



(51) МПК
A61K 36/61 (2006.01)
A61K 127/00 (2006.01)
B01D 11/02 (2006.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
 ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК
A61K 36/61 (2019.05); B01D 11/02 (2019.05)

(21)(22) Заявка: 2019117358, 04.06.2019

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
 04.06.2019

Дата регистрации:
 19.09.2019

Приоритет(ы):
 (22) Дата подачи заявки: 04.06.2019

(45) Опубликовано: 19.09.2019 Бюл. № 26

Адрес для переписки:
 308015, Белгородская обл., г. Белгород, ул.
 Победы, 85, стр. НИУ "БелГУ", ОИС,
 Цуриковой Н.Д.

(72) Автор(ы):

Бойко Николай Николаевич (UA),
 Жиякова Елена Теодоровна (RU),
 Писарев Дмитрий Иванович (RU),
 Новиков Олег Олегович (RU),
 Мизина Прасковья Георгиевна (RU),
 Сайбель Ольга Леонидовна (RU),
 Сидельникова Марина Константиновна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

федеральное государственное автономное
 образовательное учреждение высшего
 образования "Белгородский государственный
 национальный исследовательский
 университет" (НИУ "БелГУ") (RU)

(56) Список документов, цитированных в отчете
 о поиске: SU 1438042 A1, 07.07.1993. RU
 2572231 C1, 27.12.2015. RU 2320360 C1,
 27.03.2008. CN 103570666 A, 12.02.2014.

(54) Способ выделения эуглобелей ацилфлороглюцинол-монотерпенового ряда из листьев эвкалипта прутювидного

(57) Реферат:

Настоящее изобретение относится к фармацевтической промышленности, а именно к способу выделения эуглобелей ряда ацилфлороглюцинол-монотерпенов из листьев эвкалипта прутювидного. Способ выделения эуглобелей ряда ацилфлороглюцинол-монотерпенов из листьев эвкалипта прутювидного, включающий измельчение листьев эвкалипта прутювидного, экстрагирование измельченного сырья органическим растворителем, упаривание растворителя, где в качестве органического растворителя используют

легкокипящую жидкость - метиловый эфир перфторбутана при соотношении сырья : растворитель 1:3,0-6,0 масс./об., экстрагирование сырья осуществляют в течение 2-3 часов в аппарате «Соклет», полученный экстракт упаривают под вакуумом при 40°C до получения суммы эуглобелей ряда ацилфлороглюцинол-монотерпенов. Предложенный способ повышает выход эуглобелей из ряда ацилфлороглюцинол-монотерпенов из листьев эвкалипта прутювидного, не требующий специального и сложного оборудования. 5 ил. 2 табл., 4 пр.



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.
A61K 36/61 (2006.01)
A61K 127/00 (2006.01)
B01D 11/02 (2006.01)

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC

A61K 36/61 (2019.05); B01D 11/02 (2019.05)(21)(22) Application: **2019117358, 04.06.2019**(24) Effective date for property rights:
04.06.2019Registration date:
19.09.2019

Priority:

(22) Date of filing: **04.06.2019**(45) Date of publication: **19.09.2019** Bull. № 26

Mail address:

**308015, Belgorodskaya obl., g. Belgorod, ul.
Pobedy, 85, str. NIU "BelGU", OIS, Tsurikovoj
N.D.**

(72) Inventor(s):

**Bojko Nikolaj Nikolaevich (UA),
Zhilyakova Elena Teodorovna (RU),
Pisarev Dmitrij Ivanovich (RU),
Novikov Oleg Olegovich (RU),
Mizina Praskovya Georgievna (RU),
Sajbel Olga Leonidovna (RU),
Sidelnikova Marina Konstantinovna (RU)**

(73) Proprietor(s):

**federalnoe gosudarstvennoe avtonomnoe
obrazovatelnoe uchrezhdenie vysshego
obrazovaniya "Belgorodskij gosudarstvennyj
natsionalnyj issledovatel'skij universitet" (NIU
"BelGU") (RU)**(54) **METHOD OF EXTRACTING EUGLOBALES OF ACYL FLOROGLUCINOL-MONOTERPENE SERIES FROM EUCALYPTUS**

(57) Abstract:

FIELD: pharmaceuticals.

SUBSTANCE: present invention refers to pharmaceutical industry, namely to a method for isolating euglobales of a series of acyl floroglucinol-monoterpenes from eucalyptus bromide leaves. Method of extracting euglobales of a series of acyl floroglucinol-monoterpenes from eucalyptus bromide leaves, involving grinding eucalyptus leaf of a rod-shaped tree, extraction of ground raw material with an organic solvent, evaporation of the solvent, where the organic solvent used is a low-boiling liquid – perfluorobutane

methyl ester with a feedstock : solvent ratio of 1:3.0–6.0 wt./vol., extraction of the material is carried out for 2–3 hours in a Soxhlet apparatus, the obtained extract is evaporated under vacuum at 40 °C to obtain the sum of euglobales of acyl floroglucinol-monoterpenes.

EFFECT: disclosed method increases output of euglobales from a series of acyl floroglucinol-monoterpenes from eucalyptus bromate leaves, which does not require special and complex equipment.

1 cl, 5 dwg, 2 tbl, 4 ex

Изобретение относится к химико-фармацевтической промышленности и может быть использовано для выделения эуглобалея ряда ацилфлороглюцинол-монотерпенов из листьев эвкалипта прутовидного (*Eucalyptus viminalis* L.), семейства Миртовые (Myrtaceae).

5 На данный момент в литературе описано несколько способов выделения эуглобалея из листьев эвкалипта прутовидного.

В патенте «Способ приготовления эуглобального альдегида-III» (CN № 103570666 А, публ. 2014.02.12), описан способ выделения из эвкалипта эуглобалея-III (брутто-формула $C_{28}H_{38}O_5$ и молекулярной массой 454,6 г/моль). В способ входит измельчение растительного сырья, экстракция с помощью органического растворителя (метанол, этанол, ацетон или их смесь) под воздействием ультразвука, упаривание полученного экстракта, последовательное его элюирование на двух колонках: 1) из смеси алюминия оксида и силикагеля с размером частиц 80-120 меш, и 2) из смеси алюминия оксида и силикагеля с размером частиц 200-300 меш. В качестве элюента для колонки 1 используют смесь: н-гексан : метанол в соотношении от 10:1 до 1:1; для колонки 2 используют смесь: н-гексан : метанол в соотношении от 50:1 до 20:1. Затем проводят рекристаллизацию при температуре $-4\div-10^{\circ}C$. Описанный способ обладает рядом недостатков: используются пожаро- и взрывоопасные растворители, многостадийность, необходимость применения ультразвука и колоночной хроматографии. Выход эуглобалея III составил 0,064-0,070 % масс. от исходной массы растительного сырья.

Наиболее близким к заявляемому техническому решению по технической сущности и достигаемому техническому результату является Способ получения вещества «Эвкалимин», обладающего антимикробной и противовирусной активностью (SU № 1438042 А1, публ. 1993.07.07). Данный способ включает экстрагирование листьев или побегов эвкалипта прутовидного хлороформом, или дихлорэтаном, или хлористым метиленом, или четыреххлористым углеродом, упаривание, обработку остатка водным раствором щелочи, осаждение технического продукта соляной кислотой, отделение осадка и сушку с последующим растворением в спирте и очисткой путем фильтрования через слой окиси алюминия 10-17% влажности в хроматографической колонке в соотношении 1:7, промыванием трехкратным количеством этилового спирта, упариванием, осаждением целевого продукта соляной кислотой, отделением, промыванием, сушкой и измельчением осадка. Выход целевого продукта составляет около 2,6 % от веса сырья.

Описанный способ принят за прототип предлагаемого изобретения.

35 К основным недостаткам данного способа относятся: применение токсичных и экологически небезопасных хлорсодержащих растворителей, воздействие на биологически активные вещества щелочью и соляной кислотой, необходимость применения колоночной хроматографии, многостадийность.

40 Технической задачей изобретения является разработка более эффективного экологически чистого способа выделения эуглобалея ряда ацилфлороглюцинол-монотерпенов из листьев эвкалипта прутовидного, простого в исполнении при котором не требуется специальное и сложное оборудование.

45 Поставленная задача решается с помощью предлагаемого способа выделения эуглобалея ряда ацилфлороглюцинол-монотерпенов из листьев эвкалипта прутовидного, включающего измельчение сырья, экстрагирование измельченного сырья органическим растворителем, упаривание растворителя, причем, в качестве органического растворителя используют легко кипящую жидкость - метиловый эфир перфторбутана (далее Noves 7100) при соотношении сырьё/растворитель 1:(3,0-6,0) масс./об.,

экстрагирование сырья осуществляют в течение 2-3 часов в аппарате «Соклет», полученный экстракт упаривают под вакуумом при 40°C, до получения суммы эуглобелей ряда ацилфлороглюцинол-монотерпенов, а экстрагент конденсируют. Сырье, не извлекая из экстрактора, нагревают до 65°C, продувают воздухом до полного удаления и конденсации экстрагента. Регенерированный экстрагент объединяют с основной массой экстрагента и используют повторно для экстракции новой партии сырья.

Диапазон соотношения сырья/растворитель 1:(3,0-6,0) масс./об., обеспечивает эффективное извлечение эуглобелей ряда ацилфлороглюцинол-монотерпенов из растительного сырья и является экономически целесообразным. Нижнее предельное значение 1:3,0 масс./об., обусловлено тем, что данное количество экстрагента позволяет покрыть насыпной объем растительного сырья в экстракторе с небольшим избытком экстрагента необходимого для возможности осуществления процесса его циркуляции в экстракционном аппарате. Увеличение соотношения сырья/растворитель более 1:6,0 масс./об., не приводит к увеличению выхода эуглобелей и требует неоправданно высоких энергозатрат и экстрагента.

Заявленный интервал времени экстракции 2-3 часов обеспечивает заданный уровень извлечения эуглобелей ряда ацилфлороглюцинол-монотерпенов из растительного сырья. Уменьшение времени экстракции приводит к значительному недоизвлечению суммы эуглобелей. Увеличение времени экстракции является не целесообразным с экономической точки зрения, а также энергозатрат, поскольку не приводит к значительному повышению выхода суммы эуглобелей ряда ацилфлороглюцинол-монотерпенов из листьев эвкалипта прутовидного.

Полученная сумма эуглобелей ряда ацилфлороглюцинол-монотерпенов из растительного сырья может быть использована в медицине и фармации.

Количественный анализ эуглобелей в экстрактах проводили с помощью обратно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии (ОФ ВЭЖХ) с использованием хроматографа фирмы «Agilent Technologies», серии «Agilent 1200 Infinity», производства США, при следующих условиях: подвижная фаза (А) – 1% водный раствор муравьиной кислоты, подвижная фаза (В) – этанол в линейном градиентном режиме подачи; хроматографическая колонка – Supelco Ascentis express C18, размеры колонки 100 мм × 4,6 мм, размер частиц 2,7 мкм; скорость подвижной фазы – 0,5 мл/мин; температура хроматографической колонки +35°C; объем образца – 1 мкл. Масс-спектрометрическое детектирование проводили в режиме ESI (ионизация распылением в электрическом поле) с позитивным режимом сканирования в диапазоне масс 200-1000, MM-APFI, 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.

Пример 1.

Навеску измельченных листьев эвкалипта прутовидного массой 5,00 г (фракция частиц 0,1-0,5 мм), помещают в циркуляционный экстрактор «Соклет». Заливают сырье экстрагентом 1:5,0 масс./об., т.е. 25,0 мл и начинают процесс экстракции в течение 2 часов. Полученный экстракт упаривают под вакуумом до получения суммы эуглобелей ряда ацилфлороглюцинол-монотерпенов, а экстрагент конденсируют. Сырье не извлекая из экстрактора, нагревают до 65°C, продувают воздухом до полного удаления и конденсации экстрагента. Регенерированный экстрагент объединяют с основной массой экстрагента и используют повторно для экстракции новой партии сырья.

Выход доминирующего эуглобеля ацилфлороглюцинол-монотерпеновой природы

составил - $49,0 \pm 2,5$ %, выход экстрактивных веществ по отношению к ЛРС – $0,63 \pm 0,03$ % масс.

Пример 2.

Динамика выхода эуглобалия из ЛРС в зависимости от времени циркуляции экстрагента приведена на Фиг.1. Условия экстракции те же, что и в примере 1.

Как видно из данных Фиг.1, выход эуглобалия ко второму часу экстракции приходит почти к своему предельному значению ($49,0 \pm 2,5$ %), при этом значение выхода после 3 часов экстракции достигает предела в $53,8 \pm 2,7$ %. Поэтому оптимальным временем можно считать 2 часа экстракции, а в целом экстракцию можно проводить в диапазоне от 2,0 до 3,0 часов с ожидаемым выходом эуглобалия $50,0 \pm 2,5$ %.

Результаты сравнения по основным признакам прототипа и новой технологии приведены в табл.1.

Таблица 1. Результаты сравнения по основным признакам прототипа и новой технологии.

Сравнительные признаки	Прототип	Novac 7100
Время цикла экстракции, часы	2-3	2
Измельченность ЛРС, мм	не указано	0,1-0,5
Соотношение ЛРС-экстрагент, масс./об.	1:10	1:5
Количество циклов заливов/сливов, шт.	2-3	1
Необходимость применения щелочи и кислоты	да	нет
Необходимость применения колоночной хроматографии	да	нет
Выход липофильных веществ по отношению к весу ЛРС, % масс.	$2,53 \pm 0,11$	$0,63 \pm 0,03$
Выход эуглобалия от его общего содержания в ЛРС, %	не указано	$49,0 \pm 2,5$

Как видно из данных табл. 1, результаты сравнения новой технологии перед технологией прототипа демонстрирует ее явные преимущества, а именно: время экстракции меньше в 2-3 раза; экстрагента необходимо в 4-6 раз меньше; отсутствует необходимость применения щелочи, кислоты и колоночной хроматографии.

Потери экстрагента составили $1,5 \pm 0,2$ г ($1,0 \pm 0,1$ мл), что эквивалентно 4 % от его первоначального количества.

Из полученного шрота возможно получение уже известных лекарственных средств: «Настойка эвкалипта», «Эвкалимин», «Хлорофиллипт», что позволяет комплексно использовать растительное сырье.

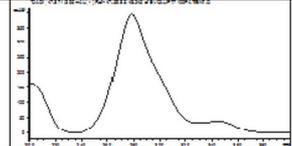
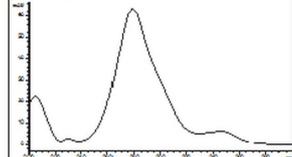
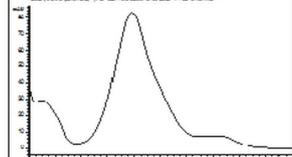
Пример 3.

На Фиг. 2 представлена хроматограмма экстракта полученного с помощью Novac 7100 при аналитической длине волны 275 нм. На Фиг. 2 и в таблице 2 отображены результаты ОФ ВЭЖХ анализа экстракта полученного с помощью растворителя Novac 7100 в примере 1, а также УФ-спектр и древо осколков веществ обнаруженных в экстракте.

На Фиг. 3 представлен УФ-спектр вещества 1, на Фиг. 4 УФ-спектр вещества 2, на Фиг. 5 УФ-спектр вещества 3.

Характеристика эуглобелей в экстракте полученного с помощью растворителя Noves 7100 представлена в Таблице 2.

Таблица 2

№ п/п	УФ-спектр	Время, мин	Процент площади в смеси компонентов, %	Брутто формула (теоретическая молекулярная масса) / Экспериментальная молекулярная масса иона, m/z
1		47,9±1,0	70,3±	C ₂₃ H ₃₀ O ₅ (386) / 387,2
2		49,8±1,0	5,1±	C ₂₃ H ₃₀ O ₅ (386) / 387,2
3		50,4±1,0	18,8±	C ₂₃ H ₃₀ O ₅ (386) / 387,2

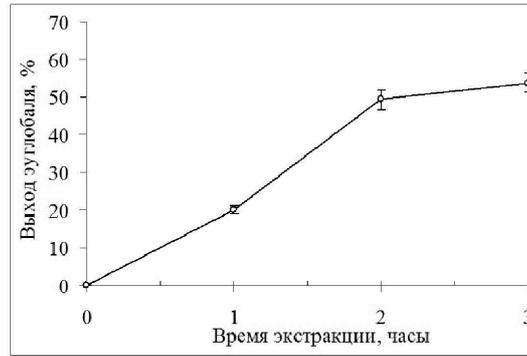
Техническим результатом является эффективный и экологически чистый способ выделения эуглобелей ряда ацилфлороглюцинол-монотерпенов из листьев эвкалипта прутовидного простой в исполнении при обычных условиях, без специального и сложного оборудования.

Изобретение позволяет выделить эуглобали ряда ацилфлороглюцинол-монотерпенов из измельченных листьев эвкалипта прутовидного с помощью метилового эфира перфторбутана (Noves 7100) при минимальных энергозатратах, обычном давлении, с использованием стандартного оборудования характерного для химико-фармацевтических предприятий по экологически чистой технологии, а из шрота получать другие лекарственные средства.

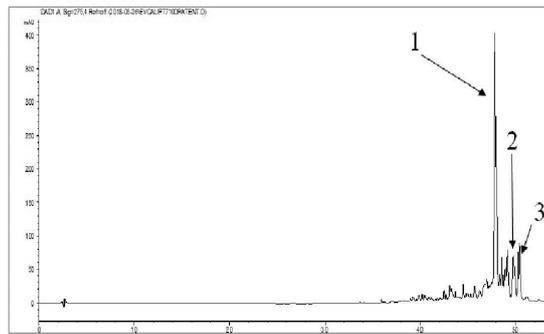
(57) Формула изобретения

Способ выделения эуглобелей ряда ацилфлороглюцинол-монотерпенов из листьев эвкалипта прутовидного, включающий измельчение листьев эвкалипта прутовидного, экстрагирование измельченного сырья органическим растворителем, упаривание растворителя, отличающийся тем, что в качестве органического растворителя используют легкокипящую жидкость - метиловый эфир перфторбутана при соотношении сырьё : растворитель 1:3,0-6,0 масс./об., экстрагирование сырья осуществляют в течение 2-3 часов в аппарате «Соксет», полученный экстракт упаривают под вакуумом при 40°С до получения суммы эуглобелей ряда ацилфлороглюцинол-монотерпенов.

1

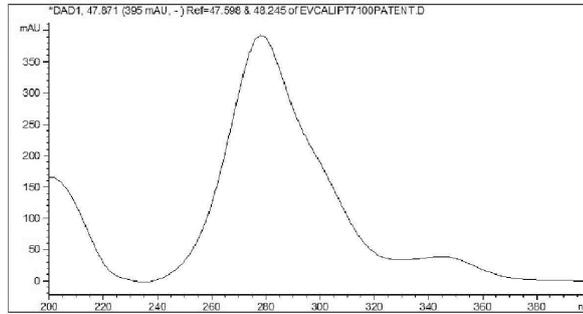


Фиг. 1

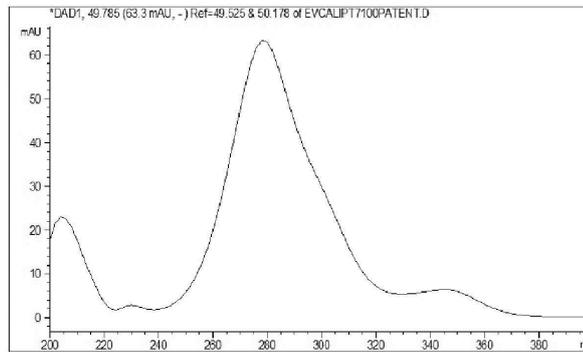


Фиг. 2

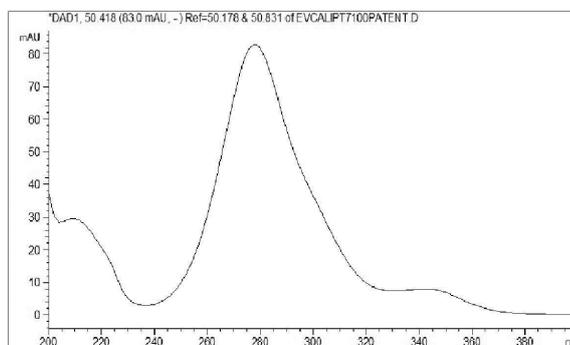
2



Фиг. 3



Фиг. 4



Фиг. 5