

# НОВЫЙ СПОСОБ СЕЛЕКТИВНОГО ИЗВЛЕЧЕНИЯ ЭУГЛОБАЛЕЙ С МОНОТЕРПЕНОВОЙ СТРУКТУРОЙ ИЗ ЛИСТЬЕВ ЭВКАЛИПТА ПРУТОВИДНОГО

**Н.Н. Бойко**

к.фарм.н., мл. науч. сотрудник, лаборатория технологии лекарств, доцент,  
кафедра фармацевтической технологии,  
Белгородский государственный национальный исследовательский университет (г. Белгород)  
E-mail: boykoniknik@gmail.com

**Е.Т. Жилиякова**

д.фарм.н., профессор, зав. кафедрой фармацевтической технологии,  
Белгородский государственный национальный исследовательский университет (г. Белгород)

**Д.И. Писарев**

д.фарм.н., профессор центра коллективного пользования (научно-образовательный центр)  
«Центр контроля качества лекарств»; Российский университет дружбы народов (Москва)

**О.О. Новиков**

д.фарм.н., профессор,  
директор центра коллективного пользования (научно-образовательный центр) «Центр контроля качества лекарств»,  
Российский университет дружбы народов (Москва)

**П.Г. Мизина**

д.фарм.н., профессор, зам. директора по научной работе,  
Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений (Москва)

**О.Л. Сайбель**

к.фарм.н., руководитель Центра химии и фармацевтической технологии,  
Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений (Москва)

**М.К. Сидельникова**

к.фарм.н., ст. науч. сотрудник,  
Центр химии и фармацевтической технологии,  
Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений (Москва)

**Цель работы** – экспериментально проверить рабочую гипотезу относительно возможности выделения эуглобалий из листьев эвкалипта прутовидного с помощью двух различных перфторорганических растворителей Noves 1230 и Noves 7100.

**Материал и методы.** Для извлечения эуглобалий из листьев эвкалипта прутовидного использовали циркуляционный метод экстракции в аппарате «Сокслет» при соотношении растительное сырье/растворитель 1:5 м/о, для анализа эуглобалий – метод обратно-фазовой высокоэффективной хроматографии. Стандартными субстанциями, содержащими эуглобали, служили фармакопейный стандартный образец Государственной фармакопеи Украины «Густой экстракт хлорофиллипта» и стандартный образец эвкалимина.

**Результаты.** Установлено, что в перфторорганический растворитель Noves 1230 эуглобали не переходят, однако в растворитель Noves 7100 частично переходят эуглобали монотерпеновой структуры. Метод циркуляции растворителя Noves 7100 в аппарате «Сокслет» показал, что за два часа из листьев эвкалипта прутовидного выход доминирующего эуглобала монотерпеновой структуры достигает  $49,3 \pm 2,5\%$ , при этом выход сухого остатка по отношению к лекарственному растительному сырью достигает  $0,63 \pm 0,03\%$  масс. В полученном экстракте не обнаружено хлорофиллов и макрокарпалей.

**Выводы.** Рабочая гипотеза относительно возможности выделения эуглобалий из листьев эвкалипта прутовидного с помощью перфторорганического растворителя экспериментально подтверждена. Обнаружено что на выход эуглобалий значительное влияние оказывает как степень фторированности молекулы растворителя, так и величина площади топологической полярной поверхности молекулы эуглобала. Предложен новый способ селективного извлечения эуглобалий монотерпеновой структуры из листьев эвкалипта прутовидного с помощью перфторорганического растворителя Noves 7100.

**Ключевые слова:** эуглобали, листья эвкалипта прутовидного, Noves 1230, Noves 7100, циркуляционный метод экстракции.

**Для цитирования:** Бойко Н.Н., Жилиякова Е.Т., Писарев Д.И., Новиков О.О., Мизина П.Г., Сайбель О.Л., Сидельникова М.К. Новый способ селективного извлечения эуглобалий с монотерпеновой структурой из листьев эвкалипта прутовидного. Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2019;22(12):12–22. <https://doi.org/10.29296/25877313-2019-12-02>

На территории стран СНГ листья эвкалипта прутовидного являются ценным источником таких лекарственных препаратов как «Эфирное масло эвкалипта», «Настойка эвкалипта», «Хлорофиллипт», «Эвкалимин» [1]. В основе последних трех лекарственных средств лежат эуглобали, которые проявляют различные виды биологической активности: противораковую, противовирусную, противомикробную, противопаразитарную, противовоспалительную [2–6].

На данный момент в литературе описано несколько способов лабораторного выделения и разделения эуглобалий из листьев эвкалипта прутовидного [7, 8]. Однако это дорогие, материало- и энергоемкие многостадийные технологии.

В конце 1980-х – начале 1990-х гг. во ВНИИЛР (ФГБНУ ВИЛАР) был запатентован промышленный способ получения субстанции «Эвкалимин» на основе эуглобалий, выделенных из листьев эвкалипта прутовидного, обладающей антимикробной и противовирусной активностью [9]. В середине 1990-х гг. в ФГБНУ ВИЛАР, с целью расширения сырьевой базы источника эуглобалий, запатентован другой способ получения препарата «Эвкалимин», на основе эуглобалий, выделенных из шрота листьев эвкалипта прутовидного, полученного после отгонки эфирного масла водяным паром [10]. Данные способы выделения и очистки эуглобалий использовались в промышленной технологии получения антимикробного препарата «Эвкалимин», который выпускался в течение 15 лет и хорошо зарекомендовал себя в медицинской практике. Однако запатентованные способы выделения и очистки эуглобалий имеют ряд существенных недостатков, что требует поиска новых и совершенствования существующих технологий получения эуглобалий из листьев эвкалипта, которые были бы лишены данных недостатков.

Перспективной является технология применения перфторорганических растворителей, поскольку данные растворители имеют ряд уникальных физико-химических свойств. В предыдущих исследованиях авторами показана возможность применения данных растворителей для селективного выделения основных малополярных компонентов эфирных масел из растительного сырья [11–13].

В продолжение полученных результатов была выдвинута рабочая гипотеза относительно возможности извлечения эуглобалий из листа эвкалипта прутовидного с помощью данных видов растворителей.

Ц е л ь р а б о т ы – экспериментальная проверка возможности выделения эуглобалий из листьев эвкалипта прутовидного с помощью двух различных перфторорганических растворителей Novac 1230 и Novac 7100.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Для исследований использовали измельченные листья эвкалипта прутовидного с размером частиц 0,1–0,5 мм, от производителя «Красногорсклексредства» № 100917 сроком годности до 10/2020.

Стандартными веществами служили фармакопейный стандартный образец Государственной фармакопеи Украины (ФСО ГФУ) «Густой экстракт хлорофиллипта» и стандартный образец (СО) эвкалимина (ФС 42-3606-98), полученный в ФГБНУ ВИЛАР.

В исследованиях использовали перфторорганические растворители Novac 1230 (Мм = 316,0 г/моль, брутто-формула  $C_6F_{12}O$ ) и Novac 7100 (смесь бутиловых изомеров с Мм = 250,1 г/моль, брутто-формула  $C_4F_9OCH_3$ ) компании 3М (США), с содержанием основных компонентов 99%. Структурные формулы молекул, данных растворителей представлены на рис. 1.

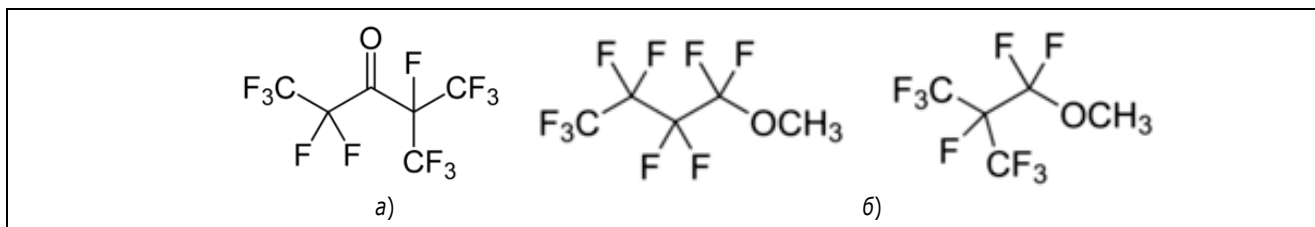


Рис. 1. Структурные формулы растворителей: а – Novac 1230 (перфторкетон); б – Novac 7100 (смесь *n*- и *iso*-бутиловых изомеров)

**Обратно-фазовая высокоэффективная хроматография (ОФ ВЭЖХ).** Фитохимический анализ выполняли с помощью метода ОФ ВЭЖХ на приборе Agilent Technologies, серии Agilent 1200 Infinity (США). Процесс анализа проводили при следующих условиях: в качестве подвижной фазы (А) использовали 1%-ный водный раствор муравьиной кислоты, а подвижной фазы (Б) – этанол 96% об., с линейным градиентом режимом элюирования; скорость подвижной фазы – 0,5 мл/мин; хроматографическая колонка: Supelco Ascentis express C18, длина – 100 мм, внутренний диаметр – 4,6 мм, размер частиц – 2,7 мкм; температура хроматографической колонки – 35 °С; объем образца – 1 мкл. Условия анализа ОФ ВЭЖХ были такими же, как в работе

Жиляковой и др. [14]. Аналитические длины волн – 650, 355, 325, 275 нм.

Масс-спектрометрическое детектирование осуществляли в режиме ESI (ионизация распылением в электрическом поле) с позитивным режимом сканирования в диапазоне масс 200–1000, ММ-APCI, 50 В. Перед количественным анализом точную навеску экстракта смешивали с точно взвешенным этанолом 96% об. и центрифугировали при 13000 об/мин в течение 5 мин. Этанольный раствор сливали и анализировали.

Основные параметры валидации метода анализа и пригодности ОФ ВЭЖХ системы для определения доминирующего эуглобала в пересчете на густой экстракт хлорофиллипта представлены в табл. 1.

**Таблица 1. Основные параметры валидации метода анализа и пригодности ОФ ВЭЖХ системы для определения эуглобала в пересчете на густой экстракт хлорофиллипта**

Параметр	Фармакопейное ограничение [12]	Эуглобал в пересчете на густой экстракт хлорофиллипта*
Время удерживания, мин	–	46,7±1,0
Фактор асимметрии	≤2,0	1,2±0,1
Разрешение между пиками	≥1,5	1,4±0,1
Относительное стандартное отклонение, RSD, %	≤2,0	1,6±0,1
LOD, г/мл	–	5,0·10 <sup>-4</sup>
LOQ, г/мл	–	1,5·10 <sup>-3</sup>
Коэффициент детерминации, r <sup>2</sup>	≥0,98	0,9989
Линейное регрессионное уравнение, C(г/мл)=f(S(mAU·c))	–	C=(4,5±0,3)·10 <sup>-6</sup> ·S

П р и м е ч а н и е : \* – среднее значение и его ошибку ( $X \pm \Delta X$ ) вычисляли при числе повторов  $n = 3$  и уровне значимости  $p = 0,95$ .

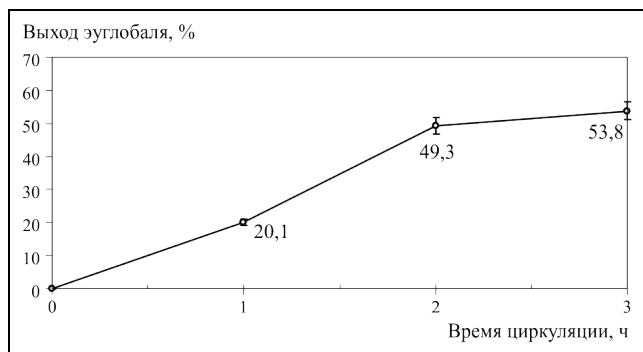
Сухой остаток определяли гравиметрическим методом, согласно общей фармакопейной статье ОФС.1.4.1.0021.15 [15].

**Метод экстракции.** Навеску измельченных листьев эвкалипта прутовидного массой 5,00 г (фракция частиц 0,1–0,5 мм) помещали в циркуляционный экстрактор «Сокслет», сырье заливали экстрагентом 25,0 мл и экстрагировали в течение заданного промежутка времени. Полученное извлечение упаривали под вакуумом до получения суммы эуглобалей. Упаренный экстракт продували потоком воздуха в течение 5–10 мин, растворяли в этаноле 96% об. Далее спиртоводный раствор эуглобалей взвешивали и анализировали на содержание эуглобалей в пересчете на густой экстракт хлорофиллипта и сухой остаток.

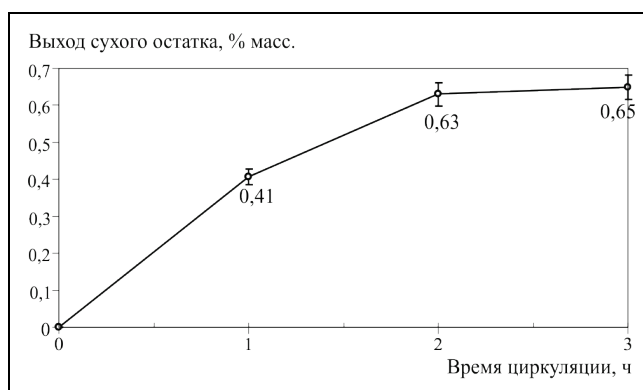
## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты ОФ ВЭЖХ-анализа экстракта, полученного с помощью растворителя Novac 1230, показали, что в данный вид перфторорганического растворителя в течение 3 ч его циркуляции в аппарате «Сокслет» не переходят эуглобалей (выход составил менее 5% от их содержания в растительном сырье).

Это объясняется как строением молекул эуглобалей (в их составе присутствуют полярные группы), так и строением молекулы данного растворителя (практически его полной фторированностью (см. рис. 1,а), что придает данному растворителю сильные гидрофобные свойства). При этом в перфторорганический растворитель Novac 7100 переходят эуглобалей, однако не полностью и только определенной структуры.



**Рис. 2.** Динамика выхода доминирующего эуглобалия в пересчете на густой экстракт хлорофиллипта из листьев эвкалипта прутовидного в зависимости от времени циркуляции растворителя Noves 7100



**Рис. 3.** Динамика выхода сухого остатка из листьев эвкалипта прутовидного в зависимости от времени циркуляции растворителя Noves 7100

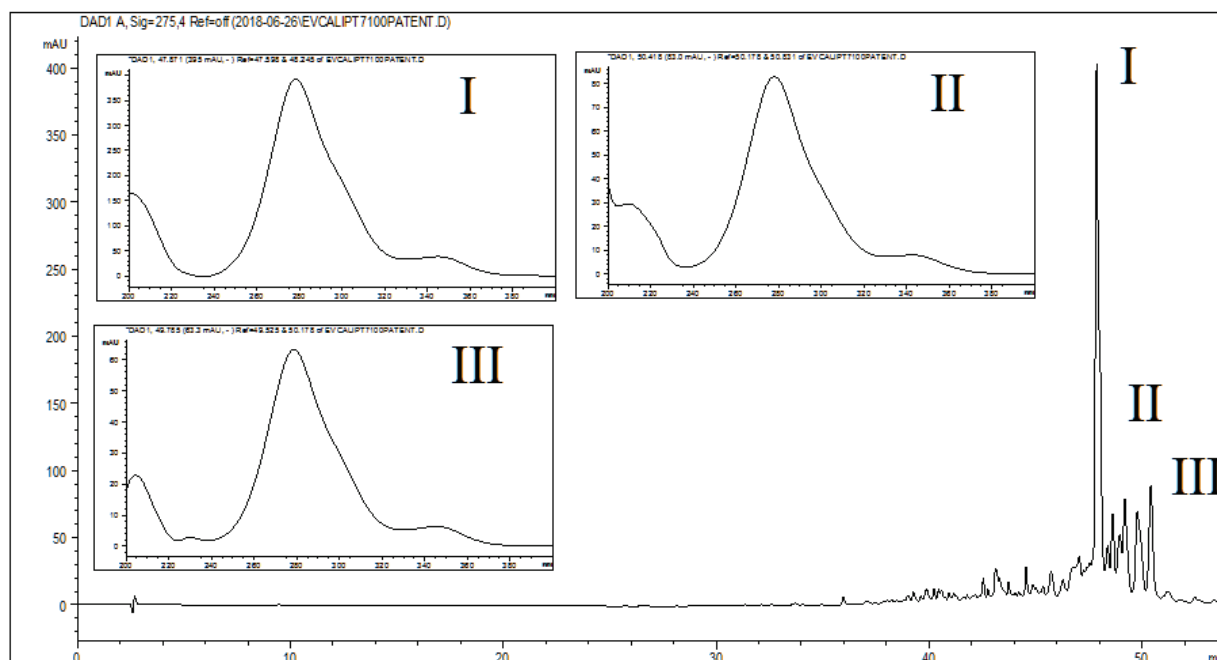
На рис. 2, представлена динамика выхода доминирующего эуглобалия из листьев эвкалипта прутовидного в зависимости от времени циркуляции Noves 7100 в аппарате «Сокслет».

Как видно из графика на рис. 2, ко второму часу циркуляции перфторорганического растворителя Noves 7100 выход доминирующего эуглобалия достигает значения  $49,3 \pm 2,5\%$ , а к третьему часу –  $53,8 \pm 2,7\%$ . Поэтому оптимальным временем можно считать 2 ч экстракции, а в целом экстракцию можно проводить в диапазоне от 2,0 до 2,5 ч с ожидаемым выходом эуглобалией  $50,0 \pm 2,5\%$ .

Динамика выхода сухого остатка по отношению к лекарственному растительному сырью (ЛРС) в зависимости от времени циркуляции Noves 7100 в аппарате «Сокслет» приведена на рис. 3.

Как видно из графика на рис. 3, ко второму часу циркуляции растворителя Noves 7100 выход сухого остатка по отношению к ЛРС достигал значения  $0,63 \pm 0,03\%$  масс., а к третьему часу –  $0,65 \pm 0,03\%$  масс. Поэтому оптимальным временем можно считать 2,0–2,5 ч экстракции.

На рис. 4 и в табл. 2, отображены результаты ОФ ВЭЖХ-анализа экстракта, полученного с помощью растворителя Noves 7100, а также УФ-спектр и древо осколков эуглобалией, обнаруженных в данном экстракте.

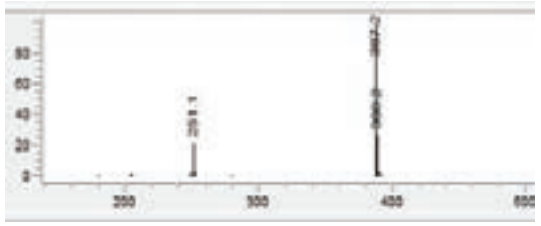
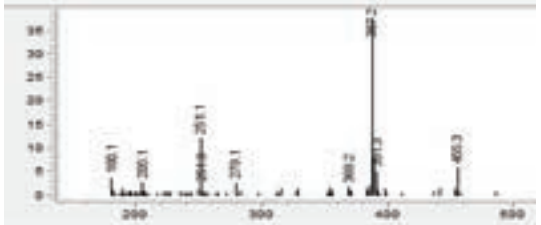
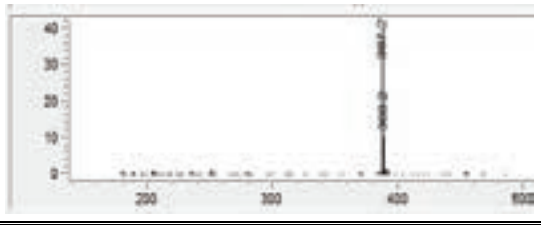


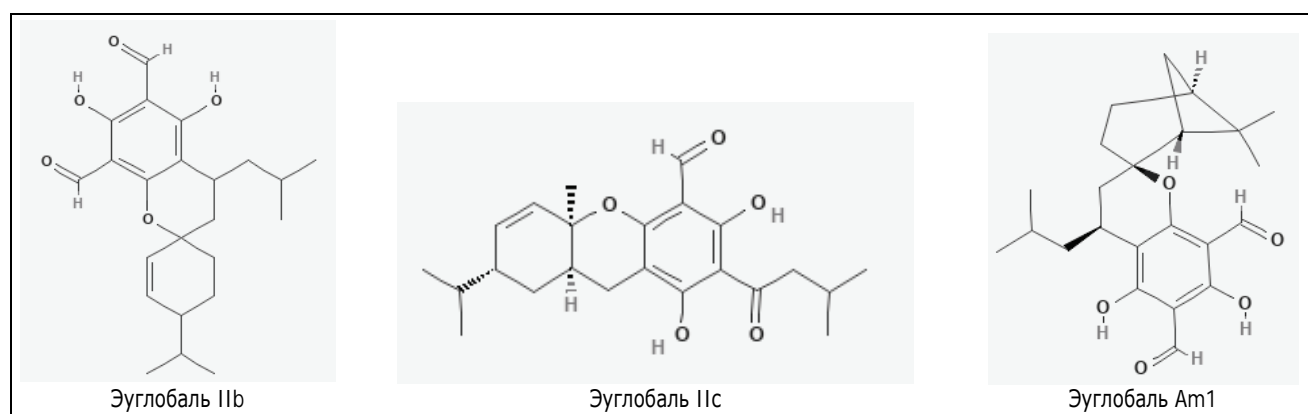
**Рис. 4.** Хроматограмма экстракта, полученного с помощью Noves 7100 при аналитической длине волны 275 нм (I – III эуглобалии)

Как видно из данных на рис. 4 и табл. 2, извлекаемые вещества относятся к эуглобалиям с молекулярной массой ионов, равной 387,2 Да. По данным литературы, эуглобали данной группы, имеют две гидроксигруппы, две альдегидные группы и один атом кислорода в составе простой эфирной группы, а величина площади топологической полярной поверхности (TPSA) в молекуле равна 84 Å<sup>2</sup> (рис. 5) [16, 17].

Интересно отметить, что в полученном экстракте с помощью ОФ ВЭЖХ-анализа, не было обнаружено других видов эуглобалий (сесквитерпеновой структуры – макрокарпалей), а также хлорофиллов и каких-либо других веществ, которые содержатся в данном виде растительного сырья (на хроматограммах при длинах волн 650, 355 и 325 нм отсутствуют пики, которые характерны для данных веществ) [18].

**Таблица 2. Характеристика эуглобалий в экстракте, полученном с помощью растворителя Novex 7100**

Древо осколков (ММ-APCI)	Площадь компонентов в смеси, %	Брутто формула (теоретическая молекулярная масса) / Экспериментальная молекулярная масса иона (m/z), Да
	70,3±3,5 (I)	C <sub>23</sub> H <sub>30</sub> O <sub>5</sub> (386,5) / 387,2
	5,1±0,3 (II)	C <sub>23</sub> H <sub>30</sub> O <sub>5</sub> (386,5) / 387,2
	18,8±0,9 (III)	C <sub>23</sub> H <sub>30</sub> O <sub>5</sub> (386,5) / 387,2



**Рис. 5.** Эуглобали монотерпеновой структуры (Мм=386,5 г/моль) [16, 17]

На рис. 6 и 7, а также в табл. 3 отображены результаты ОФ ВЭЖХ-анализа, а также УФ-спектр и древо осколков эуглобелей, обнаруженных в ФСО ГФУ «Густой экстракт хлорофиллипта» и СО эвкалимина. Как видно из рис. 6 и 7 и табл.3, в ФСО ГФУ «Густой экстракт хлорофиллипта» и СО эвкалимина содержатся эуглобали сесквитерпеновой структуры – макрокарпали, которые выходят на 40–45 мин, и эуглобали монотерпеновой струк-

туры, которые выходят на 46–50 мин. При этом в СО эвкалимина, доминируют макрокарпали (89 % – макрокарпали и 11 % – эуглобали монотерпеновой структуры от общей суммы площадей пиков), а в препарате «Хлорофиллипт», содержатся обе группы эуглобелей, практически в равном соотношении (54% – макрокарпали и 46% – эуглобали монотерпеновой структуры от общей суммы площадей пиков).

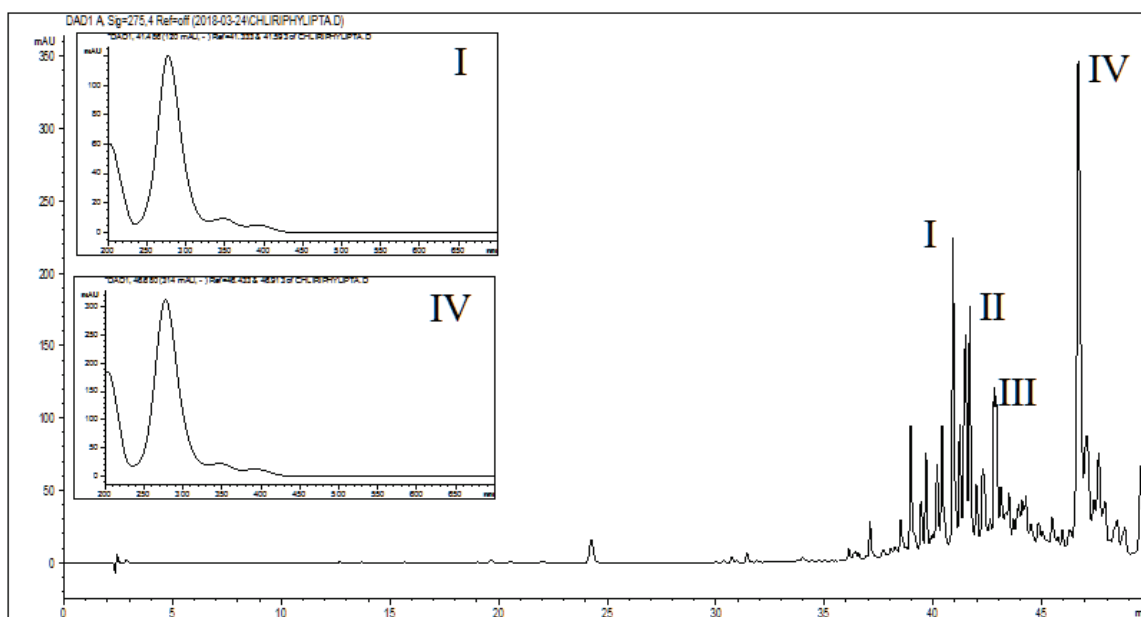


Рис. 6. Хроматограмма ФСО ГФУ «Густой экстракт хлорофиллипта» при аналитической длине волны 275 нм (I – III эуглобали (макрокарпали), IV – доминирующий эуглобаль (монотерпеновой структуры))

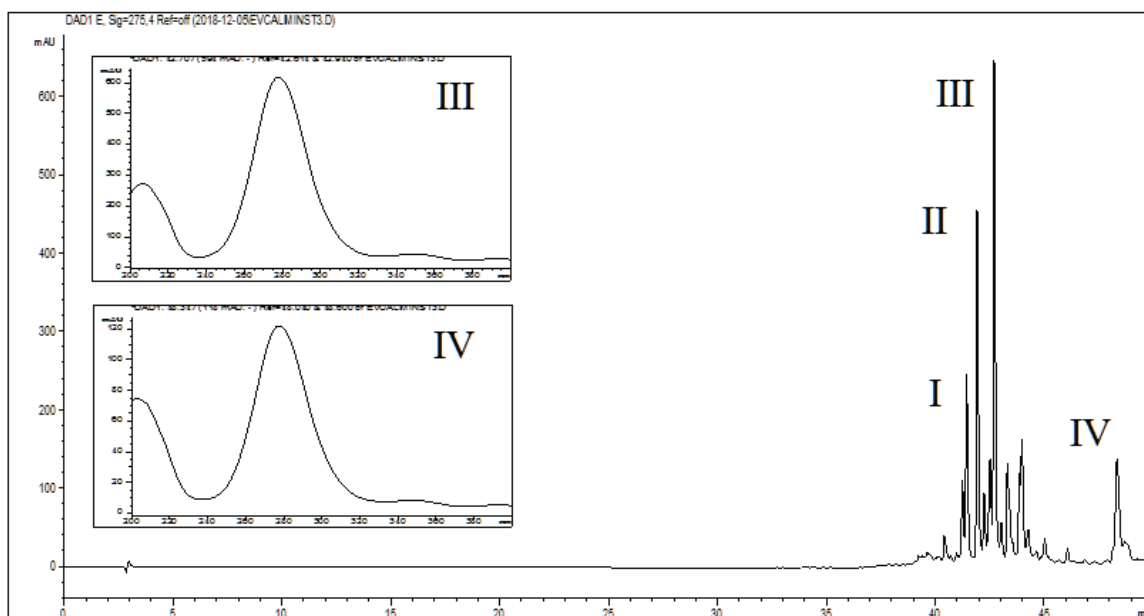
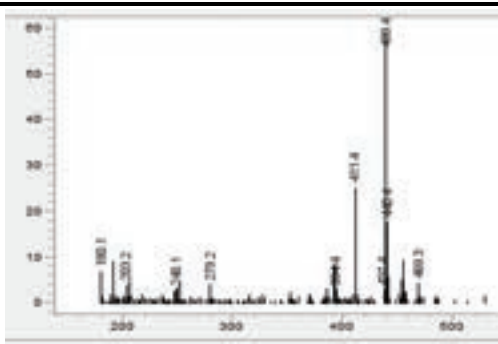
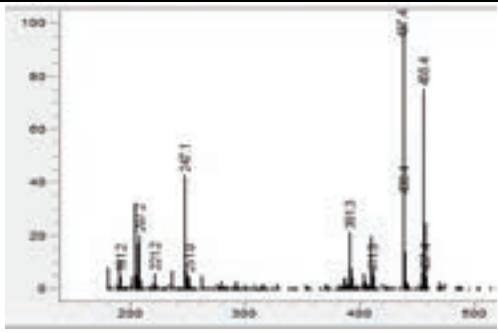
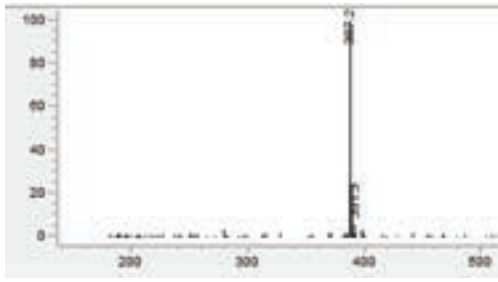


Рис. 7. Хроматограмма СО эвкалимина при аналитической длине волны 275 нм (I – III эуглобали (макрокарпали), IV – эуглобаль (монотерпеновой структуры))

Таблица 3. Характеристика эглобелей в ФСО ГФУ «Густой экстракт хлорофиллипта»

Древо осколков (ММ-APCI)	Площадь компонентов в смеси, %	Брутто формула (теоретическая молекулярная масса) / Экспериментальная молекулярная масса иона (m/z), Да
	13,0±0,7 (I)	C <sub>28</sub> H <sub>40</sub> O <sub>6</sub> (472,6) / 439,4 и 469,3
	7,9±0,4 (III)	C <sub>28</sub> H <sub>38</sub> O <sub>5</sub> (454,6) / 437,4 и 455,4
	31,7±1,6 (IV)	C <sub>23</sub> H <sub>30</sub> O <sub>5</sub> (386,5) / 387,2

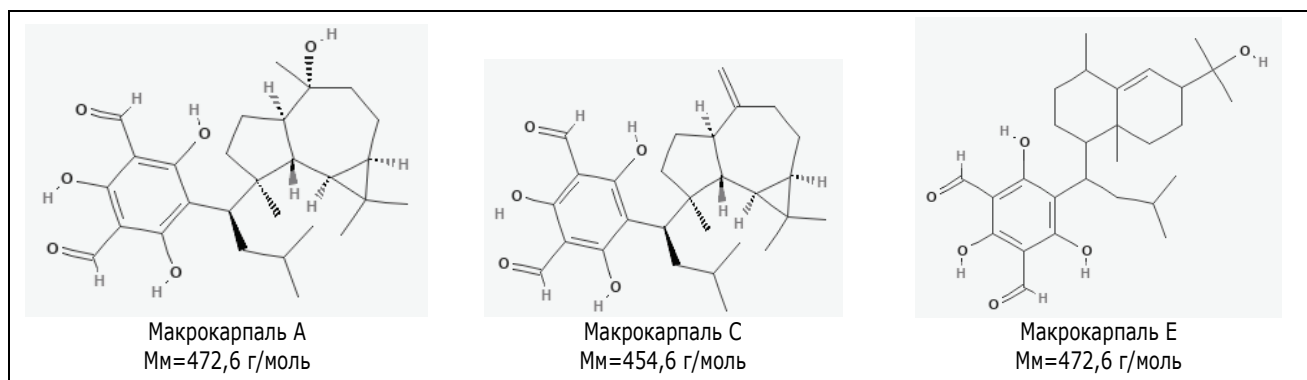


Рис. 8. Эглобали сесквитерпеновой структуры (макрокарпали) [16, 19]

Следует отметить, что макрокарпали по данным литературы содержат три или четыре гидроксигруппы и две карбонильные группы, что придает молекулам данных веществ полярные свойства, при этом величина площади топологи-

ческой полярной поверхности варьирует в пределах  $TPSA=95-115 \text{ \AA}^2$  (см. рис. 8) [19], что вероятно обуславливает их нерастворимость в перфторорганических растворителях Novac 1230 и Novac 7100.

Из полученных результатов видно, что селективность извлечения и выход эуглобелей, существенно зависит от степени фторированности молекулы растворителя и величины TPSA молекулы эуглобелей. При этом показано, что для не полностью фторированного растворителя Novac 7100, критическая величина TPSA для полярных молекул находится в пределах  $85 \pm 5 \text{ \AA}^2$ , поскольку эуглобали монотерпеновой структуры имеют величину  $TPSA=84 \text{ \AA}^2$  и не полностью извлекаются им, а макрокарпалы имеют величину  $TPSA=95-115 \text{ \AA}^2$  и не извлекаются им вообще. В то же время для почти полностью фторированного растворителя Novac 1230, критическая величина TPSA имеет значительно меньшее значение, по нашим оценкам в пределах  $30 \pm 5 \text{ \AA}^2$ , и поэтому оба типа эуглобелей не извлекаются им. Однако, как показано в преды-

дущих работах авторов, в растворитель Novac 1230 переходят основные компоненты эфирных масел, такие как, например, анетол и карвон, поскольку у них значение TPSA равно 9 и  $17 \text{ \AA}^2$  соответственно, меньше критической величины [9, 10]. Следовательно, можно ожидать, что эвкалиптол с  $TPSA=9 \text{ \AA}^2$ , также будет извлекаться из эвкалипта прутовидного листьев данным растворителем, а технология выделения основных компонентов эфирного масла будет предметом дальнейших исследований.

В табл. 4 представлены признаки для сравнения различных технологий выделения эуглобелей с помощью хлорорганических растворителей с последующей обработкой и разделением на адсорбенте и в виде суммарного экстракта с помощью сжиженного газа из листьев эвкалипта в качестве прототипов.

**Таблица 4. Сравнительные признаки технологий выделения эуглобелей из листьев эвкалипта [9, 20]**

Сравнительные признаки	Технология применения		
	хлорорганических растворителей	сжиженного газа	предлагаемая
Экстрагент	Хлороформ, дихлорэтан, хлористый метилен, четыреххлористый углерод	Хладон 12	Novac 7100
Время цикла экстракции, ч	2–3	1	2
Измельченность ЛРС, мм	Не указано	0,3	0,1–0,5
Соотношение ЛРС/экстрагент, масс./об.	1:10	1:5	1:5
Количество циклов заливок/сливов, шт.	2–3	Не указано	1
Давление, атм.	1	$4,75 \pm 0,25$	1
Необходимость применения щелочи и кислоты	Да	Нет	Нет
Необходимость применения колоночной хроматографии	Да	Нет	Нет
Выход липофильных веществ по отношению к весу ЛРС, % масс.	$2,53 \pm 0,11$	4,00	$0,63 \pm 0,03$
Выход эуглобали от его общего содержания в ЛРС, %	Не указано	Не указано	$49,0 \pm 2,5$
Токсичность растворителя, ppm	4 (Хлороформ)	1000	750
Озоноразрушающий потенциал растворителя (ODP)	0 (Хлороформ)	1,0	0
Потенциал глобального потепления растворителя (GWP)	16 (Хлороформ)	10200	320

Как видно из табл.4, предложенная технология демонстрирует явные преимущества в сравнении с технологиями прототипами, поскольку для нее характерны простота в осуществлении, небольшие время экстракции и соотношение сырья/экстрагент, низкие токсичность и экологичность растворителя.

Полученные результаты, доказывают возможность применения не полностью фторированного растворителя Novac 7100 для селективного выделения эуглобелей монотерпеновой структуры из листьев эвкалипта прутовидного. На описанный способ выделения эуглобелей из листьев эвкалипта прутовидного была подана заявка на патент РФ.



## ВЫВОДЫ

Рабочая гипотеза относительно возможности выделения эуглобалий из листьев эвкалипта прутновидного с помощью перфторорганического растворителя экспериментально подтверждена. Обнаружено, что на выход эуглобалий значительное влияние оказывает как степень фторированности молекулы растворителя, так и величина площади топологической полярной поверхности молекулы эуглобалия. Предложен новый способ селективного извлечения эуглобалий монотерпеновой структуры из листьев эвкалипта прутновидного с помощью перфторорганического растворителя Novac 7100.

**Авторы выражают свою искреннюю благодарность д.х.н., профессору кафедры общей химии НИУ «БелГУ» (г. Белгород) Виктору Ивановичу Дейнеке за помощь в проведении хромато-масс-спектрометрических исследований.**

*Результаты получены в рамках выполнения государственного задания № 12.6429.2017/БЧ «Комплексные исследования объектов растительного происхождения в процессе создания ряда целевых лекарственных форм для проктологии».*

## ЛИТЕРАТУРА

1. Регистр лекарственных средств России. Режим доступа: <https://www.rlsnet.ru>.
2. Bharate S.B., Bhutani K.K., Khan S.I., Tekwani B.L., Jacob M.R., Khan I.A., et al. Biomimetic synthesis, antimicrobial, antileishmanial and antimalarial activities of euglobals and their analogues. *Bioorg Med Chem.* 2006; 14(6):1750–1760.
3. Soliman F.M., Fathy M.M., Salama M.M., Al-Abd A.M., Saiber F.R., El-Halawany A.M. Cytotoxic activity of acyl phloroglucinols isolated from the leaves of *Eucalyptus cinerea* F. Muell. ex Benth. cultivated in Egypt. *Sci Rep.* 2014; 4:5410.
4. Takasaki M., Konoshima T., Kozuka M., Tokuda H. Antitumor-promoting activities of euglobals from *Eucalyptus* plants. *Biol Pharm Bull.* 1995; 18(3):435–438.
5. Takasaki M., Konoshima T., Shingu T., Tokuda H., Nishino H., Iwashima A., et al. Structures of euglobal- G1, -G2, and G3 from *Eucalyptus grandis*, three new inhibitors of Epstein-Bar virus activation. *Chem Pharm Bull.* 1990; 38(5):1444–1446.
6. Nishizawa M., Emure M., Yamada H., Ogawa K., Hamanaka N. Macrocarpals: HIV-RTase inhibitors of *Eucalyptus globulus*. *Tetrahedron Letters.* 1992, 33(21):2983–2986.
7. Amano T., Komiya T., Hori M., Goto M. Isolation and characterization of euglobals from *Eucalyptus globulus* Labill. by preparative reversed-phase liquid chromatography. *Journal of chromatography.* 1981; 208(2):347–355.
8. Yang C. Preparation method of euglobal aldehyde-III. Patent of China CN103570666A. C07D311/94. Priority date: 2013-09-17.
9. Сокольская Т.А., Савина А.А., Глызин В.И., Прибылова Г.Ф., Либизова Л.Ф., Вечканова Л.Д., Вичканова С.А., Крутикова Н.М., Вандышев В.В. Способ получения вещества «Эвкалимин», обладающего антимикробной и противовирусной активностью. Авторское свидетельство. SU1438042 A1. A61K35/78. Дата публикации 07.07.93. Бюл. № 25. 3 с.
10. Савина А.А., Цыбулько Н.С., Глызин В.И., Лаская О.Ф., Шипулина Л.Д., Вичканова С.А., Адгина В.В., Крутикова Н.М., Богачева Н.Г., Вандышев В.В., Сокольская Т.А., Баджелидзе Л.С. Способ получения препарата эвкалимин. Патент РФ 2032414 С1. A61K 35/78 (1995.01). Дата публикации 10.04.1995.
11. Бойко Н.Н., Писарев Д.И., Жилиякова Е.Т., Малютина А.Ю., Новиков О.О. Новая технология выделения эфирного масла из плодов укропа пахучего // Тонкие химические технологии. 2019; 14(2):33–40.
12. Бойко Н.Н., Писарев Д.И., Жилиякова Е.Т., Малютина А.Ю., Новиков О.О. Новый способ выделения компонентов эфирного масла из плодов фенхеля обыкновенного // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2019; 22(5):47–52.
13. Boyko N.N., Pisarev D.I., Zhilyakova E.T., Malyutina A.Y., Novikov O.O., Kuznietsova V.Y., Sahaidak-Nikitiuk R.V., Blazheyevskiy M.Y., Shpychak O.S., Sushchuk N.A. An innovative way for extraction of essential oil components from *Pimpinella anisum* L. Fruits. *International Journal of Applied Pharmaceutics.* (Индия). 2019; 11(4):83–87.
14. Zhilyakova E.T., Novikov O.O., Pisarev D.I., Malyutina A.Y., Boyko N.N. Studying the polyphenolic structure of *Laurus Nobilis* L. leaves. *Indo Am J Pharm Sci.* 2017; 4(09):3066–3074.
15. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. I. М.: Министерство здравоохранения Российской Федерации. 2018.
16. Coppen J.J.W. *Eucalyptus: The Genus Eucalyptus.* CRC Press, 2003. 464 p.
17. National Center for Biotechnology Information. PubChem Database. Euglobal IIb, CID=10385496, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Euglobal-IIb> (accessed on June 27, 2019).
18. Бойко Н.Н., Писарев Д.И., Жилиякова Е.Т., Новиков О.О. Сравнительный анализ биологически активных веществ в препаратах настойка эвкалипта и Хлорофиллит // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2018; 11(21):16–23.
19. National Center for Biotechnology Information. PubChem Database. Macrocarpal A/C, CID=454459, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Macrocarpal-A/C> (accessed on June 27, 2019).
20. Технология и стандартизация лекарств: сб. науч. трудов / Под ред. В.П. Георгиевского и Ф.А. Конева. Харьков: ООО «РИРЕГ». 2000. 784 с.

Поступила после доработки 5 сентября 2019 г.

# A NEW METHOD FOR SELECTIVE EXTRACTION OF EUGLOBALS WITH MONOTERPENOID STRUCTURE FROM *EUCALYPTUS VIMINALIS* LEAVES

© Authors, 2019

**N.N. Boyko**

Ph.D. (Pharm.), Junior Research Scientist of Laboratory Technology of Drugs, Associate Professor of Pharmaceutical Technology Department, Belgorod National Research University (Belgorod)  
E-mail: boykoniknik@gmail.com

**E.T. Zhilyakova**

Dr.Sc. (Pharm.), Professor, Head of Pharmaceutical Technology Department, Belgorod National Research University (Belgorod)

**D.I. Pisarev**

Dr.Sc. (Pharm.), Professor of Shared Knowledge Center (Research and Educational Center) "Drugs' Quality Control Center"; Peoples' Friendship University of Russia (Moscow)

**O.O. Novikov**

Dr.Sc. (Pharm.), Professor, Director of Shared Knowledge Center (Research and Educational Center) "Drugs' Quality Control Center", Peoples' Friendship University of Russia (Moscow)

**P.G. Mizina**

Dr.Sc. (Pharm.), Professor, Vice-Director for Science, All-Russian Scientific Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants (Moscow)

**O.L. Saybel**

Ph.D. (Pharm.), Head of Chemistry and Pharmaceutical Technology Center, All-Russian Scientific Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants (Moscow)

**M.K. Sidelnikova**

Ph.D. (Pharm.), Senior Research Scientist of Chemistry and Pharmaceutical Technology Center, All-Russian Scientific Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants (Moscow)

**The purpose** of this work is to test experimentally a working hypothesis about the possibility of euglobals' extraction from *Eucalyptus viminalis* leaves with two different perfluoro organic solvents, Novec 1230 and Novec 7100.

**Materials and methods.** For extraction of euglobals from *Eucalyptus viminalis* leaves, we used a circulation method for extraction in Soxhlet extractor at plant raw material / solvent ratio 1:5 w/v. For analysis of euglobals, we used a method of reverse phase high performance liquid chromatography. As standard euglobal-containing substances, we used Spissum extract of Chlorophyllipt standard sample of the State Pharmacopoeia of Ukraine and eucalimin standard sample.

**Results.** It is determined that perfluoro organic solvent Novec 1230 does not extract euglobals, while solvent Novec 7100 exhibits selective but incomplete extraction level of euglobals with monoterpene structure. A circulation method of solvent Novec 7100 in Soxhlet extractor demonstrates that in two hours of extraction from *Eucalyptus viminalis* leaves, the yield of dominant euglobal with monoterpene structure was equal to 49.3±2.5 %, and the yield of dry residue relatively to plant raw material initial weight was equal to 0.63±0.03 %. In the extract obtained, no chlorophylls or macrocarpales were detected.

**Conclusions.** Our working hypothesis about the possibility of euglobals' extraction from *Eucalyptus viminalis* leaves with perfluoro organic solvent has been verified experimentally. The yield of euglobals significantly depend not only on the fluorination degree of the solvent molecule, but also on the value of topological polar surface area of euglobal molecule. A new method for selective extraction of euglobals with monoterpene structure from *Eucalyptus viminalis* leaves by perfluoro organic solvent Novec 7100 has been suggested.

**Key words:** euglobals, *Eucalyptus viminalis* leaves, Novec 1230, Novec 7100, circulation method of extraction.

**For citation:** Boyko N.N., Zhilyakova E.T., Pisarev D.I., Novikov O.O., Mizina P.G., Saybel O.L., Sidelnikova M.K. A new method for selective extraction of euglobals with monoterpene structure from *Eucalyptus viminalis* leaves. Problems of biological, medical and pharmaceutical chemistry. 2019;22(12):12-22. <https://doi.org/10.29296/25877313-2019-12-02>

## REFERENCES

1. Registr lekarstvenny`x sredstv Rossii. Rezhim dostupa: <https://www.rlsnet.ru>.
2. Bharate S.B., Bhutani K.K., Khan S.I., Tekwani B.L., Jacob M.R., Khan I.A., et al. Biomimetic synthesis, antimicrobial, antileishmanial and antimalarial activities of euglobals and their analogues. Bioorg Med Chem. 2006; 14(6):1750-1760.

3. Soliman F.M., Fathy M.M., Salama M.M., Al-Abd A.M., Saber F.R., El-Halawany A.M. Cytotoxic activity of acyl phloroglucinols isolated from the leaves of *Eucalyptus cinerea* F. Muell. ex Benth. cultivated in Egypt. *Sci Rep.* 2014; 4:5410.
4. Takasaki M., Konoshima T., Kozuka M., Tokuda H. Anti-tumor-promoting activities of euglobals from *Eucalyptus* plants. *Biol Pharm Bull.* 1995; 18(3):435–438.
5. Takasaki M., Konoshima T., Shingu T., Tokuda H., Nishino H., Iwashima A., et al. Structures of euglobal- G1, -G2, and G3 from *Eucalyptus grandis*, three new inhibitors of Epstein-Bar virus activation. *Chem Pharm Bull.* 1990; 38(5):1444–1446.
6. Nishizawa M., Emure M., Yamada H., Ogawa K., Hamanaka N. Macrocarpals: HIV-RTase inhibitors of *Eucalyptus globulus*. *Tetrahedron Letters.* 1992, 33(21):2983–2986.
7. Amano T., Komiya T., Hori M., Goto M. Isolation and characterization of euglobals from *Eucalyptus globulus* Labill. by preparative reversed-phase liquid chromatography. *Journal of chromatography.* 1981; 208(2):347–355.
8. Yang C. Preparation method of euglobal aldehyde-III. Patent of China CN103570666A. C07D311/94. Priority date: 2013-09-17.
9. Sokolskaya T.A., Savina A.A., Glyzin V.I., Pribylova G.F., Libizova L.F., Vechkanova L.D., Vichkanova S.A., Krutikova N.M., Vandyshev V.V. Sposob polucheniya veshhestva «E` vkalimin», obladayushhego antimikrobnoj i protivovirusnoj aktivnost`yu. Avtorskoe svidetel`stvo. SU1438042 A1. A61K35/78. Data publikacii 07.07.93. Byul. № 25. 3 s.
10. Savina A.A., Cybulko N.S., Glyzin V.I., Lasskaya O.F., Shipulina L.D., Vichkanova S.A., Adgina V.V., Krutikova N.M., Bogacheva N.G., Vandyshev V.V., Sokolskaya T.A., Badzhelidze L.S. Sposob polucheniya preparata e` vkalimin. Patent RF 2032414 S1. A61K 35/78 (1995.01). Data publikacii 10.04.1995.
11. Bojko N.N., Pisarev D.I., Zhilyakova E.T., Malyutina A.Yu., Novikov O.O. Novaya texnologiya vy`deleniya e` firnogo masla iz plodov ukropa paxuchego // Tonkie ximicheskie texnologii. 2019; 14(2):33–40.
12. Bojko N.N., Pisarev D.I., Zhilyakova E.T., Malyutina A.Yu., Novikov O.O. Novy`j sposob vy`deleniya komponentov e` firnogo masla iz plodov fenxelya oby`knovennogo // Voprosy` biologicheskij, medicinskoj i farmacevticheskoy ximii. 2019; 22(5):47–52.
13. Boyko N.N., Pisarev D.I., Zhilyakova E.T., Malyutina A.Y., Novikov O.O., Kuznietsova V.Y., Sahaidak-Nikitiuk R.V., Blazheyevskiy M.Y., Shpychak O.S., Sushchuk N.A. An innovative way for extraction of essential oil components from *Pimpinella anisum* L. Fruits. *International Journal of Applied Pharmaceutics.* (Индия). 2019; 11(4):83–87.
14. Zhilyakova E.T., Novikov O.O., Pisarev D.I., Malyutina A.Y., Boyko N.N. Studying the polyphenolic structure of *Laurus Nobilis* L. leaves. *Indo Am J Pharm Sci.* 2017; 4(09):3066–3074.
15. Gosudarstvennaya farmakopeya Rossijskoj Federacii. XIV izd. T. I. M.: Ministerstvo zdravooxraneniya Rossijskoj Federacii. 2018.
16. Coppen J.J.W. *Eucalyptus: The Genus Eucalyptus.* CRC Press, 2003. 464 p.
17. National Center for Biotechnology Information. PubChem Database. Euglobal IIb, CID=10385496, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Euglobal-IIb> (accessed on June 27, 2019).
18. Bojko N.N., Pisarev D.I., Zhilyakova E.T., Novikov O.O. Sravnitel`ny`j analiz biologicheskij aktivny`x veshhestv v preparatax nastojka e` vkalipta i Xlorofillipt // Voprosy` biologicheskij, medicinskoj i farmacevticheskoy ximii. 2018; 11(21):16–23.
19. National Center for Biotechnology Information. PubChem Database. Macrocarpal A/C, CID=454459, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Macrocarpal-A/C> (accessed on June 27, 2019).
20. Texnologiya i standartizaciya lekarstv: sb. nauch. trudov / Pod red. V.P. Georgievskogo i F.A. Koneva. Xar`kov: OOO «RIREG». 2000. 784 s.



## Лекарственные препараты, разработанные ВИЛАР

**Камадол** (масляный экстракт) (рег. № 96/432/13) – противовоспалительное средство, получаемое из травы ромашки аптечной (ромашки ободранной) *Chamomilla recutita* (L.) Rauschert (*Matricaria recutita* L., *M. chamomilla* L.) и травы ноготков лекарственных (календулы лекарственной) – *Calendula officinalis* L., экстракцией маслом из плодов расторопши пятнистой – *Silybum marianum* (L.) Gaertn.

**Леспефлан** (экстракт жидкий очищенный) (рег. №№ 001423/01; 000571; 001865/01) – гипозотемическое, диуретическое и противовоспалительное средство в комплексном лечении хронической почечной недостаточности различного генеза, получаемое из побегов леспедецы двуцветной (*Lespedeza bicolor* Turcz.).

Тел. контакта: 8(495)388-55-09; 8(495)388-61-09; 8(495)712-10-45

Факс: 8(495)712-09-18;

e-mail: vilarnii.ru; www.vilarnii.ru