ISSN 2074-9414 (Print)
ISSN 2313-1748 (Online)

https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-4-2468
https://elibrary.ru/EWLVJD

Обзорная статья
https://fptt.ru

Методы экстракции иммуномодуляторов растительного происхождения

О. В. Козлова[1], Н. С. Величкович[1], Е. Р. Фасхутдинова[1,*], О. А. Неверова[1], А. Н. Петров[2]

[1] *Кемеровский государственный университет, Кемерово, Россия*

[2] *Российский биотехнологический университет, Москва, Россия*

Поступила в редакцию: 31.05.2023
Принята после рецензирования: 26.06.2023
Принята к публикации: 04.07.2023

**Е. Р. Фасхутдинова: faskhutdinovae.98@mail.ru, https://orcid.org/0000-0001-9711-2145*
О. В. Козлова: https://orcid.org/0000-0002-2960-0216
Н. С. Величкович: https://orcid.org/0000-0002-9061-1256
О. А. Неверова: https://orcid.org/0000-0001-7921-0569
А. Н. Петров: https://orcid.org/0000-0001-9879-482X

© О. В. Козлова, Н. С. Величкович, Е. Р. Фасхутдинова, О. А. Неверова, А. Н. Петров, 2023

Аннотация.
Воздействие вредных факторов на иммунную систему человека может провоцировать развитие различных заболеваний. Для поддержания нормального функционирования иммунной системы разработаны особые вещества – иммуномодуляторы. Перспективными иммуномодуляторами являются биологически активные вещества (БАВ) лекарственных растений, для извлечения которых используется метод экстракции. Цель работы – обзор методов экстрагирования БАВ-иммуномодуляторов из растительного сырья.
Объектом исследования являлись научные и обзорные статьи по теме исследования, опубликованные с 2019 по 2023 гг. и индексируемые в российских и зарубежных базах данных Scopus, Web of Science и eLIBRARY.RU. Поиск осуществлялся на английском и русском языках.
Эффективность процесса экстракции зависит от множества факторов: выбора растворителя, температуры и размера частиц. Ключевую роль играет выбор метода экстракции. К традиционным методам экстракции относят перколяцию, мацерацию, экстракцию Сокслета, экстракцию тепловым рефлюксом и отвар; они характеризуются большим расходом растворителя, высокой стоимостью процесса и т. д. Для устранения недостатков традиционных методов разработаны современные методы экстракции – сверхкритическая экстракция, экстракция под действием микроволн, ультразвуковая экстракция и экстракция под давлением. Для извлечения БАВ из женьшеня настоящего (*Panax ginseng*) в научных работах используются современные методы экстракции, из люцерны посевной (*Medicago sativa*) – экстракция углекислым газом. Также этот метод применяют для выделения полифенола кверцетина из плодов айвы (*Cydonia oblonga*). Мацерацию с растворителем метанолом используют для получения экстрактов из таволги вязолистой (*Filipendula ulmaria*). Экстракцию Сокслета применяют для извлечения БАВ из скумпии кожевенной (*Cotinus coggygria*), пальчатокоренника пятнистого (*Dactylorhiza maculata*) и любки зелёноцветной (*Platanthera chlorantha*).
Традиционные и современные методы экстракции находят свое применение и активно используются для получения экстрактов растений, содержащих биологически активные вещества иммуномодулирующего действия.

Ключевые слова. Лекарственные растения, биологически активные вещества, иммуномодуляторы, экстракция, методы экстракции, растворитель

Финансирование. Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда (РНФ), грант № 23-16-00113.

Для цитирования: Методы экстракции иммуномодуляторов растительного происхождения / О. В. Козлова [и др.] // Техника и технология пищевых производств. 2023. Т. 53. № 4. С. 680–688. https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-4-2468

https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-4-2468
https://elibrary.ru/EWLVJD

Review article
Available online at https://fptt.ru/en

Methods for Extracting Immune-Response Modulating Agents of Plant Origin

Oksana V. Kozlova[1], Natalia S. Velichkovich[1], Elizaveta R. Faskhutdinova[1,*], Olga A. Neverova[1], Andrey N. Petrov[2]

[1] *Kemerovo State University, Kemerovo, Russia*

[2] *Russian Biotechnological University, Moscow, Russia*

Received: 31.05.2023
Revised: 26.06.2023
Accepted: 04.07.2023

** Elizaveta R. Faskhutdinova: faskhutdinovae.98@mail.ru, https://orcid.org/0000-0001-9711-2145*
Oksana V. Kozlova: https://orcid.org/0000-0002-2960-0216
Natalia S. Velichkovich: https://orcid.org/0000-0002-9061-1256
Olga A. Neverova: https://orcid.org/0000-0001-7921-0569
Andrey N. Petrov: https://orcid.org/0000-0001-9879-482X

© O.V. Kozlova, N.S. Velichkovich, E.R. Faskhutdinova, O.A. Neverova, A.N. Petrov, 2023

Abstract.
Numerous adverse factors may violate the human immune system and trigger various diseases. Immune-response modulating agents, or immunomodulators, help the immune system to function properly. Biologically active substances extracted from medicinal plants are especially promising in this respect. The article reviews traditional and novel methods for extracting biologically active immune-response modulating agents from plant raw materials.
The review covered articles published in English and Russian in 2019–2023 and indexed in Scopus, Web of Science, and eLIBRARY.
Extraction efficiency depends on such factors as solvent, temperature, and particle size, but the method is the most important one. Traditional extraction methods include percolation, maceration, Soxhlet extraction, heat reflux extraction, and decoction. However, they are solvent-consuming and expensive. Modern extraction methods rely on carbon dioxide, microwave treatment, ultrasonic processing, and pressure. They proved quite efficient in extracting biologically active substances from ginseng (*Panax ginseng*). Carbon dioxide, or supercritical, extraction was able to isolate polyphenol quercetin from quince fruit (*Cydonia oblonga*) and other biologically active substances from alfalfa (*Medicago sativa*). Maceration with methanol was applied to meadowsweet (*Filipendula ulmaria*) while Soxhlet extraction proved especially effective with smoke tree (*Cotinus coggygria*), moorland spotted orchid (*Dactylorhiza maculata*), and greater butterfly-orchid (*Platanthera chlorantha*).
Both traditional and novel extraction methods find their application in medicine and food science, where they yield plant extracts of biologically active immune-response modulating agents.

Keywords. Medicinal plants, biologically active substances, immune-response modulating agents, extraction, extraction methods, solvent

Funding. This research was funded by the Russian Science Foundation (RSF), grant No. 23-16-00113.

For citation: Kozlova OV, Velichkovich NS, Faskhutdinova ER, Neverova OA, Petrov AN. Methods for Extracting Immune-Response Modulating Agents of Plant Origin. Food Processing: Techniques and Technology. 2023;53(4):680–688. (In Russ.). https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-4-2468

Введение

В повседневной жизни человек рискует оказаться под воздействием вредных факторов и загрязнителей окружающей среды, которые влияют на состояние здоровья и гомеостаз организма. Иммунная система (ИС) представляет собой сложную интегрированную сеть клеток, тканей, органов и растворимых медиаторов, которые эволюционировали для защиты организма от чужеродного воздействия, угрожающего его целостности. Одной из ключевых особенностей иммунной системы является ее способность различать собственные клетки/ткани и чужеродные молекулы/микробы окружающей среды [1].

Иммунная система включает в себя множество типов клеток, тканей и органов. Наиболее распрост-

раненными являются фагоцитарные клетки (моноциты, макрофаги и нейтрофилы), которые способны поглощать и переваривать болезнетворные микроорганизмы и чужеродные молекулы [2]. Лимфоциты – вторые по распространенности клетки иммунной системы – играют важную роль в нормальном иммунном ответе на инфекцию и опухоли, а также в опосредовании отторжения трансплантата и аутоиммунитета [3]. Их можно разделить на два разных типа – Т- и В-клетки. Все иммунные клетки возникают из обычных гемопоэтических стволовых клеток в костном мозге после кроветворения.

Иммунный ответ подразделяется на врожденный и адаптивный, охватывающий различные и специфические роли в ответах иммунной защиты. Врожденная иммунная система не обеспечивает полную защиту от некоторых заболеваний (например, инсульта) и не обладает долговременной памятью [4]. Эта система включает фагоцитарные клетки, систему комплемента и различные классы рецепторов, используемых врожденными клетками. Например, толл-подобные рецепторы (TLR), которые способны обнаруживать консервативные патоген-ассоциированные молекулярные паттерны (PAMP), такие как компоненты клеточной стенки бактерий и грибов (т. е. липополисахариды, бактериальные липопептиды и β-глюканы). Адаптивный иммунный ответ представляет собой антиген-специфическую систему, включающую долгоживущие лимфоциты (клетки памяти) и их узкоспециализированные рецепторы [5].

Несмотря на свою высокую эффективность и специфичность, дисбаланс иммунных реакций может быть причиной множества заболеваний, таких как аллергия, аутоиммунные заболевания, иммуносупрессия и СПИД [6]. Эпидемиологические данные свидетельствуют о росте числа иммунологических заболеваний [7]. Эта проблема привела к разработке особого класса молекул – иммуномодуляторов, способных усиливать или подавлять иммунный ответ при ИС-опосредованных заболеваниях. В то время как иммуностимулирующие препараты были разработаны из-за их потенциального применения к инфекции, иммунодефициту и раку, иммунодепрессанты используются для ингибирования иммунного ответа при иммуноопосредованных заболеваниях. Например, при трансплантации органов и аутоиммунных заболеваниях.

Среди исследователей существует спрос на новые эффективные методы лечения. Одной из перспективных стратегий является использование растительных лекарственных средств в качестве интегративной, дополнительной и профилактической терапии [1, 8–10]. Фитохимические вещества и активные компоненты лекарственных растений всегда были важным источником клинической терапии. Изучение их молекулярной фармакологии является проблемой, поскольку предлагается большое химическое разнообразие биологически активных веществ (БАВ) с мультифармакологической активностью.

Фитохимические вещества используются в народной медицине из-за своих свойств и пользы для здоровья, т. к. обладают фармакологической или биологической активностью, которую можно применить при открытии фармацевтических препаратов и разработке лекарств [11]. Лекарственные растения могут стать альтернативой консервативной химиотерапии при различных заболеваниях, особенно когда необходимо стимулировать механизм защиты хозяина в ситуациях ослабленного иммунного ответа или при аутоиммунных расстройствах [12]. Наиболее распространенными иммуномодуляторами растительного происхождения являются полисахариды, полифенолы и непредельные дикарбоновые кислоты.

Целью данной работы являлся обзор методов экстрагирования БАВ-иммуномодуляторов из растительного сырья.

Объекты и методы исследования

Выполнили аналитический обзор 49 научных литературных источников на русском и английском языках. Поиск был ограничен рецензируемыми статьями в академических журналах и включал исследовательские и обзорные статьи, которые соответствовали тематике исследования. В обзор не включались материалы конференций и др. Поиск осуществлялся в базах данных Scopus, Web of Science и eLIBRARY.RU.

Результаты и их обсуждение

Методы экстракции. Основной стадией получения БАВ является экстракция, которая основана на их извлечении из клеток растений, животных или микроорганизмов в различные растворители [13]. Данный процесс происходит из-за процесса диффузии, происходящего за счет разности концентраций. После достижения равных концентраций данный процесс прекращается. Процесс подчиняется закону Фика, который описывает процесс молекулярной диффузии и устанавливает связь между плотностью диффузионного потока и градиентом концентраций [14].

На процесс экстракции влияет ряд факторов. Во-первых, вид растворителя. Выбор растворителя зависит от типа растительного сырья, части растения, подлежащего экстракции, и природы целевых биологически активных веществ. Полярные растворители, такие как вода, метанол и этанол (полифенолы), используются для экстракции полярного соединения, тогда как неполярные растворители, такие как гексан, дихлорметан и ацетон, используются для экстракции неполярных соединений (липиды и масла) [15, 16]. Выбор растворителей должен основываться на его стоимости и безопасности.

Во-вторых, размер частиц. Чем меньше размер частиц, тем выше эффективность экстракции за счет

более глубокого проникновения экстрагента. Однако если частицы имеют слишком маленький размер, то процесс фильтрации полученных экстрактов будет затруднен из-за абсорбции растворенных веществ [17].

В-третьих, температура. Процесс экстракции чаще всего проводится при повышенных температурных условиях из-за увеличения степени диффузии и растворения веществ [18]. Оптимальным диапазоном для проведения экстракции БАВ является 40–80 °С. Более высокие температуры могут стать причиной потери растворителя (снижение экономической эффективности процесса), образования примесей (что ведет к применению дополнительных методов очистки целевых БАВ) и разложения нетермоустойчивых соединений [19].

Методы экстракции можно разделить на 2 большие группы: традиционные и современные. Традиционными методами экстракции являются перколяция, мацерация, экстракция Сокслета, экстракция тепловым рефлюксом и отвар.

Для получения отвара отобранное сырье кипятят в определенном объеме воды в течение конкретного времени и охлаждают, затем процеживают или фильтруют. Начальное соотношение сырого продукта к воде является фиксированным. Например, 1:4 или 1:16. Объем доводится до 1/4 от первоначального путем кипячения. Затем концентрированный экстракт фильтруют и подвергают дальнейшей обработке. Отвар подходит для извлечения термостабильных соединений из твердых частей растений, таких как корни и кора, в результате чего получается больше маслорастворимых фитохимических веществ по сравнению с мацерацией [20, 21]. Недостатком данного метода является недопустимость его применения для извлечения летучих и термолабильных БАВ, а также большой расход растворителя [22].

Метод мацерации заключается в замачивании растительного сырья. Для извлечения БАВ образец растения измельчают в порошок и смешивают с растворителем. Затем смесь оставляют в экстракционном сосуде, периодически перемешивая. В процессе перемешивания происходит отделение концентрированного раствора от поверхности исследуемого образца при добавлении нового растворителя для улавливания выхода экстракции [23]. После завершения процесса жидкость фильтруют, а остаток прессуют механическим прессом или центрифугируют, чтобы повторить экстракцию новым растворителем до тех пор, пока растворитель не станет бесцветным [24]. Преимущества метода мацерации заключаются в низкой стоимости, простоте исполнения и отсутствии необходимости нагрева для экстракции, что может привести к повреждению биологически активных соединений, а также в том, что он подходит для экстракции термолабильных соединений. Однако для получения высококачественного экстракта требуется оптимальное время экстракции, соотношение масса:растворитель, температура, тип и комбинация растворителей, подходящих для экстракции целевых БАВ [25]. Недостаток мацерации заключается в длительности процесса, которая может достигать 3-х суток, а также в большом расходе растворителя.

Перколяция – один из самых популярных способов экстракции, при котором активные вещества извлекаются из растений с помощью растворителя в противотоке. Данный процесс осуществляется в специальных конусообразных установках – перколяторах. Это открытые с обоих концов сосуды с запорным краном у основания, который контролирует скорость элюирования растворителя [26]. Перколяция состоит из трех этапов: смачивание, замачивание сырья и последующие просачивание экстрагента. Смачивание проводят в течение 4–5 ч с использованием половины или равного количества экстрагента. В процессе замачивания сырье набухает и становится более доступным для проникновения экстрагента. Кроме того, в клетках сырья образуется концентрированный раствор экстрагированных соединений. Стадия замачивания длится 24–48 ч. В процессе просачивания растворитель, обычно этиловый спирт, медленно проходит через растительный материал, постепенно упаковываясь фитохимическими веществами, и продвигается вниз другим растворителем, добавленным сверху. Перед введением растительного материала в перколятор его необходимо тщательно измельчить. Однако если частицы будут слишком мелкими, то это усложнит их отделение от экстракционного растворителя. Следовательно, экстракт будет мутным, а остатки осядут на дне перколятора. Целесообразно увлажнять растительную матрицу экстракционным растворителем, что позволяет растительным клеткам удлиняться для плавной диффузии фитохимических веществ в экстракционный растворитель. После того как растительный материал вставлен в перколятор, экстракционный растворитель заливается сверху и просачивается через растительный материал со скоростью, определяемой природой растительного материала, подвергшегося экстракции. Скорость потока растворителя не должна быть чрезмерной, чтобы дать время для проникновения растворителя в растительные клетки и извлечения составляющих фитохимических веществ. Тем не менее скорость перколяции растворителя не должна быть слишком низкой, т. к. это приведет к большему расходу растворителя для полной экстракции. Как правило, для 1 кг растительного сырья скорость потока растворителя должна составлять около 5 мл в минуту. После завершения процесса растительный материал прессуют для восстановления растворителя, поглощенного остаточно, и остаточный раствор добавляют в фильтрат (экстракт). Экстракция заканчивается

вымыванием из перколятора бесцветной жидкости, лишенной фитохимических веществ.

Перколяция более эффективна, чем мацерация, т. к. скорость внутренней диффузии остается высокой из-за просачивающегося экстрагента. Однако у этого метода есть недостатки: большой расход растворителя и строгое соблюдение размера частиц растительного сырья [27].

Для экстракции Сокслета используются растворители (дихлорметан), которые можно смешивать с ацетоном или гексаном, в то время как неполярные растворители практически не применяются [28]. Экстракция Сокслета или непрерывная экстракция представляет собой метод, используемый для отделения соединений от твердых материалов. Экстрактор Сокслета применяется в фармакогнозии и экстракции фитонутриентов и фармакологических биологически активных соединений. Аппарат Сокслета состоит из колбы с круглым дном, лекарственной камеры, пара, сифонной трубки, конденсаторного блока и водопроводной трубы [29]. Образцы растений помещают в наперсток или пористый мешок (из целлюлозы), заполняют конденсированными неполярными растворителями (гексаном, эфиром и петролейным эфиром) и помещают в дистилляционную колбу. Растворители испаряются в наперсток и конденсируются в конденсатор при нагревании. Когда уровень растворителя повышается, то он поступает в колбу с круглым дном через сифонную трубку. Этот процесс повторяется до тех пор, пока растворитель не сконцентрируется. По сравнению с мацерацией или перколяцией данный метод представляет собой непрерывный автоматизированный процесс экстракции с высокой эффективностью, который требует меньше времени и растворителя. Однако у экстракции Сокслета есть недостатки: высокое потребление энергии/растворителя, длительное время экстракции и сниженная пропускная способность образца.

Несмотря на преимущества и распространенность традиционных методов экстракции БАВ, наличие недостатков привело к разработке современных методов – более эффективных, экономичных и безопасных. К современным методам экстракции относят сверхкритическую экстракцию, экстракцию под действием микроволн, ультразвуковую экстракцию и экстракцию под давлением [30, 31].

Сверхкритическая экстракция основана на применении особого растворителя – углекислого газа. Данный выбор основан на том, что привычные органические и углеводородные растворители обладают недостатками, которые ограничивают их применение (высокая температура кипения, низкая вязкость, высокая стоимость, образование азеотропов, высокая вероятность воспламенения и др.), а углекислый газ не имеет цвета и запаха, негорючий и нетоксичный [32–34]. Благодаря этому использование углекислого газа безопасно и дешево. Хотя диоксид углерода является предпочтительной жидкостью для сверхкритической экстракции, он обладает рядом ограничений по полярности, поэтому часто к нему добавляются со-растворители.

Сверхкритическая экстракция проходит следующим образом. Отобранное сырье помещается в сосуды для экстракции, которые поддерживаются при постоянной температуре и давлении. Затем экстрактор заполняется жидкостью через насос. После того как жидкость и химические вещества растворены, их разделяют с помощью сепаратора твердой фазы. Экстракция имеет две стадии: саму экстракцию (из твердого сырья) и отделение от сверхкритического растворителя. Сначала растворитель заливается в экстракционные сосуды (насос растворителя и теплообменник) и равномерно распределяется по всему неподвижному слою, образованному твердым субстратом. Растворитель взаимодействует с растворимыми компонентами в процессе экстракции. В испарительных резервуарах комбинация растворенного вещества и растворителя отделяется путем быстрого снижения давления или повышения температуры жидкостей. Растворители должны быть охлаждены и повторно сжаты компрессором перед возвратом в экстрактор [29].

Данный метод экстракции обладает таким преимуществом, как возможность экстрагирования компонентов при низкой температуре. Это уменьшает вред от воздействия тепла и некоторых органических растворителей. Также при экстракции отсутствуют остатки растворителя, процедура безвредна для окружающей среды.

Экстракция под давлением основана на воздействии давления на растворители при высоких температурах (ниже их критической точки) [35]. Как правило, диапазон температур составляет 50–200 °C, давления – 3,5–20 МПа. Данный метод обладает высокой скоростью экстракции и не требует большого объема растворителя по сравнению с традиционными методами экстракции [36, 37]. Кроме того, повышенная скорость массопереноса увеличивает растворимость анализируемого вещества и снижает вязкость растворителя и поверхностное натяжение, возникающие в условиях экстракции под давлением. В результате растворитель легче проникает в матрицу, достигая более глубоких участков и увеличивая поверхностный контакт. Это улучшает массоперенос к растворителю и облегчает скорость экстракции. Возможность автоматизации является еще одним преимуществом, поскольку она помогает уменьшить колебания от добычи к экстракции, улучшая воспроизводимость. Несмотря на данные преимущества, метод не подходит для термолабильных соединений, чувствительных к высокой температуре и давлению.

Ультразвуковая экстракция включает взаимодействие ультразвуковой мощности и растворителей для извлечения целевых биологически активных

компонентов из растительной биомассы [38]. В данном процессе участвуют волны, которые имеют частоту от 20 кГц до 10 МГц [39]. Применение ультразвука позволило повысить выход биоактивных веществ по сравнению с традиционными методами экстракции. Ультразвуковые волны, состоящие из сжатия и разрежения, приводят к смещению молекул из их первоначального положения. При звуковых волнах более высокой интенсивности сила притяжения доминирует над притяжением, что приводит к образованию кавитационных пузырьков, которые растут в результате слияния и разрушаются во время фазы сжатия, что приводит к образованию горячей точки [40]. С другой стороны, ультразвуковая инкапсуляция, которая устанавливается путем эмульгирования, зависит от эффективности кавитационного механизма. Ультразвуковое оборудование способствует кавитации, при которой пузырьки схлопываются на границе раздела обеих несмешивающихся жидкостей. Материал, подлежащий обработке ультразвуком, может быть подвергнут либо прямой, либо косвенной ультразвуковой обработке. Термин «прямая обработка» относится к прямому введению ультразвукового зонда в жидкую среду. Ультразвуковой зонд состоит из зонда или рупора, подключенного к преобразователю. Этот метод подходит для извлечения активных веществ либо из растений, либо из побочных продуктов переработки. Диаметр зонда является фактором, влияющим на эффективность ультразвукового аппарата. Как правило, зонды меньшего диаметра дают больший кавитационный эффект, но в узком поле, а зонды большего диаметра распределяют энергию на более широкую площадь. Основным недостатком этого метода является потенциальное загрязнение металла съемными металлическими фрагментами зонда. Ультразвуковые ванны, которые являются примером «непрямого применения», более экономичны и просты в обращении, но не являются мощным оборудованием. Следовательно, их потенциальное применение ограничено [41]. Кроме того, неравномерное распределение энергии снижает эффективность работы по сравнению с зондовой системой.

Применение различных методов экстракции для извлечения БАВ из растительного сырья. Методы экстракции широко применяются для получения БАВ, обладающих иммуномодулирующим действием. Такими соединениями богат женьшень настоящий (*Panax ginseng*). Гизенозиды, относящиеся к классу сапонинов, обладают иммуномодулирующим действием. Для выделения данных БАВ используются различные методы экстракции. В работе Q. Liang и др. для извлечения 8 гизенозидов из цветочных почек женьшеня использовался метод ультразвуковой экстракции [42]. Оптимальными параметрами экстракции были ультразвуковое время – 23 мин, температура экстракции – 30 °C, соотношение растворитель:сырье – 31:1. Эффективность экстракции составила 64,53 %. В другой работе показано, что для извлечения гизенозидов из *P. ginseng* допустимо применять докритическую водную экстракцию с оптимальными условиями экстракции 200 °C и 20 мин [43]. Обнаружено, что при экстрагировании в течение более 20 мин снижается выход БАВ из-за разложения и уменьшается эффективность самого процесса. В работе I.-K. Mok и др. для извлечения гизенозидов использовалась многоступенчатая экстракция, состоящая из высокого гидростатического давления, ферментативного гидролиза и обработки ультразвуком, что привело к увеличению выхода БАВ на 25 % [44]. Иммуномодулирующей активностью обладают полисахариды, обнаруженные в женьшене. Согласно работе J.-L. Zhao и др. микроволновая экстракция полисахаридов увеличила выход целевых БАВ по сравнению с традиционными методами экстракции (41,60 ± 0,09 и 28,50 ± 1,62 %) [45].

Полифенол кверцетин обладает фармакологической активностью и содержится во многих растениях. V. Pilařová с соавторами установила, что для выделения кверцетина из плодов айвы (*Cydonia oblonga*) можно использовать экстракцию углекислым газом [46]. Наилучший выход экстракции получен при соотношении растворителей CO_2:этанол:H_2O 10:81:9, температуре 66 °C и давлении 22,3 МПа.

Сверхкритическая экстракция применялась при получении БАВ из люцерны посевной (*Medicago sativa*). Исследование O. Wrona и др. посвящено получению полифенольных соединений из этого растения. Авторы установили, что экстракция CO_2 является подходящим методом экстракции для выделения флавоноидов (нарингенина и апигенина) и таких фенольных кислот, как феруловая и салициловая, обладающих иммуномодулирующим эффектом [47].

Иммуномодулирующим действием обладают экстракты таволги вязолистой (*Filipendula ulmaria*). J. Cholet и др. установили, что метанольный экстракт надземной части *F. ulmaria*, полученный путем трехкратной мацерации в метаноле в течение 24 ч, обладает иммуностимулирующим действием [48].

S. Sukhikh с соавторами изучали химический состав и содержание БАВ в таких лекарственных растениях, как скумпия кожевенная (*Cotinus coggygria*), пальчатокоренник пятнистый (*Dactylorhiza maculata*) и любка зелёноцветная (*Platanthera chlorantha*) [49]. Авторы использовали экстракты, полученные на аппарате Сокслета с применением в качестве экстрагента 70 %-го этанола. Установлено, что среди биологически активных веществ в рассматриваемых растениях преобладают гиперозид, рутин (*C. coggygria*), феруловая и галловая кислоты (*D. maculata*), триеновый углеводород (3,7-диметил-1,3,6-октатриен), ненасыщенный спирт (3,7-диметил-2,6-октадиен-1-ол) и бензилацетат (*P. chlorantha*). Образцы этих лекарственных растений

содержали микроэлементы (фосфор, калий, кальций, натрий, магний, серу) и алифатические органические кислоты (янтарная, бензойная, фумаровая, лимонная, щавелевая, винная). Это свидетельствует о биологической активности экстрактов, полученных вышеуказанным методом.

Выводы

Иммунная система играет одну из ключевых ролей в здоровье человека, защищая организм от воздействия, угрожающего его целостности. Нарушение функционирования данной системы может стать причиной множества заболеваний. Поэтому необходима разработка особых препаратов, способных корректировать деятельность иммунной системы – иммуномодуляторов. Растительное сырье является перспективным источников БАВ, обладающих иммуномодулирующими свойствами и способных влиять на иммунную систему.

Для получения целевых веществ из растений используется метод экстракции, который основан на извлечении БАВ из клеток в растворители. На эффективность экстракции влияет множество факторов: выбор растворителя, температура и размер частиц. Однако одну из главных ролей играет метод экстракции. К традиционным методам экстракции относятся перколяция, мацерация, экстракция Сокслета, экстракция тепловым рефлюксом и отвар. Недостатки вышеперечисленных методов привели к разработке современных методов экстракции: сверхкритической экстракции, экстракции под действием микроволн, ультразвуковой экстракции и экстракции под давлением.

Вышеперечисленные методы используются для получения экстрактов растений, обладающих иммуномодулирующими свойствами. Для извлечения БАВ из женьшеня настоящего (*Panax ginseng*) в различных научных работах используются ультразвуковая и докритическая водная экстракция, экстракция под давлением и микроволновая экстракция. Для выделения полифенола кверцетина из плодов айвы (*Cydonia oblonga*) и извлечения БАВ из люцерны посевной (*Medicago sativa*) используется экстракция углекислым газом. Традиционный метод мацерации применяют для получения метанольных экстрактов из таволги вязолистой (*Filipendula ulmaria*). Экстракцию Сокслета применяют для извлечения иммуномодуляторов из скумпии кожевенной (*Cotinus coggygria*), пальчатокоренника пятнистого (*Dactylorhiza maculata*) и любки зелёноцветной (*Platanthera chlorantha*).

Таким образом, традиционные и современные методы экстракции находят свое применение для получения экстрактов, содержащих БАВ, которые обладают иммуномодулирующими свойствами.

Критерии авторства

Авторы в равной степени участвовали в написании рукописи и несут равную ответственность за плагиат.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution

The authors were equally involved in writing the manuscript and are equally responsible for plagiarism.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

References/Список литературы

1. Catanzaro M, Corsini E, Rosini M, Racchi M, Lanni C. Immunomodulators inspired by nature: A review on Curcumin and Echinacea. Molecules. 2018;23(11). https://doi.org/10.3390/molecules23112778

2. Davies LC, Rice CM, McVicar DW, Weiss JM. Diversity and environmental adaptation of phagocytic cell metabolism. Journal of Leukocyte Biology. 2019;105(1):37–48. https://doi.org/10.1002/JLB.4RI0518-195R

3. Xia S, Chen Q, Niu B. CD28: A new drug target for immune disease. Current Drug Targets. 2020;21(6):589–598. https://doi.org/10.2174/1389450120666191114102830

4. Qiu Y, Tu G, Ju M, Yang C, Luo Z. The immune system regulation in sepsis: From innate to adaptive. Current Protein and Peptide Science. 2019;20(8):799–816. https://doi.org/10.2174/1389203720666190305164128

5. Brillantes M, Beaulieu AM. Transcriptional control of natural killer cell differentiation. Immunology. 2019;156(2):111–119. https://doi.org/10.1111/imm.13017

6. Benagiano M, Bianchi P, D'Elios MM, Brosens I, Benagiano G. Autoimmune diseases: Role of steroid hormones. Best Practice and Research Clinical Obstetrics and Gynaecology. 2019;60:24–34. https://doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2019.03.001

7. Koloski N, Jones M, Walker MM, Veysey M, Zala A, Keely S, *et al.* Population based study: Atopy and autoimmune diseases are associated with functional dyspepsia and irritable bowel syndrome, independent of psychological distress. Alimentary Pharmacology and Therapeutics. 2019;49(5):546–555. https://doi.org/10.1111/apt.15120

8. Dyshlyuk LS, Fedorova AM, Loseva AI, Eremeeva NI. Callus cultures of *Thymus vulgaris* and *Trifolium pratense* as a source of geroprotectors. Food Processing: Techniques and Technology. 2021;51(2):423–432. https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-2-423-432

9. Akharaiyi FC, Ehis-Eriakha CB, Olagbemide PT, Igbudu FH. *Hyptis suaveolens* L. leaf extracts in traditional health care systems. Foods and Raw Materials. 2023;11(2):293–299. https://doi.org/10.21603/2308-4057-2023-2-577

10. Milentyeva IS, Le VM, Kozlova OV, Velichkovich NS, Fedorova AM, Loseva AI, *et al.* Secondary metabolites in *in vitro* cultures of Siberian medicinal plants: Content, antioxidant properties, and antimicrobial characteristics. Foods and Raw Materials. 2021;9(1):153–163. https://doi.org/10.21603/2308-4057-2021-1-153-163

11. Nilius B, Appendino G. Spices: The savory and beneficial science of pungency. In: Nilius B, Amara SG, Lill R, Offermanns S, Gudermann T, Petersen OH, *et al.*, editors. Reviews of physiology, biochemistry and pharmacology. Vol. 164. Cham: Springer; 2013. pp. 1–76. https://doi.org/10.1007/112_2013_11

12. Porwal O, Ozdemir M, Kala D, Anwer ET. A review on medicinal plants as potential sources of natural immunomodulatory action. Journal of Drug Delivery and Therapeutics. 2021;11(6):324–331. https://doi.org/10.22270/jddt.v11i6.5125

13. Asyakina LK, Fotina NV, Stepanova AA, Pozdnyakova AV, Prosekov AYu. Development of a technology for extraction of a complex of biologically active substances from *in vitro* root crops of medicinal plants. Storage and Processing of Farm Products. 2021;(3):95–104. (In Russ.). https://doi.org/10.36107/spfp.2021.228

14. Lainez-Cerón E, Ramírez-Corona N, López-Malo A, Franco-Vega A. An overview of mathematical modeling for conventional and intensified processes for extracting essential oils. Chemical Engineering and Processing – Process Intensification. 2022;178. https://doi.org/10.1016/j.cep.2022.109032

15. Abubakar AR, Haque M. Preparation of medicinal plants: Basic extraction and fractionation procedures for experimental purposes. Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences. 2020;12(1):1–10. https://doi.org/10.4103/jpbs.JPBS_175_19

16. Rodríguez García SL, Raghavan V. Green extraction techniques from fruit and vegetable waste to obtain bioactive compounds – A review. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 2022;62(23):6446–6466. https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1901651

17. Yan Z, Wang Z, Chen Y, Liu C, Liu Y, Li R, *et al.* Preparation of lignin nanoparticles via ultra-fast microwave-assisted fractionation of lignocellulose using ternary deep eutectic solvents. Biotechnology and Bioengineering. 2023;120(6):1557–1568. https://doi.org/10.1002/bit.28373

18. Jha AK, Sit N. Extraction of bioactive compounds from plant materials using combination of various novel methods: A review. Trends in Food Science and Technology. 2022;119:579–591. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.11.019

19. Antony A, Farid M. Effect of temperatures on polyphenols during extraction. Applied Sciences. 2022;12(4). https://doi.org/10.3390/app12042107

20. Fonmboh DJ, Abah ER, Fokunang TE, Herve B, Teke GN, Rose NM, *et al.* An overview of methods of extraction, isolation and characterization of natural medicinal plant products in improved traditional medicine research. Asian Journal of Research in Medical and Pharmaceutical Sciences. 2020;9(2):31–57. https://doi.org/10.9734/ajrimps/2020/v9i230152

21. Nekkaa A, Benaissa A, Mutelet F, Canabady-Rochelle L. *Rhamnus alaternus* plant: Extraction of bioactive fractions and evaluation of their pharmacological and phytochemical properties. Antioxidants. 2021;10(2). https://doi.org/10.3390/antiox10020300

22. Zhang Q-W, Lin L-G, Ye W-C. Techniques for extraction and isolation of natural products: A comprehensive review. Chinese Medicine. 2018;13. https://doi.org/10.1186/s13020-018-0177-x

23. Srivastava N, Singh A, Kumari P, Nishad JH, Gautam VS, Yadav M, *et al.* Advances in extraction technologies: isolation and purification of bioactive compounds from biological materials. In: Sinha RP, Häder D-P, editors. Natural bioactive compounds. Technological advancements. Academic Press; 2021. pp. 409–433. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-820655-3.00021-5

24. López-Cruz R, Sandoval-Contreras T, Iñiguez-Moreno M. Plant pigments: Classification, extraction, and challenge of their application in the food industry. Food and Bioprocess Technology. 2023. https://doi.org/10.1007/s11947-023-03075-4

25. Setford PC, Jeffery DW, Grbin PR, Muhlack RA. Factors affecting extraction and evolution of phenolic compounds during red wine maceration and the role of process modelling. Trends in Food Science and Technology. 2017;69:106–117. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.09.005

26. Atienza JJ, Segui DI, Arcigal R, Bracewell J, Dimasuay M, Bueno PR, *et al.* Specific analytical methods for the extraction of common phytochemical constituents of *Vitex negundo* Linn: A mini-review. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry. 2021;10(5):95–107. https://doi.org/10.22271/phyto.2021.v10.i5b.14226

27. Pawar S, Kamble V. Phytochemical screening, elemental and function group analysis of *Vitex negundo* L. leaves. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. 2017;9(6):226–230. https://doi.org/10.22159/ijpps.2017v9i6.18093

28. Kapadia P, Newell AS, Cunningham J, Roberts MR, Hardy JG. Extraction of high-value chemicals from plants for technical and medical applications. International Journal of Molecular Sciences. 2022;23(18). https://doi.org/10.3390/ijms231810334

29. Khongthaw B, Chauhan PK, Dulta K, Kumar V, Ighalo JO. A comparison of conventional and novel phytonutrient extraction techniques from various sources and their potential applications. Journal of Food Measurement and Characterization. 2023;17:1317–1342. https://doi.org/10.1007/s11694-022-01697-4

30. Belokurov SS, Narkevich IA, Flisyuk EV, Kaukhova IE, Aroyan MV. Modern extraction methods for medicinal plant raw material (review). Pharmaceutical Chemistry Journal. 2019;53(6):559–563. https://doi.org/10.1007/s11094-019-02037-5

31. Duy LX, Toan TQ, Anh DV, Hung NP, Huong TTT, Long PQ, *et al.* Optimization of canthaxanthin extraction from fermented biomass of *Paracoccus carotinifacuens* 20181 VTP bacteria strain isolated in Vietnam. Foods and Raw Materials. 2021;9(1):117–125. https://doi.org/10.21603/2308-4057-2021-1-117-125

32. Dhara O, Prasanna Rani KP, Chakrabarti PP. Supercritical carbon dioxide extraction of vegetable oils: Retrospective and prospects. European Journal of Lipid Science and Technology. 2022;124(8). https://doi.org/10.1002/ejlt.202200006

33. Zakharenko AM, Kirichenko KYu, Vakhniuk IA, Golokhvast KS. Supercritical extraction technology of obtaining polyunsaturated acids from starfish (*Lysastrosoma anthosticta* Fisher, 1922). Food Processing: Techniques and Technology. 2021;51(4):753–758. https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-4-753-758

34. Prosekov AYu. Interfacial surface phenomena in the production of dispersed products with a foam structure: A review. Storage and Processing of Farm Products. 2001;(8):24–27. (In Russ.). [Просеков А. Ю. Роль межфазных поверхностных явлений в производстве дисперсных продуктов с пенной структурой (обзор) // Хранение и переработка сельхозсырья. 2001. № 8. С. 24–27.]. https://elibrary.ru/YRXYBY

35. Quitério E, Grosso C, Ferraz R, Delerue-Matos C, Soares C. A critical comparison of the advanced extraction techniques applied to obtain health-promoting compounds from seaweeds. Marine Drugs. 2022;20(11). https://doi.org/10.3390/md20110677

36. Hu J, Guo Z, Glasius M, Kristensen K, Xiao L, Xu X. Pressurized liquid extraction of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) with bioethanol: An efficient and sustainable approach. Journal of Chromatography A. 2011;1218(34):5765–5773. https://doi.org/10.1016/j.chroma.2011.06.088

37. Hafizov SG, Musina ON, Hafizov GK. Extracting hydrophilic components from pomegranate peel and pulp. Food Processing: Techniques and Technology. 2023;53(1):168–182. (In Russ.). https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-1-2425

38. Mehta N, Jeyapriya S, Kumar P, Verma AK, Umaraw P, Khatkar SK, *et al.* Ultrasound-assisted extraction and the encapsulation of bioactive components for food applications. Foods. 2022;11(19). https://doi.org/10.3390/foods11192973

39. Carreira-Casais A, Otero P, Garcia-Perez P, Garcia-Oliveira P, Pereira AG, Carpena M, *et al.* Benefits and drawbacks of ultrasound-assisted extraction for the recovery of bioactive compounds from marine algae. International Journal of Environmental Research and Public Health. 2021;18(17). https://doi.org/10.3390/ijerph18179153

40. Gao Y, Wang S, Dang S, Han S, Yun C, Wang W, *et al.* Optimized ultrasound-assisted extraction of total polyphenols from *Empetrum nigrum* and its bioactivities. Journal of Chromatography B. 2021;1173. https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2021.122699

41. Astráin-Redín L, Ciudad-Hidalgo S, Raso J, Condón S, Cebrián G, Álvarez I. Application of high-power ultrasound in the food industry. In: Karakuş S, editor. Sonochemical reactions. IntechOpen; 2019. https://doi.org/10.5772/intechopen.90444

42. Liang Q, Zhang J, Su X, Meng Q, Dou J. Extraction and separation of eight ginsenosides from flower buds of *Panax ginseng* using aqueous ionic liquid-based ultrasonic-assisted extraction coupled with an aqueous biphasic system. Molecules. 2019;24(4). https://doi.org/10.3390/molecules24040778

43. Lee J-H, Ko M-J, Chung M-S. Subcritical water extraction of bioactive components from red ginseng (*Panax ginseng* C.A. *Meyer*). The Journal of Supercritical Fluids. 2018;133:177–183. https://doi.org/10.1016/j.supflu.2017.09.029

44. Mok I-K, Jung H, Kim H, Kim D. Biotransformation of ginsenosides from Korean wild-simulated ginseng (*Panax ginseng* C.A. Mey.) using the combination of high hydrostatic pressure, enzymatic hydrolysis, and sonication. Food Bioscience. 2023;53. https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.102687

45. Zhao J-L, Zhang M, Zhou H-L. Microwave-assisted extraction, purification, partial characterization, and bioactivity of polysaccharides from *Panax ginseng*. Molecules. 2019;24(8). https://doi.org/10.3390/molecules24081605

46. Pilařová V, Kuda L, Vlčková HK, Nováková L, Gupta S, Kulkarni M, *et al.* Carbon dioxide expanded liquid: an effective solvent for the extraction of quercetin from South African medicinal plants. Plant Methods. 2022;18. https://doi.org/10.1186/s13007-022-00919-6

47. Wrona O, Rafińska K, Walczak-Skierska J, Możeński C, Buszewski B. Extraction and determination of polar bioactive compounds from alfalfa (*Medicago sativa* L.) using supercritical techniques. Molecules. 2019;24(24). org/10.3390/molecules24244608

48. Cholet J, Decombat C, Vareille-Delarbre M, Gainche M, Berry A, Ogéron C, *et al.* Comparison of the anti-inflammatory and immunomodulatory mechanisms of two medicinal herbs: Meadowsweet (Filipendula ulmaria) and harpagophytum (Harpagophytum procumbens). International Journal of Plant, Animal and Environmental Sciences. 2019;9(3):145–163.

49. Sukhikh S, Asyakina L, Korobenkov M, Skrypnik L, Pungin A, Ivanova S, *et al.* Chemical composition and content of biologically active substances found in *Cotinus coggygria*, *Dactylorhiza maculata*, *Platanthera chlorantha* growing in various territories. Plants. 2021;10(12). https://doi.org/10.3390/plants10122806