительного сырья (ЛРС) является предварительная обработка – физическое, химическое или микробиологическое воздействие непосредственно на воздушно-сухое или свежее ЛРС. К способам предварительной обработки относят обезжиривание, термическую, ультразвуковую обработку и их комбинации [4–6].

При обезжиривании эхинацеи пурпурной травы из сырья удаляются липофильные компоненты (каротиноиды, хлорофиллы, алкиламины и др.) [7], что может увеличить степень экстракции ГКК.

Цель работы – изучение влияния обезжиривания эхинацеи пурпурной травы на экстракцию гидроксикоричных кислот и оценка возможности использования процедуры обезжиривания в технологии получения настоек эхинацеи.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования служили промышленные серии эхинацеи пурпурной травы производства ООО «НПК Биотест» и ООО «Падис'С» и высушенная воздушно-теневым способом трава, заготовленная от культивируемых форм в Ботаническом саду УО «БГМУ» в д. Новое поле в 2021 и 2022 гг. Для оценки возможности объединения результатов четырех серий исследований ($g=4$) применяли критерий Кохрена³, так как объединяемые дисперсии имели одинаковое количество степеней свободы $\nu=2$. По итогам расчета расчетное значение критерия Кохрена $G_{\text{экс}}$ составило 0,5024 (табличное значение критерия Кохрена $G_{\text{табл}}=0,7679$). Так как $G_{\text{табл}} > G_{\text{экс}}$, то результаты, полученные на разных образцах сырья, можно объединить и использовать для последующего анализа объединенные средние значения показателей.

Изучали влияние следующих параметров обезжиривания на экстракцию ГКК: природа обезжиривающего агента, соотношение сырье:обезжиривающий агент (г:мл) (1:5, 1:10, 1:25, 1:50 и 1:100), продолжительность обработки (1–4 ч) и кратность обезжиривания (одно-, двух- и трехкратное). Подбор факторов осуществляли последовательно, на каждой последующей стадии учитывали параметр, подобранный на предыдущей стадии.

Содержание суммы производных ГКК в пересчете на цикориевую кислоту определяли по фармакопейной методике⁴. Спектрофотометрические исследования проводили на спектрофотометре Solar серии PB2201 (ЗАО «Солар», Республика Беларусь).

Дополнительно исследование выполняли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) по методике⁵. В работе использовали стандартные образцы хлорогеновой (кат. № 1115545), кофейной (кат. № 1084995), цикориевой (кат. № 1105315) и кафтаровой кислот (кат. № 1086039) (все – квалификации EP CRS с содержанием действующего вещества не менее 98%, Sigma-Aldrich). В качестве компонентов подвижной фазы использовали ацетонитрил (квалификация «for HPLC», Sigma-Aldrich, кат. № 34851), кислоту фосфорную (квалификация «for HPLC», Sigma-Aldrich, кат. № 04102) и воду деионизированную.

¹ Государственный реестр лекарственных средств Республики Беларусь. https://rceth.by/Refbank/reestr_lekarstvennih_sredstv

² ФС 07/2016:1823. Эхинацеи пурпурной трава. Государственная фармакопея Республики Беларусь. 2 изд. Т. 2. Минск; 2016.

³ ФС 01/2013:PB50301 Статистический анализ результатов химического эксперимента. Государственная фармакопея Республики Беларусь. 2 изд. Т. 1. Минск; 2012.

⁴ ФС 07/2016:1823 Эхинацеи пурпурной трава. Государственная фармакопея Республики Беларусь. 2 изд. Т. 2. Минск; 2016.

⁵ Там же.

Перед хроматографированием полученные извлечения центрифугировали на центрифуге CM-70M.07 (ELMI, Латвия) при 7000 об./мин в течение 5 мин и отбирали надосадочную жидкость. Деионизацию воды очищенной осуществляли на деионизаторе ДВ-1 (ООО «ЦветХром», Россия).

Анализ проводили на жидкостном хроматографе Ultimate 3000 (Ultimate, Германия) с насосом на четыре растворителя и устройством для вакуумной дегазации элюента, автосэмплером с термостатом, термостатом для колонок с краном переключения, диодно-матричным и флуоресцентным детекторами. Обработку хроматограмм и спектров поглощения проводили с помощью компьютерной программы Chromeleon 7. Относительное содержание ГКК в сырье рассчитывали методом внутренней нормализации.

В качестве обезжиривающих агентов использовали органические растворители (все – х.ч., ОДО «ХимХром»): гексан, гептан, петролейный эфир 40–70, диэтиловый эфир, бензол, о-ксилол, толуол, дихлорэтан, дихлорметан и хлороформ (табл. 1).

После проведения обезжиривания липофильную вытяжку отфильтровывали, сырье с фильтра отжимали и оставляли на несколько (до пяти) суток при комнатной температуре для естественного улетучивания обезжиривающего агента под вытяжкой.

Оценку содержания остаточных количеств органических растворителей после обезжиривания выполняли методом газовой хроматографии. Во флакон емкостью 20 мл помещали 1,0 мл тестовой смеси, которая включала 25 стандартных легколетучих веществ, и 8,0 мл воды, закрывали пробкой, закатывали металлическим колпачком и помещали в парофазную приставку на 15 мин. Условия пробоподготовки в приставке: температура нагрева пробы – 90 °С; стабилизация бани – 1 мин; время нагрева образца 15 мин; миксер – 1 мин (мощность встряхивания – 1); вторая стабилизация образца – 1 мин; установка давления – 0,4 мин; давление – 15 psi; стабилизация давления – 0,4 мин; наполнение петли – 0,3 мин; стабилизация петли – 0,3 мин; время инъекции – 0,4 мин; температура петли – 100 °С; температура линии – 105 °С. Парогазовая фаза автоматически вводилась в газовый хроматограф.

Таблица 1. Физико-химические свойства обезжиривающих агентов

Table 1. Physicochemical properties of the studied defatting agents

Соединение <i>Compound</i>	Класс <i>Class</i>	Диэлектрическая постоянная <i>Dielectric constant</i>	Динамическая вязкость, мПа·с <i>Dynamic viscosity, mPa·s</i>	Относительная плотность, г/см ³ <i>Relative density, g/cm³</i>	Температура кипения, °С <i>Boiling point, °C</i>
Гексан <i>Hexane</i>	Алкан <i>Alkane</i>	1,86	0,294	0,6548	68,0
Гептан <i>Heptane</i>	Алкан <i>Alkane</i>	1,90	0,386	0,6795	98,4
Петролейный эфир <i>Petroleum ether</i>	Смесь алканов <i>A mixture of alkanes</i>	1,29–1,88	0,296–0,334	0,6500–0,6950	40–70
Диэтиловый эфир <i>Diethyl ether</i>	Алифатический простой эфир <i>Aliphatic ether</i>	4,30	0,242	0,7078	35,6
Дихлорэтан <i>Dichloroethane</i>	Хлорпроизводное алкана <i>Chlorinated alkane</i>	10,4	0,833	1,253	83,5
Дихлорметан <i>Dichloromethane</i>	Хлорпроизводное алкана <i>Chlorinated alkane</i>	9,08	0,393	1,3078	40
Хлороформ <i>Chloroform</i>	Хлорпроизводное алкана <i>Chlorinated alkane</i>	4,64	0,542	1,4830	61,2
Бензол <i>Benzene</i>	Ароматический углеводород <i>Aromatic hydrocarbon</i>	2,27	0,600	0,8786	80,1
Толуол <i>Toluene</i>	Ароматический углеводород <i>Aromatic hydrocarbon</i>	2,30	0,552	0,8667	110,6
о-Ксилол <i>o-Xylene</i>	Ароматический углеводород <i>Aromatic hydrocarbon</i>	2,57	0,757	0,8760	144,4

Таблица составлена авторами по данным: Равдель АА, Пономарева АМ. *Краткий справочник физико-химических величин*. СПб.; 2003 / The table is prepared by the authors using the data from Ravdel A.A., Ponomareva A.M. *Quick reference of physicochemical values*. St Petersburg; 2003

В аналогичных условиях выдерживали исследуемые пробы (1,0 г обезжиренного или нативного сырья или 1,0 мл настойки, полученной из нативного; обезжиренного; обезжиренного и термически обработанного; термически обработанного и обезжиренного сырья и 8,0 мл воды), после чего пробы охлаждали до комнатной температуры и вводили в хроматограф.

Использовали газовый хроматограф с масс-спектрометрическим детектором Agilent Technologies 7890В (США), колонку кварцевую капиллярную 30 м × 0,25 мм, $\Delta F=0,25$ мкм с неподвижной жидкой фазой 100% полидиметилсилоксаном (HP-1), детектор – масс-селективный MSD 5977В, тип – «квадруполь» (температура 280 °С), интервал сканируемых масс – 40–300 m/z; для идентификации веществ допускался временной интервал поиска $\pm 2\%$. Условия хроматографического анализа: температура термостата колонки (начальная температура 35–40 °С – 6 мин; программирование температуры от 10 °С/мин до 100 °С, выдержка 1 мин при 100 °С, подъем температуры 15 °С/мин до 180–200 °С, выдержка 7 мин при температуре 180–200 °С); температура инжектора 280 °С, Transfer Line 300 °С; объем вводимой газовой пробы 0,2–1,0 мл; газ-носитель – гелий со скоростью 1,0–2,0 мл/мин; деление потока в инжекторе 1:10 – 1:20.

Идентификацию остаточных органических растворителей проводили путем сопоставления времен удержания веществ исследуемых проб и веществ тестовой смеси. Допустимое отклонение времени удержания составляло $\pm 1\%$. Расчет содержания растворителей проведен методом одного стандарта.

Термическую обработку проводили при помощи стерилизатора воздушного «Витязь ГП 10-3» (ОАО «Витязь», Республика Беларусь) при следующих условиях: температура в упаковке – 60 °С;

продолжительность – 0,5–2 ч; толщина слоя обрабатываемого порошка сырья – 2–4 см. Ультразвуковая обработка проведена в экстракторе HO-455.00 ПС (ООО «Александра-Плюс», Российская Федерация) в следующих условиях: продолжительность – 45 мин; частота колебаний ультразвука – 21 кГц; толщина слоя обрабатываемого порошка сырья – до 1 см. Ультразвуковую экстракцию проводили на этом же приборе в течение 60 мин при указанной частоте ультразвуковых колебаний.

Механическое перемешивание при обезжиривании и получении настоек осуществляли при помощи орбитального шейкера KS 130 basic (IKA, Германия) при 240 об./мин. Продолжительность перемешивания при получении настоек составила 60 мин.

Настойки получали методом мацерации и ее модификациями (бисмацерация, ремацерация) путем настаивания ЛРС в широкогорлых сосудах из темного стекла с крышкой. Для интенсификации извлечения использовали ультразвуковую экстракцию в течение 60 мин и механическое перемешивание в течение 60 мин после проведения мацерации в течение 7 сут.

Статистическую обработку проводили при помощи компьютерной программы Microsoft Office Excel 2016 (пакет «Анализ данных»). Каждое испытание проводили три раза ($n=3$). Результаты представляли в виде $\bar{X} \pm \Delta_{\bar{x}}$, где \bar{X} – среднее значение выборки; $\Delta_{\bar{x}}$ – полуширина доверительного интервала средней величины. Для выявления статистически значимого влияния факторов обезжиривания проводили дисперсионный анализ. Значения статистически значимо различались при p -value (p) < 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Предварительное обезжиривание эхинацеи пурпурной травы петролейным эфиром и гептаном

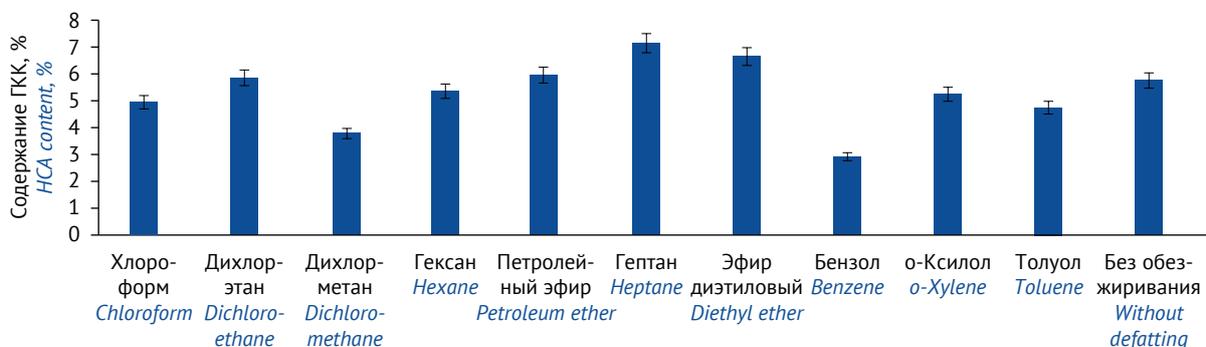


Рисунок подготовлен авторами по собственным данным / The figure is prepared by the authors using their own data

Рис. 1. Зависимость содержания гидроксикоричных кислот (ГКК) от природы обезжиривающего агента

Fig. 1. Hydroxycinnamic acid (HCA) yield as a function of the defatting solvents used

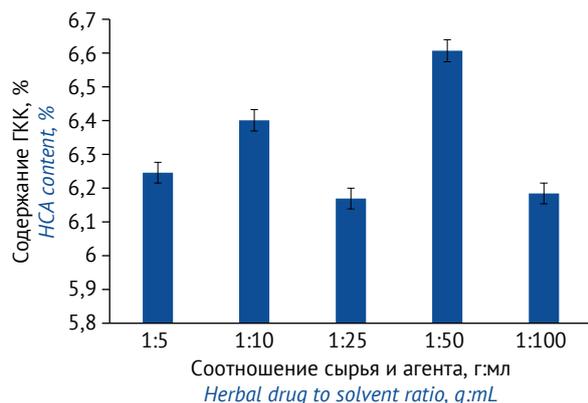


Рисунок подготовлен авторами по собственным данным / The figure is prepared by the authors using their own data

Рис. 2. Зависимость содержания гидроксикоричных кислот (ГКК) от соотношения сырья : гептан

Fig. 2. Hydroxycinnamic acid (HCA) yield as a function of the herbal drug to heptane ratio

приводило к статистически значимому повышению экстракции ГКК на 15,6% (отн.) ($p=0,018$) и 24,5% (отн.) ($p=0,010$) соответственно по сравнению с ЛРС, которое не подвергалось обезжириванию (рис. 1). При этом обезжиривание гептаном на 6,4% (отн.) ($p=0,068$) (относительное стандартное отклонение (RSD)=11,8%) увеличивало экстракцию ГКК по сравнению с петролейным эфиром (RSD =25,4%) и имело лучшую воспроизводимость, поэтому в дальнейших экспериментах для обезжиривания использовали гептан.

Содержание ГКК при обезжиривании в течение 1, 2 и 4 ч составило $6,80\pm 0,27$; $5,10\pm 0,34$ и $3,82\pm 0,45\%$ соответственно. Увеличение длительности обезжиривания приводило к снижению содержания ГКК (коэффициент корреляции $r=-0,9046$). Максимум наблюдали при обработке в течение 1 ч, дальнейшее увеличение продолжительности обезжиривания

Таблица 2. Содержание индивидуальных гидроксикоричных кислот в образцах обезжиренной и нативной эхинацеи пурпурной травы

Table 2. Content of individual HCAs in samples of defatted and native *Echinacea purpurea* herb

Гидроксикоричная кислота HCA	Обезжиренное сырье, % Defatted herbal drug, %	Исходное сырье, % Native herbal drug, %	Значение p p -value
Кафтаровая кислота Cafutaric acid	$23,1\pm 1,9$	$23,8\pm 1,2$	0,22
Хлорогеновая кислота Chlorogenic acid	$2,3\pm 0,4$	$2,7\pm 0,5$	0,36
Кофейная кислота Caffeic acid	$5,5\pm 0,8$	$6,0\pm 0,7$	0,41
Цикориевая кислота Chicoric acid	$70,0\pm 2,8$	$67,5\pm 2,0$	0,10

Таблица составлена авторами по собственным данным / The table is prepared by the authors using their own data

до 2 ч снижало содержание на 36,0% (отн.) ($p=0,013$).

Содержание ГКК практически не менялось при разных соотношениях сырья и экстрагента ($p=0,25$) (рис. 2), поэтому при выборе соотношения исходили из необходимости экономии растворителя и в дальнейшем применяли соотношение 1:5 (г:мл).

При одно-, двух- и трехкратном обезжиривании содержание ГКК составило $7,78\pm 0,50$; $6,59\pm 0,39$ и $3,61\pm 0,29\%$ соответственно. С увеличением кратности обезжиривания содержание ГКК снижалось ($r=0,9568$), однократное обезжиривание на 17,9% эффективнее двукратного.

При проведении дисперсионного анализа влияния параметров обезжиривания на экстракцию ГКК установлено, что вязкость ($p=2,8\times 10^{-3}$), относительная плотность ($p=2,1\times 10^{-3}$), температура кипения ($p=4,8\times 10^{-3}$) агента, продолжительность ($p=3,8\times 10^{-3}$) и кратность обезжиривания ($p=5,8\times 10^{-4}$) статистически значимо ($p<0,05$) влияли на экстракцию ГКК. Диэлектрическая постоянная обезжиривающего агента ($p=0,09$) и соотношение сырья и гептана ($p=0,24$) не влияли на процесс экстракции статистически значимо.

На основе экспериментально подобранных параметров предложена следующая методика обезжиривания эхинацеи пурпурной травы: 100 г воздушно-сухого ЛРС помещают в плотно закрывающуюся или укупоренную емкость, добавляют 500 мл гептана, плотно закрывают или укупорируют и помещают на механическую мешалку или перемешивают иным способом при комнатной температуре в течение 1 ч. Затем проводят фильтрацию и отжим сырья, обезжиренное ЛРС после фильтрования и отжима оставляют до 5 сут для естественного удаления остатков обезжиривающего агента. Обезжиренное ЛРС используют для экстракции ГКК.

При использовании предложенного способа предобработки выход ГКК при экстракции обезжиренного сырья ($7,90 \pm 0,41\%$) возрастал на 34,1% (отн.) ($p=0,013$) по сравнению с ЛРС, которое не прошло предварительную обработку ($5,80 \pm 0,31\%$).

Относительное содержание индивидуальных ГКК в обезжиренной и нативной эхинацеи пурпурной траве практически одинаково (табл. 2), что указывает на то, что обезжиривание не влияет на качественный состав доминирующих ГКК.

При получении настоек методом мацерации наибольшая степень извлечения ГКК наблюдалась при экстракции 60% этанолом (рис. 3а). При мацерации от 1 до 7 сут содержание ГКК плавно возрастало ($r=0,9023$), затем с 7 по 14 сут снижалось ($r=0,9602$), максимум содержания фиксировался на 7 сут (рис. 3б). При соотношении сырья и экстрагента 1:10 (г:мл) содержание ГКК значительно больше (на 15,2% ($p=0,040$)), чем при 1:5 (г:мл) (рис. 3с). Степень измельчения сырья значительно не влияла ($p=0,072$) на содержание ГКК (рис. 3д). При отстаивании от 1 до 3 сут

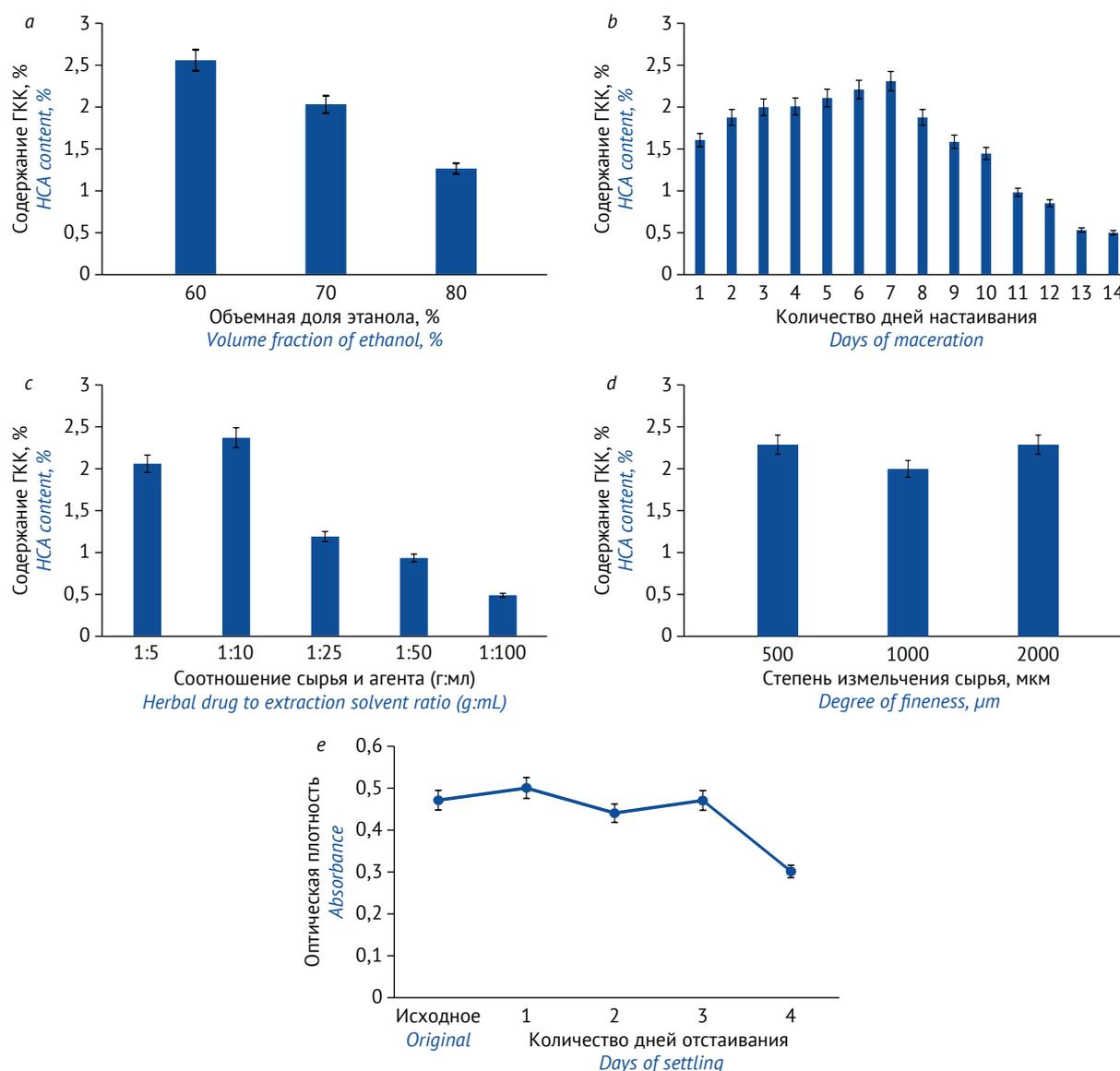


Рисунок подготовлен авторами по собственным данным / The figure is prepared by the authors using their own data

Рис. 3. Зависимость содержания гидроксикоричных кислот (ГКК) в настойках эхинацеи пурпурной от условий получения настоек: а – объемной доли этанола; б – длительности мацерации; с – соотношения сырье : экстрагент; д – степени измельчения сырья; е – зависимость оптической плотности первичной вытяжки при получении настоек от количества дней отстаивания

Fig. 3. Content of hydroxycinnamic acids (HCAs) in *E. purpurea* tinctures as a function of the process parameters: a, volume fraction of ethanol; b, time of maceration; c, herbal drug to extraction solvent ratio; d, degree of fineness of the herbal drug; e, crude extract absorbance vs settling time

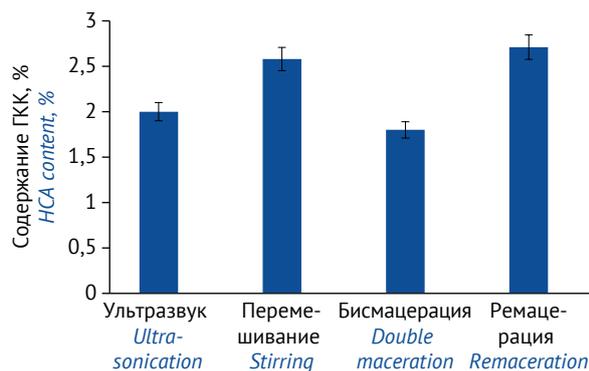


Рисунок подготовлен авторами по собственным данным / The figure is prepared by the authors using their own data

Рис. 4. Зависимость содержания гидроксикоричных кислот (ГКК) от способа получения настойки

Fig 4. Hydroxycinnamic acid (HCA) yield as a function of the tincture extraction method

содержание ГКК практически не изменялось по сравнению с исходной вытяжкой ($p=0,26$). На 4 сут содержание ГКК значимо снижалось на 56,5% (отн.) ($p=1,9 \times 10^{-4}$) (рис. 3e).

Максимальное содержание ГКК отмечено в настойках, полученных с применением механического перемешивания или ремацераций (рис. 4), что больше на 29,1% (отн.) ($p=0,024$) и 35,6% (отн.) ($p=0,015$) соответственно, чем при использовании ультразвуковой обработки. При получении настоек из обработанного ультразвуком сырья содержание ГКК составило $1,99 \pm 0,14\%$, что значимо ($p=0,31$) не отличалось от настоек, полученных при комбинировании мацерации с последующей ультразвуковой экстракцией.

При проведении дисперсионного анализа влияния на экстракцию ГКК технологических параметров получения настоек эхинацеи установлено, что продолжительность мацерации ($p=1,8 \times 10^{-4}$), соотношение сырья и экстрагента ($p=2,2 \times 10^{-6}$), способ получения ($p=2,0 \times 10^{-4}$) и продолжительность отстаивания ($p=4,6 \times 10^{-4}$) влияли на состав полученного экстракта статистически значимо ($p < 0,05$).

С учетом подобранных технологических параметров можно предложить следующую технологию получения настойки эхинацеи. Сырье со степенью измельчения от 500 до 2000 мкм заливают рассчитанным объемом 60% этанола (с учетом коэффициента спиртопоглощения) при соотношении сырья и экстрагента 1(г):10(мл) и оставляют для настаивания в течение 7 сут. Затем в течение 60 мин механически перемешивают,

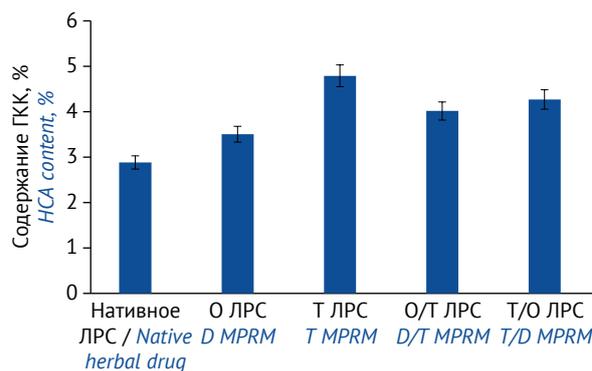


Рисунок подготовлен авторами по собственным данным / The figure is prepared by the authors using their own data

Рис. 5. Влияние предварительной обработки ЛРС на содержание гидроксикоричных кислот (ГКК) в настойках: О – обезжиренное лекарственное растительное сырье (ЛРС); Т – термически обработанное ЛРС; О/Т – обезжиренное, затем термически обработанное ЛРС; Т/О – термически обработанное, затем обезжиренное ЛРС

Fig. 5. Content of hydroxycinnamic acids (HCA) in tinctures as a function of the herbal drug pre-treatment steps: D, defatting; T, heating; D/T, defatting followed by heating; T/D, heating followed by defatting

извлечение сливают, процеживают, отжимают сырье, вытяжку оставляют для отстаивания при температуре не выше 10 °С в течение не более 3 сут, после чего фильтруют.

Настойки, полученные из предварительно обработанного сырья, содержали больше ГКК (от 21,6% (отн.) ($p=0,0097$) до 48,1% (отн.) ($p=0,0019$)), чем полученные из нативного сырья. Наибольший выход ГКК в настойку наблюдали при термической обработке сырья (рис. 5).

Качественный состав смеси ГКК в настойках, полученных из нативного и обработанного сырья, одинаков (рис. 6. «Хроматограммы образцов настоек, полученных из лекарственного растительного сырья (ЛРС) нативной и предварительно обработанной эхинацеи пурпурной травы», опубликован на сайте журнала⁶). Спектральные характеристики идентифицированных ГКК также являлись практически идентичными (рис. 7. «Спектры поглощения гидроксикоричных кислот, идентифицированных в образцах настоек эхинацеи пурпурной травы», опубликован на сайте журнала⁷).

При получении настойки эхинацеи другими способами содержание ГКК составляло в два и более раз меньше ($p=0,0063$), чем при получении предложенным выше способом с дополнительной термической обработкой сырья. Так,

⁶ <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2024-14-2-207-216-fig6>

⁷ <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2024-14-2-207-216-fig7>

в работе⁸ при получении настойки ремацерацией 40% этанолом при соотношении 1(г):1(мл) по 24 ч содержание ГKK составило $2,120 \pm 0,135\%$; в работе [8] — мацерацией в течение 7 сут 55% этанолом — $0,560 \pm 0,021\%$; в исследовании [9] комбинацией ремацерации по 24 ч при соотношении 1(г):5(мл) 40% этанолом с последующей термической экстракцией при 70 °C 1(г):8(мл) 30 мин — $0,530 \pm 0,013\%$.

В результате газохроматографического анализа в образцах, полученных из сырья эхинацеи пурпурной травы, подвергавшегося обезжириванию, обнаружен остаточный экстрагент — гептан (класс 3: малоопасные растворители). Количество гептана составило: в обезжиренном сырье; образцах настоек, полученных из обезжиренного сырья; обезжиренном с последующей термообработкой сырья; термически обработанном с последующим обезжириванием сырья 0,017; 0,010; 0,0093 и 0,011% (предел содержания составляет 0,5%⁹). В образцах нативного сырья (эхинацеи пурпурной травы) и настойки, полученной из нативного сырья, обезжириванию не подвергавшихся, гептан не обнаружен.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Предварительное обезжиривание эхинацеи пурпурной травы обработкой малополярными растворителями увеличивает экстракцию ГKK, экстракция значимо и воспроизводимо возрастает при обезжиривании гептаном. Подобраны следующие параметры проведения обезжиривания эхинацеи пурпурной травы: обезжиривающий агент — гептан; соотношение обезжиривающий агент : сырье — 1(г):5(мл); продолжительность обезжиривания — 1 ч; кратность обезжиривания — од-

нократное. Следует отметить, что обезжиренное сырье и настойки, полученные из обезжиренного сырья при разных вариантах предварительной обработки, содержат гептан в количестве меньшем, чем фармакопейная норма содержания данного остаточного растворителя.

Применение предварительной обработки (обезжиривание, термическая обработка и их комбинации) приводило к повышению содержания ГKK в настойках, максимальный выход был зафиксирован при использовании термической обработки. Однако все изучаемые виды предобработки повышали экстракцию ГKK при получении настоек, в том числе обезжиривание, что позволяет рекомендовать их использование в зависимости от материально-технической базы. Выявлено, что разработанный способ с учетом предварительной обработки сырья повышает выход ГKK в два и более раз по сравнению с ранее описанными в литературе способами.

Экспериментально установлены технологические параметры получения настоек из эхинацеи пурпурной травы: объемная доля этанола — 60%; продолжительность мацерации — 7 сут с последующим механическим перемешиванием в течение 60 мин; соотношение сырья и 60% этанола — 1(г):10(мл); степень измельчения сырья — от 500 до 2000 мкм; продолжительность отстаивания вытяжки — не более 3 сут.

Рекомендуется использовать предварительную обработку (обезжиривание, термическую обработку и их комбинации) для разработки новых технологий получения настоек эхинацеи в промышленных условиях с целью обогащения конечной продукции ГKK.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Курс ИЛ, Гурина НС. Анализ номенклатуры лекарственных средств растительного происхождения, зарегистрированных в Республике Беларусь. В кн.: *БГМУ в авангарде медицинской науки и практики*. Т. 9. Минск; 2019. С. 347–53.
Kurs IL, Gurina NS. Analysis of the nomenclature of herbal medicines registered in the Republic of Belarus. In: *BSMU at the forefront of medical science and practice*. V. 9. Minsk; 2019. P. 347–53 (In Russ.).
EDN: [OQISVD](#)
2. Бизунок НА. Эхинацея: ботаника, история, химия, фармакология. *Медицинские новости*. 2006;(4):19–26.
Bizunok NA. Echinacea: botany, history, chemistry, pharmacology. *Medical News*. 2006;(4):19–26 (In Russ.).
3. Лукашов РИ, Веремчук ОА, Моисеева АМ. Обзор рынка фитопрепаратов на основе растений рода эхинацея в Республике Беларусь. *Вестник фармации*. 2015;(3):31–9.
Lukashou RI, Veremchuk OA, Moiseeva AM. Review of the market of phytopreparations on *Echinacea* genus plants basis in the Republic of Belarus. *Bulletin of Pharmacy*. 2015;(3):31–9 (In Russ.).
EDN: [VBTAGR](#)
4. Лукашов РИ. Обезжиривание календулы цветков как способ повышения экстракции флавоноидов. *Вестник фармации*. 2022;(1):48–56.
Lukashou RI. Calendula flowers defatting as a way to increase flavonoid extraction. *Vestnik farmacii*. 2022;(1):48–56 (In Russ.).
EDN: [LVPKJW](#)
5. Лукашов РИ, Гурина НС. Влияние ультразвука на экстракцию флавоноидов из календулы цветков. В кн.: *БГМУ в авангарде медицинской науки и практики*. Т. 10. Минск; 2020. С. 440–5.
Lukashou RI, Gurina NS. Influence of ultrasonic treatment

⁸ Рогожникова ЕП. Совершенствование технологии получения настоек из разного вида лекарственного растительного сырья: дис. ... канд. фарм. наук. М.; 2021.

⁹ ФС 01/2013:50400. Остаточные количества органических растворителей. Государственная фармакопея Республики Беларусь. 2 изд. Т. 1. Минск; 2012.

- of calendula flowers on flavonoid extraction. In: *BSMU at the forefront of medical science and practice*. V. 10. Minsk; 2020. P. 440–5 (In Russ.).
EDN: [OAJEMG](#)
6. Лавшук ВВ. Влияние предварительной термической обработки на содержание гидроксикоричных кислот в одуванчика лекарственного корнях. В кн.: *Молодежь и медицинская наука*. Тверь; 2020. С. 367–70.
Lavshuk VV. The effect of preliminary heat treatment on the content of hydroxycinnamic acids in dandelion roots. *Youth and Medical Science*. Tver; 2020. P. 367–70 (In Russ.).
EDN: [NJJNNW](#)
 7. Вайнштейн ВА, Каухова ИЕ, Амелина ПС, Колдашова ЮА, Минина СА, Иванова АВ. Полиэкстракция травы эхинацеи системами экстрагентов с возрастающей полярностью. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2018;(3):54–63.
Vainshtein VA, Kaukhova IE, Amelina PS, Koldashova YuA, Minina SA, Ivanova AV. Polyextraction of herbs of *Echinacea* by systems of extracents with rising polarity. *Drug Development and Registration*. 2018;(3):54–63 (In Russ.).
EDN: [UYJXVL](#)
 8. Bauer R, Wagner H. *Echinacea: Handbuch für Ärzte Apotheker und andere Naturwissenschaftler*. Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft; 1990.
 9. Куркин ВА, Косарев ВВ, Авдеева ОИ, Авдеева ЕВ, Мизина ПГ, Жестков АВ. Способ получения иммуномодулирующего препарата «Настойка эхинацеи пурпурной». Патент Российской Федерации № 2134584; 1999.
Kurkin VA, Kosarev VV, Avdeeva OI, Avdeeva EV, Mizina PG, Zhestkov AV. Method of preparing immunomodulating preparation “*Echinacea purpurea* tincture”. Patent of the Russian Federation No. 2134584; 1999 (In Russ.).
EDN: [ZRNPUJ](#)

Вклад авторов. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE. Наибольший вклад распределен следующим образом: *Р.И. Лукашов* – выполнение экспериментальных работ, оформление результатов, написание текста рукописи; *Н.С. Гурина* – постановка цели работы, методическое руководство выполнением экспериментальной работы, обсуждение результатов.

Authors' contributions. All the authors confirm that they meet the ICMJE criteria for authorship. The most significant contributions were as follows. *Raman I. Lukashou* conducted the experiments, presented the results, and drafted the manuscript. *Natalia S. Gurina* set the aim for the study, provided methodological guidance for the experiments, and discussed the results.

ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

Лукашов Роман Игоревич, канд. фарм. наук, доцент

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9547-5372>

Гурина Наталия Сергеевна, д-р биол. наук, профессор

ORCID: <https://orcid.org/0009-0009-9150-5728>

Поступила 29.12.2023

После доработки 19.02.2024

Принята к публикации 10.04.2024

Raman I. Lukashou, Cand. Sci. (Pharm.), Associate Professor

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9547-5372>

Natalia S. Gurina, Dr. Sci. (Biol.), Professor

ORCID: <https://orcid.org/0009-0009-9150-5728>

Received 29 December 2023

Revised 19 February 2024

Accepted 10 April 2024