

ФАРМАКОГНОЗИЯ И БОТАНИКА

УДК 66.061.3:615.322:582.943

DOI: <https://doi.org/10.52540/2074-9457.2025.3.10>

В. А. Терлецкая, Р. И. Лукашов

РАЗРАБОТКА ПАРАМЕТРОВ ЭКСТРАКЦИИ СУММЫ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ, ВЕРБАСКОЗИДА И КИСЛОТЫ ХЛОРОГЕНОВОЙ ИЗ РАСТЕНИЙ РОДА *LAMIMUM*, ПРОИЗРАСТАЮЩИХ В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ

Белорусский государственный медицинский университет,
г. Минск, Республика Беларусь

Проведена разработка параметров экстракции биологически активных веществ из травы четырех видов рода *Lamium* (*L. album*, *L. purpureum*, *L. maculatum*, *L. galeobdolon*), произрастающих на территории Республики Беларусь. Оптимизированы условия экстракции суммы фенольных соединений (ФС), вербаскозида и кислоты хлорогеновой путем варьирования продолжительности и кратности экстракции, температуры, соотношения массы сырья и объема экстрагента, степени измельчения сырья. Количественное определение суммы ФС осуществляли спектрофотометрически по реакции с реактивом Фолина-Чокальтеу, кислоты хлорогеновой и вербаскозида – методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Статистическая обработка включала ANOVA-анализ и множественные сравнения по Тьюки. Рекомендованы следующие условия: для *L. album* и *L. purpureum* – двукратная экстракция в течение 45 минут при температуре 80 °С, соотношении сырья и экстрагента 1 : 50 и степени измельчения сырья 1400 мкм; для *L. maculatum* – двукратная экстракция в течение 30 минут при температуре 80 °С, соотношении сырья и экстрагента 1 : 50 и степени измельчения сырья 355 мкм; для *L. galeobdolon* – двукратная экстракция в течение 30 минут при температуре 60 °С, соотношении сырья и экстрагента 1 : 50 и степени измельчения сырья 180 мкм. Диаграммы Парето указывают на приоритетное значение соотношения массы сырья, объема экстрагента и кратности экстракции для выхода целевых биологически активных веществ (БАВ). Разработанные регрессионные модели могут быть использованы для прогнозирования выхода ФС при вариации технологических условий.

Ключевые слова: *Lamium album*, *Lamium purpureum*, *Lamium maculatum*, *Lamium galeobdolon*, оптимизация экстракции.

ВВЕДЕНИЕ

Растения рода *Lamium*, или яснотка (*Lamium album* – яснотка белая, *Lamium purpureum* – яснотка пурпурная, *Lamium maculatum* – яснотка крапчатая, *Lamium galeobdolon* – яснотка зеленчуковая), – перспективный источник БАВ, направленных на лечение заболеваний женской репродуктивной системы. Известно, что водно-спиртовой экстракт *L. album* повышает экспрессию ароматазы в культуре клеток человека [1], бутанольные экстракты *L. album* и *L. purpureum* обладают гемостатическими свойствами *in vivo* [2]. Экстракт *L. maculatum* подавляет *in vitro* пролиферацию клеток рака шейки матки [3]. Хлорогеновая кислота при тамоксифен-индуцированной токсичности восстанавли-

ливает уровни репродуктивных гормонов крыс [4]. Вербаскозид проявляет противоопухолевый эффект в культуре клеток рака яичников [5]. Представляется актуальной разработка оптимальных параметров экстракции суммы ФС, обуславливающих основной спектр фармакологических эффектов [6], с учетом содержания преобладающих маркерных БАВ – вербаскозида и кислоты хлорогеновой [7]. Такой подход позволяет при сопоставимом выходе суммы фенольных соединений (ФС) оценивать эффективность экстракции не только по интегральному показателю, но и по уровню отдельных БАВ, контролируя сохранность их содержания при варьировании технологических параметров.

Ранее проведенные исследования экстракции БАВ из представителей рода

Lamium ограничены по охвату видов, методам анализа и числу исследуемых компонентов. Так, в работе [8] оптимизация условий экстракции *L. album* проводилась только по суммарному содержанию иридоидов с применением ультразвуковой экстракции, которая может вызывать разрушение термолабильных соединений и генерацию свободных радикалов. Дополнительное использование целлюлазы увеличивает себестоимость экстрагирования. В исследовании [9] изучено влияние технологических параметров на выход суммы флавоноидов и гидроксикоричных кислот из *L. album*, однако отсутствуют данные о содержании индивидуальных БАВ, а также использован метод ультразвуковой экстракции с его потенциальными ограничениями. В работе [10] оптимизация проводилась исключительно для *L. purpureum* и только за счет выбора экстрагента. Исследование [11] было ограничено изучением влияния концентрации этанола и времени ультразвуковой экстракции на выход ФС из корней *L. album*. В работе [12] аналогичный подход применялся к фенолкарбоновым кислотам. Также известны методики выделения стеринов из корней *L. album* и *L. purpureum*, а также полисахаридов из шрота данных видов [13]. Таким образом, ранее исследования либо фокусировались на одном виде растения, либо рассматривали ограниченное число компонентов и не включали количественную оценку индивидуальных БАВ современными аналитическими методами. Настоящая работа впервые направлена на оптимизацию условий экстракции суммы ФС, вербаскозида и хлорогеновой кислоты из травы *L. album*, *L. purpureum*, *L. maculatum* и *L. galeobdolon*.

Цель – разработка параметров экстракции (продолжительность, кратность, температура экстракции, соотношение сырья и экстрагента, степень измельчения сырья) для максимизации выхода суммы ФС, вербаскозида и кислоты хлорогеновой из травы *L. album*, *L. purpureum*, *L. maculatum* и *L. galeobdolon* с построением и верификацией регрессионных моделей, описывающих процесс экстракции.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования служила трава *L. album*, *L. purpureum*, *L. maculatum* и

L. galeobdolon, собранная в период массового цветения (апрель–май 2024 г.) в окрестностях г. Минска. Сушку выполняли воздушно-теневым способом. Экстракцию проводили на водяной бане с варьированием следующих параметров: температура – от 20 °С до 100 °С; соотношение сырья (г) и экстрагента (мл) – от 1 : 10 до 1 : 100; кратность экстракции – 1 и 2 раза; продолжительность – от 0,5 до 6 часов; степень измельчения сырья – частицы размером от 90 мкм до частиц, не проходящих через сито (1400).

Для спектрофотометрического определения ФС к 0,10 мл полученного извлечения прибавляли 0,15 мл реактива Фолина-Чокальтеу и 4,75 мл 10% раствора натрия карбоната, доводили до 10,0 мл водой очищенной. Оптическую плотность измеряли через 30 мин при длине волны 760 нм. Компенсационный раствор готовили по аналогичной схеме без добавления извлечения. Содержание ФС определяли в пересчете на хлорогеновую кислоту методом градуировочного графика.

Для хроматографического анализа в качестве подвижной фазы использовали двухкомпонентную систему: *фосфорную кислоту P – воду P* (1:999, об./об.) (фаза А) и *ацетонитрил P* (фаза В). Хроматографическую колонку длиной 250 мм и внутренним диаметром 4,6 мм, заполненную силикагелем октадецилсилильным (C₁₈), термостатировали при температуре 35 °С. Скорость потока подвижной фазы составляла 1,5 мл/мин, объем вводимой пробы – 10 мкл. Использовали диодно-матричное детектирование в диапазоне длин волн 190–800 нм [14]. Идентификацию вербаскозида и хлорогеновой кислоты выполняли путем сравнения времени удерживания и спектра поглощения в ультрафиолетовой области с соответствующими стандартными образцами (Sigma-Aldrich, США). Количественное определение осуществляли с помощью градуировочного графика.

В ходе исследования использовали весы аналитические Explorer EX 125D, баню водяную WB-12, центрифугу лабораторную CM-70M.07, спектрофотометр Solar PB 2201B, жидкостной хроматограф Thermo Scientific UltiMate 3000 Standard.

Все эксперименты выполняли в четырехкратной повторности (n = 4). Результаты представлены в виде среднего значения ± стандартное отклонение. Для сравнения

двух уровней факторов применяли двухвыборочный t-тест (с поправкой Уэлча при неравенстве дисперсий). При анализе трех и более уровней факторов использовали однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) с последующей множественной сравнительной оценкой методом Тьюки (Tukey HSD). Уровень статистической значимости принимали равным $\alpha = 0,05$. Обработку данных проводили с использованием программного обеспечения Minitab Statistical Software [15], MS Excel 365, Statistics Kingdom [16].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На первом этапе подбирали оптимальную температуру экстракции. Однофакторный ANOVA показал значимое влияние температуры на содержание суммы ФС в извлечениях из травы *L. album* ($F=4,053$,

$p=0,020$), *L. purpureum* ($F=5,586$, $p=0,006$), *L. maculatum* ($F = 3,623$, $p = 0,022$), *L. galeobdolon* ($F = 6,817$, $p = 0,002$).

Для извлечений из травы *L. album* и *L. purpureum* максимальный выход БАВ достигался при температуре экстракции 80 °С ($p = 0,017$ и $p = 0,043$ по сравнению с экстракцией при температуре 20 °С и 40 °С соответственно) (рисунок 1).

Аналогично для извлечений из травы *L. purpureum* максимальный выход БАВ достигался при температуре экстракции 80 °С ($p = 0,017$ и $p = 0,019$ по сравнению с экстракцией при температуре 20 °С и 40 °С соответственно) (рисунок 2).

Максимальный выход суммы ФС из травы *L. maculatum* зафиксирован при температурах 60 °С и 80 °С ($p = 0,041$ и $p = 0,034$ соответственно по сравнению с экстракцией при температуре 20 °С). Не наблюдалось статистически значимых

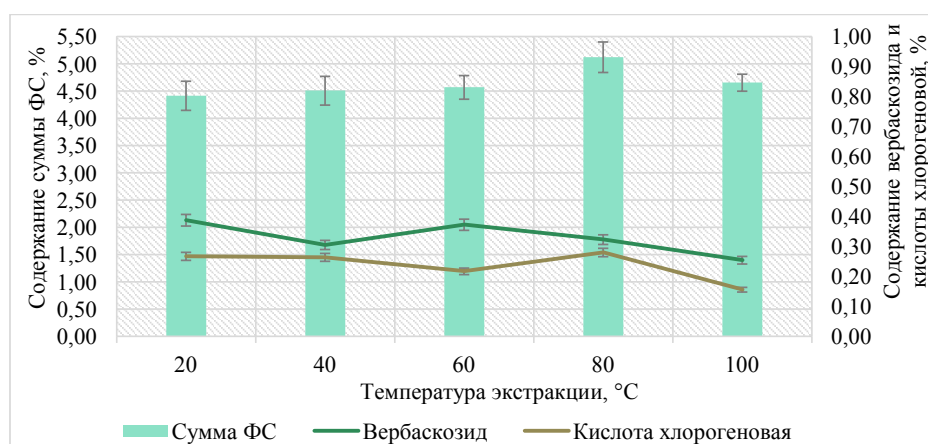


Рисунок 1. – Зависимость содержания суммы ФС, вербаскозида и кислоты хлорогеновой в извлечении из травы *L. album* от температуры экстракции

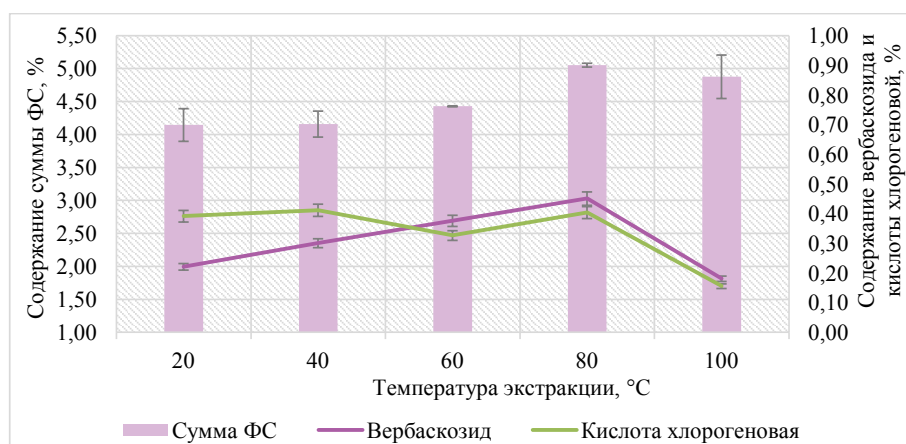


Рисунок 2. – Зависимость содержания суммы ФС, вербаскозида и кислоты хлорогеновой в извлечении из травы *L. purpureum* от температуры экстракции

различий между содержанием суммы ФС при температурах 60 °С и 80 °С, однако содержание вербаскозида было максималь-

но при температуре 80 °С ($p = 0,041$) при сопоставимом содержании хлорогеновой кислоты (рисунок 3).

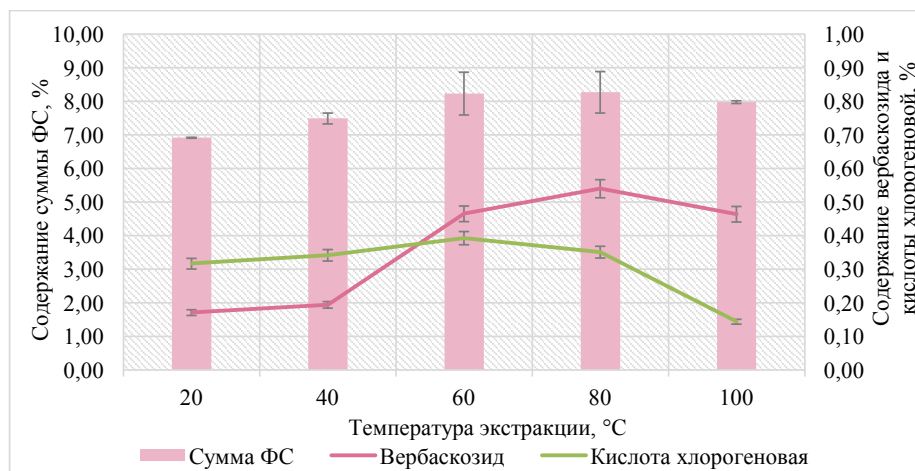


Рисунок 3. – Зависимость содержания суммы ФС, вербаскозида и кислоты хлорогеновой в извлечении из травы *L. maculatum* от температуры экстракции

Для извлечений из травы *L. galeobdolon* наибольший выход суммы ФС отмечен при температурах 60 °С, 80 °С и 100 °С ($p = 0,041$, $p = 0,003$, $p = 0,006$ соответственно по сравнению с экстракцией при температуре 20 °С). Не наблюдалось статистиче-

ски значимых различий между содержанием суммы ФС при температурах 60 °С и 80 °С, однако содержание хлорогеновой кислоты было максимально при температуре 60 °С ($p = 0,036$) при сопоставимом содержании вербаскозида (рисунок 4).

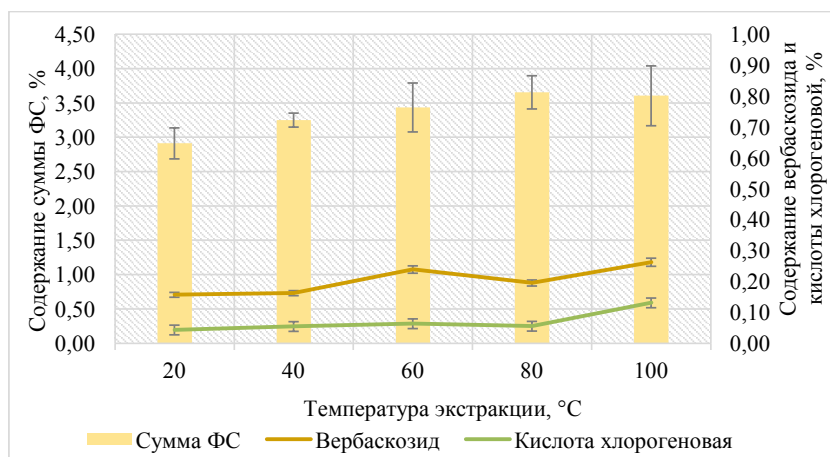


Рисунок 4. – Зависимость содержания суммы ФС, вербаскозида и кислоты хлорогеновой в извлечении из травы *L. galeobdolon* от температуры экстракции

Повышение температуры выше 80 °С приводило к частичной деградации БАВ для всех изученных видов сырья, за исключением *L. galeobdolon*. Рекомендуется температурный режим 80 °С для получения извлечений с максимальным содержанием изучаемых БАВ из травы *L. album*, *L. purpureum*, *L. maculatum* и

60 °С – для получения извлечений из травы *L. galeobdolon*.

На втором этапе изучали влияние продолжительности и кратности экстракции на выход целевых БАВ. Под двукратной экстракцией в течение времени n понимали процесс, при котором растворитель делили на две равные части и последовательно ис-

пользовали для экстракции, при этом суммарное время обеих стадий составляло 2п. Однофакторный ANOVA показал значимое влияние времени и кратности экстракции на содержание суммы ФС в извлечениях из травы *L. album* ($F = 3,200$, $p = 0,038$), *L. purpureum* ($F = 65,765$, $p < 0,001$), *L. maculatum* ($F = 3,914$, $p = 0,016$),

L. galeobdolon ($F = 45,423$, $p < 0,001$).

Наиболее высокое содержание суммы ФС отмечено в экстракте *L. album*, полученном при двукратной экстракции в течение 45 минут ($p = 0,031$, $p = 0,026$, $p = 0,045$, $p = 0,009$ по сравнению с однократной экстракцией при 30 мин, 60 мин, 3 ч, 6 ч соответственно) (рисунок 5).

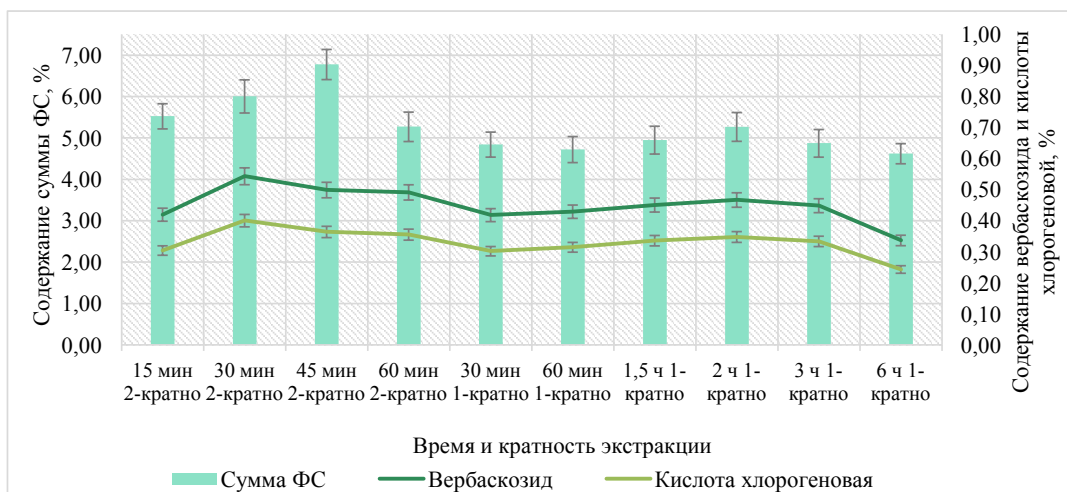


Рисунок 5. – Зависимость содержания суммы ФС, вербаскозида и кислоты хлорогеновой в извлечении из травы *L. album* от продолжительности и кратности экстракции

Максимальное содержание суммы ФС отмечено в экстракте *L. purpureum*, полученном при двукратной экстракции в течение 45 минут и 60 минут ($p < 0,001$ по сравнению с двукратной экстракцией в течение 30 мин, 60 мин, однократной экстракцией в течение 30 мин – 6 ч) (рисунок 6).

течение 30 мин и 45 минут ($p = 0,043$ и $p = 0,025$ соответственно по сравнению с однократной экстракцией в течение 30 мин) (рисунок 7).

Наибольшее содержание суммы ФС обнаружено в экстракте *L. maculatum*, полученном при двукратной экстракции в

В экстракте *L. galeobdolon* наибольшее содержание суммы ФС получено при двукратной экстракции в течение 30 мин, 45 минут ($p < 0,001$ по сравнению с однократной экстракцией в течение 30 мин – 6 ч) (рисунок 8).

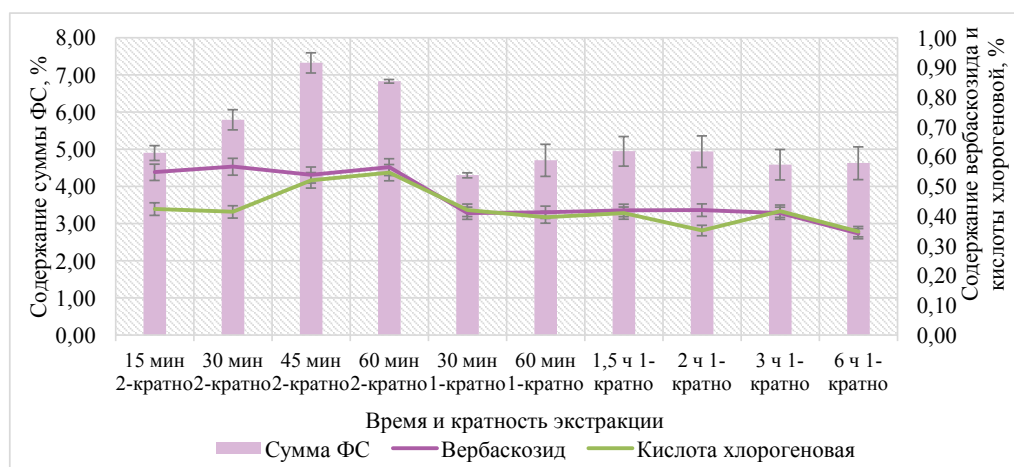


Рисунок 6. – Зависимость содержания суммы ФС, вербаскозида и кислоты хлорогеновой в извлечении из травы *L. purpureum* от продолжительности и кратности экстракции

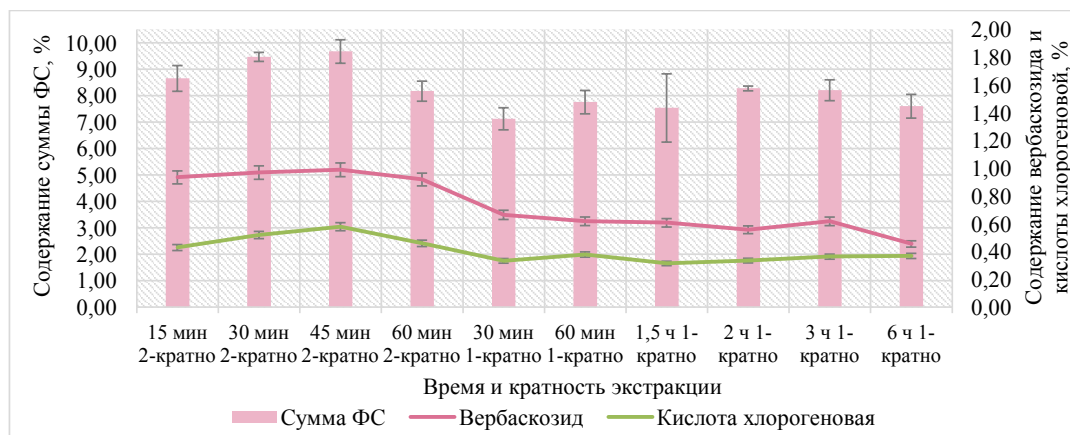


Рисунок 7. – Зависимость содержания суммы ФС, вербаскозида и кислоты хлорогеновой в извлечении из травы *L. maculatum* от продолжительности и кратности экстракции

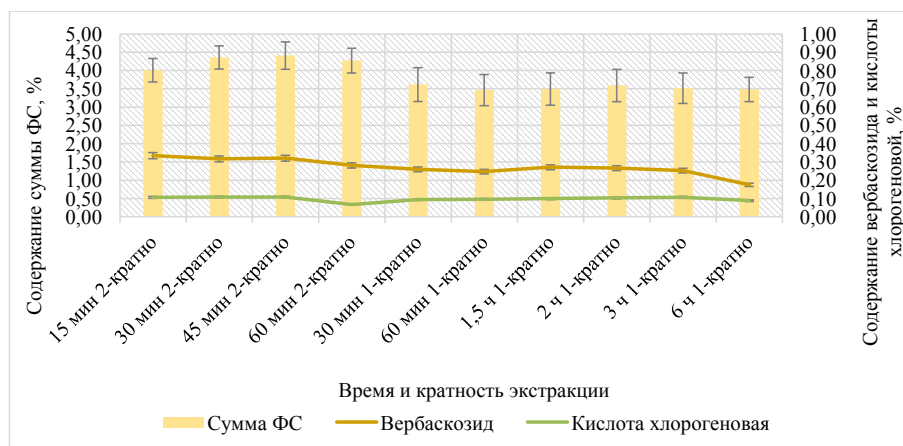


Рисунок 8. – Зависимость содержания суммы ФС, вербаскозида и кислоты хлорогеновой в извлечении из травы *L. galeobdolon* от продолжительности и кратности экстракции

Двукратная экстракция продемонстрировала преимущество перед однократной во всех изученных случаях. Так, двукратная экстракция в течение 45 минут позволяла извлечь в 1,4 раза больше ФС *L. album*, в 1,5 раза больше ФС *L. purpureum*, в 1,3 раза больше ФС *L. maculatum* и *L. Galeobdolon*, чем однократная экстракция в течение 1,5 часа, что соответствует принципу повышения разности концентраций для оптимизации экстракции [17]. Увеличение длительности экстракции более 2 часов не давало статистически значимых преимуществ для повышения содержания ФС, а при экстракции более 3 часов снижалось содержание вербаскозида и кислоты хлорогеновой, предположительно, вследствие их гидролиза. Рекомендуется 2-кратная экстракция в течение 45 минут для извлечения ФС из травы *L. album*,

L. purpureum, 2-кратная экстракция в течение 30 минут для извлечения ФС из травы *L. maculatum* и *L. galeobdolon*.

На третьем этапе исследовали степень измельчения сырья, позволяющую извлечь максимальное количество БАВ. Однофакторный ANOVA показал значимое влияние степени измельчения сырья на содержание суммы ФС в извлечениях из травы *L. album* ($F = 15,319$, $p < 0,001$), *L. purpureum* ($F = 11,704$, $p = 0,028$), *L. maculatum* ($F = 33,873$, $p < 0,001$), *L. galeobdolon* ($F = 148,116$, $p < 0,001$).

Между фракциями *L. album* со степенью измельчения от 90 до 1400 мкм статистически значимых различий в содержании суммы ФС не выявлено, однако во всех этих группах значения были достоверно выше, чем в сырье с частицами, не проходящими через сито (1400) ($p < 0,001$) (рисунок 9).

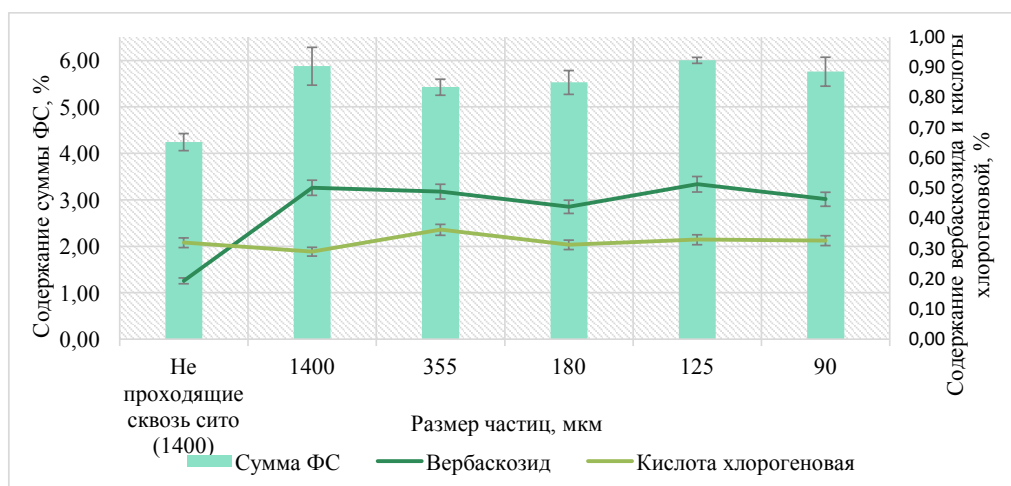


Рисунок 9. – Зависимость содержания суммы ФС, вербаскозида и кислоты хлорогеновой в извлечении из травы *L. album* от размера частиц сырья

Содержание суммы ФС во фракциях *L. purpureum* с размерами частиц 90–1400 мкм не демонстрировало статистически значимых различий, однако перечислен-

ные фракции характеризовались более высоким уровнем ФС по сравнению с сырьем с частицами, не проходящими через сито (1400) ($p = 0,044$) (рисунок 10).

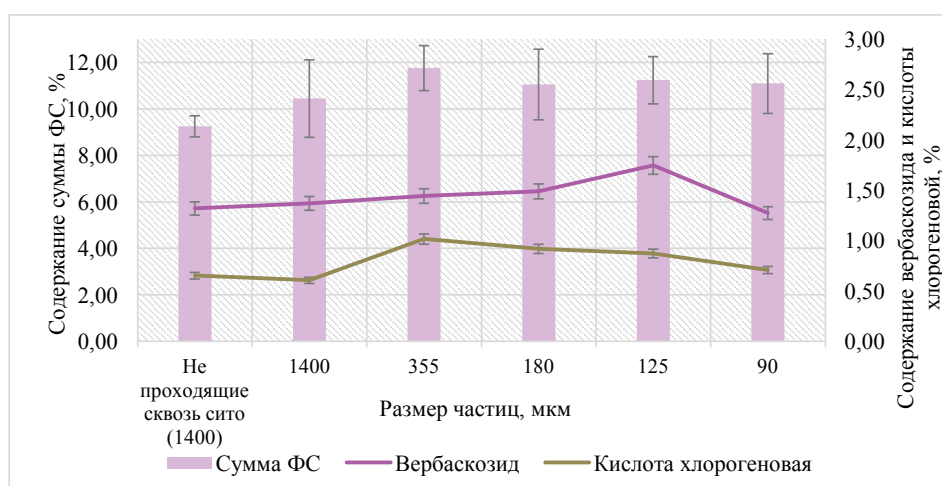


Рисунок 10. – Зависимость содержания суммы ФС, вербаскозида и кислоты хлорогеновой в извлечении из травы *L. purpureum* от размера частиц сырья

Максимальный выход суммы ФС наблюдался из травы *L. maculatum* со степенью измельчения от 90 до 355 мкм ($p < 0,001$ в сравнении с сырьем с размером частиц, не проходящих через сито (1400), $p = 0,035$ в сравнении с сырьем со степенью измельчения 1400 мкм) (рисунок 11).

Для травы *L. galeobdolon* максимальный выход суммы ФС наблюдается при степенях измельчения от 90 до 180 мкм ($p < 0,001$ в сравнении с сырьем со степенью измельчения 1400 мкм) (рисунок 12).

Для экстрактов, полученных из фракции с размером частиц 90 мкм, наблюдается сниженное содержание кислоты хлорогеновой и вербаскозида, что может быть связано с затрудненной сольватацией устойчивой суспензией, образовавшейся из большого числа клеток с разрушенной оболочкой, однако оптическая плотность извлечений не снижается, на что может влиять соэкстракция балластных веществ. Также при одновременном нахождении в измельченном лекарственном раститель-

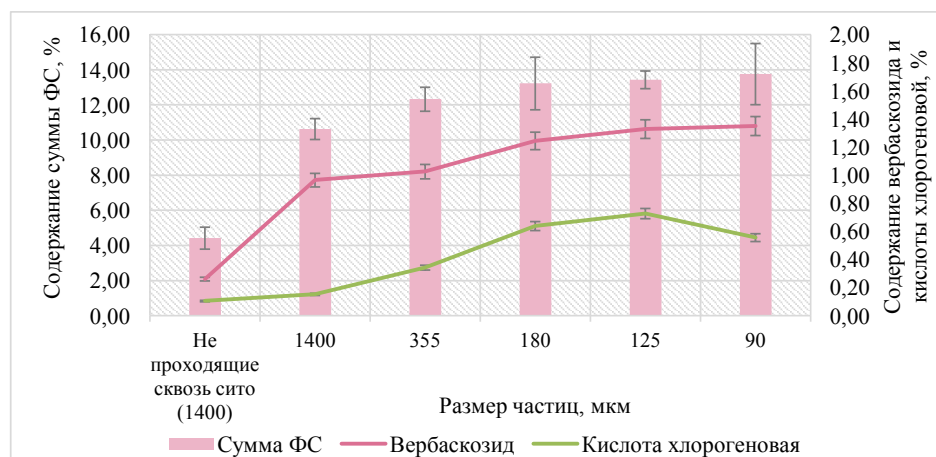


Рисунок 11. – Зависимость содержания суммы ФС, вербаскозида и кислоты хлорогеновой в извлечении из травы *L. maculatum* от размера частиц сырья

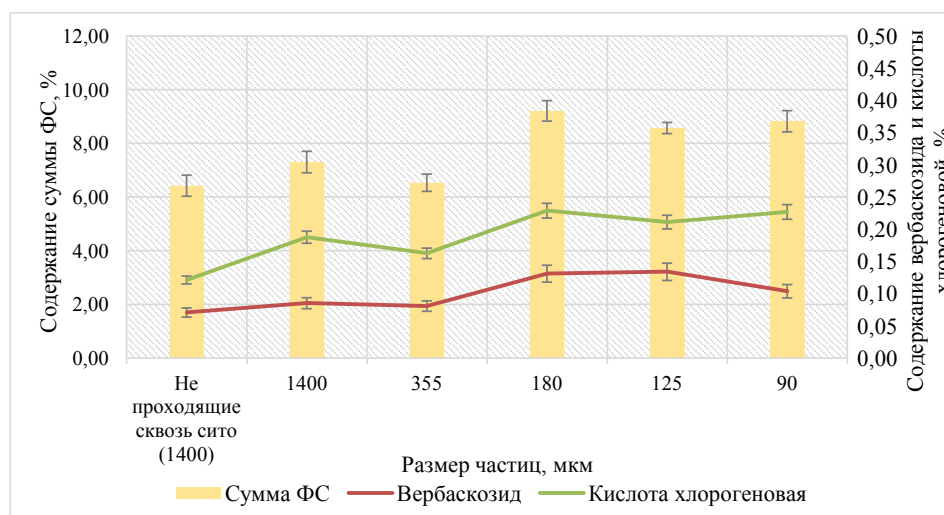


Рисунок 12. – Зависимость содержания суммы ФС, вербаскозида и кислоты хлорогеновой в извлечении из травы *L. galeobdolon* от размера частиц сырья

ном сырье частиц значительно различающегося размера нарушается однородность дозирования, вследствие чего происходит неравномерное экстрагирование БАВ [18]. Рационально рекомендовать следующую степень измельчения сырья: 1400 мкм для травы *L. album*, 355 мкм для травы *L. purpureum* и *L. maculatum*, 180 мкм для травы *L. galeobdolon*, при этом нормировать содержание частиц (90) не более 3% [18].

На четвертом этапе выбрали оптимальное соотношение сырья и экстрагента для экстракции ФС. Однофакторный ANOVA показал значимое влияние степени измельчения сырья на содержание суммы ФС в извлечениях из травы *L. album* ($F = 1682,966$, $p < 0,001$), *L. purpureum* ($F = 102,332$, $p < 0,001$), *L. maculatum*

($F = 648,332$, $p < 0,001$), *L. galeobdolon* ($F = 632,667$, $p < 0,001$) (рисунки 13, 14, 15, 16).

Максимальный выход БАВ наблюдали в извлечениях из травы *L. album*, *L. maculatum*, *L. purpureum*, *L. galeobdolon* при соотношении сырья и экстрагента 1 : 50 и 1 : 100 ($p < 0,001$ в сравнении с соотношением 1 : 10 и 1 : 25). Содержание кислоты хлорогеновой, вербаскозида и ФС на единицу массы сырья последовательно увеличивалось при изменении соотношения от 1 к 10 до 1 к 50. Увеличение соотношения свыше 1 к 50 не приводило к дальнейшему увеличению содержания БАВ. Рекомендуется экстракция БАВ из травы *L. album*, *L. purpureum*, *L. maculatum* и *L. galeobdolon* при соотношении массы сырья и объема экстрагента 1 г к 50 мл.

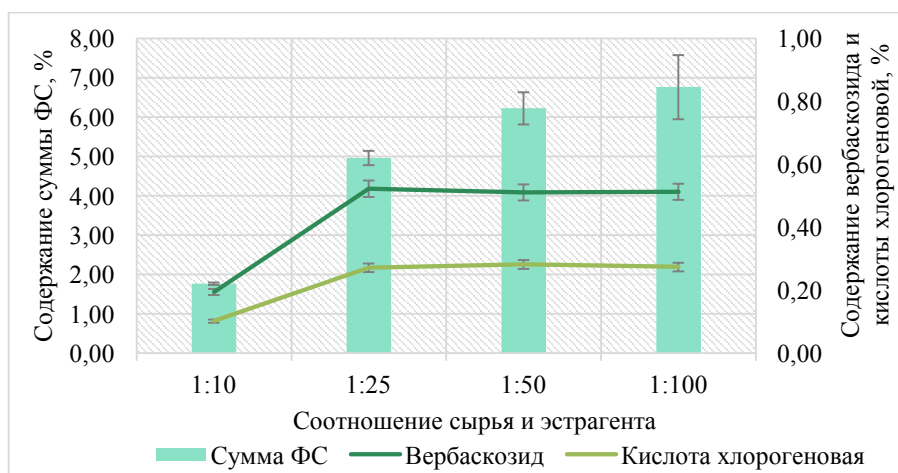


Рисунок 13. – Зависимость содержания суммы ФС, вербаскозида и кислоты хлорогеновой в извлечении из травы *L. album* от соотношения сырья и экстрагента (г к мл)

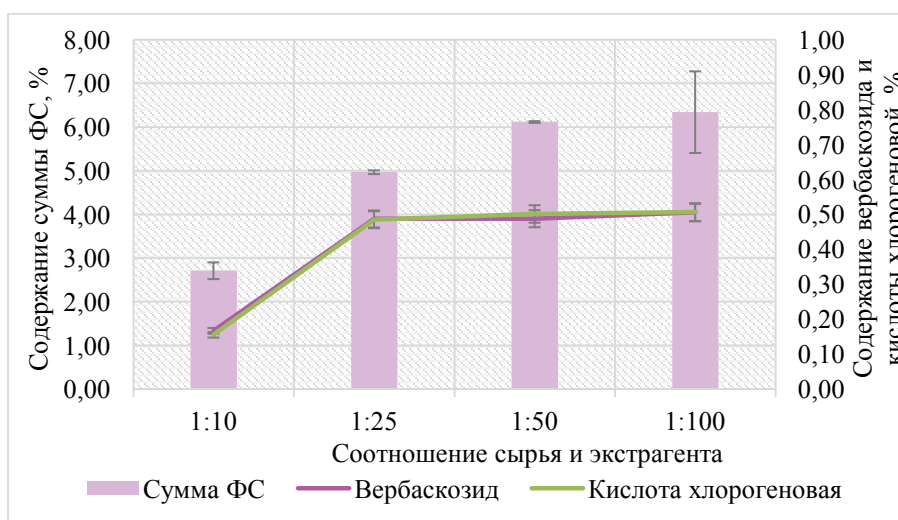


Рисунок 14. – Зависимость содержания суммы ФС, вербаскозида и кислоты хлорогеновой в извлечении из травы *L. purpureum* от соотношения сырья и экстрагента (г к мл)

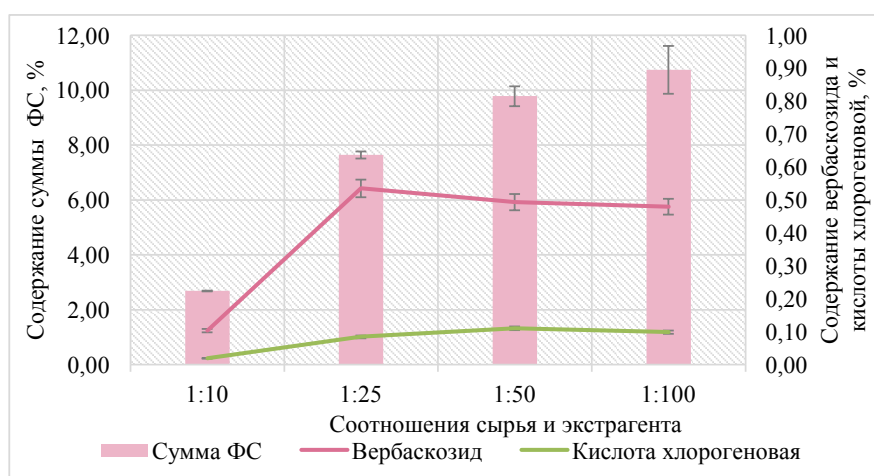


Рисунок 15. – Зависимость содержания суммы ФС, вербаскозида и кислоты хлорогеновой в извлечении из травы *L. maculatum* от соотношения сырья и экстрагента (г к мл)

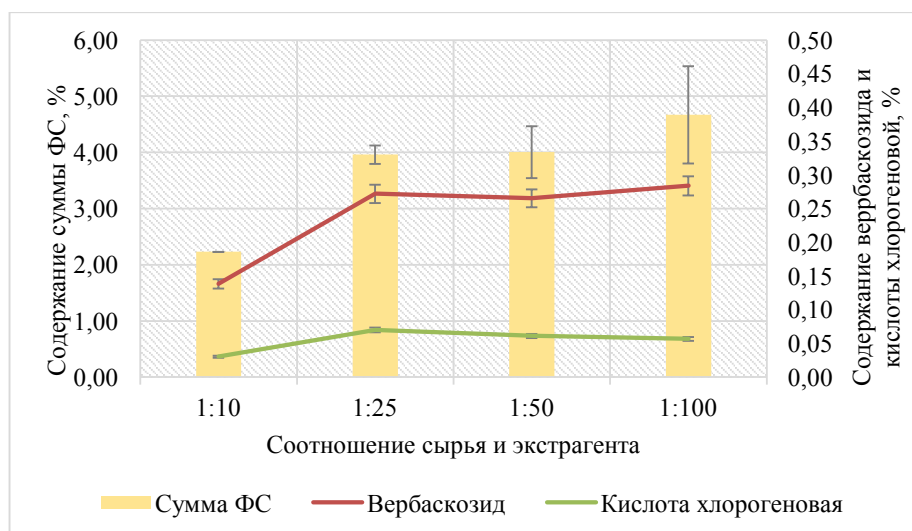


Рисунок 16. – Зависимость содержания суммы ФС, вербаскозида и кислоты хлорогеновой в извлечении из травы *L. galeobdolon* от соотношения сырья и экстрагента (г к мл)

На основании экспериментальных данных и принимая во внимание схожесть зависимости от исследуемых параметров выхода суммы ФС и индивидуальных БАВ, были построены регрессионные модели, описывающие закономерности

содержания суммы ФС в извлечениях из *L. album*, *L. purpureum*, *L. maculatum*, *L. galeobdolon* от продолжительности, кратности, температуры экстракции, измельчения, соотношения сырья и экстрагента (таблица 1).

Таблица 1. – Регрессионные модели, описывающие содержание ФС в извлечениях из *L. album*, *L. purpureum*, *L. maculatum*, *L. galeobdolon*

Растительное сырье	Регрессионное уравнение	Расчетное значение, %	Экспериментально полученное значение, %
<i>L. album</i>	$\text{PhC} = -1,125 - 0,1659 \cdot 1/\text{Time} - 10,94 \cdot 1/\text{Temp} - 0,4062 \cdot \text{Log}(\text{Size}) + 1,943 \cdot \text{Log}(\text{Ratio}) + 0,883 \cdot \text{Mult}$	6,19	6,76
<i>L. purpureum</i>	$\text{PhC} = -22,37 + 7,78 \cdot \text{Log}(\text{Size}) + 3,431 \cdot \text{Mult} + 0,794 \cdot 1/\text{Time} - 37,7 \cdot 1/\text{Temp} - 0,1459 \cdot \text{Ratio}$	8,71	8,34
<i>L. maculatum</i>	$\text{PhC} = 4,36 + 2,026 \cdot \text{Mult} - 2,756 \cdot \text{Log}(\text{Size}) + 4,032 \cdot \text{Log}(\text{Ratio}) + 0,412 \cdot 1/\text{Time} - 36,2 \cdot 1/\text{Temp}$	12,16	11,75
<i>L. galeobdolon</i>	$\text{PhC} = -1,45 + 1,672 \cdot \text{Mult} + 0,666 \cdot \text{Temp} - 38,8 \cdot 1/\text{Temp} - 0,732 \cdot \text{Log}(\text{Size}) + 1,771 \cdot \text{Log}(\text{Ratio})$	5,05	4,61

Примечание: PhC – сумма ФС, Mult – кратность экстракции, Size – степени измельчения сырья, Ratio – соотношение сырья и экстрагента, Temp – температура, Time – продолжительности экстракции.

Таким образом, экспериментально полученное значение отличалось не более, чем на 10% от математически рассчитанного. Для оценки эффективности предложенных регрессионных моделей был проведен дисперсионный анализ (ANOVA) (таблица 2).

Наиболее устойчивые и предсказуемые модели получены для *L. album* и *L. maculatum* с высокими значениями коэффициента детерминации: $R^2 = 76,85\%$

и $77,78\%$. Это свидетельствует о том, что модели объясняют более трех четвертей вариации выхода ФС и обладают высокой внутренней согласованностью и прогностической способностью. Такие показатели позволяют использовать данные модели для масштабирования и оптимизации экстракционных технологий. Модель для *L. purpureum* характеризуется удовлетворительными показателями: $R^2 = 60,45\%$, несмотря на более низкие значения, мо-

Таблица 2. – ANOVA-анализ предложенных регрессионных уравнений

	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)	F-Value	F _{крит}	P-Value
<i>L. album</i>	76,85%	75,41%	72,72%	38,12	2,6458	< 0,001
<i>L. purpureum</i>	60,45%	57,84%	57,01%	23,23		< 0,001
<i>L. maculatum</i>	77,78%	76,32%	74,53%	53,21		< 0,001
<i>L. galeobdolon</i>	45,91%	42,65%	36,65%	14,09		< 0,001

Примечание: R-sq – коэффициент детерминации, R-sq(adj) – скорректированный коэффициент детерминации, R-sq(pred) – предсказанный коэффициент детерминации, F-Value – фактическое значение критерия Фишера, F_{крит} – критическое значение критерия Фишера, P-Value – уровень значимости.

дель остается статистически значимой ($p < 0,05$) и пригодна для описания выхода ФС при ограниченной вариабельности условий. Наименее предсказуемой оказалась модель для *L. galeobdolon* ($R^2 = 45,91\%$). Хотя модель статистически значима ($p < 0,05$), большая часть вариации объясняется, вероятно, наличием в составе данного вида других соединений (иридоиды иных типов, азотсодержащие вещества), влияющих на кинетику экстракции и не учтенных текущими переменными. Для повышения точности необходимы расширение набора предикторов или применение иных моделей. Все модели демонстрируют высокие значения F-критерия, значительно превышающие табличное ($F_{кр} = 2,6458$), что подтверждает их прогностическую значимость. Таким образом, построенные регрессионные уравнения эффективно прогнозируют выход ФС при заданных условиях у *L. album*, *L. maculatum* и *L. purpureum*, в то время как для *L. galeobdolon* требуется дополнительное биохимическое и технологическое исследование.

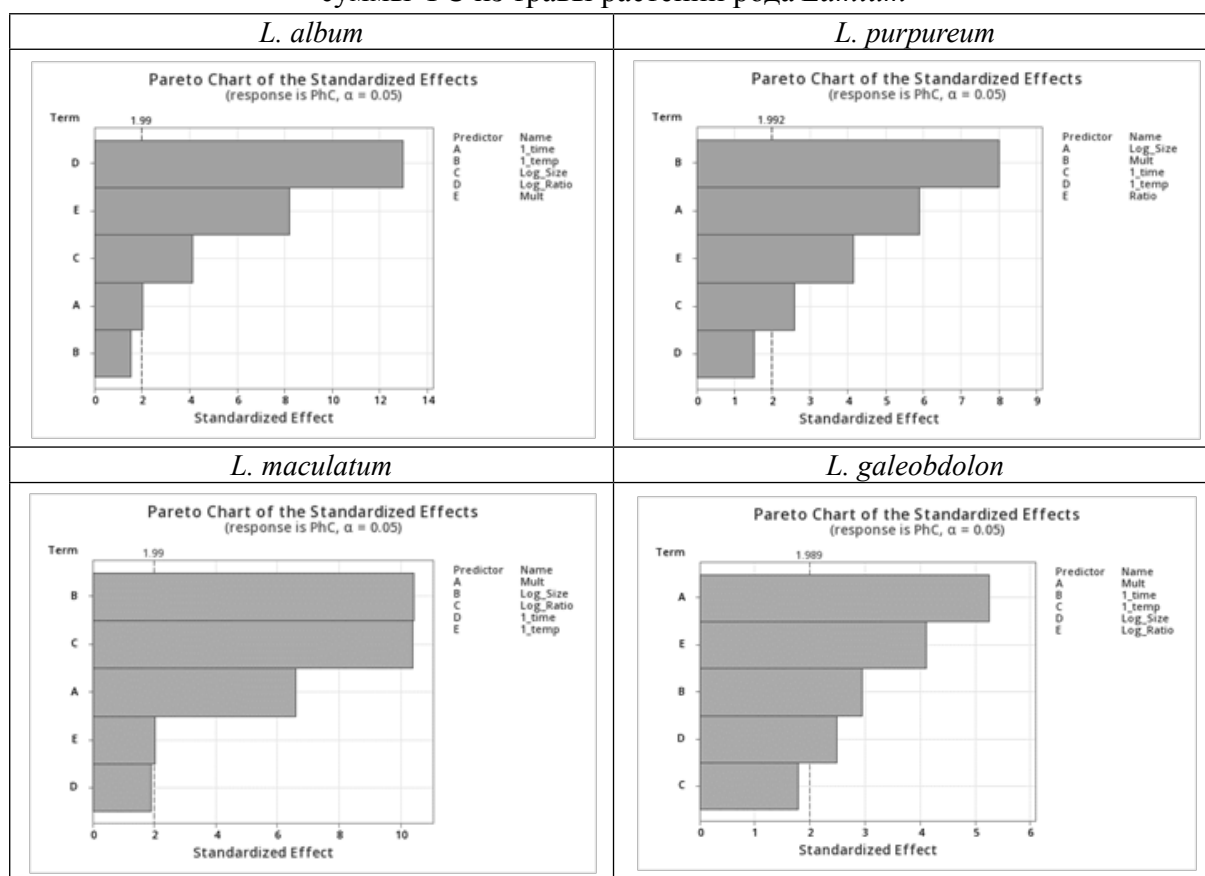
Для оценки относительного вклада факторов в варьирование отклика была построена диаграмма Парето на основании стандартных коэффициентов регрессионной модели. На графике представлены столбцы, соответствующие стандартизированным значениям эффектов факторов, упорядоченные по убыванию, а также критическая линия (таблица 3).

Наибольшее влияние на отклик оказывала кратность экстракции (*L. purpureum*, *L. galeobdolon*) и соотношение сырья и экстрагента (*L. album*, *L. maculatum*), что позволяет рассматривать их в качестве ключевых переменных при оптимизации процесса экстракции. Далее следуют продолжительность экстракции и размер частиц. Несмотря на то, что фактор температура в моделях для всех четы-

рех видов не пересекает критическую границу на диаграммах Парето, его влияние нельзя считать несущественным. Во всех случаях значения p находятся вблизи уровня значимости ($\alpha = 0,05$), особенно у *L. maculatum* ($p = 0,062$) и *L. galeobdolon* ($p = 0,077$), что позволяет рассматривать температуру как погранично значимый фактор, оказывающий влияние на выход ФС в комплексе с иными исследованными факторами.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Выполненное исследование позволило оптимизировать параметры экстракции суммы ФС, вербаскозида и кислоты хлорогеновой из травы *L. album*, *L. purpureum*, *L. maculatum*, *L. galeobdolon* путем варьирования длительности (0,5–6 ч), кратности (1–2 раза), температуры (20–100 °C) экстракции, соотношения массы сырья к объему экстрагента (1 : 10 – 1 : 100) и степени измельчения (90 мкм – 1400 мкм). Экспериментально установлено, что при соотношении сырья и экстрагента 1 : 50 и двукратной экстракции достигается максимум извлечения исследованных БАВ; оптимальная температура и продолжительность варьируют по видам: для *L. album*, *L. purpureum* – 80 °C и 45 мин, для *L. maculatum* – 80 °C и 30 мин, для *L. galeobdolon* – 60 °C и 30 мин. Значительный вклад в выход БАВ вносит степень измельчения: фракции с размером частиц 1400 мкм (*L. album*, *L. purpureum*), 355 мкм (*L. maculatum*), 180 мкм (*L. galeobdolon*) при нормировании содержания частиц сырья с размером 90 мкм обеспечивают наиболее высокую экстрагируемость. Парето-анализ подтверждает, что соотношение массы сырья к объему экстрагента, кратность и размер частиц являются приоритетными факторами оптимизации экстракции. По-

Таблица 3. – Диаграммы Парето нормализованных эффектов для предикторов выхода суммы ФС из травы растений рода *Lamium*

Примечание: Mult – кратность экстракции, Size – степени измельчения сырья, Ratio – соотношение сырья и экстрагента, Temp – температура, Time – продолжительность экстракции, Log – натуральный логарифм величины, 1_ – обратная величина, Standardized Effect – стандартизированный эффект.

строенные регрессионные модели описывают кинетику извлечения адекватно для *L. album* и *L. maculatum*, удовлетворительно для *L. purpureum* и позволяют прогнозировать результаты экстракции при изменении условий.

SUMMARY

V. A. Tsiarletskaia, R. I. Lukashou
DEVELOPMENT OF EXTRACTION
PARAMETERS FOR TOTAL PHENOLIC
COMPOUNDS, VERBASCOSIDE AND
CHLOROGENIC ACID FROM *LAMIUM*
SPECIES GROWING IN THE REPUBLIC
OF BELARUS

Development of the extraction parameters of biologically active compounds from the plant of four *Lamium* species (*L. album*, *L. purpureum*, *L. maculatum*, *L. galeobdolon*) growing in the Republic of Belarus was carried out. The conditions for obtaining total phenolic compounds (PC), verbascoside, and

chlorogenic acid were optimized by varying extraction duration and multiplicity, temperature, solvent-to-raw material ratio and crushing of the plant material. Assay of the total PC was performed spectrophotometrically using the Folin–Ciocalteu reagent, whereas chlorogenic acid and verbascoside were analyzed by high-performance liquid chromatography. Statistical processing included ANOVA-analysis and Tukey's multiple comparisons. The recommended conditions were as follows: for *L. album* and *L. purpureum* – double extraction for 45 min at 80 °C, raw material-to-extraction solvent ratio 1 : 50 and crushing 1400 μm; for *L. maculatum* – double extraction for 30 min at 80 °C, raw material-to-extraction solvent ratio 1 : 50, crushing 355 μm; for *L. galeobdolon* – double extraction for 30 min at 60 °C, raw material-to-extraction solvent ratio 1 : 50, crushing 180 μm. Pareto diagrams point to the predominant influence of raw material weight, extraction solvent volume and extraction multiplicity ratio for the yield of

targeted biologically active compounds. The developed regression models may be used to predict phenolic yields under varying technological conditions.

Keywords: *Lamium album*, *Lamium purpureum*, *Lamium maculatum*, *Lamium galeobdolon*, extraction optimization.

ЛИТЕРАТУРА

1. Patent EP 1 604 676 A2. Aromatase transcription activators extracts : filing date 06.06.2005 : publ. date 14.12.2005 / Kakuo S., Moriwaki S., Ohuchi A., Kusuoku H. ; applicant Kao Corporation. – 15 p.

2. Bubueanu, C. Haemostatic activity of butanolic extracts of *Lamium album* and *Lamium purpureum* aerial parts / C. Bubueanu, R. Iuksel, M. Panteli // Acta pharmaceutica. – 2019. – Vol. 69, N 3. – С. 443–449. – DOI: 10.2478/acph-2019-0026.

3. Патент ВУ 24640. Способ получения фитоэкстракта с цитостатической активностью : заявлено 07.05.2024 : опубл. 20.07.2025 / Р. И. Лукашов, В. А. Терлецкая ; заявитель Белорусский государственный медицинский университет. – 6 с.

4. Chlorogenic acid co-administration abates tamoxifen-mediated reproductive toxicities in male rats: An experimental approach / S. E. Owumi, R. A. Anaikor1, U. O. Arunsi [et al.] // Journal of food biochemistry. – 2021. – Vol. 45, N 2. – P. e13615. – DOI: 10.1111/jfbc.13615.

5. The Anti-Tumor Efficacy of Verbascoside on Ovarian Cancer via Facilitating CCN1-AKT/NF-κB Pathway-Mediated M1 Macrophage Polarization / Y. Ren, J. He, W. Zhao, Y. Ma // Frontiers oncology. – 2022. – Vol. 12. – P. 901922. – DOI: 10.3389/fonc.2022.901922.

6. Yalçın, F. N. Ethnobotany, Pharmacology and Phytochemistry of the Genus *Lamium* (Lamiaceae) / F. N. Yalçın, D. Kaya // FABAD journal of pharmaceutical sciences. – 2006. – Vol. 31. – С. 43–52.

7. Терлецкая, В. А. Сравнительный анализ компонентного состава растений рода *Lamium* методом высокоэффективной жидкостной хроматографии / В. А. Терлецкая, Р. И. Лукашов // Вестник фармации. – 2024. – № 4. – С. 55–65. – DOI: 10.52540/2074-9457.2024.4.55.

8. Hejazi Kojoori, S. M. Simultaneous Optimization of Ultrasound Pretreatment Extraction of Polyphenols Using Response Surface Methodology from *Lamium album* L. / S. M. Hejazi Kojoori, R. S. Moazeni-Pourasil, M. K. Rofouei // Journal of natural compounds chemistry. – 2022. – Vol. 1, N 1. – P. 16–26. – DOI: 10.22092/JNCC.2023.129073.

9. Use of Secondary Metabolites Profiling and Antioxidant Activity to Unravel the Differences between Two Species of Nettle / J. Baumli, N. Antal, D. Casoni, C. Cimpoiu // Plants. – 2023. – Vol. 12, N 18. – P. 3233. – DOI: 10.3390/

plants12183233.

10. Effects of solvent extraction system on antioxidant activity of *Lamium purpureum* L. / S. M. Grujić, A. M. Džamić, V. D. Mitić [et al.] // Hemijska industrija. – 2017. – Vol. 71, N 5. – P. 361–370. – DOI: 10.2298/HEMIND160518047G.

11. Ramanauskaitė, E. Baltosio lamijos (*Lamium album* L.) šaknų fenolinių junginių ir antioksidacinio aktyvumo tyrimas : disertacija... farmacijos mokslų magistro laipsniui gauti / Egle Ramanauskaitė ; Lietuvos sveikatos mokslų universitetas. – Kaunas, 2021. – 48 l.

12. Kedite, S. Fenolio rūgštys ir flavonoidai baltojoje negyvojoje dilgėleje (*Lamium album* L.) : disertacija... farmacijos mokslų magistro laipsniui gauti / S. Kedite ; Lietuvos sveikatos mokslų universitetas. – Kaunas, 2017. – 49 l.

13. Петухова, Н. М. Комплексная технология препаратов на основе травы яснотки белой и яснотки пурпурной : автореф. дис. ... канд. фармацевт. наук : 15.00.01 / Петухова Надежда Михайловна ; С.-Петерб. гос. хим.-фармацевт. акад. – Санкт-Петербург, 2009. – 29 с.

14. Государственная фармакопея Республики Беларусь (ГФ РБ II) : разработ. на основе Европ. Фармакопеи : в 2 т. : введ. в действие с 1 июля 2016 г. приказом М-ва здравоохранения Респ. Беларусь от 31.03.2016 г. № 270. – Т. 2: Контроль качества субстанций для фармацевтического использования и лекарственного растительного сырья / М-во здравоохранения Респ. Беларусь, Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении ; [под общ. ред. С. И. Марченко]. – Молодечно : Победа, 2016. – 1368 с.

15. Minitab Statistical Software // Minitab : [website]. – URL: <https://www.minitab.com/> (date of access: 19.08.2025).

16. Statistics Kingdom : [website]. – URL: <https://www.statskingdom.com/> (date of access: 19.08.2025).

17. Дубашинская, Н. В. Некоторые особенности экстрагирования лекарственного растительного сырья (часть I) / Н. В. Дубашинская, О. М. Хишова, О. М. Шимко // Вестник фармации. – 2006. – № 3. – С. 62–72.

18. Современные требования к контролю качества лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов по показателю «Измельченность» / Е. Л. Ковалева, В. В. Шелестова, Л. Н. Фролова [и др.] // Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств. – 2020. – Т. 10, № 4. – С. 218–227. – DOI: 10.30895/1991-2919-2020-10-4-218-227.

REFERENCES

1. Kakuo S, Moriwaki S, Ohuchi A, Kusuoku H, inventors; Kao Corporation, assignee. Aromatase transcription activators extracts. Patent EP 1 604 676 A2. 2005 Dec 14. 15 p

2. Bubueanu C, Iuksel R, Panteli M. Haemostatic activity of butanolic extracts of *Lamium album* and *Lamium purpureum* aerial parts. *Acta Pharm.* 2019;69(3):443–9. doi: 10.2478/acph-2019-0026
3. Lukashov RI, Terletskaia VA, izobretateli; Belorusskii gosudarstvennyi meditsinskii universitet, pravopreemnik. Method for obtaining a phytoextract with cytostatic activity. Patent BY 24640. 2025 Iiul' 20. 6 s. (In Russ.)
4. Owumi SE, Anaikorl RA, Arunsi UO, Adaramoye OA, Oyelere AK. Chlorogenic acid co-administration abates tamoxifen-mediated reproductive toxicities in male rats: An experimental approach. *J Food Biochem.* 2021;45(2):e13615. doi: 10.1111/jfbc.13615
5. Ren Y, He J, Zhao W, Ma Y. The Anti-Tumor Efficacy of Verbascoside on Ovarian Cancer via Facilitating CCN1-AKT/NF-κB Pathway-Mediated M1 Macrophage Polarization. *Front Oncol.* 2022;12:901922. doi: 10.3389/fonc.2022.901922
6. Yalçın FN, Kaya D. Ethnobotany, Pharmacology and Phytochemistry of the Genus *Lamium* (Lamiaceae). *FABAD J Pharm Sci.* 2006;31:43–52
7. Terletskaia VA, Lukashov RI. Comparative analysis of the component composition of plants of the genus *Lamium* by high-performance liquid chromatography. *Vestnik farmatsii.* 2024;(4):55–65. doi: 10.52540/2074-9457.2024.4.55 (In Russ.)
8. Hejazi Kojoori SM, Moazeni-Pourasil RS, Rofouei MK. Simultaneous Optimization of Ultrasound Pretreatment Extraction of Polyphenols Using Response Surface Methodology from *Lamium album* L. *Journal of Natural Compounds Chemistry.* 2022;1(1):16–26. doi: 10.22092/JNCC.2023.129073
9. Baumli J, Antal N, Casoni D, Cimpoi C. Use of Secondary Metabolites Profiling and Antioxidant Activity to Unravel the Differences between Two Species of Nettle. *Plants (Basel).* 2023;12(18):3233. doi: 10.3390/plants12183233
10. Grujić SM, Džamić AM, Mitić VD, Stankor-Jovanovic V, Marin PD, Stojanovic GS. Effects of solvent extraction system on antioxidant activity of *Lamium purpureum* L. *Hem Ind.* 2017;71(5):361–70. doi: 10.2298/HEMIND160518047G
11. Ramanauskaitė E. Baltosio lamijos (*Lamium album* L.) šaknų fenolinių junginių ir antioksidacinio aktyvumo tyrimas [Study of Phenolic Compounds and Antioxidant Activity in the Roots of White Dead-nettle (*Lamium album* L.)] [master's thesis]. Kaunas, Lietuva: Lietuvos sveikatos mokslų universitetas; 2021. 48 p. (Lithuanian)
12. Kedite S. Fenolio rūgštys ir flavonoidai baltojoje negyvojoje dilgėlėje (*Lamium album* L.) [Phenolic Acids and Flavonoids in White Dead-nettle (*Lamium album* L.)] [master's thesis]. Kaunas, Lietuva: Lietuvos sveikatos mokslų universitetas; 2017. 49 p. (Lithuanian)
13. Petukhova NM. Complex technology of preparations based on the *L. album* herb and *L. purpureum* herb: avtoref dissertatsii ... kand farmatsevt nauk: 15.00.01. Sankt-Peterburg, RF; 2009. 29 s. (In Russ.)
14. Ministerstvo zdavookhraneniia Respubliki Belarus; Tsentr ekspertiz i ispytaniia v zdavookhraneniia. State Pharmacopoeia of the Republic of Belarus: v 2 t. T. 2. Quality control of substances for pharmaceutical use and medicinal herbal raw materials. Marchenko SI, redactor. Molodechno, RB: Pobeda; 2016. 1368 s. (In Russ.)
15. Minitab Statistical Software. Minitab: [website]. URL: <https://www.minitab.com/> (date of access: 19.08.2025)
16. Statistics Kingdom: [website]. URL: <https://www.statskingdom.com/> (date of access: 19.08.2025)
17. Dubashinskaia NV, Khishova OM, Shimko OM. Some features of extraction of medicinal plant raw materials (part I). *Vestnik farmatsii.* 2006;(3):62–72. (In Russ.)
18. Kovaleva EL, Shelestova VV, Frolova LN, Bondarenko OV, Nikolaeva OB, Kuteinikov VYu. Modern requirements for quality control of medicinal plant raw materials and medicinal herbal preparations based on the "Greater fineness" indicator. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniia. Regulatornye issledovaniia i ekspertiza lekarstvennykh sredstv.* 2020;10(4):218–27. doi: 10.30895/1991-2919-2020-10-4-218-227. (In Russ.)

Адрес для корреспонденции:

220083, Республика Беларусь,
г. Минск, пр-т Дзержинского, 83,
лабораторный корпус, 15,
УО «Белорусский государственный
медицинский университет»,
тел. 8(017)2794217,
e-mail: pharmtic@bsmu.by,
Терлецкая В. А.

Поступила 09.09.2025 г.