

## Подбор технологических параметров получения галеновых лекарственных форм на основе календулы цветков

*Лукашов Р. И., Гурина Н. С.*

*Учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет»,  
г. Минск, Республика Беларусь*

**Реферат.** Подобраны технологические параметры получения настоек из календулы цветков: объемная доля этанола — 70 %; соотношение сырья и экстрагента — 1 к 5; степень измельчения — 1,2 мм; метод получения — бисмацерация; время выдерживания при температуре не выше 10 °С для осаждения балластных веществ — 2 дня. Получение густых экстрактов следует проводить при отгонке 67 % экстрагента, сухие экстракты рекомендовано получать при 40 °С в течение 60 мин из слоя вытяжки толщиной 2 см. При получении настоек большую эффективность показали моноварианты предварительной обработки сырья, при получении экстрактов — комбинации.

**Ключевые слова:** календула лекарственная, галеновые препараты, предварительная обработка.

**Введение.** Лекарственные формы (ЛФ), полученные путем экстракции из лекарственного растительного сырья (ЛРС), называются галеновыми ЛФ и содержат в своем составе комплекс биологически активных веществ (БАВ) [1]. К ним относят настойки; жидкие, густые и сухие экстракты [2]. Основной задачей при их получении является обогащение конечной продукции действующими



щими веществами, что достигается путем подбора оптимальных параметров технологического процесса экстракции, которые могут быть положены в основу разработки технологии получения галеновых ЛФ. При этом определенное место в процессе их получения занимает предварительное химическое и физическое воздействие на ЛРС с целью дальнейшей интенсификации процесса экстракции [3].

На фармацевтическом рынке Беларуси галеновые ЛФ занимают определенную нишу, включающую в том числе и белорусских производителей [4]. Основной производимой формой является настойка и жидкие экстракты из-за простоты используемого технологического оборудования, низкой энерго- и трудоемкости процесса получения. Достаточно малой популярностью среди белорусских фитопроизводителей пользуется получение густых и сухих экстрактов, которые являются лишь промежуточным звеном при получении готовых лекарственных препаратов, но позволяют концентрировать БАВ в своем составе [2]. Это обусловлено высокой технологической емкостью процесса и жесткими требованиями к безопасности таких производств.

В качестве примера лекарственного растения, из которого налажено получение настоек, но практически не производят сухих экстрактов, можно привести календулу лекарственную. Календулы цветки используют как источник получения репаративных, ранозаживляющих, противовоспалительных, противоязвенных средств [5]. В качестве основных ЛФ календулы используют водные и спиртовые извлечения, а также масляные экстракты.

Одной из причин отсутствия на фармацевтическом рынке ЛФ на основе сухого экстракта календулы может являться то, что само растение содержит жирное масло [6], которое в процессе производства не удаляется и остается в конечном экстракте, обуславливая его низкую сыпучесть и комкование сухих масс.

**Цель работы** — определение эффективных технологических параметров получения галеновых ЛФ на основе календулы цветков.

**Материалы и методы.** Объектом исследования служили календулы цветки промышленных серий (производства ЛРСУП «Можейково», ООО «НПК Биотест» и ООО «Калина») и заготовленные от культивируемых форм на учебно-полевом участке в д. Новое Поле в период массового цветения в середине июля 2020 г. и высушенные воздушно-теневым методом.

В качестве экстрагентов использовали 70%-й ацетон (ч.д.а.) для получения первичной вытяжки и 60–80%-й этанол для получения настойки. Для получения настоек использовали методы мацерации с подбором соотношения сырья и экстрагента, степени измельчения сырья. Для интенсификации процесса настаивания применяли бисмацерацию, ремацерацию, а также комбинировали мацерацию с последующей ультразвуковой экстракцией в течение 45 мин при частоте ультразвуковых колебаний  $22 \pm 1,65$  кГц и экстракцией путем механического перемешивания в течение 1,5 ч.

Оценивали содержание флавоноидов в настойке и первичной вытяжке при получении экстрактов каждый день в течение четырех рабочих дней при их отстаивании при температуре не выше  $10^\circ\text{C}$ . Полученный в результате отстаивания осадок отделяли от жидкости путем фильтрования.

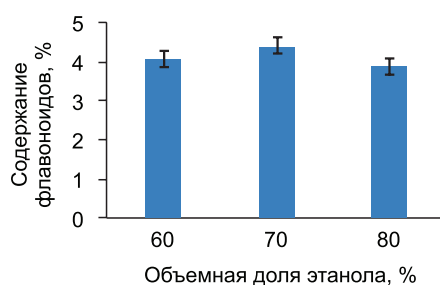
При получении густого экстракта изучали влияние на содержание флавоноидов объема оставшейся после отгонки экстрагента первичной вытяжки. При получении сухих экстрактов определяли минимальное и заданное время получения экстракта при разных температурах и влияние этих параметров на содержание флавоноидов. Кроме того, определяли зависимость количества флавоноидов от толщины слоя отгоняемой первичной вытяжки. Содержание влаги составило не более 25 % для густых и не более 5 % для сухих экстрактов. Сыпучесть сухих экстрактов определяли визуально.

Количественное определение флавоноидов проводили по разработанной в предыдущих исследованиях методике [7].

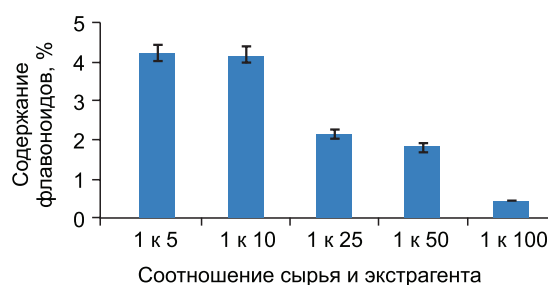
Статистическую обработку данных проводили при помощи пакета «Анализ данных» программы Microsoft Excel 2016. Результаты исследования представляли в виде среднего значения и полуширины его доверительного интервала ( $p = 95\%$ ;  $n = 3$ ). Статистически значимыми считали отличия при  $p < 0,05$  (по  $t$ -критерию Стьюдента).

В качестве референтного препарата использовали 70%-ю настойку производства ОАО «Борисовский завод медицинских препаратов».

**Результаты и их обсуждение.** На первом этапе исследований получали настойки, для чего уточняли объемную долю этанола, обеспечивающую наибольший выход флавоноидов при мацерации (рисунок 1). При этом ранее было показано, что лучшая водно-этанольная экстракция происходит в диапазоне объемных долей: от 60 до 80 % [7], поэтому для изучения выбрали данный диапазон.



**Рисунок 1 — Зависимость содержания флавоноидов от объемной доли этанола**

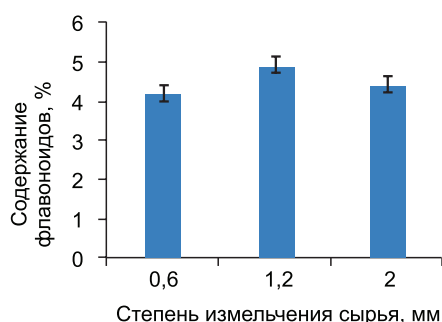


**Рисунок 2 — Влияние соотношения сырья и экстрагента на содержание флавоноидов в настойках**

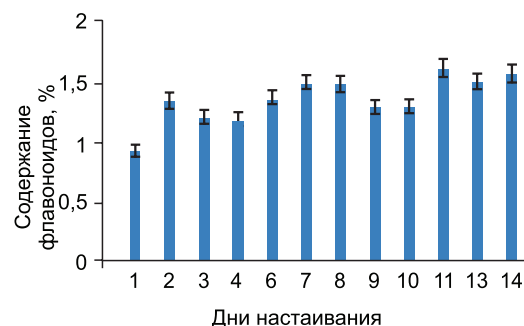
Из рисунка 1 видно, что максимальное извлечение флавоноидов при получении настоек приходилось на 70 % этанол.

При подборе соотношения сырья и 70 % этанола (рисунок 2), степени измельчения сырья (рисунок 3) и продолжительности проведения мацерации (рисунок 4) выявлено, что наибольшее содержание флавоноидов в настойке наблюдали: при соотношении сырья и экстрагента 1:5 и 1:10; степени измельчения сырья — 1,2 мм; в течение 7, 8, 11 и 14 дней настаивания.

Учитывая отсутствие статистически значимых различий ( $p > 0,05$ ) между содержанием флавоноидов при соотношениях 1:5 и 1:10 и между 7, 8, 11 и 14 днями настаивания, а также и экономии экстрагента и времени, процесс мацерации настоек рекомендуется проводить в течение 7 дней при соотношении 1:5, что согласуется с традиционной технологией получения настоек [2].

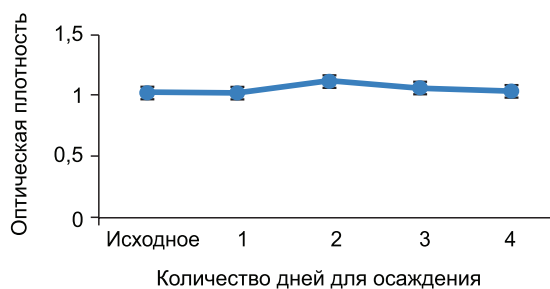


**Рисунок 3 — Влияние степени измельчения сырья на содержание флавоноидов в настойках**

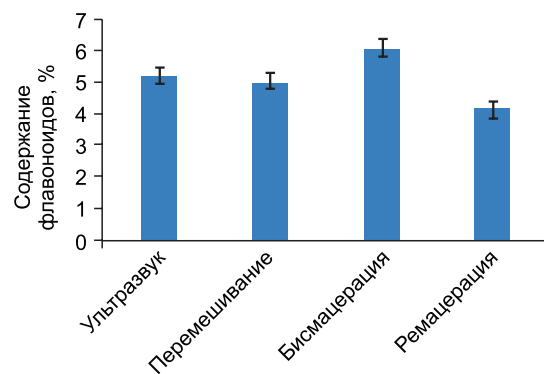


**Рисунок 4 — Влияние количества дней настаивания при мацерации на содержание флавоноидов в настойках**

Затем изучали влияние продолжительности отстаивания при температуре не выше 10 °С для осаждения балластных веществ на содержание флавоноидов (рисунок 5).



**Рисунок 5 — Зависимость оптической плотности от продолжительности отстаивания настойки**



**Рисунок 6 — Влияние способа получения настойки на выход флавоноидов**



На рисунке 5 видно, что в течение четырех дней содержание флавоноидов в настойке практически не изменялось, в первый день наблюдения формировался объемный хлопьевидный осадок и сохранялся на протяжении всего периода отстаивания. Учитывая оба факта, при получении настойки календулы можно рекомендовать ее фильтровать после двух суток хранения, не выдерживая дополнительно более длительный промежуток времени.

Далее для интенсификации процесса мацерации использовали методы с делением сырья и экстрагента на равные части: бисмацерацию, ремацерацию, а также комбинирование мацерации с последующей ультразвуковой экстракцией и механическим перемешиванием (рисунок 6). Наибольшее содержание флавоноидов наблюдали при получении настойки методом бисмацерации, что может быть рекомендовано для промышленного получения настойки календулы.

Влияние предварительной обработки календулы цветов на содержание флавоноидов в настойках изучали на пяти сериях сырья: О — обезжиренное; Т — термически обработанное; О/Т — обезжиренное, затем термически обработанное; Т/О — термически обработанное, затем обезжиренное. В качестве контроля использовали нативное (необработанное) сырье (рисунок 7).

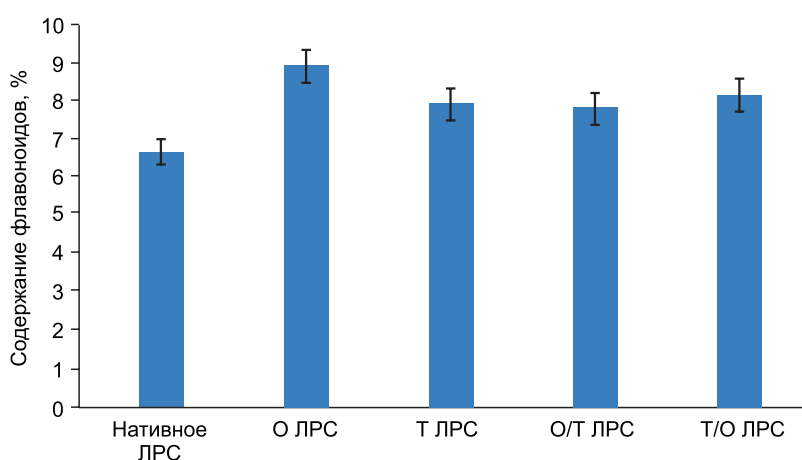


Рисунок 7 — Влияние предварительной обработки ЛРС на содержание флавоноидов в настойках

При всех изученных способах обработки содержание флавоноидов возрастало на 19,1–34,0 % (отн.) по сравнению с настойками из нативного сырья, наибольшее значение выявлено для обезжиренного ЛРС. При этом различные варианты комбинаций обезжиривания и термической обработки дали более низкий результат по сравнению с моновариантами, но более высокий по сравнению с настойками из нативного сырья.

При получении настойки по разработанному способу (бисмацерация по два дня при соотношении обезжиренного сырья и экстрагента 1:5 и степени измельчения сырья 1,2 мм, отстаивании при  $\leq 10^\circ\text{C}$  в течение 2 дней) содержание флавоноидов в два раза выше, чем в референтном препарате ( $4,59 \pm 0,23\%$ ).

Следовательно, для более эффективной экстракции флавоноидов из календулы цветков производители могут выбирать различные способы предварительной обработки, удовлетворяющие их по времени и экономичности.

На втором этапе исследований изучали параметры технологического процесса получения густых экстрактов календулы (рисунок 8).

Наибольшая концентрация флавоноидов при получении густых экстрактов достигается при отгонке 67 % экстрагента от исходного объема

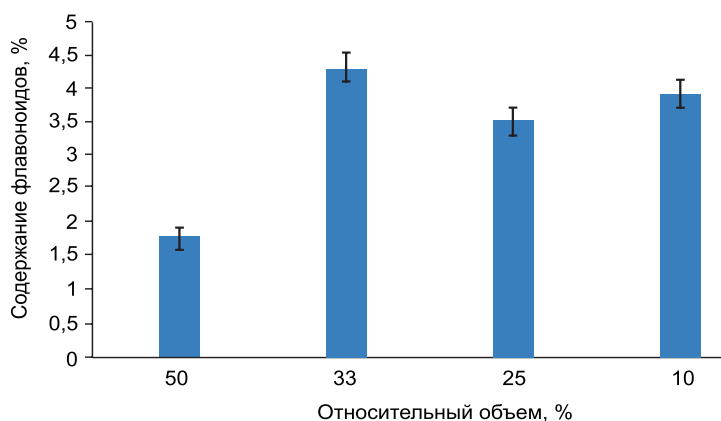
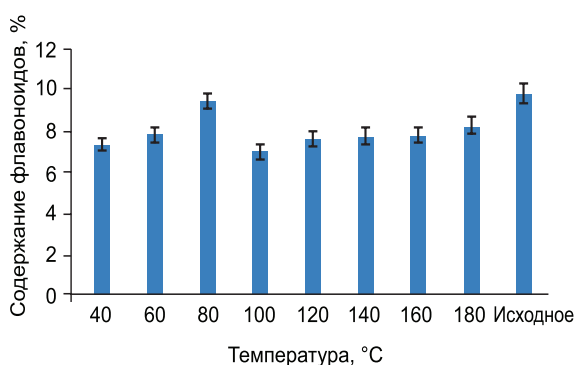


Рисунок 8 — Зависимость содержания флавоноидов от объема вытяжки после отгонки экстрагента

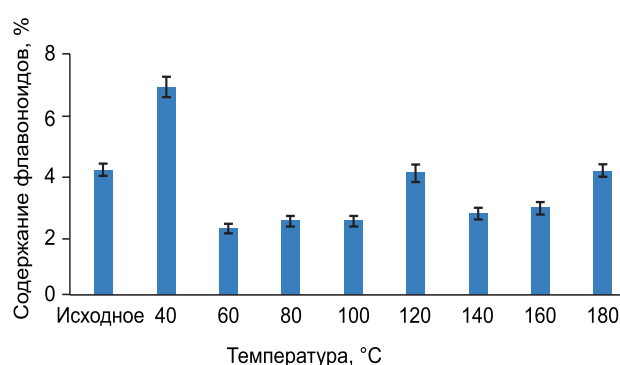
вытяжки, дальнейшая отгонка экстрагента приводила к снижению содержания флавоноидов на 8,9 % (отн.) и 21,8 % (отн.) соответственно.

На третьем этапе исследований получали сухие экстракты при минимальном и заданном времени (60 мин) отгонки экстрагента (рисунки 9 и 10 соответственно).

При отгонке экстрагента в течение от 4 мин до 2 ч за минимальное время для получения сухой массы в зависимости от температуры (рисунок 9) показано, что содержание флавоноидов во всех случаях снижалось по сравнению с исходным значением, что указывало на их термическую деградацию, максимальное значение наблюдали при температуре отгонки 80 °С (на 13,3 % (отн.) больше, чем при отгонке при 180 °С).



**Рисунок 9 — Влияние температуры отгонки экстрагента на содержание флавоноидов при минимальном времени**

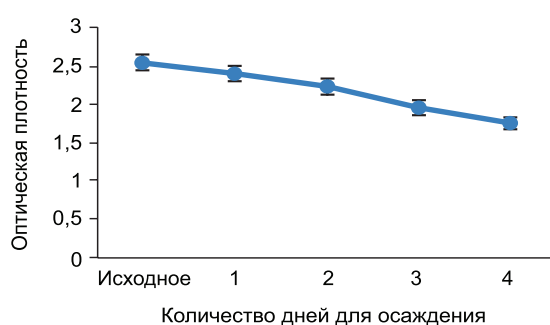


**Рисунок 10 — Влияние температуры отгонки экстрагента на содержание флавоноидов при заданном времени**

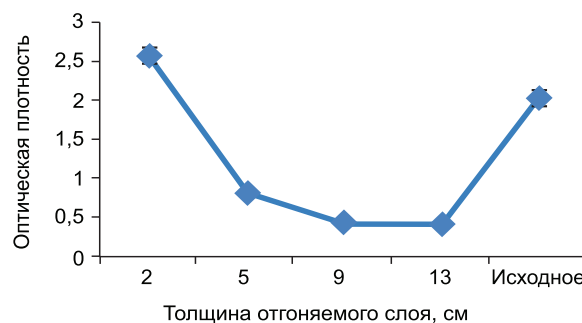
При заданном времени отгонки наблюдали иную зависимость (рисунок 10): наибольшее содержание отмечено при 40 °С, дальнейшее повышение температуры отгонки приводило к резкому (в два раза и более) снижению содержания флавоноидов. Таким образом, отгонку экстрагента при получении сухого экстракта календулы цветков следует проводить при температуре 40 °С в течение 60 мин.

При этом следует отметить, что при 100 °С экстракт вспенивался, а начиная со 140 °С подгорал, что негативно изменяло его органолептические характеристики. При проведении процесса отгонки осадок в сгущаемой вытяжке образовывался практически сразу.

При оценке влияния продолжительности отстаивания первичной вытяжки при температуре не выше 10 °С (рисунок 11) установлено, что в течение четырех дней оптическая плотность системы снижалась, что, вероятно, связано с тем, что практически сразу при выдерживании выпадает обильный осадок, на котором адсорбируются флавоноиды. Поэтому при получении первичной вытяжки для производства сухих экстрактов календулы рекомендуется минимально отстаивать ее при температуре не выше 10 °С.



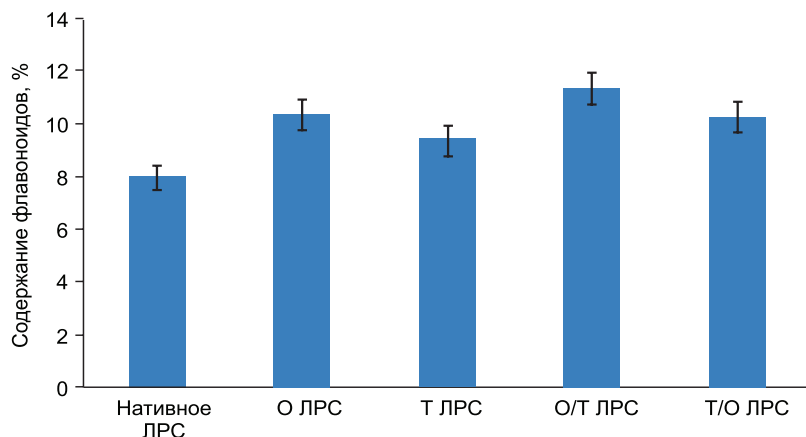
**Рисунок 11 — Зависимость оптической плотности от продолжительности отстаивания первичной вытяжки**



**Рисунок 12 — Влияние толщины отгоняемого слоя вытяжки на содержание флавоноидов**

Изучение толщины отгоняемого слоя первичной вытяжки при получении сухих экстрактов (рисунок 12) выявило, что лучше флавоноиды сохранялись при отгонке слоя в 2 см, что связано с минимальным временем воздействия температурного фактора на экстракт.

Следует отметить, что при получении сухих экстрактов зачастую не получали сыпучих масс в виду присутствия капель жирного масла, которые приводили к их комкованию. Для устранения этого фактора предложено предварительно обрабатывать сырье (рисунок 13), а также обезжировать экстракт на разных стадиях получения: первичная вытяжка, густой и сухой экстракт.



О — обезжиренное; Т — термически обработанное; О/Т — обезжиренное, затем термически обработанное; Т/О — термически обработанное, затем обезжиренное.

**Рисунок 13 — Содержание флавоноидов в сухих экстрактах, полученных из предварительно обработанного ЛРС**

Из рисунка 13 видно, что наибольшее содержание флавоноидов отмечено для экстракта, полученного из ЛРС, подвергнувшегося сначала предварительному обезжириванию, затем термической обработке. При этом все варианты обработки приводили к увеличению содержания флавоноидов от 18,3 % (отн.) до 42,8 % (отн.). При получении сухих экстрактов комбинации вариантов обработки превосходили моноварианты в отличие от настоек. Полученные сухие экстракты не содержали капель жирного масла и обладали лучшей сыпучестью по сравнению с экстрактами из нативного сырья.

Выявлено, что содержание флавоноидов при обезжиривании сухого экстракта снижалось практически в 1,8 раза ( $5,15 \pm 0,25$  %), при обезжиривании густого экстракта — в 2,7 раза ( $1,59 \pm 0,06$  %) и первичной вытяжки — примерно в 30 раз ( $0,59 \pm 0,04$  %). Поэтому рекомендовано обезжировать только ЛРС, а не промежуточные и конечные продукты при получении сухих экстрактов.

Следует обратить внимание, что при переходе от настоек к сухим экстрактам возрастало содержание флавоноидов в продукте по сравнению с данным показателем самого ЛРС, что говорит об обогащении ЛФ данными БАВ, в том числе за счет интенсификации экстракции флавоноидов путем предварительной обработки сырья.

**Заключение.** Подобраны следующие технологические параметры получения настоек из календулы цветков: объемная доля этанола — 70 %; соотношение сырья и экстрагента — 1:5; степень измельчения — 1,2 мм; метод получения — бисмацерация по два дня; время отстаивания при температуре не выше 10 °С — 2 дня. Наибольший выход флавоноидов в настойку приходился на обезжиренное ЛРС. Данные параметры позволили превзойти содержание флавоноидов в два раза по сравнению с референтным препаратом.

Получение густых экстрактов следует проводить при отгонке 67 % растворителя от первоначального объема (или 33 % остаточной вытяжки), сухие экстракты календулы рекомендовано получать в течение 60 мин при 40 °С из слоя толщиной 2 см в зависимости от конкретных производственных условий. Наибольший выход флавоноидов приходился на комбинацию предварительного обезжиривания и термической обработки.

Предварительная обработка сырья в моновариантах и комбинациях показала достаточную эффективность с позиции содержания флавоноидов в полученных ЛФ. При получении настоек наибольшую эффективность имело предварительное обезжиривание ЛРС, при получении сухих экстрактов — комбинация предварительного обезжиривания ЛРС и термической обработки.

Однако во всех случаях любые виды предварительной обработки сырья увеличивали содержание флавоноидов в конечном продукте как при получении настоек, так и густых, и сухих экстрактов.

Исследование поддержано грантом Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований № М20М–059 от 04.05.2020.



### Литература

1. Курс, И. Л. Лекарственные средства растительного происхождения для лечения заболеваний сердечно-сосудистой системы на рынке Республики Беларусь / И. Л. Курс, Н. С. Гурина // Неотложная кардиология и кардиооваскулярные риски. — 2020. — Т. 4, № 2. — С. 1063–1068.
2. Технология лекарств промышленного производства: учебник для студентов высш. учеб заведений: в 2 ч. / В. И. Чуешов, [и др.]. — Винница: Нова Книга, 2014. — Ч. 1. — 696 с.
3. Лукашов, Р. И. Получение экстрактов на основе нативной и предварительно обработанной травы золотарника канадского / Р. И. Лукашов, Н. С. Гурина // Инновации в здоровье нации: сб. материалов VII Всерос. науч.-практ. конф. с международным участием, Санкт-Петербург, 7–8 нояб. 2019 г. — СПб.: СПХФУ, 2019. — С. 272–276.
4. Курс, И. Л. Лекарственные средства растительного происхождения на фармацевтическом рынке Республики Беларусь / И. Л. Курс, Н. С. Гурина // Рецепт. — 2018. — Т. 21, № 5. — С. 636–645.
5. Афанасьева, П. В. Перспективы комплексного использования сырья календулы лекарственной (*Calendula officinalis* L.) / П. В. Афанасьева, А. В. Куркина // Известия Самарского науч. центра Рос. акад. наук. — 2014. — Т. 16, № 5 (2). — С. 980–982.
6. Investigation into the biological activities and chemical composition of *Calendula officinalis* L. growing in Tunisia / G. Rigane [et al.] // Intern. Food. Research J. — 2013. — Vol. 20, № 6. — P. 3001–3007.
7. Лукашов, Р. И. Влияние природы и концентрации органических экстрагентов на извлечение флавоноидов из календулы цветков / Р. И. Лукашов // Вестник Витеб. гос. мед. ун-та. — 2018. — Т. 17, № 5. — С. 109–123.

## Selection of technological parameters for obtaining herbal medicines based on flower *Calendula*

*Lukashou R. I., Gurina N. S.*

*Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus*

The technological parameters for obtaining tinctures from calendula flowers were selected: volume fraction of ethanol — 70 %; the ratio of plant raw materials and extractant — 1 to 5; grinding degree — 1.2 mm; production method — bismaceration; holding time at a temperature not exceeding 10 °C for sedimentation of ballast substances — 2 days. Obtaining thick extracts should be carried out by distilling 67 % of the extractant; it is recommended to obtain dry extracts at 40 °C for 60 minutes from an extract layer 2 cm thick. When obtaining tinctures, monovariants of preliminary processing of plant raw materials showed great efficiency, while obtaining extracts — combinations.

**Keywords:** *Calendula officinalis*, herbal medicines, pretreatment

*Поступила 24.06.2021*